



**Universitat Autònoma
de Barcelona**

**Valoració de la nicotina intraseptal
en rates alcohòliques abstinentes i no-abstinentes,
en aprenentatge excitatori i inhibitori**

Mercè Sabater Mora

Tesi doctoral dirigida per la Dra. Núria Ferré i Suana

**Departament de Psicobiologia i Metodologia
de les Ciències de la Salut
Institut de Neurociències**

Bellaterra, Juliol de 2007

Aquest treball ha sigut possible gràcies a:

Una beca predoctoral de *Formación de Personal Investigador*,
subprograma de Formación de Profesorado Universitario, del Ministerio de
Educación, Cultura y Deporte (AP2002-1835)

Una ajuda del Ministerio de Ciencia y Tecnología (MCYT)
(BSO2001 – 1899)

En memòria d'en Pepe

Al Dottore,
per tutto quello che già sà

AGRAÏMENTS

Durant aquests més de quatre anys hi ha hagut temps per viure moltes coses. Com sempre passa, algunes han sigut més agradables que d'altres però, en definitiva, han sigut enriquidores en tots els sentits. He après molt sobre l'alcohol i les seves paradoxes, he conegut algunes de les paradoxes de la ciència i de la seva gent, però sobretot, i al capdevall més important, m'he conegut una mica més a mi mateixa. Aquest és el punt i final a un somni, un final que ha sigut tantes vegades temut com desitjat però que, amb paraules de Miquel Martí i Pol, puc dir que *ho deixo tot però estreno claror*.

Aquest treball és el resultat de molts esforços i no hauria estat possible sense la confiança, l'ajuda, el recolzament i la comprensió de la gent que m'ha acompanyat al llarg d'aquests anys.

A la Núria Ferré, la meva directora, voldria agrair-li haver-me proposat aquest treball del que em sento molt orgullosa i que, malgrat la feina i l'esforç que m'ha suposat, he disfrutat tantíssim. Gràcies també pel teu optimisme, pels ànims i per la confiança dipositada en mi. I com no, a l'Adrià per la seva ajuda en els moments crítics.

Als meus estimats becaris i amics, la Regina López, l'Abraham Isla, l'Andrea de la Torre i la Núria Abant, us vull donar les gràcies per la vostra feina, per la paciència que heu tingut amb el meu perfeccionisme i pels bons i mals moments compartits dintre i fora del laboratori. Aquest treball també és una miqueta vostre.

Al José, pel seu bon humor, per haver-me ensenyat tot el que sé de les rates i pel seu gran suport logístic, que ho feia tot molt més fàcil.

A les meves companyes: la Núria B., l'Anna G., l'Anna C., la Patricia, la Jessica, la Sílvia i l'Irene per haver-me escoltat i ajudat tantes vegades i, especialment, a la Mafer pel seu suport, en tots els sentits, i pels moments compartits a la recta final. I també, a l'Elena Martín i a la Noemí Robles per que amb vosaltres he après que sóc capaç d'aconseguir el que em proposi i que, sovint, els límits s'els posa un mateix.

Ferran, poques vegades a la vida un té la sort de trobar algú com tu. Mai tindrè suficients paraules d'agraïment.

A la meva mare, per haver-me ensenyat a no rendir-me i per les paraules justes en els moments difícils.

A sa meva germana, pel seu recolzament i amor incondicionals i al David, per acollir-me com a casa.

Al meu pare, per haver-me deixat, ara fa 9 anys, anar en busca del meu somni.

Genis, en ocasiones las palabras se quedan cortas. Gracias por apoyarme siempre, por encima de todo y a pesar de todo, y por haberme regalado ese espacio y ese tiempo que han hecho inolvidables los últimos meses.

A na Maribel, na Mar i na Vanessa, ses meves amigues de s'ànima, gràcies per acompanyar-me, sobretot en els moments difícils, per ser sempre tan properes malgrat la distància, per la vostra complicitat... i per tenir sempre alguna historia a punt.

Per últim, però no menys important, agrair al David, al Joan i al Toni, els informàtics de la Facultat, l'infinitat de vegades que m'han donat auxili. I al José del bar, pels cafès i la simpatia d'aquests 9 anys.

PART TEÒRICA

1. INTRODUCCIÓ	1
2. ALCOHOL I ALCOHOLISME	7
2.1. Característiques de l'alcohol	7
2.2. Efectes de l'alcohol en l'organisme	9
2.2.1. Afectació hepàtica	9
2.2.2. Afectació gastrointestinal	11
2.2.3. Afectació cardiovascular	11
2.2.4. Afectació del SNC	12
2.3. L'alcohol com a substància addictiva	16
2.4. Definició d'alcoholisme i criteris diagnòstics	18
2.4.1. Tipus de tolerància	21
2.4.2. Efectes de l'aprenentatge en la tolerància i la dependència	22
2.5. Síndrome d'abstinència, <i>craving</i> i recaiguda	23
2.6. Tipus d'alcoholisme i factors que hi intervenen	27
2.7. Tractaments de l'alcoholisme	31
2.7.1. Fàrmacs dissuasius del consum d'alcohol	32
2.7.2. Fàrmacs pal·liatius de la simptomatologia de l'abstinència alcohòlica	33
2.7.3. Fàrmacs substitutius de l'alcohol	34
2.7.4. Fàrmacs que bloquegen l'efecte de l'alcohol	35
2.7.5. Fàrmacs que afecten la serotonina	39
2.7.6. Medicines naturals	40

2.7.7. Conclusions	41
3.MODELS ANIMALS D'ALCOHOLISME	43
3.1. Models de consum voluntari	45
3.1.1. Autoadministració operant	45
3.1.2. Polidípsia induïda per programa de reforçament	47
3.1.3. Procediment d'ingesta prandial	49
3.1.4. Procediment de substitució progressiva de sucrosa	51
3.1.5. Models socials	52
3.1.6. Models d'enyorança d'alcohol i recaiguda	55
3.1.7. Models genètics	58
3.1.8. Model d'alcoholisme (MA) i model d'alcoholisme primari precoç (APP)	61
3.2. Models d'ingesta forçada	64
3.2.1. Dietes líquides amb alcohol i administració d'alcohol amb l'aigua de beguda	65
3.3. Proves de Preferència	66
3.3.1. Lliure accés	66
3.3.2. Proves operants de preferència	66
3.3.3. Condicionament de la preferència pel gust (CPG)	67
3.3.4. Condicionament de la preferència/aversió pel lloc (CPP/CPA)	68
3.4. Conclusions	71
4. FARMACOCINÈTICA DE L'ALCOHOL	73
4.1. Absorció, distribució i eliminació de l'alcohol	73
4.2. Metabolisme hepàtic de l'alcohol	75

4.2.1. Principal via d'oxidació de l'alcohol: enzim ADH . . .	76
4.2.2. Sistema microsomal oxidatiu de l'alcohol (MEOS) .	79
4.2.3. Via de la catalasa	81
4.2.4. Metabolisme no oxidatiu de l'alcohol	81
4.3. Metabolisme cerebral de l'alcohol. Hipòtesi de l'acetaldehid	82
5. FARMACODINÀMICA DE L'ALCOHOL	87
5.1. Efectes de l'alcohol en la membrana neuronal	87
5.2. Efectes de l'alcohol en el receptor GABA _A	89
5.3. Efectes de l'alcohol en el receptor glutamatèrgic NMDA	92
5.4. Efectes de l'alcohol en el receptor dopaminèrgic D ₂ . . .	95
5.5. Efectes de l'alcohol en el receptor serotoninèrgic 5-HT ₃ .	99
5.6. Efectes de l'alcohol en els receptors nicotínics neuronal (nAChR)	102
5.7. Efectes de l'acetaldehid en el SNC	110
6. EL FEIX SEPTOHIPOCÀMPIC	113
6.1. L'àrea septal	113
6.1.1. Morfologia	114
6.1.2. Citoarquitectura	116
6.1.3. Connexions de l'àrea septal medial	118
6.2. Organització funcional de l'àrea septal	121
6.2.1. Consum d'aigua	121
6.2.2. Emocionabilitat i conducta social	122

6.2.3. Aprenentatge i memòria	123
6.3. Efectes de l'alcohol en el feix septohipocàmpic	126
7. EFECTES DE L'ALCOHOL EN L'APRENENTATGE	131
7.1. Efectes de la intoxicació d'alcohol en l'aprenentatge	131
7.2. Efectes del consum voluntari d'alcohol en l'aprenentatge	133
7.2.1. Efectes del consum voluntari d'alcohol en l'aprenentatge excitatori	134
7.2.2. Efectes del consum voluntari d'alcohol en l'aprenentatge inhibitori	137
7.3. Efectes de l'abstinència d'alcohol en l'aprenentatge excitatori i inhibitori	138

PART EXPERIMENTAL

1. PLANTEJAMENT GENERAL	139
2. EXPERIMENT I: Valoració dels efectes de l'abstinència alcohòlica i de la nicotina intraseptal en l'aprenentatge associatiu simple, mitjançant el procediment del <i>Free Shaping</i>	
2.1. Objectius i hipòtesis	143
2.2. Metodologia	145
2.2.1. Subjectes	145
2.2.2. Aparells	145

2.2.3. Fàrmacs	146
2.2.4. Procediment	147
Obtenció dels animals alcohòlics	147
Cirurgia estereotàxica	149
Procediment d'abstinència	151
Injecció intraseptal	151
Prova d'aprenentatge: <i>Free Shaping</i>	152
Estudi histològic	154
2.3. Resultats	157
2.3.1. Estudi del pes	157
2.3.2. Consum d'alcohol	159
2.3.3. Consum de la dissolució de glucosa	161
2.3.4. Prova d'aprenentatge: <i>Free Shaping</i>	162
Criteri d'aprenentatge de la resposta a la palanca	162
Emissió de la primera resposta a la palanca	165
Taxa de respostes posterior a l'adquisició de la resposta a la palanca	166
2.4. Discussió	167
2.5. Conclusions	173
3. EXPERIMENT II: Valoració dels efectes de l'abstinència alcohòlica i de la nicotina intraseptal en la inhibició, mitjançant la Prova de Dos Estímuls de Pavlov	
3.1. Objectius i hipòtesis	175
3.2. Metodologia	177
3.2.1. Subjectes	177
3.2.2. Aparells i Fàrmacs	177

3.2.3. Procediment	177
Obtenció dels animals alcohòlics	177
Cirurgia estereotàxica	178
Procediment d'abstinència	179
Injecció intraseptal	179
Prova d'aprenentatge: <i>Free Shaping</i>	180
Discriminació	180
Injecció intraseptal i Prova de Dos Estímuls de Pavlov	181
Extinció	181
Estudi histològic	182
3.3. Resultats	183
3.3.1. Estudi del pes	183
3.3.2. Consum d'alcohol	184
3.3.3. Consum de la dissolució de glucosa	185
3.3.4. Estudi de les sessions de discriminació	186
3.3.5. Estudi de la sessió de la Prova de Dos Estímuls de Pavlov	188
3.3.6. Estudi de la sessió d'extinció	193
3.4. Discussió	195
3.5. Conclusions	201
4. DISCUSSIÓ GENERAL	203
5. CONCLUSIONS GENERALS	209

6. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES	211
7. ANNEX I	277
Cronograma Experiment I	277
Cronograma Experiment II	279
8. ANNEX II	281
Gràfiques del registre acumulatiu d'una sessió de discriminació	282
Gràfiques del registre acumulatiu de la Prova de Dos Estímuls de Pavlov	283
Gràfiques del registre acumulatiu de la sessió d'extinció	284

ÍNDEX DE TAULES

ÍNDEX DE FIGURES

ABREVIATURES

- 5-HT: 5-hidroxitriptamina o serotonina
- α -Bgt: α -bungarotoxina
- A: adrenalina
- AA: rates *Alcohol Accepting*
- AC: acetaldehid
- ACh: acetilcolina
- AChE: enzimacetilcolinesterasa
- ADE: *alcohol deprivation effect*
- ADH: alcohol deshidrogenasa
- ALDH: aldehyd deshidrogenasa
- AMPA: α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxasol
- ANA: rates *Alcohol Non Accepting*
- ANT: rates *Alcohol Non Tolerant*
- APP: model d'Alcoholisme Primari Precoç
- AT: rates *Alcohol Tolerant*
- ATV: àrea tegmental ventral
- BHE: barrera hematoencefàlica
- CCK: Colecistoquinina
- ChAT: enzim colina acetiltransferasa
- CPP: *Conditioned Place Preference*
- CPA: *Conditioned Place Aversion*
- DA: dopamina
- DB: banda diagonal de Broca
- DH β E: dihidro-beta-eritroidina
- EC: estímul condicionat
- FR o RF: *fixed ratio*/raó fixa
- GABA: àcid gamma-amino-butíric
- HAD: rates *High Alcohol Drinking*
- HAS: rates *High Alcohol Sensitive*
- hDB: branca horitzontal de la banda diagonal de Broca

HEP: rates *High-Ethanol Preferring*
ISRS: inhibidor selectiu de la recaptació de serotonina
LAD: rates *Low Alcohol Drinking*
LAS: rates *Low Alcohol Sensitive*
LS: ratolins *Long-Sleep*
LTP: potenciació a llarg plaç
LTPn: potenciació a llarg plaç nicotínica
MA: Model d'Alcoholisme
MEOS: sistema microsomal oxidatiu de l'alcohol
MEW: ratolins *Mild Ethanol Withdrawal*
MLA: metillicaconitina
NA: noradrenalina
nAChR: receptor nicotínic
NGF: *Nerve Growth Factor*
NMDA: N-metil-D-aspartat
NP: rates *Non Preferring*
NsP: rates *Sardinian non Preferring*
P: rates *Preferring*
SEW: ratolins *Severe Ethanol Withdrawal*
SL: *septum* lateral
SM: *septum* medial
SNC: Sistema Nerviós Central
SNP: Sistema Nerviós Perifèric
sP: rates *Sardinian Preferring*
SS: ratolins *Short-Sleep*
THBC: tetrahidro- β -carbolina
TIQ: tetrahidroisoquinolina
UChA: rates baixes consumidores d'alcohol
UChB: rates altes consumidores d'alcohol
vDB: branca vertical de la banda diagonal de Broca
WSP: ratolins *Withdrawal Seizure-Prone*
WSR: ratolins *Withdrawal Seizure-Resistant*

INDEX DE TAULES

Taula I. Criteris diagnòstics per a l'abús de l'alcohol	19
Taula II. Criteris diagnòstics per a la dependència de l'alcohol	20
Taula III. Criteris diagnòstics per a la síndrome d'abstinència alcohòlica . .	24
Taula IV. Pes corporal en grams	158
Taula V. Consum d'alcohol en gr EtOH/Kg	159
Taula VI. Consum de glucosa en cl/Kg	161
Taula VII. Percentatge del temps de llum i fosc i durada total de les set sessions diferents de discriminació	181
Taula VIII. Percentatge de privació dels animals dels grups Alcohol i Control al llarg de les 3 setmanes	184
Taula IX . Consum d'alcohol en gr EtOH/Kg	185
Taula X. Consum de glucosa en cl/Kg	186
Taula XI. Índexs de discriminació al llarg de les tres setmanes	187
Taula XII. Anàlisi mixta de la variança de la Prova de Dos Estímuls de Pavlov	188
Taula XIII. Relació entre les funcions obtingudes en la Prova de Dos Estímuls de Pavlov	189
Taula XIV. Nombre de respostes totals a la Prova de Dos Estímuls de Pavlov i a la sessió d'extinció pels 12 grups experimentals	193

INDEX DE FIGURES

Figura 1. Principal via metabòlica oxidativa de l'alcohol en el fetge	77
Figura 2. Estructura del receptor nicotínic	103
Figura 3. Organització tridimensional del sistema septohipocàmpic del cervell de rata	113
Figura 4. Secció coronal del cervell de rata	115
Figura 5. Cànules utilitzades	145
Figura 6. Estereotàxia angular	150
Figura 7. Injecció intraseptal de Nicotina.	152
Figura 8. Sessió de Free Shaping en gàbia de Skinner	153
Figura 9. Injecció intraseptal	154
Figura 10. Pes dels subjectes al llarg de les sis setmanes	158
Figura 11. Evolució del consum d'alcohol	160
Figura 12. Evolució del consum de la dissolució de glucosa	162
Figura 13. Temps necessari (en segons) per a assolir el criteri d'adquisició	164
Figura 14. Temps necessari per a emetre la primera resposta	165
Figura 15. Taxa de respostes (respostes/minut)	166
Figura 16. Rata amb cànula implantada	178
Figura 17. Evolució de l'índex de discriminació	187
Figura 18. Taxa de respostes a la Prova de Dos Estímuls dels grups injectats amb salí	190
Figura 19. Taxa de respostes a la Prova de Dos Estímuls pels grups Alcohol	191
Figura 20. Taxa de respostes a la Prova de Dos Estímuls pels grups Control	192

PART TEÒRICA

1. INTRODUCCIÓ

It thus seems that, if science wishes to unravel the mystery of alcoholism, researches should heed the voice of the victims and try to find the neurochemical basis of "I can't stop"...

C.K. Erickson, 1995

1. INTRODUCCIÓ

El consum de begudes alcohòliques en les societats occidentals és un costum àmpliament estès. Malgrat que l'alcohol és una droga molt lligada a la nostra cultura i socialment acceptada, és la responsable d'un dels problemes que més afecten la salut pública: l'alcoholisme, que comporta un gran nombre de conseqüències negatives, tant a nivell socio-sanitari com a nivell econòmic. De l'alcoholisme en deriva sovint l'agreujament de la delinqüència, la violència familiar, l'accidentalitat laboral i en les carreteres, així com les malalties orgàniques producte del seu consum crònic.

Una distinció important, que cal fer i tenir en compte, quan parlem d'alcohol i alcoholisme és el tipus d'alcohol que es consumeix. És a dir, no és el mateix beure l'alcohol procedent de la fermentació natural, com és el cas del vi i la cervesa, que consumir begudes alcohòliques destil·lades. D'una banda, la concentració d'alcohol entre unes begudes i altres difereix considerablement (aproximadament entre un 5-14% *versus* 30-50%, respectivament) per la qual cosa els nivells d'alcohol en sang que s'assoleixen, la taxa de metabolització i els efectes en l'organisme són clarament diferents. D'altra banda, es tracta de diferents tipus de begudes sovint associades a diferents patrons de consum, doncs més freqüentment, el consum de vi i de cervesa es donen quasi a diari, en quantitats moderades i durant les menjades mentre que això no és tan comú en el cas dels destil·lats, que solen ser consumits en majors quantitats, sense acompanyar els àpats i de manera concentrada i periòdica, principalment els caps de setmana.

A més, concretament en el cas del vi negre, no només consumim alcohol ja que, entre d'altres substàncies també hi trobem flavonoids, principalment antocianines i tanins, els pigments dels quals li donen al vi el seu color característic. L'investigació

d'aquestes substàncies es va veure afavorida per l'anomenada *paradoxa francesa*. Aquest terme va ser introduït per Samuel Black l'any 1819 i feia referència al fet de que la població francesa presentava una menor incidència de problemes cardiovasculars, així com una menor taxa de mortalitat deguda a aquest tipus de problemes, malgrat tenir una dieta rica en greixos saturats i consumir vi de manera habitual. Estudis posteriors han atribuït als flavonoids, procedents del vi, un efecte protector contra les malalties cardiovasculars suggerint, fins i tot, que el consum de flavonids correlaciona inversament amb la mortalitat deguda a problemes cardiovasculars (Hertog *et al.*, 1995; Knekt *et al.*, 1996).

Altres estudis, contràriament al que sempre s'ha pensat de l'alcohol, han mostrat un major rendiment cognitiu en bevedors moderats d'alcohol en comparació amb els subjectes abstemis o als gran bevedors (Hebert *et al.*, 1993; Hendrie *et al.*, 1996; Kalmijn *et al.*, 2002; Ganguli *et al.*, 2005). Un dels estudis més rellevants va ser el portat a terme per Orgogozo i col·laboradors (1997) a la Universitat de Bordeaux. La seva investigació mostrà que les persones de la tercera edat que bevien dues copes de vi al dia presentaven un risc menor a desenvolupar una demència senil i la malaltia d'Alzheimer. L'efecte beneficiós del consum moderat del vi es deuria a l'efecte combinat de l'alcohol i els flavonoids antioxidants presents en el vi, que disminuïrien l'estrès oxidatiu que es dona en el cervell i per tant, el dany que produeix aquesta oxidació, protegint les cèl·lules cerebrals i retardant l'aparició de la malaltia. A més, el seu efecte reductor de l'oxidació de les lipoproteïnes de baixa densitat (LDL) disminueix el risc de patir infarts cerebrals de tipus obstructius causats per aterosclerosi, que són la segona causa de demència després de l'Alzheimer.

L'alcoholisme és el resultat d'un procés gradual en el que una persona va canviant paulatinament el seu patró de consum, augmentant la dosi d'alcohol consumida. Inicialment, aquest procés és reversible i la persona pot deixar de consumir alcohol, quan les circumstàncies ho requereixen, sense cap tipus de dificultat però, arriba un moment en que es perd el control sobre el consum ja de manera irreversible. Una de les grans incògnites pels que treballem en l'alcoholisme és esbrinar quan i com es produeix aquest punt de ruptura entre un consum

moderat i controlat i el consum abusiu amb pèrdua total del control sobre la conducta d'ingesta. A més, es desconeix exactament per què algunes persones esdevenen alcohòliques i altres no. Sabem que hi ha alguns factors que poden predisposar o afavorir l'alcoholisme (factors genètics i ambientals) i, de fet, trobem alcohòlics que es corresponen amb els perfils descrits per alguns autors com Jellinek (1960), Cloninger (1987) o Babor i col·laboradors (1992) (vegeu capítol 2). No obstant, també trobem alcohòlics que desenvolupen l'addicció fins i tot sense haver consumit mai grans quantitats d'alcohol ni durant llargs períodes de temps. Cal destacar però, que independentment de la susceptibilitat individual en realitat tots podem, en un moment u altre, desenvolupar l'addicció a l'alcohol en cas de consumir-ne dosis farmacològicament significatives de manera continuada.

L'alcohol, a més de tenir l'efecte antioxidant comentat anteriorment i d'altres accions que deriven del seu metabolisme a nivell cerebral, quan és consumit de manera continuada, acaba donant lloc a la modificació del seu perfil farmacològic. D'una banda, és conegut el fenomen de la tolerància que es manifesta en els efectes depressors de la droga i que s'exerceix en un substrat molecular, en bona part ja identificat, com és l'acció adaptativa del receptors del GABA i del glutamat, principalment. Altres aspectes del perfil de l'alcohol no semblen experimentar tolerància o fins i tot podrien ser objecte de sensibilització, com seria el cas de l'efecte gratificant de l'alcohol. Atès que moltes adaptacions tenen com a fonament biaixos moleculars induïts pel consum crònic, un d'aquests podria ser la base de l'addicció alcohòlica, que es produiria com a conseqüència del consum més o menys crònic i abusiu en una part d'aquests consumidors. Aquest canvi que s'ha produït, i que porta a l'addicció, sabem que és irreversible, raó per la qual sempre que el subjecte torni a beure alcohol reapareixerà ràpidament tot el quadre de la dependència i l'addicció. En aquest sentit, és important matisar que l'addicció, requereix sempre d'un component de comportament voluntari, és a dir, no podem pretendre estudiar l'addicció mitjançant l'administració forçada o no intencionada d'alcohol. Aquest fet, porta a pensar en la participació de mecanismes d'aprenentatge com a components clau del procés addictiu.

El fet que l'alcohol modula positivament la funció colinèrgica de tipus nicotínic, la implicació d'aquest receptor, i el seu agonista endogen, en processos com l'aprenentatge i la memòria i que el procés addictiu comparteix amb aquests dos processos les característiques de plasticitat, irreversibilitat i dependència del reforçament (Paula-Barbosa *et al.*, 1993), ens va fer pensar en la possibilitat d'estudiar l'estat funcional d'aquests receptors en el feix septohipocàmpic d'animals alcohòlics com a possible substrat neural responsable de l'addicció a l'alcohol. Una dada molt important a favor d'aquesta hipòtesi és l'obtinguda en humans en la tesi doctoral d'Àngela Hernández l'any 1997, dirigida pel Dr. Sánchez-Turet. Aquesta investigadora observà un increment del ritme *theta* hipocampal en subjectes tolerants, bevedors habituals d'alcohol. Aquest ritme, clarament implicat en processos d'aprenentatge i memòria, ve regulat per les aferències que rep provinents del *septum* medial, que actua com a marcapasses. El circuit que uneix ambdues estructures rep el nom de feix septohipocàmpic i, aproximadament el 50% de les seves fibres, són colinèrgiques. L'acetilcolina, via receptor nicotínic, és un neurotransmissor fortament relacionat amb processos plàstics com l'aprenentatge i la memòria, i amb patologies on hi ha una degeneració dels processos cognitius com l'Alzheimer i diverses demències senils (Givens i Breese, 1990a; Levin i Rezvani, 2000).

Sabem que quan el receptor nicotínic és sotmès de manera crònica a un agonista (com és la nicotina en el cas dels fumadors) o a un modulador positiu com és l'alcohol, aquest es regula a l'alça (Yoshida *et al.*, 1982) i que aquest tipus de regulació paradoxal (Wonnacott, 1990) sembla ser de tipus permanent. Hom ha pogut demostrar, en l'hipocamp de rates alcohòliques, una sensibilització funcional als efectes de la nicotina *in vivo* (García-Rebollo *et al.*, 2005) que ha pogut ser verificada en termes d'un important augment de la densitat del receptor nicotínic en l'hipocamp de rates alcohòliques (Robles *et al.*, 2003). Aquesta adaptació permetria explicar la dificultat que manifesten els alcohòlics per deixar de beure (falla en el control inhibitori), el nombre de recaigudes que pateixen abans de aconseguir-ho (irreversibilitat) i la sensibilitat que presenten a una única nova exposició de la droga que els hi suposa, ràpidament una nova recaiguda (sensibilització funcional).

Sorprenentment, un aspecte negligit en l'estudi de les teràpies farmacològiques (i conductuals) per fer front a l'alcoholisme és l'estat en el que es troba l'alcohòlic quan deixa de beure, és a dir, que el seu comportament és funció, almenys en part, d'un SNC sotmès a una condició particular: la manca d'alcohol. Aquest fet representa una complicació suplementària per a la finalitat terapèutica ja que els canvis cerebrals que sostenen l'alcoholisme són irreversibles. No obstant això, probablement, aquests canvis funcionen de manera diferent en funció de si hi ha presència o absència d'alcohol. Sabem que en el primer cas, produeixen el consum sostingut i abusiu, mentre que en el segon propicien les recaigudes, però es tracta realment del mateix procés? Els canvis que hem anomenat irreversibles, es modifiquen durant l'abstinència? De fet, des d'un punt de vista estructural i funcional, el cervell que decideix deixar de beure potser no és el mateix que el que decideix reincidir.

Atès el gran nombre d'interrogants que encara hi ha actualment al voltant de l'alcohol i dels seus efectes en el SNC, aquest treball centra el seu interès en l'efecte del consum crònic d'alcohol en la funció colinèrgica del *septum* medial, tant en l'alteració que pateix aquesta estructura sota els efectes de l'alcohol com en situació d'abstinència. D'altra banda, també és pretén estudiar la relació existent entre aquests canvis i la capacitat per aturar un comportament degut a la implicació que té aquesta estructura en la inhibició conductual i a la dificultat que manifesten els alcohòlics per deixar de beure.

2. ALCOHOL I ALCOHOLISME

2. ALCOHOL I ALCOHOLISME

2.1. Característiques de l'alcohol

L'alcohol és tal vegada la droga més antiga que es coneix. L'inici del seu consum se situa al voltant del cinquè mil·lenni a.C. i, des de llavors, ha estat considerat de diferents maneres depenent del moment històric i cultural. Al llarg de la història s'ha consumit com a aliment, en cerimònies religioses, com a pal·liatiu del dolor i, avui dia, és considerat una droga. Malgrat que l'alcohol pot tenir efectes nocius per a la salut, és una substància molt integrada socioculturalment i està molt lligada a les nostres festes i celebracions.

Es tracta d'una droga amb una potència relativa baixa que normalment es consumeix per via oral; només en algunes societats del nord d'Europa, com la finlandesa, l'alcohol s'inhala a les saunes, on es col·loca l'alcohol en recipients que en permeten l'evaporació gràcies a les elevades temperatures a què s'arriba (Snyder, 1980).

Malgrat que el percentatge de persones que la consumeixen i s'hi fan addictes és baix (aproximadament un 8%) en comparació amb altres drogues com la cocaïna o l'heroïna, resulta no obstant això una droga perillosa atesa la dificultat que manifesten els addictes per a deixar de consumir-la i el nombre de recaigudes que pateixen abans d'aconseguir-ho. A més, l'addicció a l'alcohol és una condició mèdicament greu, donat el gran nombre de malalties secundàries que causa (vegeu punt 2.2.) i la perillositat de la síndrome d'abstinència (vegeu punt 2.5.). D'altra banda, també és font de problemes en els àmbits social i de salut pública, ja que el seu consum crònic sovint es troba relacionat amb maltractaments a la parella (30%), assassinats (40-50%), accidents de trànsit (35-55%) i accidents laborals (20-30%), entre d'altres, i implica elevats costos anuals a l'administració pública (l'any 1998 es va estimar que els costos derivats de l'alcoholisme superaven els 3.600 milions d'euros anuals) (Gual i Bobes, 2004).

L'alcohol és una droga amb un perfil bifàsic dosi-dependent, és a dir, a dosis baixes té un efecte lleugerament estimulant. Dins aquest rang de dosi és moderadament euforitzant, proporciona plaer, és un activador psicomotor i, inclús, té certs efectes antidepressius. A dosis mitjanes o altes actua com a relaxant muscular, com a ansiolític; en definitiva, té efectes progressivament depressors: analgèsic, anestèsic... fins arribar a poder produir un estat de coma i la mort.

L'alcohol no actua en un únic receptor específic sinó que té una acció moduladora en diferents sistemes de neurotransmissió, cada un dels quals sembla actuar com a mediador dels diferents efectes conductuals que produeix el seu consum (vegeu capítol 5).

Les propietats gratificants de l'alcohol es relacionen, generalment, amb l'eufòria i l'estimulació psicomotriu que indueix a dosis baixes (Koob i Bloom, 1988). No obstant això, altres aspectes del perfil farmacològic de l'alcohol poden afegir-se al seu poder gratificant. L'alcohol té un efecte ansiolític que pot ser gratificant quan es consumeix en situacions d'ansietat, són els anomenats efectes reforçadors negatius. En aquestes ocasions, també es pot generar reforçament secundari donat que, si redueix el nivell d'ansietat, la conducta de l'individu pot ser més adaptada sota els efectes de l'alcohol i propiciar l'obtenció d'altres reforçadors positius (Ferré, 1996).

Segons les dades de què es disposa actualment, sembla que els efectes depressors són susceptibles de generar tolerància i que, quan això succeeix, els efectes activadors, que no produeixen tolerància, es fan més evidents (Stolerman, 1992). Aquest sembla ser el punt en què es troben els consumidors habituals: la tolerància fa que no es presentin els efectes depressors de les dosis mitjanes i que, en canvi, siguin més notoris els efectes activadors i de plaer que, al contrari del que succeeix amb els opiacis, no semblen generar tolerància amb el consum crònic.

2.2. Efectes de l'alcohol en l'organisme

A l'hora de parlar de l'efecte de l'alcohol en l'organisme és important diferenciar entre el tipus de consum, agut o crònic, i la dosi consumida en cada cas. Atès que el present treball experimental pretén estudiar els efectes en el SNC del consum continuat d'alcohol, principalment es farà referència als efectes del consum crònic d'aquesta substància en el SNC.

En general, l'alcoholisme crònic es caracteritza per presentar una sèrie de signes clínics com ara envermelliment facial, tremolors a les mans, halitosi alcohòlica, pituites matutines (nàusees/vòmits), gastritis, insuficiència hepàtica i cardíaca, arterioesclerosi generalitzada, hiperreflexia rotuliana (que desapareix en els casos més greus), disàrtria, parestèsies nocturnes, tremolors, polineuritis i àrees d'anestèsia, que generalment estan relacionades amb una manca de vitamina B1 (Martí-Tusquets i Murcia-Grau, 1988). A més d'aquests signes, els alcohòlics presenten altres malalties i complicacions a causa de l'efecte d'aquest en el fetge i en els sistemes nerviós, cardiovascular i gastrointestinal, amb les pertinents complicacions nutricionals. Els grans bevedors també presenten un alt risc de sofrir càncer de llengua, boca, orofaringe, hipofaringe, esòfag, laringe i fetge (Miller i Gold, 1993).

2.2.1. Afectació hepàtica

Un dels òrgans més afectats per l'alcohol és el fetge. Les principals alteracions hepàtiques que es donen són:

1) esteatosi (o fetge gras), que es caracteritza per una acumulació d'àcids grassos al fetge.

2) hepatitis alcohòlica: és un trastorn greu que pot arribar a ser mortal. Es produeix una necrosi cel·lular hepàtica i es caracteritza per icterícia, febre, anorèxia i dolor al quadrant superior dret de l'abdomen.

3) cirrosi hepàtica: és un trastorn molt greu que es caracteritza per la mort del teixit hepàtic, que és substituït per nòduls fibrosos que impedeixen la funció normal

del fetge, i que comporta tota una sèrie d'efectes secundaris que afecten el funcionament de tot l'organisme, fins a causar un coma i la mort. Aquesta patologia no és molt freqüent en la totalitat de la població alcohòlica, aproximadament entre un 5 i un 10%, però augmenta significativament amb l'edat i la cronicitat. Els signes més freqüents són: icterícia, aranyes vasculars, eritema al palmell de mans i peus, edema, atròfia testicular, ginecomàstia, varius esofàgiques, augment o disminució del volum del fetge, insuficiència renal i encefalopatia hepàtica (Miller i Gold, 1993). El 5-10% dels pacients amb cirrosi desenvolupen un hepatocarcinoma (Pérez de los Cobos i Guardia, 1998).

D'altra banda, el consum crònic d'alcohol dona lloc a un augment en la seva velocitat de metabolització. Aquest efecte s'ha atribuït a un augment en l'activitat del sistema MEOS (Salaspuro i Lieber, 1978; Khanna i Israel, 1980; Pratt *et al.*, 1990; Lieber, 1991a) i de la via de l'enzim ADH (Khanna i Israel, 1980; Keiding *et al.*, 1983). L'activitat incrementada de la via MEOS provoca una major producció de peròxid d'hidrogen, cosa que facilita la producció de radicals lliures (Lieber, 1988). A més, una major activitat MEOS resulta en la degradació i disminució dels nivells de vitamines, hormones i altres nutrients que intervenen en aquesta via metabòlica, provocant entre d'altres efectes, una major eliminació hepàtica de testosterona i altres cetoesteròids, que ha estat relacionada amb les alteracions de l'activitat androgènica que es dona en aquest tipus de pacients (Rubin *et al.*, 1976). Un altre dels efectes de l'augment de l'activitat d'aquesta via és que produeix una reducció en la capacitat de les mitocòndries hepàtiques per a oxidar l'acetaldehid, cosa que explicaria els nivells elevats d'acetaldehid que es troben en individus amb alcoholisme crònic (Lieber, 1991a).

2.2.2. Afectació gastrointestinal

A nivell gastrointestinal, el consum crònic d'alcohol provoca irritació i inflamació de la mucosa del tracte gastrointestinal que dona lloc a gastritis, gastritis erosiva, úlceres gàstriques, gastritis atròfica, hemorràgia gàstrica, duodenitis i úlceres duodenals (Miller i Gold, 1993). El pàncrees també es pot veure afectat, i donar-se una pancreatitis aguda que pot evolucionar i convertir-se en crònica si el consum d'alcohol no s'interromp. Aquesta malaltia pot cursar amb diabetis quan es produeix un dany en el parènquima pancreàtic. La falta d'enzims pancreàtics i sals biliars junt amb les alteracions de la mucosa de l'intestí prim poden causar una síndrome de malabsorció (Pérez de los Cobos i Guardia, 1998).

Aquestes complicacions gàstriques donen com a resultat una clara malnutrició ja que d'una banda, l'alcohol interfereix en l'absorció dels aliments a diferents nivells (mucosa gàstrica, intestí prim, pàncrees) i, de l'altra afecta la digestió, el metabolisme i la utilització dels nutrients, sobretot de vitamines. Els dèficits més importants que es troben en els alcohòlics són els d'àcid fòlic, piridoxina (vitamina B6), tiamina (vitamina B1) i dèficits en vitamines liposolubles com les vitamines A, D i K (Lieber, 1991a). A més, l'alcohol resulta una font calòrica que pot desplaçar la ingesta de nutrients importants. Tot i que aporta 7,1 Kcal per gram, no té cap valor nutricional, són les anomenades "calories buides". A més, un dels efectes secundaris de la gastritis és la pèrdua de gana.

2.2.3. Afectació cardiovascular

Sembla que la ingestió crònica d'elevades dosis d'alcohol provoca un augment important en la morbiditat i mortalitat per problemes cardiovasculars. En individus alcohòlics s'han observat trastorns cardíacs com ara arítmies, augment de la freqüència cardíaca i també un augment de la pressió sanguínia associats tant amb la ingesta aguda com crònica, possiblement per l'estimulació del sistema renina-angiotensina-aldosterona (Pérez de los Cobos i Guardia, 1998). Aquest efecte es detecta tant durant l'estat d'intoxicació com en l'inici de l'abstinència, però la tensió

arterial sol baixar al seu nivell normal pocs dies després de cessar el consum sense necessitat de tractament específic (Miller i Gold, 1993).

Els accidents vasculars cerebrals relacionats amb el consum d'alcohol es produeixen per hipertensió arterial, arítmies, insuficiència cardíaca congestiva i alteracions de la coagulació sanguínia (Pérez de los Cobos i Guardia, 1998).

2.2.4. Afectació del SNC

El consum crònic d'alcohol dóna lloc a una sèrie de canvis adaptatius a nivell molecular que es detallen en el capítol 5. Però, d'altra banda, també s'ha de tenir en compte l'efecte de l'alcohol a nivell macroscòpic i les malalties neurològiques que apareixen com a conseqüència del consum perllongat d'alcohol. El tipus i l'extensió d'aquestes complicacions neurològiques depèn de la gravetat i durada del consum, de l'estat nutricional i de la susceptibilitat individual a l'alcohol (Miller i Gold, 1993).

És interessant subratllar que les síndromes neurològiques clàssiques per consum d'alcohol no sempre són causades pel seu efecte tòxic directe. Per exemple, una d'aquestes síndromes és la de Wernicke-Korsakoff, i es produeix com a conseqüència del dèficit de tiamina (vitamina B1). La fase aguda d'aquesta síndrome rep el nom d'encefalopatia de Wernicke i dóna com a simptomatologia un estat confusional global, oftalmoplègia, nistagme, atàxia i polineuropatia en braços i cames. Coexisteix en una afectació motora, cognitiva i de l'afecte. L'estat confusional es caracteritza per desorientació (en el temps, l'espai i la persona), incapacitat per a reconèixer els familiars, dificultats per a mantenir una conversa coherent i, sovint, fabulacions. Si aquest pacient no es tracta amb tiamina pot patir hemorràgies diencefàliques. El tractament amb vitamines pot millorar considerablement la situació neurològica del quadre, i els signes neurològics de la fase aguda –l'atàxia, el nistagme, la paràlisi ocular, l'estat confusional i la polineuropatia perifèrica– milloren o desapareixen. D'altra banda però, hi ha pacients que queden afectats i evolucionen cap una síndrome de Korsakoff pura (Adams i Victor, 1993). Tot i que també s'han descrit casos amb amnèsia de

Korsakoff que no han patit prèviament l'encefalopatia de Wernicke (Victor *et al.*, 1989).

El pacient amb la síndrome de Korsakoff està despert, respon i està relativament atent. És capaç d'obeir ordres verbals i escrites, deduir conclusions de premises i resoldre problemes que no suposin anar més enllà de la memòria de treball. La memòria immediata i la remota estan relativament intactes. El problema principal que presenten és una amnèsia retrògrada pels fets públics i personals amb gradient temporal, és a dir, tenen afectada la memòria per a episodis ocorreguts en els últims anys però no per a aquells de temps llunyans. Les capacitats de memòria implícita i procedimental estan intactes (Butters i Stuss, 1989). A més del trastorn mnèsic, en aquests pacients s'observa un afecte pla, apatia i poca o nul·la consciència de dèficit.

El perfil clàssic d'un malalt amb la síndrome de Korsakoff mostra un quocient d'intel·ligència (QI) molt superior al quocient de memòria (QM). Tot i que el QI es manté bastant preservat s'observen alteracions d'algunes funcions cognitives com ara disfuncions visuoespacials, visuoperceptives i visuoconstructives. Altres alteracions neuropsicològiques que es donen són canvis en la personalitat, augment de la impulsivitat, agressivitat, conducta antisocial i desinhibició (Butters i Stuss, 1989).

L'amnèsia produïda per la síndrome de Korsakoff està considerada com un exemple clàssic d'amnèsia diencefàlica. S'observen lesions simètriques de les estructures cerebrals que envolten el tercer ventricle, l'aqüeducte i el quart ventricle. Més concretament cossos mamil·lars, tàlem dorsolateral, *locus coeruleus*, substància grisa periaqüeductal, nucli ocular motor i nucli vestibul·lar. També, tot i que amb menor freqüència, s'han descrit lesions en els col·licles, la regió septal, l'hipocamp i el còrtex cerebral, estructures en les quals s'observa una pèrdua difusa de neurones i la proliferació d'astròcits. En un 50% dels casos s'han descrit lesions cerebel·loles que consisteixen en una pèrdua selectiva de neurones de Purkinje (Charness, 1993). Tal vegada, el signe neurològic més típic d'aquesta encefalopatia sigui l'atròfia dels cossos mamil·lars, que es dona aproximadament en el 80% dels casos (Victor *et al.*, 1989).

Les neurones més afectades per l'acció neurotòxica de l'alcohol són les colinèrgiques del complex basal, són neurones que es troben disminuïdes en pacients amb la síndrome de Korsakoff. Aquestes lesions poden explicar la preponderància de la simptomatologia amnèsica i el quadre demencial, que a vegades s'associa amb aquesta síndrome (Arendt *et al.*, 1983). D'altra banda, els dèficits de tiamina també poden produir una depleció de neurotransmissors, concretament de neurones colinèrgiques i contribuir també a la pèrdua de memòria (Kopelman i Corn, 1988). La síndrome de Korsakoff millora quan es tracta amb tiamina, però no sempre es recupera la memòria fins a un nivell normal (Miller i Gold, 1993).

El dèficit de niacina dóna lloc a la pel·lagra, que es caracteritza per l'aparició de dermatitis, diarrea, irritabilitat, ansietat, insomni i *delirium*. Aquests pacients presenten lesions en les neurones de l'escorça motora, ganglis basals i nuclis motors del tronc de l'encèfal (Pérez de los Cobos i Guardia, 1998).

Entre un 50-70% dels alcohòlics presenta alteracions cognitives (Martin *et al.*, 1986; Charness, 1993). Durant els primers mesos d'abstinència les disfuncions cognitives augmenten en les dues tercers parts dels individus que estan en desintoxicació, però en la majoria, després d'una abstinència perllongada, aquestes alteracions es normalitzen, si no totalment, almenys parcialment. En un 10% dels casos els trastorns perseveren i s'observa un deteriorament progressiu que evoluciona en forma de demència (Fein *et al.*, 1990).

Les alteracions cognitives més freqüents són trastorns intel·lectuals i del raonament complex, trastorns de la memòria i trastorns de l'atenció (Adams *et al.*, 1993). Presenten deficiències en la capacitat per a elaborar plans i alternatives de conducta i, una menor habilitat per a la resolució de problemes (Fleischhacker i Kryspin-Exner, 1986; Beatty *et al.*, 1993). En proves que impliquen manipulació, coordinació sensoriomotriu complexa i velocitat, l'execució dels alcohòlics és pitjor que la dels que no ho són (Parson, 1987; Williams i Skinner, 1990).

També s'han descrit problemes de tipus atencional, no obstant això, no estan lligats amb un canvi en la capacitat atencional sinó amb un problema de focalització. Els alcohòlics en estat d'intoxicació o en abstinència tendeixen a focalitzar l'atenció

en els aspectes més rellevants de l'entorn, en especial davant senyals d'amenaça (Ziechner *et al.*, 1993).

Sovint, també s'observen canvis en la personalitat d'aquests malalts, que poden repercutir en la seva vida social, laboral i familiar. Solen tenir tendència a la irritabilitat amb manca d'inhibició i pèrdua de control. Aquests últims trastorns descrits són producte de l'alteració que mostren aquests pacients en el lòbul frontal (Jacobson i Lishman, 1987; Ron, 1987; Adams *et al.*, 1993).

L'alcohol no afecta totes les àrees cerebrals per igual: el còrtex, i en especial els lòbuls frontals semblen particularment sensibles als seus efectes tòxics (Jernigan *et al.*, 1991). Estudis de neuroimatge en alcohòlics crònics mostren l'existència de dilatació ventricular, en especial al voltant del tercer ventricle, una atròfia cortical difusa, que predomina en els lòbuls frontals, i un encongiment de la vermis i els lòbuls cerebel·losos (Adams i Victor, 1993; Wong i Brasic, 2001). Alguns estudis han informat d'una reducció del 22% en la densitat neuronal del còrtex frontal superior de subjectes alcohòlics, reducció que encara és més pronunciada en aquells que presenten l'encefalopatia de Wernicke (Charness, 1993). Estudis fets amb imatges funcionals amb fluorodesoxiglucosa mostren que les àrees amb menor activitat són els lòbuls frontal i lateral i els ganglis basals (Kato *et al.*, 2000). Aquesta atròfia cerebral es correlaciona amb el deteriorament intel·lectual.

El cerebel és una altra estructura que sembla especialment vulnerable als efectes tòxics de l'alcohol. Aproximadament el 40% dels pacients alcohòlics presenten atròfia cerebel·lar, principalment en la part superior del vermis (Victor *et al.*, 1959; Torvik i Torp, 1986; Sullivan *et al.*, 1995). Aquesta atròfia i l'hipometabolisme cerebel·lar en pacients alcohòlics s'ha confirmat també mitjançant tècniques de neuroimatge (Cala *et al.*, 1978; Gilman *et al.*, 1990; Davila *et al.*, 1994).

Les autòpsies realitzades a persones amb una història de consum crònic d'alcohol confirmen les dades obtingudes amb els estudis de neuroimatge i constaten una reducció del nombre total de neurones del còrtex frontal superior i del còrtex motor, una disminució de la massa cerebral i un augment proporcional

dels ventricles en comparació amb subjectes de la mateixa edat i gènere no alcohòlics (Harper *et al.*, 1987; Krill *et al.*, 1997; Wong *et al.*, 2003).

2.3. L'alcohol com a substància addictiva

L'alcohol és una droga peculiar ja que a diferència d'altres drogues permet el seu consum, fins i tot durant llargs períodes de temps, sense que hagi de generar necessàriament addicció. A més, d'entre les persones que aparentment han tingut la mateixa exposició a l'alcohol, unes s'hi fan addictes i d'altres no.

El procés per mitjà del qual es desenvolupa una dependència és gradual, ocorre durant anys i normalment requereix d'una prolongada i repetida exposició del cervell a nivells significatius d'alcohol en sang (Spanagel, 2003). Inicialment, la simple preferència per una droga, com pot ser l'alcohol, no implica cap tipus de dependència, i reflectiria el que s'anomena consum "controlat", que seria el cas del bevedor social. En aquest estadi, s'obtenen els efectes reforçants de la droga però la persona encara és capaç de reduir o inclús deixar de consumir la droga depenent de les circumstàncies. Si el consum continua, arriba un moment en què aquest deixa de ser flexible i s'arriba al que Coper *et al.* (1990) han anomenat punt de ruptura (o *point-of-no-return*). L'individu deixa de tenir control sobre la ingesta d'alcohol de manera que aquesta es torna compulsiva i irreversible, malgrat el gran nombre de problemes familiars, socials i laborals que li ocasiona.

La frontera entre el bevedor habitual i l'addicte és poc clara, i es desconeix quin és el moment en què es dona aquest canvi i es passa d'un consum controlat a un consum compulsiu, ni per què això succeeix en algunes persones i en d'altres no.

Actualment no hi ha acord en relació amb la definició del concepte d'*addicció a substàncies psicoactives*. Aquest fet es deu, en part, a la diversitat de variables, mètodes i anàlisis emprats en les diferents disciplines científiques que es dediquen a estudiar l'etiologia, el desenvolupament, el manteniment i el tractament de l'addicció (Miller, 1991). L'enfocament tradicional explicava l'addicció a les drogues mitjançant el desenvolupament de la tolerància i la dependència, però aquest plantejament no se

sosté avui dia un cop s'ha demostrat que ambdós processos no són ni específics ni determinants de l'addicció (Carroll *et al.*, 1994; Hyman, 1993, 1994).

Perquè una droga pugui generar addicció ha d'acomplir tres condicions: ha de produir efectes gratificants, ha de provocar una pèrdua de control en la conducta d'autoadministració i aquesta pèrdua de control ha de ser irreversible (Coper *et al.*, 1990). Això porta a considerar l'addicció com un procés en què el subjecte canvia gradualment el patró d'autoadministració de la droga, fins a arribar a un punt en què la conducta ja no és reversible. De fet, una característica comuna de totes les drogues addictives és la seva capacitat per a dificultar el control (inhibitori) del subjecte sobre la seva pròpia conducta. Si es comparen diferents tipus de drogues entre elles, la diferència pel que fa al seu potencial addictiu no depèn tant del valor gratificant de cada una, sinó de la pèrdua irreversible del control –més crítica– que és capaç de produir. El poder gratificant d'una droga és, doncs, condició necessària però no suficient perquè aquesta sigui addictiva. Des d'aquest punt de vista, es pot plantejar l'addicció en termes d'una falla per a inhibir la conducta consumidora produïda per l'abús de la substància (Fillmore, 2003).

La tolerància i la dependència, malgrat ésser fenòmens que sovint apareixen juntament amb l'addicció, no són específics ni determinants perquè aquesta es doni, i a més, es poden donar per separat (Ritzmann i Tabakoff, 1976). Per exemple, una persona pot ser tolerant a certs efectes de l'alcohol, com ara els depressors, i no ésser-hi addicta. De la mateixa manera, una persona pot ser dependent d'una substància com la morfina sense desenvolupar-hi addicció. És el cas del consum d'opiàcis, com la morfina, per prescripció mèdica. Si aquest consum es manté en el temps, probablement s'acabi generant una dependència que obligui a retirar progressivament aquesta medicació per tal d'evitar l'aparició de signes propis d'una síndrome d'abstinència, però això no implica que s'hagi desenvolupat una addicció.

Tot i això, tampoc no s'ha de perdre de vista que tant la tolerància com la dependència es donen com a resultat del consum regular d'una droga i representen els intents de l'organisme per mantenir el funcionament normal en presència (tolerància) o absència (dependència) de la droga i, per tant, poden contribuir al desenvolupament de l'addicció (Goudie, 1991; Miller, 1991). És per això, que l'ús

crònic d'una droga es veu afectat, indubtablement, per les capacitats d'abús i de dependència, encara que la rellevància de cadascun d'aquests processos pot diferir depenent del tipus de droga, del temps que fa que es consumeix i de la via d'administració. Tanmateix, sembla que la tolerància sí contribueix a l'addicció a la droga, ja que permet l'augment progressiu de la dosi (Hoffman, 1983) i, en conseqüència l'abús.

Quant a les bases biològiques responsables de l'addicció, la majoria d'estudis s'han centrat en l'estudi de les vies del reforç, però fins ara no s'ha arribat a esbrinar quines són les estructures i les adaptacions claus que permeten explicar i revertir l'addicció. La psicobiologia de l'alcoholisme planteja que existeix una relació entre els canvis produïts en el Sistema Nerviós Central (SNC) pel consum crònic de dosis tòxiques d'alcohol i la conducta addictiva. D'aquesta manera, els canvis que produeix l'alcohol en el SNC són a la base tant de la tolerància i la dependència com de l'addicció, i haurien de ser l'objectiu d'una teràpia, probablement farmacològica, destinada a solucionar de manera permanent aquesta patologia.

En el cas de l'alcohol, és important tenir en compte que l'adaptació que estem buscant ha de ser de caire irreversible atès que, malgrat llargs períodes d'abstinència, l'alcohòlic no pot tornar beure si vol evitar una més que probable recaiguda.

2.4. Definició d'alcoholisme i criteris diagnòstics

Tot i que no hi ha acord a l'hora de definir *alcoholisme* com a malaltia o com a síndrome (Aragón i Miquel, 1995), podríem dir que una persona alcohòlica es caracteritza per consumir, de manera incontrolada, begudes alcohòliques fins a un punt que interfereix en la seva salut física i/o mental i en les seves responsabilitats socials, familiars i/o ocupacionals.

Els manuals diagnòstics DSM-IV-TR i CIE-10 diferencien entre l'abús i la dependència de l'alcohol atès que, d'una banda, hi ha persones que consumeixen alcohol reiteradament de manera excessiva, però que mai no arriben a mostrar una síndrome d'abstinència, i de l'altra, persones que abusen igualment de l'alcohol i

mostren símptomes d'abstinència quan deixen de beure. Aquestes diferències són les que defineixen *dependència* i *abús*. A les taules I i II es recullen els criteris diagnòstics, segons el DSM-IV-TR, per a l'abús i la dependència de l'alcohol, respectivament.

Taula I. Criteris diagnòstics per a l'abús de l'alcohol, segons el DSM-IV-TR

Criteris diagnòstics per a l'abús d'alcohol, segons el DSM-IV-TR

A. Un patró desadaptatiu de consum d'alcohol que comporta un deteriorament o malestar clínicament significatiu, expressat per un (o més) dels ítems següents durant un període de 12 mesos:

- 1. Consum recurrent d'alcohol, que dona lloc a l'incompliment d'obligacions a la feina, l'escola o la casa (per exemple, absències repetides o baix rendiment relacionat amb el consum d'alcohol).*
- 2. Consum recurrent d'alcohol en situacions en què fer-ho és físicament perillós (per exemple, conduir un automòbil o accionar una màquina sota els efectes de l'alcohol).*
- 3. Problemes legals repetits relacionats amb l'alcohol.*
- 4. Consum continuat d'alcohol malgrat tenir problemes socials continuats o recurrents o problemes interpersonals causats o exacerbats pels efectes de l'alcohol (per exemple, discussions amb la parella sobre les conseqüències de la intoxicació o violència física).*

B. Els símptomes no han acomplert mai els criteris de dependència de l'alcohol.

Taula II. Criteris diagnòstics per a la dependència de l'alcohol, segons el DSM-IV-TR

Criteris diagnòstics per a la dependència de l'alcohol, segons el DSM-IV-TR

Un patró desadaptatiu de consum d'alcohol que comporta un deteriorament o malestar clínicament significatiu, expressat per tres (o més) dels ítems següents durant un període de 12 mesos:

- 1. Tolerància definida per qualsevol dels ítems següents:
 - a. Necessitat de quantitats marcadament creixents d'alcohol per a aconseguir la intoxicació o l'efecte desitjat.*
 - b. L'efecte de les mateixes quantitats d'alcohol disminueix clarament amb el seu consum continuat.**

- 2. Abstinència definida per qualsevol dels ítems següents:
 - a. Síndrome d'abstinència característica de l'alcohol (vegen criteris A i B dels criteris diagnòstics per a l'abstinència de l'alcohol; punt 2.5).*
 - b. Consum d'alcohol (o una altra substància molt semblant, com ara ansiolítics o hipnòtics) per a alleugerir o evitar els símptomes de la síndrome d'abstinència.**

- 3. El consum d'alcohol es dona, freqüentment, en quantitats superiors o durant un període de temps més llarg del que inicialment es pretenia.*

- 4. Hi ha un desig persistent o esforços infructuosos per a controlar o interrompre el consum d'alcohol.*

- 5. Es dedica molt de temps a activitats relacionades amb l'obtenció, el consum o la recuperació dels efectes de l'alcohol.*

6. Reducció o abandonament d'importantes activitats socials, laborals o recreatives a causa del consum d'alcohol.

7. Es continua consumint alcohol malgrat tenir consciència de problemes psicològics o físics recidivants o persistents, que semblen causats o exacerbats pel consum d'alcohol (per exemple, continuada ingesta d'alcohol malgrat que empitjori una úlcera).

Especificar si:

Amb dependència fisiològica: presència de signes de tolerància o abstinència (ítems 1 i 2).

Sense dependència fisiològica: no hi ha signes de tolerància o abstinència (no es compleixen ni l'ítem 1 ni el 2). Aquests individus es caracteritzen per un patró de consum compulsiu (han de complir almenys 3 ítems dels criteris 3 al 7).

2.4.1. Tipus de tolerància

Clàssicament, i depenent del mecanisme subjacent al desenvolupament de la tolerància, es distingeix entre la tolerància farmacocinètica o metabòlica i la farmacodinàmica o funcional (Pratt, 1991). La primera es refereix als canvis que es donen en l'absorció, la distribució, el metabolisme i/o l'excreció durant l'exposició repetida a la droga. Per exemple, en el cas de l'alcohol, es dona una major activitat hepàtica de la via MEOS (vegeu el capítol 4). La tolerància farmacodinàmica comprèn els canvis adaptatius que es produeixen a nivell neuronal: durant el desenvolupament de la tolerància (regulacions a l'alça i a la baixa de diferents tipus de receptors neuronals, vegeu el capítol 5).

També es parla de *tolerància conductual*, que fa referència a l'adaptació progressiva dels efectes conductuals de la droga, i de *tolerància apresada*, que és aquella que es dona davant la presència de determinats estímuls, que poden ser contextuals, socials o de tipus organolèptic. Cal aclarir, però, que l'acceptació d'aquesta terminologia no implica acceptar que la tolerància als efectes fisiològics tingui un substracte diferent de la tolerància als efectes conductuals.

De qualsevol manera, en el cas de l'alcohol, la tolerància és el resultat de l'experiència repetida amb la droga, i es genera amb certa independència per a cada aspecte del perfil farmacològic. Per exemple, s'ha trobat tolerància parcial als efectes hipotèrmics de l'alcohol (Cunningham i Bischof, 1987; Durcan *et al.*, 1989a), als seus efectes disruptors psicomotrius en conductes operants (Holloway *et al.*, 1989) o als seus efectes hipnòtics, mesurats a partir del reflex de redreçament (Feldstein, 1971; Tampier *et al.*, 1988).

L'alcohol presenta tolerància creuada amb els barbitúrics i les benzodiazepines, de manera que els alcohòlics solen requerir dosis superiors d'aquestes substàncies per a obtenir l'efecte desitjat. De fet, algunes benzodiazepines, com el diazepam, s'utilitzen per a desintoxicar alcohòlics durant el període d'abstinència ja que, gràcies a la tolerància creuada, és possible suprimir els signes i símptomes de la síndrome d'abstinència alcohòlica.

2.4.2. Efectes de l'aprenentatge en la tolerància i la dependència

Un aspecte molt important en relació amb la tolerància i la dependència, i la seva contribució a l'addicció a les drogues, és que ambdós processos poden estar influïts per factors d'aprenentatge (Goudie i Griffiths, 1986).

És, per exemple, el cas de l'anomenada *tolerància apresada*, que es dona davant la presència de determinats estímuls ambientals associats amb l'administració repetida d'una droga mitjançant processos de condicionament pavlovià. La tolerància a determinats efectes de les drogues pot mostrar-se o ser superior quan es mesura en un ambient associat amb l'administració de la droga que quan es fa en un ambient

que no hi està associat (Tabakoff i Hoffman, 1988; Bennet i Samson, 1991). La tolerància també s'atenua quan s'introdueix un estímul nou en un ambient associat amb l'administració de la droga (Siegel i Sdao-Jarvie, 1986). La importància dels factors associatius en el desenvolupament de la tolerància a l'alcohol s'han demostrat principalment pels efectes hipotèrmics (Cunningham i Schwarz, 1989) i pels hipnòtics (Melchior i Tabakoff, 1985). En el cas dels humans, s'han identificat entre els estímuls capaços d'adquirir control sobre la tolerància el tipus de beguda, l'hora en què es realitza la ingesta i, en menor grau, el lloc i la companyia (Silvestre, 1993).

Un altre fenomen relacionat amb la tolerància conductual és l'anomenat *aprenentatge dependent d'un estat*. Quan un individu ha realitzat un aprenentatge estant sota els efectes d'una droga requereix estar en el mateix estat per a recuperar la informació enmagatzemada. Aquest fenomen també s'atribueix a una associació per condicionament clàssic. Per exemple, els alcohòlics després d'una intoxicació pateixen el que s'anomena *blackout*, que són amnèsies llacunars dels fets ocorreguts durant l'estat d'intoxicació, així mentre la persona és incapaç de recordar res estant sobri sí que pot arribar a fer-ho estant ebri (Pérez de los Cobos i Guardia, 1998).

2.5. Síndrome d'abstinència, *craving* i recaiguda

Des del punt de vista farmacològic, la dependència és definida per l'aparició de signes i símptomes propis d'una síndrome d'abstinència quan se suspèn el consum de la droga. La síndrome d'abstinència es caracteritza per un conjunt de símptomes predictibles i estereotipats per a cada tipus de droga i representa una inadaptació del cervell i del cos a l'estat abstinent després d'un període d'adaptació en el qual s'ha desenvolupat la tolerància (Miller i Gold, 1993). A la taula III es recullen els criteris diagnòstics per a la síndrome d'abstinència alcohòlica, segons el DSM-IV-TR.

Taula III. Criteris diagnòstics per a la síndrome d'abstinència alcohòlica, segons el DSM-IV-TR

Criteris diagnòstics per a la síndrome d'abstinència alcohòlica segons DSM-IV-TR

A. Interrupció (o disminució) del consum d'alcohol després d'un consum perllongat i en grans quantitats.

B. Dos o més dels símptomes següents desenvolupats hores o dies després d'acomplir-se el criteri A:

- 1. Hiperactivitat autonòmica (per exemple, suors o més de 100 pulsacions per minut)*
- 2. Tremolors distals de les mans*
- 3. Insomni*
- 4. Náusees o vòmits*
- 5. Al·lucinacions visuals, tàctils o auditives transitòries, o il·lusions*
- 6. Agitació psicomotriu*
- 7. Ansietat*
- 8. Crisis comicials de gran mal*

C. Els símptomes del criteri B provoquen un malestar clínicament significatiu o un deteriorament de l'activitat social, laboral o d'altres àrees importants de l'activitat del subjecte.

D. Els símptomes no es deuen a cap malaltia mèdica ni s'expliquen millor per la presència d'un altre trastorn mental (per exemple, abstinència de sedants, hipnòtics o ansiolítics, o trastorn d'ansietat generalitzada).

Aquesta simptomatologia s'alleuja freqüentment després de l'administració d'alcohol o d'altres depressors del SNC. Els símptomes de l'abstinència comencen quan les concentracions d'alcohol en sang disminueixen bruscament, entre 4 i 12 hores després d'haver interromput o reduït la beguda. A causa la vida mitjana curta de l'alcohol, la simptomatologia de l'abstinència es mostra amb major intensitat durant el segon dia d'abstinència i millora de manera important al quart o cinquè dia. No obstant això, als símptomes de l'abstinència poden seguir símptomes com ara ansietat, insomni i disfuncions autonòmiques en diferents graus d'intensitat durant períodes de 3 a 6 mesos.

Menys del 10% dels subjectes presenten símptomes d'abstinència més greus com ara hiperactivitat autonòmica intensa, tremolors o *delirium tremens*.

Les crisis comicials de gran mal es donen en menys del 3% dels subjectes. El *delirium tremens* per absència d'alcohol inclou alteracions cognoscitives i de la consciència i també al·lucinacions visuals, tàctils o auditives i, normalment apareix quan existeix una malaltia mèdica associada (insuficiència renal, pneumònia, hemorràgia digestiva, seqüeles de traumatismes cranials, hipoglucèmia, alteracions de l'equilibri electrolític o estat postoperatori) (A.P.A. *et al.*, 2002).

La severitat de la simptomatologia de la síndrome d'abstinència depèn de diferents factors com ara la quantitat d'alcohol que es consumia abans d'iniciar l'abstinència, durant quant temps es bevia i el nombre d'intents d'abstinència previs. Hi ha un gran nombre d'estudis (Brown *et al.*, 1988; Lechtenberg i Worner, 1991, 1992; Booth i Blow, 1993; Worner, 1996; Shaw *et al.*, 1998; Malcolm *et al.*, 2000) que mostren un increment en la severitat de la simptomatologia de la síndrome d'abstinència i un *craving* més marcat després de repetits intents d'abandonar el consum d'alcohol. D'altra banda sembla que les persones que han deixat de beure alcohol en múltiples ocasions presenten un risc més gran de patir una nova recaiguda, i que quan es recau augmenta la quantitat d'alcohol consumida (Duka *et al.*, 2004). Tot i aquests factors, també existeix una important variabilitat individual, que es reproduceix en els estudis amb animals.

De qualsevol manera, la síndrome d'abstinència alcohòlica és una urgència mèdica de primera magnitud que requereix d'un tractament farmacològic pal·liatiu i

de la supervisió mèdica per a evitar més dany cerebral, com per exemple mort neuronal per excitotoxicitat, que amb el tractament adequat es pot evitar (vegeu punt 2.7.).

El concepte *craving* fa referència al desig intens, a vegades incontrolable, de beure alcohol, fins i tot després de llargs períodes d'abstinència. Moltes vegades, el *craving* és el responsable que es produeixin les recaigudes malgrat que ja no hi hagi indicis de la simptomatologia característica de l'abstinència.

L'aprenentatge i la memòria tenen un paper molt important en el manteniment de l'addicció i en les recaigudes. Els senyals associats amb l'administració de la droga o la síndrome d'abstinència poden actuar com a estímuls condicionats i atenuar una síndrome d'abstinència o bé desencadenar un quadre semblant al de l'abstinència de la droga, quan aquest no seria esperable. L'existència d'aquestes propietats associatives de l'abstinència s'ha demostrat tant en animals (Goldberg i Schuster, 1970) com en humans (O'Brien *et al.*, 1977 ; Ludwig, 1986).

De la mateixa manera, el desig per la droga (o *craving*) pot augmentar davant la presència de determinats estímuls ambientals associats amb el consum regular de la substància (Stewart *et al.*, 1984). En el cas de l'alcohol, s'ha demostrat que els senyals associats amb la ingesta d'alcohol poden facilitar-ne el consum, en una situació de lliure ingesta (Krank, 1989), o bé atenuar-lo en el període d'abstinència (Krank i Wall, 1990). Aquestes associacions han estat explicades mitjançant processos de condicionament pavlovà (O'Brien *et al.*, 1992; Trujillo, 1994). Per tant, és important tenir en compte aquests fenòmens associatius amb vista a la prevenció de les recaigudes en el consum d'una droga.

Per tal d'ajudar a afrontar situacions que impliquen un elevat risc per a l'alcohòlic, com ara veure l'anunci publicitari d'una beguda alcohòlica o trobar-se un antic amic del bar, i evitar la recaiguda es recomanen les intervencions terapèutiques de caire psicosocial. L'objectiu d'aquestes intervencions és augmentar la motivació per a deixar de beure, millorar l'autocontrol, l'assertivitat i les habilitats socials. Es pretén que davant d'esdeveniments vitals estressants la persona disposi d'estratègies d'afrontament que no siguin la de consumir alcohol. Les estratègies encaminades a resoldre situacions de risc elevat, com ara saber com rebutjar les invitacions a beure

sense deteriorar les relacions interpersonalmentals, resulten més efectives que les dirigides a evitar aquestes situacions. Aquests tipus de teràpies inclouen teràpies de grup, individuals, familiars, grups d'autoajuda i programes educatius que emfasitzen els danys que produeix el consum crònic d'alcohol (Miller i Gold, 1993; Pérez de los Cobos i Guardia, 1998; Gual i Bobes, 2004).

D'altra banda també és molt important evitar el consum involuntari d'alcohol d'aquestes persones. Hi ha alguns medicaments i també aliments o begudes (salses, alguns vinagres, begudes "sense alcohol") que porten alcohol i que podrien desencadenar una recaiguda ja que l'alcohòlic té grans dificultats per a deixar de consumir una vegada torna a tenir contacte amb l'alcohol, malgrat que porti molt temps sense beure.

2.6. Tipus d'alcoholisme i factors que hi intervenen

Quan en els grups d'alcohòlics anònims es parla de l'inici en el consum d'alcohol, l'opinió generalitzada és que hi ha alguna cosa diferent en aquells individus que acaben perdent totalment el control sobre el consum d'alcohol, moltes vegades a edats molt primerenques i després de poc temps de consum (McMillen, 1997). Aquest fenomen es dona en un percentatge petit de la població i també s'ha pogut reproduir en estudis fets en rates consumidores voluntàries d'alcohol de manera crònica (Nadal *et al.*, 1992).

Diversos autors han plantejat l'existència de tipologies d'alcoholisme diferents per tal de poder profunditzar en el diagnòstic i el tractament més adient, com també millorar els judicis que es fan sobre el pronòstic d'aquests pacients. L'antecedent històric més important és la classificació de Jellinek (1960) que va descriure cinc tipus d'alcoholisme: alfa, beta, gamma, delta i èpsilon. Aquest autor només va considerar com a malaltia els patrons gamma i delta en els quals hi ha dependència de la substància. Quant als alfa i beta, no hi ha dependència, i mentre que en l'alfa l'alcoholisme es desenvolupa per factors psicològics, en el beta és degut a factors

socioculturals. L'èpsilon es caracteritza perquè l'estat habitual, d'abstinència o de consum moderat, s'interromp per episodis d'ingesta massiva d'alcohol.

El patró de consum gamma és l'habitual de països en què s'acostuma a beure licor, com ara els Estats Units o la Gran Bretanya. Consisteix en períodes d'intoxicació diària durant setmanes o mesos. Els períodes d'abstinència són de durada variable i apareixen símptomes propis de la síndrome d'abstinència. Aquests individus tenen problemes amb el control: una vegada comencen a beure són incapaços de parar. En canvi, l'alcoholisme delta és comú en zones vitícoles, on es considera normal el consum de vi diverses vegades al dia, tots els dies. A França, aquest trastorn es coneix com l'*alcoolisme sans ivresse* i es caracteritza per un consum significatiu d'alcohol diari tot i que la persona no mostra signes evidents d'intoxicació. Aquestes persones ingereixen aproximadament la mateixa quantitat d'alcohol cada dia i no s'observa compulsió per excedir aquestes quantitats però, en cas que no consumeixin alcohol es manifesten els símptomes propis de la síndrome d'abstinència. En aquest cas s'observa una gran neuroadaptació i una marcada tolerància funcional als efectes de l'alcohol (Aragón i Miquel, 1995).

Una altra classificació va ser la proposada per Cloninger (1987), que planteja dos tipus d'alcoholisme: el tipus 1 amb un inici en el consum d'alcohol més tardà i en el qual no sembla que intervinguin factors genètics, i l'altre, el tipus 2, amb un inici més primerenc i amb una predisposició genètica. Les característiques de personalitat més comuns en els alcohòlics tipus 1 serien la tendència a evitar el dolor i l'obtenció de recompensa, mentre que en el tipus 2 seria la cerca de novetats i de noves sensacions. A més, sovint s'observa un elevat grau d'impulsivitat i trets de personalitat antisocial.

Babor i col·laboradors (1992) defensen l'existència d'un tipus A i B d'alcoholisme. El primer es caracteritza per un inici tardà, menor gravetat de la dependència, pocs factors de risc durant l'infància i baixa incidència de complicacions mèdiques, socials i psicopatològiques. Contràriament, el tipus B presenta un inici precoç, l'existència d'alteracions psicopatològiques prèvies, una marcada gravetat de l'addicció, antecedents familiars d'alcoholisme, consum d'altres substàncies psicoactives i una major incidència d'esdeveniments vitals estressants.

Tot i que no hi ha una única causa comuna responsable de l'alcoholisme, sí sembla que existeixen diversos factors que tenen un paper important en el seu desenvolupament. D'una banda es va plantejar la possibilitat que una part de la variància de l'alcoholisme s'expliqués per factors genètics, ja que freqüentment, fills de pares alcohòlics també acabaven desenvolupant aquesta addicció. Segons els diferents estudis realitzats sembla que l'alcoholisme té una heredabilitat del 50-60% (Goldman *et al.*, 2005). El risc de patir alcoholisme és de 3 a 4 vegades més gran en els familiars de primer grau dels subjectes alcohòlics i és encara més alt si hi ha un major nombre de familiars afectats, si les relacions genètiques amb l'alcohòlic són molt pròximes i si els seus problemes relacionats amb l'alcohol són greus. D'altra banda, els estudis amb bessons mostren una major concordància de l'alcoholisme entre els bessons monozigòtics que entre els dizigòtics (Pérez de los Cobos i Guardia, 1998; A.P.A., 2002).

Un factor, transmissible genèticament, que protegeix de desenvolupar l'alcoholisme és, per exemple, presentar una baixa tolerància a l'alcohol. Aquest és el cas del 50% de la població japonesa, xinesa i coreana, que presenta una deficiència de l'enzim aldehyd deshidrogenasa, encarregat del primer pas del metabolisme de l'alcohol a nivell gàstric. Concretament, el 10% d'aquest grup té una mancança total d'aquest enzim per la qual cosa quan consumeixen alcohol presenten una simptomatologia desagradable, com ara rubor facial, palpitations, mal de cap, disfòria, sensació d'instabilitat, nàusees i vòmits. El 40% restant presenta un dèficit relatiu d'aquest enzim, i la simptomatologia que mostra en cas de beure alcohol és menys intensa però, en qualsevol cas, continua presentant un risc significativament menor de desenvolupar addicció a l'alcohol (A.P.A., 2002).

Això no obstant, els factors genètics només expliquen una part del risc envers l'alcoholisme perquè, atès que la ingesta d'alcohol és una conducta apresada, una part significativa depèn de factors ambientals i interpersonals, sobretot en l'inici del consum, i que poden condicionar o provocar el desenvolupament subseqüent d'un patró de consum social o abusiu. És el cas de la influència que té en la persona el consum d'alcohol que es dona en la família, les actituds culturals cap a la beguda i els bebedors, la disponibilitat d'accés a l'alcohol —incloent-hi el preu—, les

expectatives que es tenen dels efectes de l'alcohol en l'estat d'ànim i el comportament, la pressió grupal i les experiències personals anteriors amb l'alcohol (A.P.A., 2002). Per exemple, algunes cultures com l'àrab, que castiguen el consum d'alcohol, dificulten que, malgrat que la persona pugui tenir certa predisposició a l'alcoholisme, aquest es desenvolupi.

Aquests factors, que condicionen l'inici del consum, suposen una associació entre beure alcohol i la presentació d'un altre tipus de reforçadors. El rol d'aquests reforçadors primerencs, que funcionen com a estímuls condicionats indiquen la disponibilitat i si és apropiat o no beure, i per tant, podrien ser de gran importància amb vista a com posteriorment es regula la conducta d'ingesta d'alcohol (Samson i Grant, 1990).

Com ja comentava Cloninger (1987) l'alcoholisme s'ha relacionat amb certes característiques de personalitat com ara la impulsivitat i la cerca de sensacions. D'altra banda, la hiperactivitat i els trastorns de conducta en la infància i la personalitat antisocial en l'adult també han estat relacionats amb la forma més precoç d'alcoholisme (Lewis *et al.*, 1983; Cloninger i Reich, 1983; Tarter *et al.*, 1990).

Els trastorns de l'estat d'ànim i l'ansietat també poden associar-se a la dependència de l'alcohol. Algunes evidències suggereixen que almenys una part de l'associació entre depressió i dependència de l'alcohol es pot atribuir a símptomes de depressió comòrbida que apareixen com a conseqüència dels efectes aguts de la intoxicació o l'abstinència (A.P.A., 2002).

Altres raons que poden portar una persona a consumir alcohol de manera abusiva poden ser alleujar els efectes secundaris produïts per altres substàncies o substituir-les en cas de no disposar-ne. D'altra banda, els símptomes de depressió, ansietat i insomni acompanyen freqüentment –i fins i tot a vegades precedeixen– la dependència de l'alcohol (A.P.A., 2002). Les situacions d'estrés, la baixa autoestima i els conflictes en les relacions interpersonals sense resoldre també poden ser desencadenants d'un consum abusiu d'alcohol.

Com a conclusió, podríem dir que en la gènesi de l'alcoholisme intervenen factors socials, psicològics i biològics, ja que d'una banda, i abans de res, s'ha de tenir accés a l'alcohol, i a més, aquest ha de tenir algun tipus d'efecte reforçant en la

persona; i d'altra banda, aquesta ha de presentar algún tipus de vulnerabilitat, atès que no totes les persones que consumeixen alcohol s'hi fan addictes. De qualsevol manera, el que està clar és que, amb predisposició o sense, l'abús continuat de dosis tòxiques d'alcohol molt probablement, a la llarga, esdevé un problema d'alcoholisme.

2.7. Tractaments de l'alcoholisme

En el tractament de l'addicció a l'alcohol es poden diferenciar dues fases. D'una banda la desintoxicació inicial, i de l'altra el procés de rehabilitació (Jung i Namkoong, 2006).

En la desintoxicació inicial es tracten, principalment, els símptomes aguts de la síndrome d'abstinència, mentre que en l'estadi de rehabilitació es procura prevenir les recaigudes i desenvolupar un estil de vida compatible amb una abstinència a llarg termini. Tradicionalment, la utilització de fàrmacs ha estat àmpliament acceptada durant la fase de desintoxicació mentre que, en l'estadi de rehabilitació, la pràctica clínica s'ha centrat en intervencions psicosocials i psicoterapèutiques consistents en teràpies individuals o de grup, tractaments cognitius-conductuals i l'assistència a grups de suport com ara Alcohòlics Anònims.

Malgrat que els tractaments psicosocials han mostrat tenir certa efectivitat pel que fa a reduir el consum d'alcohol i el manteniment de l'abstinència, entre el 40 i el 70% dels pacients pateixen recaigudes durant el primer any següent al tractament (Finney *et al.*, 1996). És per això, que actualment s'està treballant en el desenvolupament de teràpies farmacològiques que permetin augmentar els períodes d'abstinència i evitar les recaigudes, com a complement de les intervencions psicosocials.

2.7.1. Fàrmacs dissuasius del consum d'alcohol

Disulfiram (Antabuse®) i cianamida càlcica (Colme®)

El disulfiram va ser el primer fàrmac proposat per al tractament de l'alcoholisme. La cianamida càlcica i el disulfiram són substàncies que actuen interferint el metabolisme de l'alcohol, mitjançant la inhibició de l'activitat de l'enzim aldehydeshidrogenasa (ALDH). Això provoca l'acumulació d'acetaldehid, producte tòxic per a l'organisme, que dona lloc a hipotensió, rubor facial, palpitations, hiperventilació, mal de cap, nàusees i vòmits quan els pacients consumeixen alcohol. L'objectiu d'aquest fàrmac és crear aversió a l'alcohol més que modular-ne els efectes neuroquímics (Kiefer i Mann, 2005; Jung i Namkoong, 2006). La cianamida produeix una inhibició enzimàtica més ràpida i breu que el disulfiram, per la qual cosa els alcohòlics en recuperació la poden pendre ocasionalment quan anticipen una situació de risc elevat que pot interrompre l'abstinència (Pérez de los Cobos i Guardia, 1998).

Tot i que s'han fet diversos estudis per a valorar l'eficàcia d'aquest fàrmac en humans, pocs han estat rigorosos. Els assajos clínics més fiables han obtingut resultats inconsistents i no mostren un benefici terapèutic clar a l'hora d'incrementar el període d'abstinència (Garbutt *et al.*, 1999). Sembla que els tractaments psicològics que promouen el compliment del tractament farmacològic —entrenament en estratègies d'afrontament i tècniques de control d'estímuls—, augmenten l'eficàcia del disulfiram (Bohn, 1993). Per tant, se suggereix que l'ús d'aquest fàrmac s'integri com a part d'un programa de tractament multicomponent i no es consideri l'únic abordatge terapèutic de l'alcoholisme.

A més de la simptomatologia que s'ha comentat anteriorment, el consum d'alcohol quan es pren disulfiram pot provocar reaccions més greus com ara infart de miocardi, col·lapse cardiovascular, arítmies, depressió respiratòria, convulsions i la mort (Ayerst Laboratories, 2001). Per tant, es tracta d'un fàrmac que necessita de la supervisió mèdica continuada del pacient (Williams, 2005) i que es desaconsella en pacients amb hipertensió, diabetis, malalties cardíaques, antecedents d'accidents

cerebrovasculars, neuropaties perifèriques, epilèpsia o insuficiència renal i/o hepàtica (Kiefer i Mann, 2005).

2.7.2. Fàrmacs pal·liatius de la simptomatologia de l'abstinència alcohòlica

Benzodiazepines

Les benzodiazepines actuen en el receptor GABA_A de manera similar a l'alcohol, i poden contrarestar l'estat d'hiperexcitabilitat del SNC en absència d'aquesta substància. De fet, hi ha tolerància creuada entre l'alcohol i les benzodiazepines i, per tant, poden en certa manera, actuar de manera substitutiva. Sovint s'utilitzen en la fase inicial de desintoxicació per tal de disminuir la simptomatologia de la síndrome d'abstinència i, prevenir les complicacions associades a la supressió del consum d'alcohol, ja que la seva acció és anticonvulsiva, ansiolítica i sedant. Tot i que no s'observen diferències en relació amb l'eficàcia entre les diferents benzodiazepines, la que més s'utilitza és el diazepam perquè té un ampli marge de seguretat, s'absorbeix rapidament i té una vida mitjana molt llarga (Bohn, 1993; Bayard *et al.*, 2004).

El tractament amb benzodiazepina es recomana només durant la fase aguda de la síndrome d'abstinència a causa del fet que té importants efectes secundaris com ara empitjorament de la memòria, somnolència i letàrgia (George, 1977) i que es tracta d'una substància amb un important potencial d'abús i de dependència (Lundqvist, 1996; Lejoyeux *et al.*, 1998). D'altra banda, com que es metabolitzen en el fetge, poden causar alguns problemes en pacients cirròtics. En aquests casos s'utilitzen l'oxazepam i el lorazepam, que tenen una vida mitjana més curta (Bohn, 1993; Bayard *et al.*, 2004).

Carbamazepina (Tegretol®)

Es tracta d'un fàrmac anticonvulsiu que s'administra per a prevenir l'aparició de crisis convulsives durant la síndrome d'abstinència. No té capacitat addictiva i no potencia els efectes de l'alcohol (Casariego, 1990). Cal esmentar, però, que aquesta

substància presenta alguns efectes secundaris que en limiten la utilització en el tractament de l'abstinència alcohòlica. Els més freqüents són sensació de mareig, vertigen, mal de cap, nàusees, vòmits i visió borrosa però també n'hi ha d'altres més greus com ara alteracions sanguínies –leucopènia transitòria–, hepàtiques i un important efecte antidiurètic. La possibilitat d'aquests efectes secundaris, junt amb l'existència d'altres fàrmacs alternatius, n'han relegat la utilització, però la situació pot canviar a causa de l'aparició de noves molècules amb un perfil més segur, quant als efectes secundaris, com per exemple l'oxcarbazepina, que ha mostrat la seva utilitat en diversos estudis (Reinikainen *et al.*, 1987; Dam *et al.*, 1989; Herranz *et al.*, 2004). Sembla que és tan efectiva com la carbamazepina però més ben tolerada (Herranz i Argumosa, 2002). Els resultats obtinguts per Ponce *et al.* (2005) suggereixen que es tracta d'un fàrmac eficaç i ben tolerat per a prevenir complicacions epilèptiques associades a la desintoxicació alcohòlica, amb certs avantatges respecte de les benzodiazepines –menor atàxia i somnolència–, tot i que encara són necessaris estudis de doble cec i, amb mostres més amples, per vigilar l'aparició d'efectes secundaris menys comuns associats, i obtenir resultats concluent sobre la seva eficàcia.

2.7.3. Fàrmacs substitutius de l'alcohol

Naltrexona (Antaxone[®], Celupan[®], Revia[®])

La naltrexona és un antagonista del receptor opiàc μ . Sembla que l'acció d'aquesta es traduiria en una reducció dels efectes reforçants i gratificants de l'alcohol de manera que també donaria lloc a una reducció del desig o *craving* per a consumir alcohol.

Els assajos clínics fets amb aquesta substància també mostren certes discrepàncies. Un dels factors que pot explicar aquestes discrepàncies és que la naltrexona sembla més efectiva en pacients que alhora reben entrenament en estratègies d'afrontament que en aquells que només reben una teràpia de suport (O'Malley *et al.*, 1992; Heinälä *et al.*, 2001; Balldin *et al.*, 2003). Sinclair (2001), ateses

les dades existents, suggereix que es tracta d'una substància útil per a afrontar les recaigudes més que per a mantenir una abstinència absoluta. Srisurapanont i Jarusuraisin (2005) varen portar a terme una metaanàlisi de 24 assajos, controlats mitjançant grups placebo, presentats en 32 articles amb un total de 2.861 pacients tractats. Segons els resultats obtinguts sembla que la naltrexona produeix un decrement en la taxa de recaigudes i en la freqüència amb què es beu però que no aporta un augment en el temps total d'abstinència.

Generalment, es tracta d'un fàrmac ben tolerat, els efectes secundaris més comuns són nàusees (10%), mal de cap (7%), ansietat (2%) i sedació (2%) (Croop *et al.*, 1997). El principal problema que presenta és que es tracta d'un fàrmac hepatotòxic, tot i que sembla que aquest efecte secundari es dona amb dosis més altes de les recomanades per al tractament de l'alcoholisme. Però, a causa d'aquesta possibilitat, està contraindicat en pacients amb hepatitis o amb problemes al fetge. De tota manera, es recomana un control periòdic del nivell de transaminases, durant el temps que dura el tractament, en tots els pacients (Jung i Namkoong, 2006).

2.7.4. Fàrmacs que bloquegen l'efecte de l'alcohol

Acamprosat (Campral®)

Sembla que l'acció d'aquest fàrmac consisteix a restablir el to normal del receptor N-metil-D-aspartat (NMDA), que es veu alterat amb el consum crònic d'alcohol. Concretament, antagonitza els receptors NMDA del glutamat i els canals de calci dependents de voltatge. Això produeix un decrement de la transmissió glutamatèrgica i modula la hiperexcitabilitat neuronal durant la síndrome d'abstinència alcohòlica reinstaurant el balanç entre les neurotransmissions excitatòries glutamatèrgiques i les inhibidores GABAèrgiques (Chawla i Kochar, 2006). D'aquesta manera, l'acamprosat redueix la simptomatologia associada a l'absència d'alcohol.

La majoria de resultats obtinguts en els estudis amb aquest fàrmac són consistents i mostren períodes d'abstinència més grans en aquells pacients tractats

amb acamprosat que els tractats amb placebo. Sass *et al.* (1996) i Whitworth *et al.* (1996) portaren a terme estudis per a avaluar l'abstinència a llarg termini, un any després que finalitzés el tractament, i vegeren que els efectes del tractament es mantenien. En una meta-anàlisi, feta de les dades obtingudes en 17 assajos clínics, es va obtenir que l'acamprosat és efectiu i que a més, aquest efecte terapèutic pot augmentar amb el pas temps (Mann *et al.*, 2004). D'altra banda també hi ha 3 estudis que no mostren cap efecte de l'acamprosat respecte del placebo. L'estudi de Rousseaux *et al.* (1996) ha estat criticat per utilitzar una mostra petita i tenir poca potència estadística. En l'estudi fet per Namkoong *et al.* (2003) diversos autors expliquen la manca d'efecte de l'acamprosat a causa de les característiques de la mostra –formes més severes d'alcoholisme, baix nivell de suport social, curt interval de temps entre l'última ingesta d'alcohol i l'inici de la medicació–, les dosis d'acamprosat utilitzades, la curta duració de l'estudi –8 setmanes– i la variable concomitant del tractament psicosocial. En el cas de l'estudi fet per Chick *et al.* (2000a,b), que ha estat un estudi rigorós i el més gran publicat fins ara amb acamprosat, s'ha atribuït la manca d'efecte d'aquest fàrmac a la latència en el moment d'iniciar el tractament, ja que el fàrmac es va administrar als subjectes experimentals després d'un període d'estabilització de 25 dies després de l'última ingesta d'alcohol. Per tant, igual que en el cas de la naltrexona no s'han obtingut resultats concloents quant a l'eficàcia d'aquestes substàncies.

L'acamprosat és una substància que no es metabolitza en el fetge per la qual cosa és un fàrmac segur per a aquells pacients amb una disfunció hepàtica. A causa del fet que s'elimina per via renal es desaconsella en pacients amb insuficiència renal o amb cirrosi avançada. Els efectes adversos més comuns que produeix són: mal de cap, diarrea, flatulències i nàusees. No existeixen interaccions entre aquesta substància i la ingesta concomitant de diazepam, disulfiram o d'alcohol, per la qual cosa en cas de recaiguda no és necessari suspendre'n el tractament (Graham *et al.*, 2002).

Combinació d'Acamprosat i Naltrexona

L'Acamprosat i la Naltrexona també han estat catalogats com a fàrmacs *anticraving*. Alguns autors defensen que pot ser interessant combinar els efectes d'ambdós fàrmacs, ja que tenen diferents mecanismes d'acció sobre diferents sistemes de neurotransmissió, que incideixen en aspectes biològics i conductuals diferents del procés de *craving*. Sembla que la naltrexona disminuiria el desig per consumir mentre que l'acamprosat estabilitzaria l'abstinència. D'altra banda, la combinació d'aquests fàrmacs és segura a nivell farmacocinètic (Jung i Namkoong, 2006).

En un estudi realitzat amb 160 alcoholícs es va demostrar que la proporció de pacients que continuaven totalment abstinents al final de les 12 setmanes de tractament, era dues vegades superior en el grup tractat amb la teràpia combinada que en el grup monoteràpia. Malgrat que la teràpia combinada és, generalment, ben tolerada, la incidència de diarrea (13,8%) i de nàusees (5,6%) és significativament superior que en el cas de les monoteràpies, probablement a causa de la interacció farmacocinètica dels dos fàrmacs (Kiefer *et al.*, 2003).

Actualment s'està portant a terme l'anomenat estudi COMBINE (COMBINE Study Research Group, 2003a,b), amb 1.375 subjectes d'onze llocs diferents, per tal d'estudiar l'efectivitat de combinacions de tractaments farmacològics i psicosocials, i que probablement proporcionin més dades de les que es disposa actualment sobre aquest tipus de teràpies (Jung i Namkoong, 2006).

Topiramata (Topamax®)

És un agent anticonvulsiu que inhibeix l'alliberament de dopamina per via indirecta. Concretament, sembla que ho fa antagonitzant l'activitat glutamatèrgica – receptors NMDA i kainat– i facilitant la GABAèrgica, en àrees del cervell relacionades amb els efectes reforçants de l'alcohol, tot i que es desconeixen amb exactitud els mecanismes moleculars responsables del seu efecte terapèutic (Shank *et al.*, 2000). Es tracta d'un fàrmac aprovat, però no per a tractar l'alcoholisme pròpiament, si no per a l'epilèpsia i la síndrome de Lennox-Gastaut. A més també s'ha vist que és efectiu com a tractament per a la migranya. D'altra banda, s'ha

postulat que pot ser un tractament efectiu per a la dependència de l'alcohol a causa del seu potencial efecte a l'hora de disminuir els nivells de dopamina mesocorticolímbica després de consumir alcohol i d'antagonitzar els canvis crònics que es produeixen per l'alcohol en els receptors NMDA i kainat (Johnson *et al.*, 2003).

Els pocs estudis preclínic que s'han realitzat no donen massa suport a l'eficàcia d'aquest fàrmac en la reducció del consum d'alcohol (Gabriel i Cunningham, 2005). Amb tot hi ha dos estudis, fets pel mateix grup amb humans, en què s'obté una disminució en el consum d'alcohol (Johnson *et al.*, 2003) i una reducció de les conseqüències negatives de beure alcohol, a la vegada que es torna a produir una disminució del consum d'aquesta substància (Johnson *et al.*, 2004). En un altre estudi més recent, es mostra una reducció del consum de tabac en els subjectes alcohòlics tractats amb topiramata (Johnson *et al.*, 2005).

En general, es tracta d'un fàrmac ben tolerat. Els efectes secundaris més comuns són: dificultat per a concentrarse, somnolència, vertigen, problemes de coordinació, fatiga, dificultats per a parlar, parestèsies i nàusees (Williams, 2005).

Es requereix un major nombre d'estudis, preclínic i clínics, objectius per poder tenir un coneixement més ampli dels mecanismes d'acció d'aquesta substància com també de l'eficàcia d'aquest i la seguretat en el tractament de l'alcoholisme.

Bupropion (Zyntabac®)

El bupropion és un inhibidor selectiu de la recaptació de dopamina i noradrenalina que ha estat utilitzat, de manera efectiva i amb molt pocs efectes secundaris, per a prevenir o reduir el *craving* quan es deixa de fumar (Richmond i Zwar, 2003). Actualment és un fàrmac que es comercialitza com a tractament per al tabaquisme. En alguns estudis, en què es valorava l'efecte del bupropion en la conducta de fumar d'individus alcohòlics, també s'ha vist una disminució de l'apetència per l'alcohol, cosa que planteja la possibilitat que també sigui un fàrmac útil per a combatre l'alcoholisme. Encara, però, no s'han efectuat estudis que se centrin a valorar directament aquesta possibilitat.

Rimonabant (Acomplia®)

El rimonabant actua com a antagonista específic dels receptors CB1.

Es tracta d'una substància amb la qual, actualment, el National Institut on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA) està realitzant assatjos clínics. Tot i que encara es massa d'hora per parlar-ne com d'una medicació *anticraving*, així sembla que ho indiquin els estudis fets amb animals i els primers assatjos clínics, ja que redueix el desig per menjar i també el *craving* per diverses drogues com la nicotina, l'alcohol, la cocaïna i l'heroïna (O'Brien, 2005).

En el cas concret de l'alcohol, diversos estudis fets en rates (Arnone *et al.*, 1997; Colombo *et al.*, 1998; Rodriguez de Fonseca *et al.*, 1999; Rinaldi-Carmona *et al.*, 2004) i ratolins (Poncelet *et al.*, 2003) mostren que el bloqueig dels receptors CB1 amb aquesta substància disminueix el consum d'alcohol. Per tant es planteja la possibilitat que aquesta sigui una aproximació efectiva al tractament de l'alcoholisme (Le Foll i Goldberg, 2005).

2.7.5. Fàrmacs que afecten la serotonina

Dades obtingudes en alguns estudis mostren una disfunció serotoninèrgica en l'alcoholisme (Rosenbaum i Tollefson, 2004). Estudis amb animals mostren que l'augment dels nivells de serotonina redueix el consum d'alcohol (Farren, 1995). Murphy i col·laboradors (1988) trobaren un efecte beneficiós de la fluoxetina i la fluvoxamina a l'hora de reduir el consum d'alcohol en rates.

Tanmateix, els assajos clínics fets amb inhibidors selectius de la recaptació de serotonina (ISRS) no mostren resultats consistents. Alguns estudis obtenen una reducció del consum d'alcohol en pacients amb depressió i sense, a diferència dels pacients tractats amb antidepressius tricíclics, que mostren una eficàcia menys robusta (Lejoyeux, 1996; Cornelius *et al.*, 1997). Altres autors, com Kranzler *et al.* (1995), no trobaren diferències entre els individus tractats amb fluoxetina i els tractats amb placebo.

Johnson *et al.* (1996) estudiaren l'efecte del ritanserín, un agonista del receptor 5-HT₂, i no observaren cap efecte en comparació amb el grup placebo. Quant a l'ondansetron, antagonista del receptor 5-HT₃, va reduir el consum d'alcohol en pacients amb un inici precoç en el consum d'alcohol (Johnson *et al.*, 2000).

Amb tot, mereixen una especial menció els inhibidors selectius de la recaptació de serotonina (ISRS) ja que potencien els efectes depressors de l'alcohol, tot i que sembla que no és el cas de la fluoxetina (Lemberger *et al.*, 1985).

El mecanisme d'acció precís dels antidepressius en el tractament de l'alcoholisme, no es coneix. Segons alguns autors (Naranjo *et al.*, 1986, 1990), sembla que l'efecte beneficiós, si hi és, seria independent de l'activitat antidepressiva. Per tal de conèixer quina és la subpoblació de pacients que més es podria beneficiar d'aquest tipus de tractament és necessari un major nombre d'estudis (Gorelick, 1989).

2.7.6. Medicines naturals

Malgrat el progrés aconseguit en aquests últims anys, encara no s'han aconseguit fàrmacs clarament eficaços i que, a més, presentin baixa toxicitat a l'hora de combatre l'alcoholisme. Tradicionalment, els països asiàtics tenen més tendència que els occidentals a utilitzar remeis naturals per a tractar malalties. L'alcoholisme no n'ha estat una excepció i, a països com Xina, Japó i Corea, les plantes medicinals han estat utilitzades durant segles per a tractar-lo. En els últims anys, diversos científics occidentals han tractat d'esbrinar els mecanismes d'acció d'aquestes substàncies i, a partir d'elles, desenvolupar nous tractaments (Xu *et al.*, 2005).

Quant al consum d'alcohol, hi ha diversos productes naturals i compostos d'aquests, com ara la hiperforina (herba de Sant Joan), la daïdzina i la puerarina (procedents de la *Radix Puerariae* o kuzdu) i la ibogaïna (procedent de la *Tabernathe iboga*), que causen una disminució significativa del consum en diferents models animals de consum excessiu d'alcohol, amb efectes mínims sobre altres conductes apetitives. En el cas de la hiperforina, el mecanisme d'acció d'aquesta substància no

està del tot clar però sembla que afecta els sistemes serotoninèrgic, dopaminèrgic i opiàtic en regions mesolímbiques del SNC. En el cas de la daïdzina i la puerarina, es desconeix com actuen. Dos estudis recents (Benlhabib *et al.*, 2004a,b) plantegen que el seu efecte supressor del consum d'alcohol i dels símptomes d'abstinència es donen sense que la substància arribi al cervell. Pel que fa a la ibogaïna, sembla que bloqueja la recaptació de serotonina i dopamina, és agonista dels receptors colinèrgics muscarínics i dels *kappa* opioïdes i antagonista dels receptors NMDA (Carai *et al.*, 2000; McKim, 2003; Overstreet *et al.*, 2003; Rezvani *et al.*, 2003).

En el desenvolupament d'agents terapèutics naturals, molts dels estudis s'han centrat a trobar inhibidors de l'absorció d'alcohol en el tracte gastrointestinal. En aquests sentit, l'interès s'ha centrat principalment en les espècies d'*Araliaceae* (de les quals s'obté el ginseng), i en les seves saponines, que s'han verificat com el component actiu. Treballs fets amb extractes de ginseng vermell i amb diferents saponines mostren que disminueixen significativament la concentració d'alcohol en sang quan s'administren oralment (Ma *et al.*, 1992; Lee *et al.*, 1993; Yoshikawa *et al.*, 1996). D'altres, com l'Àloe, sembla que disminueixen la concentració d'alcohol en sang perquè afecten l'activitat de l'enzim alcohol deshidrogenasa (ADH) (Sakai *et al.*, 1989).

També s'han trobat herbes, com l'*Hovenia Dulcis* i la *Flos Puerariae*, que protegeixen de la formació de radicals lliures (Ji, Li i Yang, 2001), bloquegen la lipoperoxidació (Wang *et al.*, 1994) i actuen com a protectors del teixit hepàtic (Ji *et al.*, 2000; Han *et al.*, 2003).

2.7.7. Conclusions

Hi ha diversos factors que d'alguna manera condicionen l'èxit d'un tractament farmacològic. D'una banda, són importants la presència d'efectes secundaris o no, i el grau en què es donen, ja que en gran part, és un dels factors responsables de l'adhesió del pacient al tractament farmacològic (Monti *et al.*, 1999). Un altre aspecte important a tenir en compte en l'àmbit clínic és que l'etiologia de l'addicció és

multifactorial, per tant, en el tractament farmacològic de l'alcoholisme, intervenen altres factors socials i culturals a més de l'efecte del fàrmac administrat. Per això, el tractament farmacològic es recomana junt amb el suport de teràpies psicosocials. L'experiència indica que les intervencions psicoterapèutiques específiques reforcen l'efecte de la medicació (Kiefer i Mann, 2005). En el cas de pacients amb alteracions de l'estat d'ànim comòrbides a l'alcoholisme, com trastorns d'ansietat o depressió, es recomana a més la utilització de fàrmacs antidepressius per a augmentar les probabilitats d'èxit del tractament i millorar l'estat general de la persona (Williams, 2005).

D'altra banda, a l'hora de tractar aquest tipus de pacients i d'estudiar i aplicar nous fàrmacs, és important tenir en compte que molts subjectes alcohòlics abusen o també són depenents d'altres substàncies psicoactives, que poden sumar-se als efectes de l'alcohol en el SNC. Per exemple, hi ha una elevada comorbiditat entre el consum d'alcohol i nicotina (Zacny, 1990; Bien i Burge, 1990; John *et al.*, 2003), i sovint es dona, de manera conjunta, consum d'alcohol i altres substàncies com ara cànnabis, cocaïna, heroïna, anfetamines, sedants, hipnòtics i ansiolítics (A.P.A., 2002).

Malgrat la importància de controlar els factors esmentats per a augmentar l'eficàcia del tractament farmacològic, les dades de què disposem avui dia mostren que els agents descrits poden ser útils per a tractar alguns aspectes de l'alcoholisme, però encara no s'han obtingut dades concluints i cap d'ells sembla clarament adequat i eficaç en el tractament de l'alcoholisme. De fet, els terapeutes que dia a dia s'enfronten directament amb aquest tipus de malalt no transmeten una opinió massa positiva sobre la utilitat d'aquests fàrmacs.

Tal vegada, aquest fet ens hauria de fer pensar en un canvi d'estratègia a l'hora d'abordar l'alcoholisme. Els fàrmacs proposats fins al dia d'avui pretenen una disminució del consum d'alcohol per vies indirectes, és a dir, afectant la capacitat gratificant de l'alcohol o intentant revertir els canvis produïts en l'organisme com a conseqüència de la tolerància, per a evitar la simptomatologia de la síndrome d'abstinència, però encara ara no s'ha aconseguit actuar sobre el punt clau de l'addicció, és a dir, sobre la pèrdua del control de la conducta d'autoadministració.

3. MODELS D'ALCOHOLISME ANIMAL

3. MODELS D'ALCOHOLISME ANIMAL

L'estudi de l'addicció a l'alcohol ha generat el desenvolupament d'un ampli ventall de models d'alcoholisme animal. Atesa la complexitat de l'alcoholisme humà i el gran nombre de factors que hi intervenen, resulta difícil abastar l'estudi d'aquesta addicció amb un únic model. Per tant, es fan necessaris diversos procediments, que modelin diferents aspectes de l'alcoholisme, i que, en conjunt, permetin tenir una visió global d'aquesta addicció.

Malgrat que la utilització de models animals sempre comporta una sèrie de limitacions implícites –per exemple, la impossibilitat de reproduir el context social, de gran importància en l'alcoholisme–, ens pot aportar dades rellevants relatives a les variables situacionals que influeixen en l'inici i en el manteniment del consum de drogues i als canvis i danys que produeix en l'organisme el consum crònic, fenòmens com ara la síndrome d'abstinència, com també l'efecte de diferents agents farmacològics en el consum d'una determinada substància, que en última instància, podrien ser d'utilitat en el tractament farmacològic de les diferents addiccions per tal de reduir-ne el consum i prevenir les recaigudes (McMillen, 1997).

En paraules de Paul Willner (1991): “en la neurociència del comportament, els models animals són una interfase entre la psiquiatria i la investigació bàsica... D'una banda són el camí per a introduir novetats importants en clínica, i de l'altra, per a proporcionar informació i mitjans per a investigar les bases psicobiològiques de la psicopatologia...” Però malgrat això, és important no perdre de vista que “cal jutjar els models sobre la base de les prediccions que permeten efectuar”.

Des que Richter i Campbell (1940) varen demostrar per primera vegada que les rates podien consumir alcohol voluntàriament s'han desenvolupat un gran nombre de models d'alcoholisme animal basats en la utilització de la rata i el ratolí com a subjectes experimentals. La utilització de rossegadors té com a avantatge que

és un model relativament econòmic i que permet disposar d'una població gran de subjectes en poc temps. A més, és possible un elevat nivell de control sobre factors com l'estabulació, la dieta i experiències prèvies amb altres drogues, i permeten certes manipulacions fisiològiques i/o farmacològiques que no serien possibles amb subjectes humans (Stewart i Grupp, 1992). Els principals desavantatges són, d'una banda, les diferències metabòliques que hi ha entre la rata i l'humà –la rata té una taxa metabòlica més gran que l'humà– i de l'altra, les diferències quant a la preferència per l'alcohol –les rates són menys preferidores–, i el poc temps de vida que tenen les rates, aproximadament 2 anys, cosa que dificulta l'estudi de models crònics d'alcoholisme.

Les primeres aproximacions a un model animal d'alcoholisme (Richter i Campbell, 1940; Richter, 1941) es varen fer sobre la base de la presentació simultània d'una ampolla amb una solució d'alcohol i una altra amb aigua, de manera que l'animal podia triar lliurement què preferia beure. Els resultats eren expressats en termes de consum absolut de cada substància en períodes de 24 hores. Aquesta metodologia, tot i ser àmpliament utilitzada, ha rebut un gran nombre de crítiques (Lester i Freed, 1973; Mello, 1973; Cicero, 1979; Kalant, 1983; Meisch, 1984) a causa del fet que, tot i les diferències individuals existents entre rates no seleccionades genèticament per la seva preferència a l'alcohol, la mitjana diària consumida per aquests animals era inferior a la seva capacitat metabòlica. Per tant, aquests nivells de consum baixos no permetien el desenvolupament de tolerància, dependència i/o lesions orgàniques. A més, es va plantejar el dubte de si els animals consumien alcohol per les seves propietats farmacològiques o bé per altres raons com ara les calories que proporcionava o les seves propietats gustatives. És per això que, posteriorment, s'han realitzat un gran nombre d'estudis per a esbrinar quins són els factors que afavoreixen i incrementen el consum d'alcohol en aquests animals, i així, desenvolupar models més satisfactoris.

Segons Cicero (1979) per tal que un model animal d'alcoholisme es pugui considerar vàlid ha de complir els criteris següents: 1) l'animal s'ha d'autoadministrar oralment l'alcohol; 2) la quantitat d'alcohol consumit ha de produir nivells d'alcohol

en sang farmacològicament rellevants; 3) l'alcohol s'ha de consumir pel seus efectes farmacològics i no simplement pel seu valor calòric o per les seves propietats gustatives; 4) l'alcohol ha de ser un reforçador positiu de manera que els animals vulguin "treballar" per a consumir-ne; 5) el consum crònic d'alcohol ha de traduir-se en una tolerància metabòlica i funcional i 6) el consum crònic d'alcohol ha de produir dependència, i s'han de presentar símptomes propis d'una síndrome d'abstinència, una vegada s'ha deixat de tenir accés a la solució alcohòlica.

Més recentment, altres autors (McBride i Li, 1998) hi han afegit un setè criteri: un model animal d'alcoholisme ha de mostrar característiques associades a les recaigudes després d'un període d'abstinència forçada (com és, per exemple, l'increment del consum d'alcohol que es dona), ja que es tracta d'un fenomen habitual en l'alcoholisme.

A grans trets podem classificar els models d'alcoholisme animal existents en dues grans categories en funció de si el tipus d'administració de l'alcohol és voluntària o forçada.

3.1. Models de consum voluntari

3.1.1. Autoadministració operant

El model operant que utilitza la tècnica d'autoadministració va ser originalment desenvolupat per a estudiar la dependència als opiàcis (Thompson i Pickens, 1969). Es basa en l'entrenament de l'animal a premer una palanca per tal de rebre una determinada dosi de droga. Hi ha diferents vies d'autoadministració, la més utilitzada de les quals és l'endovenosa (Prat, 1995). En el cas específic de l'alcohol, s'ha emprat principalment la via oral, i en algunes ocasions, la intragàstrica i la intracerebral (Gatto *et al.*, 1994).

Aquest tipus d'autoadministració es pot donar sota diferents programes de reforçament, entre els quals els més freqüents són els de reforçament continu i els de raó fixa. Per altra banda, els programes de raó progressiva permeten determinar

la potència gratificant relativa de les diferents substàncies psicoactives (Brady *et al.*, 1987). L'anàlisi dels patrons d'extinció de la conducta d'autoadministració de la droga s'ha utilitzat per a estudiar les conductes de percaça de droga i les conductes de recaiguda, i l'aplicació de programes concurrents i d'elecció ha permès la comparació entre dues dosi d'una mateixa droga o entre una droga i un altre reforçador (Katz i Goldberg, 1987).

El principal desavantatge que presenta aquesta tècnica en l'estudi de l'alcohol és la quantitat de dosi autoadministrada, ja que, si és molt elevada, pot produir efectes aversius o sedants i extingir la conducta d'autoadministració, i si és molt petita, potser que no es mostrin els seus efectes reforçants ni obtenir nivells farmacològicament significatius d'alcohol en sang. Per altra banda, es poden donar interaccions entre la substància administrada i els processos d'aprenentatge (Brady *et al.*, 1987).

Pel que fa a la validesa d'aquests treballs, val a dir que presenten una validesa aparent elevada a causa del fet que estudien directament la capacitat d'una determinada droga per a reforçar la conducta i perquè simulen una de les conductes que defineixen l'addicció a una droga: l'autoadministració persistent (Falk i Tang, 1988). També mostren un cert grau de validesa predictiva, ja que existeix una concordança entre les drogues que són autoadministrades de manera operant en els animals i el potencial d'abús d'aquestes substàncies amb humans (Katz, 1989), malgrat que hi hagi algunes excepcions com ara l'alcohol i el cànnabis, amb les quals apareixen resultats contradictoris (Sanger, 1991; Okamoto, 1992).

Pel que fa a la validesa de constructe, aquesta és més difícil d'establir ja que manca una definició operacional consensuada del que es considera addicció a una droga (Goudie, 1991). El fet que una droga sigui autoadministrada no implica *per se* que s'hi produeixi addicció (Sanger, 1991). Podríem dir que el consum voluntari, per exemple mitjançant l'autoadministració operant, seria una condició necessària però no suficient per a generar-la.

3.1.2. Polidípsia induïda per programa de reforçament

La polidípsia alcohòlica es basa en les observacions realitzades per Falk l'any 1961 en rates que estaven parcialment privades de menjar, mantingudes al 80% del seu pes *ad libitum*, i que eren entrenades a prémer una palanca en un programa de reforçament intermitent per tal de rebre *pellets* de menjar. Va resultar que aquests animals ingerien grans quantitats d'aigua –92,5 ml de mitjana, en una sessió d'unes 3 hores– sense cap necessitat biològica aparent (Falk, 1961). El patró d'ingesta consistia a beure un glop immediatament després d'haver rebut el reforçament (*pellet*) i just abans de tornar a emetre la resposta de prémer la palanca per a obtenir més menjar (Colotla, 1981).

Lester (1961) va substituir l'aigua per una solució alcohòlica i va obtenir un nou model de consum voluntari que proporcionava animals bevedors, d'una quantitat significativa d'alcohol que excedia la seva capacitat metabòlica, i que mostraven una dependència severa amb simptomatologia pròpia d'una síndrome d'abstinència quan, després de 3 mesos de consum, deixaven de tenir accés a l'alcohol (Stewart i Grupp, 1992).

Aquest model utilitza la manipulació de les condicions d'ingesta de menjar com a variable que afavoreix el consum d'alcohol, ja que, d'una banda els animals estan privats al 80% del seu pes *ad libitum*, i de l'altra, el menjar és sumministrat de manera intermitent.

Tot i que, com ja s'ha comentat, mitjançant aquest model s'obtenen consums tòxics d'alcohol i se n'ha pogut demostrar la dependència, mesurada per la síndrome d'abstinència, hi ha un considerable nombre d'estudis que analitzen les característiques d'aquest model i la seva adequació per a l'estudi de l'alcoholisme humà. Una de les crítiques rebudes és que es tracta d'una conducta excessiva perquè els animals ingereixen grans quantitats de fluid comparades amb els controls pertinents, inclús quan les sessions de menjar intermitent són de curta durada (Sanger, 1986). Així mateix, la polidípsia depèn de l'interval entre reforçaments, i s'observa una relació bifàsica –la ingesta augmenta a mesura que s'incrementa l'interval entre reforçaments fins a arribar a 180 segons i disminueix a partir dels 300

segons— la qual cosa suggereix que és induïda per les característiques del programa de reforçament més que pel menjar (Bond, 1976; Sanger i Blackman, 1978). Aquests mateixos autors han demostrat que l'efecte polidíptic és independent de la resposta de l'animal, que es pot obtenir en procediments d'interval fix, i que té un caràcter acumulatiu, ja que encara que el beure es dona normalment després del consum de menjar, aquest patró pot alterar-se restringint els períodes d'accés al fluid (Bond, 1976; Sanger i Blackman, 1978), de manera que si el fluid resta disponible en els darrers períodes de l'interval, també es produeix polidípsia (Gilbert, 1978; Beck i Burger, 1992).

Els nivells d'ingesta també depenen de variables motivacionals com el nivell de privació elegit per tal d'utilitzar el menjar com a reforçador. En aquest sentit, Falk (1969) va descriure que a mesura que els animals s'aproximen al seu pes, la quantitat de líquid ingerit disminueix. Altres autors també han indicat que les variacions en les característiques del menjar com la mida, la quantitat i el valor nutritiu dels *pellets* subministrats dona lloc a variacions en el nivell d'ingesta de fluid (Falk, 1967; Keehn i Stoyanov, 1986).

Freed i Lester (1970) plantegen que, com que els animals estan per sota del seu pes, el consum d'alcohol podria ser degut al seu valor calòric. En oposició a aquesta objecció Colotla (1981) va aportar proves sobre el percentatge calòric que proporciona l'alcohol en aquest procediment, i va mostrar que és molt baix i que si els animals es trobessin en situació de lliure accés, el consum d'alcohol no s'incrementaria de manera comparable al cas de les rates sotmeses a programes de polidípsia.

La crítica més forta a la polidípsia alcohòlica és la inespecificitat que presenta ja que es dona també i, de fet és més fàcil d'obtenir i en majors quantitats, per aigua. Quan es rescindeix el programa de reforçament, els animals no mantenen la ingesta d'alcohol (Tang, Brown i Falk, 1982), de manera que els animals poden alternar la preferència per l'aigua i per l'alcohol en condicions de lliure elecció i sempre prefereixen l'aigua a solucions alcohòliques ensucrades (Gilbert, 1978). Aquests resultats han suggerit que els animals no beuen alcohol per les seves propietats

farmacològiques sinó per un efecte del programa de reforçament (Grant i Johanson, 1989).

Pel que fa a la validesa d'aquest model en l'estudi de l'alcoholisme humà, observem que, tot i que s'ha demostrat que es pot induir el consum d'altres drogues que són consumides pels humans, com és el cas dels opiàcids, els barbitúrics i els psicoestimulants (Falk i Tang, 1989; Tang i Falk, 1990; Falk i Lau, 1993), pel que fa a la validesa de constructe, el model no presenta un efecte específic per a les substàncies psicoactives (Blackman i Sanger, 1978; Sanger, 1986), sinó que també es dona amb altres reforçadors com ara solucions de sucrosa i de sacarina (Tang i Falk, 1977) i, evidentment amb l'aigua.

En referència amb la validesa aparent, si bé es cert que es produeix un consum compulsiu que arriba a nivells tòxics fins a desenvolupar-ne la dependència, el fet que la conducta de polidípsia disminueixi un cop es retiren les condicions d'adquisició, implica que els animals no ingereixen l'alcohol per les seves propietats reforçants (Gilbert, 1978) i per tant, no es genera un procés addictiu cosa que n'impabilita l'estudi.

Per últim, pel que fa a la validesa de constructe, malgrat el fet que s'hagi demostrat la possibilitat d'obtenir conductes polidípsiques en humans sota diferents programes de reforçament (Clarke *et al.*, 1977; Wallace *et al.*, 1978; Singer *et al.*, 1982) aquesta no és la situació més general de consum d'alcohol en humans.

3.1.3. Procediment d'ingesta prandial

Aquest procediment consisteix en la manipulació de diferents variables, com la privació de menjar, l'associació de l'alcohol a un altre reforçador –el menjar– o la limitació del temps d'accés a la solució alcohòlica, per tal d'incrementar el consum –oral– d'alcohol en rates. Inicialment, la ingesta de menjar és limitada durant un període determinat de temps –d'1 a 6 hores– i s'associa amb la disponibilitat de la solució alcohòlica, que inicialment és de baixa graduació i es va incrementant de manera gradual –d'un 8 a un 32% p/v. Finalment, quan l'animal ja està habituat a

aquesta situació, el menjar deixa de presentar-se durant les sessions de manera que només té accés a la solució alcohòlica. Sovint s'utilitzen paradigmes de condicionament operant en què els animals han de realitzar una determinada resposta, com per exemple premer una palanca, per tal d'obtenir l'alcohol (Meisch i Carroll, 1987).

Amb aquest mètode s'aconsegueix la ingesta de quantitats importants de solucions alcohòliques d'elevada graduació (fins a un 32% p/v) i, tot i que en el moment en què desapareix la limitació de l'accés al menjar es produeix un decrement en el consum d'alcohol (Meisch i Thompson, 1974; Stewart i Grupp, 1984), els nivells d'alcohol en sang d'aquests animals continuen essent superiors a la seva taxa metabòlica -0.3 g/kg de pes i hora. La mitjana de dosi consumida és de 0.57 a 2.85 g/Kg (Stewart i Grupp, 1984).

El fet que la ingesta d'alcohol s'associï inicialment amb un altre reforçador com ara el menjar, induint una preferència, confereix al model un cert grau de validesa aparent i de constructe a causa del fet que, en l'alcoholisme humà, el consum d'alcohol està associat amb altres reforçadors, com el reforçament social, i que en moltes ocasions l'alcohol es consumeix juntament amb el menjar (Samson i Grant, 1990). A més aquest model possibilita la ingesta voluntària de dosis tòxiques d'alcohol i que són, per tant, farmacològicament significatives.

Una de les crítiques que es podrien fer d'aquest model és la manipulació de l'estat motivacional general de l'animal, que es fa mitjançant la privació del menjar, i que el predisposa a buscar un altre reforçador com ara l'alcohol.

3.1.4. Procediment de substitució progressiva de sucrosa

Una de les raons per les quals es fa difícil aconseguir animals consumidors voluntaris de solucions alcohòliques són les propietats gustatives desagradables que té l'alcohol. Per tal d'evitar aquest inconvenient sense haver de manipular de manera permanent el gust o el valor calòric de la solució alcohòlica, es va dissenyar aquest procediment que permet, al final del procés, obtenir animals que s'autoadministren una solució alcohòlica no ensucrada, de manera operant, no prandial i en absència de motivacions primàries com la fam o la sed durant l'autoadministració (Grant i Samson, 1985a; Samson, 1986).

Inicialment es priva l'animal de líquid amb la finalitat que aprengui a beure per mitjà d'una pipeta, instrument mitjançant el qual se li presentarà la solució posteriorment. A continuació s'instal·la un *manipulandum* i es modela la resposta de prémer una palanca per a aconseguir la dissolució ensucrada, que s'instaura amb un programa de reforçament continu, el qual pot arribar a un de raó fixa baixa (FR4-FR20). Quan l'animal ha adquirit la resposta, se'l retorna a la seva gàbia-llar, on disposa d'aigua *ad libitum*. Posteriorment, se substitueix progressivament la sucrosa de la dissolució per alcohol. Així es pot passar d'un 20% de sucrosa i un 0% d'alcohol –primera situació– a sessions on la solució contingui un 10% de sucrosa i un 5% d'alcohol i, posteriorment, a un 5% de sucrosa i un 10% d'alcohol. Després d'algunes sessions, la dissolució arriba a un 10% d'alcohol i un 10% de sucrosa i, posteriorment, a un 5% de sucrosa i un 10% d'alcohol, fins que, l'última presentació és d'un 10% d'alcohol i un 0% de glucosa. Aquest últim pas és el més crític ja que es retira el gust dolç i, per aquest motiu, la durada –nombre de sessions– d'aquesta fase ha de ser superior a les anteriors –de 10 a 20 sessions–. Posteriorment, es pot anar augmentant el contingut d'alcohol, un 5% cada vegada, fins a arribar a una concentració màxima d'alcohol del 20% (Tolliver *et al.*, 1988) o del 40% (Grant i Samson, 1985b). Un cop l'animal va assolir la resposta per haver rebut una concentració elevada d'alcohol, es va poder realitzar una prova de preferència, i es va comprovar que l'animal preferia la solució alcohòlica a l'aigua (Henningfield i Meisch, 1979).

Aquest model ha permès rebatre les crítiques que obeïen a la utilització de la privació de menjar o bé a l'adulteració del gust de la solució alcohòlica. Malgrat tot, aquest procediment presenta un gran desavantatge i és que cal un mínim de 3 mesos per a obtenir animals que beguin altes concentracions d'alcohol (Pallarés, 1990). A més, requereix procediments operants ja que és poc plausible la ingesta de quantitats absolutes elevades d'alcohol en una sessió (Prat, 1995).

3.1.5. Models socials

Atès que l'alcohol és una droga legal en moltes societats i que els factors socials poden intervenir de manera important en l'inici i el manteniment del consum d'alcohol en els humans (De Castro, 1990), té sentit plantejar-se la validesa i la utilitat dels models socials d'alcoholisme.

Diversos autors han abordat l'estudi del consum d'alcohol en animals de laboratori sota diferents condicions socials. En aquests estudis s'ha vist que els consums moderats i abusius i els trastorns derivats de l'abús, com ara l'agressivitat i la marginació, són molt semblants als que es donen en els humans. Per exemple, Blanchard *et al.* (1987a) observaren, en colònies mixtes de rates –mascles, femelles i cries–, que els mascles tractats amb una injecció d'1.2 g/Kg d'alcohol mostraven una major proporció d'atacs directes a les femelles, mentre que aquestes no eren atacades pels animals no tractats o pels tractats amb dosis menors d'alcohol (0.3 o 0.6 g/Kg). Bergvall *et al.* (1996) també observaren que el consum voluntari d'alcohol en rates mascles augmentava el nombre de contactes agressius amb les femelles sense que hi hagués un augment concomitant del consum d'alcohol.

En situació de colònia i amb lliure accés a begudes alcohòliques convencionals, s'observen patrons de consum diferents als que es donen en animals aïllats. Els animals incrementen el consum d'alcohol just abans de menjar, i només els grans consumidors presenten un pic d'ingesta durant les primeres hores del matí, mengen menys, corren menys en la roda d'activitat, passen més temps en els seus caus i

presenten una baixa puntuació en dominància. En el moment en què es retira la solució alcohòlica, aquests grans consumidors mostren una major activitat motriu però continuen tenint un índex de dominància baix. Aquest patró d'hiperactivitat suggereix símptomes d'abstinència (Ellison *et al.*, 1983; Ellison, 1987). A cada colònia, només un nombre petit d'animals desenvolupa aquest patró de consum d'alcohol extrem, que és similar a la proporció d'humans que acaben tenint problemes amb el consum d'alcohol (Ellison i Potthoff, 1984).

Blanchard *et al.* (1987b) varen observar que els mascles subordinats consumien més alcohol que els dominants però que les femelles de la colònia eren les que més alcohol consumien. Cal esmentar, però, que en condicions d'aïllament, les femelles també consumeixen més alcohol que els mascles (Lancaster i Spiegel, 1992; Blanchard *et al.*, 1993a).

La tendència més acceptada és que l'ansietat induïda pels estímuls socials provocarien l'augment voluntari del consum, ateses les propietats ansiolítiques que té l'alcohol (Blanchard *et al.*, 1993b).

Factors com la deprivació social o el canvi de les condicions d'estabulació sembla que produeixen un increment del consum d'alcohol (Juarez i Vazquez-Cortes, 2003). Però, inclús en situació d'aïllament, els animals que s'han mostrat més dominants en la colònia presenten un consum d'alcohol més baix que els subordinats (Wolffgramm, 1990; Wolffgramm i Heyne, 1991).

Segons Wolffgramm (1991) el consum d'alcohol és modificat per la situació social o pel rol del individu en la colònia, quan l'animal es troba en el que ell anomena la *fase de consum controlat*, que en rates Wistar és, aproximadament, d'uns 6 mesos. A partir d'aquest moment, i després d'un període d'abstinència forçada de 9 mesos, les rates que tornen a mostrar preferència per l'alcohol no deixen de beure tot i que s'adulteri la solució alcohòlica amb quinina, es modifiquin altres estímuls externs com les condicions d'estabulació, ni en funció del rang de dominància. Aquest seria l'anomenat *point-of-no-return* que també s'observa en els humans i que es comentarà més endavant (vegeu punt 3.1.6.).

L'alcohol també provoca una reducció de la interacció social del subjecte bevedor (Durcan *et al.*, 1989b). No obstant això, aquest efecte depèn de la dosi

ingerida i del patró d'ingesta de l'animal. Sembla que el consum d'alcohol té efectes bifàsics en el comportament social dels animals similars als efectes bifàsics que té en els nivells d'activitat (Ellison i Potthoff, 1984). En un estudi realitzat amb micos es varen observar canvis bifàsics dosi-dependents en el nombre d'amenaques i cops per part dels animals dominants sobre els subordinats. Les dosis baixes d'alcohol injectades $-0.1, 0.3, 0.6 \text{ g/Kg}$ produïen un increment dels comportaments agressius mentre que dosis elevades -1.0 g/Kg els disminuïen (Winslow i Miczek, 1985).

En estudis de consum voluntari, les dosis baixes, que són ingerides contínuament pels animals, sembla que estimulin els individus en la interacció social (Miczek i O'Donnell, 1980), mentre que la ingesta d'altres concentracions d'alcohol pot empitjorar la resposta de l'animal en la comunicació social (Wolffgramm, 1990).

Aquest model pot incorporar tots els tipus desitjables de validesa, de constructe, aparent i predictiva, ja que s'aconsegueixen consums tòxics voluntaris sense necessitat de manipulacions prèvies, i constitueix el model animal que més s'assembla a l'alcoholisme humà. No obstant això, té com a inconvenient que, sovint, l'aïllament de l'animal en una gàbia individual és un mètode necessari per a mesurar la ingesta d'alcohol i controlar de manera més acurada les variables que puguin afectar aquest consum. Per altra banda, també resulten poc pràctics a causa del fet que són poc reduccionistes i, per tant, poc útils per a l'estudi discriminatiu de variables rellevants (Ferré, 1996).

3.1.6. Models d'enyorança d'alcohol i recaiguda

Ateses la freqüència i la importància que tenen en els alcohòlics fenòmens com el *craving* i la recaiguda, diversos autors s'han centrat a desenvolupar models que mimetitzin aquests aspectes, com també la pèrdua de control en el consum d'alcohol, de manera que permetin esbrinar quins són els factors que els afavoreixen i, en última instància, també poder estudiar l'efectivitat d'agents farmacològics en aquests processos (Spanagel, 2003; Rodd *et al.*, 2004).

Quant al fenomen de la recaiguda, la primera aproximació experimental va ser l'observació del que es va anomenar efecte de la privació d'alcohol (*alcohol deprivation effect* o *ADE*), que consisteix en l'augment temporal del consum d'alcohol després d'un o diversos períodes d'abstinència forçada (Sinclair i Senter, 1967). Aquest efecte s'ha observat en rates (Sinclair i Senter, 1967; McKinzie *et al.*, 1998; Rodd-Henricks *et al.*, 2000a), en ratolins (Salimov *et al.*, 1993), en primats (Sinclair, 1971; Kornet *et al.*, 1990) i en humans (Mello i Mendelson, 1972; Burish *et al.*, 1981) després d'interval·ls de privació curts –12 hores o menys– (Sinclair i Li, 1989) i llargs –més de 75 dies– (Sinclair *et al.*, 1973).

L'ADE no és una conseqüència de la dependència ja que es fa evident inclús després de llargs períodes de temps sense que es presentin els símptomes observables propis de la síndrome d'abstinència (Cicero *et al.*, 1971; Waller *et al.*, 1982). A més, s'ha observat en animals que no han estat exposats a l'alcohol el temps suficient per desenvolupar dependència (McKinzie *et al.*, 1998; Rodd-Henricks *et al.*, 2001).

Tot i que sembla que aquest efecte es dona de manera consistent en rates Wistar i en la soca de rates P (Li *et al.*, 1987), genèticament seleccionades per la seva preferència per l'alcohol, no succeeix el mateix amb les soques AA (Erickson, 1968) o les HAD (Lumeng *et al.*, 1986), també seleccionades per la seva preferència per l'alcohol.

Per tant, en conjunt, les dades no mostren una associació consistent entre aquelles rates seleccionades per la seva preferència per l'alcohol i l'expressió

consistent de l'ADE quan els animals són sotmesos a un únic període d'abstinència (Rodd *et al.*, 2004).

La majoria dels treballs sobre l'efecte ADE s'han fet amb un únic període d'abstinència mentre que els diferents estudis amb humans alcohòlics mostren que el patró de consum es divideix en múltiples períodes d'abstinència i consum (Burish *et al.*, 1981; McMillen, 1997). Aquest patró cíclic de consum i abstinència podria tenir conseqüències negatives importants atès que s'ha observat en humans que múltiples desintoxicacions estan associades amb una reducció de la resposta al tractament dels símptomes de la síndrome d'abstinència i amb un posterior increment del consum (Malcom *et al.*, 2000).

Els estudis en animals, fets amb diversos cicles de privació i accés a l'alcohol, mostren un increment en la magnitud i la durada de l'efecte ADE i també que se'n prolonga l'expressió tant en rates P (Rodd *et al.*, 2003) com en rates HAD (Oster *et al.*, 2006).

Els models animals de recaiguda en el consum d'una droga (*the reinstatement model*) varen sorgir de l'observació feta per diversos autors (Gerber i Stretch, 1975; Davis i Smith, 1976; De Wit i Stewart, 1981) d'animals en els quals la injecció no contingent d'una droga (*drug priming*), que prèviament havien après a autoadministrar-se mitjançant procediments operants, o la reexposició a estímuls associats amb el consum d'aquesta substància (*drug cues*) restablien la conducta d'autoadministració. Aquests models han estat classificats com a models de restabliment de percaça de droga (*reinstatement of drug seeking*) (Stewart i De Wit, 1987; Shaham *et al.*, 2003) a causa del fet que, en el camp de l'aprenentatge, el *reinstatement* es refereix específicament a la situació en la qual el subjecte recupera l'accés a un reforçador en un ambient determinat (Macintosh, 1977).

Tot i que existeixen diverses variants, el procediment bàsic d'aquest model consisteix en l'entrenament de l'animal perquè s'autoadministri la droga, per exemple, prement una palanca, de manera que, una vegada l'animal ha fet aquest aprenentatge, deixa de presentar-se el reforçador –la droga– i s'extingueix la conducta. Posteriorment, l'animal es situa en l'ambient habitual on s'autoadministrava la droga, en absència del reforçador, i s'estudia el nombre de

respostes que emet per tal d'aconseguir-la. La persistència de l'animal per a obtenir la droga indicaria el grau de percaça –o *craving*– per la droga (Rodd *et al.*, 2004). De fet, es podria establir un paral·lelisme entre la persistència que mostren els animals, malgrat l'absència del reforçador, i la naturalesa compulsiva que té, en els humans, l'abús d'una droga (Anton, 1999).

S'ha vist que aquells factors que en els animals de laboratori reestableixen la cerca de droga, inclús després de períodes prolongats d'abstinència (Shalev *et al.*, 2002), també afavoreixen el *craving* i les recaigudes en els humans. Aquests factors són la reexposició a la droga o a estímuls associats amb ella (Ludwig *et al.*, 1974; Jaffe *et al.*, 1989; O'Brien *et al.*, 1992) i l'exposició a certs estressors (Brown *et al.*, 1995; Sinha, 2001).

Actualment hi ha un nombre important de laboratoris que utilitzen aquests tipus de procediment a l'hora d'estudiar els mecanismes neuronals subjacents en les recaigudes (Le i Shaham, 2002; Shalev *et al.*, 2002), i en aquest sentit poden ser d'utilitat, però cal no perdre de vista la falta de validesa farmacològica que han demostrat fins ara ja que les substàncies que en aquest model sembla que disminueixin la conducta de cerca de la droga, no es mostren efectives en els assatjos clínics a l'hora d'evitar les recaigudes. Malgrat la falta de validesa predictiva, sí presenten un cert grau de validesa aparent ja que existeix una similitud entre la recaiguda i els factors que la propicien, que pateixen els animals en aquest model, i la recaiguda observada en els humans (Katz i Higgins, 2003). Per a una descripció més detallada d'aquest model vegeu Shaham *et al.* (2003) i Katz i Higgins (2003).

Com s'ha comentat anteriorment en el punt 3.1.5., Wolffgramm (1991) observà que, durant aproximadament els primers 6 mesos, el consum d'alcohol dels animals era modificable mitjançant variables externes, com les condicions d'estabulació o el rol social de l'animal en la colònia, però en el cas que aquests animals fossin sotmesos a un període d'abstinència forçada de 9 mesos, les rates que tornaven a mostrar preferència per l'alcohol ja no deixaven de beure tot i que s'adulterés la solució alcohòlica amb quinina o es modifiquessin les condicions

d'estabulació i/o el rang de dominància. D'aquesta observació va sorgir l'anomenat punt de ruptura (*point-of-no-return*) que també s'observa en els humans.

Aquest concepte planteja l'existència de dues fases diferents en el consum d'una droga que a la vegada tindrien una *fase de transició* entre elles. El criteri que permetria discriminar entre un estat i l'altre seria el control i la reversibilitat del consum de la droga. La principal característica del període de "consum controlat" és que el consum de la droga es veu afectat mitjançant la modificació de factors reforçants o aversius externs i, a més, pot ser augmentat o disminuït segons les circumstàncies externes, mentre que en l'anomenat *state of behavioral dependence* l'animal ja no modifica el seu consum (Coper *et al.*, 1990; Wolffgramm i Heyne, 1995).

Aquest model podria ser molt útil amb vista a estudiar el punt d'inflexió que hi ha entre el consum moderat i esporàdic d'una droga i la pèrdua de control i la conseqüent addicció. A més permet un consum voluntari i perllongat en el temps, de manera que possibilita que es produeixin gradualment els canvis plàstics a nivell de SNC que es troben subjacents en tot procés addictiu i permetre'n, així, l'estudi.

3.1.7. Models genètics

Mitjançant els estudis de bessons i d'adopcions s'han trobat un gran nombre d'evidències que suggereixen l'existència d'un component genètic en l'alcoholisme (Miller i Gold, 1993; Conde *et al.*, 1996).

Els models animals genètics intenten entendre i explicar com les drogues exerceixen els seus efectes addictius, i així poder arribar a esclarir la base genètica de la susceptibilitat individual als seus efectes. Amb aquesta finalitat s'utilitzen poblacions d'animals genèticament seleccionades –principalment de rates i ratolins– dependent de la sensibilitat, la preferència o la severitat de l'abstinència d'alcohol (Crabbe *et al.*, 1994).

La gran variabilitat observada entre les diferents soques de rata i, dintre d'una mateixa soca, entre els diferents individus quant a la preferència per l'alcohol, en un

procediment de lliure elecció entre una solució d'alcohol al 10% i aigua durant 24 hores, va permetre fer una cria selectiva d'aquests animals amb què es van obtenir les dues primeres línies caracteritzades pel seu nivell, alt o baix, de consum d'alcohol.

Mardones (1960) i Erickson (1968) varen ser els primers a aplicar aquesta selecció genètica obtenint les rates UChB –altes consumidores d'alcohol– i UChA –baixes consumidores d'alcohol– (Mardones, 1960) i les rates AA –*Alcohol Accepting*– i ANA –*Alcohol Non Accepting*– (Erickson, 1968).

Posteriorment, s'han criat altres soques de rates amb característiques similars com ara les rates HAD –*High Alcohol Drinking*– i les LAD –*Low Alcohol Drinking*– (Lumeng *et al.*, 1986), i les rates P –*Preferring*– i NP –*Non Preferring*– (Li *et al.*, 1987), que han estat replicades mitjançant les soques sP –*Sardinian Preferring*– i NsP –*Sardinian non Preferring*– (Fadda *et al.*, 1989) (Phillips i Crabbe, 1991). Més recentment s'han obtingut les rates HEP –*High-Ethanol Preferring*– (Myers *et al.*, 1998) mitjançant el creuement de rates de la soca Sprague-Dawley i rates P (Terenina-Rigaldie *et al.*, 2004).

Malgrat que diversos estudis posen de manifest diferències entre les diverses soques quant a la quantitat d'alcohol ingerida (Rodd *et al.*, 2004), resultats obtinguts en rates preferidores com les P, HAD, sP, AA o les UChB indiquen que poden ingerir, en condicions de lliure ingesta, dosis mitjanes d'alcohol de fins a 6 i 7 grams d'alcohol per Kg de pes i dia, mentre que en el cas de les no preferidores les dosis ingerides oscil·larien entre el 0.7 i els 1.5 g/Kg/dia (Phillips i Crabbe, 1991).

També hi ha diferents soques consanguínies de ratolins seleccionats per la seva sensibilitat a determinats efectes de l'alcohol, com ara els efectes hipnòtics. Aquest és el cas de les soques C57BL/6J, d'alta preferència i baixa sensibilitat, i les BALB/cJ, de baixa preferència i alta sensibilitat (Elmer *et al.*, 1988). També els ratolins LS –*Long-Sleep*– i SS –*Short-Sleep*– (McClearn i Kakihana, 1981) i les rates HAS –*High Alcohol Sensitive*– i LAS –*Low Alcohol Sensitive*– (Spuhler *et al.*, 1990) que han estat seleccionats per la diferent sensibilitat als efectes hipnòtics de l'alcohol, o les rates AT –*Alcohol Tolerant*– i les ANT –*Alcohol Non Tolerant*– seleccionades per la

sensibilitat diferencial a la tolerància dels efectes de l'alcohol sobre la coordinació motriu (Eriksson i Rusi, 1981).

Per altra banda, també trobem els ratolins *FAST* i *SLOW*, que difereixen quant a l'efecte estimulador motriu que produeix l'alcohol, mesurat en situació de camp obert (Crabbe *et al.*, 1987a), i els ratolins *HOT* i *COLD*, que es diferencien en els efectes hipotèrmics de l'alcohol: així, els *HOT* serien insensibles a l'efecte hipotèrmic, mentre que els *COLD* hi serien sensibles (Crabbe *et al.*, 1987b).

Quant a la seva susceptibilitat a la síndrome d'abstinència –mesurada mitjançant convulsions audiògenes– s'han obtingut les cries selectives de ratolins següents: els susceptibles –*Withdrawal Seizure-Prone* o *WSP*– i els molt resistents –*Withdrawal Seizure-Resistant* o *WSR*–, que a més, presenten patrons de consum voluntari diferents. Així, els *WSR* ingereixen quantitats superiors i mantenen la ingesta en el temps. En canvi, els *WSP* ingereixen només majors quantitats el primer dia d'ingesta, fet que suggereix la influència d'alguns gens en la severitat de la síndrome d'abstinència alcohòlica i sobre el consum voluntari d'alcohol (Kosobud *et al.*, 1988). Però malgrat aquestes diferències, no difereixen quant a la sensibilitat a altres efectes de l'alcohol, com l'estimulació motriu, i els efectes hipotèrmics o en la pèrdua i recuperació del reflex de redreçament amb una mateixa dosi d'alcohol, ni desenvolupen tolerància aguda. Aquests resultats suggereixen factors genètics independents en el control de la sensibilitat, la tolerància, la dependència i l'autoadministració, i que, per tant, aquests animals tindrien algun mecanisme neurobiològic diferent (Phillips i Crabbe, 1991; Crabbe *et al.*, 1994).

Una altra soca de ratolins seleccionada per la severitat de l'abstinència alcohòlica són els *SEW* –*Severe Ethanol Withdrawal*– i els *MEW* –*Mild Ethanol Withdrawal*– (McClearn *et al.*, 1982). En aquests animals es va aconseguir una dependència física de l'alcohol mitjançant dietes líquides. L'índex de severitat es va determinar a partir de diferents mesures d'abstinència com ara les convulsions, l'activitat locomotriu, l'ansietat i la temperatura corporal (Phillips i Crabe, 1991), però a causa de diferents problemes, que varen sorgir durant el procés de selecció, es va decidir no continuar amb aquesta soca d'animals (Phillips i Crabe, 1991).

Els models genètics han contribuït a posar de manifest la importància del genotipus en diferents aspectes de l'efecte de l'alcohol, com ara la sensibilitat, la preferència inicial per la droga, els canvis crònics en resposta a la tolerància i la severitat de la síndrome d'abstinència (Elmer *et al.*, 1988; Crabbe, 1989; Crabbe *et al.*, 1994). A més, presenten un cert grau de validesa ja que l'alcoholisme en humans també sembla estar influït pel genotipus. Malgrat això tenen una greu limitació que en qüestiona la validesa predictiva, i és que no deixen de ser un simulacre de la complexa naturalesa humana. Per altra banda, atès que es tracta d'animals modificats per un tret característic, els resultats obtinguts no poden ser generalitzats a tots els individus de la espècie.

3.1.8. Model d'alcoholisme (MA) i model d'alcoholisme primari precoç (APP)

En el laboratori de la Universitat Autònoma de Barcelona es varen desenvolupar una sèrie de treballs (Pallarés *et al.*, 1992, 1994; Nadal *et al.*, 1992; Prat, 1995) destinats a l'estandardització d'un procediment que permetés obtenir individus experimentals bevedors de solucions alcohòliques. D'aquests estudis varen sorgir dos models d'alcoholisme animal basats en un paradigma d'autoadministració voluntària d'alcohol que proporcionen rates Wistar, no seleccionades, consumidores cròniques de dosis tòxiques d'alcohol. Són el model d'alcoholisme (MA) (Nadal *et al.*, 1992, 1996; Pallarés *et al.*, 1992, 1997, 2001) i el model d'alcoholisme primari precoç (APP) (Darbra *et al.*, 2002; Garcia-Rebollo *et al.*, 2005).

En ambdós casos es tracta d'una variació del model d'ingesta prandial (vegeu punt 3.1.3.) que es caracteritza per una fase d'inducció al consum, en la qual a més de realitzar-se una associació entre la ingesta de menjar i el consum d'alcohol, s'hi afegeixen altres factors que poden facilitar la ingesta de la solució alcohòlica, com són la modificació de la paladejabilitat de la solució mitjançant l'addició de glucosa i la limitació del temps d'accés al menjar (Pallarés, 1990; Pallarés *et al.*, 1992), de manera que s'obtenen animals consumidors de dosis tòxiques d'alcohol que se

situen al voltant d'1.5 i 3 g/Kg/h en un període relativament curt de temps (10-15 dies d'inducció).

El fet que l'accés al menjar es doni durant un temps limitat permet fer coincidir la ingesta d'alcohol amb la ingesta de menjar, com fan sovint els humans, i augmentar així la capacitat gratificant de l'alcohol (Prat, 1995). Es va observar també que el temps d'accés a la solució era una variable important ja que es va trobar una relació inversa entre el temps d'accés a la dissolució i la magnitud del consum (Pallarés *et al.*, 1994).

Quant al menjar, se sap que en animals la limitació del temps d'accés o de la quantitat de menjar incrementa l'autoadministració d'alcohol en quantitats suficients per a produir intoxicació (Koob i Bloom, 1988), però això no és específic de l'alcohol ni té a veure amb les caloríes, atès que també augmenta el consum d'altres drogues addictives no calòriques, com per exemple els psicoestimulants, que són precisament anorexígens (Heyser *et al.*, 1997).

Per altra banda, resultava pertinent la utilització de glucosa per a endolcir la dissolució alcohòlica en models animals d'ingesta voluntària d'alcohol on les condicions de palatabilitat i gratificació són rellevants a l'hora d'assegurar-ne un consum elevat, ràpid i estable. No es tracta d'un factor crític, simplement permet iniciar el consum de manera més ràpida. A més, inclús les begudes alcohòliques convencionals destinades a les persones porten certa quantitat de sucre.

Els resultats obtinguts varen permetre concloure que optimitzant al màxim aquestes variables, és a dir, administrant una solució endolcida amb glucosa d'entre el 3 i el 10%, proporcionant un accés limitat a la dissolució d'1 hora al dia, coincidint amb l'hora de menjar, o privant l'animal al 80% del seu pes *ad libitum*, s'aconseguia:

- un consum tòxic diari, en la rata Wistar aïllada. A més, aquest consum es mantenia en condicions posteriors de lliure accés (Pallarés *et al.*, 1992; 1994);
- tolerància als efectes disruptors motrius de l'etanol (Silvestre *et al.*, 2002);
- diferències en processos cognitius com l'aprenentatge i la memòria (Pallarés *et al.*, 1992);
- tolerància als efectes hipnòtics de l'alcohol (Darbra *et al.*, 2002);

- símptomes propis d'una síndrome d'abstinència, després de la retirada de l'alcohol, mesurats per convulsions audiògenes i catalèpsia (Silvestre, 1993);
- sensibilització de la transmissió colinèrgica de tipus nicotínic a l'hipocamp (Garcia-Rebollo *et al.*, 2005), i
- regulació a l'alça del subtipus de receptor nicotínic $\alpha 4\beta 2$ situat a l'hipocamp (Robles *et al.*, 2003; 2004).

La diferència existent entre els dos models radica en la precocitat de l'inici i el temps de consum. En el model MA la primera presentació es fa quan els animals ja són adults, i les proves conductuals tenen lloc quan els subjectes porten un període màxim de 34 dies d'ingesta d'alcohol; mentre que en el cas del model APP l'alcohol és presentat en un estadi molt primerenc, des del deslletament –als 21 dies d'edat–, i els animals són avaluats conductualment després de més de 70 dies d'ingesta d'alcohol.

A diferència de l'alcoholisme humà (Coper *et al.*, 1990), la incidència del consum tòxic en aquests subjectes fou del 100%, fet que no es troba mai entre els bevedors humans i que podria questionar la validesa del model. Per aquest motiu es va fer una *prova de condicionament de la preferència pel lloc* (Nadal *et al.*, 1992), que va mostrar diferències entre subjectes, de manera que no tots aquests bevedors eren uniformes i que aquells subjectes que mostraven una major preferència també eren els més resistents o tolerants als efectes depressors de l'alcohol. El treball de Nadal *et al.* (1992) modela un aspecte important de l'alcoholisme humà: els bevedors d'alt risc (per la quantitat d'alcohol ingerida) que no són dependents i els alcohòlics dependents.

Aquests models compleixen un cert nombre de condicions per la validesa de constructe, tot i l'aïllament de l'animal, tanmateix inevitable per poder mesurar la ingesta d'alcohol i controlar les variables que puguin afectar aquest consum.

El fet que l'alcohol s'associï inicialment amb un altre reforçador com ara el menjar, induint una preferència, malgrat que la presència de menjar a l'estómac

pugui retardar l'efecte de l'alcohol en el SNC, confereix al model un cert grau de validesa aparent i de constructe, ja que s'ha descrit que, en l'alcoholisme humà, el consum d'alcohol es troba associat amb altres reforçadors, com el reforçament social, i que, en moltes ocasions, també es consumeix juntament amb el menjar (Samson i Grant, 1990). A més, resulta un model adient per a estudiar el fenomen de l'addicció alcohòlica ja que s'aconsegueixen consums voluntaris de dosis tòxiques d'alcohol, farmacològicament significatives, de manera progressiva i durant un període de temps suficient per a produir canvis plàstics en el SNC, canvis que han estat en part estudiats, com és el cas de la sensibilització del circuit colinèrgic septohipocàmpic a nivell fisiològic i molecular (Robles *et al.*, 2003; 2004; Garcia-Rebollo *et al.*, 2005).

3.2. Models d'ingesta forçada

En aquest tipus de models, l'alcohol és administrat per via inhalatòria, per intubació intragàstrica, mitjançant programes d'infusió intravenosa o per mitjà d'una dieta líquida en la qual l'alcohol s'integra dins la dieta alimentària del subjecte (Fadda i Rossetti, 1998).

Aquests models han estat molt utilitzats per a estudiar la conducta dels animals durant la síndrome d'abstinència alcohòlica pel fet que generen dependència ràpidament. No obstant això, a l'hora d'estudiar l'addicció, no presenten validesa predictiva, ni de constructe, ni aparent, ja que els animals no s'autoadministren la droga i fallen a l'hora de reproduir les corbes d'alcohol en sang obtingudes mitjançant una administració oral voluntària. Per altra banda, aquests animals consumeixen quantitats d'alcohol més grans que d'aigua però en cap cas no es pot afirmar que presentin una preferència per l'alcohol. Una prova clara que no són preferidors és que, malgrat l'aparició dels aversius símptomes de la síndrome d'abstinència, els subjectes, si poden triar, van disminuint el consum d'alcohol amb el pas del temps (Chan *et al.*, 1983) i es desintoxiquen ells mateixos. Per tant, aquests models serien els més allunyats a l'hora de modelar l'alcoholisme humà.

3.2.1. Dietes líquides amb alcohol i administració d'alcohol amb l'aigua de beguda

En aquests dos tipus de procediments s'inclou l'alcohol en la dieta dels animals, i se'ls proporciona fins a un 36% de les calories totals (DeCarli i Lieber, 1967).

En el cas de les dietes líquides, l'alcohol s'inclou dins de tots els altres nutrients en una suspensió, i és l'única font de menjar i beguda. Per a una descripció detallada de la composició de la dieta líquida vegeu Lieber i DeCarli (1986) i Lin (1989). Amb aquest mètode els animals ingereixen de 12 a 18 g/Kg/dia d'alcohol, que es correlacionen adequadament amb els nivells sanguinis, i s'obté també tolerància i dependència (Leonard, 1989).

Un altre model d'administració forçada és quan l'alcohol es barreja amb l'aigua i es presenta com a única font de beguda. Així s'ingereixen més calories amb el menjar i els animals s'adapten una mica millor a la dieta (Zucoloto *et al.*, 1984).

Aquests dos mètodes han estat criticats pels importants problemes de desnutrició i deshidratació que provoquen i que es manifesten amb una disminució del pes corporal dels animals tractats (Rao *et al.*, 1985; Rao *et al.*, 1987; Rao *et al.*, 1988). Tot i que alguns autors han arguït que es produeixen els mateixos dèficits de pes observats en dietes comercialitzades de *pellets* (Ward, 1987).

Com ja s'ha comentat, malgrat que no resulten un model adient per a estudiar el procés addictiu, sí han resultat útils per a l'estudi de la degeneració hepàtica, de les anormalitats metabòliques, endocrines i nervioses ocasionades per l'alcohol i també en l'avaluació de la interacció entre l'alcohol i diferents agents tòxics com ara solvents industrials, drogues, analgèsics, carcinògens i nutrients (Lieber i DeCarli, 1989). Això és degut a la facilitat amb què s'obtenen dosis elevades d'alcohol en sang.

3.3. Proves de preferència

Les proves de preferència, tot i que per elles soles no constitueixen un model d'alcoholisme animal, aporten informació rellevant sobre la natura gratificant o reforçant de l'alcohol, a més de permetre dilucidar si el model d'inducció al consum d'alcohol utilitzat ha tingut els resultats esperats (Prat, 1995).

3.3.1. Lliure accés

Aquesta prova es caracteritza per proporcionar als animals el lliure accés a la solució alcohòlica durant les 24 hores del dia, sense estar privats ni de menjar ni d'aigua ni sota l'efecte de cap tipus de fàrmac que pugui afectar en l'elecció d'un tipus de beguda o un altre.

Amb aquest procediment s'ha observat que les rates prefereixen dissolucions que continguin una baixa graduació d'alcohol –inferior al 6%. En el moment en què la concentració d'alcohol s'incrementa els animals prefereixen l'aigua (Amit *et al.*, 1987).

La preferència dels animals per graduacions baixes d'alcohol fa que la quantitat d'alcohol ingerit no sigui suficient per a assolir nivells tòxics i, per tant, com ja s'ha comentat anteriorment, s'hagi de recórrer a tot un seguit de manipulacions de diferents variables experimentals com la privació del menjar, l'endolciment de la dissolució o la limitació del temps d'accés a la beguda.

3.3.2. Proves operants de preferència

Aquestes proves es porten a terme en gàbies de Skinner mitjançant programes concurrents amb dues palanques.

De la mateixa manera que el procediment de lliure accés, a més de validar el procediment d'inducció i mesurar la preferència per una determinada graduació d'alcohol serveixen per a comparar preferències entre l'alcohol i altres substàncies

amb propietats gratificants –p. ex. la sucrosa– o valorar l'efecte de fàrmacs sobre la preferència per l'alcohol (Pallarés, 1990). Però, a diferència del lliure accés, tenen com a avantatge que permeten un control més gran i faciliten la quantificació del consum d'alcohol de l'animal. A més, permeten valorar l'esforç de l'animal per a aconseguir la droga i mesurar-ne el grau d'addicció.

Quant a la preferència per la graduació, s'obtenen preferències màximes per les dissolucions del 2,5% (Iso i Sakaki, 1982). Els animals preferèixen l'alcohol a l'aigua quan les concentracions d'alcohol es troben entre el 2,5 i el 5%, mentre que preferèixen l'aigua quan es tracta d'alcohol amb una graduació del 30 o del 40% (Iso, 1986).

Samson i col·laboradors (1982), utilitzant un programa d'elecció, varen estudiar les preferències dels animals per una dissolució d'alcohol al 5% i una dissolució d'aigua amb sucrosa d'entre l'1 i l'1,25%. Obtingueren que amb aquestes concentracions el 50% de les respostes eren per a la dissolució de sucrosa i l'altre 50% per a la dissolució alcohòlica. A mesura que s'augmentava la concentració de la dissolució de sucrosa –3 o 5%– les respostes per a aconseguir alcohol disminuïen. No obstant això, quan s'augmentava el nombre de respostes necessàries per a aconseguir la dissolució de sucrosa –de RF8 a RF64–, els animals incrementaren el nombre de respostes de la palanca que els administrava l'alcohol. Per tant, sembla que existiria un balanç entre l'alcohol, la sucrosa i l'esforç necessari per a aconseguir-los.

3.3.3. Condicionament de la preferència pel gust (CPG)

Consisteix a associar un determinat gust amb l'alcohol i observar quina preferència mostren els subjectes per aquest gust en absència d'alcohol, respecte d'altres gusts que no han estat associats amb la droga. Aquelles dosis i formes d'administració que converteixin l'alcohol en aversiu provocaran una aversió condicionada al gust prèviament associat amb l'alcohol. Mentre que aquells procediments que intenten obtenir animals addictes de manera voluntària han

d'aconseguir preferència condicionada pel gust associat amb l'alcohol ja que en aquests models l'animal s'ha d'autoadministrar voluntàriament la droga pel plaer o la recompensa que li provoca (Cicero, 1980; Kornetsky *et al.*, 1988; Tabakoff i Hoffman, 1987a).

Altres estudis mostren que l'olor és de gran importància per a la preferència o aversió que es pot associar amb el gust de la dissolució alcohòlica. Rates sotmeses a l'olor de l'alcohol associat amb el de clorur de liti –tòxic i aversiu– durant la seva etapa infantil –5, 10, 15 i 20 dies després del naixement– presentaren una menor preferència per la dissolució alcohòlica que les rates que només havien olorat l'alcohol (Molina *et al.*, 1986). Això podria indicar que l'associació d'olors aversius amb l'olor d'alcohol provocaria una abolicció posterior del consum, inclús després de períodes llargs de temps entre ambdues situacions.

3.3.4. Condicionament de la preferència/aversió pel lloc (CPP/CPA)

El procediment bàsic d'aquest paradigma consisteix a presentar a l'animal dos o més ambients clarament diferenciats per les seves característiques sensorials. Un dels compartiments és associat amb el consum d'una droga i els seus efectes, mentre que l'altre s'associa amb el tractament amb salí. Després d'un període d'entrenament i, en condicions lliures de droga, es retorna el subjecte a la seva gàbia o es fa un retest i s'observa per quin ambient mostra preferència o aversió (Goudie, 1991).

En el cas de l'alcohol s'obtenen resultats contradictoris depenent de la dosi i de la via d'administració. Així, Van der Kooy *et al.* (1983) varen estudiar l'efecte de diferents dosis, a diferent concentració i amb diferents vies d'administració –intravenosa *versus* intraperitoneal– i de manera consistent observaren que els animals mostraven aversió pel lloc, o cap tipus d'efecte, quan es tractava de les dosis més baixes. Asin *et al.* (1985) no trobaren efecte en cap de les dosis d'alcohol administrades per via intraperitoneal o intravenosa, mentre que Stewart i Grupp (1986) sí ho feren en rates que consumien alcohol de manera voluntària i per via oral, però en alguns casos també trobaren aversió condicionada pel lloc. Previament,

Stewart i Grupp (1981) havien observat CPP amb una dosi moderada d'alcohol (0,5 g/Kg) però només si se li oferia, simultàneament, menjar en el compartiment associat amb l'alcohol.

Segons Reid *et al.* (1985) les rates mostren CPP però només en el cas que hagin estat prèviament exposades a l'alcohol. Encara que segons Black *et al.* (1973) la preexposició a l'alcohol no seria un requisit absolut perquè els animals mostrin aquest tipus de preferència.

Una de les explicacions que donen Black *et al.* (1973) al gran nombre de dades contradictòries que existeixen, és que les rates estarien molt estressades per les manipulacions implícites en aquest tipus de procediment –*handling*, injeccions i l'exposició a nous ambients, entre d'altres–. Per aquest motiu, l'alcohol produiria CPP en les rates més estressades, atès el seu efecte ansiolític; mentre que les rates que no visquessin aquest procediment com a estressant mostrarien resultats diferents.

Segons Cunningham i col·laboradors (1997), aquestes discrepàncies probablement es deuen al fet que aquest paradigma pot mesurar tant els efectes reforçants com els aversius de la mateixa droga depenent de diferències subtils en el procediment seguit durant el condicionament. Així per exemple, Cunningham *et al.* (1992) va trobar en un estudi que l'alcohol produïa CPP mentre que en un altre va obtenir que produïa CPA (Cunningham *et al.*, 1997). Aquesta discrepància li va permetre demostrar que la relació temporal entre la injecció d'alcohol i l'estímul condicionat (EC) és crítica a l'hora de determinar si els animals mostraran CPP o CPA. Quan l'alcohol és administrat immediatament o 30 minuts abans de l'exposició a EC, es produeix preferència pel lloc; mentre que si l'administració d'alcohol es fa 5 minuts després de l'exposició a l'EC, s'indueix aversió pel lloc. Per això, va proposar que les injeccions postEC afavorien el CPA; mentre que les preEC afavorien el condicionament de les propietats reforçants (Cunningham *et al.*, 1997; Cunningham i Henderson, 2000). Aquest efecte també s'ha obtingut amb altres drogues d'abús, com la nicotina i les amfetamines, quan s'ha seguit el mateix procediment (Fudala i Iwamoto, 1987, 1990; Cabib *et al.*, 1996).

Una altra variable important que pot influir en el CPP són les propietats discriminatives de la droga que, en el cas de l'alcohol, es relacionen amb el perfil depressor. Aquest fet pot conduir a que els estímuls contextuais presents en el moment de realitzar el CPP s'associïn amb els efectes sedants de l'alcohol, que no necessàriament han de ser els més gratificants per a tots els animals, encara que sí ho poden ser per alguns. En un estudi realitzat per Nadal *et al.* (1992) només la meitat dels animals que prèviament s'autoadministraven alcohol de manera oral mostraren CPP, la resta d'animals entraren a la gàbia de condicionament sota els efectes depressors de l'alcohol i no ho feren. Aquests resultats no són exclusius de l'alcohol sinó que també s'observen amb altres drogues amb perfil bifàsic –estimulador-depressor– com ara els barbitúrics i les benzodiazepines (Carr *et al.*, 1989). És per això que no es pot descartar la possibilitat que els subjectes puguin associar el lloc d'administració amb els efectes sedants i no amb els euforitzants, que són més immediats, i poden donar lloc a aquests resultats ambigus en el CPP.

De tota manera, es fa evident la necessitat d'un estudi més aprofundit d'aquelles variables sota les quals l'alcohol produeix CPP o CPA.

Un dels avantatges que presenta aquest paradigma és que es tracta d'un procediment molt sensible que requereix poques associacions amb la droga i que no requereix un entrenament molt llarg, al contrari del que succeeix amb les tècniques d'autoadministració operant. A més, com que la prova es porta a terme amb l'animal lliure de droga, s'evita la interferència que pot tenir l'alcohol en l'activitat motriu i que podria esbiaixar els resultats obtinguts (Mucha *et al.*, 1982; Mucha i Iversen, 1984).

Per altra banda, com que el CPP es pot observar amb una única exposició a la droga, permet l'estudi de les conseqüències emocionals de la primera exposició a la droga, la qual cosa és important atès que els estudis amb humans sembla que indiquen que l'efecte de la primera experiència amb la droga és el millor predictor del seu consum posterior (Haertzen *et al.*, 1983).

3.4. Conclusions

Al llarg d'aquest capítol s'ha volgut fer un breu repàs dels diferents models animals utilitzats per a estudiar l'alcoholisme.

És important destacar que, malgrat tots els esforços fets fins al dia d'avui, no hi ha un únic model ideal que acompleixi tots els criteris de validesa, tot i que, segurament, sigui una utopia pensar que un model animal pugui arribar a modelar totalment l'alcoholisme humà.

El que està clar és que hi ha models o procediments més adients que d'altres depenent de l'aspecte que es vol estudiar. Així, com ja s'ha comentat anteriorment, els models d'administració forçada, no són útils a l'hora de modelar el procés addictiu perquè, malgrat que permeten aconseguir nivells tòxics d'alcohol en sang, no són eficaços a l'hora de reproduir l'augment progressiu d'aquests nivells que es dona en humans. A més, tenint en compte que en el cas dels humans l'alcohol sempre es consumeix per via oral, la millor aproximació a l'estudi dels efectes de l'alcohol sobre la conducta és mitjançant procediments d'ingesta voluntària. Per altra banda, tot i que pot succeir que amb un model de consum forçat algun animal s'hi faci addicte, no es pot garantir el mateix procés per a tots els animals, i es corre el risc de provocar l'efecte contrari, de manera que l'alcohol esdevingui un estímul aversiu (Wolffgramm i Heyne, 1995). No obstant això, sí serien adients amb vista a l'estudi de la toxicitat de l'alcohol en l'organisme, del seu metabolisme i de la interacció amb altres fàrmacs i drogues. Els principals avantatges d'aquest tipus de models serien de caràcter pràctic, a més de la magnitud de la dosi d'alcohol en sang que permeten obtenir. Per tant, poden ser una bona eina si es tenen presents les seves limitacions.

Els models d'autoadministració operant i de substitució progressiva de sucrosa resulten útils a l'hora de valorar les característiques reforçants de l'alcohol i la preferència per les diferents concentracions de la dissolució alcohòlica. El principal problema que presenten és la manca de validesa de constructe perquè el fet que una droga s'autoadministri no implica *per se* que s'hi produeixi addicció.

Quant al model de polidípsia, podem concloure que la validesa d'aquest procediment queda en entredit, relegant-se amb limitacions, a l'estudi de les condicions que afavoreixen l'inici de l'addicció alcohòlica. Tot i que no es considera el més adequat per un estudi generalitzable a l'alcoholisme humà, amb aquest model s'obté tolerància, dependència i conducta d'autoadministració persistent.

Els models d'ingesta prandial permeten modelar el consum d'alcohol en condicions que es donen habitualment en els humans com l'associació amb el menjar i amb ocasions especials –accés restringit–.

Els models socials, tot i ser poc pràctics i molt parsimoniosos, han aportat una dada important quant al consum d'alcohol en animals, ja que s'ha vist que aquests segueixen un patró de consum similar als humans en relació amb la incidència i la variabilitat, interindividual i de sexes (Ferré, 1996).

Els models de recaiguda presenten un cert grau de validesa aparent, atès que hi ha certa similitud entre la recaiguda i els factors que la faciliten, que mostren els animals en aquest model, i la recaiguda observada en els humans. Quant a la validesa predictiva, no s'han pogut establir equivalències funcionals clares, per la qual cosa no es poden generalitzar els resultats obtinguts en aquest model a l'àmbit de la clínica.

Els models genètics, tot i la falta de validesa predictiva, han contribuït a posar de manifest la importància del genotipus en diferents aspectes de l'efecte de l'alcohol i també la influència que pot tenir aquest genotipus en la predisposició a l'alcoholisme en l'humà.

Per tant podem concloure que l'ideal seria poder combinar el que aporten els diferents models per poder tenir un coneixement més complert i real de l'alcoholisme. De fet, és quan es coneixen i es controlen les limitacions de cada model quan s'aconsegueix un progrés més gran.

4. FARMACOCINÈTICA

4. FARMACOCINÈTICA DE L'ALCOHOL

L'alcohol etílic o etanol ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{OH}$) és un hidrocarbur alifàtic de baix pes molecular ($P_m=46.07$), d'elevada volatilitat i altament hidròfil. És el principal producte de la fermentació del sucre contingut en diferents vegetals, com els cereals, la fruita o la canya de sucre. En condicions ambientals es tracta d'un líquid incolor, de forta aroma i gust peculiar.

4.1. Absorció, distribució i eliminació de l'alcohol

El consum d'alcohol es caracteritza per produir-se, gairebé de manera exclusiva, per via oral. Tot i que es pot absorbir al llarg de tot el tracte gastrointestinal, des de la boca i l'estòmac, l'absorció es porta a terme majoritàriament a l'intestí prim i al duodè, a través de les membranes cel·lulars, per un procés de difusió simple (Batt, 1989). A través de la vena porta arribarà al fetge que és on tindrà lloc, principalment, el seu metabolisme.

A nivell de la boca s'absorbeix a través de la mucosa bucal i passa directament al torrent circulatori, encara que la taxa d'absorció de l'alcohol per aquesta via és mínima ja que entra ràpidament a l'estómac (Batt, 1989). L'absorció a través de la mucosa gàstrica depèn en part del nivell de retenció de l'alcohol a l'estómac el qual està regulat per la rapidesa en l'apertura del pílor (Sánchez-Turet, 1997). A nivell quantitatiu sembla que l'alcohol s'absorbeix fonamentalment a l'intestí prim a causa del fet que en aquest òrgan es troben microvellositats que augmenten de manera notable la superfície que possibilita aquesta absorció (Aragón *et al.*, 2002).

La durada mitjana del procés gàstric d'absorció de l'alcohol ha estat xifrada en 1,7 minuts però aquest temps depèn de la dosi, ja que, a mesura que augmenta la

concentració d'alcohol, l'absorció és més ràpida, i a la inversa, a mesura que el gradient de concentració, a través de la mucosa gàstrica, disminueix, s'alenteix l'absorció (Yi, 1991; Aragón *et al.*, 2002). Malgrat això, la taxa d'absorció de l'alcohol és susceptible de ser modificada per diversos factors que poden afectar els processos d'incorporació-absorció i, per tant, la biodisponibilitat. Alguns d'aquests factors són la presència de menjar, la concentració d'alcohol ingerida i el període de temps en què es dona aquesta ingesta, o el tipus de beguda alcohòlica. Així, la presència de menjar a l'estómac i/o la ingesta de menjar simultània a la ingesta d'alcohol alenteixen la taxa d'absorció de l'alcohol (Kalant, 1971), mentre que la ingesta d'alcohol en una sola dosi produeix una absorció més ràpida que si la mateixa quantitat d'alcohol s'ingereix en diferents dosis més petites (Yi, 1991). Les característiques de la beguda alcohòlica també resulten un factor important ja que, per exemple, les begudes carbonatades, com el cava, s'absorbeixen més ràpid que aquelles que no ho són, i el mateix passa amb les begudes endolcides (Brick i Erickson, 1998).

Hi ha una relació d'U invertida entre la concentració de la beguda alcohòlica i la velocitat d'absorció que assoleix el seu nivell màxim quan la concentració d'alcohol se situa entorn del 40%. La variabilitat genètica en la codificació dels enzims encarregats del metabolisme de l'alcohol també poden donar lloc a diferències quant a la biodisponibilitat d'aquesta substància. Un exemple és el polimorfisme de l'enzim alcohol deshidrogenasa (ADH). Les dones, en general, presenten un menor nivell d'expressió d'aquest enzim a nivell gàstric per la qual cosa s'obtenen concentracions d'alcohol en sang majors en dones que en homes davant el mateix consum d'alcohol. També hi ha diferències racials, la població oriental sol presentar una menor activitat de l'ADH en la mucosa gàstrica respecte dels caucàsics (Aragón *et al.*, 2002).

A causa de les característiques fisicoquímiques de l'alcohol, aquest es difon ràpidament i uniformement en tots els teixits corporals en una quantitat proporcional a l'aigua que contenen (Yi, 1991). Aquest és un altre dels factors que donen lloc a les diferències existents entre homes i dones en relació amb la concentració d'alcohol en sang. Les dones tenen menor quantitat d'aigua corporal i

un major percentatge de greix, la qual cosa implica que davant una mateixa dosi d'alcohol presentaran una major concentració d'alcohol en sang que els homes (Brick i Erickson, 1998).

L'alcohol creua sense dificultat la barrera placentària i la barrera hematoencefàlica. Amb la mateixa facilitat també accedeix als pulmons des del torrent sanguini i es vaporitza a l'aire amb una velocitat constant. És per això que és possible determinar la concentració sèrica de l'alcohol a partir dels nivells continguts en l'aire exhalat (Aragón *et al.*, 2002).

La major part de l'alcohol ingerit, aproximadament un 98%, s'elimina a través del seu metabolisme en el fetge. La resta s'excreta, sense oxidar-se, a través de l'orina, els excrements, la suor i l'alè (Aragón *et al.*, 2002).

4.2. Metabolisme hepàtic de l'alcohol

Tot i que hi ha una gran variabilitat entre individus, quant a la velocitat i taxa de metabolització, es considera que la velocitat mitjana és d'aproximadament 100 mg d'alcohol per Kg de pes i hora (Kalant, 1971). Cal destacar, però, que hi ha diferències entre les espècies animals. Així, en el cas de la rata, és al voltant de 300 mg/Kg/h, més elevada que en l'home (Le Bourhis, 1988).

El metabolisme de l'alcohol segueix el que s'anomena una cinètica d'ordre zero, de manera que el ritme d'eliminació és constant i independent de la quantitat d'alcohol consumit, i s'incrementa mínimament a mesura que augmenta la concentració en sang (Von Wartburg, 1989). Si s'ingereix un volum superior a la capacitat de metabolització, l'alcohol s'acumula a la sang i apareixen els signes d'embriaguesa propis d'aquesta droga.

La vida mitjana de l'alcohol és curta. El pic d'alcoholèmia es produeix de 45 a 60 minuts després de la ingesta. L'alcoholèmia es redueix 15-20 mg/dl cada hora com a conseqüència principalment de la metabolització hepàtica (Pérez de los Cobos i Guardia, 1998). No sembla que l'edat o el sexe siguin factors determinants en aquesta velocitat. Tanmateix, sí sembla que ho és l'assiduitat amb què es

consumeix, ja que a mesura que aquesta augmenta, també ho fan la capacitat metabòlica i d'eliminació de l'alcohol (Aragón *et al.*, 2002).

Tot i que el fetge és el principal òrgan encarregat del metabolisme de l'alcohol, hi ha evidències clares de l'existència d'un metabolisme oxidatiu extrahepàtic en diferents òrgans del cos, com l'estómac (Salmela *et al.*, 1996), els ronyons (DeMaster *et al.*, 1986) i el cervell (Cohen *et al.*, 1980). Aquest metabolisme es dona mitjançant un o més dels sistemes enzimàtics localitzats en el fetge, tot i que la predominància de cada un d'ells en cada teixit encara està en fase d'estudi, com també ho està el significat funcional d'aquest metabolisme (Aragón *et al.*, 2002).

En l'hepatòcit es donen les tres vies encarregades del metabolisme de l'alcohol, cada una d'elles situades en un compartiment cel·lular diferent: la via oxidativa portada a terme per l'enzim alcohol deshidrogenasa (ADH), en el citosol; el sistema microsomal oxidatiu de l'alcohol (MEOS), localitzat en el reticle endoplasmàtic, i la via de la catalasa, situada en els peroxisomes. Les tres vies donen com a resultat la producció d'acetaldehid però la via principal per la qual es metabolitza l'alcohol és la de l'ADH. Les altres dues sembla que són vies secundàries que només funcionarien quan, a causa d'una ingesta massiva d'alcohol, la via principal resultés insuficient, o davant ingestes normals en alcohòlics crònics en els quals l'afectació hepàtica es tradueix ja en una insuficiència metabòlica de la via principal (Lieber, 1991b, 1997).

4.2.1. Principal via d'oxidació de l'alcohol: enzim ADH

Tal com s'ha esmentat anteriorment, la principal via metabòlica de l'alcohol és l'oxidació hepàtica (vegeu Figura 1). A nivell de l'hepatòcit, l'etanol s'oxida i dona lloc a la formació d'acetaldehid. Aquesta oxidació es porta a terme a través de l'enzim alcohol deshidrogenasa (ADH), que es troba al citoplasma de l'hepatòcit, i que utilitza el dinucleòtid de nicotinamina i adenina (NAD⁺) i el fosfat de piridoxal com a cofactors.

L'acetaldehid format en la primera fase del metabolisme de l'alcohol, en la seva major part anirà cap a les mitocòndries on es degradarà en acetat per acció de

l'enzim aldehid deshidrogenasa (ALDH), que també depèn del NAD^+ . Només una petita part de l'acetaldehid format passa a la sang i és precisament aquest el que podria travessar la barrera hematoencefàlica (BHE) i tindria accés al Sistema Nerviós Central (SNC). És important tenir en compte que l'acetaldehid és una substància que no travessa la BHE amb facilitat i que, per tant, situacions d'ingesta de quantitats discretes d'alcohol no donen lloc a la presència d'acetaldehid en el SNC. Aquest fet és més propi d'ingestes agudes de quantitats importants d'alcohol o en el cas dels alcohòlics crònics que, al tenir afectats els hepatòcits, no són capaços de metabolitzar l'acetaldehid i donar lloc a la formació d'acetat, per la qual cosa generen una elevada concentració en sang que possibilita el seu pas a través de la BHE (Sánchez-Turet, 1997).

Els factors limitants de la taxa metabòlica de l'alcohol són la reoxidació del coenzim reduït (NADH , originat en la reacció metabòlica de l'alcohol) i la concentració hepàtica d'ADH (Crabb *et al.*, 1987).

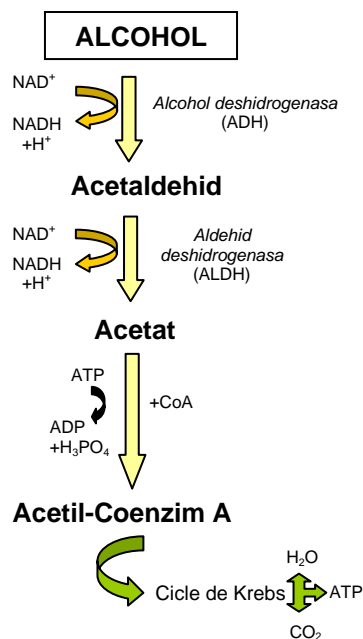


Figura 1. Principal via metabòlica oxidativa de l'alcohol en el fetge

Fins al moment s'han clonat set gens diferents per a l'ADH (ADH1-ADH7) (Edenberg i Brown, 1992) que codifiquen diferents subtipus de l'ADH hepàtica (α , β , γ , π , χ i σ). La presència d'una subunitat o una altra dóna lloc a diferents isoenzims que s'agrupen en cinc classes principals d'acord amb la composició i l'organització estructural i les propietats cinètiques i electroforètiques. La classe I comprèn diferents isoenzims –homodimèrics i heterodimèrics que contenen les subunitats α , β i γ , codificades pels gens ADH1, ADH2 i ADH3, respectivament– que presenten una baixa K_m per l'alcohol i que es localitzen principalment en el fetge, el ronyó, el pulmó i el tracte gastrointestinal. La classe II conté tan sols un isoenzim, la π -ADH, que és codificada pel gen ADH-4 i que oxida l'alcohol a altes concentracions (Bosron i Li, 1987). La classe III conté la χ -ADH, codificada pel gen ADH5 i, que a causa de la baixa afinitat que presenta pel substrat, no sembla que participi en l'oxidació de l'alcohol tot i que s'assoleixin concentracions elevades en plasma (Agarwal i Goedde, 1990; Ehrig *et al.*, 1990; Lieber, 1997). Posteriorment, en humans, s'han localitzat dues noves classes. La classe IV conté la σ -ADH que és codificada pel gen ADH7 i es localitza en la mucosa del tracte digestiu superior i a l'estómac (Yin *et al.*, 1990; Moreno i Pares, 1991; Pares *et al.*, 1993). Aquesta classe sembla que no s'expressa de manera significativa en el fetge i que intervindria en l'eliminació de l'alcohol a nivell del tracte digestiu (Lands, 1998). Finalment, la classe V, codificada pel gen ADH6, ha estat reconeguda a nivell genètic i com a ARN_m expressat en el fetge i l'estómac (Yasunami *et al.*, 1991).

Diversos autors han descrit un polimorfisme per a la classe I de manera que les diverses variants al·lèliques presenten diferents activitats catalítiques per a l'alcohol. L'existència en l'ADH2 de diferents al·lèls per a la subunitat β (β_1 , β_2 , β_3), i en l'ADH3, per a la subunitat γ (γ_1 , γ_2 , γ_3), dóna lloc a diferències en les propietats cinètiques de cada isoenzim (Kitson i Weiner, 1996; Lieber, 1997). L'isoenzim de l'ADH2 que conté la subunitat β_2 es va identificar com ADH atípica (Von Wartburg *et al.*, 1965) ja que si es compara amb la típica (β_1) pot oxidar l'alcohol més ràpidament, per tant, les persones que la tenen acumulen nivells d'acetaldehid més elevats després de consumir alcohol, amb les conseqüències tòxiques que això comporta. Estudis epidemiològics han descrit diferències entre races humanes pel

que fa a la presència d'aquesta isoforma atípica de l'ADH2, i s'ha observat un percentatge superior en la població oriental, fet que s'ha relacionat amb la intolerància a l'alcohol que presenta una part d'aquesta població (Agarwal i Goedde, 1990). Pel que fa a la $\beta 1$ sembla que és més comuna en la població caucàsica mentre que la $\beta 3$ ho és en algunes poblacions africanes (Bosron *et al.*, 1983; Jornvall *et al.*, 1984).

Quant a l'enzim ALDH, en humans, s'han aïllat 12 gens que codifiquen diferents tipus d'ALDH (ALDH1- ALDH12) amb seqüències d'aminoàcids ben diferenciades. No obstant això, els isoenzims hepàtics només són dos: l'ALDH1 citosòlica i l'ALDH2 mitocondrial, la resta es troben distribuïdes en altres teixits (Kitson i Weiner, 1996). Només l'enzim ALDH2 mitocondrial té una variant genètica, l'ALDH2*2, que ha estat descrita en el 40% dels orientals i en menys del 10% dels caucàsians, i que resulta funcionalment inactiva (Kitson i Weiner, 1996; Lieber, 1997). En aquests individus l'oxidació de l'acetaldehid és molt deficient, per la qual cosa s'acumula i dona lloc als seus efectes tòxics –hipotensió, rubor facial, palpitations, hiperventilació, mal de cap, nàusees i vòmits–.

Perquè l'acetat, producte del metabolisme de l'acetaldehid, es pugui incorporar al cicle de Krebs mitocondrial s'ha de transformar prèviament en acetil-Coenzim A (acetil-CoA) mitjançant la participació de l'enzim acetil-CoA sintetasa que es localitza en les mitocondries i el reticle endoplasmàtic. L'acetil-CoA ingressarà en el cicle de Krebs i, després de seguir la cadena de transport electrònic, acabarà generant CO_2 , H_2O i ATP.

4.2.2. Sistema microsomal oxidatiu de l'alcohol (MEOS)

El sistema MEOS representa a una família multigènica d'hemoproteïnes implicades en la detoxificació o activació de compostos endògens i exògens. En aquest sistema, el citocrom P450 CYP2E1 (2E1) sembla que és el que es troba més implicat en el metabolisme de l'alcohol (Correa, 1999). S'ha vist que pot ser induït

per l'administració crònica d'alcohol en el fetge i en altres teixits com els ronyons, l'intestí i el cervell (Lieber i DeCarli, 1968, 1970; Roberts *et al.*, 1994; Upadhyia *et al.*, 2000) i també mitjançant el tractament agut (Koop, 1992).

La funció fisiològica del P450(2E1) està relacionada amb l'obtenció de glucosa en situacions en què aquests nivells són baixos i els lípids són la font energètica fonamental (Song i Cederbaum, 1996). No obstant això, la inducció d'aquest pot produir hepatotoxicitat. L'activitat del citocrom P450(2E1), i del seu gen, es veu incrementada amb el consum crònic d'alcohol, cosa que dóna com a resultat un increment en la tolerància metabòlica a l'alcohol com també un augment en la tolerància a altres drogues (Lieber, 1999). Tanmateix, atès que també intervé en la conversió d'agents hepatotòxics en metabòlits tòxics, aquesta activitat també es veu incrementada, cosa que explica la major susceptibilitat que presenten els alcohòlics als efectes adversos d'alguns xenobiòtics, inclosos els dissolvents industrials. A més, també dóna lloc a un increment de productes tòxics i carcinògens i s'associa amb la generació de radicals lliures i dany cel·lular. La inducció del sistema MEOS també s'ha vist associada amb una proliferació del reticle endoplasmàtic tant en animals experimentals com en humans (Lieber, 1999; Lieber, 2004).

Quant a la contribució del sistema MEOS en el metabolisme general de l'alcohol sembla que actualment no hi ha dades concluints. Alguns autors (Thurman i Handler, 1989) creuen que la contribució d'aquest sistema en administracions agudes d'alcohol és petita. Aquesta contribució s'ha xifrat, tant en presència com en absència de l'enzim ADH, en un 3 i un 8%, respectivament. Quan es tracta d'un tractament crònic d'alcohol s'obtenen nivells més elevats que poden arribar al 22% (Thurman i Handler, 1989; Song i Cederbaum, 1996).

4.2.3. Via de la catalasa

La catalasa és un enzim tetramèric amb un grup hemo a cada subunitat. Es troba en tots els organismes aeròbics i la seva funció és la de degradar ràpidament peròxid d'hidrògen (Correa, 1999).

Depenent de la concentració de peròxid, la catalasa exerceix una funció dual. Quan les concentracions són baixes actua peroxidàticament per la qual cosa substàncies donadores d'hidrogen, com l'alcohol, poden ser oxidades. Quan la concentració del substrat és elevada, la catalasa descompon ràpidament el peròxid d'hidrogen mitjançant una reacció catalítica en què l'H₂O₂ actua tant d'acceptor com de donador de molècules d'hidrogen (Berkaloff *et al.*, 1988).

En el fetge, aquesta via es veuria limitada pels baixos nivells d'H₂O₂ que es donen en condicions fisiològiques. Això fa pensar que no tindria un paper significatiu en el metabolisme de l'alcohol a nivell hepàtic (Thurman i Handler, 1989). No obstant això, la seva contribució es pot veure augmentada en presència de quantitats d'H₂O₂ més grans (Handler i Thurman, 1985).

4.2.4. Metabolisme no oxidatiu de l'alcohol

Sembla que també hi ha una via de metabolisme de l'alcohol no oxidativa que es produeix a través de la formació d'èsters etílics d'àcids grassos (Goodman i Deyking, 1963; Mogelson i Lange, 1984), fosfatidiletanol (Zimatkin i Deitrich, 1995; Aradottir *et al.*, 2004) i *glucuronide ethyl* (Wurst *et al.*, 2003). Aquesta via podria ser més important en òrgans que no tenen capacitat metabòlica oxidativa, com és el cas del cor (Mogelson i Lange, 1984; Beckemeier i Bora, 1998), tot i que també s'ha trobat en altres teixits com el fetge (Laposata i Lang, 1986). Aquests èsters etílics s'han relacionat amb el dany que produeix el consum crònic d'alcohol en els òrgans (Beckemeier i Bora, 1998).

4.3. Metabolisme cerebral de l'alcohol. Hipòtesi de l'acetaldehid

Tradicionalment, l'acumulació d'acetaldehid (AC) en l'organisme s'ha relacionat amb els efectes aversius que pot produir un metabolisme deficient de l'alcohol –rubor facial, palpitations, mal de cap, nàusees i vòmits, entre d'altres. De fet, en això es basen els fàrmacs dissuasius del consum d'alcohol, com el disulfiram o la cianamida, que inhibeixen l'ALDH. No obstant això, diferents autors també han postulat que molts dels efectes neurofarmacològics, neuroquímics, neurotòxics i conductuals de l'alcohol es donen a través de l'AC (Aragón *et al.*, 1986; Hunt, 1996; Smith *et al.*, 1997; Zimatkin i Deitrich, 1997; Deitrich, 2004; Quertemont *et al.*, 2005a, 2005b).

En condicions normals difícilment l'AC accedeix al cervell ja que, d'una banda, després de consumir alcohol, les concentracions d'AC en sang són baixes a causa de l'elevada capacitat metabòlica de l'ALDH hepàtica, i de l'existència d'ALDH en el sistema microvascular cerebral que suposa una barrera metabòlica que disminueix la difusió de l'AC en el cervell (Eriksson i Sippel, 1977; Zimatkin, 1991). Per a superar la capacitat d'aquesta barrera metabòlica són necessàries concentracions d'AC en sang molt elevades –superiors a 100 μM – (Tabakoff *et al.*, 1976). Això va fer pensar en l'existència d'un sistema oxidatiu de l'alcohol en el cervell. Aquesta idea ha estat confirmada per diferents estudis que demostraren que cultius d'astròcits, i també homogenats de cervell de rata, eren capaços de produir concentracions biològicament significatives d'AC a partir d'alcohol (Aragón *et al.*, 1992; Gill *et al.*, 1992; Hamby-Mason *et al.*, 1997; Zimatkin *et al.*, 1998; Person *et al.*, 2000).

Segons Zimatkin *et al.* (2006) la catalasa seria l'enzim més important quant al metabolisme cerebral de l'alcohol en els rosegadors, i la seva contribució es xifra en un 60%. Els resultats obtinguts també mostren una contribució important del citocrom P4502E1, que representaria el 20% de l'oxidació de l'alcohol. El 20% restant possiblement és degut a l'acció de l'ADH com també a una altra via addicional, que es creu que existeix, però que encara no s'ha identificat (Zimatkin *et al.*, 1998). El paper de l'ADH en el metabolisme cerebral de l'alcohol no es pot descartar, ja que s'ha trobat ARN_m de l'ADH1 en les capes de cèl·lules granulars i de

Purkinje del cerebel, en les cèl·lules piramidals i granulars de la formació hipocampal i en alguns tipus de cèl·lules del còrtex. L'expressió de l'ADH4 s'ha detectat en les cèl·lules de Purkinje, en les capes cel·lulars piramidal i granular de la formació hipocampal, i en les cèl·lules piramidals del còrtex (Martínez *et al.*, 2001). Les dades obtingudes fins ara no mostren, però, un paper important d'aquest enzim en el metabolisme de l'alcohol a nivell cerebral.

La localització del citocrom P4502E1 per fluorescència en hibridació *in situ* ha permès demostrar l'expressió d'aquest citocrom preferencialment en les neurones del cervell humà i de rata. L'expressió del P4502E1 s'ha trobat en neurones del còrtex cerebral, cèl·lules granulars i de Purkinje del cerebel, en la capa de cèl·lules granulars del gir dentat i en les neurones piramidals de les regions CA1, CA2 i CA3 de l'hipocamp, tant en humans com en rates (Upadhya *et al.*, 2000).

D'altra banda, s'ha confirmat que l'enzim ALDH tindria un paper important i convertiria l'AC, resultant del metabolisme cerebral de l'alcohol, en acetat (Zimatkin *et al.*, 1992; 2006). Hi ha dades que indiquen que aquest enzim podria contribuir als efectes que té l'alcohol en la activitat motora, com a resultat de la seva capacitat per a regular els nivells d'AC en el cervell (Escarabajal i Aragón, 2002).

Hi ha una gran controvèrsia quant al paper de l'AC a nivell cerebral (Quertemont *et al.*, 2005c). Alguns investigadors pensen que es tracta d'un mediador dels efectes neurofarmacològics i comportamentals de l'alcohol. Altres plantegen la possibilitat que l'alcohol sigui un simple precursor de l'autèntica droga, l'AC, i que per tant, en lloc de parlar d'alcoholisme s'hauria de parlar d'acetaldehisme (Raskin, 1975; Truitt i Walsh, 1971). Per últim, altres desestimen el paper de l'AC en els efectes centrals de l'alcohol (Rydberg i Neru, 1972; Svensson i Waldeck, 1973).

L'AC és una molècula altament reactiva que pot reaccionar amb altres molècules, per adducció, condensació o polimerització, i donar lloc a una sèrie de molècules amb un ampli rang d'efectes biològics, estudiades pel seu paper en el dany cel·lular induït pel consum crònic d'alcohol (Collins, 1982; Niemela, 2001; Forn-Frías i Sanchis-Segura, 2003). A causa del fet que alguns d'aquests compostos mostren propietats neurofarmacològiques que afecten directament el

comportament, alguns autors han plantejat la possibilitat que aquestes substàncies contribueixin a l'acció neuroquímica de l'AC. De totes aquestes substàncies, els productes de condensació de l'AC amb amines biògenes han estat els que han rebut una atenció més gran quant als efectes de l'alcohol i la implicació d'aquests en l'addicció a l'alcohol (Davis i Walsh, 1970; Melchior, 1979). Concretament, l'AC té capacitat per a condensar-se amb indolamines i catecolamines endògenes formant els alcaloides tetrahidro- β -carbolina (THBC) i tetrahidroisoquinolina (TIQ), respectivament. D'altra banda, també es veu implicat en l'acumulació d'un altre TIQ, anomenat tetrahidropapaverolina, produït per la condensació de dopamina amb dopaldehyd. L'AC inhibeix el metabolisme del dopaldehyd, se'n produeix l'acumulació i la condensació amb la dopamina. La condensació de l'AC amb dopamina dóna lloc al salsolinol que, juntament amb la tetrahidropapaverolina, han estat les més implicades en l'etiologia de l'abús d'alcohol i en els seus efectes reforçants (Davis i Walsh, 1970). S'ha vist que aquests alcaloides estimulen el consum voluntari d'alcohol en rosegadors i micos (Myers i Melchior, 1977; Duncan i Deitrich, 1980; Myers i Privette, 1989; Duncan i Fernando, 1991; McCoy *et al.*, 2003; Myers *et al.*, 1982). Tot i que no es coneix del tot, s'ha especulat que aquests compostos modulen l'activitat opioide endògena i/o la dopaminèrgica (Myers, 1989; Myers i Robinson, 1999). No obstant això, els resultats obtinguts fins ara són controvertits a causa del fet que s'han obtingut dades contradictòries i que no se sap si aquests alcaloides es formen en concentracions farmacològicament rellevants per a exercir un efecte conductual significatiu (Quertemont *et al.*, 2005c).

En qualsevol cas, estudis fets amb rosegadors demostren que l'AC dóna lloc a una sèrie d'efectes comportamentals similars a l'alcohol (Aragón *et al.*, 1986; Correa *et al.*, 2003; Quertemont *et al.*, 2004), incloent-hi les propietats reforçants, doncs és autoadministrat per via intravenosa (Myers *et al.*, 1982), en el sistema ventricular del cervell (Brown *et al.*, 1979) i en l'àrea tegmental ventral, on s'ha vist que es mostra com una substància amb una capacitat reforçant 1.000 vegades superior a l'alcohol en rates P (Rodd-Henricks *et al.*, 2002, 2005). D'altra banda, també s'ha vist que l'administració d'AC produeix preferència pel lloc tant si és injectat en els ventricles

cerebrals (Smith *et al.*, 1984) com si és injectat perifèricament (Quertemont i De Witte, 2001). L'administració central d'AC també resulta en una activació comportamental (Correa *et al.*, 2003) i podria actuar com a mediador en l'autoadministració d'alcohol (Brown *et al.*, 1980) com també induir efectes hipnòtics (Tampier i Quintanilla, 2002; Quertemont *et al.*, 2004) i amnèsics (Abe *et al.*, 1999; Quertemont *et al.*, 2004). Per a una descripció més detallada del paper de l'AC en els efectes neuroconductuals de l'alcohol vegeu Quertemont *et al.*, 2005c.

L'alteració del metabolisme central de l'alcohol, mitjançant l'augment o la disminució de l'activitat de la catalasa cerebral, modifica alguns dels efectes provocats per l'alcohol. Per exemple, la inhibició de l'activitat de la catalasa sembla que redueix alguns dels efectes produïts per l'alcohol com l'estimulació motriu en ratolins (Escarabajal *et al.*, 2000), la narcosi i la letalitat induïda per l'alcohol (Aragón *et al.*, 1991). També s'ha observat un decrement significatiu del consum voluntari d'alcohol en ratolins (Koechling i Amit, 1994) i en rates (Aragón i Amit, 1992; Rotzinger *et al.*, 1994; Tampier *et al.*, 1994) mentre que sembla que no té cap efecte en la hipotèrmia causada per l'alcohol o en la taxa d'eliminació de l'alcohol (Tampier i Quintanilla, 1991).

En definitiva, aquestes dades han portat a pensar que l'AC podria tenir un paper rellevant quant als efectes farmacològics i comportamentals de l'alcohol i, especialment, en el desenvolupament de l'alcoholisme (Quertemont, 2004). No obstant això, el rol precís de l'AC en l'abús de l'alcohol i en l'alcoholisme és encara un tema en debat. Els treballs apareguts en els últims anys que estudien el rol de l'AC tant en animals com en humans (Deitrich, 2004; Quertemont i Tambour, 2004) mostren resultats contradictoris, ja que mentre els estudis amb animals sovint mostren les propietats reforçants de l'AC en el cervell (Brown *et al.*, 1979; Rodd-Henricks *et al.*, 2002, 2005) els estudis en humans mostren que l'acumulació d'AC produeix aversió al consum d'alcohol (Quertemont, 2004). Segons Quertemont *et al.* (2005a) aquestes discrepàncies poden ser degudes a la localització d'aquesta acumulació. Almenys en rosegadors, sembla que aquesta acumulació és aversiva quan es dona a nivell perifèric, però no a nivell central, on resultaria reforçant. No

obstant això hi ha molt pocs estudis que avaluïn l'efecte de l'AC en el cervell d'humans. Hunt (1996) planteja que tal vegada es tracti del fet que les concentracions d'AC a nivell cerebral, que modulen les propietats reforçants de l'alcohol, es trobin en un rang estret de manera que, inicialment, a mesura que augmenta la concentració d'AC, també augmenten les propietats reforçants, però hi hauria un punt en què, si se sobrepassa, començarien a predominar els efectes aversius, i es reduïrien les propietats reforçants de l'alcohol.

Malgrat els resultats obtinguts quant a l'efecte de l'AC a nivell cerebral, es desconeix si en el cervell *in vivo* es formen concentracions farmacològicament significatives d'aquest metabòlit després de consumir alcohol, ja que la majoria de dades provenen d'estudis *in vitro*. Per tal de poder sustentar la importància de l'AC en els efectes de l'alcohol a nivell cerebral són necessaris estudis que avaluïn aquestes concentracions cerebrals *in vivo*, ja que tot i que són coneguts alguns factors que influeixen en la concentració d'AC a nivell perifèric, com ara el gènere o els polimorfismes genètics existents en els enzims que metabolitzen l'alcohol (Ward i Coutelle, 2003), es desconeixen els factors que influeixen en els nivells d'AC i l'evolució d'aquest a nivell central després del consum d'alcohol, com també la seva importància en l'alcoholisme (Deitrich, 2004; Quertemont *et al.*, 2005a). D'altra banda són necessaris estudis amb consumidors crònics d'alcohol per poder valorar l'efecte de la tolerància a l'alcohol en els nivells d'AC cerebrals.

5. FARMACODINÀMICA

5. FARMACODINÀMICA DE L'ALCOHOL

Inicialment, ateses les característiques de la molècula de l'etanol –tamany molecular petit i absència de carbons isomèrics– i les seves propietats amifíliques, es va pensar que les seves accions no es donaven a través de llocs específics de reconeixement sinó mitjançant la modificació de les propietats de les membranes cel·lulars. Tot i que aquests efectes poden alterar indirectament l'activitat dels diferents sistemes de neurotransmissió, i que correlacionen positivament amb la capacitat anestèsica de l'alcohol, no poden explicar els efectes produïts per dosis baixes i intermèdies d'alcohol –efectes gratificants, ansiolítics, incoordinació motriu, entre d'altres–, ni el desenvolupament de la tolerància i la dependència, que suggereixen certa especificitat d'acció (Tabakoff i Hoffman, 1992).

En estudis posteriors s'ha anat veient que una de les principals característiques d'aquesta substància és que es tracta d'una de les poques drogues que no actua en un sol tipus de receptor, sinó que pot actuar tant a nivell de les membranes lipídiques, afectant la seva estabilitat i composició, com a nivell de gairebé tots els sistemes de neurotransmissió del SNC.

La gran diversitat de receptors, i dels seus subtipus, existents en el SNC dona lloc a diferències en la sensibilitat a l'alcohol en les diferents regions cerebrals. De la mateixa manera, sembla que cada subtipus de receptor actuaria com a mediador dels diferents efectes conductuals que produeix el seu consum.

5.1. Efectes de l'alcohol en la membrana neuronal

Com ja s'ha comentat, inicialment, els diferents estudis sobre l'alcohol atribuïen el seu efecte en el SNC a l'actuació sobre les membranes cel·lulars lipídiques. De fet, s'ha vist que l'alcohol actua desorganitzant les cadenes acídiques

dels fosfolípids i, conseqüentment, augmentat la fluïdesa de la membrana i, modificant així les funcions de les proteïnes localitzades en aquestes membranes, com són els receptors i els canals iònics (Goldstein i Chin, 1981). D'aquesta manera es va hipotetitzar que els efectes intoxicants i anestèsics de l'alcohol resultaven de les seves accions fluïdificadores de la membrana (Goldstein, 1984).

Tot i que l'efecte fluïdificador de l'alcohol es genera a dosis rellevants en la intoxicació humana (10-20nM), i que aquests canvis correlacionen amb l'anestèsia induïda per l'alcohol (Tabakoff i Hoffman, 1992), aquesta teoria ha rebut moltes crítiques.

D'una banda, l'efecte fluïditzant de l'alcohol és molt petit, i dosis no anestèsiques produeixen canvis encara més petits en la fluïdificació (Tabakoff i Hoffman, 1992). A més, aquests canvis poden ser mimetitzats per increments de 0,5°C en la temperatura (Tabakoff *et al.*, 1988) i, atès que en la funció fisiològica humana es donen diàriament fluctuacions en la temperatura d'aquest ordre, diferents autors han considerat que els increments en la fluïdesa de la membrana són molt simples per a ser rellevants farmacològicament (Franks i Lieb, 1987). A més, hi ha agents amb propietats fluïdificadores de la membrana, com l'A₂C, que no produeixen ni anestèsia ni intoxicació (Buck *et al.*, 1989).

L'administració repetida d'alcohol disminueix els seus efectes quant a la disgregació o fluïdificació de la bicapa lipídica (Marques i Guerri, 1988). En aquest cas, la tolerància a l'alcohol es manifesta en una compactació dels fosfolípids bipolars de la membrana, de manera que aquesta esdevé més rígida, i són necessàries dosis d'alcohol cada vegada més elevades per a d'obtenir el grau de fluïdificació que inicialment s'obtenia amb dosis menors (Taraschi *et al.*, 1986). Aquests canvis, però, no presenten una correlació temporal amb l'aparició de les variacions conductuals, descrites com a tolerància en un gran nombre de paradigmes experimentals, per la qual cosa sembla difícil poder relacionar ambdós efectes (Goldstein, 1987).

Per últim, la síndrome d'abstinència podria relacionar-se, a nivell de membrana cel·lular, amb un estat no homeostàtic d'alta compactació de fosfolípids (Vanderkooi, 1979), però aquest efecte no es pot considerar crític en la mediació de la síndrome d'abstinència a causa del fet que els signes i símptomes de la síndrome

persisteixen després de la recuperació de la funció membranal (Tabakoff i Hoffman, 1992) que, d'altra banda, és molt ràpida (Taraschi *et al.*, 1986).

Aquestes dades han donat lloc a que molts autors (Tabakoff i Hoffman, 1987b) hagin rebutjat l'anomenada *hipòtesi de la membrana* com a possible mecanisme explicatiu de la majoria dels efectes conductuals produïts per l'alcohol.

5.2. Efectes de l'alcohol en el receptor GABA_A

El receptor GABA_A pertany a la superfamília de receptors multimèrics que inclou els receptors de la glicina, el nAChR i el 5-HT₃. Junt amb el receptor de la glicina és el responsable de la neurotransmissió inhibidora ràpida del SNC dels vertebrats (Fritschy i Brünig, 2003).

Es tracta d'un canal iònic compost per la combinació de cinc subunitats de les 21 que s'han trobat fins ara (α 1-6, β 1-4, γ 1-4, ρ 1-3, δ , ϵ , θ i π) (Barnard *et al.*, 1998; Whiting, 1999). Aquestes combinacions de subunitats són importants perquè determinen les propietats fisiològiques del canal i la seva afinitat pel seu lligam endògen, l'àcid gamma-amino-butíric (GABA) i fàrmacs moduladors com les benzodiazepines i els barbitúrics (Frugier *et al.*, 2006), amb conseqüències fisiològiques significatives (Sundstrom-Poromaa *et al.*, 2002). La combinació més abundant en el cervell es creu que és la de dues subunitats α 1, dues β 2 i una γ 2 (Baumann *et al.*, 2002).

El GABA_A és un canal selectiu als anions i, en especial, al clorur (Cl⁻). L'activació d'aquest receptor pel GABA incrementa la permeabilitat del canal al Cl⁻, produint una hiperpolarització que resulta en una disminució de l'excitabilitat de la neurona (Skolnick i Paul, 1982). La seva funció però, també pot ser modulada per altres agents com les benzodiazepines, els barbitúrics, alguns anestèsics, metalls divalents i trivalents i els alcohols (Sieghart, 1992).

Quant a l'alcohol, a dosis mitjanes i baixes, modula positivament aquest receptor, mentre que a dosis altes el pot activar directament. La seva acció sobre

aquest receptor, junt amb l'acció sobre el receptor NMDA (vegeu punt 5.3.), són les responsables dels efectes depressors de l'alcohol que, a nivell conductual, es tradueixen en un efecte ansiolític, sedant, hipnòtic, anticonvulsiu i disruptor de la coordinació motora (Majchrowicz, 1975). Aquest efecte depressor és progressiu i dosi-dependent; a dosis elevades té un efecte anestèsic i depressor del sistema respiratori (Sellers i Kalant, 1976) i pot arribar a causar un estat de coma i la mort.

La sensibilitat d'aquest receptor GABA_A a l'alcohol varia en les diferents regions cerebrals i entre els diferents subtipus de receptor existent en una mateixa neurona (Weiner *et al.*, 1997). De fet, l'heterogeneïtat que caracteritza aquest receptor és un dels factors que més determina les propietats funcionals dels circuits inhibitoris GABAèrgics (Mohler, 2000; Sieghart, 2000) ja que, en el cervell adult, l'expressió dels subtipus de receptors GABA_A mostra una clara especificitat quant a la regió i al tipus de neurona, suggerint que subtipus individuals estan presents en diferents circuits neuronals. Es podria postular que existeixen mecanismes cel·lulars específics que regulen l'expressió dels subtipus del receptor GABA_A i la seva localització cel·lular precisa (Fritschy i Brünig, 2003). Quant a l'alcohol, aquest incrementa principalment l'efecte inhibitori del receptor GABA_A en el còrtex cerebral, en el *septum* medial, en l'hipocamp i el cerebel (Faingold *et al.*, 1998).

Quan el consum d'alcohol és crònic, aquest receptor s'adapta i dona lloc a la tolerància als efectes depressors i a la dependència, ja que en cas que es retiri l'alcohol apareix la simptomatologia pròpia de la síndrome d'abstinència (Crews *et al.*, 1996; Grobin *et al.*, 1998; Krystal i Tabakoff, 2002; Cagetti *et al.*, 2003). La tolerància i la dependència s'associen amb una reducció de la funció sinàptica GABAèrgica a causa del fet que el receptor GABA_A s'adapta regulant-se a la baixa (*down-regulation*) (Cagetti *et al.*, 2003; Malcolm, 2003; Sanna *et al.*, 2003). En estudis *in vitro* s'ha vist que durant el consum perllongat d'alcohol i l'abstinència, l'expressió de les subunitats d'aquest receptor es veuen alterades en diferents regions cerebrals a nivell de l'ARN_m i de la síntesi de proteïnes (Mhatre *et al.*, 1993; Devaud *et al.*, 1997; Becker, 1998; Matthews *et al.*, 1998). Aquests canvis en l'expressió de les subunitats i en el seu acoblament, podrien ser també responsables de les modificacions que es

produeixen en les propietats funcionals del receptor, sense que impliqui un canvi en el nombre total dels receptors expressats (Grobin *et al.*, 1998). Aquestes adaptacions s'han pogut verificar en treballs fets en rates (Faingold *et al.*, 2000) i en estudis de neuroimatge fets en alcohòlics (Gilman *et al.*, 1996; Abi-Dargham *et al.*, 1998; Lingford-Hughes *et al.*, 1998, 2000). Sembla que aquesta regulació a la baixa està relacionada amb la quantitat d'alcohol consumit i amb la severitat de l'addicció (Eşel, 2006).

Una altra dada a favor de les diferències entre alcohòlics i controls, quant a la regulació del sistema GABAèrgic, és que els nivells de GABA, tant a nivell de plasma, com a nivell cerebral i de líquid cefalorràquidi, són més reduïts en els alcohòlics durant el primer mes de desintoxicació que en els subjectes control (Adinoff *et al.*, 1995; Behar *et al.*, 1999). Aquesta diferència podria reflectir, almenys en part, l'efecte de la dependència i de l'abstinència de l'alcohol en els nivells o en el funcionament dels enzims que regulen la síntesi del GABA i la seva degradació (Sherif *et al.*, 1997).

L'adaptació del receptor GABA_A provoca una inhibició cortical insuficient en absència d'alcohol que resulta en la hiperexcitabilitat característica de la síndrome d'abstinència. Una dada que recolza la implicació d'aquest receptor en la síndrome d'abstinència és el fet que els agonistes GABAèrgics, com les benzodiazepines, disminueixen aquesta simptomatologia (Anton, 2001).

S'ha vist que repetits períodes d'abstinència, de manera intermitent, produeixen una reducció de la funció GABAèrgica encara més marcada, i donen lloc a una simptomatologia cada vegada més severa (De Witte *et al.*, 2003).

5.3. Efectes de l'alcohol en el receptor glutamatèrgic NMDA

El glutamat és el principal neurotransmissor excitatori del SNC. Els receptors ionotròpics del glutamat se subdivideixen en tres tipus depenent de les seves característiques estructurals i farmacològiques; són: l'N-metil-D-aspartat (NMDA), l'àcid propiònic α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxasol (AMPA) i el kainat. Els receptors AMPA i kainat són els responsables de la transmissió sinàptica excitatòria ràpida, mentre que l'NMDA ho és de la lenta.

En estudis moleculars s'ha vist que cada un d'aquests receptors està compost per múltiples subunitats codificades per gens de diferents famílies (Allison i Pratt, 2003). Aquesta composició de subunitats serà la que determinarà les propietats fisiològiques i farmacològiques de cada un d'ells, perquè establiran el tipus de canal i les seves propietats cinètiques, com també la sensibilitat als agonistes, antagonistes i cofactors. Per això, els canvis en l'expressió d'aquestes subunitats estan associats amb canvis en les propietats del receptor (Vallano, 1998).

El receptor NMDA està compost per la unió de cinc subunitats (NR1 i NR2A-D) que formen un canal iònic principalment permeable al calci (Ca^{2+}), tot i que també ho és al sodi (Na^+). Quan el potencial de membrana està en repòs, aquest receptor es troba inactiu a causa del fet que està bloquejat per ions magnesi (Mg^{2+}). Quan es despolaritza la membrana postsinàptica, normalment per l'activació dels receptors AMPA/kainat, és quan es pot alliberar l'ió de Mg^{2+} i donar lloc a l'entrada d'ions Ca^{2+} . D'altra banda, aquest receptor també requereix la presència d'un cofactor per a ser activat: la glicina (Allgaier, 2002).

Els receptors NMDA mediatitzen alguns dels efectes del consum d'alcohol, tant agut com crònic, en el SNC, com ara els efectes depressors, les convulsions que apareixen durant la síndrome d'abstinència, i els dèficits cognitius i la degeneració neuronal que es donen en l'alcoholisme (Dodd *et al.*, 2000; Kumari i Ticku, 2000; Woodward, 2000). Es tracta d'un sistema de neurotransmissió fortament implicat en el desenvolupament de la tolerància i la dependència a l'alcohol (Krystal *et al.*, 2003).

L'alcohol, administrat de manera aguda, antagonitza la funció del receptor NMDA mitjançant un mecanisme no competitiu. El seu lloc d'acció exacte no es coneix però se sap que no actua de manera competitiva en el lloc d'unió del glutamat o la glicina ni tampoc com a bloquejador de l'apertura del canal (Wirkner *et al.*, 1999, 2000; Woodward, 2000).

Inicialment es va pensar que el receptor NMDA era molt més sensible a l'efecte de l'alcohol que l'AMPA i el kainat (Hoffman *et al.*, 1989; Lovinger *et al.*, 1989). No obstant això, posteriorment han aparegut dades que també mostren l'afectació dels receptors AMPA i kainat, que també sembla que són inhibits per l'alcohol de manera no competitiva (Dildy-Mayfield i Harris, 1992; Lovinger, 1993a; Woodward, 1999; Wirkner *et al.*, 2000).

Aquests receptors es troben distribuïts per tot el cervell però la seva sensibilitat a l'efecte de l'alcohol canvia depenent de la regió cerebral (Simson *et al.*, 1993) i de la seva localització subcel·lular (Nieber *et al.*, 1998; Poelchen *et al.*, 2001). Probablement això sigui causat, almenys en part, per les diferències en la composició de les subunitats del receptor, ja que s'ha vist que l'efecte inhibitori de l'alcohol és molt dependent del tipus de subunitat NR1 i NR2 expressada. Per exemple, el receptor NMDA que conté les subunitats NR2A i/o NR2B és molt més sensible a l'alcohol que el que té les subunitats NR2C o NR2D (Masood *et al.*, 1994; Mirshahi i Woodward, 1995).

Quan l'administració d'alcohol és crònica, els receptors NMDA s'adapten incrementant la seva expressió (Samson i Harris, 1992; Kumari i Ticku, 2000), principalment els localitzats en el còrtex cerebral i en l'hipocamp (Gulya *et al.*, 1991). Sembla, però, que aquest increment no es dona per igual en tots els subtipus de receptors, sinó que hi ha subunitats més sensibles que d'altres a aquesta regulació (Nagy *et al.*, 2003, 2004). Els receptors AMPA i kainat també sembla que pateixen aquesta adaptació (Carta *et al.*, 2002). Aquest increment en el nombre de receptors (*up-regulation*) és en part responsable, junt amb la regulació a la baixa del receptor GABA_A, de la hiperactivitat que es dona durant la síndrome d'abstinència (Allgaier, 2002). Aquesta regulació a l'alça dels receptors NMDA ha pogut ser confirmada en estructures corticals del cervell de pacients alcohòlics en estudis *post mortem*

(Michaelis *et al.*, 1990; Freund i Anderson, 1996). D'altra banda, en estudis *in vivo*, s'ha vist que els nivells de glutamat són elevats en el líquid cefalorraquidi de pacients alcohòlics (Tsai i Coyle, 1998). Estudis de microdiàlisi fets amb animals mostren que l'abstinència d'alcohol està associada amb un increment del glutamat en l'estriat (Rossetti i Carboni, 1995), en l'hipocamp (Dahchour i De Witte, 1999) i en el nucli *accumbens* (Dahchour i De Witte, 2000).

L'augment de la concentració de glutamat i els canvis en l'estructura i la funció dels receptors NMDA alteren l'homeòstasi del calci intracel·lular, que és el responsable de l'increment de l'excitabilitat del SNC durant l'abstinència i que pot donar lloc a símptomes com ara les convulsions. A més, també pot produir excitotoxicitat i mort neuronal en les àrees més susceptibles del cervell (Lovinger, 1993b; Hoffman i Tabakoff, 1994).

S'ha vist que les alteracions que pateix el receptor NMDA són més pronunciades quan l'administració d'alcohol és crònica i intermitent, és a dir, amb períodes d'abstinència i recaiguda, com ocorre sovint en el humans (Nagy *et al.*, 2003). Estudis de microdiàlisi, portats a terme per tal de valorar els nivells de glutamat després de diferents períodes d'abstinència, mostren que després d'un tercer episodi d'abstinència l'increment de glutamat és molt superior al que es dona durant el primer episodi (De Witte, 2004). Aquestes dades explicarien perquè, després de repetits intents per deixar de beure, la simptomatologia de la síndrome d'abstinència és de cada vegada més severa.

5.4. Efectes de l'alcohol en el receptor dopaminèrgic D₂

Tradicionalment, la neurotransmissió dopaminèrgica ha estat la més relacionada amb els processos addictius. Al final dels anys 70, diversos autors (Fibiger, 1978; Wise, 1978) plantejaren que el sistema dopaminèrgic cerebral mesocorticolímbic tenia un paper crític en l'aspecte reforçant de les drogues. Dades obtingudes posteriorment han confirmat que la dopamina (DA) mesolímbica, almenys en part, contribueix a aquest efecte en moltes de les drogues d'abús (Wise, 2004).

Hi ha dues subfamílies de receptors dopaminèrgics, ambdós tipus són metabotròpics però mostren propietats diferents, tant a nivell farmacològic com en la seva localització i els mecanismes d'acció. Els anomenats tipus D₁, que inclouen els subtipus D₁ i D₅ i que es localitzen a nivell postsinàptic, estimulen l'activitat de l'enzim adenilciclasa mitjançant l'activació d'una proteïna G, anomenada G_s, que dona lloc a la formació d'AMP_c. D'altra banda, també estimulen l'activitat de la fosfolipasa C que, en últim terme, acaba produint l'activació de la proteïna quinasa C. L'altra família de receptors és la dels anomenats receptors tipus D₂, que inclou els subtipus D₂, D₃ i D₄. Aquests receptors es localitzen a nivell postsinàptic i estan acoblats a una proteïna G_i, de manera que inhibeixen l'enzim adenilciclasa. No obstant això, també s'han trobat autoreceptors dopaminèrgics que han estat classificats com a D₂ (Cooper *et al.*, 2003). Hi ha un lligam funcional entre ambdós subtipus de receptors, perquè estudis electrofisiològics suggereixen que l'activació del subtipus D₁ és necessària per a la plena expressió dels efectes del D₂ a nivell postsinàptic, no obstant això, aquesta interacció encara no és del tot coneguda (Cooper *et al.*, 2003).

L'alcohol, com la majoria de drogues addictives, té la capacitat d'estimular les neurones dopaminèrgiques mesolímbiques, cosa que a nivell comportamental es tradueix en els efectes gratificants que proporciona aquesta substància (Boileau *et al.*, 2003). A més, l'alliberament de DA en el nucli *accumbens* s'associa amb els estímuls relacionats amb el consum de la droga, per la qual cosa, consegüentment, es

produceix un condicionament d'aquests estímuls i es dóna un increment del seu valor motivacional, com també del seu processament atencional. Per aquest motiu, davant l'aparició d'aquests estímuls condicionats o de certes situacions relacionades amb el consum d'alcohol, es produeixen respostes anticipatòries –condicionades– que són les responsables de l'aparició del desig per la droga o *craving* (Robinson i Berridge, 1993).

L'administració aguda d'alcohol a dosis baixes incrementa l'activitat electrofisiològica d'aquestes neurones *in vivo* (Gessa *et al.*, 1985), *in vitro* (Brodie *et al.*, 1990), i augmenta la concentració de DA extracel·lular, en el nucli *accumbens*, de rates que es mouen lliurement (Imperato i Di Chiara, 1986). Aquest augment de la DA és dosi-dependent tant si l'alcohol és administrat sistèmicament (Imperato i Di Chiara, 1986; Heidbreder i De Witte, 1993; Yim *et al.*, 2000) com si és injectat localment en el nucli *accumbens* (Wozniak *et al.*, 1991; Yim *et al.*, 1998; Yoshimoto *et al.*, 1992). Disposem de dades que confirmen que aquest increment en l'alliberament de DA seria, en part, el responsable de les propietats reforçants de l'alcohol, ja que per exemple, s'ha vist que les rates s'autoadministren alcohol directament a l'ATV (Gatto *et al.*, 1994; Rodd-Henricks *et al.*, 2000b), mentre que aquesta conducta és bloquejada per l'administració intracerebral d'antagonistes dels receptors tipus D₁ (Hodge *et al.*, 1997) o tipus D₂ (Rassnick *et al.*, 1992; Samson *et al.*, 1993; Hodge *et al.*, 1997; Samson i Chappell, 2003), directament en el nucli *accumbens*. Estudis en rates i ratolins suggereixen que ambdós subtipus interactuen en el nucli *accumbens* per a regular l'autoadministració d'alcohol (Hodge *et al.*, 1997; Pierce i Kumaresan, 2006).

L'alcohol, doncs, sembla que facilita l'alliberació de dopamina en el nucli *accumbens* i incrementa la taxa de descàrrega de les neurones dopaminèrgiques de l'ATV (Gessa *et al.*, 1985; Brodie *et al.*, 1990; Bunney *et al.*, 2001). No obstant, sembla que aquesta acció no seria directa, sinó que estaria mediatitzada per receptors d'altres sistemes de neurotransmissió que, alhora, en cas de consum crònic, també han patit l'acció de l'alcohol i, possiblement, també s'han adaptat i han sofert canvis en la seva funció. Alguns d'aquests sistemes són el GABAèrgic (Mereu i Gessa, 1985; Kalivas *et al.*, 1990; Klitenick *et al.*, 1992), el glutamatèrgic (Lovinger,

2002; Stobbs *et al.*, 2004), el serotoninèrgic (Yoshimoto *et al.*, 1992, 1996; Thielen *et al.*, 2004), el sistema opioide (Acquas *et al.*, 1993; Benjamin *et al.*, 1993; Gonzales i Weiss, 1998) i el colinèrgic a través dels receptors nicotínics (Blomqvist *et al.*, 1993; Söderpalm *et al.*, 2000). Dades a favor de l'acció dels nicotínics en l'alliberament de DA serien, d'una banda, el fet que aquests receptors són modulats per l'alcohol a dosis baixes i, de l'altra, que davant l'exposició crònica d'un agonista o modulador positiu, com és el cas de l'alcohol, es regulen a l'alça (vegeu més endavant), això permet explicar perquè els efectes gratificants no sols no s'adapten sinó que a més es veuen potenciats amb el consum crònic d'alcohol.

Alguns estudis suggereixen que quan l'administració d'alcohol és crònica, es produeix una disminució de la funció del receptor D₂ en el nucli *accumbens* (Engleman *et al.*, 2003; Thielen *et al.*, 2004), mentre que sembla que el subtipus D₁ no mostra canvis. Alguns estudis parlen d'una disminució de la densitat del subtipus de receptor D₂ (Volkow *et al.*, 1996; Kuikka *et al.*, 2000; Tupala *et al.*, 2001b), que seria més prominent a l'inici de la desintoxicació, ja que l'estat d'aquests receptors es normalitza durant l'abstinència (Dettling *et al.*, 1995; Heinz *et al.*, 1996). D'altra banda, estudis fets amb humans, mitjançant tomografies per emissió de positrons i estudis autoradiogràfics *post mortem*, també mostren una alteració de la densitat del transportador de la DA (Laine *et al.*, 1999; Repo *et al.*, 1999; Tupala *et al.*, 2000, 2001a,b), tot i que també n'hi ha d'altres que no han trobat aquesta adaptació (Volkow *et al.*, 1996).

L'abstinència d'alcohol està associada amb un important decrement de l'alliberament de DA tant *in vitro* (Darden i Hunt, 1977) com *in vivo* (Rossetti *et al.*, 1991, 1992; Weiss *et al.*, 1996). Aquest efecte s'ha relacionat amb la reducció de l'activitat de les neurones DA de l'ATV durant l'abstinència (Diana *et al.*, 1992, 1993) mentre que l'autoadministració d'alcohol durant aquest període reestableix els nivells de DA (Weiss *et al.*, 1996). També s'han observat alteracions en la síntesi i el metabolisme de la DA però que són transitòries i lligades al desenvolupament de la simptomatologia de la síndrome d'abstinència (Neff *et al.*, 1995). Les dades

obtingudes en aquest sentit mostren que l'abstinència d'alcohol està associada amb una hipofunció dopaminèrgica transitòria, que es manifesta amb signes com la catatònia o els tremolors observables durant la síndrome d'abstinència, i que serien semblants als que apareixen en la malaltia de Parkinson (Shen, 1984; Heinz *et al.*, 1995; Schmidt *et al.*, 1996), però que desapareixen després d'uns mesos d'abstinència (Heinz *et al.*, 1995; Luijckx *et al.*, 1995). Aquesta hipofunció dopaminèrgica possiblement també sigui la responsable de la disfòria que pateixen els alcohòlics durant els primers mesos d'abstinència (Tupala i Tiihonen, 2004) però, a causa del fet que és una adaptació que reverteix amb el pas del temps, no es pot considerar com l'adaptació clau responsable d'un trastorn irreversible com és l'addicció.

Com ja hem comentat, l'acció de l'alcohol en el sistema dopaminèrgic no sembla ser directa, sinó més aviat el resultat d'un conjunt d'interaccions molt complexes de les quals encara disposem de poca informació. Són necessaris un major nombre d'estudis per a determinar amb més precisió aquestes interaccions neuroquímiques, i quins són els rangs de dosi d'alcohol crítics en cada una d'elles. No obstant això, cal fer especial menció que l'única acció congruent amb el perfil euforitzant i activador de l'alcohol es dona a través dels receptors nicotínics i que, per tant, en aquest sentit, seria la més determinant. Sabem que l'efecte gratificant de l'alcohol no s'adapta, i fins i tot podríem dir que amb el pas del temps, en els alcohòlics, encara es fa més prominent, perquè si aquesta acció estigués principalment mediatitzada pel GABA, que amb el consum crònic d'alcohol es regula a la baixa, s'acabaria adaptant, i no es produirien aquests increments en la DA. D'altra banda, els receptors GABA_A i NMDA són modulats per l'alcohol a dosis mitjanes o altes, mentre que els efectes gratificants i activadors es donen amb les dosis baixes d'alcohol.

5.5. Efectes de l'alcohol en el receptor serotoninèrgic 5-HT₃

En el SNC s'han trobat 7 tipus diferents de receptors serotoninèrgics a nivell presinàptic i postsinàptic (5-HT₁-5-HT₇), cada un d'ells amb diferents subtipus. L'agonista endogen d'aquests receptors és la serotonina (5-hidroxitriptamina o 5-HT). En aquest apartat ens centrarem en l'efecte de l'alcohol en el subtipus 5-HT₃ a causa del fet que ha estat el receptor serotoninèrgic més relacionat amb els efectes de l'alcohol i que és el subtipus del qual es disposa de més dades en aquest sentit.

De tots aquests receptors, el 5-HT₃ té la particularitat de ser l'únic receptor ionotròpic. Es tracta d'un canal iònic pentamèric, permeable a ions de sodi (Na⁺) i potasi (K⁺), que pertany a la superfamília de receptors que inclou el GABA_A, la glicina i el nAChR. Aquest receptor mostra una activació ràpida seguida d'una fase de desensibilització (Derkach *et al.*, 1989; Peters i Lambert, 1989).

La quantitat i la distribució del receptor 5-HT₃ fan pensar que té un paper de caire modulador, ja que la seva densitat és baixa en comparació amb els altres tipus de receptors serotoninèrgics i amb altres receptors acoblats a canals iònics. Diferents estudis electrofisiològics, bioquímics i comportamentals suggereixen que els 5-HT₃ localitzats presinàpticament regulen l'alliberament d'altres neurotransmissors com l'ACh, la DA, la NA, la CCK i la 5-HT. Especial rellevància té la capacitat d'aquest receptor per a regular l'alliberament de dopamina mesolímbica (Grant, 1995).

Les dades obtingudes en diferents estudis mostren que els agonistes 5-HT₃ incrementen la concentració extracel·lular de DA en el nucli *accumbens* i en l'estriat *in vivo* (Chen *et al.*, 1991; Benloucif *et al.*, 1993) i en l'estriat *in vitro* (Blandina *et al.*, 1988, 1989). L'administració local d'agonistes 5-HT₃ en l'ATV i en el nucli *accumbens* incrementa els nivells extracel·lulars de DA en ambdues regions (Campbell i McBride, 1995; Campbell *et al.*, 1996), i dóna suport a la idea que els receptors 5-HT₃ estan implicats en la regulació de l'alliberament de DA a nivell terminal i somatodendrític. Contràriament, l'administració aguda d'antagonistes 5-HT₃ disminueix el nombre de neurones DA actives en l'ATV (Minabe *et al.*, 1991; Rasmussen *et al.*, 1991) i atenua l'increment dels nivells extracel·lulars de DA, en el nucli *accumbens*, induït per diferents drogues d'abús com la cocaïna, les anfetamines,

la morfina i l'alcohol (Carboni *et al.*, 1989b; Wozniak *et al.*, 1990; McNeish *et al.*, 1993; Pei *et al.*, 1993; Kankaanpää *et al.*, 1996).

Actualment, el coneixement que es té de l'efecte de l'alcohol en el sistema serotoninèrgic és molt limitat. Estudis fets en rosegadors mostren que l'alcohol incrementa significativament els nivells de serotonina extracel·lular en el cervell (McBride *et al.*, 1993; LeMarquand *et al.*, 1994; Thielen *et al.*, 2001) i facilita l'activitat dels receptors 5-HT_{1B}, 5-HT_{2C} i 5-HT₃ (Grant i Lovinger, 1995; Grant *et al.*, 1997). Aquesta acció podria explicar alguns dels efectes neuroquímics i comportamentals de l'alcohol però encara es desconeix com es produeix exactament aquesta relació (Daws *et al.*, 2006).

L'acció potenciadora del receptor 5-HT₃ que té l'alcohol explicaria el lleuger efecte antidepressiu que proporciona l'alcohol. D'altra banda, aquest subtipus de receptor té la capacitat de modular l'activitat dopaminèrgica mesolímbica i, per aquest motiu, se li ha atribuït la mediació dels efectes reforçants de l'alcohol, junt amb el sistema dopaminèrgic. També s'ha vist que els efectes de l'alcohol que actuen com a estímuls discriminatius d'aquesta droga es veuen atenuats pels antagonistes 5-HT₃, cosa que suggereix que aquests receptors tenen un paper important en els efectes subjectius de l'alcohol (Grant i Barrett, 1991). No obstant això, en estudis fets en rates, s'ha vist que en els efectes discriminatius produïts per l'alcohol també es troben implicats els subtipus 5-HT_{1B/1D} i/o 5-HT_{2C} (Buck *et al.*, 2004).

La potenciació del receptor 5-HT₃ es dona a concentracions mitjanes d'alcohol, i sembla que el que faria seria promoure i estabilitzar l'apertura del canal (Zhou *et al.*, 1998). Els alcohols incrementen la ràtio d'activació d'aquest canal mentre que, alhora, disminueixen la ràtio de desactivació i desensibilització, que són les dues maneres principals que té el canal de tancar-se (Lovinger *et al.*, 2000). En un estudi més recent Zhang i col·laboradors (2002) han pogut demostrar que l'alcohol potencia la funció del canal iònic en absència d'agonista, per la qual cosa l'eficàcia d'aquesta activació és independent de la seva presència. Segons aquests autors, la sensibilitat del receptor 5-HT₃ a l'alcohol, en absència o presència d'agonista, es

donaria mitjançant mecanismes moleculars diferents. El que encara està per determinar és quin seria el lloc d'unió específic de l'alcohol en aquesta proteïna.

L'efecte, en els receptors 5-HT₃, de l'exposició crònica a l'alcohol ha estat poc estudiat i disposem de molt poques dades sobre l'adaptació del sistema serotoninèrgic a l'administració repetida d'alcohol. Els resultats obtinguts per Smith i Weiss (1999) indiquen que cinc injeccions intraperitoneals diàries, d'un gram d'alcohol per quilogram de pes, alteren la neurotransmissió dopaminèrgica i serotoninèrgica en el nucli *accumbens* de rates P (*Alcohol-Preferring*). No obstant això, els efectes neuroadaptatius de l'administració parenteral d'alcohol, probablement, siguin diferents dels provocats pel consum voluntari, com ja s'ha trobat amb altres drogues d'abús (Jacobs *et al.*, 2003). Per aquest motiu seria interessant examinar els efectes del consum voluntari i crònic d'alcohol en aquests sistemes de neurotransmissió. En aquest sentit, Thielen i col·laboradors (2004) han portat a terme un estudi en rates consumidores voluntàries d'alcohol. Els resultats obtinguts mostren que el consum crònic d'alcohol va reduir la concentració extracel·lular de serotonina en el nucli *accumbens*, però que, després de dues setmanes d'abstinència, aquest nivells havien tornat al nivell dels animals control. D'altra banda, davant l'administració de CPBG –agonista selectiu dels receptors 5-HT₃–, els receptors 5-HT₃ mostraven una resposta reduïda, quant a la secreció de DA en el nucli *accumbens*, cosa que suggereix una hipofuncionalitat dels 5-HT₃. Les característiques d'aquest estudi, però, no permeten determinar si aquesta reducció de la funció serotoninèrgica és el resultat d'una alteració en les propietats del receptor, per exemple en l'afinitat, o si es tracta d'una reducció en el nombre de receptors. Teòricament, és possible que davant el consum crònic d'alcohol, que potencia la funció del receptor 5-HT₃, aquest s'hagi sobreestimat i s'hagi adaptat regulant-se a la baixa (*down-regulation*), el que és congruent amb la disminució de l'efecte antidepressiu de l'alcohol quan aquest és consumit de manera crònica. Els resultats d'aquest estudi també suggereixen que la influència del sistema 5-HT₃ en la regulació de l'activitat del sistema dopaminèrgic mesolímbic i, per tant, en la regulació del consum d'alcohol, es podria veure reduïda amb l'exposició crònica a aquesta

substància. Per aquest motiu, no pot ser considerada la principal via reguladora dels efectes gratificants de l'alcohol, perquè com ja hem comentat anteriorment, aquests no disminueixen en l'alcoholisme.

A més de l'efecte que pot tenir l'alcohol en aquests receptors, també s'ha comentat que el transportador de serotonina (5-HTT) podria tenir un paper en la modulació dels efectes de l'alcohol en la serotonina cerebral, cosa que suggeriria que els nivells de funcionament o expressió d'aquests transportadors serien importants en els efectes comportamentals de l'alcohol (Roach *et al.*, 1973; Daoust *et al.*, 1985, 1991a,b; LeMarquand *et al.*, 1994). Tot i que, en un estudi més recent (Daws *et al.*, 2006), s'ha vist que aquest transportador no és necessari perquè es donin els efectes neurals i comportamentals de l'alcohol, i que possiblement hi ha altres mecanismes més importants en la mediació d'aquestes efectes.

5.6. Efectes de l'alcohol en els receptors nicotínics neuronals (nAChR)

L'estudi de l'acció de l'alcohol en el receptor nicotínic neuronal s'inicià davant l'observació d'un evident i notori coabús de dues substàncies com són l'alcohol i el tabac (Cartwright *et al.*, 1959; Istvan i Matarazzo, 1984; Kozlowski *et al.*, 1986; Bobo, 1989; Hughes, 1993, 1994) i de l'existència de tolerància creuada entre ambdues drogues (Collins *et al.*, 1988). Això va propiciar la cerca dels mecanismes neurals que subjauen en l'ús concurrent d'aquestes drogues.

El receptor nicotínic neuronal (nAChR) és un canal iònic pentamèric, permeable a ions de sodi (Na^+), potassi (K^+) i calci (Ca^{2+}), que pertany a la superfamília de receptors ionotròpics que inclou el GABA_A , la glicina i el receptor 5-HT₃. El seu agonista endogen és l'acetilcolina (ACh). Els diferents nAChR existents en el SNC estan formats per diferents composicions pentamèriques de subunitats α ($\alpha 2$ - $\alpha 7$, $\alpha 9$, $\alpha 10$; la subunitat $\alpha 8$ només s'ha trobat en aus) i β ($\beta 2$ - $\beta 4$) que possibiliten un gran varietat d'heteròmers funcionals. Aquestes múltiples combinacions de subunitats presenten diferents propietats tant fisiològiques com farmacològiques,

per la qual cosa hom pot fer-se una idea de la complexitat d'aquest sistema de neurotransmissió (Changeux *et al.*, 1998; Sharples i Wonnacott, 2001). Els subtipus de receptor més abundants en el SNC són l'heteròmer $\alpha 4\beta 2$ i l'homòmer $\alpha 7$, mentre que els heteròmers $\alpha 3\beta 2$ i $\alpha 3\beta 4$ es troben principalment en els ganglis perifèrics (Lindstrom *et al.*, 1995; Zuo *et al.*, 2002).

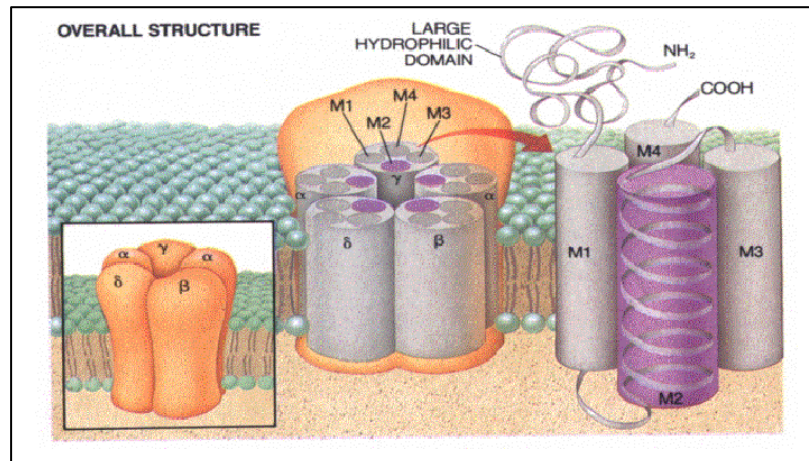


Figura 2. Estructura del receptor nicotínic.

Els diferents subtipus de nAChR mostren diferències quant a l'afinitat pels agonistes i antagonistes nicotínics. La majoria d'agonistes, tot i que es poden unir tant als $\alpha 4\beta 2$ com als $\alpha 7$, mostren major afinitat pels primers (Sharples i Wonnacott, 2001). Els receptors $\alpha 4\beta 2$ mostren elevada afinitat per l'ACh, la nicotina i l'epibatidina, mentre que la citisina n'és agonista parcial. Quant als $\alpha 7$, la colina és agonista selectiu d'aquest subtipus, mentre que mostren baixa afinitat per l'ACh i la nicotina. Són antagonistes competitiu selectius dels $\alpha 7$ l' α -bungarotoxina (α -Bgt) i la metillicaconitina (MLA). La dihidro-beta-eritroidina (DHBE) és antagonista competitiu de la majoria de nAChR, tot i que mostren menys afinitat pels $\alpha 7$ que per la resta de subtipus, i el mateix succeeix amb la mecamilamina, que antagonitza però de manera no competitiva.

Els receptors nicotínics, a diferència del seu paper clau en la neurotransmissió autonòmica i en la iniciació de la contracció muscular, sembla que exerceixen una

funció més aviat de tipus moduladora en el SNC, tot i que les seves funcions exactes, les subunitats que el componen, les seves combinacions, la seva regulació i el significat de la seva heterogeneïtat són encara objecte de debat (Sharples i Wonnacott, 2001; Dajas-Bailador i Wonnacott, 2004).

Els nAChR es localitzen, tant a nivell presinàptic com a nivell postsinàptic, en regions com el còrtex, l'hipocamp, el *septum* medial, l'ATV, l'amígdala i el nucli *accumbens* (Wada *et al.*, 1989; Dineley-Miller i Patrick, 1992; Whiteaker *et al.*, 1999; Klink *et al.*, 2001). La seva funció en el SNC és important ja que modulen l'alliberament d'altres neurotransmissors. L'activació dels nAChR presinàptics iniciaria un increment en la concentració de calci de la terminal presinàptica, cosa que produiria un augment de l'alliberament dels neurotransmissors pròxims a aquestes terminals, com és el cas del glutamat, la dopamina, el GABA, l'adrenalina, la noradrenalina i la serotonina (Wonnacott, 1990; Gray *et al.*, 1996; Role i Berg, 1996; Albuquerque *et al.*, 1997; Alkondon *et al.*, 1997; Wonnacott, 1997; Li *et al.*, 1998; Radcliffe *et al.*, 1999; Ji, Lape i Dani, 2001). Alguns estudis indiquen que els nAChR presinàptics, formats per les subunitats $\alpha 4\beta 2$, modulen l'alliberament de dopamina des de l'ATV, cosa que probablement constitueix la base del poder gratificant d'aquesta droga (Blomqvist *et al.*, 1997; Sharples *et al.*, 2000; Ericson *et al.*, 2003), com també els efectes activadors motrius que provoca l'alcohol a dosis baixes, a través del seu efecte en la via nigroestriada (Söderpalm *et al.*, 2000). D'altra banda, els nAChR localitzats a nivell postsinàptic promouen l'entrada de Na^+ i Ca^{2+} , despolaritzant la membrana, i desencadenen cascades enzimàtiques intracel·lulars (Dani i De Biasi, 2001).

Estudis electrofisiològics mostren que els nAChR es poden trobar en tres estats diferents. D'una banda podem trobar el receptor en estat de repòs, el qual, quan és exposat a l'agonista, s'activa i s'obre el canal, permetent el pas d'ions Na^+ , K^+ i Ca^{2+} . En aquest estat, els agonistes s'uneixen als nAChR amb baixa afinitat. Si la presència de l'agonista persisteix, s'observa un decrement progressiu de la resposta del receptor i aquest entra en un estat de desensibilització, en el qual no és funcional però presenta una elevada afinitat per l'agonista. S'han proposat múltiples

estats de desensibilització (Changeux i Edelstein, 1998), no obstant això, les característiques de la desensibilització i la seva recuperació difereixen entre els diferents subtipus de nAChR. Per exemple, els $\alpha 7$ presenten una desensibilització molt ràpida (Couturier *et al.*, 1990; McGehee i Role, 1995). La prolongada exposició del receptor a l'agonista dóna lloc a la inactivació del receptor. La recuperació d'aquest estat és més lenta i requereix més temps, tot i que també es troben diferències en aquest sentit relacionades amb el subtipus de receptor. L' $\alpha 4\beta 2$, per exemple, és molt propens a desactivar-se amb l'administració crònica de nicotina (Kuryatov *et al.*, 2000). Paradoxalment, en cas que la presència de l'agonista persisteixi, aquest receptor s'acaba adaptant mitjançant una regulació a l'alça que sembla ser de caire irreversible (Wonnacott, 1990).

El coneixement que tenim sobre els nAChR prové principalment dels estudis fets sobre l'efecte de la nicotina en el subtipus $\alpha 4\beta 2$, ja que el subtipus $\alpha 7$ presenta una afinitat molt baixa per aquesta substància. Inicialment, els estudis fets en aquest sentit es varen centrar en l'efecte de la nicotina en el sistema del reforç però, posteriorment, s'ha anat ampliant el coneixement envers altres regions amb rellevància colinèrgica, com ara circuits neurals relacionats amb l'aprenentatge i la memòria, que també s'han vist implicats en aquesta addicció (Nestler, 2002; Robbins i Everitt, 2002; Kelley, 2004). De fet, l'administració de nicotina pot incrementar les funcions cognitives en humans i animals (Newhouse *et al.*, 1993; Abdulla *et al.*, 1996; Everitt i Robbins, 1997; Changeux *et al.*, 1998), i a més, l'efecte potenciador de la memòria no experimenta tolerància quan és administrada de manera crònica (Levin i Simon, 1998). Contràriament, l'abstinència de nicotina va acompanyada d'una disminució del rendiment cognitiu (Snyder *et al.*, 1989) i l'administració d'antagonistes nicotínics, directament a l'hipocamp, dificulta la formació de la memòria (Levin i Simon, 1998).

L'hipocamp és una estructura cerebral fortament implicada en l'aprenentatge i la memòria i es creu que l'acció dels nAChR en aquesta estructura explicaria, almenys en part, l'efecte nootròpic que tenen els agonistes nicotínics. De fet, en estudis *in vitro* s'ha vist que la nicotina facilita la inducció de la potenciació a llarg

termini en l'hipocamp (Fujii *et al.*, 1999, 2000), fenomen clarament implicat en els canvis plàstics associats amb l'aprenentatge i la memòria (Doyere i Laroche, 1992; Bliss i Collingridge, 1993). En estudis *in vivo* fets en ratolins, també s'ha pogut observar que l'administració intraperitoneal de nicotina provoca una perllongada potenciació a llarg termini en el gir dentat (Matsuyama *et al.*, 2000), que aquests autors han anomenat *potenciació nicotínica a llarg termini* (LTPn). Per tal de valorar el grau d'implicació dels $\alpha 4\beta 2$ en la LTPn, Matsuyama i Matsumoto (2003), varen portar a terme un estudi *in vivo* en ratolins, als quals es va administrar intraperitonealment epibatidina, agonista nicotínic que presenta una elevada afinitat pels $\alpha 4\beta 2$ i molt baixa pels $\alpha 7$ (Alkondon i Albuquerque, 1995; Gerzanich *et al.*, 1995). Els resultats obtinguts mostraren que aquest agonista havia induït la LTPn en el gir dentat mitjançant l'activació dels $\alpha 4\beta 2$.

L'alcohol, quan és administrat de manera aguda, modula positivament els nAChR estabilitzant el temps d'apertura del canal iònic i augmentat la seva afinitat per les substàncies agonistes (El-Fakahany *et al.*, 1983; Forman *et al.*, 1989; Zuo *et al.*, 2004). En el cas de l' $\alpha 4\beta 2$, l'alcohol potencia significativament l'acció de l'ACh en aquest subtipus. Aquesta potenciació de l'activitat del subtipus $\alpha 4\beta 2$, que es troba localitzat tant a nivell presinàptic com postsinàptic, donarà lloc a tota una sèrie d'efectes per mitjà de la seva acció en els sistemes GABAèrgic, glutamatèrgic i dopaminèrgic (Wonnacott, 1997; Alkondon *et al.*, 2000; Zuo *et al.*, 2002).

Quan el nAChR és sotmes de manera crònica a un agonista –com la nicotina, en el cas dels fumadors– o a un modulador positiu, com l'alcohol, aquest es regula a l'alça (Yoshida *et al.*, 1982; Schwartz i Kellar, 1983). Aquest tipus de regulació paradoxal (Wonnacott, 1990) es produeix en el subtipus $\alpha 4\beta 2$ (Buisson i Bertrand, 2001; 2002) i sembla de tipus permanent, ja que s'ha trobat una superpoblació d'aquest subtipus de nAChR en cervells d'exfumadors a l'hipocamp i al còrtex prefrontal en estudis *post mortem* (Benwell *et al.*, 1988; Breese *et al.*, 1997; Perry *et al.*, 1999). En estudis *in vitro* realitzats amb cultius de línies cel·lulars que expressen aquest receptor, s'ha trobat que l'alcohol i la nicotina produeixen aquest increment

de la densitat del receptor per mitjà de la mateixa via: la proteïna quinasa C, i que els efectes d'ambdues drogues són additius (Dohrman i Reiter, 2003).

Aquesta regulació dels receptors nicotínics també ha estat verificada en rates alcohòliques APP (vegeu punt 3.1.8. capítol 3) mitjançant tècniques de *binding* en què s'ha utilitzat nicotina tritiada. Els resultats obtinguts mostraren que aquestes rates, al cap de 100 dies de consum d'alcohol, presentaven, a l'hipocamp, una densitat superior de receptors $\alpha 4\beta 2$ –gairabé el doble– que els subjectes control (Robles *et al.*, 2003). En un estudi posterior, en el qual es marcaren receptors hipocampals amb nicotina i metillicaconitina (MLA) (Robles *et al.*, 2004) es va veure que el subtipus $\alpha 7$ no augmentava la seva densitat, però sí l'afinitat, i es replicà la regulació a l'alça dels $\alpha 4\beta 2$.

La regulació a l'alça dels nAChR també estaria relacionada amb la gravetat de l'abstinència, ja que estudis fets en rates (Celik *et al.*, 2004) mostren que els receptors nicotínics, que estarien alterats en situació de dependència a l'alcohol, contribueixen junt amb les adaptacions que han sofert els receptors GABA i NMDA a les convulsions audiògenes que es produeixen en la síndrome alcohòlica.

Els estudis moleculars però, no poden aclarir què succeeix amb aquesta superpoblació de receptors nicotínics a nivell funcional, perquè podrien estar, per exemple, desensibilitzats. Són necessaris estudis que verifiquin, *in vivo*, la funcionalitat dels circuits colinèrgics. En aquesta línia, es varen portar a terme una sèrie d'estudis per tal de valorar l'estat funcional dels receptors nicotínics $\alpha 4\beta 2$ localitzats en estructures importants en processos d'aprenentatge i memòria, com el *septum* medial i l'hipocamp, en rates alcohòliques. Els resultats obtinguts mostraren diferències significatives quant a la reactivitat a la nicotina, injectada intracerebralment, en els animals alcohòlics respecte dels animals control, afectant la seva capacitat per a realitzar aprenentatges de diferents tipus. En un experiment realitzat en rates APP (vegeu punt 3.1.8. capítol 3) (García-Rebollo *et al.*, 2005) en què s'administrà nicotina intrahipocampal (CA1), s'observà un clar efecte disruptor en l'aprenentatge de la resposta a la palanca, mentre que la mateixa dosi no va tenir cap efecte en els subjectes control. L'efecte de la nicotina era dosi-dependent i va

revertir quan es va coadministrar mecamilamina –antagonista nicotínic no competitiu–; aquest antagonisme va ser total en els subjectes control però parcial en els subjectes alcohòlics. En un treball en què la nicotina va ser administrada al *septum* medial (Balcells, 2002), novament es va obtenir un efecte disruptor en l'aprenentatge de la resposta a la palanca en el grup alcohol respecte del grup control. Un últim experiment es va adreçar a valorar l'efecte de la nicotina en aquests animals APP, quant a la seva capacitat en aprenentatges complexos –laberint de Rabinovich i Rosvolt. Novament es va donar una asimetria quant als efectes de la nicotina, administrada a l'hipocamp, entre els animals alcohòlics i els control, ja que la nicotina millorava l'execució en els alcohòlics mentre que en els controls l'empitjorava (Ribas, 2002). Tots els resultats obtinguts foren congruents amb una sensibilització funcional dels receptors nicotínics en el CA1 de l'hipocamp i en el *septum* medial, probablement com a conseqüència del consum crònic d'alcohol.

En un estudi fet amb humans, bevedors habituals i tolerants de dosis tòxiques d'alcohol (Hernández, 1997), es varen obtenir resultats congruents amb els obtinguts en rates, ja que en aquests subjectes, es va observar un increment dosi-dependent del ritme *theta* hipocampal, ritme marcat per les neurones colinèrgiques septals, que seria congruent amb una sensibilització funcional d'aquestes estructures.

D'altra banda, diferents estudis genètics (Stitzel *et al.*, 2000; Tritto *et al.*, 2001; Dobelis *et al.*, 2003; Butt *et al.*, 2003; Owens *et al.*, 2003) han identificat un polimorfisme en la regió del gen que codifica la subunitat $\alpha 4$ del nAChR que es tradueix en variacions quant a la sensibilitat envers els efectes de l'alcohol i la nicotina. Els nAChR que expressen la variant A, és a dir, que tenen un residu d'alanina en la posició 529 del segon *loop* intracel·lular de la proteïna, mostren una resposta més gran a la nicotina i a l'alcohol que els que tenen la variant T, que tenen un residu de treonina.

En un estudi posterior, Butt i col·laboradors (2004) valoraren l'efecte d'aquest polimorfisme en la severitat de la síndrome d'abstinència i observaren que els animals que presentaven la variant A, en la subunitat $\alpha 4$, mostraven un increment en la severitat de la síndrome d'abstinència alcohòlica respecte dels animals que tenien

la variant T, mesurada per mitjà de convulsions induïdes per *handling*. Per tant, sembla que els nAChR que contenen la subunitat $\alpha 4$ estarien clarament implicats en la severitat de la síndrome d'abstinència alcohòlica.

En definitiva, aquestes dades indicarien que la sensibilització de la funció colinèrgica de tipus nicotínic en el cervell de la rata alcohòlica aconsegueix els requisits suficients per a tenir un paper crític, almenys en l'addicció a l'alcohol i a la nicotina. A més, permet explicar una sèrie de fenòmens que s'observen en l'addicció a l'alcohol que, per altra banda, també comparteix l'addicció a la nicotina. Aquests fenòmens serien: la dificultat que presenten els subjectes alcohòlics per a abandonar aquestes addiccions –irreversibilitat–, el nombre de recaigudes que es donen habitualment abans d'aconseguir-ho i la sensibilitat que presenten aquests individus a una única nova exposició a la droga, que els suposa ràpidament una nova recaiguda –sensibilitat funcional. Per altra banda, en cas de recaiguda, els subjectes addictes ràpidament assoleixen de nou el consum tòxic, previ a l'abstinència, de la substància a què són addictes, que es podria correspondre amb una ràpida recuperació de la funcionalitat dels receptors supernumeraris. És per això que considerem de gran importància no només estudiar la sensibilització de la funció colinèrgica de tipus nicotínic durant el consum de la substància sinó també en condicions d'abstinència, que és el moment més delicat per a l'individu i que, a més, és quan han d'actuar les teràpies farmacològiques.

5.7. Efectes de l'acetaldehid en el SNC

Com ja s'ha comentat en el capítol 4 (vegeu punt 4.3.), hi ha un metabolisme cerebral de l'alcohol que dóna lloc a l'existència d'AC en el cervell. Alguns investigadors sostenen que aquesta substància és la responsable, si més no, d'alguns dels efectes neurofarmacològics, neuroquímics, neurotòxics i conductuals de l'alcohol (Aragón *et al.*, 1986; Hunt, 1996; Smith *et al.*, 1997; Zimatkin i Deitrich, 1997; Deitrich, 2004). En els últims anys, s'han portat a terme diferents estudis per tal de conèixer l'efecte neurofarmacològic de l'AC i poder entendre'n els mecanismes d'acció i de quina manera contribueix a alguns dels efectes comportamentals de l'alcohol.

Uns dels principals llocs d'acció de l'alcohol són els receptors NMDA (Allgaier, 2002) i el GABA_A (Mihic, 1999). Per aquest motiu, s'ha especulat que potser l'AC també pot interactuar amb aquests receptors. No obstant això, no s'ha trobat cap evidència a favor d'aquesta hipòtesi. El que sí s'ha vist, és que no afecta l'activitat d'aquests neurotransmissors. En un estudi fet amb ovòcits de *Xenopus* només el receptor de la glicina α_1 es va veure afectat per l'AC, mentre que els receptors GABA_A, NMDA, AMPA i kainat no es varen mostrar sensibles a l'AC (Mascia *et al.*, 2001). En un estudi *in vivo*, portat a terme per Ward i col·laboradors (1997), s'observà que els nivells extracel·lulars cerebrals d'aspartat, glutamat i GABA no es veien afectats per la injecció d'AC. Una dada indirecta que també recolza la manca d'efecte de l'AC en aquests sistemes de neurotransmissió és que, a diferència de l'alcohol, l'AC no té capacitat per a inhibir l'exitotoxicitat produïda pels NMDA en cultius primaris de neurones corticals de rata (Wang *et al.*, 2000).

Diversos estudis mostren que l'AC té propietats reforçants (Brown *et al.*, 1979; Myers *et al.*, 1982; Smith *et al.*, 1984; Quertemont i De Witte, 2001; Rodd-Henricks *et al.*, 2002, 2005). Com ja s'ha comentat anteriorment, la majoria de drogues addictives, inclòs l'alcohol, provoquen un increment de les concentracions de dopamina extracel·lular en diverses regions del sistema límbic i, en especial, en el nucli *accumbens* (Imperato i Di Chiara, 1986; Di Chiara i Imperato, 1988; Carboni *et al.*, 1989a), efecte relacionat amb l'aspecte gratificant de les drogues. Per aquest

motiu, s'ha especulat que les propietats reforçants de l'AC també es poden veure mediatitzades per un increment en l'alliberament de dopamina en el nucli *accumbens* i altres regions límbiques. Diferents estudis (Rodd-Henricks *et al.*, 2002; Foddai *et al.*, 2004) defensen que l'AC incrementa l'activitat de les neurones dopaminèrgiques de l'àrea tegmental ventral i que, per tant, les propietats reforçants de l'AC podrien estar mediatitzades per aquesta activació dopaminèrgica. Però, a diferència de l'alcohol, l'AC no requereix l'activació de receptors 5-HT₃ locals, cosa que suggereix mecanismes diferents en la mediació dels efectes reforçants (Rodd-Henricks *et al.*, 2005). Això ha portat a plantejar la possibilitat que l'AC, més que actuar com a mediador dels efectes reforçants de l'alcohol ho estigui fent com a potenciador d'aquests efectes (Quertemont *et al.*, 2005b). No obstant això, i malgrat que sembla que la hipòtesi dopaminèrgica es vàlida per a explicar les propietats reforçants de l'AC, encara s'ha de demostrar que l'administració perifèrica d'AC produeix un increment de la concentració de dopamina extracel·lular en regions mesolímbiques, ja que en l'estudi portat a terme en aquest sentit, mitjançant tècniques de microdiàlisi, aquest efecte no s'ha pogut demostrar (Ward *et al.*, 1997).

Estudis fets per a valorar l'efecte de l'AC en la son han aportat algunes dades relatives a l'efecte d'aquest metabòlit de l'alcohol en la serotonina (5-HT) i la noradrenalina (NA). En l'estudi portat a terme per Franco-Pérez i col·laboradors (2006) s'ha vist que l'administració intraperitoneal d'AC produïa un increment significatiu de la concentració d'àcid 5-hidroxiindolacètic (5-HIAA) i de la ràtio 5-HIAA/serotonina en el bulb raquídi i en el pont troncoencefàlic, mentre que la concentració de NA no s'hi veia afectada. Aquestes dades mostren un increment del metabolisme de la 5-HT, que es tradueix en un decrement significatiu de la fase de son REM. De tota manera, aquestes dades no són concluent, ja que hi ha una gran manca d'estudis en aquest sentit.

L'efecte de l'AC en la neurotransmissió colinèrgica ha estat estudiada per Jamal i col·laboradors (2005, 2007) en el còrtex frontal i l'hipocamp de rata. Aquestes àrees reben una important innervació colinèrgica provinent del cervell basal i es tracta de regions especialment sensibles a l'efecte que l'alcohol produeix en la concentració d'ACh, com també en l'activitat dels enzims colina acetiltransferasa

(ChAT) i l'acetilcolinesterasa (AChE) (Arendt *et al.*, 1990). En aquests estudis s'ha vist que tant l'alcohol com l'AC produeixen, *in vivo*, una disminució, dosi-dependent, de l'alliberament d'ACh en les dues estructures esmentades, i que és significativament més gran la produïda per l'AC (Jamal *et al.*, 2005), mitjançant la disminució de l'expressió de l'enzim ChAT (Jamal *et al.*, 2007).

Quant a la interacció de l'AC amb els neuropèptids, hi ha una gran manca de coneixement. L'única excepció són algunes dades sobre l'efecte de l'AC en els opioïdes endògens, que han estat força estudiats a causa del seu possible paper en els efectes reforçants de l'alcohol (Gianoulakis, 2004). S'ha vist que, en cultius primaris de neurones hipotalàmiques, l'AC a baixes concentracions (12-50 μM) estimula la secreció de β -endorfines (Pastorcic *et al.*, 1994; Boyadjieva *et al.*, 1997), i sembla que aquest efecte seria més gran i duraria més que el produït per l'alcohol (Reddy i Sarkar, 1993). D'altra banda, el fet que l'increment en la secreció de β -endorfines produït per l'alcohol es pugui inhibir mitjançant inhibidors de la catalasa (Reddy *et al.*, 1995) suggereix que aquest efecte de l'alcohol es dona gràcies a la seva conversió en AC. Com ja s'ha comentat anteriorment, es creu que les β -endorfines modulen l'activitat de les neurones dopaminèrgiques de l'àrea tegmental ventral (Gianoulakis, 2004) de manera que un increment en la secreció d'aquests neuropèptids mitjançant l'AC incrementaria l'estimulació de les neurones dopaminèrgiques, implicades en les propietats reforçants. Una dada a favor d'aquesta hipòtesi és que l'administració de naloxona –antagonista dels receptors opioïdes– i de buprenorfina –agonista parcial– redueixen l'autoadministració intravenosa d'AC (Myers *et al.*, 1984). No obstant això, són necessaris més estudis *in vivo* per a confirmar les dades obtingudes fins ara *in vitro*.

Aquest breu repàs dels efectes de l'AC en la neurotransmissió fa evident que, malgrat els anys dedicats al seu estudi, encara disposem de poques dades quant als seus efectes, tant aguts com crònics en el SNC. Són necessaris un nombre més gran d'estudis per a valorar la possibilitat que l'AC tingui els seus propis llocs diana, i per a esbrinar fins a quin punt els seus efectes són sinèrgics o independents dels de l'alcohol.

6. EL FEIX SEPTOHIPOCÀMPIC

6. EL FEIX SEPTOHIPOCÀMPIC

6.1. L'àrea septal

Sovint les estructures del cervell reben el seu nom sobre la base de la seva forma –hipocamp, amígdala–, la seva textura –*striatum*–, localització –nucli paraventricular– o inclús pel seu color –substància negra. Segons aquesta tendència i, atès que la paret interventricular medial del telencèfal no té cap forma ni color particular, ha rebut el nom que en llatí designa paret: *septum*. En el cas dels humans s'anomena *septum pellucidum* per la seva aparença translúcida (Swanson *et al.*, 1987; Swanson i Risold, 2000).

Es tracta d'una estructura prominent en els mamífers no primats situada per sota de la porció anterior del cos callós, per davant de l'hipocamp anterior i posterior a les comissures hipocàmpals (vegeu Figura 3). Els nuclis homòlegs en els primats serien els que es troben davant de la comissura anterior en la base del cervell. En l'home, el *septum pellucidum* no és una estructura homòloga al complex de l'àrea septal dels animals no primats (Isaacson, 1974).

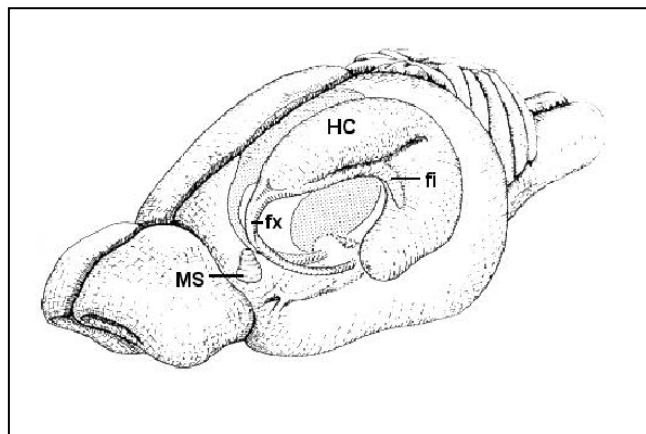


Figura 3. Organització tridimensional del sistema septohipocàmpic del cervell de rata.

Abreviatures: **HC:** hipocamp, **MS:** *septum* medial, **fx:** fòrnix, i **fi:** fimbria (adaptat d'Amaral i Witter, 1995).

L'àrea septal seria una *interface* entre el diencèfal –cervell evolutivament més arcaic– i el telencèfal –que seria el cervell més recent–, i mantindria un equilibri entre els components endocrins i emocionals del sistema nerviós central.

Atès que el treball experimental realitzat està centrat en el *septum* medial de la rata, només es descriurà amb detall el grup medial del *septum* i les seves connexions en aquests animals. Per a una revisió més extensa dels altres grups que conformen l'àrea septal vegeu Risold (2004).

6.1.1. Morfologia

Com ha succeït amb moltes altres estructures, el *septum* va ser inicialment definit a partir de disseccions macroscòpiques. Com a resultat, el complex septal és un grup de nuclis, estructuralment poc relacionats entre ells, que s'han considerat dins d'una mateixa categoria per raons històriques (Jakab i Leranth, 1995). En funció de la seva localització anatòmica, dins la regió septal trobem:

- el grup lateral: conté els nuclis septal lateral, el septofimbrial i el nucli septohipocampal, i transmet la informació descendent de les estructures telencefàliques a les diencefàliques.

- el grup medial: format pel *septum* medial (MS) i el nucli de la banda diagonal (DB). Aquest últim està compost per dues parts: la branca horitzontal de la banda diagonal (hDB) i la branca vertical de la banda diagonal (vDB). Tot i que tradicionalment s'ha tendit a classificar el MS i la DB com a nuclis diferents, són contigus, i no es pot determinar un límit anatòmic clar entre ells. De fet, la millor classificació a nivell funcional seria la combinació del MS i la vDB. En general, el grup medial transmet informació ascendent d'estructures diencefàliques a estructures telencefàliques.

- El grup posterior: format pel nucli triangular, el nucli de la comissura anterior i per la *stria medullaris*.

- Finalment, el nucli de l'estria terminal forma el grup ventral.

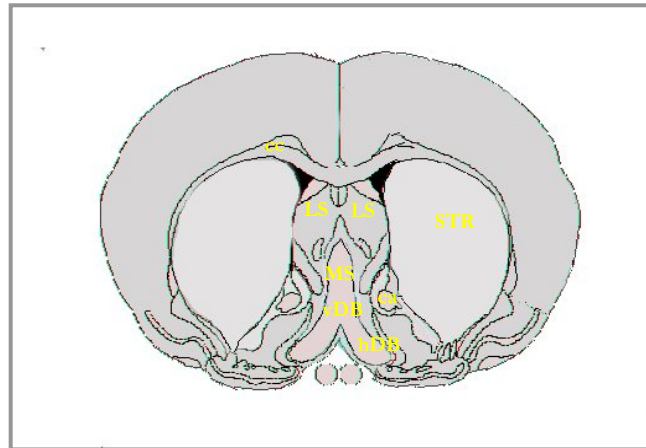


Figura 4. Secció coronal del cervell de rata.

Abreviatures: **MS:** *septum* medial, **LS:** *septum* lateral, **vDB:** branca vertical de la banda diagonal de Broca, **hDB:** branca horitzontal de la banda diagonal de Broca, **STR:** *striatum*, **ca:** comissura anterior, **cc:** cos callós (adaptat de Paxinos i Watson, 1986).

Quant a les aferències i eferències, l'àrea septal té quatre vies principals: el fòrnix, la *stria terminalis*, el feix medial del prosencèfal i la *stria medullaris*.

Els nuclis laterals i medials estan connectats amb l'hipocamp a través de la fimbria/fòrnix. El grup ventral està connectat amb l'amígdala a través de la *stria terminalis*. Quant al nucli de la *stria terminalis* –grup ventral– està unit lateralment amb la càpsula interna i caudalment al fòrnix postcomissural i a les fibres dorsals de la *stria medullaris*, originades en les parts anteriors de l'àrea hipotalàmica lateral i les parts externes del globus pàl·lid (Swanson i Cowan, 1979; Paxinos i Watson, 1986; Risold i Swanson, 1997a; Swanson i Risold, 2000).

D'altra banda, tots els nuclis septals reben abundants aferències del prosencèfal medial i molts d'ells també envien projeccions descendents a través d'ell.

Des d'un punt de vista morfofuncional la regió septal ha estat vinculada amb el sistema límbic. De fet, recentment, algunes parts d'aquesta regió, com el nucli de l'estria terminal, s'han inclòs en l'anomenada amígdala expandida –o *extended amygdala*–, que pot ser considerada com una divisió particular del sistema límbic.

D'altra banda, les cèl·lules colinèrgiques del complex septal medial –*septum* medial i nucli de la banda diagonal–, juntament amb les neurones colinèrgiques del nucli basal de Meynert, la substància *innominata* i alguns nuclis del subtàlem i part del globus pàl·lid, formen el feix colinèrgic prosencefàlic d'àmbit cortical –*the basal forebrain cholinergic corticopetal system*–.

6.1.2. Citoarquitectura

En cada nucli de l'àrea septal hi ha diferents tipus de neurones. En el cas concret del grup medial hi ha almenys tres tipus heterogenis de neurones:

- El grup més important és el de les neurones colinèrgiques. La seva existència va ser inicialment suggerida per Shute i Lewis (1967), però la confirmació de la naturalesa d'aquestes neurones la van fer, posteriorment, altres autors (Kàsa, 1986; Woolf, 1991; Butcher, 1995). Mitjançant tècniques immunohistoquímiques i tècniques de traçat retrògrad, diversos investigadors (Amaral i Kurz, 1985; Wainer *et al.*, 1984b, 1985) han trobat que entre el 30 i el 50% de les cèl·lules del *septum* medial i el 50 i el 75% de les del nucli de la banda diagonal, que projecten a la formació hipocampal, són colinèrgiques.

D'altra banda, diferents proporcions d'aquestes neurones coexpressen altres neurotransmissors, neuropèptids i/o receptors (Semba, 2000). Per exemple hi ha neurones colinèrgiques que contenen glutamat (Forloni *et al.*, 1987), òxid nítric (Schober *et al.*, 1989; Kitchener i Diamond, 1993), neuropèptids com la galanina (Melander *et al.*, 1985) o receptors com per exemple el del NGF (*Nerve Growth Factor*) (Gibbs i Pfaff, 1994; Sobreviela *et al.*, 1994). Diversos estudis han intentat analitzar la coexpressió d'aquestes molècules en les neurones colinèrgiques (Melander *et al.*,

1985; Pasqualotto i Vincent, 1991; Sobreviela *et al.*, 1994, 1998) i determinar les seves possibles interaccions amb l'acetilcolina (Lamour i Epelbaum, 1988; De Wied, 1997; Planas *et al.*, 1997). Malgrat aquests intents, el coneixement que es té d'aquestes coexpressions i interaccions és encara bastant limitat (Semba, 2000).

- El segon gran grup de neurones en l'àrea septal medial són les neurones GABAèrgiques (Köhler i Chan-Palay, 1983; Feldblum *et al.*, 1993; Risold *et al.*, 1997). La majoria d'elles expressen pèptids i/o altres proteïnes. D'aquestes, les proteïnes d'unió amb el calci, o *calcium-binding proteins* (calretinina, calbindina i parvalbúmina), i els factors tròfics han estat els més estudiats (Freund i Antal, 1988; Jakab i Leranth, 1995; Semba, 2000). Algunes neurones GABAèrgiques són interneurons locals, mentre que d'altres projecten al còrtex i a l'hipocamp (Brauer *et al.*, 1991; Jakab i Leranth, 1995); però, malgrat això, aquestes neurones no formen una població de cèl·lules homogènies.

- Finalment, les neurones GnRH que es troben localitzades, de manera dispersa, en el complex septal medial i, més caudalment, en la regió preòptica hipotalàmica, i que tenen una funció de caire neuroendocrí, com ara la secreció de l'hormona gonadotropina (Barry *et al.*, 1973, 1985).

D'altra banda, el complex septal medial, a través del feix prosencefàlic medial, rep abundants aferències provinents del troc de l'encèfal que contenen GABA, glutamat, acetilcolina, serotonina, dopamina i noradrenalina (Vertes, 1988; Panula *et al.*, 1989; Carnes *et al.*, 1990; Cullinam i Zaborszky, 1991; Zagon *et al.*, 1994; Gaykema i Zaborszky, 1996; Kia *et al.*, 1996; Leranth i Vertes, 1999). Algunes d'aquestes projeccions també contenen pèptids (Woodhams *et al.*, 1983). La disposició topogràfica d'aquestes aferències encara no és clara. La majoria d'elles passen a través d'aquests nuclis per a arribar al nucli septal lateral, o continuen a través del fórnix/fimbria per a entrar a l'hipocamp, tot i això, sovint innerven, *en passant*, neurones en el complex septal medial.

6.1.3. Connexions de l'àrea septal medial

Les connexions del *septum* medial i del nucli de la banda diagonal es caracteritzen pel seu gran nombre d'eferències telencefàliques com també per les connexions bidireccionals amb el tronc de l'encèfal i, més concretament, amb diversos nuclis de l'hipotàlem posterior i de la formació reticular.

Les projeccions septocorticals innerven l'hipocamp, el còrtex entorrinal, el còrtex cingulat, el còrtex prefrontal medial, àrees olfactòries –bulb olfactori, còrtex piriforme, nucli corticoamigdaloides–, àrees insulars i, tot i que de manera menys extensa, les àrees del còrtex cerebral occipital, somatosensorial i orbital. Aquestes projeccions estan organitzades topogràficament (Risold, 2004).

Les projeccions septals en la formació hipocampal varen ser experimentalment demostrades a l'inici del anys 50 (Morin, 1950; Daitz i Powell, 1954). Posteriorment s'ha fet un gran nombre d'estudis per tal de definir aquesta via recíproca. El feix septohipocàmpic s'inicia en les cèl·lules del *septum* medial (SM) i en el nucli de la banda diagonal (DB) i s'hi troben dos tipus de connexions: colinèrgiques i GABAèrgiques. Aproximadament el 90% de la innervació colinèrgica de l'hipocamp prové del SM i de la vDB. Aquesta aferència colinèrgica proporciona un *input* modulador a les principals cèl·lules de l'hipocamp –piramidals, no piramidals i cèl·lules granulars– i a les seves interneurons GABAèrgiques (Wainer *et al.*, 1984a; Frotscher i Leranth, 1985). Les projeccions GABAèrgiques finalitzen en les interneurons GABAèrgiques de l'hipocamp i, a més, desinhibeixen les cèl·lules piramidals (Freund i Antal, 1988). Tant les cèl·lules colinèrgiques com les GABAèrgiques són les responsables de la sincronització de tota la formació hipocampal (Chrobak, 2000).

Aquestes fibres viatgen fins a la formació hipocampal a través de quatre rutes: la fimbria, el fòrnix dorsal, l'estria supracallosa i via una ruta ventral, a través i al voltant, del complex amigdalí; i finalitzen gairebé en totes les regions de la formació hipocampal, tot i que són especialment predominants en el gir dentat. Aquestes

projeccions estan topogràficament organitzades de manera que les cèl·lules situades medialment en el *septum* medial tendeixen a projectar-se, preferencialment, en regions dorsals de la formació hipocampal, mentre que les cèl·lules que es troben lateralment a l'àrea septal tendeixen a projectarse ventralment en la formació hipocampal (Nyakas *et al.*, 1987; Gaykema *et al.*, 1990). Estudis realitzats amb traçats retrògrats donen suport a aquesta organització topogràfica i indiquen que, nivells dorsals del gir dentat, junt amb altres regions de l'hipocamp, reben la majoria d'*inputs* provinents de la banda diagonal i, més particularment de la meitat rostral de la branca vertical de la banda diagonal (vDB) i del cor de la branca horitzontal de la banda diagonal (hDB), mentre que els nivells ventrals d'aquestes àrees reben innervació colinèrgica principalment del *septum* medial, concretament de les porcions caudals del *septum* medial i de la banda diagonal ventral (Amaral i Kurz, 1985; Yoshida i Oka, 1995). A més, Yoshida i Oka (1995) veieren que les projeccions a l'*hilus* del gir dentat s'originen principalment en el *septum* medial mentre que les projeccions a nivell dorsal de l'hipocamp s'originen tant en el *septum* medial com en la banda diagonal.

Com s'ha comentat anteriorment, les connexions entre l'àrea septal i l'hipocamp són recíproques. Quant a la projecció descendent de l'hipocamp cap al *septum*, es dona principalment amb el *septum* lateral (SL). Les cèl·lules piramidals del CA1 de l'hipocamp projecten a tot el SL mentre que les cèl·lules piramidals del CA3 només projecten a la regió caudal d'aquesta àrea. D'altra banda també hi ha algunes connexions descendents entre les interneurons GABAèrgiques de l'hipocamp i el SM i la vDB. Aquestes projeccions neixen de les interneurons que contenen calbindina i finalitzen tant en les cèl·lules colinèrgiques com en les GABAèrgiques del SM i la vDB (Jakab i Leranth, 1995).

La via septal ventral que connecta amb la formació hipocampal sembla que sorgeix principalment del nucli de la banda diagonal de Broca (Milner i Amaral, 1984).

Les projeccions descendents de l'àrea septal medial viatgen per la regió més ventral del prosencèfal medial fins a arribar al tronc de l'encèfal (Meibach i Siegel, 1977; Swanson i Cowan, 1979; Veening *et al.*, 1982; Tomimoto *et al.*, 1987). Algunes d'aquestes fibres es vinculen dorsalment per a entrar a la *stria medullaris* i acabar a l'habènula lateral o innervant diversos nuclis del tàlem, com el nucli reticular dorsomedial i el lateral. Sembla que algunes projeccions en la *stria medullaris* continuen en el fascicle retroflex de Meynert i innerven el nucli interpeduncular. Part d'aquestes projeccions podrien ser colinèrgiques (Albanese *et al.*, 1985; Motohashi *et al.*, 1987).

Altres eferències del *septum* medial innerven *en passant* l'àrea hipotalàmica lateral i, la majoria d'elles, finalitzen en la part lateral del nucli supramamilar, mentre que les restants innerven el nucli mamilar medial i lateral i el tuberomamilar, l'àrea tegmental ventral, el nucli del rafe i el nucli tegmental laterodorsal (Meibach i Siegel, 1977; Swanson i Cowan, 1979; Veening *et al.*, 1982; Tomimoto *et al.*, 1987; Jakab i Leranthy, 1995). Moltes d'aquestes projeccions descendents al tronc de l'encèfal no són colinèrgiques (Kalén i Wiklund, 1989).

El grup septal medial també rep *inputs* ascendents del tronc de l'encèfal (Vertes, 1988). L'hipotàlem, en particular el nucli supramilar, el nucli hipotalàmic posterior i l'àrea hipotalàmica lateral, constitueixen una de les fonts principals de projeccions ascendents (Cullinam i Zaborszky, 1991; Vertes, 1992; Oddie *et al.*, 1994). Altres regions del tronc de l'encèfal que també projecten cap a l'àrea septal medial són el nucli interpeduncular, l'àrea tegmental ventral, el rafe, el nucli tegmental laterodorsal i el *locus coeruleus* (Segal i Landis, 1974; Vertes, 1988; Cullinam i Zaborszky, 1991; Kia *et al.*, 1996; Leranthy i Vertes, 1999). Encara, però, no es disposa d'una topografia clara d'aquestes projeccions.

6.2. Organització funcional de l'àrea septal

L'àrea septal ha estat implicada en un ampli nombre de respostes tant motores –autonòmiques, neuroendocrines–, com comportamentals i cognitives (Swanson *et al.*, 1987; Swanson i Risold, 2000).

6.2.1. Consum d'aigua

Basant-se en observacions electrofisiològiques i comportamentals, McCleary (1966) va proposar que la funció de l'àrea septal podria estar associada amb la resposta d'inhibició. Concretament, l'àrea septal té una influència inhibidòria en diverses reaccions fisiològiques, com també en processos comportamentals. La conducta de beure és una d'aquestes conductes que es mostren afectades tant per l'estimulació com per la lesió d'aquesta àrea. Lesions electrolítiques massives de la regió septal incrementen el consum diari d'aigua, és el que s'ha anomenat *septal hyperdipsia* (Montes *et al.*, 1986; Blass i Hanson, 1970), mentre que l'estimulació elèctrica de la mateixa àrea disminueix el volum consumit (Moran i Blass, 1976; Gordon i Johnson, 1981). Aquestes observacions plantejaren la hipòtesi que el *septum* fos un sistema neural de sadollament amb un paper inhibitori en el control de la conducta de beure.

En un estudi realitzat més recentment, Liao i Yeh (2000) es van obtenir uns resultats consistents amb els d'altres estudis (Stricker, 1978, 1984; Iovino *et al.*, 1983; Montes *et al.*, 1986) i es va observar un increment en el consum d'aigua després d'una lesió septal mitjançant àcid kaínic. Però, l'efecte observat va ser diferent depenent de la subàrea del *septum* que s'havia lesionat. La lesió de la part posterior del *septum* medial produí una marcada polidipsia, en comparació amb la lesió del *septum* medial anterior i amb la del *septum* lateral. Aquests resultats semblen indicar que el control neural de la conducta de beure, per part de l'àrea septal, depèn principalment del *septum* medial posterior.

És lògic pensar que, atesa l'heterogeneïtat existent entre els diferents grups de nuclis que formen l'àrea septal, tant a nivell citoarquitectònic com en les diferents

connexions aferents i eferents, cada subregió té una funció diferent en el comportament.

6.2.2. Emocionabilitat i conducta social

Les lesions dels grups medial i lateral de l'àrea septal varen ser inicialment relacionats amb canvis en el comportament emocional, que donen lloc al que s'ha anomenat *síndrome septal de ràbia* (*septal rage syndrome*) (Brady i Nauta, 1953). Estudis més refinats realitzats amb posterioritat indiquen, però, que la principal estructura relacionada amb aquesta síndrome és el nucli septal lateral. Inicialment, es va pensar que el canvi comportamental que es produïa en l'animal era un augment de l'agressivitat, però estudis successius recolzarien la idea que es tracta d'un comportament defensiu exagerat (Blanchard *et al.*, 1979; Albert i Chew, 1980; Sparks i Ledoux, 1995, 2000; Sheehan i Numan, 2000).

D'altra banda, altres estudis indiquen la importància del nucli septal lateral en altres comportaments socials com les relacions de dominància-subordinació o la cura parental. La gran quantitat d'*inputs* descendents del nucli septal lateral a l'hipotàlem donen suport a la implicació d'aquest nucli en aquestes respostes (Swanson i Cowan, 1979; Staiger i Wouterlood, 1990; Risold i Swanson, 1997b). Hi ha una xarxa complexa que comunica la part ventral, o diverses divisions de la part rostral, del nucli septal lateral amb divisions interconnectades de circuits hipotalàmics, relacionats amb el comportament reproductiu i la conducta parental, com l'àrea preòptica anteromedial, la part ventrolateral del nucli ventromedial i el nucli ventral premamillar (Risold i Swanson, 1997b).

6.2.3. Aprenentatge i memòria

Les lesions de l'àrea septal medial produeixen diversos tipus de dèficits cognitius, com disrupcions en alguns tipus de memòria, i dessincronització del ritme *theta* hipocampal (Wenk, 1997; Durkin, 2000; Numan, 2000).

Els *inputs* septals, tant GABAèrgics com colinèrgics, contribueixen a sincronitzar les neurones hipocampals (Yoder i Pang, 2005). D'una banda, les aferències septals GABAèrgiques es comuniquen amb les interneurons GABAèrgiques de tota la formació hipocampal –inclòs el còrtex entorrinal– i les sincronitzen en freqüències més elevades (40-200 Hz), i de l'altra, els inputs colinèrgics arriben a les cèl·lules piramidals i a les interneurons GABAèrgiques i actuen com a marcadors del ritme *theta* (4-12 Hz) (Chrobak, 2000). L'àrea septal medial és considerada el marcapassos de l'hipocamp des que Petsche *et al.* (1962) descobriren les cèl·lules marcapassos en el *septum*. Aquesta troballa ha estat confirmada pel fet que les lesions de l'àrea septal eliminen completament el ritme *theta* en l'hipocamp (Andersen *et al.*, 1979; Leung *et al.*, 1994), com també la secció de la fimbria/fòrnix, que connecta les fibres colinèrgiques i GABAèrgiques del *septum* medial amb l'hipocamp (Brito i Brito, 1990). A més, estudis farmacològics del ritme *theta* mostren que la innervació colinèrgica del *septum* medial és l'aferència més important en la regulació d'aquest ritme. De fet, l'administració sistèmica d'agonistes colinèrgics produeixen ritme *theta* (Teitelbaum *et al.*, 1975), com també la seva microinfusió en el *septum* (Monmaur i Breton, 1991) o en l'hipocamp (Rowntree i Bland, 1986; Colom *et al.*, 1991). Inclús, es produeix en estudis realitzats *in vitro* quan s'aplica a talls hipocampals (Konopacki *et al.*, 1987). Contràriament, els antagonistes colinèrgics impedeixen el ritme *theta* (Bennett *et al.*, 1971; Kramis *et al.*, 1975).

Segons diversos autors (Stewart i Steven, 1990; Kirk, 1998; Leranth i Vertes, 2000), el patró dels polsos d'estimulació que segueixen les neurones del *septum* medial és modulats per les projeccions ascendents del tronc de l'èncefal. S'han descrit diversos circuits, però sembla que hi ha un acord general en el fet que aquestes vies s'originen, principalment, en les parts més rostrals del nucli reticular pontí. Sembla que neurones diencefàliques caudals del nucli supramamillar i d'altres del nucli

hipotalàmic posterior tenen un paper clau a l'hora de transmetre el senyal de la regió pontina (Kirk, 1998; Leranath i Vertes, 1999, 2000; Kocsis i Kaminski, 2006).

D'altra banda, hi ha aferències serotoninèrgiques procedents del nucli superior medial del rafe que tenen un efecte desincronitzador de les neurones de l'hipocamp a través de projeccions al complex septal medial (Vertes, 1981; Leranath i Vertes, 2000; Hajós *et al.*, 2003). Lesionant o suprimint farmacològicament aquest nucli, mitjançant el bloqueig selectiu de neurones serotoninèrgiques (5-HT), s'obté una continuada i ininterrompuda activitat *theta* en l'hipocamp (Assaf i Miller, 1978; Vertes *et al.*, 1994). L'activitat d'aquestes neurones 5-HT es veu a l'hora modulada per cèl·lules GABAèrgiques que es troben tant en el nucli dorsal com medial del rafe. L'acció GABAèrgica de les neurones 5-HT facilita el ritme *theta* mentre que la seva interrupció l'impedeix (Li *et al.*, 2005).

El ritme *theta*, tot i que encara avui dia és objecte d'estudi (Hasselmo, 2000), té un paper molt important en processos com l'aprenentatge i la memòria. Hi ha una gran controvèrsia quant als efectes que produeixen les lesions de l'àrea septal medial en aquests processos, depenent de la tasca d'aprenentatge que s'utilitza i el mètode utilitzat per fer la lesió (Parent i Baxter, 2004).

Quant a processos d'aprenentatge excitatori, sembla que l'àrea septal no té un paper clau en tasques dependents de l'hipocamp. La lesió d'aquesta àrea no és suficient per a impossibilitar l'aprenentatge espacial en tasques com el *Morris water maze* o el laberint radial (Cahill i Baxter, 2001; Pizzo *et al.*, 2002), sinó que sembla afectar la capacitat per a transferir l'experiència prèvia i la flexibilitat, a l'hora de canviar d'estratègia, més que en l'adquisició de l'aprenentatge *per se* (Ikonen *et al.*, 2002; Sarter *et al.*, 2002; Janisiewicz i Baxter, 2003; Janisiewicz *et al.*, 2004).

Com ja s'ha comentat anteriorment, McCleary (1966) trobà que les lesions septals perjudicaven mecanismes responsables de la inhibició conductual. Animals amb aquest tipus de lesió mostraven una capacitat inferior que els animals controls, en la seva capacitat per a inhibir una resposta en certes tasques, incloses aquelles en les quals els animals havien de suprimir la seva resposta per a no rebre un càstig,

com, per exemple, en la tasca d'evitació passiva. D'altra banda, aquests animals lesionats no mostraren cap dificultat a l'hora d'aprendre una tasca d'evitació activa.

Una altra aproximació experimental a la resposta inhibitoria feta per McCleary va ser la d'utilitzar tests en els quals els animals havien de suprimir respostes, prèviament establertes, per a obtenir un reforçament quan les contingències ambientals canviaven. Els animals són entrenats amb un programa anomenat DRL (*differential reinforcement of low response rate*) en el qual, com el seu nom indica, es reforcen taxes baixes de resposta i en què els animals han d'esperar un determinat nombre de segons entre cada resposta. Diversos estudis (Ellen *et al.*, 1964; Burkett i Bunnell, 1966; MacDougall *et al.*, 1969) mostraren que els animals amb lesions septals tenien una gran dificultat per a portar a terme aquesta tasca, i donaven lloc a un inapropiat increment en la taxa de respostes i a un decrement en el nombre de reforçaments obtinguts sota aquest paradigma. D'altra banda, també hi ha estudis que semblen indicar que, els animals amb lesions septals tarden més temps a extingir una resposta, que els animals control, en tasques apetitives (Schwartzbaum *et al.*, 1964; Pubols, 1966; Butters i Rosvold, 1968) i en la tasca d'evitació activa en dos sentits (LaVaque, 1966).

En conjunt, aquests resultats plantegen que els animals, amb lesions septals, mostren una major perseverància que els animals control quant al nombre de respostes que emeten, una major dificultat per a modificar l'estratègia d'afrontament en les tasques d'aprenentatge i una major intolerància a l'espera, per exemple, de l'arribada d'un reforç positiu.

Anys després d'aquests treballs, Gray (1973), basant-se en els seus experiments en rates, va proposar que el feix septohipocàmpic era un sistema d'inhibició comportamental que suprimia el comportament en resposta a estímuls nous, senyals associats amb el càstig o absència de reforçament, com també que incrementava l'*arousal* i permetia focalitzar l'atenció en els estímuls rellevants. Per tant, en cas de lesió, els animals mostren una gran perseverància, mitjançant l'augment, respecte dels animals control, de la taxa de respostes en un programa de reforçament positiu d'interval fix, com també dificultat per a suprimir respostes que han estat castigades

i aprendre de l'experiència prèvia. Aquest perfil comportamental ha estat extrapolat per Gorenstein i Newman (1980) als humans per tal d'explicar les anomenades *disinhibitory psychopathology* que inclouen, segons aquests autors, la personalitat antisocial i l'alcoholisme. En el cas dels humans, a més del *septum* i l'hipocamp també tindria molta importància el còrtex orbitofrontal.

Estudis electrofisiològics donarien suport a la teoria de Gray, ja que indiquen que les aferències colinèrgiques del *septum* a l'hipocamp són inhibidores (Buzsáki, 1989; Buzsáki *et al.*, 1989). El ritme *theta* facilita i prolonga l'acció dels estímuls que arriben a l'hipocamp, permet reunir la informació rebuda de manera controlada i, contribueix a evitar les interferències que poden arribar durant el processament i el registre de la informació. Per tant el ritme *theta* és pot considerar un mecanisme d'atenció selectiva, un prerrequisit per a la formació de la memòria (Vinogradova, 1995).

6.3. Efectes de l'alcohol en el feix septohipocàmpic

Hi ha un nombre considerable de treballs sobre l'efecte de l'alcohol en el SNC. La via septohipocàmpica ha estat una de les vies colinèrgiques que més atenció ha rebut en aquest sentit, ja que es tracta d'un circuit clarament implicat en els processos d'aprenentatge i memòria. Segons estudis duts a terme mitjançant administració forçada i, bàsicament, en forma aguda, quant a l'efecte de l'alcohol en aquesta via, sembla que l'alcohol suprimeix l'activitat espontània de les cèl·lules piramidals hipocàmpals tant *in vitro* (Siggins *et al.*, 1987) com *in vivo* (Ludvig *et al.*, 1995; White i Best, 2000). Altres estudis mostren que aquesta droga també inhibeix la inducció de la potenciació a llarg termini (LTP) hipocàmpal, tant *in vitro* (Blitzer *et al.*, 1990; Morrisett i Swartzwelder, 1993) com *in vivo*, mentre que no interfereix en el manteniment de l'LTP o en la seva expressió quan aquesta és induïda abans de l'aplicació d'alcohol (Givens i McMahon, 1995; Roberto *et al.*, 2002). D'altra banda, en estudis *in vivo*, s'ha vist que l'alcohol també actua en el *septum* medial inhibint-ne l'activitat cel·lular, cosa que dona lloc a una reducció o supressió del ritme *theta*

hipocampal (Givens, 1995, 1996). Aquestes dades suggereixen que els processos cognitius dependents de l'hipocamp i del *septum* medial, com l'aprenentatge i la memòria, seran especialment sensibles als efectes de l'alcohol, agut i crònic, quan és administrat de manera forçada (Matthews i Morrow, 2000; White *et al.*, 2000).

Estudis moleculars atribueixen aquest efecte de l'alcohol, d'una banda, al seu efecte potenciador de les neurones i interneurons GABAèrgiques (Grobin *et al.*, 1998) existents a l'hipocamp, que donaria lloc a un augment de l'acció inhibidòria d'aquestes neurones GABAèrgiques sobre les cèl·lules piramidals de l'hipocamp (Aguayo, 1991; Weiner *et al.*, 1994), i de l'altra, a l'efecte potenciador dels receptors GABA_A localitzats en el *septum* medial (Givens i Breese, 1990b; Frye *et al.*, 1994) que resultaria en la supressió del ritme *theta*. A més a més, l'alcohol, administrat de manera aguda, també antagonitza els receptors NMDA a l'hipocamp (Lima-Landman i Albuquerque, 1989; Lovinger *et al.*, 1990) i al *septum* medial (Simson *et al.*, 1991). Això provoca una disminució dels nivells d'activitat de les neurones piramidals i granulars hipocampals glutamatèrgiques, dificultant la inducció de l'LTP (Givens i McMahon, 1995). Per tant, en conjunt, aquestes dades indiquen que l'alcohol, administrat de manera aguda, tindria un efecte disruptor de l'activitat del feix septohipocàmpic.

D'altra banda, estudis neuroanatòmics en animals mostren que l'alcohol administrat de manera crònica i forçada, bé com a única font de beguda o mitjançant dietes líquides, durant períodes que van dels 4 als 18 mesos, provoca una pèrdua neuronal d'entre un 10 i un 30%, en els CA1 i CA3 de l'hipocamp i en la capa de cèl·lules granulars del gir dentat (Walker *et al.*, 1980; Cadete-Leite *et al.*, 1988; Paula-Barbosa *et al.*, 1993; Lukoyanov *et al.*, 1999) i una disminució de la densitat de les espines dendrítiques de les neurones piramidals del CA1 (Riley i Walker, 1978). D'altra banda, també s'ha trobat una disminució significativa de la innervació colinèrgica de la formació hipocampal, ja que, d'una banda hi ha una pèrdua de fibres colinèrgiques, i de l'altra, una pèrdua de neurones colinèrgiques hipocampals (Cadete-Leite *et al.*, 1995). A més, també s'ha detectat pèrdua de neurones colinèrgiques en el *septum* medial i en la branca vertical de la banda

diagonal de Broca (Arendt *et al.*, 1988, 1995), des d'on neixen la majoria de les aferències colinèrgiques hipocampals (Amaral i Kurz, 1985).

És important destacar però, que malgrat la importància d'aquests treballs, molts d'ells són estudis fets *in vitro* i, sovint, amb una administració aguda d'alcohol de manera que no poden detectar el paper de les adaptacions farmacodinàmiques que es produeixen davant el consum crònic d'alcohol. Pel que fa als estudis fets *in vivo*, en alguns sí es té en compte la importància de la cronicitat del consum, però en tots ells l'alcohol s'administra de manera forçada. En la majoria d'estudis, l'única font d'hidratació que tenen els animals és la dissolució alcohòlica o bé s'administra l'alcohol per via inhalatòria o injectat intraperitonealment, per la qual cosa tampoc s'està modelant el procés addictiu pròpiament. D'altra banda, en la major part dels estudis, les dosis administrades es troben fins a cinc vegades per sobre de la taxa metabòlica de l'alcohol que té la rata. Finalment, l'administració forçada, al marge de la dosi, falla quant a reproduir les corbes dels nivells d'alcohol en sang dels humans alcohòlics i, per tant, són susceptibles de produir adaptacions farmacodinàmiques i efectes neurotòxics que de fet, no es donen en humans bevedors.

Una vegada més, trobem a faltar estudis en els quals els animals consumeixin voluntàriament, i de manera crònica, dosis tòxiques d'alcohol com a resultat d'un increment progressiu de la tolerància als efectes de l'alcohol. D'aquesta manera podríem valorar l'efecte que té l'alcohol, consumit de manera crònica, en el feix septohipocàmpic, quines adaptacions ha patit aquesta via i com és veuen reflectides en processos com l'aprenentatge i la memòria. De fet, com ja hem comentat al capítol 5, el perfil farmacodinàmic resultant del consum crònic d'alcohol és l'oposat al que descriuen la majoria d'estudis que es basen en l'administració aguda. Quan el consum és crònic, els receptors GABAèrgics es regulen a la baixa, per la qual cosa perdria importància la seva acció inhibidòria, mentre que els receptors NMDA es regulen a l'alça i, per tant, no es dificultaria la inducció de la LTP. Una altra adaptació clau en aquest circuit colinèrgic és la que pateixen els receptors nicotínics neuronals (nAChR), abundants tant al *septum* medial com a l'hipocamp. Ja hem comentat que, quan l'alcohol és administrat de manera crònica, aquests receptors pateixen una regulació a l'alça que, a més, sembla irreversible. L'activitat d'aquests

receptors juga un paper clau en la generació del ritme *theta*, ja que la innervació colinèrgica del *septum* medial és l'aferència més important quant a la regulació d'aquest ritme a l'hipocamp. De fet, agonistes colinèrgics, com la nicotina, incrementen la freqüència del ritme *theta* hipocampal (Yamamoto, 1998). Per aquest motiu, si tenim en compte que l'alcohol és un modulador positiu dels nAChR i que, en el cas que hi hagi un consum crònic d'alcohol, hi ha una població supernumerària de receptors nAChR, la neurotransmissió colinèrgica és podria veure potenciada per l'efecte de l'alcohol. Aquest efecte de l'alcohol quedaria reflectit, per exemple, en un augment del ritme *theta* hipocampal. Actualment, disposem d'una dada obtinguda en un estudi que recolza aquesta hipòtesi. Hernández (1997) va portat a terme un estudi en humans, consumidors habituals de dosis altes d'alcohol, i va veure que aquests subjectes, quan consumien alcohol, presentaven un increment dosi-dependent del ritme *theta* hipocampal que no es donava en el subjectes control. Aquestes dades són congruents amb dades epidemiològiques, segons les quals, l'alcohol a dosis baixes o moderades pot tenir cert efecte nootròpic o, fins i tot, un paper protector enfront certes malalties neurodegeneratives com és el cas de la demència senil i l'Alzheimer (Orgogozo *et al.*, 1997).

Sovint quan parlem d'alcoholisme o d'abús de l'alcohol es comparen patrons de consum i estils de vida molt diferents, i probablement, per això s'obtenen dades amb una gran variabilitat quant als efectes perjudicials de l'alcohol i el grau de degeneració que pateixen aquestes persones. Factors com el patró de consum d'alcohol, el consum concurrent d'altres drogues o no, el tipus d'alcohol consumit, el nombre de desintoxicacions, la dieta, el nivell socioeconòmic o l'educació són alguns dels factors que intervenen en aquest sentit (Kokavec i Crowe, 1999) i que d'alguna manera fan que la incidència de l'alcohol en l'organisme no sigui la mateixa i que fins i tot aquest pugui implicar un ventall molt ampli d'efectes, des de la toxicitat fins a efectes beneficiosos i neuroprotectors.

7. EFECTES DE L'ALCOHOL EN L'APRENTATGE

7. EFECTES DE L'ALCOHOL EN L'APRENTATGE

L'efecte de l'alcohol sobre el comportament ha estat objecte d'un gran nombre de recerques, però en pocs estudis l'alcohol ha estat administrat, als subjectes experimentals, de manera voluntària i crònica i, per tant, han reproduït el consum que es dona en els humans alcohòlics. En la majoria d'estudis l'administració d'alcohol és forçada, no es tenen en compte fenòmens com la tolerància, que es va desenvolupant progressivament, ni l'augment voluntari i esgraonat de les dosis consumides. Aquest fet s'evidencia en els resultats obtinguts, ja que hi ha una gran controvèrsia, entre uns estudis i uns altres, quant als efectes beneficiosos o perjudicials que té l'alcohol en processos cognitius com l'aprenentatge i la memòria.

7.1. Efectes de la intoxicació d'alcohol en l'aprenentatge

Els estudis fets amb l'administració forçada de dosis agudes d'alcohol mostren un efecte disruptor de l'aprenentatge en diferents paradigmes com el *win-shift foraging* (Melchior *et al.*, 1993), en el laberint d'aigua de Morris (Markwiese *et al.*, 1998), en el laberint radial (Devenport i Merriman, 1983; Gibson, 1985; Hoffmann i Matthews, 2001), en una tasca d'aparellament del lloc amb demora (*delayed alternation*) (Givens, 1995) i en procediments operants de detecció de senyals (Givens i McMahon, 1997). En tots aquests estudis, els animals no han desenvolupat tolerància a l'alcohol, per aquest motiu, en funció de la dosi administrada, es poden evidenciar, d'una banda, els efectes gratificants de l'alcohol, en paradigmes com el condicionament de la preferència pel lloc (CPP) quan la dosi administrada és baixa, i de l'altra, els efectes ansiolítics i depressors motrius quan la dosi és moderada o alta. Aquest efecte depressor motriu de l'alcohol pot esbiaixar els resultats obtinguts ja que l'animal pot haver après però mostrar problemes a l'hora d'executar la resposta.

Quant als estudis realitzats mitjançant l'administració crònica d'alcohol, també s'ha observat un efecte disruptor d'aquesta substància en processos d'aprenentatge sota diferents paradigmes com el condicionament operant amb gàbia de Skinner (Iso i Sakaki, 1980), el condicionament d'evitació activa i passiva (Markel *et al.*, 1986; File i Mabbutt, 1990; Celik *et al.*, 2005; Farr *et al.*, 2005), en l'evitació tipus Sidman (Spirduso *et al.*, 1987), en el laberint d'aigua de Morris (Tomlinson *et al.*, 1998; Sircar i Sircar, 2005), en el laberint radial (Arendt *et al.*, 1989), a més de dificultats en l'habilitat per a modificar una resposta o estratègia prèviament apresada (Beracochea *et al.*, 1987; Santín *et al.*, 2000). No obstant això, també hi ha estudis que no han trobat aquest efecte disruptor (Blokland *et al.*, 1993; Steigerwald i Miller, 1997; Fadda *et al.*, 1999; Lukoyanov *et al.*, 1999, 2000) o inclús facilitació de la memòria (Mikolajczak *et al.*, 2001) i facilitació de l'adquisició de la resposta a la palanca (Tomie *et al.*, 1998). En aquests estudis, els animals poden mostrar certa tolerància als efectes depressors de l'alcohol però haver-los condicionat aversivament a causa d'un procediment d'administració de l'alcohol molt estressant, de manera que no es manifesti el perfil gratificant que té l'alcohol perquè resulta emmascarat pel procediment d'administració forçada.

Pel que fa als estudis sobre l'efecte de l'abstinència en aquests animals que consumeixen alcohol de manera forçada, diferents estudis mostren un efecte disruptor de l'abstinència en l'aprenentatge sota diferents paradigmes com l'evitació activa (Walker i Freund, 1971; Casamenti *et al.*, 1993; Melis *et al.*, 1996), en programes d'aprenentatge que reforcen taxes baixes de resposta (Denoble i Begleiter, 1979), en el laberint Hebb-Williams (Bond i Di Giusto, 1976) i en el laberint d'aigua de Morris (Lukoyanov *et al.*, 1999).

7.2. Efectes del consum voluntari d'alcohol en l'aprenentatge

Com ja s'ha comentat en el capítol 3, l'efecte de l'alcohol és significativament diferent depenent de com s'administra, de manera forçada o voluntària, i de si es tracta d'un consum agut o crònic. Per tal de replicar de la manera més vàlida possible el consum d'alcohol en humans, és imprescindible aconseguir un consum voluntari que es vagi incrementant progressivament, per tal que es produeixin nivells d'alcohol en sang amb una corba semblant a la que es dona en humans. Malgrat que els models d'ingesta forçada d'alcohol permeten aconseguir nivells tòxics d'alcohol en sang, no són eficaços a l'hora de modelar el procés i els canvis adaptatius progressius que es donen en l'addicció alcohòlica i que, per exemple, es veuerien reflectits en la capacitat d'aprenentatge de l'animal. Per tal d'estudiar pròpiament els efectes del consum d'alcohol en processos, com l'aprenentatge i la memòria, és necessari replicar les adaptacions progressives que pateix l'organisme davant de l'alcohol ja que, per exemple, és important poder diferenciar entre l'efecte que té l'alcohol en la capacitat de l'animal per a fer una associació d'estímuls, i que dona lloc a l'aprenentatge, del que seria l'execució de la resposta apresada, que en cas de falta de tolerància als efectes depressors motrius, es pot veure afectada sense que això signifiqui que l'animal no ha après. És indiscutible que només es pot valorar la capacitat per a aprendre de l'animal quan es tracta d'un consumidor, voluntari i crònic, de dosis tòxiques d'alcohol, que mostra tolerància als efectes depressors motrius, entre d'altres efectes, i que ha tingut temps de desenvolupar les adaptacions que es produeixen, en els circuits neurals implicats en l'aprenentatge i la memòria, i que el fan diferent de l'animal no alcohòlic.

En els treballs que tot seguit es descriuen, el procés d'aprenentatge és independent de l'accés a l'alcohol, és a dir, aquest no actua com a reforçador, i simplement s'ha volgut estudiar els processos d'aprenentatge en animals consumidors, crònics i voluntaris, d'alcohol.

7.2.1. Efectes del consum voluntari d'alcohol en l'aprenentatge excitatori

Si entenem l'addicció com un procés gradual semblant al que es dona en l'aprenentatge, és d'esperar que en animals alcohòlics aquests processos estiguin afectats. Per aquest motiu, es va iniciar una línia de recerca encaminada a estudiar els processos d'aprenentatge en animals consumidors, voluntaris i crònics, de dosis tòxiques d'alcohol sota diferents paradigmes.

D'una banda, es va estudiar l'adquisició de la resposta a la palanca i es va veure que l'alcohol facilitava l'adquisició d'aquesta resposta (Pallarés *et al.*, 1992) mentre que dificultava la capacitat de l'animal per a inhibir una resposta apresada prèviament (Pallarés *et al.*, 1992; Pallarés *et al.*, 2001). L'efecte facilitador que sembla tenir l'alcohol sobre l'aprenentatge de la resposta a la palanca, també es va observar mitjançant un programa de reforçament d'interval fix. En aquest estudi, els animals alcohòlics feren un menor nombre de respostes no reforçades i mostraren una discriminació més afinada del pas del temps respecte dels animals control (Robles, 2003). Posteriorment, per a descartar efectes en la motivació, es va estudiar l'efecte de l'alcohol en l'aprenentatge sota el paradigma d'evitació activa, que no requereix de la privació de menjar. Els resultats obtinguts també mostraren un efecte facilitador de l'alcohol en l'adquisició de l'evitació activa (Pallarés *et al.*, 1997).

Per tal de descartar efectes immediats de l'alcohol, es va fer un estudi de l'efecte demorat d'aquesta substància de manera que els animals realitzaren les proves d'aprenentatge sis hores després d'haver consumit alcohol. En aquest cas, les diferències en l'aprenentatge, entre els animals alcohòlics i els controls, es mantingueren ja que l'alcohol també va facilitar l'aprenentatge d'associacions simples d'estímul, mesurat mitjançant l'aprenentatge de la resposta a la palanca (Pallarés *et al.*, 2001).

Per tant, veiem que les dades obtingudes en els estudis en animals consumidors voluntaris de dosis tòxiques d'alcohol difereixen notablement de les obtingudes en els procediments d'administració forçada. En els estudis amb un consum voluntari, els subjectes alcohòlics difereixen dels controls en diversos

processos d'aprenentatge simple, mostrant un efecte facilitador de l'alcohol en l'aprenentatge.

Aquestes dades donaren lloc a una sèrie de treballs destinats a valorar l'acció de l'alcohol en l'estat funcional del feix septohipocàmpic, ja que es tracta d'un circuit clarament implicat en processos plàstics i irreversibles com l'aprenentatge i la potenciació a llarg termini, que es dona a l'hipocamp i, a més, és el principal circuit responsable de la inhibició conductual (vegeu capítol 6). Concretament, es va estudiar la funció colinèrgica de tipus nicotínic en aquest circuit, atesa la rellevància que té en els processos d'aprenentatge.

Per tal de verificar la importància del feix septohipocàmpic és necessari demostrar que l'alcohol afecta de manera selectiva a aquest circuit i alguna conseqüència d'aquesta acció en el control de la conducta. Per aquest motiu es varen portar a terme una sèrie d'experiments en els quals es varen observar diferències significatives en la reactivitat a la nicotina –agonista dels receptors nicotínics–, injectada al *septum* medial i a l'hipocamp, entre els subjectes alcohòlics i els control, que va afectar la seva capacitat per a realitzar aprenentatges excitatòris de diferents tipus. García-Rebollo i col·laboradors (2005), administraren nicotina intrahipocampal (CA1) a rates alcohòliques APP i observaren un clar efecte disruptor en l'aprenentatge de la resposta a la palanca mentre que la mateixa dosi no va tenir cap efecte en els subjectes control. L'efecte de la nicotina era dosi-dependent i va revertir quan es va coadministrar mecamilamina –antagonista nicotínic no competitiu–. Aquest antagonisme va ser total en els subjectes control però parcial en els subjectes alcohòlics. Balcells (2002) va administrar nicotina al *septum* medial i va obtenir el mateix efecte disruptor en l'aprenentatge de la resposta a la palanca en el grup alcohol, mentre que en el grup control la va facilitar. Paral·lelament, es va portar a terme un altre experiment adreçat a valorar els efectes de la nicotina en aprenentatges complexos, mitjançant el laberint de Rabinovich i Rosvold, en subjectes APP. Novament existí una asimetria quant als efectes de la nicotina intrahipocampal entre alcohòlics i controls, ja que la nicotina millorava l'execució en alcohòlics mentre que en controls l'empitjorava (Ribas, 2002).

Tots els resultats obtinguts són congruents amb una sensibilització funcional dels receptors nicotínics, en el CA1 de l'hipocamp i en el *septum* medial, dels animals alcohòlics, ja que mostren una major reactivitat a la nicotina, mesurada en processos d'aprenentatge excitatori simples i complexos, en comparació amb els animals control. Aquesta sensibilització hauria estat produïda pel consum, voluntari i crònic, de dosis tòxiques d'alcohol. Sabem que quan els nAChR són sotmesos de manera crònica a un agonista, com és la nicotina, o a un modulador positiu, com és l'alcohol, aquest es regula a l'alça (Yoshida *et al.*, 1982). Aquesta adaptació dels nAChR en el feix septohipocàmpic, que d'altra banda com ja hem comentat sembla irreversible, explicaria la sensibilització funcional que observem en els animals alcohòlics davant els control i que s'evidencia en les diferències observades quant a la reactivitat a la nicotina administrada. En els animals alcohòlics, la nicotina resulta ser disruptora en els processos d'aprenentatge simple mentre que no va tenir cap efecte o, fins i tot, va millorar l'aprenentatge en els controls. En canvi, la seva acció en aprenentatges complexos, per exemple en la resolució de laberints complexos, sembla que és facilitadora en el cas dels animals alcohòlics i disruptora en els controls.

En un estudi fet en humans consumidors habituals d'alcohol (Hernández, 1997) es varen obtenir resultats congruents amb les dades obtingudes en rates, i es va observar un increment dosi-dependent del ritme *theta* hipocampal en aquests subjectes mentre que no es donava en els subjectes controls. Aquesta dada és congruent amb la sensibilització funcional del feix septohipocàmpic obtinguda en els estudis en animals.

7.2.2. Efectes del consum voluntari d'alcohol en l'aprenentatge inhibitori

L'alcohol és una droga que, a dosis baixes o quan ja s'ha desenvolupat tolerància als efectes depressors, provoca desinhibició conductual. Per aquest motiu creiem que l'alcohol també pot estar afectant la capacitat de l'individu per a inhibir un comportament de manera que empitjoraria la seva capacitat per a aturar una conducta. En realitat, aquest fet, es faria patent en la manca de control que presenten els alcohòlics alhora de deixar de beure. Pel que fa a l'efecte de l'alcohol en l'aprenentatge inhibitori, avui dia existeixen molts pocs estudis, i la majoria es basen en el paradigma d'administració forçada d'alcohol. Les dades obtingudes per Pallarés i col·laboradors (1992), en rates consumidores voluntàries i cròniques de dosis tòxiques d'alcohol, mostren que aquesta substància dificulta específicament la capacitat d'inhibir una resposta prèviament reforçada, quan la situació és senyalitzada per un estímul exteroceptiu. Atesa la dificultat que presenten els addictes per a deixar de beure i l'acció que sembla tenir l'alcohol en la funció colinèrgica de tipus nicotínic del feix septohipocàmpic, principal circuit relacionat amb la inhibició conductual, creiem que seria rellevant estudiar la capacitat d'aprenentatge inhibitori d'aquests animals alcohòlics, i valorar l'efecte de la nicotina injectada al *septum* medial. L'objectiu seria obtenir dades que ens permetessin conèixer els canvis que subjauen al consum crònic d'alcohol, i l'estat en què es troben aquests circuits neurals, i que explicarien la dificultat que tenen els alcohòlics per a deixar de beure i la seva manca de control davant la beguda.

Veiem que existeix una manca de simetria, entre els resultats obtinguts en estudis fets amb administració forçada d'alcohol i els obtinguts mitjançant el paradigma d'administració voluntària i crònica, quant a l'efecte de l'alcohol en l'aprenentatge. El consum voluntari d'alcohol en rates millora processos d'aprenentatge simple, independentment que es tracti d'aprenentatge apetitiu o aversiu, mentre que deteriora la capacitat d'inhibir respostes prèviament apreses. Per tant, les dades obtingudes fins ara amb subjectes tolerants i depenents de l'alcohol,

mostren que aquests animals difereixen notablement dels controls quant a processos d'aprenentatge, tant excitatoris com inhibitoris. A més, les dades obtingudes en estudis moleculars sobre el receptor nicotínic indiquen que aquestes diferències són de tipus permanent.

7.3. Efectes de l'abstinència d'alcohol en l'aprenentatge excitatori i inhibitori

Quant a l'efecte que té l'abstinència d'alcohol, en animals depenents, en els processos d'aprenentatge, tant excitatori com inhibitori, no hem trobat estudis efectuats. Tal vegada, el que més s'hi assembla són els treballs en què s'estudia la percaça de l'animal per la droga (vegeu capítol 3). No obstant això, en aquest cas no es valora com afecta l'abstinència la capacitat d'aprenentatge, sinó simplement la insistència de l'animal per tornar a tenir accés a la substància addictiva.

Creiem que seria molt important i necessari disposar de dades sobre quin grau d'alteració presenten els processos d'aprenentatge i els substrats neurals subjacents, en els animals alcohòlics que han deixat de beure, ja que ens permetria entendre una mica més els canvis que s'han produït, i que perduren en el temps malgrat perllongats períodes d'abstinència. Al capdavant, aquest és el veritable estat crític per a l'addicte i és el moment en què han d'incidir les teràpies farmacològiques i psicològiques.

PART EXPERIMENTAL

1. PLANTEJAMENT GENERAL

L'alcoholisme és el resultat d'un procés gradual en el que les persones canvien paulatinament el seu patró de consum, incrementant progressivament la dosi d'alcohol ingerida. El que inicialment és un procés reversible, la persona controla el seu consum i aquest es pot adaptar a les circumstàncies, s'acaba convertint en irreversible. Malauradament, desconeixem quan, com i perquè es produeix aquest punt de ruptura entre un consum moderat i controlat i el consum abusiu amb pèrdua del control sobre la conducta d'ingesta. D'altra banda, és important destacar que, malgrat les diferències individuals quant a la susceptibilitat a l'alcoholisme, en realitat tots tenim el potencial per poder, en un moment u altre, desenvolupar l'addicció a l'alcohol en cas de consumir-ne dosis farmacològicament significatives de manera continuada.

El coneixement que tenim avui dia sobre els efectes de l'alcohol en el SNC i les adaptacions que provoca són encara força limitats. Malgrat coneixem en part els canvis moleculars que subjauen a fenòmens com la tolerància i la dependència encara desconeixem el mecanisme responsable de l'addicció. La majoria d'estudis han centrat la seva atenció en sistemes de neurotransmissió com són el GABAèrgic, el glutamatèrgic, el dopaminèrgic i el serotoninèrgic, que experimenten adaptacions que o bé són reversibles, o es compensen i neutralitzen després d'un període d'abstinència més o menys llarg i que, per tant, no permeten explicar l'addicció. Creiem que l'adaptació crítica que dóna lloc a l'addicció ha de ser de caire irreversible, doncs permetria explicar perquè, fins i tot després d'anys d'abstinència, l'alcohòlic segueix tenint dificultats per controlar el consum d'alcohol i el perquè un mínim consum accidental, per exemple consumint algun tipus de salsa que porti alcohol o alguna beguda suposadament "sense alcohol", pot desencadenar una nova recaiguda.

Dades obtingudes prèviament en estudis fets en animals consumidors voluntaris de dosis tòxiques d'alcohol mostraren diferències significatives, respecte als controls, en diversos processos d'aprenentatge tant excitatori com inhibitori. Aquestes dades conductuals junt amb altres obtingudes a nivell molecular, donaren lloc a una sèrie de treballs destinats a valorar l'efecte de l'alcohol, quan és consumit de manera crònica, en l'estat funcional de circuits relacionats amb l'aprenentatge, la memòria i la inhibició conductual. En aquest sentit, el feix septohipocàmpic sembla ser un bon candidat doncs, per una banda, és un circuit clarament implicat en processos plàstics com l'aprenentatge i la potenciació a llarg plaç que es dona a l'hipocamp, i per l'altra, perquè és el principal circuit responsable de la inhibició conductual. Per tal de verificar la importància d'aquest feix i el seu estat funcional en els animals alcohòlics es varen portar a terme una sèrie d'estudis en els que es valorava la reactivitat a la nicotina (agonista dels receptors nicotínics), dels animals alcohòlics envers als controls, quant a la seva capacitat per realitzar un aprenentatge excitatori simple. En aquest sentit es varen portar a terme dos estudis en els que la nicotina va ser injectada, intra-cerebralment, al *septum* medial i a l'hipocamp (CA1). Les dades obtingudes en aquests estudis són congruents amb una sensibilització funcional dels receptors nicotínics dels animals alcohòlics, doncs mostren una major reactivitat a la nicotina, mesurada en l'afectació dosi-dependent de processos d'aprenentatge excitatori simple, en comparació als animals controls. Aquesta sensibilització seria conseqüència del consum crònic i voluntari de dosis tòxiques d'alcohol i, la seva base molecular, produiria la regulació paradoxal a l'alça del receptor nicotínic.

En estudis realitzats mitjançant tècniques de *binding* usant nicotina tritiada hem pogut observar com rates consumidores voluntàries de dosis cròniques d'alcohol mostren a l'hipocamp, al cap de 100 dies de consum, una densitat superior (gairebé el doble) de receptors nicotínics que els subjectes controls. En un estudi posterior, en el que es marcaren aquests receptors hipocampals amb nicotina i metilicacnitina, s'observà que els receptors $\alpha 7$ no augmentaven la seva densitat però si la seva afinitat i es replicà la regulació a l'alça dels $\alpha 4\beta 2$. Els receptors nicotínics han sigut poc estudiats en aquest sentit però dades provinents de diferents estudis, tant en

animals com en humans, ens han fet pensar que poden jugar un paper important en l'addicció a l'alcohol. D'una banda, sabem que l'alcohol modula positivament la funció colinèrgica de tipus nicotínic i de l'altra que, paradoxalment, enfront la presència continuada d'un agonista com és la nicotina o l'alcohol, aquest s'adapta regulant-se a l'alça essent, probablement, una adaptació de caire irreversible.

No obstant, encara desconeixem si els processos d'aprenentatge, i els substrats neurals subjacents, es troben alterats en aquests animals alcohòlics durant l'abstinència. Donada la manca de dades en aquest sentit, en aquesta tesi ens hem plantejat estudiar l'estat funcional de la via colinèrgica de tipus nicotínic del feix septohipocàmpic durant l'abstinència, avaluant l'efecte d'una injecció intraseptal de nicotina en la capacitat de l'animal alcohòlic per aprendre la resposta a la palanca durant l'abstinència d'alcohol. Aquesta dada ens permetria saber quin és l'estat funcional del circuit quan, després de perllongats períodes d'abstinència, l'alcohòlic segueix mostrant dificultats per mantenir-se sobri i permetria conèixer l'estat d'aquests substrats neurals de cara a la recerca de fàrmacs més efectius per tractar l'alcoholisme. En realitat, l'abstinència és el vertader estat crític per l'alcohòlic i és el moment en el que han d'incidir les teràpies farmacològiques i psicològiques.

D'altra banda, com ja hem comentat el feix septohipocàmpic és el principal circuit responsable de la inhibició conductual. Sembla que l'abús d'algunes drogues i, entre elles l'alcohol, provoquen un empitjorament de la capacitat de la que disposen els humans i els animals per aturar o inhibir algunes conductes, i entre elles la pròpia conducta d'autoadministració de la substància tòxica. D'altra banda, sabem que en animals consumidors habituals de dosis altes d'alcohol, aquest provoca un increment generalitzat i dosi-dependent en el patró EEG, del ritme *theta* hipocàmpic. Estudis sobre l'efecte de l'alcohol en l'aprenentatge mostren un empitjorament de la capacitat que té el subjecte per canviar la seva resposta quan canvien les contingències entre els estímuls i la capacitat per inhibir una conducta que prèviament ha sigut reforçada. Aquests resultats podrien ser explicats en termes d'inhibició conductual: els animals intoxicats tindrien major dificultat en aprendre la nova resposta ja que no podrien inhibir la resposta apresada prèviament, i aquesta

interferiria en la nova adquisició. Donada la dificultat que manifesten els addictes per deixar de beure i l'acció que sembla tenir l'alcohol en la funció colinèrgica de tipus nicotínic del feix septohipocàmpic, creiem que també seria interessant i necessari estudiar la capacitat d'aprenentatge inhibitori d'aquests animals alcohòlics per tal de conèixer l'estat funcional i la implicació d'aquest circuit en el control de la conducta. Amb aquest objectiu, ens hem plantejat avaluar l'efecte d'una injecció intraseptal de nicotina en la capacitat de l'animal alcohòlic per inhibir una conducta mitjançant diferents programes de discriminació, la prova de dos estímuls de Pavlov i una prova d'extinció, durant l'estat d'intoxicació i d'abstinència. Aquestes dades aportarien una mica més de coneixement sobre la dificultat que manifesten els addictes per deixar de beure i la manca de control que mostren enfront a la beguda i als estímuls o situacions condicionades amb el consum d'alcohol.

2. EXPERIMENT I: Valoració dels efectes de l'abstinència alcohòlica i de la nicotina intraseptal en l'aprenentatge associatiu simple, mitjançant el procediment del *Free Shaping*

2.1. Objectius i hipòtesis

Els objectius de l'Experiment I són els següents:

1) Obtenir subgrups d'animals, abstinentes i no-abstinentes, comparables quant al seu nivell de consum, d'alcohol i de la dissolució de glucosa, i quant al seu pes corporal i nivell de privació, el dia de la prova conductual (*Free Shaping*).

2) Replicar la sensibilització funcional de la transmissió colinèrgica de tipus nicotínic del feix septohipocàmpic, mitjançant l'administració intraseptal de nicotina, en animals consumidors crònics i voluntaris de dosis tòxiques d'alcohol, en l'aprenentatge de la resposta a la palanca.

3) Valorar l'estat funcional de la transmissió colinèrgica de tipus nicotínic en estat d'abstinència, en animals alcohòlics i animals consumidors d'una dissolució de glucosa, mitjançant l'administració intraseptal de nicotina, en l'aprenentatge de la resposta a la palanca.

Les hipòtesis experimentals plantejades en l'Experiment I són:

I. L'abstinència d'alcohol disminuirà la velocitat d'aprenentatge en relació amb els subjectes No-Abstinentes (grups injectats amb Salí).

II. En subjectes alcohòlics No-Abstinentes, la nicotina disminuirà la velocitat d'adquisició de la resposta a la palanca en forma dosi-dependent, essent l'efecte màxim a la dosi de 10nM.

III. En alcohòlics Abstinentes, la nicotina disminuirà la velocitat d'aprenentatge, essent l'efecte màxim a la dosi de 20nM.

IV. L'abstinència de glucosa no afectarà o incrementarà la velocitat d'aprenentatge en relació amb els subjectes No-Abstinentes (grups injectats amb Salí).

V. En subjectes controls glucosa No-Abstinentes, la nicotina disminuirà la velocitat d'adquisició de la resposta a la palanca en forma dosi/depenent, essent l'efecte màxim a la dosi de 20nM

VI. En controls Abstinentes de glucosa, la nicotina disminuirà la velocitat d'aprenentatge, essent l'efecte màxim a la dosi de 20nM.

VII. L'efecte màxim de la nicotina en l'adquisició de la resposta serà major en els grups alcohòlics, independentment de la Condició.

2.2. Metodologia

2.2.1. Subjectes

Per a la realització d'aquest experiment es varen utilitzar 189 rates mascle, de la soca Wistar, de 21 dies d'edat procedents de l'estabulari del Laboratori de Psicobiologia de la Universitat Autònoma de Barcelona. Els animals varen ser estabulats en gàbies col·lectives d'un màxim de 3 ó 4 subjectes fins als 60 dies d'edat, moment en que eren individualitzats.

Les condicions ambientals com són la temperatura i la humitat relativa foren controlades mantenint-les a $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ i a 50-70%, respectivament. El cicle de llum-fosc seguia un ritme circadià de 12 hores amb aquest ordre, respectivament: de 8:00 a.m. a 20:00 p.m.

2.2.2. Aparells

Els subjectes experimentals foren sotmesos a una cirurgia intracerebral per tal d'implantar una cànula guia (Model C315G/5,5mm de 26 *gauges*; Plastics One; Virginia, E.E.U.U.) al *septum* medial mitjançant un aparell d'esterotàxia angular (Stoelting, E.E.U.U.). Excepte en el moment de la injecció, els animals portaven sempre col·locat un tap sobre la cànula (*dummy cannula*) per tal d'evitar que aquesta s'obturés (Model C315DC/5,5mm de 32 *gauges*; Plastics One; Virginia, E.E.U.U.) (vegeu Figura 5).

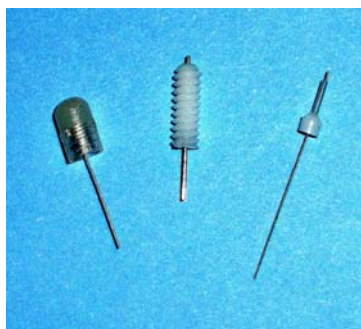


Figura 5. Cànules utilitzades.
D'esquerra a dreta: *dummy cannula*, cànula guia i cànula d'injecció.

Per a les injeccions *intra-cerebrals* es va utilitzar una bomba d'injecció (Plastics One; Virginia, E.E.U.U.) on es situava una xeringa de precisió Hamilton de 10 µl (Hamilton Bonaduz A.G., Switzerland) que anava connectada mitjançant un tub de polietilè (Model C313CT PE50 Heavy Wall; Plastics One; Virginia, E.E.U.U.) a la cànula d'injecció (Model C315I/8mm de 33 *gauges*; Plastics One; Virginia, E.E.U.U.).

Per la prova d'aprenentatge es varen utilitzar vuit gàbies de condicionament operant (Med Associates Inc.; St. Albans, E.E.U.U.) situades a l'interior d'un cubicle per tal d'atenuar el soroll ambiental. Les gàbies disposen d'un pannel on s'hi troben una palanca retràctil de 5 cm d'amplada, centrada a 7,5 cm de la base i amb un contrapès de 6 grams, i una menjadora (situada a l'angle inferior dret) connectada al dispensador que proporciona *pellets* de 0,4 grams (Noyes Precision Pellets; Research Diets, Inc.; New Jersey, E.E.U.U.). Per altra banda, un llum, amb una bombeta de 12W, es troba a 3 cm per sobre de la palanca i a 4 cm de la dreta del pannel. A l'angle superior de la gàbia es va instal·lar un bronzidor connectat a una font d'alimentació de 6v, que es va utilitzar només en el Experiment II. Les gàbies estaven connectades, mitjançant una interfase, a un ordinador que controlava els programes de reforçament i el desenvolupament de les sessions experimentals. De la mateixa manera, les dades generades en les gàbies eren automàticament transferides, via interfase, a l'ordinador on eren processades mitjançant el programa informàtic MED PC (Med Associates Inc.; St. Albans, E.E.U.U.).

Per a l'estudi histològic, els cervells fixats es varen tallar amb un vibratom model 752M (Campden Instruments, U.S.A.).

2.2.3. Fàrmacs

La solució alcohòlica es va preparar amb un 10% v/v d'etanol absolut, 99,5% PS (Panreac, Barcelona) i un 3% p/v de D(+)-Glucosa (Panreac, Barcelona) dissolts en aigua destil·lada.

La solució del grup control es va preparar amb el 3% p/v de D(+)-Glucosa (Panreac, Barcelona) dissolta en aigua destil·lada.

La nicotina (tartrat de (-)-Nicotina; Sigma, Madrid) administrada mitjançant la injecció intraseptal va ser dissolta en sèrum fisiològic (Laboratorios ERN, Barcelona) i administrada en dosis de 10 i 20 nM en 0,5 µlitres. Al grup experimental Salí li fou administrada una injecció equivolumètrica del vehicle.

Els subjectes foren anestesiats amb una injecció intraperitoneal d'un *cocktail* de Ketamina (Ketolar 50 mgr/ml; Parke-Davis, S.L., Madrid) a una dosi de 100 mg/kg i Xilacina (Rompun 2%; Bayer A.G., Germany) a una dosi de 4 mg/kg. Rera la intervenció rebien una única dosi intramuscular d'un antibiòtic d'ampli espectre (Baytril 2,5%; Bayer A.G., Germany, dosi de 5 mg/kg) amb la finalitat de prevenir possibles infeccions.

Per a sacrificar els animals es va utilitzar pentobarbital sòdic (Dolethal; Vetoquinol, Madrid) a una dosi de 200 mg/kg pes i a una concentració de 60 mg/ml.

2.2.4. Procediment

El procediment experimental portat a terme va ser prèviament supervisat i autoritzat per la Comissió d'Ètica de la Universitat Autònoma de Barcelona i s'ajusta a la normativa aprovada per la Directiva de la Comunitat Europea (86/609/ECC) pel que fa a la cura i a la utilització d'animals de laboratori.

Obtenció dels animals alcohòlics

El procediment experimental seguit en aquest treball per tal d'obtenir animals consumidors crònics de dosis tòxiques d'alcohol és l'anomenat procediment APP (Alcoholisme Primari Precoç) (Garcia-Rebollo *et al.*, 2005; Darbra *et al.*, 2002) que consta de les següents fases:

a) Fase de lliure accés.

Quan els subjectes complien 21 dies d'edat eren deslletats i allotjats en gàbies de 3 ó 4 individus procedents de la mateixa ventrada, assignant-los a l'atzar a un dels dos grups experimentals (grup Alcohol: n=89; grup Control: n=100). Els animals

tenien accés *ad libitum* al menjar i a dues ampolles: una d'aigua i l'altra, en funció del grup experimental al que foren assignats, era o bé la solució alcohòlica (subjectes alcohòlics) o bé la solució edulcorada (subjectes control).

Les ampolles es netejaven i es renovava el seu contingut dues vegades per setmana (dilluns i divendres). A més a més, es canviava la posició de les ampolles per tal d'evitar un consum determinat per hàbits de col·locació. Aquesta fase tenia una durada de 3 setmanes.

b) Fase d'accés restringit: 5 dies per setmana.

A partir de la quarta setmana d'accés *ad libitum* al menjar i a les dues ampolles es mantingueren les mateixes condicions excepte el cap de setmana, durant el qual les dissolucions eren retirades i substituïdes per una altra ampolla d'aigua. Aquesta fase durava 2 setmanes, moment en el que els subjectes complien 2 mesos d'edat i eren individualitzats.

c) Fase d'accés restringit: 1 hora al dia.

Quan els subjectes complien 2 mesos d'edat eren allotjats en gàbies individuals i sotmesos a un canvi en les condicions d'accés al menjar i a les dissolucions. Ambdós grups experimentals tenien accés a la dissolució durant una hora i al menjar durant tres hores al dia de dilluns a divendres. L'accés al menjar començava amb l'hora d'accés a la dissolució i s'allargava dues hores més una vegada retirada l'ampolla de la dissolució. Normalment l'animal disposava de dues ampolles d'aigua, quan es posava però l'ampolla de la dissolució es retirava una de les ampolles d'aigua, tornant-se a col·locar immediatament una vegada finalitzada l'hora de consum; d'aquesta manera el subjectes sempre tenien accés a dues ampolles. Els caps de setmana els subjectes tornaven a tenir accés *ad libitum* al menjar i a les dues ampolles d'aigua.

La quantitat de dissolució consumida era mesurada cada dia després de l'hora d'accés. Per altra banda els subjectes eren pesats el dilluns i el divendres de cada setmana. Aquesta fase tenia una duració de 3 setmanes (setmana 1 fins a la setmana 3, vegeu Annex I).

d) Fase de privació de menjar i reducció de pes.

Quan els subjectes tenien 81 dies d'edat, 10 dies abans de la prova d'aprenentatge (setmana 4), l'accés a les dissolucions es mantenia de la mateixa manera però es restringia l'accés al menjar de forma gradual fins que els subjectes arribaven al 80% del seu pes *ad libitum* amb la finalitat d'utilitzar el menjar com a reforçador en l'execució de la prova d'aprenentatge. Aquesta restricció gradual consistia en donar 5 grams diaris (de dilluns a diumenge) de menjar a cada animal fins que arribava al 80% del seu pes *ad libitum* moment en el qual es calculava mitjançant la següent fórmula la quantitat de menjar que li corresponia per tal de mantenir aquest pes fins al final de l'experiment:

$$\text{Grams de menjar} = (\text{Pes de privació al 80\%} - \text{Pes actual}) \times 80/100$$

Durant el cap de setmana els animals només tenien accés a les dues ampolles d'aigua.

A partir d'aquesta setmana i fins al final del procediment experimental els animals eren pesats cada dia de dilluns a divendres així com mesurada la quantitat de dissolució consumida.

Cirurgia estereotàxica

Entre els 74 i els 78 dies d'edat (setmana 3) els animals foren sotmesos a la implantació permanent d'una cànula guia al *septum* medial mitjançant cirurgia estereotàxica angular (Coordenades: Anteroposterior=+0,20; Lateral=0; Profunditat=-6) amb un angle de 20° respecte a Bregma i segons l'atlas de Paxinos i Watson (1986) (vegeu Figura 6).

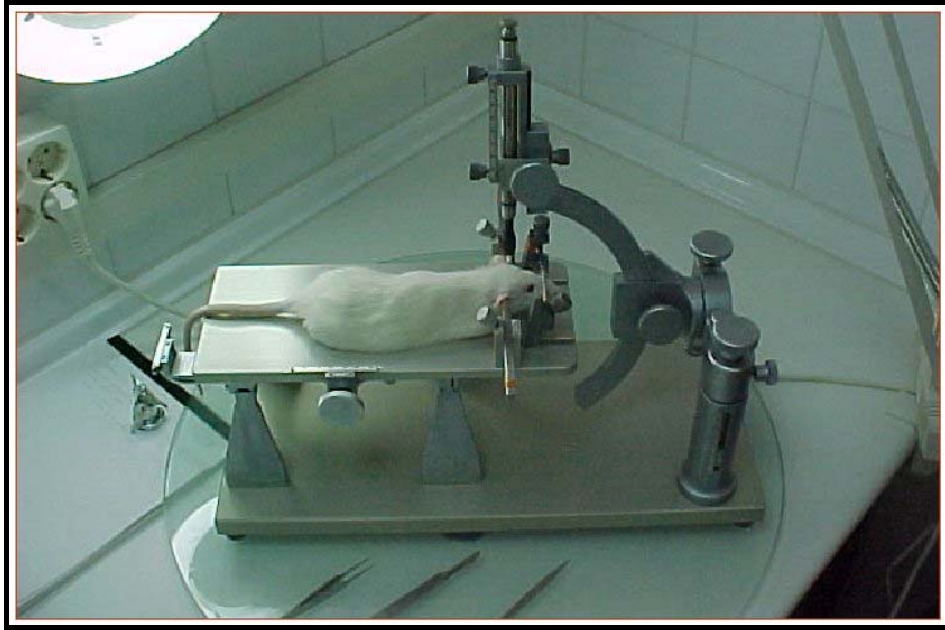


Figura 6. Estereotàxia angular.

Subjecte experimental en el moment d'iniciar-se la cirurgia, té la zona a interessar rasurada i les orelles i els incisius fixats. L'aparell és el que s'utilitza per a intervencions mitjançant coordenades angulars.

Els dies posteriors a la intervenció quirúrgica els animals tenien lliure accés al menjar de manera que disposaven d'un mínim de 3 dies per recuperar-se de la intervenció. Per altra banda tingueren accés a la seva hora diària de consum de la dissolució corresponent com era habitual excepte el dia següent de la intervenció quirúrgica.

Durant els dies posteriors a la intervenció els animals varen ser supervisats i controlats mitjançant un protocol de seguiment postoperatòri, fins a la seva total recuperació, abans de continuar amb el protocol experimental. Els registres de consum i pes es van continuar realitzant de dilluns a divendres.

Procediment d'abstinència

En iniciar-se la setmana de les proves conductuals (setmana 5), els subjectes varen ser assignats aleatòriament en funció dels factors Condició: abstinent (A) i no-abstinent (NA) i Tractament: nicotina 10 nM, 20 nM o vehicle salí, als diferents grups experimentals. Els subjectes abstinent deixaven de tenir accés a la dissolució alcohòlica o de glucosa des del dia abans de la prova d'aprenentatge i tornaven a beure una vegada havien assolit el criteri d'aprenentatge (vegeu més endavant). Els grups experimentals resultants foren els següents:

	CONDICIÓ	TRACTAMENT
GRUP ALCOHOL n=89	Abstinent (A) n=43	Salí n=17
		Nic10 n=12
	No-Abstinent (NA) n=46	Nic20 n=14
		Salí n=11
		Nic10 n=18
		Nic20 n=17
GRUP CONTROL n=100	Abstinent (A) n=51	Salí n=18
		Nic10 n=17
	No-Abstinent (NA) n=49	Nic20 n=16
		Salí n=16
		Nic10 n=18
		Nic20 n=15

Injecció intraseptal

Durant els dies 88, 89 i 90 d'edat es va portar a terme un protocol d'habitució progressiva a la situació de la injecció, que consistia en exposar l'animal a les mateixes condicions (sorolls de la bomba d'injecció, immobilització del cap, manipulació del tap de cànula...) que el dia de la injecció per tal de disminuir al màxim l'estrès de l'animal i d'aquesta manera facilitar el procés de la injecció.

Als 91 dies d'edat els subjectes varen rebre la injecció intraseptal de nicotina o de salí 10 minuts abans de la prova d'aprenentatge (*Free Shaping*).

El procediment d'infusió va consistir en la introducció de la cànula d'injecció a la cànula guia implantada. En aquest moment es posava en marxa, durant 1 minut, la bomba que, mitjançant la xeringa de precisió Hamilton i a través del tub de polietilè, injectava 0,5 μ l de la substància corresponent. Posteriorment es mantenia la cànula d'injecció 1 minut més introduïda per tal d'evitar un possible reflux (vegeu Figura 7).



Figura 7. Injecció intraseptal de Nicotina.
El subjecte, habituat prèviament a aquesta posició, pot esser subjectat suaument, sense rebel·lar-se

Prova d'aprenentatge: *Free Shaping*

La prova d'aprenentatge es realitzà, com s'ha descrit anteriorment, el dia 91 d'edat 10 minuts després de la injecció intraseptal. Com ja s'ha explicat anteriorment, els animals assignats a la condició Abstinència varen portar a terme la prova d'aprenentatge sense haver tingut accés previament a les dissolucions d'alcohol o glucosa, mentre que els animals de la condició No-Abstinència tingueren accés a la dissolució durant l'hora prèvia a la prova conductual. Pel que fa al menjar,

el animals no hi tingueren accés fins després de la prova per tal de poder utilitzar el menjar com a reforçador.

El programa de condicionament consistia en 1 sessió de *Free Shaping* i, només en cas de que l'animal no assolís el criteri d'aprenentatge, havia de passar, al dia següent, una segona sessió de *Free Shaping* modificada (veure més endavant) però sense injecció prèvia. Aquest programa de condicionament es va portar a terme utilitzant un procediment estandarditzat anteriorment (Ferré i García-Sevilla, 1987; Pallarés *et al.*, 1995).

La primera sessió de *Free Shaping* consistia en que l'animal havia d'aprendre a prémer la palanca de la gàbia d'Skinner per tal d'obtenir un *pellet* de menjar (vegeu Figura 8). En aquesta primera sessió el criteri d'adquisició de l'aprenentatge està fixat en un mínim de 10 respostes en els 50 minuts que, com a màxim, dura la prova. Per altra banda, el programa també pot finalitzar abans d'aquests 50 minuts si el subjecte emet 96 respostes i/o rep 120 *pellets* per tal d'evitar que l'animal es pugui saciar. Les mesures d'aquesta sessió són el temps que transcorre entre que el subjecte emet la primera resposta i arriba al criteri d'aprenentatge (emissió de 10 respostes), així com la taxa a partir de la desena resposta.



Figura 8. Sessió de *Free Shaping* en gàbia de Skinner. Aquesta sessió es realitza amb la caixa d'insonorització totalment tancada, sense cap intervenció de l'experimentador.

Com s'ha dit anteriorment, si el subjecte no arribava a emetre 10 respostes a l'endemà repetia un programa molt semblant, també de 50 minuts de duració, però que en lloc de dispensar automàticament un *pellet* per minut, com ocorria en la primera sessió, ho feia cada dos. Aquesta petita modificació té com a finalitat evitar que l'animal esperi passivament el reforçador. El llum de la gàbia estava encès durant tota la sessió en els dos casos.

Estudi histològic

Al finalitzar les proves conductuals els subjectes eren mantinguts durant 1 setmana més, en concret fins als 99 dies d'edat, per tal de tornar a estabilitzar el consum de les dissolucions (setmana 6). Posteriorment es sacrificava els animals amb una injecció intraperitoneal de pentobarbital sòdic. Minuts abans es repetia la injecció *intracerebral* per injectar 0,5 µl d'una solució de tionina (Sigma, Madrid) amb la finalitat de situar l'abast de la substància injectada i verificar la seva localització al *septum* medial (vegeu Figura 9).

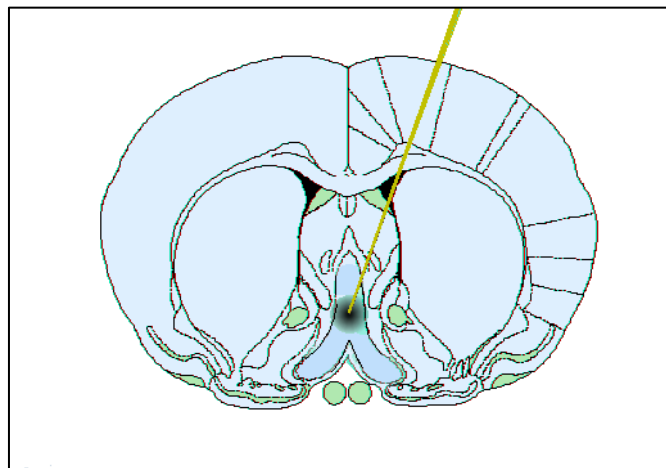


Figura 9. Injecció intraseptal.

Secció coronal del cervell de rata mostrant el *septum* medial i la trajectòria i destí de la cànnula d'injecció, en negre es reproduceix l'abast de la injecció de nicotina.

Immediatament després de l'eutanàsia es procedia a l'extracció del cervell que era introduït en una dissolució de formaldehid al 10% (Formaldehid 37-38% p/p; Panreac, Barcelona) durant un mínim de 2 setmanes per tal de ser fixat. Passat aquest període de temps es procedia a tallar els cervells amb un vibratom en làmines coronals de 100 micres. Posteriorment es va portar a terme un procediment de tinció amb Violeta de Cresil (Sigma, Madrid) per tal de determinar la localització de la cànula guia i la difusió de la gota de tionina.

2.3. Resultats

Es varen eliminar de l'anàlisi de dades aquells subjectes amb la cànula mal implantada (n=39), els animals que el dia del *Free Shaping* tenien un pes de privació per sobre del 80% (n=33) i els que no assoliren el criteri d'aprenentatge, establert en 10 respostes, ni en la primera ni en la segona sessió del *Free Shaping* (n=32), resultant un total de 189 subjectes que varen ser distribuïts a l'atzar en els 12 grups del disseny experimental.

2.3.1. Estudi del pes

L'anàlisi de la variança per a mesures repetides portada a terme no mostra diferències estadísticament significatives en el pes, al llarg de les sis setmanes, entre els subjectes del *GRUPS* (Alcohol i Control glucosa) [$F(1,177)=0,0043$; $p=NS$] ni tampoc quant al factor *CONDICIÓ* (Abstinent o No-Abstinent) [$F(1,177)=0,644$; $p=NS$] ni al *TRACTAMENT* (Salí, Nic10, Nic20) [$F(2,177)=0,185$; $p=NS$]. Tampoc s'observen diferències significatives en les interaccions d'aquests factors.

El pes dels subjectes d'ambdós grups (Alcohol i Control) no difereix entre ells [$F(5,885)=1,621$; $p=NS$] i segueix una *EVOLUCIÓ* significativa al llarg de les 6 setmanes [$F(5,885)=2078,7$; $p\leq 0,0001$], observant-se un increment significatiu del pes des de la setmana 1 fins a la 3 (setmana de la intervenció quirúrgica) ($p\leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls). Posteriorment, s'observa un decrement del pes que coincideix amb l'inici de la privació del menjar (setmana 4) ($p\leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls). A la setmana 5 s'assoleix el percentatge de privació fixat, motiu per el qual també s'observa una disminució significativa del pes dels animals, que és la mateixa per ambdós grups ($p\leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls) (vegeu Figura 10). Els subgrups resultants d'aplicar la *CONDICIÓ* i el *TRACTAMENT* del disseny no mostren evolucions diferents ([$F(5,885)=0,803$; $p=NS$] i [$F(10,885)=1,078$; $p=NS$], respectivament).

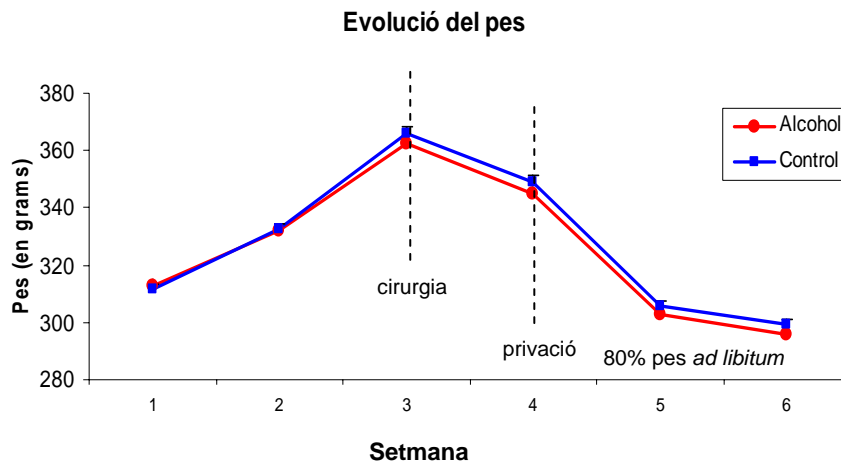


Figura 10. Pes dels subjectes al llarg de les sis setmanes. Evolució significativa ($p \leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls).

Les mitjanes dels pesos al llarg de les sis setmanes, tant pel grup Alcohol com Control glucosa, es mostren a la taula IV.

Taula IV. Pes corporal en grams. Mitjana setmanal \pm Desviació Estandar

	Setmana 1	Setmana 2	Setmana 3	Setmana 4	Setmana 5	Setmana 6
Alcohol n=89	312,57 \pm 21,76	332,07 \pm 22,80	362,39 \pm 25,54	344,77 \pm 25,72	302,57 \pm 23,21	295,80 \pm 20,95
Control n=100	311,64 \pm 19,66	332,56 \pm 20,82	366,19 \pm 22,61	348,96 \pm 23,03	305,68 \pm 20,50	299,45 \pm 18,47

Quant al **percentatge de privació** que presentaven els subjectes alcohols i controls el dia del *Free Shaping*, la mitjana fou del $78,62 \pm 1,09\%$.

L'anàlisi mixta de la variança no va mostrar diferències significatives entre els GRUPS del disseny en el nivell de privació en la setmana de les proves conductuals [$F(1,177)=0,207$; $p=NS$]. Tampoc es trobaren diferències en el factor *CONDICIÓ* [$F(1,177)=2,691$; $p=NS$] ni en el *TRACTAMENT* [$F(2,177)=0,436$; $p=NS$].

2.3.2. Consum d'alcohol

L'anàlisi de la variança per a mesures repetides del consum d'alcohol, mesurat en grams d'alcohol per Kg de pes i hora, mostra una *EVOLUCIÓ* significativa del consum al llarg de les sis setmanes [$F(5,415)=105,97$; $p \leq 0,0001$]. Com es mostra a la taula V, tots els subjectes tingueren un consum tòxic, és a dir, major de 0,3 g/Kg de pes i hora. No es trobaren diferències significatives en el factor *TRACTAMENT* [$F(10,415)=0,988$; $p=NS$].

Taula V. Consum d'alcohol en gr EtOH/Kg. Mitjana setmanal \pm Desviació Estandar.

		Setmana 1	Setmana 2	Setmana 3	Setmana 4	Setmana 5	Setmana 6
Consum alcohol	NA n=46	1,71 \pm 0,58	1,69 \pm 0,46	1,43 \pm 0,35	2,19 \pm 0,54	2,65 \pm 0,68	2,49 \pm 0,72
	A n=43	1,60 \pm 0,54	1,63 \pm 0,51	1,41 \pm 0,46	2,16 \pm 0,49	*	2,76 \pm 0,67

* A la setmana 5 no hi ha còmput setmanal pel subgrup Abstinent degut a que només tenien accés a l'alcohol durant dos dies

Quant a l'*EVOLUCIÓ* del consum, durant les dues primeres setmanes s'observa un consum estable d'alcohol en els dos subgrups (Abstinent i No-Abstinent). A la tercera setmana, s'observa en ambdós subgrups un decrement significatiu del consum respecte a la setmana anterior ($p \leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls), causat per l'intervenció quirúrgica soferta ja que, al dia següent de la cirurgia, l'animal no té accés a l'alcohol i necessita uns dies per recuperar el consum previ a l'intervenció. A la quarta setmana, coincidint amb l'inici de la privació de menjar, s'observa un augment significatiu del consum d'alcohol ($p \leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls) en els dos subgrups (Abstinent i No-Abstinent). A la cinquena setmana entra en joc la *CONDICIÓ* imposada, els animals No-Abstients continuen amb una pauta creixent del consum respecte a la setmana anterior ($p \leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls). Per últim, a la setmana 6, els animals No-Abstinent mostren un consum estable respecte a la setmana anterior, mentre que els Abstients presenten un increment significatiu del consum d'alcohol respecte a l'última setmana en la que havien tingut accés a la dissolució alcohòlica a diari (setmana 4) ($p \leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls) (vegeu Figura 11).

Evolució del consum d'alcohol

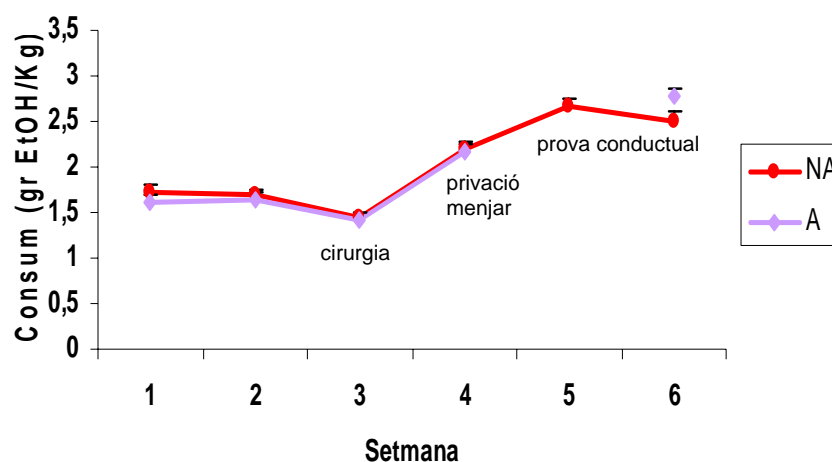


Figura 11. Evolució del consum d'alcohol, en grams d'alcohol/Kg de pes i hora. L'evolució és significativa per ambdós subgrups ($p \leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls).

2.3.3. Consum de la dissolució de glucosa

L'anàlisi de la variança per a mesures repetides del consum de la dissolució de glucosa, mesurada en cl/Kg de pes i hora, també mostra una *EVOLUCIÓ* significativa del consum al llarg de les sis setmanes [$F(5,470)=67,929$; $p\leq 0,0001$]. El consum fou estable al llarg de les dues primeres setmanes en els dos subgrups (Abstinent i No-Abstinent), observant-se un decrement significatiu durant la tercera setmana degut a l'intervenció quirúrgica ($p\leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls). Posteriorment, coincidint amb la privació de menjar (setmana 4) es produeix un increment significatiu del consum en els dos subgrups (Abstinent i No-Abstinent) ($p\leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls). A la cinquena setmana, s'imposa la *CONDICIÓ*, els subjectes No-Abstients el consum mostra un increment significatiu respecte a la setmana anterior ($p\leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls). A l'última setmana s'observa que els subjectes No-Abstients mostren un consum estable respecte a la setmana anterior, mentre que els Abstients mostren un increment significatiu del consum de glucosa respecte a la setmana 4 ($p\leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls) (vegeu Figura 12). No hi ha diferències estadísticament significatives quant al factor *TRACTAMENT* [$F(10,470)=1,278$; $p=NS$].

A la taula VI es mostren les mitjanes del consum de glucosa, en cl de solució per Kg de pes i hora, dels dos subgrups (Abstinent i No-Abstinent).

Taula VI. Consum de glucosa en cl/Kg. Mitjana setmanal \pm Desviació Estandar.

		Setmana 1	Setmana 2	Setmana 3	Setmana 4	Setmana 5	Setmana 6
Consum glucosa	NA n=49	3,81 \pm 0,98	3,80 \pm 0,92	2,39 \pm 0,80	3,99 \pm 0,99	4,83 \pm 1,86	4,61 \pm 1,60
	A n=51	3,77 \pm 0,90	3,72 \pm 0,83	2,51 \pm 0,75	3,93 \pm 1,02	*	4,85 \pm 1,42

* A la setmana 5 no hi ha còmput setmanal pel subgrup Abstinent degut a que només tenien accés a la dissolució durant dos dies.

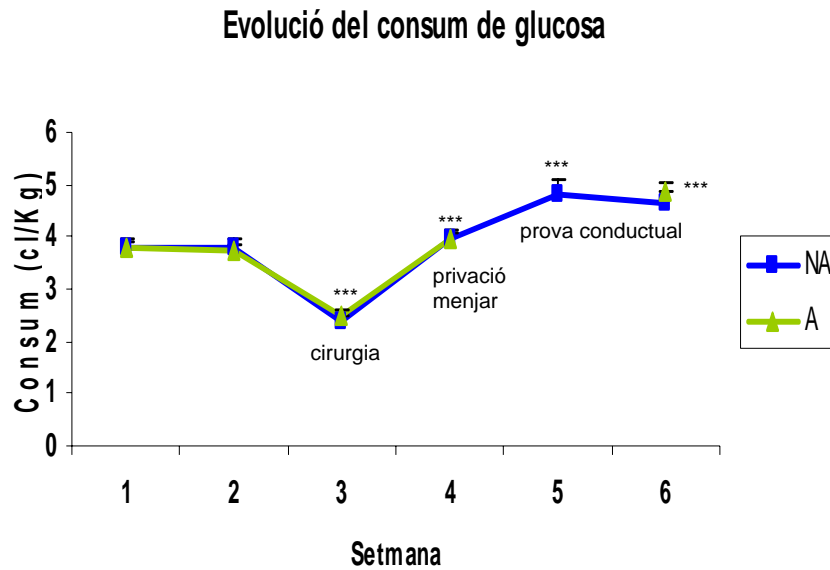


Figura 12. Evolució del consum de la dissolució de glucosa, mesurat en cl de solució/Kg de pes i hora. L'evolució és significativa per ambdós subgrups ($p \leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls).

2.3.4. Prova d'aprenentatge: Free Shaping

Criteri d'aprenentatge de la resposta a la palanca

L'anàlisi de la variança realitzada per a les variables adquisició de la resposta a la palanca i emissió de la primera resposta mostra un efecte significatiu en la interacció dels factors *GRUP* per *TRACTAMENT* [$F(4,352)=3,801$; $p=0,004$]; *CONDICIÓ* per *TRACTAMENT* [$F(4,352)=2,644$; $p=0,033$] i *GRUP* per *CONDICIÓ* per *TRACTAMENT* [$F(4,352)=2,661$; $p=0,032$] (vegeu Figures 13 i 14).

Pel que fa a la interacció *GRUP* per *CONDICIÓ*, quant al temps que tarden els animals en adquirir la resposta a la palanca, si es comparen els grups Alcohol i Control glucosa tractats amb Salí, observem que hi ha diferències estadísticament significatives entre els subjectes alcohòlics Abstinents i els subjectes dels grups Control Abstinents ($p=0,038$, prova de Duncan) i No-Abstinents ($p=0,023$, prova de

Duncan). Les mitjanes de temps que va tardar cada un d'aquests grups en adquirir la resposta a la palanca foren les següents: el grup Alcohol Abstinent injectat amb Salí: $1.452,94 \pm 1.650,81$ segons; el grup Control Abstinent Sali: $603,58 \pm 785,86$ segons i el grup Control No-Abstinent Sali: $525,37 \pm 495,47$ segons.

Quant a la interacció *GRUP* per *CONDICIÓ* per *TRACTAMENT*, segons les anàlisis *post-hoc*, els subjectes alcohòlics No-abstinentes que varen rebre la injecció de Nicotina a una concentració de 10nM trigaren més temps ($2108,81 \pm 326,03$ segons) en adquirir la resposta a la palanca que els subjectes alcohòlics No-Abstinentes que foren injectats amb la concentració de 20nM de Nicotina ($849,35 \pm 218,67$ segons; $p=0,003$, prova de Newman-Keuls), també trigaren més que els injectats amb Salí ($651,27 \pm 319,27$ segons; $p \leq 0,0001$, prova de Newman-Keuls). Pel que fa als animals alcohòlics Abstinentes, s'observen diferències estadísticament significatives entre el subgrup Salí, que va ser el que va tardar més temps en adquirir la resposta a la palanca ($1452,94 \pm 400,38$ segons), i el subgrup que va rebre la injecció de Nicotina 20nM ($611,64 \pm 169,03$ segons) ($p=0,038$, prova de Duncan). El grup alcohol Abstinent Salí també mostra diferències estadísticament significatives amb el grup alcohol No-Abstinent Salí ($651,27 \pm 1058,93$ segons; $p=0,046$, prova de Duncan). D'altra banda, els subjectes alcohòlics Abstinentes que foren injectats amb nicotina 10nM ($778,66 \pm 518,39$ segons) mostren diferències significatives respecte als alcohòlics No-Abstinentes nicotina 10nM ($2108,81 \pm 1383,23$ segons; $p=0,002$, prova de Newman-Keuls).

Pel que fa als subjectes dels grups Control glucosa, només trobem diferències estadísticament significatives en el subgrups No-Abstinent. Els animals d'aquest subgrup injectats amb Nicotina a una dosi de 20nM ($1215,33 \pm 1167,24$ segons) mostren diferències estadísticament significatives respecte als subjectes del mateix subgrup injectats amb Salí ($525,37 \pm 495,47$ segons; $p=0,04$, prova de Fisher) i amb Nicotina 10nM ($473,38 \pm 290,70$ segons; $p=0,03$, prova de Fisher), ja que varen ser el que més temps trigaren en assolir el criteri.

L'efecte màxim de la nicotina també mostra diferències estadísticament significatives ($p=0,02$, prova de Newman-Keuls) en el grup Alcohol i en el grup Control glucosa. En el cas del grup Alcohol, aquest efecte es dona en el subgrup

No-Abstinent injectat amb Nicotina 10nM ($2108,81 \pm 1383,23$ segons) mentre que en el cas del grup Control es dóna en el subgrup No-Abstinent injectat amb Nicotina 20nM ($1215,33 \pm 1167,24$ segons).

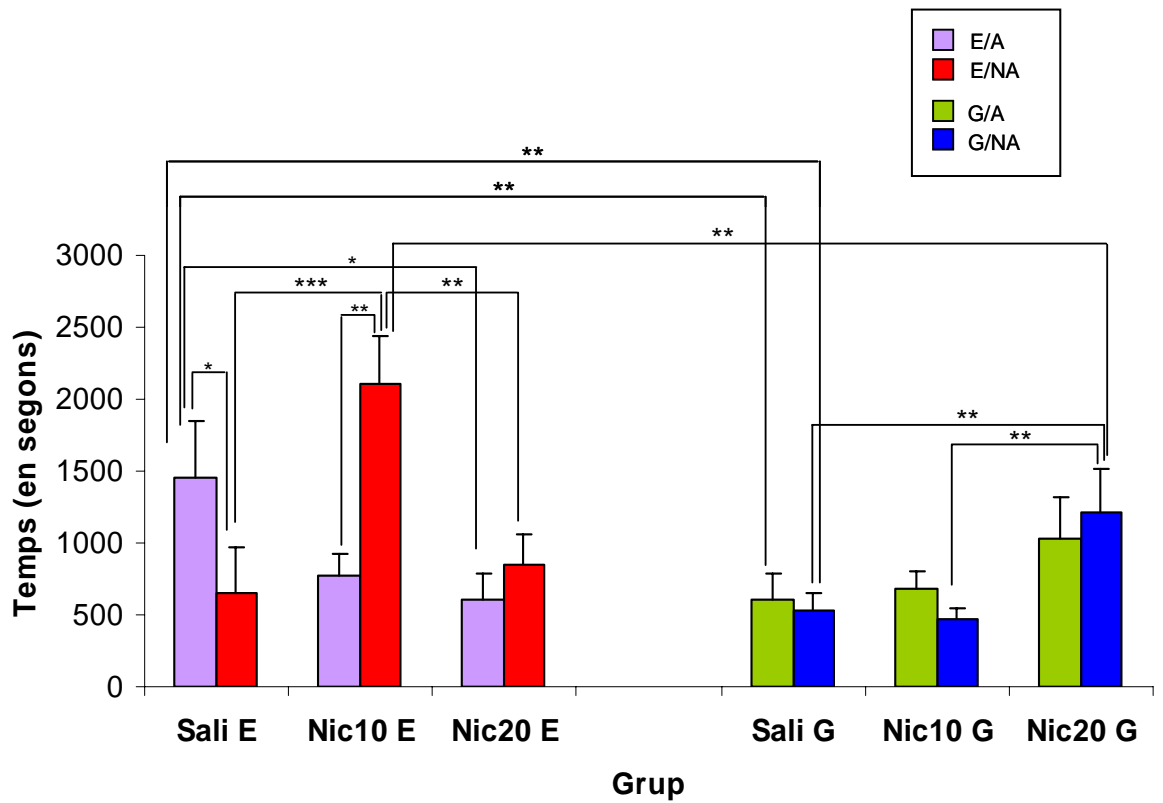


Figura 13. Temps necessari (en segons) per a assolir el criteri d'adquisició mesurat a partir de l'emissió de la primera resposta.

*: $p \leq 0,05$; **: $p \leq 0,001$ i ***: $p \leq 0,0001$.

Emissió de la primera resposta a la palanca

Quant al temps de latència de la primera resposta, en els animals alcoholics, cap diferència fou significativa ni en funció de la *CONDICIÓ* ni del *TRACTAMENT*. Pel que fa a l'ordenació dels resultats, els subjectes Abstinents foren en general més lents. La dispersió però, fou important en aquesta mesura.

Pel que fa al grup Control glucosa, s'observen diferències estadísticament significatives en el subgrup Abstinent, entre els animals que reberen la injecció de Nicotina 10nM ($32,23 \pm 6,17$ segons), que foren els més ràpids, i els Salins ($106,22 \pm 22,84$ segons), que varen ser els que tardaren més temps en emetre la primera resposta ($p=0,037$, prova de Duncan). No s'observen diferències significatives en els subgrups No-Abstinents.

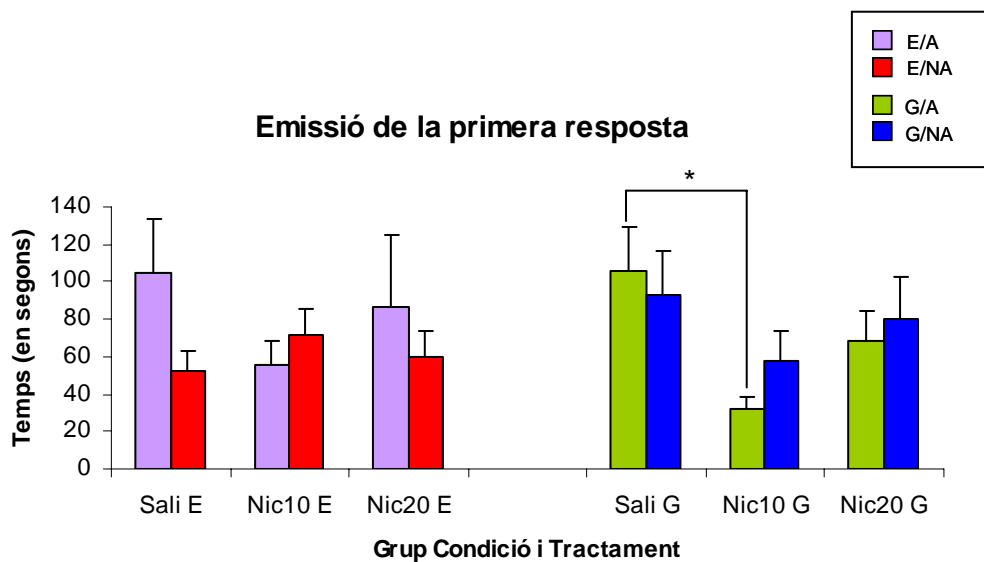


Figura 14. Temps necessari per a emetre la primera resposta.

*: $p \leq 0,05$, prova de Duncan.

Taxa de respostes posterior a l'adquisició de la resposta a la palanca

La taxa de respostes (quocient entre respostes i temps) mesurada entre la desena i la vintena resposta, no mostra cap efecte significatiu ni en el factor *GRUP* [$F(1,169)=1,241$; $p=NS$] ni en la *CONDICIÓ* [$F(1,169)=0,000$; $p=NS$] ni en el *TRACTAMENT* [$F(2,169)=0,063$; $p=NS$] (vegeu Figura 15).

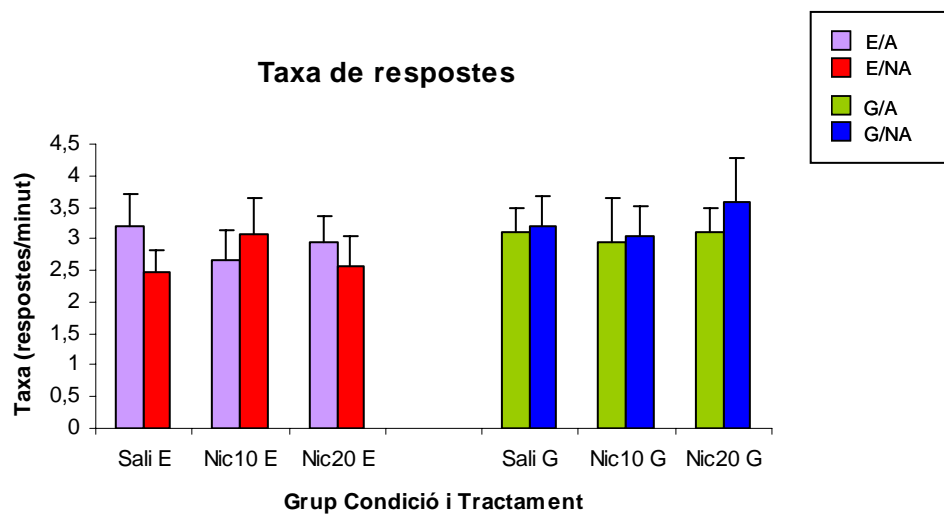


Figura 15. Taxa de respostes (respostes/minut) mesurada entre la desena i vintena resposta

2.4. Discussió

Els objectius principals plantejats en aquest estudi varen ser, d'una banda, replicar la sensibilització funcional de la transmissió colinèrgica de tipus nicotínic del feix septohipocàmpic, obtinguda, en treballs anteriors, en animals alcohòlics a l'hipocamp (García-Rebollo *et al.*, 2005) i al *septum* medial (Balcells, 2002) i de l'altra, estudiar l'estat funcional d'aquesta transmissió quan l'animal alcohòlic es troba en una situació d'abstinència. Amb aquesta finalitat, es va valorar la reactivitat a la nicotina intraseptal dels animals alcohòlics i controls, en condició d'abstinència i no-abstinència, en l'aprenentatge de la resposta a la palanca. Una de les nostres hipòtesis de partida era que l'abstinència d'alcohol disminuiria la velocitat de l'aprenentatge d'aquesta resposta en els animals alcohòlics, però no en els controls. Quant a l'efecte de la nicotina intraseptal, es va hipotetitzar que, en el cas dels subjectes alcohòlics no-abstinentes, la nicotina augmentaria el temps necessari per adquirir la resposta a la palanca en forma dosi-dependent, amb un efecte màxim a la dosi de 10nM, mentre que en el cas dels alcohòlics abstinentes la nicotina també tindria un efecte disruptor però amb un efecte màxim a la dosi de 20nM. En el grup control, s'esperava que la nicotina disminuís la velocitat d'adquisició de la resposta a la palanca en forma dosi-depenent, amb un efecte màxim a la dosi de 20nM, tant en el subgrup no-abstinent com en l'abstinent. El requisit previ per a poder confirmar o refutar les hipòtesis era el d'obtenir subjectes alcohòlics i controls, tant abstinentes com no-abstinentes, per a cada una de les dosis de nicotina i pel grup salí, que fossin comparables quant al seu pes durant tot l'experiment i, especialment, el dia de la prova d'aprenentatge (*Free Shaping*) i quant al seu consum, exceptuant el moment en el que s'iniciava l'abstinència, donada la rellevància d'aquestes variables en l'execució de la prova.

Condicions dels grups experimentals

Els 12 grups experimentals varen ser comparables quant al pes, i l'evolució d'aquest, que va ser congruent amb les condicions del procediment experimental, al llarg de les sis setmanes de durada de l'experiment (vegeu Figura 10, apartat 2.3.1). L'aplicació de la condició d'abstinència, de la qual no teníem precedents en la rata

APP, tampoc va esbiaixar el pes en cap dels grups pertinents. L'estricta control del nivell de privació era necessari en aquest experiment perquè la mesura d'aprenentatge emprada és sensible a excessos en el pes de privació, de tan sols un 3%.

Quant al consum d'alcohol i de la dissolució de glucosa, foren comparables els subgrups abstinentes i no-abstinentes, abans de que s'imposés la Condició d'Abstinència. El consum d'alcohol i de glucosa va evolucionar al llarg de l'experiment, mantenint-se estable durant les dues primeres setmanes en les que els animals tenien accés a la dissolució una hora al dia, disminuint la tercera setmana, a causa de la intervenció quirúrgica, i augmentant a la quarta a causa de l'inici de la privació del menjar en ambdós grups. En el cas dels subjectes alcohòlics, el consum promig d'alcohol aquesta setmana fou set vegades més gran que la seva taxa metabòlica. La cinquena setmana, s'imposa la condició d'abstinència, i la resta de subgrups no-abstinentes, mostren un increment del consum sense que hi hagi diferències entre ells. A l'última setmana, en la que novament tots els grups tenen accés a la dissolució, els animals alcohòlics abstinentes mostren un increment significatiu del consum respecte a l'última setmana en la que sí hi havien tingut accés, mentre que els no-abstinentes mantenen un consum estable respecte a la setmana anterior. La dosi consumida pels subgrups abstinentes la última setmana fou un consum nou vegades per sobre de la dosi tòxica en rates.

Aprenentatge: efectes de l'abstinència

Per a la valoració de l'efecte de l'abstinència i de la nicotina intraseptal en l'adquisició de la resposta a la palanca, s'han considerat les tres mesures següents: d'una banda, el criteri d'adquisició de la resposta a la palanca, que s'ha definit com el temps que transcorre entre la primera i la desena resposta, i que és una mesura específica d'aprenentatge associatiu. Una altra mesura ha sigut el temps transcorregut des que l'animal entra a la gàbia de Skinner i emet la primera resposta, que es tracta d'una mesura de reactivitat –emocional i instrumental– a la situació de la cambra experimental i, per últim, la taxa de respostes posterior a l'adquisició de l'aprenentatge, entre 10 i 20 respostes, que és una mesura d'execució motriu.

Pel que fa a l'anàlisi de l'efecte de l'alcohol i de l'abstinència en l'adquisició de la resposta a la palanca, les dades obtingudes mostren que l'alcohol no deteriora l'adquisició d'aquest aprenentatge en els subjectes alcohòlics no-abstinents mentre que si ho fa en els subjectes que porten a terme l'aprenentatge sota la condició d'abstinència. Concretament, els subjectes alcohòlics abstinentes, necessiten el doble de temps per adquirir aquesta resposta respecte als alcohòlics no-abstinents i als subjectes del grup control (o glucosa) tant sota la condició d'abstinència com de no-abstinència. L'abstinència, en els subjectes alcohòlics ha provocat un desplaçament de la corba dosi-resposta cap a la dreta, respecte als alcohòlics no-abstinents.

Quant al grup control, tot i que l'abstinència de glucosa implica un augment de la motivació per menjar degut a que es tracta d'un nivell de privació major, en aquest cas no altera el procés associatiu que representa l'adquisició de la resposta a la palanca. Així doncs pel que fa a l'abstinència es confirma la nostra hipòtesi de l'efecte diferencial entre grups.

Aprenentatge: efecte de la nicotina

En l'adquisició de la resposta a la palanca la nicotina ha tingut un efecte disruptor dosi-dependent que varia en funció del grup. En el cas dels subjectes alcohòlics no-abstinents, empitjora l'adquisició triplicant el temps necessari per assolir l'aprenentatge de la resposta a la palanca a la dosi de 10nM. Aquesta dada s'ajusta a la hipòtesi formulada, i replica una vegada més el desplaçament de la corba dosi-resposta cap a l'esquerre en aquesta mesura d'aprenentatge, ja que es tracta d'una corba similar a l'obtinguda per Balcells (2002) en el *septum* medial i semblant a l'efecte obtingut injectant nicotina en la regió CA1 de l'hipocamp (García-Rebollo *et al.*, 2005). L'efecte de la nicotina en els subjectes alcohòlics, té efectes oposats en els subgrups abstinent i no-abstinent, ja que en el cas dels alcohòlics abstinentes, la nicotina va acurçar el temps d'adquisició de la resposta a la palanca a la dosi de 20nM. Aquest efecte sembla reproduir-se per a la dosi de 10nM tot i que, en aquest cas, l'efecte va ser menor i no va arribar a ser significatiu. Si observem la Figura 13 (apartat 2.3.4), veiem que el grup d'animals alcohòlics abstinentes que reberen la injecció de nicotina a una dosi de 20nM adquiriren la resposta a la palanca tant ràpid

com els animals alcohòlics no-abstinents injectats amb salí. És a dir, contràriament al que havíem hipotetitzat, en els animals alcohòlics abstinentes, la nicotina intraseptal sembla neutralitzar l'efecte de l'abstinència en l'adquisició de la resposta a la palanca, és a dir, almenys en aquesta mesura, la nicotina a la dosi màxima està substituint l'efecte de l'alcohol en els alcohòlics abstinentes, "normalitzant-los".

Pel que fa a l'efecte de la nicotina administrada intraseptalment en els animals del grup control, es confirma que la nicotina a la dosi de 20nM l'empitjora, duplicant el temps necessari per adquirir-la. En aquest grup, no s'observa un efecte significatiu de la condició d'abstinència, el que indicaria que, malgrat les diferències en la motivació (fam) per haver consumit o no una solució endolcida abans de realitzar la prova d'aprenentatge, aquesta no ha afectat l'adquisició de la resposta a la palanca.

Els efectes de la nicotina en el grup control abstinent, tot i no ser significatius, segueixen un patró similar al dels no-abstinents.

Si comparem la reactivitat a la nicotina que mostren els animals alcohòlics envers als control observem que, en el cas dels alcohòlics, l'acció de la nicotina mostra una corba dosi-resposta desplaçada cap a l'esquerra i un increment de l'efecte màxim del 57%. Aquest efecte és congruent amb una sensibilització als efectes de la nicotina intraseptal en els grups alcohol no-abstinents. En canvi, en el subgrup d'animals abstinentes, s'observa una inversió del perfil de la nicotina intraseptal, que podria ser deguda a la substitució de l'efecte de l'alcohol per la nicotina, i que probablement depèn del nivell de consum d'alcohol. En el cas dels subjectes d'aquest experiment, la dosi de nicotina eficaç ha sigut la de 20nM.

Pel que fa al temps de latència per a l'emissió de la primera resposta, es tracta d'una mesura incondicionada davant de la situació experimental. En els animals alcohòlics no s'observa un efecte significatiu ni de la condició i del tractament. En canvi, en els animals del grup control que es troben sota la condició d'abstinència, la dosi de nicotina de 10nM acurça el temps necessari per l'emissió de la primera resposta. Tenint en compte, com ja hem vist, que aquest grup d'animals no aprèn la resposta a la palanca més ràpidament, aquest efecte es podria incloure en el perfil

activador motriu i de percaça d'estímuls de la nicotina, existint la possibilitat de que els subjectes abstinents fossin més sensibles a aquest efecte que la resta de subjectes.

La taxa de respostes, com ja s'havia trobat en estudis anteriors (Balcells, 2002; García-Rebollo *et al.*, 2005) no mostra diferències estadísticament significatives ni en funció del grup ni de la condició ni del tractament. La importància d'aquesta variable radica en que ens permet descartar que els efectes depressors motrius de l'alcohol hagin pogut influir en els resultats obtinguts. A més, també permet descartar un efecte activador motriu produït per la nicotina, que ha sigut descrit per alguns autors (Domino, 2001; Miller *et al.*, 2001), tot i que en aquests estudis la nicotina ha sigut administrada per via intraperitoneal i subcutània, respectivament. D'altra banda, l'estudi d'aquesta variable era oportú degut a que anteriorment, en altres estudis, s'han observat diferències quant a aquest efecte disruptor motriu de l'alcohol en funció de la tasca avaluada. Amb les mateixes dosis tòxiques d'alcohol, i mitjançant el procediment APP, s'ha trobat un efecte disruptor a nivell motriu en laberints (Ribas, 2002) i en la prova de pla inclinat mentre que no ha mostrat cap efecte en la prova d'evitació activa (Pallarés *et al.*, 1997).

2.5. Conclusions

1) La Condició d'Abstinència d'alcohol modifica dràsticament, en sentit negatiu, la capacitat d'aprenentatge simple en els animals alcohòlics en relació a la capacitat dels animals alcohòlics No-Abstinentes i als animals controls en qualsevol condició (Abstinència i No-Abstinència).

2) La nicotina té efectes oposats en els subjectes alcohòlics Abstinentes i No-Abstinentes. En el cas dels No-Abstinentes empitjora l'adquisició triplicant el temps necessari per assolir l'aprenentatge de la resposta a la palanca a la dosi de 10nM, mentre que en el cas dels Abstinentes neutralitza l'efecte disruptor de l'abstinència, en l'aprenentatge d'aquesta resposta, a la dosi de 20nM.

3) En els grups control, la nicotina incrementa el temps necessari per adquirir la resposta a la palanca a la dosi de 20nM respecte als subjectes injectats amb salí i nicotina 10nM.

4) En el grup control, no s'han detectat efectes significatius per a la condició d'Abstinència en l'adquisició ni en l'emissió de la primera resposta.

5) Els subjectes alcohòlics No-Abstinentes mostren una sensibilització funcional a la nicotina administrada intraseptalment, que es fa palesa amb el desplaçament de la corba dosi/resposta cap a l'esquerra i amb un increment considerable de l'efecte màxim.

6) L'efecte observat en els animals alcohòlics No-Abstinentes probablement és degut a la interacció de l'alcohol amb la nicotina perquè, en el cas dels subjectes Abstinentes, s'observa el perfil invers: la manca d'alcohol empitjora l'aprenentatge en relació als No-Abstinentes (salins) i la dosi de nicotina de 20nM equipara el nivell d'adquisició d'aquests animals al que presenten els No-Abstinentes del grup salí.

7) No s'observen efectes majors ni de l'alcohol ni de la nicotina en la mesura del temps necessari per emetre la primera resposta ni en la taxa de respostes.

3. EXPERIMENT II: Valoració dels efectes de l'abstinència alcohòlica i de la nicotina intraseptal en la inhibició, mitjançant la Prova de Dos Estímuls de Pavlov

3.1. Objectius i hipòtesis

Els objectius de l'Experiment II són:

1) Obtenir subgrups d'animals, abstinentes i no-abstinentes, comparables quant al nivell de consum, d'alcohol i de la dissolució de glucosa, i quant al pes corporal i al pes de privació.

2) Obtenir animals amb un índex de discriminació igual o superior al 70%, produït per l'aprenentatge d'una discriminació successiva, programa múltiple FR20/Extinció, amb els estímuls discriminatius "llum" i "to agut", com a positiu i negatiu, respectivament. D'altra banda, prèviament a la Prova de Dos Estímuls de Pavlov, aquests animals també havien de presentar una història de reforçaments comparable quant al nombre de sessions, tipus de programes i nombre de reforçaments rebuts.

3) Valorar l'efecte del consum crònic i voluntari d'alcohol en l'aprenentatge de discriminació.

4) Valorar l'efecte del consum crònic i voluntari d'alcohol en el control inhibitori, així com l'efecte de l'abstinència d'alcohol en aquest control, avaluat mitjançant la Prova de Dos Estímuls de Pavlov.

5) Valorar l'efecte de l'administració de nicotina intraseptal en animals alcohòlics i controls, en abstinència i no-abstinència, en el control inhibitori avaluat mitjançant la Prova de Dos Estímuls de Pavlov.

Les hipòtesis experimentals plantejades en l'Experiment II són:

I. S'espera que ambdós grups, Alcohol i Control, presentin el mateix nivell d'aprenentatge de discriminació.

II. L'alcohol produirà un increment de la taxa de resposta en la prova de dos estímuls, en el subgrup No-abstinent, en relació amb el Control glucosa, en els subgrups injectats amb salí.

III. L'abstinència d'alcohol incrementarà la taxa de resposta en la prova de dos estímuls.

IV. Amdós grups Alcohol injectats amb salí tindran una taxa més elevada que els corresponents controls de glucosa.

V. La Nicotina incrementarà la taxa de resposta en els grups Alcohol, l'efecte màxim serà major en els Abstinents.

VI. L'abstinència de glucosa incrementarà la taxa en la prova de dos estímuls, pels grups injectats amb salí. Aquest increment, serà de menor magnitud que el produït en els grups alcohol.

VII. Pel que fa als grups Control, la nicotina produirà una disminució de la taxa de resposta en ambdós subgrups (Abstinent i No-Abstinent) en la Prova de Dos Estímuls de Pavlov, amb un efecte màxim a la dosi de 20nM.

3.2. Metodologia

3.2.1. Subjectes

Per a la realització del segon experiment es varen utilitzar 118 rates mascle, de la soca Wistar, de 21 dies d'edat de procedència, característiques i condicions d'establució idèntiques a les de l'Experiment I, que varen ser assignades a l'atzar a un dels dos grups experimentals (grup Alcohol: n=59; grup Control: n=59). Les dades obtingudes durant les sis primeres setmanes experimentals per 31, d'aquests 118 subjectes, varen ser analitzades en l'Experiment I.

3.2.2. Aparells i Fàrmacs

Els aparells i els fàrmacs utilitzats en l'Experiment II varen ser els mateixos que en l'Experiment I (vegeu apartat 2.2.2. i 2.2.3. Experiment I).

3.2.3. Procediment

El procediment experimental portat a terme va ser prèviament supervisat i autoritzat per la Comissió d'Ètica de la Universitat Autònoma de Barcelona i s'ajusta a la normativa aprovada per la Directiva de la Comunitat Europea (86/609/ECC) pel que fa a la cura i a la utilització d'animals de laboratori.

Obtenció dels animals alcohòlics

Aquest segon experiment va constar de dues fases. En la primera fase, de 6 setmanes de duració, es va portar a terme el mateix procediment experimental que en l'Experiment I per tal d'obtenir els animals alcohòlics i controls mitjançant el model d'Alcoholisme Primari Precoç (APP). Els animals foren mantinguts i manipulats de la mateixa manera que en l'experiment anterior fins als 102 dies

d'edat, en que comencen la segona fase. Aquesta va tenir una durada de 3 setmanes en les que els animals es mantingueren en el 80% del seu pes *ad libitum*. Per aquesta raó, els animals menjaven, després de realitzar la prova conductual, la quantitat que els hi corresponia segons la fórmula:

$$\text{Grams de menjar} = (\text{Pes de privació al 80\%} - \text{Pes actual}) \times 80/100$$

Els animals tenien accés a les dissolucions d'alcohol i de glucosa durant l'hora prèvia a l'execució de les proves conductuals exceptuant a partir del dia 118 (2 dies abans de la Prova de Dos Estímuls de Pavlov) i fins el final de l'experiment (dia 120), moment en el que els animals que en la primera fase de l'Experiment havien sigut assignats a la Condició d'Abstinència deixaven de tenir accés a la dissolució d'alcohol o a la de glucosa.

Cirurgia estereotàxica

Entre els 74 i els 78 dies (setmana 3) d'edat també els hi fou implantada una cànula guia permanent de les mateixes característiques que les descrites anteriorment (vegeu apartat 2.2.2. de l'Experiment I) al *septum* medial (vegeu Figura 16).



Figura 16. Rata amb cànula implantada. Del cap del subjecte sobresurt el tap de la cànula, per davant es veuen restes de la sutura ja cicatritzada.

Procediment d'abstinència

Al inici de la setmana de les proves conductuals (setmana 5), els animals foren aleatòriament assignats en funció de la Condició (Abstinent i No-Abstinent) i del Tractament que rebrien posteriorment (salí, nicotina 10nM o nicotina 20nM) als diferents grups experimentals. Aquesta assignació es va mantenir tant per la injecció prèvia a la sessió de *Free-shaping* (dia 91) com per la de la Prova de Dos Estímuls de Pavlov (dia 119) i per la sessió d'extinció (dia 120) (vegeu Annex I).

Els grups experimentals resultants foren:

	CONDICIÓ	TRACTAMENT
GRUP ALCOHOL n=59	Abstinent (A) n=30	Salí n=11
		Nic10 n=10
	No-Abstinent (NA) n=29	Nic20 n=9
		Salí n=9
GRUP CONTROL n=59	Abstinent (A) n=29	Nic10 n=11
		Nic20 n=9
	No-Abstinent (NA) n=30	Salí n=11
		Nic10 n=10
		Nic20 n=9

Injecció intraseptal

Durant els dies 88, 89 i 90 d'edat els animals foren sotmesos a un protocol d'habitució progressiva a la situació de la injecció intracerebral, que es portà a terme als 91 dies d'edat abans de la sessió de *Free Shaping*, tal i com es va fer en l'Experiment I.

Prova d'aprenentatge: *Free Shaping*

El programa de condicionament que realitzaren, 10 minuts després de la injecció, varen ser 1 ó 2 sessions de Free-Shaping (procediment estandarditzat anteriorment per Ferré i Garcia-Sevilla, 1987; Pallarés *et al.*, 1995) igual que en l'Experiment I.

Posteriorment, els animals es mantingueren una setmana més (setmana 6), amb les mateixes condicions, per tal d'estudiar l'evolució del consum després d'haver patit un període d'abstinència.

Discriminació

La segona fase de l'Experiment s'inicià el dia 102 de vida (setmana 7). A partir d'aquest moment i fins el dia 120 (setmana 9), els animals portaren a terme, de dilluns a divendres, una sessió diària d'aprenentatge amb la gàbia d'Skinner. Aquestes sessions consistiren en dos programes de raó progressiva (TR), set programes diferents d'aprenentatge de discriminació successiva (Dis1-7), consistent en un programa múltiple FR20/Extinció, amb els estímuls discriminatius 'llum' i 'to agut', com a positiu i negatiu, respectivament; una sessió amb la Prova de Dos Estímuls de Pavlov i per últim una sessió d'Extinció (vegeu Annex I).

Les dues sessions amb el programa de raó progressiva (TR) tenien com a objectiu augmentar la raó de la resposta a la palanca per tal de rebre els *pellets*. Un cop apresada l'execució de la raó fixa a 25 respostes, començà el programa de discriminació.

En les set sessions de discriminació l'animal havia d'aprendre que en situació de llum (estímul positiu), si premia la palanca, rebria el reforçador a una raó fixa de 20 respostes per reforçament, mentre que en el moment en que s'apagava la llum i apareixia un estimul auditiu agut (estimul negatiu) no rebria menjar. Els set programes diferien entre si en la presentació dels estímuls visual i auditiu, que era aleatòria per evitar que l'animal presentes patrons de conducta apresos lligats als estímuls. El promitjos de temps de llum i foscó foren d'aproximadament un 60 i un 40%, respectivament (vegeu Taula VII).

Taula VII. Percentatge del temps de llum i fosc i durada total de les set sessions diferents de discriminació.

Sessió	Temps llum (%)	Temps Fosc (%)	Temps Total (segons)
Disc 1	55,36	44,63	2910
Disc 2	57,84	42,15	1440
Disc 3	49,06	50,93	1981
Disc 4	65,49	34,50	2956
Disc 5	57,66	42,33	2976
Disc 6	62,54	37,45	2830
Disc 7	60	40	2800

Injecció intraseptal i Prova de Dos Estímuls de Pavlov

El dia 119 de vida, els animals reberen una segona injecció intraseptal de nicotina (10nM o 20nM) o salí, segons el grup experimental al que foren assignats, i 10 minuts després realitzaren la Prova de Dos Estímuls de Pavlov. Aquesta és una prova explícita d'inhibició conductual en la que en una sessió d'extinció, és a dir, l'animal no rep reforçament, es presenten a l'hora els 2 estímuls: el positiu (la llum) i el negatiu (el xiulet). Aquesta prova té com a finalitat avaluar el grau de control de l'estímul inhibitori superposat a l'excitatori.

Extinció

Per últim, el dia 120 de vida, els animals realitzaren una sessió d'extinció al estímul positiu (llum) per veure fins a quin punt s'ha vist afectada la resposta a la palanca per la precedent prova d'inhibició.

Estudi histològic

Finalment, el dia 121 de vida es sacrificà els animals seguint el mateix procediment que en l'Experiment I. També es realitzà, minuts abans, la injecció intracerebral amb la solució de tionina per situar l'abast de la substància injectada i verificar la seva localització al *septum* medial. Posteriorment, el cervell va ser igualment extret i conservat en una dissolució de formaldehid, durant un mínim de dues setmanes, i posteriorment tallat i tenyit per determinar la localització de la cànula guia i la difusió de la gota de tionina (vegeu apartat 2.2.4. Experiment I).

3.3. Resultats

Es varen eliminar de l'anàlisi de dades aquells subjectes amb la cànula mal implantada (n=17) i els animals amb un promig del nivell de discriminació inferior al 70% (n=11) a la tercera setmana de l'experiment, resultant un total de 118 subjectes. D'aquests, un total de 31 subjectes són procedents de l'Experiment I. Tots els subjectes de la mostra de l'Experiment II varen passar pel mateix procediment que els subjectes de l'Experiment I.

3.3.1. Estudi del pes

o Línia base

El pes dels animals el dia 16 de l'experiment (vegeu cronograma a l'Annex I) ha sigut considerat com el pes de referència (pes *ad libitum*), doncs es tracta del pes que presenta l'animal una vegada ja s'ha recuperat de la intervenció quirúrgica. En aquest sentit, no existeixen diferències significatives entre ambdós GRUPS (Alcohol i Control glucosa) [F(1,105)=3,596; p=NS]. Les mitjanes del pes (en grams) per a cada grup són les següents: 367,279±25,877 i 375,427±23,714, respectivament.

o Pes de privació

Durant les 3 setmanes de duració de l'experiment II, els animals es mantingueren privats al voltant del 80% del seu pes *ad libitum*. No s'observen diferències significatives quant al percentatge de privació al llarg de les 3 setmanes ([F(2,212)=1,243; p=NS]) ni entre els GRUPS Alcohol i Control ([F(2,212)=0,369; p=NS]) ni pel que fa al factor CONDICIÓN ([F(2,212)=0,379; p=NS]) ni pel TRACTAMENT ([F(4,212)=0,349; p=NS]). A la Taula VIII es mostren les mitjanes del percentatge de privació d'ambdós grups al llarg de les 3 setmanes.

Taula VIII. Percentatge de privació dels animals dels grups Alcohol i Control al llarg de les 3 setmanes. Mitjana setmanal \pm Desviació Estandar.

	Setmana 1	Setmana 2	Setmana 3
Alcohol n=59	78,73 \pm 1,16	78,85 \pm 1,08	78,82 \pm 0,77
Control n=59	78,61 \pm 1,23	78,72 \pm 1,18	78,79 \pm 0,73

3.3.2. Consum d'alcohol

L'anàlisi de la variança per a mesures repetides del consum d'alcohol, mesurat en grams d'alcohol per Kg de pes i hora, abans de que s'imposi la *CONDICIÓ* d'Abstinència, mostra que l'*EVOLUCIÓ* del consum no és estadísticament significativa al llarg de les tres setmanes que durà l'aprenentatge de discriminació, la prova de Dos Estímuls de Pavlov i la sessió d'extinció [$F(2,106)=1,376$; $p=NS$], i no s'observen diferències significatives entre els dos subgrups (Abstinents i No-Abstinents) [$F(2,106)=1,036$; $p=NS$], ni tampoc pel que fa al *TRACTAMENT* [$F(4,106)=1,638$; $p=NS$].

Una vegada vist que no hi ha diferències entre els subjectes Abstinents i No-Abstinents abans de que s'imposi la *CONDICIÓ* d'abstinència, el consum setmanal del subgrup No-Abstinent ha sigut analitzat per separat. Els subjectes No-Abstinents mostren un consum estable al llarg de les tres setmanes [$F(2,52)=0,210$; $p=NS$] i no s'observen diferències estadísticament significatives quant al factor *TRACTAMENT* [$F(4,52)=1,358$; $p=NS$]. Com es pot veure a la Taula IX, tots els subjectes, Abstinents i No-Abstinents, tingueren un consum tòxic (major de 0,3 gr/Kg de pes i hora).

Taula IX. Consum d'alcohol en gr EtOH/Kg. Mitjana setmanal \pm Desviació Estandar

		Setmana 7	Setmana 8	Setmana 9
Consum alcohol n=59	NA n=29	2,022 \pm 0,422	2,011 \pm 0,438	2,052 \pm 0,466
	A n=30	2,031 \pm 0,396	2,119 \pm 0,623	*

* A la setmana 9 no hi ha còmput setmanal pel subgrup Abstinents degut a que només tenien accés a l'alcohol durant dos dies.

3.3.3. Consum de la dissolució de glucosa

L'anàlisi de la variança per a mesures repetides del consum de la dissolució de glucosa, mesurada en cl per Kg de pes i hora, abans de que s'imposi la *CONDICIÓ* d'Abstinència, mostra un consum estable al llarg de les 3 setmanes que durà l'aprenentatge de discriminació, la prova de Dos Estímuls de Pavlov i la sessió d'extinció [F(2,106)=0,372; p=NS], i no s'observen diferències estadísticament significatives entre els dos subgrups (Abstinents i No-Abstinents) [F(2,106)=2,497; p=NS], ni tampoc pel que fa al *TRACTAMENT* [F(4,106)=1,135; p=NS].

Una vegada vist que no hi ha diferències entre els subjectes Abstinents i No-Abstinents abans de que s'imposi la *CONDICIÓ* d'abstinència, el consum setmanal del subgrup No-Abstinents ha sigut analitzat per separat. Els subjectes No-Abstinents mostren un consum estable al llarg de les tres setmanes [F(2,54)=1,853; p=NS] i no s'observen diferències estadísticament significatives quant al factor *TRACTAMENT* [F(4,54)=0,940; p=NS]. A la Taula X es mostren les mitjanes del consum setmanal per a cada subgrup.

Taula X. Consum de glucosa en cl/Kg. Mitjana setmanal \pm Desviació Estandar.

		Setmana 7	Setmana 8	Setmana 9
Consum Glucosa n=59	NA n=30	3,944 \pm 2,264	3,623 \pm 1,945	3,758 \pm 1,816
	A n=29	3,495 \pm 2,088	3,722 \pm 2,478	*

* A la setmana 9 no s'ha analitzat el consum de glucosa en el subgrup Abstinent degut a que només tenien accés a la dissolució durant dos dies.

3.3.4. Estudi de les sessions de discriminació

Per a analitzar l'aprenentatge de la discriminació hem calculat l'índex de discriminació de Farthing i Hearst (1968), que és el percentatge de respostes emeses en presència de l'estímul positiu referides al total de respostes emeses a cada sessió. S'ha portat a terme una anàlisi de la variança per a mesures repetides dels índexs de discriminació obtinguts en les 11 sessions de discriminació que realitzaren els subjectes experimentals al llarg de les 3 setmanes. Aquesta anàlisi mostra un efecte significatiu de l'*EVOLUCIÓ* [$F(10,860)=348,47$; $p \leq 0,0001$] i de la interacció *GRUP* per *EVOLUCIÓ* [$F(10,860)=2,624$; $p=0,003$] al llarg de les diferents sessions, mentre que no existeixen diferències estadísticament significatives quant a la *CONDICIÓ* [$F(1,86)=0,014$; $p=NS$], al *TRACTAMENT* [$F(2,86)=2,108$; $p=NS$] ni al *GRUP* [$F(1,86)=0,781$; $p=NS$]. Quan són comparats dia a dia, cap índex de discriminació és diferent entre ambdós grups (Alcohol i Control). A la Figura 17 es mostra l'evolució de l'índex de discriminació en ambdós grups al llarg de les tres setmanes.

Evolució de la discriminació

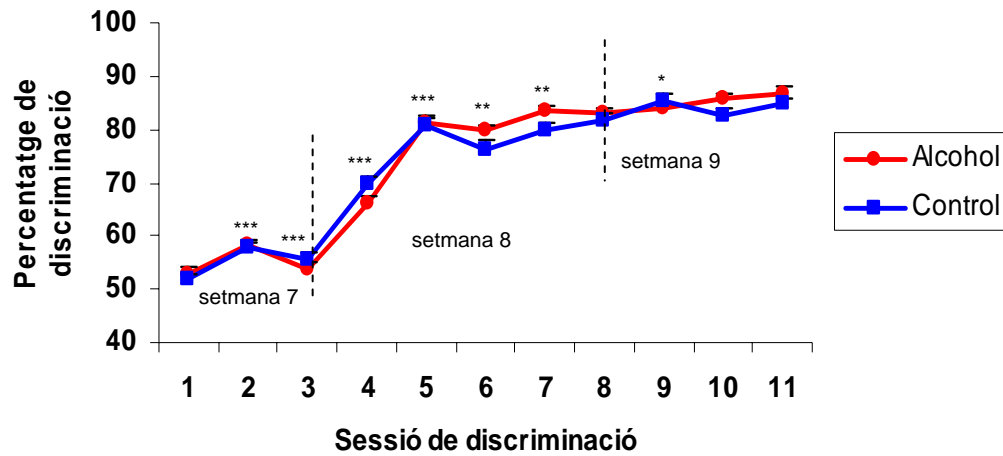


Figura 17. Evolució de l'índex de discriminació.

L'evolució creixent fou significativa a les setmanes 7 i 8 per ambdós grups (Alcohol i Control). Significacions: *: $p \leq 0,05$; **: $p \leq 0,001$ i ***: $p \leq 0,0001$. No hi ha diferències quant a l'evolució a la setmana 9 (proves *post-hoc* no significatives).

A l'última setmana desapareix la significació de l'*EVOLUCIÓ* [$F(2,206)=1,463$; $p=NS$] i tampoc hi ha diferències en la interacció *EVOLUCIÓ* per *GRUP* [$F(2,206)=2,871$; $p=NS$]. L'índex promig de les sessions de discriminació d'aquests últims tres dies és d'un $84,46 \pm 6,46\%$. A la Taula XI es mostren les mitjanes del percentatge de discriminació per a les onze sessions en els grups Alcohol i Control.

Taula XI. Índexs de discriminació al llarg de les tres setmanes. Mitjana \pm Desviació Estandar.

Setmana1	Alcohol	TR	TR	52,93 \pm 7,75	58,20 \pm 5,99	53,93 \pm 8,68
	Control	TR	TR	52,07 \pm 5,53	57,65 \pm 6,92	55,46 \pm 10,74
Setmana2	Alcohol	66,24 \pm 9,77	81,43 \pm 8,55	79,79 \pm 7,85	83,32 \pm 7,85	82,86 \pm 8,62
	Control	69,55 \pm 10,68	80,55 \pm 10,34	76,40 \pm 10,91	79,80 \pm 9,26	81,50 \pm 9,47
Setmana3	Alcohol	83,99 \pm 7,84	85,70 \pm 7,98	86,93 \pm 7,13	Prova 2EE	Extinció
	Control	85,49 \pm 8,80	82,52 \pm 9,59	84,67 \pm 8,06	Prova 2EE	Extinció

3.3.5. Estudi de la sessió de la Prova de Dos Estímuls de Pavlov

A partir de les dades del registre acumulatiu, disposem de les respostes emeses en funció del temps i els intervals de temps entre respostes. Aquestes dades han sigut agrupades dividint, la durada total de la sessió, en intervals de temps de 100 segons resultant unes funcions de la taxa de resposta en la sessió de dos estímuls, confeigides per 30 punts, que han sigut analitzades mitjançant una anàlisi de la variança per a mesures repetides. A la Taula XII es mostren els resultats obtinguts (valors de la F de Fisher i la seva significació).

Els factors significatius obtinguts han sigut el *GRUP* [$F(1,97)=5,095$; $p=0,026$] i la interacció dels factors *CONDICIÓ* per *TRACTAMENT* [$F(2,97)=4,124$; $p=0,019$]. També és significativa l'*EVOLUCIÓ* [$F(29,2813)=293,06$; $p\leq 0,0001$], la interacció de l'*EVOLUCIÓ* per el *GRUP* [$F(29,2813)=8,092$; $p\leq 0,0001$] i la interacció *EVOLUCIÓ* per *CONDICIÓ* per *TRACTAMENT* [$F(58,2813)=6,033$; $p\leq 0,0001$].

Taula XII. Anàlisi mixta de la variança de la Prova de Dos Estímuls de Pavlov.

	F	p
GRUP	5,095	0,026*
CONDICIÓ	0,255	0,614
TRACTAMENT	0,493	0,611
GRUPxCONDICIÓ	0,062	0,802
GRUPxTRACTAMENT	1,024	0,362
CONDICIÓxTRACTAMENT	4,124	0,019*
GRUPxCONDxTRACT	0,023	0,977
EVOLUCIÓ	293,06	0,0001*
EVOLUCIÓxGRUP	8,092	0,0001*
EVOLUCIÓxCONDICIÓ	0,301	0,999
EVOLUCIÓxTRACTAMENT	0,369	1
EVOLxGRUPxCOND	0,228	0,999
EVOLxGRUPxTRACT	0,539	0,998
EVOLxCONDxTRACT	6,033	0,0001*
EVOLxGRUPxCONDxTRAC	0,165	1

Efecte de la condició d'abstinència

L'anàlisi de la varianza per a mesures repetides mostren un efecte significatiu en els factors *GRUP* [$F(1,34)=4,590$; $p=0,03$], *CONDICIÓ* [$F(1,34)=6,091$; $p=0,01$] i *EVOLUCIÓ* [$F(29,986)=83,727$; $p\leq 0,0001$]. També resulta significativa la interacció dels factors *EVOLUCIÓ* per *GRUP* [$F(29,986)=4,185$; $p\leq 0,0001$] i *EVOLUCIÓ* per *CONDICIÓ* [$F(29,986)=6,347$; $p\leq 0,0001$]. Les proves *post-hoc* mostren diferències significatives entre grups Abstinents i No-Abstinents, en la segona meitat de les funcions. La relació entre les funcions es representa a la Taula XIII. S'observen diferències significatives entre els animals Alcohòlics No-Abstinents i els Alcohòlics Abstinents d'una banda, i animals Controls No-Abstinents i Controls Abstinents, de l'altra. A més, els parells de grups No-Abstinents i Abstinents (E/NA i C/NA; E/A i C/A) també difereixen entre ells (vegeu Figura 18).

Taula XIII. Relació entre les funcions obtingudes en la Prova de Dos Estímuls de Pavlov.

		Grup Alcohol		Grup Control	
		NA	A	NA	A
Grup Alcohol	NA		*	*	no sign.
	A	*		*	*
Grup Control	NA	*	*		*
	A	no sign.	*	*	

* $p\leq 0,05$, diferències significatives; no sign: no hi ha diferències significatives

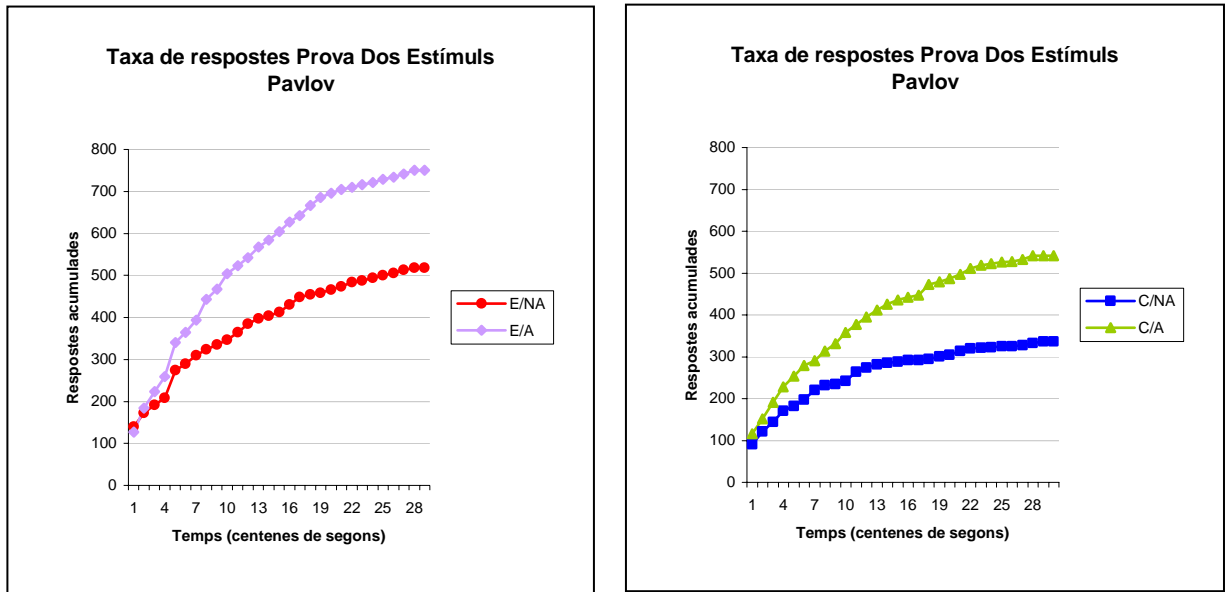


Figura 18. Taxa de respostes a la Prova de Dos Estímuls dels grups injectats amb salí. Nombre de respostes acumulades per als subjectes (Alcohol i Control) injectats amb salí, en ambdues condicions (Abstinentes i No-Abstinentes).

Estudi de la nicotina intraseptal en els grups Alcohol

L'anàlisi de la variança per a mesures repetides mostra un efecte significatiu en el factor *EVOLUCIÓ* [$F(29,1392)=172,94$; $p \leq 0,0001$] i en la interacció *EVOLUCIÓ* per *CONDICIÓ* per *TRACTAMENT* [$F(58,1392)=3,22$; $p \leq 0,0001$], el que ens indica que es tracten de funcions diferents (vegeu Figura 19). Les anàlisis *post-hoc* (prova de Fisher) indiquen diferències punt a punt, per a la segona meitat de la funció, entre els grups extrems: salins i nicotina 20nM en el cas dels subgrup No-Abstinent, i salins i nicotina 10nM en el cas dels Abstinents. També s'observen diferències significatives entre els subgrup Abstinent injectat amb salí i el No-Abstinent injectat amb salí. En canvi, no hi ha diferències entre el subgrup No-Abstinent injectat amb salí i l'Abstinent injectat amb nicotina de 10nM.

EVOLUCIÓxCONDICIÓxTRACTAMENT

$F(58,1392)=3,22$; $p \leq 0,0001$

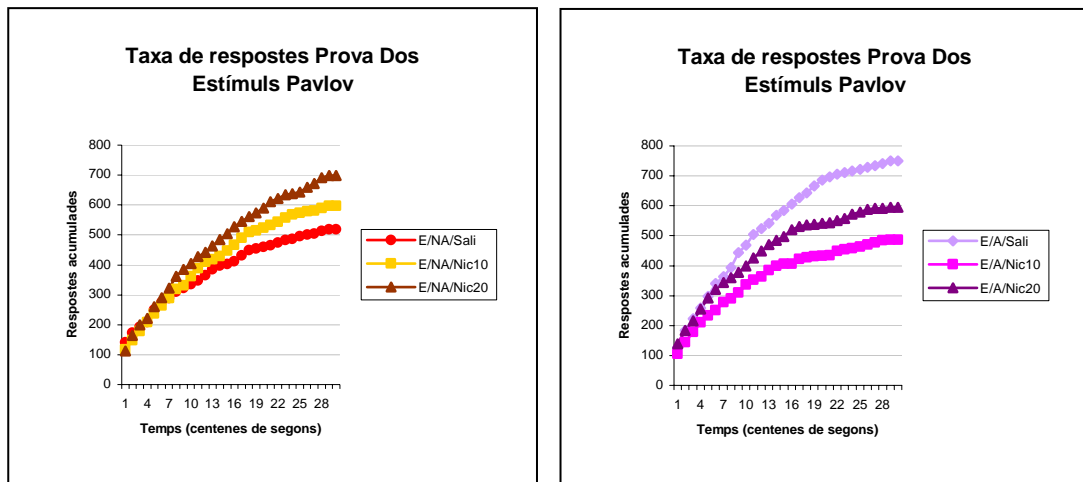


Figura 19. Taxa de respostes a la Prova de Dos Estímuls pels grups Alcohol. Nombre de respostes acumulades en funció del temps. Corbes dosi-resposta per a la nicotina intraseptal, pel grup alcohol en ambdues condicions.

Estudi de la nicotina intraseptal en els grups Control

L'anàlisi de la variança per a mesures repetides mostra un efecte significatiu en el factor *EVOLUCIÓ* [$F(29,1421)=119,75$; $p \leq 0,0001$] i en la interacció *EVOLUCIÓ* per *CONDICIÓ* per *TRACTAMENT* [$F(58,1421)=2,88$; $p \leq 0,0001$], el que ens indica que hi ha diferències entre aquestes funcions (vegeu Figura 20). Segons les anàlisis *post-hoc* (prova de Fisher), en el subgrup Abstinents no hi ha diferències significatives entre les tres funcions, mentre que en el cas dels No-Abstinents el grup injectat amb salí difereix tant de l'injectat amb nicotina 20nM com amb el de 10nM. No hi ha diferències estadísticament significatives entre les dues dosis de nicotina.

EVOLUCIÓxCONDICIÓxTRACTAMENT
 $F(58,1421)=2,88$; $p \leq 0,0001$

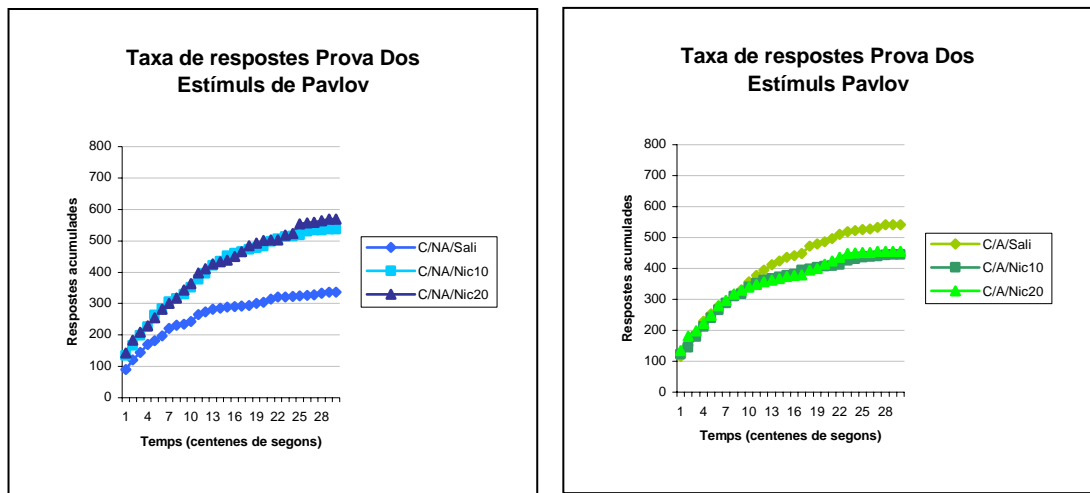


Figura 20. Taxa de respostes a la Prova de Dos Estímuls pels grups Control. Nombre de respostes acumulades en funció del temps. Corbes dosi-resposta per a la nicotina intraseptal, pel grup Control en ambdues condicions.

3.3.6. Estudi de la sessió d'extinció

L'estudi de la prova d'extinció, en relació a la prova de dos estímuls de Pavlov, mostra una *EVOLUCIÓ* significativa decreixent [$F(1,103)=291,99$; $p \leq 0,0000$], diferències en el factor *GRUP* [$F(1,103)=4,856$; $p=0,029$], essent els animals alcohòlics els que emeten un major nombre de respostes, i en la interacció *CONDICIÓ* per *TRACTAMENT* [$F(2,103)=4,008$; $p=0,021$]. A la taula XIV es mostren els totals de respostes en ambdues proves, per a tots els subgrups.

Taula XIV. Nombre de respostes totals a la Prova de Dos Estímuls de Pavlov i a la sessió d'extinció pels 12 grups experimentals. Mitjanes \pm Desviació Estàndar.

	CONDICIÓ	TRACTAMENT	Nº Respostes Prova Dos Estímuls	Nº Respostes sessió d'extinció
GRUP Alcohol	No-Abstinent	Sali	518,33 \pm 175,92	180,33 \pm 54,38
		Nic10	598,27 \pm 325,53	249,54 \pm 188,07
		Nic20	695,88 \pm 164,08	263,44 \pm 130,54
	Abstinent	Sali	683,00 \pm 405,42	232,40 \pm 172,55
		Nic10	549,22 \pm 163,57	191,66 \pm 91,06
		Nic20	554,66 \pm 279,11	195,00 \pm 120,87
GRUP Control	No-Abstinent	Sali	376,20 \pm 221,04	125,10 \pm 121,44
		Nic10	536,70 \pm 226,77	165,60 \pm 67,96
		Nic20	602,88 \pm 235,01	270,66 \pm 144,11
	Abstinent	Sali	554,00 \pm 350,25	150,11 \pm 105,66
		Nic10	506,81 \pm 205,86	160,90 \pm 121,91
		Nic20	447,11 \pm 167,04	181,77 \pm 66,64

3.4. Discussió

En aquest segon experiment, ens havíem plantejat tres objectius principals. El primer era valorar la capacitat, quant a l'aprenentatge de discriminació, dels animals alcoholics en relació amb els controls. El segon i tercer objectiu consistien en avaluar el control inhibitori generat per aquest aprenentatge, amb la Prova de Dos Estímuls de Pavlov, en subjectes alcoholics, tan abstinentes com no abstinentes, així com l'efecte de dues dosis de nicotina (10 i 20nM) administrades intraseptalment, en aquests subjectes.

Les hipòtesis plantejades inicialment foren d'una banda, que els animals alcoholics i controls assolirien un nivell d'aprenentatge de discriminació similar i, de l'altra, que en la Prova de Dos Estímuls de Pavlov, el que implicaria un menor control inhibitori, per això els subjectes alcoholics mostrarien un increment de la taxa de resposta respecte als controls, que encara es veuria més potenciat en el cas dels subjectes alcoholics abstinentes. L'abstinència de glucosa també incrementaria la taxa de respostes, però aquest increment seria de menor magnitud que l'observat en els grups alcohol. Pel que fa a l'efecte de la nicotina, es va hipotetitzar que en el cas dels subjectes alcoholics incrementaria la taxa de respostes, amb un major efecte en els abstinentes que en els no-abstinentes, mentre que en els subjectes control disminuiria la taxa en ambdós subgrups.

Per a poder verificar o refutar les hipòtesis experimentals plantejades havíem d'obtenir subjectes alcoholics i controls que no diferissin quant al consum de la dissolució corresponent ni quant al seu pes corporal ni en el nivell de privació al llarg de les tres setmanes de duració de l'experiment. En aquest sentit, els 12 grups experimentals foren comparables al llarg de tot l'experiment i presentaren un nivell de privació estable al voltant del 80%. Quant al consum d'alcohol i de la dissolució de glucosa, foren comparables els subgrups abstinentes i no-abstinentes, abans de que s'imposés la Condició d'Abstinència, a més a més, s'observà un consum estable al llarg de tot l'experiment en ambdós grups.

Un altre objectiu important a assolir, previ a la comprovació de les hipòtesis, era el d'aconseguir animals que no mostressin diferències quant al progrés de

l'aprenentatge de discriminació successiva ni en el valor final de discriminació assolit. D'altra banda, també s'havia d'aconseguir, estabilitzar l'índex de discriminació, en un valor suficient com per a realitzar la Prova de Dos Estímuls de Pavlov. Els animals d'ambdós grups mostraren una evolució creixent significativa assolint un índex de discriminació final similar, el promig del qual fou del 84,46%. Aquest percentatge es pot considerar com un nivell òptim de discriminació per a portar a terme la Prova de Dos Estímuls de Pavlov. D'aquests resultats se'n desprèn que els animals alcohòlics, quan estan sota els efectes de l'alcohol, mostren la mateixa capacitat per assolir aquest aprenentatge de discriminació i que l'estabilitzen al mateix nivell que els controls.

Efecte de l'alcohol i de l'abstinència d'alcohol en el control inhibitori

Pel que fa a l'estudi del control inhibitori que mostren els animals alcohòlics i controls, abstinentes i no-abstinentes, a la Prova de Dos Estímuls de Pavlov, els resultats mostren que els animals que presenten un major control inhibitori són els subjectes control no-abstinentes (injectats amb salí) mentre que els que mostren més dificultats per controlar l'estímul inhibitori són els alcohòlics que es troben en situació d'abstinència (injectats amb salí). Els animals alcohòlics mostren un menor control inhibitori en comparació amb els animals controls, efecte que es veu potenciat quan aquests es troben en situació d'abstinència tal i com s'havia hipotetitzat. És notori el fet que els animals alcohòlics en la prova de dos estímuls mostren un menor control inhibitori respecte dels controls tot i tenir, en les sessions prèvies de discriminació, un nivell similar al del grup control. Per tant, no es tracta d'un problema de discriminació dels estímuls exteroceptius sinó del grau de control inhibitori que aquests estímuls poden exercir. El nivell de control inhibitori que presenten els animals alcohòlics sota els efectes de l'alcohol és comparable al nivell que presenten els subjectes del grup control en situació d'abstinència. En aquest cas, l'abstinència de glucosa, degut a que implica un major nivell de privació i, per tant un augment de la motivació (fam), ha produït una disminució del control inhibitori de l'animal que l'equipara amb el nivell de control que mostra l'alcohòlic quan es troba sota els efectes de l'alcohol. Inicialment, havíem hipotetitzat que la pèrdua de

control produïda per l'abstinència de glucosa seria menor que la produïda per l'abstinència d'alcohol. No obstant, això no ha estat així i en ambdós casos s'ha produït una pèrdua semblant en relació als respectius grups no- abstinents.

Efecte de la nicotina intraseptal en el control inhibitori

Quant a l'efecte de la nicotina en el control inhibitori, els resultats mostren que en els subjectes alcohòlics no-abstinents, aquesta té un efecte desinhibidor dosi-dependent, essent l'efecte màxim a la dosi de 20nM de nicotina. Aquesta dada demostra que la nicotina té un efecte específic sobre el control inhibitori i que, per a que es doni l'efecte màxim de disrupció requereix d'una dosi major de nicotina de la necessària per alentir l'aprenentatge associatiu (vegeu Experiment I). Aquests resultats són congruents amb el que sabem sobre les propietats de la conducta controlada per programa que, un cop establitzada la resposta, aquesta és relativament poc sensible als fàrmacs. Tot i així, atès que en la Prova de Dos Estímuls es valora un estadi de transició (extinció), la nicotina ha pogut actuar, això sí, a la dosi major. En resum, pel que fa als alcohòlics no abstinents, s'ha confirmat la nostra hipòtesi tot i que no pel que fa a la dosi, doncs ha calgut la dosi màxima de nicotina per a produir la màxima desinhibició. L'efecte de la nicotina en els animals alcohòlics abstinents, contràriament al que s'havia hipotetitzat, ha donat lloc a un augment de la inhibició, de tal manera que l'efecte màxim es produeix a la dosi de 10nM, i la dosi major té un efecte intermig. La magnitud de l'efecte màxim iguala l'execució d'aquests animals abstinents a la dels subjectes no abstinents injectats amb salí. Dit altrament, 10nM de nicotina intraseptal neutralitzen l'efecte de l'abstinència d'alcohol a la prova de Dos Estímuls de Pavlov, el que indica que la dosi per a neutralitzar l'abstinència alcohòlica és menor que la necessària per a disrompre el control inhibitori.

Pel que fa als subjectes del grup control no-abstinent, la nicotina intraseptal, tant a la dosi de 10 com a la de 20nM, té un efecte desinhibidor que és comparable al que provoca l'abstinència de glucosa. En els subjectes control abstinents, la nicotina no té cap efecte. És important tenir present que en la Prova de Dos

Estímuls de Pavlov, el que es mesura és el poder de control de l'estímul inhibitori (que assenyalava l'ocasió per a no-respondre) en front de l'estímul excitatori, que assenyalava l'ocasió per a respondre (i rebre reforçament). Aquesta és una mesura d'un procés molt sensible a variables estranyes, que solen tenir un efecte desinhibidor; és a dir, el control inhibitori és el més susceptible de desaparèixer en resposta a canvis en la situació experimental, com per exemple la condició d'abstinència o l'administració d'una droga. Per tant, per a demostrar efectes específics sobre la inhibició, una droga ha d'actuar de forma dosi-dependent. Per aquest motiu, en el cas dels subjectes controls no-abstinentes, els resultats obtinguts fan pensar que es tracta d'un fenomen de desinhibició o pèrdua de control de caire inespecífic, ja que no hi ha un efecte dosi-dependent. En el cas dels subjectes abstinentes, que ja estan desinhibits a causa de l'abstinència, la nicotina no té cap efecte significatiu. Aquesta és una dada important ja que permet afirmar que el substrat fisiològic i molecular de l'abstinència alcohòlica no se superposa al substrat responsable de la motivació de fam i la privació. Efectivament, els subjectes controls privats de glucosa tenen un nivell de motivació de fam superior al dels no-abstinentes, i això és suficient per alterar el control inhibitori, però no responen a cap de les dues dosis de nicotina injectades, recuperant el control inicial.

Estudis precedents han verificat repetidament l'efecte de l'alcohol en l'aprenentatge associatiu simple (Pallarés *et al.*, 1992; 1997), així com la sensibilitat exacerbada a la nicotina intracerebral dels subjectes alcohòlics (Balcells, 2002; García-Rebollo *et al.*, 2005). No obstant, encara ara no disposàvem de dades sobre l'efecte de l'alcohol, de l'abstinència ni de la nicotina en el control inhibitori. Els resultats obtinguts en aquest segon experiment, mostren novament que els subjectes alcohòlics són tolerants als efectes depressors motrius de l'alcohol, ja que no mostren problemes a l'hora de prémer la palanca respecte als controls i que no tenen dèficits cognitius perquè tampoc presenten una dificultat major per a aprendre a discriminar, doncs no difereixen quant a l'índex de discriminació. D'altra banda, si comparem el nombre total de respostes emeses en la Prova de Dos Estímuls de Pavlov, aquest nombre és significativament superior en el grup alcohol que en el

grup control. Aquesta dada evidencia l'efecte desinhibidor de l'alcohol, tantes vegades confirmat per l'observació casual i en el perfil tradicionalment atribuït a l'alcohol.

Més encara, els resultats obtinguts mostren que els efectes de l'abstinència d'alcohol són qualitativa i quantitativament diferents dels efectes de la privació de glucosa, ja que el control inhibitori que mostren els subjectes alcohòlics sota els efectes de l'alcohol és, ni més ni menys, que el mateix que presenten els controls en abstinència. Però mentre que els efectes de l'abstinència alcohòlica són neutralitzats per la dosi adequada de nicotina (que no és precisament la dosi màxima, cosa que fa pensar en un efecte molt específic), la conseqüència de l'abstinència de glucosa (increment de la fam) no és revertida per la nicotina intraseptal i, en canvi, és equiparable als efectes de la injecció de qualsevol de les dosis de nicotina provades en animals no abstinentes (cosa que fa pensar en efectes menys específics).

Una altra dada molt important és el fet que, en el cas dels subjectes alcohòlics abstinentes, la nicotina, a la dosi menor provada, està substituint la manca d'alcohol. Aquest efecte ens indica un alt grau d'especificitat per a aquesta acció i un estat funcional del cervell alcohòlic abstinent clarament diferenciat de l'estat del cervell alcohòlic sota l'efecte de l'alcohol.

Estudis precedents havien demostrat que els subjectes alcohòlics tenen una sensibilització de la funció colinèrgica de tipus nicotínic (desplaçament de la corba dosi-resposta a l'esquerra i increment de l'efecte màxim), tan al *septum* medial (Balcells, 2002) com a l'hipocamp (García-Rebollo *et al.*, 2005), i en l'Experiment I tenim una nova dada a favor pel que fa als grups no abstinentes. Fins i tot estudis moleculars ens havien demostrat un augment considerable de la densitat dels receptors $\alpha 4\beta 2$ en l'hipocamp de rates APP (Robles *et al.*, 2003), tot plegat referit a una prova d'aprenentatge associatiu simple. En el present experiment, en el que hem estudiat el control inhibitori, hem vist que la nicotina intraseptal té un efecte desinhibidor de tipus dosi-dependent en subjectes alcohòlics no abstinentes, amb un efecte màxim a la dosi major provada (20nM). Tot plegat, en contrast amb els subjectes controls, doncs aquests mostren un efecte de desinhibició de menor

magnitud, i que no varia en funció de la dosi de nicotina, però que mostra un valor semblant als efectes d'increment de la motivació (grup abstinent). Ens trobem doncs davant de diferències majors que les fins ara trobades entre ambdós grups ja que l'acció de la nicotina sembla inespecífica en el cas del grup control. No obstant això, encara apareixen més asimetries entre grups si considerem els animals abstinentes. En el cas dels controls, la nicotina no té cap efecte significatiu mentre que en els alcohòlics abstinentes s'ha obtingut un resultat doblement rellevant, d'una banda la inversió del perfil de la nicotina (cosa que també hem vist a l'experiment I) i de l'altra, la reducció de la dosi de nicotina necessària per a produir l'efecte màxim (10nM), és a dir, el desplaçament cap a l'esquerra de la corba dosi-resposta per als efectes en la mesura de inhibició, respecte dels animals alcohòlics no-abstinentes. Resumint, podem dir que en situació d'abstinència d'alcohol, la nicotina és capaç de normalitzar una mesura de control inhibitori amb una dosi que és el cinquanta per cent de la necessària per desinhibir aquesta mesura en subjectes no abstinentes.

Efectes de la Prova de Dos Estímuls de Pavlov en l'Extinció simple

L'endemà d'aquesta prova, tots els subjectes realitzaven una extinció simple, per a avaluar si hi havia alguna diferència quant a l'evolució esperada del total de respostes (disminució). Tots els grups mostraren una evolució significativa decreixent, la qual cosa indica que els processos del dia anterior ha funcionat de manera equivalent en tots els grups, és a dir hi ha hagut extinció de la resposta, i no un efecte d'inhibició de tipus transitori.

3.5. Conclusions

1) Els animals alcohòlics i els control no presenten diferències quant a l'índex de discriminació la setmana en que han de portar a terme la Prova de Dos Estímuls de Pavlov, ni hi ha diferències majors en l'evolució. Ambdós grups presenten un índex de discriminació superior al 80%.

2) L'abstinència té un efecte disruptor sobre el control inhibitori en ambdós grups (Alcohol i Control) tot i que aquest és encara més pronunciat en els animals alcohòlics que en els controls.

3) El control inhibitori que mostren els subjectes del grup Control Abstinents injectats amb Salí és equivalent al que mostren els Alcohòlics No-Abstinentes injectats amb Salí.

4) La nicotina en la Prova de Dos Estímuls de Pavlov en els subjectes alcohòlics No-Abstinentes té un efecte disruptor dosi-dependent, amb un efecte màxim d'increment de la taxa a la dosi de 20nM.

5) En canvi, en els animals Abstinentes la nicotina té un efecte contrari als No-Abstinentes, millorant el control inhibitori amb un efecte màxim a la dosi de 10nM. Així doncs, la corba dosi-resposta per la nicotina intraseptal pels animals Alcohòlics Abstinentes, respecte a la mateixa corba dels No-Abstinentes, mostra un efecte invers i un desplaçament a l'esquerre (sensibilització) de l'efecte màxim.

6) En els subjectes del grup control No-Abstinents, la nicotina té un efecte disruptor inespecífic sobre el control inhibitori que és independent de la dosi i comparable amb l'efecte de l'abstinència en aquest grup.

7) Tots els grups experimentals fan una extinció posterior a la Prova de Dos Estímuls de Pavlov. L'evolució d'aquesta extinció, respecte a la Prova de Dos Estímuls, és decreixent i igual per a tots els grups.

4. DISCUSSIÓ GENERAL

4. DISCUSSIÓ GENERAL

S'ha dut a terme dos experiments un d'aprenentatge associatiu simple, i un altre d'entrenament de discriminació i prova de control inhibitori, per tal d'estudiar els efectes de l'abstinència i de dues dosis de nicotina intraseptal, en grups de rates alcohòliques i controls.

Entre els resultats del present estudi destaquem en primer lloc la manca d'efecte de l'alcohol en l'aprenentatge de discriminació, tan pel que fa a l'evolució, a l'índex màxim de discriminació assolit, com a l'estabilitat d'aquest índex en les darreres sessions. No és la primera vegada que trobem que l'alcohol no perjudica de manera específica els processos d'aprenentatge, de fet, en animals no operats, fins i tot hem trobat superior execució, o aprenentatge més ràpid en subjectes alcohòlics, en el *Free Shaping*, i en l'aprenentatge d'evitació activa (Pallarés *et al.*, 1992; 1997), en canvi en tasques on l'execució motriu era de major exigència, com ara laberints complexos sí que hem trobat efectes nocius, d'execució pròpiament (Ribas, 2002). D'altra banda, aquest resultat ja es podia anticipar del fet que la taxa de resposta en el *Free Shaping* no ha estat afectada per l'alcohol, dada que ja havia sigut obtinguda en estudis precedents, i resultat important perquè, de ser altrament, hauria compromès la validesa de la Prova de Dos Estímuls, la mesura de la qual és precisament la taxa de respostes. Sovint trobem estudis confirmant els efectes negatius de l'alcohol en diverses proves d'aprenentatge però, com ja hem comentat a la part teòrica, la nostra explicació per a les dades discrepant en aquest sentit, és la manca relativa d'estudis fets en animals bevedors crònics i voluntaris d'alcohol. En aquest cas, havíem hipotetitzat que no hi hauria efecte negatiu de l'alcohol en l'aprenentatge de la discriminació, i així ha succeït, efectivament.

Un dels propòsits majors del present treball ha estat l'avaluació de la condició d'abstinència, per la qual no disposavem de dades precedents. Hem trobat que l'abstinència alcohòlica és qualitativament diferent de l'abstinència de glucosa, com també ho és la interacció de l'abstinència amb les dosis estudiades de nicotina. L'abstinència de glucosa no afecta l'adquisició de la resposta a la palanca, com en canvi sí que ho fa l'abstinència alcohòlica, que la retarda. Les dosis de nicotina provades en l'aprenentatge simple, no

modifiquen de manera diferencial l'execució dels subjectes controls abstinentes, i pel que fa a la mesura de control inhibitori, la Prova de Dos Estímuls de Pavlov, l'únic efecte de l'abstinència de glucosa és la desinhibició de la resposta, essent la nicotina incapaç de modificar aquesta desinhibició en qualsevol de les dosis que han estat provades. En canvi, pel que fa a l'abstinència alcohòlica, les dades mostren una situació que es pot descriure de la següent manera. Primer, d'una banda, l'abstinència alcohòlica afecta clarament l'adquisició de la resposta a la palanca retardant aquesta i, d'altra banda, redueix dràsticament el grau de control inhibitori, augmentant la taxa de resposta a la Prova de Dos Estímuls. Segon, la nicotina intraseptal reverteix l'efecte de l'abstinència alcohòlica, “normalitzant” la resposta en els alcohòlics abstinentes equiparant-los al grup alcohòlic no abstinent injectat amb salí, i ho fa en dosis diferents en funció de la tasca. A la dosi de 20nM normalitza el criteri d'adquisició de la resposta a la palanca, essent ineficaç la dosi de 10nM, mentre que aquesta mateixa dosi suprimeix la disminució del control inhibitori produïda per l'abstinència, essent l'efecte de la dosi major (20nM) de menor magnitud.

Per tan tenim d'una banda que l'administració intraseptal de nicotina, té un perfil invertit en funció de la condició d'abstinència, i d'altra, que no totes les tasques afectades per l'abstinència alcohòlica són afectades en el mateix grau per la nicotina, concretament sembla que la nicotina intraseptal actua més específicament restablint el control inhibitori que normalitzant l'adquisició de la resposta. L'explicació d'aquesta diferència probablement és que el septum medial, origen del feix septohipocàmpic, té una implicació més directa en la inhibició conductual, i per tant el control inhibitori, que sobre un aprenentatge associatiu simple.

A banda d'això, tenim també l'efecte disruptor, dosi-dependent de la nicotina en alcohòlics no abstinentes, en els quals aquesta produeix un efecte desinhibidor, especialment a la dosi màxima. És remarcable que els subjectes controls no abstinentes, que són els que mostren un major control inhibitori de tots els grups del disseny, també són desinhibits per la nicotina intraseptal, però no hem obtingut una veritable corba dosi-resposta. És més, en els controls abstinentes, la nicotina no produeix cap efecte, probablement perquè aquests subjectes ja estan desinhibits a causa de l'abstinència de glucosa. Tot plegat ens fa pensar en un efecte inespecífic, tan de la condició com del tractament en aquests subjectes.

Estudis moleculars en rates APP han mostrat que en l'hipocamp d'aquests subjectes hi ha un increment considerable de la densitat dels receptors nicotínics, produït pel consum crònic d'alcohol (Robles *et al.*, 2003), és més que probable que aquesta regulació a l'alça es doni en altres zones cerebrals on abundi el subtipus de receptor $\alpha 4\beta 2$. Les presents dades són congruents amb aquesta adaptació farmacodinàmica, doncs la regulació a l'alça del receptor nicotínic, com ja s'ha explicat, és de tipus irreversible. D'altra banda, deduïm que l'alcohol i la nicotina actúen conjuntament, perquè funcionalment es substitueixen l'un a l'altre. És a dir, en els alcohòlics abstinentes, la falta del modulador positiu que és l'alcohol, pot ser compensada en certa manera per la nicotina, agonista d'aquest subtipus de receptor, això explicaria la capacitat d'aquesta droga per a neutralitzar l'estat d'abstinència alcohòlica. En canvi en els controls, on no hi ha aquest increment extraordinari del receptor nicotínic, només podem observar l'acció de la nicotina en competició amb el neurotransmissor acetilcolina, i l'efecte es dona solament a la dosi més alta en l'adquisició, mentre que en la inhibició no podem assegurar un efecte específic de la nicotina a la vista dels nostres resultats.

Són diverses les consideracions de tipus general que podem fer arribats en aquest punt. Primerament, voldríem remarcar que el comportament “normalitzat” de l'alcohòlic crònic (no degradat) és probablement més habitual del que es vol admetre, subjectes tolerants als efectes depressors de l'alcohol, que mostren capacitats d'aprenentatge i rendiment cognitiu força normals, i en els que només observadors atents podrien detectar una certa mancança pel que fa a la inhibició, més exactament al control inhibitori del comportament per part de certs estímuls. Subjectes la conducta dels quals només es desorganitza ostensiblement en cas d'abstinència. Relacionat amb l'anterior hi el fet evidenciat en els nostres resultats de la manca total de simetria entre l'abstinència alcohòlica i la de glucosa, encara que es tracti de dues conductes consumatòries, amb possibilitats d'abús, ni les propietats del comportament, ni la reactivitat farmacològica, ens permeten d'establir paral·lelismes entre l'alcoholisme, i l'abús per exemple de dolços, i aquestes discrepàncies fan pensar també en diferents substrats neuronals, malgrat puguin coincidir parcialment, no n'hem trobat evidències.

D'altra banda, es desprèn del present treball (i també d'algunes dades clíniques) que ni a nivell de comportament, ni de reactivitat a diferents drogues o psicofàrmacs, l'alcohòlic abstinent, no solament difereix de l'alcohòlic no abstinent, sinó que reacciona de manera

oposada (dades de comportament, perfil invertit de la nicotina intraseptal). Això té una conseqüència directa de cara a l'aplicació de tot tipus de teràpies. És ben evident que, pel que fa a la teràpia psicològica adreçada a obtenir un canvi en el comportament del bevedor, és molt diferent el subjecte que actua reduint progressivament el consum d'alcohol o consumint-lo de manera intermitent, que el bevedor abstinent que manté la condició d'abstinència, la reacció d'aquests a una mateixa teràpia serà probablement molt diferent. De moment hem verificat en els nostres subjectes que l'abstinència alcohòlica augmenta la desinhibició que produeix en consum d'alcohol, això d'una banda farà més difícil rebutjar l'alcohol i evitar les situacions en que és més probable consumir alcohol, afavorint les recaigudes, o fent impossible la modificació del comportament.

Un tercer aspecte fa referència al consum concurrent d'altres drogues, és coneguda l'afició dels exbevedors al consum de tabac, però hi ha altres drogues que són també consumides concurrentment amb l'alcohol, o que són un recurs en cas d'abstinència. Nosaltres hem estudiat els circuits colinèrgics, però cal tenir present que l'alcohol modifica en major o menor grau qualsevol substrat biològic susceptible, al llarg del procés d'alcoholisme. Cal tenir present, que en situació d'abstinència el perfil, la corba dosi resposta, i fins i tot la perillositat d'aquestes drogues quant al comportament, entre d'altres qüestions, en resultarà dràsticament modificada. Dels presents resultats podem concloure que el consum de nicotina podria afavorir l'abstinència alcohòlica doncs hem vist que “normalitza” el control inhibitori disminuït per l'abstinència.

Per últim, però no menys important, hi ha tota la qüestió de la teràpia farmacològica i aquesta, és una qüestió de la major transcendència, començant pel fet que segurament no és possible reproduir en animals experimentals tota l'amplitud i la intensitat de les adaptacions fisiològiques i moleculars que es donen en l'alcoholisme crònic. D'altra banda, és fonamental preveure que el perfil terapèutic dels fàrmacs per a l'alcoholisme, que actuen al SNC, canviarà de manera dràstica potser, en funció de si l'abstinència és continuada o intermitent, del consum concurrent d'altres drogues, i fins i tot medicaments habituals, a més de la resta de variables reconegudes, tipus d'alcoholisme, condicionants genètics i ambientals, entre d'altres.

Hem començat a escriure aquesta tesi dient que l'alcohol és probablement la primera droga objecte de consum abusiu. També hem dit que per nosaltres el que fa l'alcohol per a ser addictiu és lesionar de manera permanent els substrat neural que controla la inhibició, abocant a l'abús crònic. I no obstant això, deixant de banda el fet que probablement no és possible de reproduir en animals experimentals tot el conjunt d'efectes moleculars i fisiològics de l'alcoholisme crònic, el grau de coneixement de l'acció d'aquesta droga al cervell és manifestament millorable. No cal més que veure la incidència del alcohol com a objectiu prioritari en recerca bàsica en els diversos plans de recerca estatal, per a adonar-se que no es dóna al tema la importància que mereix, més encara si es té en compte que el nostre és un país productor d'alcohol, on paradoxalment moltes persones consumeixen de manera habitual, i sense problemes, begudes alcohòliques. Confiem haver contribuït a projectar una mica de llum i interès sobre aquest gran problema.

5. CONCLUSIONS GENERALS

5. CONCLUSIONS GENERALS

Efectes de l'alcohol

L'Alcohol no afecta l'aprenentatge de la resposta a la palanca per menjar, en animals injectats amb salí al *septum* medial. Tampoc afecta en aquests subjectes l'aprenentatge d'una discriminació, ni quant a l'evolució, ni quant al nivell resultant de l'índex de discriminació. En canvi, l'alcohol disminueix la inhibició avaluada mitjançant la Prova de Dos Estímuls de Pavlov.

Efectes de l'abstinència

L'abstinència d'alcohol ha alentit considerablement l'adquisició de la resposta a la palanca. I ha produït un efecte desinhibidor a la Prova de Dos Estímuls de Pavlov.

L'abstinència de glucosa no afecta l'adquisició de la resposta a la palanca, però en canvi trastorna la inhibició disminuint-la, a la Prova de Dos Estímuls de Pavlov.

Efectes de la Nicotina intraseptal

La nicotina disminueix la velocitat d'adquisició de la resposta a la palanca. En els controls, la nicotina també ha alentit l'adquisició de la resposta. En animals alcohòlics la corba dosi-resposta està desplaçada a l'esquerra i l'efecte màxim s'ha incrementat respecte dels controls, la qual cosa indica una sensibilització funcional per a la nicotina intraseptal en alcohòlics.

La nicotina intraseptal ha produït una desinhibició en forma dosi-dependent en els animals alcohòlics a la Prova de Dos Estímuls de Pavlov. Els subjectes control també mostren desinhibició però independentment de la dosi de nicotina injectada.

Efectes de l'abstinència i la nicotina intraseptal

La nicotina intraseptal en subjectes alcohòlics abstinentes, ha accelerat l'adquisició de la resposta a la palanca en forma dosi dependent, neutralitzant els efectes de l'abstinència en aquesta mesura.

Quant a la inhibició, la nicotina, en alcohòlics abstinentes ha millorat el control inhibitori, en forma dosi-dependent, amb un desplaçament a l'esquerra per a aquest efecte, respecte dels alcohòlics no-abstinentes.

La nicotina intraseptal neutralitza els efectes de l'abstinència d'alcohol, equiparant la resposta amb la dels alcohòlics no-abstinentes que no han rebut nicotina, per bé que en dosis diferents en l'adquisició, i en el control inhibitori.

La nicotina no té efecte en subjectes controls abstinentes ni en l'adquisició, ni en la Prova de Dos Estímuls de Pavlov.

Conclusió general

Els subjectes alcohòlics mostren una reactivitat exacerbada a l'administració de nicotina intraseptal, en comparació amb els controls. En l'abstinència d'alcohol, la resposta dels subjectes és molt diferent a la dels alcohòlics no-abstinentes, l'administració de nicotina normalitza la resposta dels abstinentes, equiparant-los als no abstinentes injectats amb salí. Tot plegat és congruent amb una sensibilització funcional de la resposta colinèrgica de tipus nicotínic a l'acció concurrent de l'alcohol i la nicotina. Aquesta sensibilització caracteritza el cervell alcohòlic i el distingeix del control.

6. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

6. REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

- Abdulla, F.A.; Bradbury, E.; Calaminici, M.R.; Lippiello, P.M.; Wonnacott, S.; Gray, J.A. i Sindén, J.D. (1996). Relationship between up-regulation of nicotine binding sites in rat brain and delayed cognitive enhancement observed after chronic or acute nicotinic receptor stimulation. *Psychopharmacology*, 124: 323-31.
- Abe, K.; Yamaguchi, S.; Sugiura, M. i Saito, H. (1999). The ethanol metabolite acetaldehyde inhibits the induction of long-term potentiation in the rat dentate gyrus in vivo. *British Journal of Pharmacology*, 127: 1805-10.
- Abi-Dargham, A.; Krystal, J.; Anjivel, S.; Scanley, B.E.; Zoghbi, S.; Baldwin, R.M.; Rajeevan, N.; Ellis, S.; Petrakis, I.L.; Seibyl, J.P.; Charney, D.S.; Laruelle, M. i Innis, R.B. (1998). Alterations of benzodiazepine receptors in type II alcoholics measured with SPECT and [¹²³I]iomazenil. *American Journal of Psychiatry*, 155: 1550-5.
- Acquas, E.; Meloni, M. i Di Chiara, G. (1993). Blockade of delta-opioid receptors in the nucleus accumbens prevents ethanol-induced stimulation of dopamine release. *European Journal of Pharmacology*, 230: 239-41.
- Adams, R.D. i Victor, M. (1993). *Principles of Neurology*. McGraw-Hill: New York.
- Adams, K.M.; Gilmar, S.; Koeppe, R.A.; Kluin, K.J.; Brunberg, J.A.; Dede, D.; Berent, S. i Kroll, P.D. (1993). Neuropsychological deficits are correlated with frontal hypometabolism in positron emission tomography studies of older alcoholic patients. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 17: 205-10.
- Adinoff, B.; Kramer, G.L. i Petty, F. (1995). Levels of gamma-aminobutyric acid in cerebrospinal fluid and plasma during alcohol withdrawal. *Psychiatry Research*, 59: 137-44.
- Agarwall, D.P. i Goedde, H.W. (1990). *Alcohol metabolism, alcohol intolerance and alcoholism*. Springer-Verlag: Berlin.
- Aguayo, L.G. (1991). Demonstration that ethanol potentiates the GABA_A-activated Cl⁻ current in central mammalian neurons. *Alcohol and Alcoholism, Suppl. 1*: 187-90.
- Albanese, A.; Castagna, M. i Altavista, M.C. (1985). Cholinergic and non-cholinergic forebrain projections to the interpeduncular nucleus. *Brain Research*, 329: 334-9.
- Albert, D.J. i Chew, G.L. (1980). The septal forebrain and the inhibitory modulation of attack and defense in the rat: A review. *Behavioral and Neural Biology*, 30: 357-88.
- Albuquerque, E.X.; Alkondon, M.; Pereira, E.F.; Castro, N.G.; Schrattenholz, A.; Barbosa, C.T.; Bonfante-Cabarcas, R.; Aravaca, Y.; Eisenberg, H.M. i Maelicke, A.

- (1997). Properties of neuronal nicotinic acetylcholine receptors: pharmacological characterization and modulation of synaptic function. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 280: 1117-36.
- Alkondon, M. i Albuquerque, E.X. (1995). Diversity of nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampal neurons. III. Agonist actions of the novel alkaloid epibatidine and analysis of type II current. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 274: 771-82.
- Alkondon, M.; Pereira, E.F.; Barbosa, C.T. i Albuquerque, E.X. (1997). Neuronal nicotinic acetylcholine receptor activation modulates gamma-aminobutyric acid release from CA1 neurons of rat hippocampal slices. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 283: 1396-1411.
- Alkondon, M.; Pereira, E.F.; Eisenberg, H.M. i Albuquerque, E.X. (2000). Nicotinic receptor activation in human cerebral cortical interneurons: a mechanism for inhibition and disinhibition of neuronal networks. *Journal of Neuroscience*, 20: 66-75.
- Allgaier, C. (2002). Ethanol sensitivity of NMDA receptors. *Neurochemistry International*, 41: 377-82.
- Allison, C. i Pratt, J.A. (2003). Neuroadaptive processes in GABAergic and glutamatergic systems in benzodiazepine dependence. *Pharmacology and Therapeutics*, 98: 171-95.
- Amaral, D.G. i Kurz, J. (1985). An analysis of the origins of the cholinergic and noncholinergic septal projections to the hippocampal formation of the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 240: 37-59.
- Amaral, D.G. i Witter, M. (1995). Hippocampal formation. En Paxinos, G. (Ed.). *The rat nervous system*. Academic Press: San Diego.
- American Psychiatric Association (A.P.A.). (2002). *Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. DSM-IV-TR (Texto Revisado)*. Masson: Barcelona.
- Amit, Z.; Smith, B.R. i Sutherland, E.A. (1987). Oral self-administration of alcohol: a valid approach to the study of drug self-administration and human alcoholism. En: Bozarth, M.A. (Ed.). *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs*. Springer-Verlag: New York.
- Andersen, P.; Bland, H.B.; Myhrer, T. i Schwartzkroin, P.A. (1979). Septo-hippocampal pathway necessary for dentate theta production. *Brain Research*, 165: 13-22.
- Anton, R.F. (1999). What is craving? Models and implications for treatment. *Alcohol Research and Health*, 23: 165-73.
- Anton, R.F. (2001). Pharmacologic approaches to the management of alcoholism. *Journal of Clinical Psychiatry*, 62 (Suppl 20): 11-7.
- Aradottir, S.; Moller, K. i Alling, C. (2004). Phosphatidylethanol formation and degradation in human and rat blood. *Alcohol and Alcoholism*, 39: 8-13.

- Aragón, C.; Abitbol, M. i Amit, Z. (1986). Acetaldehyde may mediate reinforcement and aversion produced by ethanol. An examination using conditioned taste aversion paradigm. *Neuropharmacology*, 25: 79-83.
- Aragón, C.M.; Spivak, K. i Amit, Z. (1991). Effect of 3-amino-1,2,4-triazole on ethanol-induced narcosis, lethality and hypothermia in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 39: 55-9.
- Aragón, C.M. i Amit, Z. (1992). The effect of 3-amino-1,2,4-triazole on voluntary ethanol consumption: evidence for brain catalase involvement in the mechanism of action. *Neuropharmacology*, 31: 709-12.
- Aragón, C.M.; Rogan, F. i Amit, Z. (1992). Ethanol metabolism in rat brain homogenates by acatalase-H₂O₂ system. *Biochemical Pharmacology*, 44: 93-8.
- Aragón, C.M.G. i Miquel, M. (1995). Alcoholismo. En Belloch, A.; Sandín, B. i Ramos, F. (Eds.). *Manual de psicopatología, Vol.1*, pp: 465-91. McGraw-Hill: Madrid.
- Aragón, C.; Miquel, M.; Correa, M. i Sanchis-Segura, C. (2002). Alcohol y metabolismo humano. *Adicciones*, 14(Supl.1): 23-42.
- Arendt, T.; Bigl, V.; Arendt, A. i Tennstedt, A. (1983). Loss neurons in nucleus basalis of Meynert in Alzheimer disease, paralysis agitans and Korsakoff disease. *Acta Neuropathologica*, 61: 101-8.
- Arendt, T.; Hennig, D.; Gray, J.A. i Marchbanks, R. (1988). Loss of neurons in the rat basal forebrain cholinergic projection system after prolonged intake of alcohol. *Brain Research Bulletin*, 21: 563-70.
- Arendt, T.; Allen, Y.; Marchbanks, R.M.; Schugens, M.M.; Sinden, J.; Lantos, P.L. i Gray, J.A. (1989). Cholinergic system and memory in the rat: Effects of chronic ethanol, embryonic basal forebrain brain transplants and excitotoxic lesions of cholinergic basal forebrain projection system. *Neuroscience*, 33: 435-62.
- Arendt, T.; Schugens, M.M. i Bigl, V. (1990). The cholinergic system and memory: Amelioration of ethanol-induced memory deficiency by physostigmine in rat. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 50: 251-61.
- Arendt, T.; Brückner, M.K.; Pagliusi, S. i Krell, T. (1995). Degeneration of rat cholinergic basal forebrain neurons and reactive changes in nerve growth factor expression after chronic neurotoxic injury I. Degeneration and plastic response of basal forebrain neurons. *Neuroscience*, 65: 633-45.
- Arnone, M.; Maruani, J.; Chaperon, F.; Thiebot, M.H.; Poncelet, M.; Soubrie, P. i Le Fur, G. (1997). Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR 141716, an antagonist of central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology*, 132: 104-6.
- Asin, K.E.; Wirtshafter, D. i Tabakoff, B. (1985). Failure to established a conditioned place preference with ethanol in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 22: 169-73.
- Assaf, S.Y. i Miller, J.J. (1978). The role of a raphe-serotonin system in the control of septal unit activity and hippocampal desynchronization. *Neuroscience*, 3: 539-50.

- Ayerst Laboratories. (2001). *Antabuse (Disulfiram) in Alcoholism*. Philadelphia, P.A.: Wyeth-Ayerst Company.
- Babor, T.F.; Hofmann, M.; Del Boca, F.K.; Hesselbrock, V.; Meyer, R.E.; Dolinsky, Z.S. i Rounsaville, B. (1992). Types of alcoholics. Evidence for an empirically derived typology based on indicators of vulnerability and severity. *Archives of General Psychiatry*, 49: 599-608.
- Balcells, N. (2002). *Efectes de l'administració de la nicotina intracerebral en el septum medial en rates alcohòliques*. Treball de recerca. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Ballidin, J.; Berglund, M.; Borg, S.; Mansson, M.; Bendtsen, P.; Franck, J.; Gustafsson, L.; Halldin, J.; Nilsson, L.H.; Stolt, G. i Wilander, A. (2003). A 6-month controlled naltrexone study: Combined effect with cognitive behavioral therapy in outpatient treatment of alcohol dependence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27: 1142-9.
- Barnard, E.A.; Skolnick, P.; Olsen, R.W.; Mohler, H.; Sieghart, W.; Biggio, G.; Braestrup, C.; Bateson, A.N. i Langer, S.Z. (1998). International Union of Pharmacology. XV. Subtypes of γ -aminobutyric acid_A receptors: classification on the basis of subunit structure and function. *Pharmacological Reviews*, 50: 291-313.
- Barry, J.; Dubois, M.P.; Poulain, P. i Léonardelli, J. (1973). Caractérisation et topographie des neurones hypothalamiques immunoréactifs avec des anticorps anti LRF de synthèse. *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 276: 3191-3.
- Barry, J.; Hoffmann, G.E. i Wray, S. (1985). LHRH-containing systems. En Björklund, A. i Hökfelt, T. (Eds.). *Handbook of chemical neuroanatomy. Vol. 4, Part 1*; pp: 166-215. Elsevier: Amsterdam.
- Batt, R.D. (1989). Absorption, distribution and elimination of alcohol. En Crow, K.E. i Batt, R.D. (Eds.). *Human metabolism of alcohol*. CRC Press: Florida.
- Baumann, S.W.; Baur, R. i Sigel, E. (2002). Forced subunit assembly in $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ GABA_A receptors. *Journal of Biological Chemistry*, 277: 46020-5.
- Bayard, M.; McIntyre, J.; Hill, K.R. i Woodside, J. (2004). Alcohol withdrawal syndrome. *American Family Physician*, 69: 1443-50.
- Beatty, W.W.; Katzung, V.M.; Nixon, S.J. i Moreland, V.J. (1993). Problem-solving deficits in alcoholics: Evidence from the California Card Sorting test. *Journal of Studies on Alcohol*, 54: 687-92.
- Beck, C.H.M. i Burger, L.Y. (1992). Food granules elicit heavy drinking in polydipsic rats independently of meal duration. *Physiology and Behavior*, 51: 419-23.
- Beckemeier, M.E. i Bora, P.S. (1998). Fatty acid ethyl esters: Potentially toxic products of myocardial ethanol metabolism. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 30: 2487-94.

- Becker, H.C. (1998). Kindling in alcohol withdrawal. *Alcohol Research and Health*, 22: 25-33.
- Behar, K.; Rothman, D.; Petersen, K.; Hooten, M.; Delaney, R.; Petroff, O.A.; Shulman, G.I.; Navarro, V.; Petrakis, I.L.; Charney, D.S. i Krystal, J.H. (1999). Preliminary evidence of reduced cortical GABA levels in localized ¹H NMR spectra of alcohol dependent and hepatic encephalopathy patients. *American Journal of Psychiatry*, 156: 952-4.
- Benjamin, D.; Grant, E.R. i Pohorecky, L.A. (1993). Naltrexone reverses ethanol-induced dopamine release in the nucleus accumbens in awake, freely moving rats. *Brain Research*, 621: 137-40.
- Benlhabib, E.; Baker, J.I.; Keyler, D.E. i Singh, A.K. (2004a). Kudzu root extract suppresses voluntary alcohol intake and alcohol withdrawal symptoms in P rats receiving free access to water and alcohol. *Journal of Medicinal Food*, 7: 168-79.
- Benlhabib, E.; Baker, J.I.; Keyler, D.E. i Singh, A.K. (2004b). Effects of purified puerarin on voluntary alcohol intake and alcohol withdrawal symptoms in P rats receiving free access to water and alcohol. *Journal of Medicinal Food*, 7: 180-6.
- Benloucif, S.; Keegan, M.J. i Galloway, M.P. (1993). Serotonin-facilitated dopamine release in vivo: pharmacological characterization. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 265: 373-7.
- Bennet, R.H. i Samson, H.H. (1991). Ethanol-related cues and behavioral tolerance to ethanol in humans. *The Psychological Record*, 41: 429-37.
- Bennett, T.L.; Nunn, P.J. i Inman, D.P. (1971). Effects of scopolamine on hippocampal theta and correlated discrimination performance. *Physiology and Behavior*, 7: 451-4.
- Benwell, M.E.; Balfour, D.J. i Anderson, J.M. (1988). Evidence that tobacco smoking increases the density of (-)-[³H] nicotine binding sites in human brain. *Journal of Neurochemistry*, 50: 1243-7.
- Beracochea, D.; Lescaudron, L.; Tako, A.; Verna, A. i Jaffard, R. (1987). Build-up and release from proactive interference during chronic ethanol consumption in mice: a behavioral and neuroanatomical study. *Behavioural Brain Research*, 25: 63-74.
- Bergvall, A.H.; Fahlke, C.; Jonsson, L. i Hansen, S. (1996). In quest for a possible association between heightened social aggression and excessive alcohol drinking in the rat. *Physiology and Behavior*, 59: 807-12.
- Berkaloff, A.; Bourguet, J.; Favard, P. i Lacroix, J. (1988). *Biología y fisiología celular: Cloroplastos, peroxisomas, división celular*. Omega: Barcelona.
- Bien, T.H. i Burge, R. (1990). Smoking and drinking: A review of the literature. *International Journal of the Addictions*, 25: 1429-54.
- Black, R.W.; Albiniak, T.; Davis, M. i Schumpert, J. (1973). A preference in rats for cues associated with intoxication. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 2: 423-4.

- Blackman, D.E. i Sanger, D.I. (Eds.). (1978). *Contemporary research in behavioral pharmacology*. Plenum Press: New York.
- Blanchard, D.C.; Blanchard, R.J.; Lee, E.M. i Nakamura, S. (1979). Defensive behaviors in rats following septal and septal-amygdala lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 93: 378-90.
- Blanchard, R.J.; Hori, K.; Flanely, K.; Blanchard, D.C. (1987a). The effects of ethanol on the offense and defensive behaviors of male and female rats during group formation. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 26: 61-4.
- Blanchard, R.J.; Hori, K.; Tom, P. i Blanchard, D.C. (1987b). Social structure and ethanol consumption in the laboratory rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 28: 437-42.
- Blanchard, B.A.; Steindorf, S.; Wang, S. i Glick, S.D. (1993a). Sex differences in ethanol-induced dopamine release in nucleus accumbens and in ethanol consumption in rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 17: 968-73.
- Blanchard, R.J.; Yudko, E.B. i Blanchard, D.C. (1993b). Alcohol, aggression and the stress of subordination. *Journal of Studies on Alcohol, Suppl.11*: 146-55.
- Blandina, P.; Goldfarb, J. i Green, J.P. (1988). Activation of a 5-HT₃ receptor releases dopamine from rat striatal slice. *European Journal of Pharmacology*, 155: 349-50.
- Blandina, P.; Goldfarb, J.; Craddock-Royal, B. i Green, J.P. (1989). Release of endogenous dopamine by stimulation of 5-hydroxytryptamine₃ receptors in rat striatum. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 251: 803-9.
- Blass, E.M. i Hanson, D.G. (1970). Primary hyperdipsia in the rat following septal lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 70: 87-93.
- Bliss, T.V.P. i Collingridge, G.L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 361: 31-9.
- Blitzer, R.D.; Gil, O. i Landau, E.M. (1990). Long-term potentiation in rat hippocampus is inhibited by low concentrations of ethanol. *Brain Research*, 537: 203-8.
- Blokland, A.; Prickaerts, J. i Raaijmakers, W. (1993). Absence of impairments in spatial and temporal discrimination learning in Lewis rats after chronic ethanol consumption. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 46: 27-34.
- Blomqvist, O.; Engel, J.A.; Nissbrandt, H. i Söderpalm, B. (1993). The mesolimbic dopamine-activating properties of ethanol are antagonized by mecamylamine. *European Journal of Pharmacology*, 249: 207-13.
- Blomqvist, O.; Eriscon, M.; Engel, A. i Söderpalm, B. (1997). Accumbal dopamine overflow after ethanol: localization of the antagonizing effects of mecamylamine. *European Journal of Pharmacology*, 334: 149-56.

- Bobo, J.K. (1989). Nicotine dependence and alcoholism epidemiology and treatment. *Journal of Psychoactive Drugs*, 21: 323-9.
- Bohn, M.J. (1993). Alcoholism. *Psychiatric Clinics of North America*, 16: 679-92.
- Boileau, I.; Assaad, J.M.; Pihl, R.O.; Benkelfat, C.; Leyton, M.; Diksic, M.; Tremblay, R.E. i Dagher, A. (2003). Alcohol promotes dopamine release in the human nucleus accumbens. *Synapse*, 49: 226-31.
- Bond, N. (1976). Schedule-induced polydipsia as a function of the interval between food pellets. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 7: 139-41.
- Bond, N.W. i Di Giusto, E.L. (1976). Impairment of Hebb-Williams maze performance following prolonged alcohol consumption in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 5: 85-6.
- Booth, B.M. i Blow, F.C. (1993). The kindling hypothesis: further evidence from a U.S. national study of alcoholic men. *Alcohol and Alcoholism*, 28: 593-8.
- Bosron, W.F.; Magnes, L.J. i Li, T-K. (1983). Human liver alcohol dehydrogenase: ADH Indianapolis results from genetic polymorphism at the aDH2 gene locus. *Biochemical Genetics*, 21: 735-44.
- Bosron, W.F. i Li, T.K. (1987). Catalytic properties of human liver alcohol dehydrogenase isoenzymes. *Enzyme*, 37: 19-28.
- Boyardjieva, N.; Reddy, B.V. i Sarkar, D.K. (1997). Forskolin delays the ethanol-induced desensitization of hypothalamic β -endorphin neurons in primary cultures. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 21: 477-82.
- Brady, J.V. i Nauta, W.H.J. (1953). Subcortical mechanisms in emotional behavior: Affective changes following septal forebrain lesions in the albino rat. *Journal of Comparative Physiology*, 46: 339-46.
- Brady, J.V.; Griffiths, R.R.; Hienz, R.D.; Ator, N.A.; Kukas, S.E.; Lam, N.J. (1987). Assessing drugs for abuse liability and dependence potential in laboratory primates. En: Bozarth, M.A (Ed.). *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs*. Springer Verlag: New York.
- Brauer, K.; Schober, A.; Wolff, J.R.; Winkelmann, E; Lippa, H.; Luth, H.J. i Börttcher, H. (1991). Morphology of neurons in the rat basal forebrain nuclei: Comparison between NADPH-diaphorase histochemistry and immunohistochemistry of glutamic acid decarboxylase, choline acetyltransferase, somatostatin and parvalbumin. *Journal für Hirnforschung*, 32: 1-17.
- Breese, C.R.; Marks, M.J.; Logel, J.; Adams, C.E.; Sullivan, B.; Collins, A.C. i Leonard, S. (1997). Effect of smoking history on [3 H]nicotine binding in human postmortem brain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 282: 7-13.

- Brick, J. i Erickson, C.K. (1998). *Drugs, the brain and behavior. The pharmacology of abuse and dependence*. Haworth Medical Press: New York.
- Brito, G.N. i Brito, L.S. (1990). Septohippocampal system and the prelimbic sector of frontal cortex: a neuropsychological battery analysis in the rat. *Behavioral Brain Research*, 36: 127-46.
- Brodie, M.S.; Shefner, S.A. i Dunwiddie, T.V. (1990). Ethanol increases the firing rate of dopamine neurons of the rat ventral tegmental area in vitro. *Brain Research*, 508: 65-9.
- Brown, Z.W.; Amit, Z. i Rockman, G.E. (1979). Intraventricular self-administration of acetaldehyde, but not ethanol, in naive laboratory rats. *Psychopharmacology*, 64: 271-6.
- Brown, Z.W.; Amit, Z. i Smith, B. (1980). Intraventricular self-administration of acetaldehyde and voluntary consumption of ethanol in rats. *Behavioral and Neural Biology*, 28: 150-5.
- Brown, M.E.; Anton, R.F.; Malcolm, R. i Ballenger, J.C. (1988). Alcohol detoxification and withdrawal seizures: clinical support for a kindling hypothesis. *Biological Psychiatry*, 23: 507-14.
- Brown, S.A.; Vik, P.W.; Patterson, T.L.; Grant, I. i Schuckit, M.A. (1995). Stress, vulnerability and adult alcohol relapse. *Journal of Studies on Alcohol*, 56: 538-45.
- Buck, K.J.; Allan, A.M. i Harris, R.A. (1989). Fluidization of brain membranes by A₂C does not produce anesthesia and not does augment muscimol-stimulated ³⁶C⁻ influx. *European Journal of Pharmacology*, 160: 359-67.
- Buck, K.J.; Reilly, M.T.; Rogers, L.M.; Szeliga, K.; Grant, K. i Brodie, M.S. (2004). Serotonin 5-HT₂ receptors and alcohol: reward, withdrawal and discrimination. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 28: 211-6.
- Buisson, B. i Bertrand, D. (2001). Chronic exposure to nicotine upregulates the human $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor function. *Journal of Neuroscience*, 21: 1819-29.
- Buisson, B. i Bertrand, D. (2002). Nicotine addiction: the possible role of functional upregulation. *Trends in Pharmacological Sciences*, 23: 130-6.
- Bunney, E.B.; Appel, S.B. i Brodie, M.S. (2001). Electrophysiological effects of cocaethylene, cocaine, and ethanol on dopaminergic neurons of the ventral tegmental area. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 297: 696-703.
- Burish, T.G.; Maisto, S.A.; Cooper, A.M. i Sobell, M.B. (1981). Effects of voluntary short-term abstinence from alcohol on subsequent drinking patterns of college students. *Journal of Studies on Alcohol*, 42: 1013-20.
- Burkett, E.E. i Bunnell, B.N. (1966). Septal lesions and the retention of DRL performance in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 62: 468-72.

- Butcher, L.L. (1995). Cholinergic neurons and networks. En Paxinos, G. (Ed.). *The rat nervous system*, pp: 1003-15. Academic Press: San Diego.
- Butt, C.M.; Hutton, S.R.; Stitzel, J.A.; Balogh, S.A.; Owens, J.C. i Collins, A.C. (2003). A polymorphism in the alpha4 nicotinic receptor gene (*Chrna4*) modulates enhancement of nicotinic receptor function by ethanol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27: 733-42.
- Butt, C.M.; King, N.M.; Stitzel, J.A. i Collins, A.C. (2004). Interaction of the nicotinic cholinergic system with ethanol withdrawal. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 308: 591-9.
- Butters, N. i Rosvold, H.E. (1968). Effect of septal lesions on resistance to extinction and delayed alternation in monkeys. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 66: 389-95.
- Butters, N. i Stuss, D.T. (1989). Diencephalic amnesia. En Boller, F. i Grafman, J. (Eds.). *Handbook of Clinical Neuropsychology, vol.3*: pp. 107-48. Elsevier: Amsterdam.
- Buzsáki, G. (1989). Two stage model of memory trace formation: a role for noisy brain states. *Neuroscience*, 31: 551-70.
- Buzsáki, G.; Ponomareff, G.L.; Bayardo, F.; Ruiz, R. i Gage, F.H. (1989). Neuronal activity in the subcortically denervated hippocampus: a chronic model for epilepsy. *Neuroscience*, 28: 527-38.
- Cabib, S.; Puglisi-Allegra, S.; Genua, C.; Simon, H.; Le Moal, M. i Piazza, P.V. (1996). Dose-dependent aversive and rewarding effects of amphetamine as revealed by a new place conditioning apparatus. *Psychopharmacology*, 125: 92-6.
- Cadete-Leite, A.; Tavares, M.A.; Uylings, H.B.M. i Paula-Barbosa, M.M. (1988). Granule cell loss and dendritic regrowth in the hippocampal dentate gyrus of the rat after chronic alcohol consumption. *Brain Research*, 473: 1-14.
- Cadete-Leite, A.; Andrade, J.P.; Sousa, N.; Ma, W. i Ribeiro-da-Silva, A. (1995). Effects of chronic alcohol consumption on the cholinergic innervation of the rat hippocampal formation as revealed by choline acetyltransferase immunocytochemistry. *Neuroscience*, 64: 357-74.
- Cagetti, E.; Liang, J.; Spigelman, I. i Olsen, R.W. (2003) Withdrawal from chronic intermittent ethanol treatment changes subunit composition, reduces synaptic function, and decreases behavioral responses to positive allosteric modulators of GABA_A receptors. *Molecular Pharmacology*, 63: 53-64.
- Cahill, J.F.X i Baxter, M.G. (2001). Cholinergic and noncholinergic septal neurons modulate strategy selection in spatial learning. *European Journal of Neuroscience*, 14: 1856-64.
- Cala, L.A.; Jones, B.; Mastaglia, F.L. i Wiley, B. (1978). Brain atrophy and intellectual impairment in heavy drinkers, a clinical psychometric and computerized tomographic study. *Australian and New Zealand Journal of Medicine*, 8: 147-53.

- Campbell, A.D. i McBride, W.J. (1995). Serotonin-3 receptor and ethanol-stimulated dopamine release in the nucleus accumbens. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 51: 835-42.
- Campbell, A.D.; Kohl, R.R. i McBride, W.J. (1996). Serotonin-3 receptor and ethanol stimulated somatodendritic dopamine release. *Alcohol*, 13: 569-74.
- Carai, M.A.; Agabio, R.; Bombardelli, E.; Bourov, I.; Gessa, G.L.; Lobina, C.; Morazzoni, P.; Pani, M.; Reali, R.; Vacca, G. i Colombo, G. (2000). Potential use of medicinal plants in the treatment of alcoholism. *Fitoterapia*, 71(Suppl. 1): S38-42.
- Carboni, E.; Imperato, A.; Perezzi, L. i Di Chiara, G. (1989a). Amphetamine, cocaine, phencyclidine and nomifensine increase extracellular dopamine concentrations preferentially in the nucleus accumbens of freely moving rats. *Neuroscience*, 28: 653-61.
- Carboni, E.; Acquas, E.; Frau, R. i Di Chiara, G. (1989b). Differential inhibitory effects of a 5-HT₃ antagonist on drug-induced stimulation of dopamine release. *European Journal of Pharmacology*, 64: 515-9.
- Carnes, K.M.; Fuller, T.A. i Price, J.L. (1990). Sources of presumptive glutamatergic/aspartatergic afferents to the magnocellular basal forebrain in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 302: 824-52.
- Carr, G.D.; Fibiger, H.C. i Phillips, A.G. (1989). Conditioned place preference as a measure of drug reward. En Cooper, S.J. i Liebman, J. (Eds.). *The neuropharmacological basis of reward. Monographs in psychopharmacology, Vol. I*. Oxford University Press: Oxford.
- Carroll, K.M.; Rounsaville, B.J. i Bryant, K.J. (1994). Should tolerance and withdrawal be required for substance dependence disorders? *Drug and Alcohol Dependence*, 36: 15-22.
- Carta, M.; Olivera, D.S.; Dettmer, T.S. i Valenzuela, C.F. (2002). Ethanol withdrawal upregulates kainate receptors in cultured rat hippocampal neurons. *Neuroscience Letters*, 327: 128-32.
- Cartwright, A.; Martin, F.M. i Thomson, J.G. (1959). Distribution and development of smoking habits. *Lancet*, 2: 725-7.
- Casamenti, F.; Scali, C.; Vannucchi, M.G.; Bartolini, L. i Pepeu, G. (1993). Long-term ethanol consumption by rats: effect on acetylcholine release in vivo, choline acetyltransferase activity and behavior. *Neuroscience*, 56: 465-71.
- Casariego, C.P. (1990). Utilidad de la carbamacepina en el tratamiento ambulatorio del síndrome de abstinencia alcohólico leve y moderado. *Revista Española de Drogodependencias*, 15: 123-6.
- Celik, T.; Kayir, H.; Ceyhan, M.; Demirtas, S.; Cosar, A. i Uzbay, I.T. (2004). CPP and amlodipine alter the decrease in basal acetylcholine and choline release by audiogenic stimulus in hippocampus of ethanol-withdrawn rats in vivo. *Brain Research Bulletin*, 64: 243-9.

- Celik, T.; Cakir, E.; Kayir, H.; Bilgi, C. i Uzbay, I.T. (2005). The effects of chronic ethanol consumption and withdrawal on passive avoidance task and serum cholinesterase level in rats. *Progress in Neuro-psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 29: 505-9.
- Chan, A.W.K.; Schanley, D.L. i Leong, F.W. (1983). Long-lasting reduction in ethanol selection after involuntary intake of ethanol/chlordiazepoxide. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 19: 275-80.
- Changeux, J.P. i Edelstein, S.J. (1998). Allosteric receptors after 30 years. *Neuron*, 21: 959-80.
- Changeux, J.P.; Bertrand, D.; Corringier, P.J.; Dehaene, S.; Edelstein, S.; Léna, C.; Le Novère, N.; Marubio, L.; Picciotto, M. i Zoli, M. (1998). Brain nicotinic receptors: structure and regulation, role in learning and reinforcement. *Brain Research Reviews*, 26: 198-216.
- Charness, M.E. (1993). Brain lesions in alcoholics. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 17: 2-11.
- Chawla, P.S. i Kochar, M.S. (2006). What's new in clinical pharmacology and therapeutics. *Wisconsin Medical Journal*, 105: 24-9.
- Chen, J.P.; van Praag, H.M. i Gardner, E.L. (1991). Activation of 5-HT₃ receptor by 1-phenylbiguanide increases dopamine release in the rat nucleus accumbens. *Brain Research*, 543: 354-7.
- Chick, J.; Anton, R.; Checinski, K.; Croop, R.; Drummond, D.C.; Farmer, R.; Labriola, D.; Marshall, J.; Moncrieff, J.; Morgan, M.Y.; Peters, T. i Ritson, B. (2000a). A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled trial of naltrexone in the treatment of alcohol dependence in adults. *Alcohol and Alcoholism*, 35: 587-93.
- Chick, J.; Howlett, H.; Morgan, M.Y. i Ritson, B. (2000b). United Kingdom Multicentre Acamprosate Study (UKMAS): A 6-month prospective study of acamprosate versus placebo in preventing relapse after withdrawal from alcohol. *Alcohol and Alcoholism*, 35: 176-87.
- Chrobak, J.J. (2000). Septal orchestration of hippocampal network dynamics. En Numan, R. (Ed.). *The behavioral neuroscience of the septal region*, pp: 71-91. Springer-Verlag: New York.
- Cicero, T.J.; Snider, S.R.; Perez, V.J. i Swanson, L.W. (1971). Physical dependence on and tolerance to alcohol in the rat. *Physiology and Behavior*, 6: 191-8.
- Cicero, T.J. (1979). A critique of animal analogues of alcoholism. En Majchrowicz, E. i Noble, E.P. (Eds.). *Biochemistry and Pharmacology of Ethanol*, 2: 533-60. Plenum: New York.
- Cicero, T. (1980). Alcohol self-administration, tolerance and withdrawal in humans and animals: theoretical and methodological issues. En Rigter, H. i Crabbe, J.C. (Eds.). *Alcohol tolerance and dependence*. Elsevier/North-Holland Biomedical Press: Amsterdam.

- Clarke, J.; Gannon, M.; Hughes, I.; Keogh, C.; Singer, G. i Wallace, M. (1977). Adjunctive behavior in humans in a group gambling situation. *Physiology and Behavior*, 18: 159-61.
- Cloninger, C.R. i Reich, T. (1983). Genetic heterogeneity in alcoholism and sociopathy. En: Ketty, S.; Rowland, L. i Sidman, R. et al. (Eds.). *Genetics of neurological and psychiatric disorders*. Raven Press: New York.
- Cloninger, C.R. (1987). Neurogenetic adaptative mechanism in alcoholism. *Science*, 236: 410-6.
- Cohen, G.; Sinet, P.M. i Heikkila, R. (1980). Ethanol oxidation by rat brain in vivo. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 4: 366-70.
- Collins, M.A. (1982). A possible neurochemical mechanism for brain and nerve damage associated with chronic alcoholism. *Trends in Pharmacological Sciences*, 3: 373-5.
- Collins, A.C.; Burch, J.B.; de Fiebre, C.M. i Marks, M.J. (1988). Tolerance to and cross tolerance between ethanol and nicotine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 29: 365-73.
- Colom, L.V.; Nassif-Caudarella, S.; Dickson, C.T.; Smythe, J.W. i Bland, B.H. (1991). In vivo intrahippocampal microinfusion of carbachol and bicuculline induces theta-like oscillations in the septally deafferented hippocampus. *Hippocampus*, 1: 381-90.
- Colombo, G.; Agabio, R.; Fa, M.; Guano, L.; Lobina, C.; Loche, A.; Reali, R. i Gessa, G.L. (1998). Reduction of voluntary ethanol intake in ethanol-preferring sP rats by the cannabinoid antagonist SR-141716. *Alcohol and Alcoholism*, 33: 126-30.
- Colotla, V.A. (1981). Adjunctive polydipsia as a model of alcoholism. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 5: 335-42.
- COMBINE Study Research Group. (2003a). Testing combined pharmacotherapies and behavioral interventions for alcohol dependence (the COMBINE study): a pilot feasibility study. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27: 1123-31.
- COMBINE Study Research Group. (2003b). Testing combined pharmacotherapies and behavioral interventions in alcohol dependence: rationale and methods. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27: 1107-22.
- Conde, V.; Franco, M.A.; Macías, J.A. i Ballesteros, M.C. (1996). Heredobiologia i alcoholisme. En Casas, M.; Gutiérrez, M. i San, L. (Coord.). *Psicopatologia i alcoholisme*. Rubes Editorial, S.L.: Barcelona.
- Cooper, J.R.; Bloom, F.E. i Roth, R.H. (2003). *The biochemical basis of neuropharmacology*. Oxford University Press: Oxford.
- Coper, H.; Rommelspacher, H. i Wolffgramm, J. (1990). The “point of no return” as a target of experimental research on drug dependence. *Drug and Alcohol Dependence*, 25: 129-34.

- Cornelius, J.R.; Salloum, I.M.; Ehler, J.G.; Jarrett, P.J.; Cornelius, M.D.; Perel, J.M.; Thase, M.E. i Black, A. (1997). Fluoxetine in depressed alcoholics: a double-blind, placebo-controlled trial. *Archives of General Psychiatry*, 54: 700-5.
- Correa, M. (1999). *Mecanismos neuroenzimáticos implicados en la regulación de las conductas inducidas por etanol: el papel de la catalasa encefálica*. Tesis Doctoral. Castelló: Universitat Jaume I.
- Correa, M.; Arizzi, M.N.; Betz, A.; Mingote, S. i Salamone, J.D. (2003). Open field locomotor effects in rats after intraventricular injections of ethanol and the ethanol metabolites acetaldehyde and acetate. *Brain Research Bulletin*, 62: 197-202.
- Couturier, S.; Bertrand, D.; Matter, J.M.; Hernandez, M.C.; Bertrand, S.; Millar, N.; Valera, S.; Barkas, T. i Ballivet, M. (1990). A neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit (alpha 7) is developmentally regulated and forms a homo-oligomeric channel blocked by alpha-BTX. *Neuron*, 5: 847-56.
- Crabb, D.W.; Borson, W.F. i Li, T.K. (1987). Ethanol metabolism. *Pharmacological Therapeutics*, 34: 59-73.
- Crabbe, J.C.; Young, E.R.; Deutsch, C.M.; Tam, B.R. i Kosobud, A. (1987a). Mice genetically selected for differences in open-field activity after ethanol. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 27: 577-81.
- Crabbe, J.C.; Kosobud, A.; Tam, B.R.; Young, E.R. i Deutsch, C.M. (1987b). Genetic selection of mouse lines sensitive (COLD) and resistant (HOT) to acute ethanol hypothermia. *Alcohol and Drug Research*, 7: 163-74.
- Crabbe, J.C. (1989). Genetic animal model in the study of alcoholism. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 13: 120-7.
- Crabbe, J.C.; Belknap, J.K. i Buck, K.J. (1994). Genetic animal models of alcohol and drug abuse. *Science*, 264: 1715-23.
- Crews, F.T.; Morrow, A.L.; Criswell, H. i Breese, G. (1996). Effects of ethanol on ion channels. *International Review of Neurobiology*, 39: 283-367.
- Croop, R.S.; Faulkner, E.B. i Labriola, D.F. (1997). The safety profile of naltrexone in the treatment of alcoholism: Results from a multicenter usage study. *Archives of General Psychiatry*, 54: 1130-5.
- Cullinam, W.E. i Zaborszky, L. (1991). Organization of ascending hypothalamic projections to the rostral forebrain with special reference to the innervation of cholinergic projection neurons. *Journal of Comparative Neurology*, 306: 631-67.
- Cunningham, C.L. i Bischof, L.L. (1987). Stress and ethanol-induced hypothermia. *Physiology and Behavior*, 40: 377-82.
- Cunningham, C.L. i Schwarz, K.S. (1989). Pavlovian-conditioned changes in body temperature induced by alcohol and morphine. *Drug Development Research*, 16: 295-303.

- Cunningham, C.L.; Niehus, D.R.; Malott, D.H. i Prather, L.K. (1992). Genetic differences in the rewarding and activating effects of morphine and ethanol. *Psychopharmacology*, 107: 385-93.
- Cunningham, C.L.; Okorn, D.M. i Howard, C.E. (1997). Interstimulus interval determines whether ethanol produces conditioned place preference or aversion. *Animal Learning and Behavior*, 25: 31-42.
- Cunningham, C.L. i Henderson, C.M. (2000). Ethanol-induced conditioned place aversion in mice. *Behavioural Pharmacology*, 11: 591-602.
- Dahchour, A. i De Witte, P. (1999). Effect of repeated ethanol withdrawal on glutamate microdialysate in the hippocampus. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 23: 1698-703.
- Dahchour, A. i De Witte, P. (2000). Taurine blocks the glutamate increase in the nucleus accumbens microdialysate of ethanol-dependent rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 65: 345-50.
- Daitz, H.M. i Powell, T.P.S. (1954). Studies of the connexions of the fornix system. *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 17: 75-82.
- Dajas-Bailador, F. i Wonnacott, S. (2004). Nicotinic acetylcholine receptors and the regulation of neural signalling. *Trends in Pharmacological Sciences*, 25: 317-24.
- Dam, M.; Ekberg, R.; Loyning, Y.; Waltimo, O. i Jakobsen, K. (1989). A double blind study comparing oxcarbazepine and carbamazepine in patients with newly diagnosed, previously untreated epilepsy. *Epilepsy Research*, 3: 70-6.
- Dani, J. i De Biasi, M. (2001). Cellular mechanisms of nicotine addiction. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 70: 439-46.
- Daoust, M.; Chretien, P.; Moore, N.; Saligaut, C.; Lhuintre, J.P. i Boismare, F. (1985). Isolation and striatal [³H]serotonin uptake: Role in the voluntary intake of ethanol by rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 22: 205-8.
- Daoust, M.; Compagnon, P.; Legrand, E. i Boucly, P. (1991a). Ethanol intake and [³H]serotonin uptake I: a study in Fawn-Hooded rats. *Life Sciences*, 48: 1969-76.
- Daoust, M.; Lhuintre, J.P.; Ernouf, D.; Legrand, E.; Breton, P. i Boucly, P. (1991b). Ethanol intake and [³H]serotonin uptake II: a study in alcoholic patients using platelet [³H]paroxetine binding. *Life Sciences*, 48: 1977-83.
- Darbra, S.; Prat, G.; Pallarés, M. i Ferré, N. (2002). Tolerance and sensitization to the hypnotic effects of alcohol induced by chronic voluntary alcohol intake in rats. *Journal of Psychopharmacology*, 16: 79-83.
- Darden, J.H. i Hunt, W.A. (1977). Reduction of striatal dopamine release during an ethanol withdrawal syndrome. *Journal of Neurochemistry*, 29: 1143-5.

- Davila, M.D.; Shear, P.K.; Lane, B.; Sullivan, E.V. i Pfefferbaum, A. (1994). A mammillary body and cerebellar shrinkage in chronic alcoholics: an MRI and neuropsychological study. *Neuropsychology*, 8: 433-44.
- Davis, V.E. i Walsh, M.J. (1970). Alcohol, amines and alkaloids: A possible biochemical basis for alcohol addiction. *Science*, 167: 1005-7.
- Davis, W.M. i Smith, S.G. (1976). Role of conditioned reinforcers in the initiation, maintenance and extinction of drug-seeking behavior. *Pavlovian Journal of Biological Science*, 11: 222-36.
- Daws, L.C.; Montañez, S.; Munn, J.L.; Owens, W.A.; Baganz, N.L.; Boyce-Rustay, J.M.; Millstein, R.A.; Wiedholz, L.M.; Murphy, D.L. i Holmes, A. (2006). Ethanol inhibits clearance of brain serotonin by a serotonin transporter-independent mechanism. *Journal of Neuroscience*, 26: 6431-8.
- DeCarli, L.M. i Lieber, C.S. (1967). Fatty liver in the rat after prolonged intake of ethanol with a nutritionally adequate new liquid diet. *Journal of Nutrition*, 91: 331-6.
- De Castro, J.M. (1990). Social, circadian, nutritional and subjective correlates of the spontaneous pattern of moderate alcohol intake in normal humans. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 35: 923-31.
- Deitrich, R.A. (2004). Acetaldehyde: déjà vu du jour. *Journal of Studies on Alcohol*, 65: 557-72.
- DeMaster, E.G.; Redfern, B.; Shirota, F.N. i Nagasawa, H.T. (1986). Differential inhibition of rat tissue catalase by cyanamide. *Biochemical Pharmacology*, 35: 2081-5.
- Denoble, V.J. i Begleiter, H. (1979). Impairment of acquisition of a DRL schedule following prolonged ethanol consumption. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 10: 393-6.
- Derkach, V.; Surprenant, A. i North, R.A. (1989). 5-HT₃ receptors are membrane ion channels. *Nature*, 339: 706-9.
- Dettling, M.; Heinz, A.; Dufeu, P.; Rommelspacher, H.; Gräf, K-J. i Schmidt, L.G. (1995). Dopaminergic responsivity in alcoholism: trait, state, or residual marker? *American Journal of Psychiatry*, 152: 1317-21.
- Devaud, L.L.; Fritschy, J.M.; Sieghart, W. i Morrow, A.L. (1997). Bidirectional alterations of GABA_A receptor subunit peptide levels in rat cortex during chronic ethanol consumption and withdrawal. *Journal of Neurochemistry*, 69: 126-30.
- Devenport, L.D. i Merriman, V.J. (1983). Ethanol and behavioral variability in the radial-arm maze. *Psychopharmacology*, 79: 21-4.
- De Wied, D. (1997). Neuropeptides in learning and memory processes. *Behavioral Brain Research*, 83: 83-90.
- De Wit, H. i Stewart, J. (1981). Reinstatement of cocaine-reinforced responding in the rat. *Psychopharmacology*, 75: 134-43.

- De Witte, P.; Pinto, E.; Anseau, M. i Verbanck, P. (2003). Alcohol and withdrawal: from animal research to clinical issues. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 27: 189-97.
- De Witte, P. (2004). Imbalance between neuroexcitatory and neuroinhibitory amino acids causes craving for ethanol. *Addictive Behaviors*, 29: 1325-39.
- Diana, M.; Pistis, M.; Muntoni, A.; Rossetti, Z.L. i Gessa, G. (1992). Marked decrease of A10 dopamine neuronal firing during ethanol withdrawal syndrome in rats. *European Journal of Pharmacology*, 221: 403-4.
- Diana, M.; Pistis, M.; Carboni, S.; Gessa, G.L. i Rossetti, Z.L. (1993). Profound decrement of mesolimbic dopaminergic neuronal activity during ethanol withdrawal syndrome in rats: Electrophysiological and biochemical evidence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90: 7966-9.
- Di Chiara, G. i 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: 5274-8.
- Dildy-Mayfield, J.E. i Harris, R.A. (1992). Comparison of ethanol sensitivity of rat brain kainate, DL-alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxalone propionic acid and N-methyl-d-aspartate receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 262: 487-94.
- Dineley-Miller, K. i Patrick, J. (1992). Gene transcripts for the nicotinic acetylcholine receptor subunit, beta4, are distributed in multiple areas of the rat central nervous system. *Molecular Brain Research*, 16: 339-44.
- Dobelis, P.; Hutton, S.; Lu, Y. i Collins, A.C. (2003). GABAergic systems modulate nicotinic receptor-mediated seizures in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306: 1159-66.
- Dodd, P.R.; Beckmann, A.M.; Davidson, M.S. i Wilce, P.A. (2000). Glutamate-mediated transmission, alcohol, and alcoholism. *Neurochemistry International*, 37: 509-33.
- Dohrman, D.P. i Reiter, C.K. (2003). Ethanol modulates nicotine-induced upregulation of nAChRs. *Brain Research*, 975: 90-8.
- Domino, E.F. (2001). Nicotine induced behavioral locomotor sensitization. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 25: 59-71.
- Doyere, V. i Laroche, S. (1992). Linear relationship between the maintenance of hippocampal long-term potentiation and retention of an associative memory. *Hippocampus*, 2: 39-48.
- Duka, T.; Gentry, J.; Malcom, R.; Ripley, T.L.; Borlikova, G.; Stephens, D.N.; Veatch, L.M.; Becker, H.C. i Crews, F.T. (2004). Consequences of multiple withdrawals from alcohol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 28: 233-46.
- Duncan, C. i Deitrich, R.A. (1980). A critical evaluation of tetrahydroisoquinoline induced ethanol preference in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 13: 265-81.

- Duncan, C.C. i Fernando, P.W. (1991). Effects of tetrahydropapaveroline in the nucleus accumbens and ventral tegmental area on ethanol preference in the rat. *Alcohol*, 8: 87-90.
- Durcan, M.J.; Wozniak, K.M.; Lister, R.G. i Linnoila, M. (1989a). Attenuation of hypothermic effects of ethanol by α 2-adrenoreceptor blockers. *European Journal of Pharmacology*, 166: 381-6.
- Durcan, M.J.; Hilakivi, L.A.; Lister, R.G. i Linnoila, M. (1989b). Attenuation of the effects of ethanol on social behavior by α -2-adrenoreceptors antagonist. *Alcohol*, 6: 189-92.
- Durkin, T.P. (2000). Transsynaptic mechanisms controlling cholinergic neuronal activation in the septohippocampal and nBM-cortical pathways: Differential roles in memory and attentional processes? En Numan, R. (Ed.). *The behavioral neuroscience of the septal region*, pp: 146-174. Springer-Verlag: New York.
- Edenberg, H.J. i Brown, C.J. (1992). Regulation of human alcohol dehydrogenase genes. *Pharmacogenetics*, 2: 185-96.
- Ehrig, T.; Bosron, W.F. i Li, T.K. (1990). Alcohol and aldehyde dehydrogenase. *Alcohol and Alcoholism*, 25: 105-16.
- El-Fakahany, E.F.; Roxanne, M.E.; Abbassy, M.A.; Eldefrawi, A.T. i Eldefrawi, M.E. (1983). Alcohol modulation of drug binding to the channel sites of the nicotinic acetylcholine receptor. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 224: 289-96.
- Ellen, P.; Wilson, A.S. i Powell, E.W. (1964). Septal inhibition and timing behavior in the rat. *Experimental Neurology*, 10: 120-32.
- Ellison, G.D.; Levy, A. i Lorant, N. (1983). Alcohol-preferring rats in colonies show withdrawal, inactivity, and lowered dominance. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 18(Suppl. 1): 565-70.
- Ellison, G.D. i Potthoff, A.D. (1984). Social models of drinking behavior in animals. The importance of individual differences. *Recent Developments in Alcoholism*, 2: 17-36.
- Ellison, G.D. (1987). Stress and alcohol intake: the socio-pharmacological approach. *Physiology and Behavior*, 40: 387-92.
- Elmer, G.I.; Meisch, R.A.; Goldberg, S.R. i George, F.R. (1988). Fixed-ratio schedules of oral ethanol self-administration in inbred mouse strains. *Psychopharmacology*, 96: 431-6.
- Engleman, E.A.; McBride, W.J.; Li, T-K.; Lumeng, L. i Murphy, J.M. (2003). Ethanol drinking experience attenuates (-)sulpiride-induced increases in extracellular dopamine levels in the nucleus accumbens of alcohol-preferring (P) rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27: 424-31.
- Erickson, C.K. (1968). Genetic selection for voluntary alcohol consumption in the albino rat. *Science*, 159: 739-41.

- Erickson, C.K. (1995). Voice of the victims. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 19: 1209-10.
- Ericson, M.; Molander, A.; Löf, E.; Engel, J.A. i Söderpalm, B. (2003). Ethanol elevates accumbal dopamine levels via indirect activation of ventral tegmental nicotinic acetylcholine receptors. *European Journal of Pharmacology*, 467: 85-93.
- Eriksson, C.J.P. i Sippel, H.W. (1977). The distribution and metabolism of acetaldehyde in rats during ethanol oxidation. I. The distribution of acetaldehyde in liver, brain, blood and breath. *Biochemical Pharmacology*, 26: 241-7.
- Eriksson, K. i Rusi, M. (1981). Finnish selection studies on alcohol-related behaviors: general outline. En McClearn, G.E.; Deitrich, R.A. i Erwin, G. (Eds.). *Development of animal models as pharmacogenetic tools*. NIAAA Research Monograph n°6. U.S. Government Printing Office: Whashington.
- Escarabajal, D.; Miquel, M. i Aragón, C.M. (2000). A psychopharmacological study of the relationship between brain catalase activity and ethanol-induced locomotor activity in mice. *Journal of Studies on Alcohol*, 61: 493-8.
- Escarabajal, M.D. i Aragón, C.M. (2002). Concurrent administration of diethyldithiocarbamate and 4-methylpyrazole enhances ethanol-induced locomotor activity: the role of brain ALDH. *Psychopharmacology*, 160: 339-43.
- Eşel, E. (2006). Neurobiology of alcohol withdrawal: Inhibitory and excitatory neurotransmitters. *Turkish Journal of Psychiatry*, 17: 1-9.
- Everitt, B.J. i Robbins, T.W. (1997). Central cholinergic systems and cognition. *Annual Review of Psychology*, 48: 649-84.
- Fadda, F., Mosca, E., Colombo, G. i Gessa, G. L. (1989). Effect of spontaneous ingestion of ethanol on brain dopamine metabolism. *Life Sciences*, 44: 281-7.
- Fadda, F. i Rossetti, Z.L. (1998). Chronic ethanol consumption: from neuroadaptation to neurodegeneration. *Progress in Neurobiology*, 56: 385-431.
- Fadda, F.; Cocco, S.; Stancampiano, R. i Rossetti, Z.L. (1999). Long-term voluntary ethanol consumption affects neither spatial nor passive avoidance learning, nor hippocampal acetylcholine release in alcohol-preferring rats. *Behavioral Brain Research*, 103: 71-6.
- Faingold, C.L.; N'Gouemo, P. i Riaz, A. (1998). Ethanol and neurotransmitter interactions: from molecular to integrative effects. *Progress in Neurobiology*, 55: 509-35.
- Faingold, C.; Li, Y. i Evans, M.S. (2000). Decreased GABA and increased glutamate receptor-mediated activity on inferior colliculus neurons in vitro are associated with susceptibility to ethanol withdrawal seizures. *Brain Research*, 868: 287-95.
- Falk, J.L. (1961). Production of polydipsia in normal rats by an intermittent food schedule. *Science*, 133: 195-6.

- Falk, J.L. (1967). Control of schedules-induced polydipsia: type, size and spacing of meals. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 10: 199-206.
- Falk, J.L. (1969). Conditions producing psychogenic polydipsia in animals. *Annals of the New York Academy of Science*, 157: 569-93.
- Falk, J.L. i Tang, M. (1988). What schedule-induced polydipsia can tell us about alcoholism. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 12: 577-85.
- Falk, J.L. i Tang, M. (1989). Schedule induction of drug intake: differential responsiveness to agents with abuse potential. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 249: 143-8.
- Falk, J.L. i Lau, C. (1993). Oral cocaine as a reinforcer: acquisition, conditions and importance of stimulus control. *Behavioural Pharmacology*, 4: 597-609.
- Farr, S.A.; Scherrer, J.F.; Banks, W.A.; Flood, J.F. i Morley, J.E. (2005). Chronic ethanol consumption impairs learning and memory after cessation of ethanol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 29: 971-82.
- Farren, C.K. (1995). Serotonin and alcoholism: Clinical and experimental research. *Journal of Serotonin Research*, 2: 9-26.
- Farthing, G.W. i Hearst, E. (1968). Generalization gradients of inhibition after different amounts of training. *Journal of Experimental Analysis of Behavior*, 11: 743-52.
- Fein, G.; Bachman, L.; Fisher, S. i Davenport, L. (1990). Cognitive impairments in abstinent alcoholics. *Western Journal of Medicine*, 152: 531-7.
- Feldblum, S.; Erlander, M.G. i Tobin, A.J. (1993). Different distributions of GAD65 and GAD67 mRNAs suggest that the two glutamate decarboxylases play distinctive functional roles. *Journal of Neuroscience Research*, 34: 689-706.
- Feldstein, A. (1971). Effects of ethanol on neurohumoral amine metabolism. En Kissin, B. i Begleiter, H. (Eds.). *The biology of alcoholism. Vol. 1: Biochemistry*. Plenum Press: New York.
- Ferré, N. i García-Sevilla, L. (1987). Conditionability and open field measures. *Personality and Individual Differences*, 8: 193-200.
- Ferré, N. (1996). L'alcoholisme des de la perspectiva de la investigació en psicologia. En Casas, M.; Gutiérrez, M. i San, L. (Coord.). *Psicopatologia i alcoholisme*. Rubes Editorial, S.L.: Barcelona.
- Fibiger, H.C. (1978). Drugs and reinforcement mechanisms: A critical review of the catecholamine theory. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 18: 37-56.
- File, S.E. i Mabbutt, P.S. (1990). Long-lasting effects on habituation and passive avoidance performance of a period of chronic ethanol administration in the rat. *Behavioural Brain Research*, 36: 171-8.

- Fillmore, M.T. (2003). Drug abuse as a problem of impaired control: current approaches and findings. *Behavioral and Cognitive Neuroscience Reviews*, 2: 179-97.
- Finney, J.W.; Hahn, A.C. i Moos, R.H. (1996). The effectiveness of inpatient and outpatient treatment for alcohol abuse: the need to focus on mediators and moderators of setting effects. *Addiction*, 91: 1773-96.
- Fleischhacker, W.W. i Kryspin-Exner, K. (1986). The psychopathology of alcoholism. *Drug and Alcohol Dependence*, 17: 73-9.
- Foddai, M.; Dosa, G.; Spiga, S. i Diana, M. (2004). Acetaldehyde increases dopaminergic neuronal activity in the VTA. *Neuropsychopharmacology*, 29: 530-6.
- Forloni, G.; Grzanna, R.; Blakely, R.D. i Coyle, J.T. (1987). Co-localization of N-acetyl-aspartyl glutamate in central cholinergic, noradrenergic and serotonergic neurons. *Synapse*, 1: 455-60.
- Forman, S.A.; Righi, D.L. i Miller, K.W. (1989). Ethanol increases agonist affinity for nicotinic receptors from Torpedo. *Biochimica et Biophysica Acta*, 987: 95-103.
- Forn-Frías, C. i Sanchis-Segura, C. (2003). Posible papel del acetaldehído en el daño cerebral derivado del consumo crónico de alcohol. *Revista de Neurología*, 37: 485-93.
- Franco-Pérez, J.; Padilla, M. i Paz, C. (2006). Sleep and brain monoamine changes produced by acute and chronic acetaldehyde administration in rats. *Behavioural Brain Research*, 174: 86-92.
- Franks, N.P. i Lieb, W.R. (1987). Are the biological effects of ethanol due to primary interactions with lipids or with proteins? *Alcohol and Alcoholism, Suppl.1*: 139-45.
- Freed, E.X. i Lester, D. (1970). Schedule-induced consumption of ethanol: Calories or chemotherapy? *Physiology and Behavior*, 5: 555-60.
- Freund, T.F. i Antal, M. (1988). GABA-containing neurons in the septum control inhibitory interneurons in the hippocampus. *Nature*, 336: 170-3.
- Freund, G. i Anderson, K.J. (1996). Glutamate receptors in the frontal cortex of alcoholics. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 20: 1165-72.
- Fritschy, J.M. i Brünig, I. (2003). Formation and plasticity of GABAergic synapses: physiological mechanisms and pathophysiological implications. *Pharmacology and Therapeutics*, 98: 299-323.
- Frotscher, M. i Leranth, C. (1985). Cholinergic innervation of the rat hippocampus as revealed by choline acetyltransferase immunocytochemistry: a combined light and electron microscopic study. *Journal of Comparative Neurology*, 239: 237-46.
- Frugier, G.; Coussen, F.; Giraud, M.F.; Odessa, M.F.; Emerit, M.B.; Boue-Grabot, E. i Garret, M. (2006). A gamma 2(R43Q) mutation, linked to epilepsy in humans, alters

- GABA_A receptor assembly and modifies subunit composition on the cell surface. *Journal of Biological Chemistry*. Published online <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc>
- Frye, G.D.; Fincher, A.S.; Grover, C.A. i Griffith, W.H. (1994). Interaction of ethanol and allosteric modulators with GABA_A-activated currents in adult medial septum/diagonal band neurons. *Brain Research*, 635: 283-92.
- Fudala, P.J. i Iwamoto, E.T. (1987). Conditioned aversion after delay place conditioning with nicotine. *Psychopharmacology*, 92: 376-81.
- Fudala, P.J. i Iwamoto, E.T. (1990). Conditioned aversion after delay place conditioning with amphetamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 35: 89-92.
- Fujii, S.; Ji, Z.; Morita, N. i Sumikawa, K. (1999). Acute and chronic nicotine exposure differentially facilitate the induction of LTP. *Brain Research*, 846: 137-43.
- Fujii, S.; Ji, Z. i Sumikawa, K. (2000). Inactivation of alpha7 ACh receptors and activation of non-alpha7 ACh receptors both contribute to long term potentiation induction in the hippocampal CA1 region. *Neuroscience Letters*, 286: 134-8.
- Gabriel, K.I. i Cunningham, C.L. (2005). Effects of topiramate on ethanol and saccharin consumption and preferences in C57BL/6J mice. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 29: 75-80.
- Ganguli, M.; Vander Bilt, J.; Saxton, J.A.; Shen, C. i Dodge H.H. (2005). Alcohol consumption and cognitive function in late life: a longitudinal community study. *Neurology*, 65: 1210-7.
- Garbutt, J.C.; West, S.L.; Carey, T.S.; Lohr, K.N. i Crews, F.T. (1999). Pharmacological treatment of alcohol dependence: a review of the evidence. *Journal of the American Medical Association*, 281: 1318-25.
- Garcia-Rebollo, Y.; Darbra, S. i Ferré, N. (2005). Intrahippocampal nicotine in alcohol drinking rats--effects on lever-press response. *European Neuropsychopharmacology*, 15: 43-9.
- Gatto, G.J.; McBride, W.J.; Murphy, J.M.; Lumeng, L.; Li, T.K. (1994). Ethanol self-infusion into the ventral tegmental area by alcohol-preferring rats. *Alcohol*, 11: 557-64.
- Gaykema, R.P.A.; Luiten, P.G.M.; Nyakas, C. i Traber, J. (1990). Cortical projection patterns of the medial septum-diagonal band complex. *Journal of Comparative Neurology*, 293: 103-24.
- Gaykema, R.P. i Zaborszky, L. (1996). Direct catecholaminergic-cholinergic interactions in the basal forebrain. Substantia nigra-ventral tegmental area projections to cholinergic neurons. *Journal of Comparative Neurology*, 374: 555-77.
- George, K.A. (1977). Relative amnesic actions of diazepam, flunitrazepam and lorazepam in man. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 4: 45-50.

- Gerber, G.J. i Stretch, R. (1975). Drug-induced reinstatement of extinguished self-administration behavior in monkeys. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 3: 1055-61.
- Gerzanich, V.; Peng, X.; Wang, F.; Wells, G.; Anand, R.; Fletcher, S. i Lindstrom, J. (1995). Comparative pharmacology of epibatidine: a potent agonist for neuronal nicotine acetylcholine receptors. *Molecular Pharmacology*, 48: 774-82.
- Gessa, G.L.; Muntoni, F.; Collu, M.; Vargiu, L. i Mereu, G. (1985). Low doses of ethanol activate dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *Brain Research*, 348: 201-3.
- Gianoulakis, C. (2004). Endogenous opioids and addiction to alcohol and other drugs of abuse. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 4: 39-50.
- Gibbs, R.B. i Pfaff, D.W. (1994). In situ hybridization detection of trkA mRNA in brain: Distribution, colocalization with p75NGFR and up-regulation by nerve growth factor. *Journal of Comparative Neurology*, 341: 324-39.
- Gibson, W.E. (1985). Effects of alcohol on radial maze performance in rats. *Physiology and Behavior*, 35: 1003-5.
- Gilbert, R.M. (1978). Schedule-induced self-administration of drugs. En Blackman, D.E. i Sanger, D.J. (Eds.). *Contemporary research in behavioral pharmacology*. Plenum Press: New York.
- Gill, K.; Menez, J.F.; Lucas, D. i Deitrich, R.A. (1992). Enzymatic production of acetaldehyde from ethanol in rat brain tissue. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 16: 910-5.
- Gilman, S.; Adams, K.; Koeppe, R.A.; Berent, S.; Kluin, K.J.; Modell, J.G.; Kroll, P. i Brunberg, J.A. (1990). Cerebellar and frontal hypometabolism in alcoholic cerebellar degeneration studied with positron emission tomography. *Annals of Neurology*, 28: 775-85.
- Gilman, S.; Koeppe, R.; Adams, K.; Johnson-Greene, D.; Junck, L.; Kluin, K.J.; Brunberg, J.; Martorello, S. i Lohman, M. (1996). Positron emission tomographic studies of cerebral benzodiazepine-receptor binding in chronic alcoholics. *Annals of Neurology*, 40: 163-71.
- Givens, B. i Breese, G. (1990a). Electrophysiological evidence that ethanol alters function of medial area without affecting lateral septal function. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 253: 95-103.
- Givens, B.S. i Breese, G.R. (1990b). Site-specific enhancement of gamma-aminobutyric acid-mediated inhibition of neural activity by ethanol in the rat medial septal area. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 254: 528-38.
- Givens, B. (1995). Low doses of ethanol impair spatial working memory and reduce hippocampal theta activity. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 19: 763-7.

- Givens, B. i McMahon, K. (1995). Ethanol suppresses the induction of long-term potentiation in vivo. *Brain Research*, 688: 27-33.
- Givens, B.S. (1996). Behavioral correlates of single units in the medial septal area: the effect of ethanol. *Neuroscience*, 71: 417-27.
- Givens, B. i McMahon, K. (1997). Effects of ethanol on nonspatial working memory and attention in rats. *Behavioral Neuroscience*, 111: 275-82.
- Goldberg, S.R. i Schuster, C.R. (1970). Conditioned nalorphine-induced abstinence changes. Persistence in post morphine-dependent monkeys. *Journal of Experimental Analysis of Behavior*, 14: 33-46.
- Goldman, D.; Oroszi, G. i Ducci, F. (2005). The genetics of addictions: uncovering the genes. *Nature Reviews. Genetics*, 6 : 521-32.
- Goldstein, D.B. i Chin, J.H. (1981). Interaction of ethanol with biological membranes. *Federation Proceedings*, 40: 2073-6.
- Goldstein, D.B. (1984). The effects of drugs on membrane fluidity. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 24 : 43-64.
- Goldstein, D.B. (1987). Ethanol-induced adaptation in biological membranes. En Rubin, E. (Ed.). *Alcohol and the cell*. The New York Academy of Sciences.
- Gonzales, R.A. i Weiss, F. (1998). Suppression of ethanol-reinforced behaviour by naltrexone is associated with attenuation of the ethanol-induced increase in dialysate dopamine levels in the nucleus accumbens. *Journal of Neuroscience*, 18: 10663-71.
- Goodman, D.W. i Deyking, D. (1963). Fatty acid ethyl ester formation during ethanol metabolism in vivo. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 113: 65-7.
- Gordon, F.J. i Johnson, A.K. (1981). Electrical stimulation of the septal area in the rat: prolonged suppression of water intake and correlation with self-stimulation. *Brain Research*, 206: 421-30.
- Gorelick, D.A. (1989). Serotonin uptake blockers and the treatment of alcoholism. *Recent Developments in Alcoholism*, 7: 267-81.
- Gorenstein, E.E. i Newman, J.P. (1980). Disinhibitory psychopathology: A new perspective and a model for reseach. *Psychological Review*, 87: 301-15.
- Goudie, A.J. i Griffiths, J.W. (1986). Behavioural factors in drug tolerance. *Trends in Pharmacological Sciences*, 6: 192-6.
- Goudie, A.J. (1991). Animal models of drug abuse and dependence. En Willner, P. (Ed.). *Behavioural models in Psychopharmacology: theoretical, industrial and clinical perspectives*. Cambridge University Press: Cambridge.

- Graham, R.; Wodak, A.D. i Whelan, G. (2002). New pharmacotherapies for alcohol dependence. *Medical Journal of Australia*, 177: 103-7.
- Grant, K.A. i Samson, H.H. (1985a). Induction and maintenance of ethanol self-administration without food deprivation in the rat. *Psychopharmacology*, 86: 475-9.
- Grant, K.A. i Samson, H.H. (1985b). Oral self-administration of ethanol in free feeding rats. *Alcohol*, 2: 317-22.
- Grant, K.A. i Johanson, C.E. (1989). The generation of adjunctive behavior under conditions of drug self-administration. *Behavioural Pharmacology*, 1: 221-34.
- Grant, K.A. i Barrett, J.E. (1991). Blockade of the discriminative stimulus effect of ethanol with 5-HT₃ receptor antagonists. *Psychopharmacology*, 104: 451-6.
- Grant, K.A. (1995). The role of 5-HT₃ receptors in drug dependence. *Drug and Alcohol Dependence*, 38: 155-71.
- Grant, K.A. i Lovinger, D.M. (1995). Cellular and behavioral neurobiology of alcohol: receptor-mediated neuronal processes. *Journal of Clinical Neuroscience*, 3: 155-64.
- Grant, K.A.; Colombo, G. i Gatto, G.J. (1997). Characterization of the ethanol-like discriminative stimulus effects of 5-HT receptor agonists as a function of ethanol training dose. *Psychopharmacology*, 133: 133-41.
- Gray, J.A. (1973). Causal theories of personality and how to test them. En Royce, J.R. (Ed.). *Multivariate analysis and psychological theory*, pp: 409-63. Academic Press: New York.
- Gray, R.; Rajan, A.S.; Radcliffe, K.A; Yakehiro, M. i Dani J.A. (1996). Hippocampal synaptic transmission enhanced by low concentrations of nicotine. *Nature*, 383: 713-65.
- Grobin, A.C.; Matthews, D.B.; Devaud, L.L. i Morrow, A.L. (1998). The role of GABA_A receptors in the acute and chronic effects of ethanol. *Psychopharmacology Bulletin*, 139: 2-19.
- Gual, A. i Bobes, J. (2004). Alcoholismo. En Farreras, P. i Rozman, C. (Eds.). *Medicina Interna*. 15^a Edició. Elsevier España.
- Gulya, K.; Grant, K.A.; Valverius, P.; Hoffman, P.L. i Tabakoff, B. (1991). Brain regional specificity and time-course of changes in the NMDA receptor-ionophore complex during ethanol withdrawal. *Brain Research*, 547: 129-34.
- Haertzen, C.A.; Kocher, T.R. i Miyasato, K. (1983). Reinforcements from the first drug experience can predict later drug habits and/or addiction: results with coffee, cigarettes, alcohol, barbiturates, minor and major tranquilizers, stimulants, marijuana, hallucinogens, heroin, opiates and cocaine. *Drug and Alcohol Dependence*, 11: 147-65.
- Hajós, M.; Hoffmann, W.E. i Weaver, R.J. (2003). Regulation of septo-hippocampal activity by 5-hydroxytryptamine_{2c} receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306: 605-15.

- Hamby-Mason, R.; Chen, J.J.; Schenker, S.; Perez, A. i Henderson, G.I. (1997). Catalase mediates acetaldehyde formation from ethanol in fetal and neonatal rat brain. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 21: 1063-72.
- Han, Y.O.; Han, M.J.; Park, S.H. i Kim, D.H. (2003). Protective effects of kakkalide from *Flos Puerariae* on ethanol-induced lethality and hepatic injury are dependent on its biotransformation by human intestinal microflora. *Journal of Pharmacological Sciences*, 93: 331-6.
- Handler, J.A. i Thurman, R.G. (1985). Fatty acid-dependent ethanol metabolism. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 133: 44-51.
- Harper, C.G.; Kril, J.J. i Daly, J. (1987). Are we drinking our neurons away? *British Medical Journal*, 294: 536-46.
- Hasselmo, M.E. (2000). Septal modulation of hippocampal dynamics: What is the function of the theta rhythm?. En Numan, R. (Ed.). *The behavioral neuroscience of the septal region*, pp: 92-114. Springer-Verlag: New York.
- Hebert, L.E.; Scherr, P.A.; Beckett, L.A.; Albert, M.S.; Rosner, B.; Taylor, J. O. i Evans, D.A. (1993). Relation of smoking and low-to-moderate alcohol consumption to change in cognitive function: a longitudinal study in a defined community of older persons. *American Journal of Epidemiology*, 137: 881-91.
- Heidbreder, C. i De Witte, P. (1993). Ethanol differentially affects extracellular monoamines and GABA in the nucleus accumbens. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 46: 477-81.
- Heinälä, P.; Alho, H.; Kiianmaa, K.; Lonnqvist, J.; Kuoppasalmi, K. i Sinclair, J.D. (2001). Targeted use of naltrexone without prior detoxification in the treatment of alcohol dependence: A factorial double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 21: 287-92.
- Heinz, A.; LichtenbergKraag, B.; Baum, S.S.; Graf, K.; Kruger, F.; Dettling, M. i Rommelspacher, H. (1995). Evidence for prolonged recovery of dopaminergic transmission after detoxification in alcoholics with poor treatment outcome. *Journal of Neural Transmission. General Section*, 102: 149-57.
- Heinz, A.; Dufeu, P.; Kuhn, S.; Dettling, M.; Graf, K.; Kurten, I.; Rommelspacher, H. i Schmidt, L.G. (1996). Psychopathological and behavioral correlates of dopaminergic sensitivity in alcohol-dependent patients. *Archives of General Psychiatry*, 53: 1123-8.
- Hendrie, H.C.; Gao, S.; Hall, K.S.; Hui, S.L. i Unverzagt, F.W. (1996). The relationship between alcohol consumption, cognitive performance, and daily functioning in an urban sample of older Black Americans. *Journal of the American Geriatric Society*, 44: 1158-65.
- Henningfield, J.E. i Meisch, R.A. (1979). Ethanol drinking by rhesus monkeys with concurrent access to water. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 10: 777-82.

- Hernández, A. (1997). *Efectos de la ingesta aguda de etanol a dosis bajas y medias sobre el SNC en el humano*. Tesis doctoral. Barcelona: Universidad de Barcelona.
- Herranz, J.L. i Argumosa, A. (2002). Características e indicaciones de la oxcarbacepina. *Revista de Neurología, 35(Supl 1):* S101-9.
- Herranz, J.L.; Argumosa, A. i Salas-Puig, J. (2004). Oxcarbacepina en monoterapia en 324 pacientes con crisis parciales (estudio TRINOVA). *Revista de Neurología, 39:* 601-6.
- Hertog, M.G.; Kromhout, D.; Aravanis, C.; Blackburn, H.; Buzina, R.; Fidanza, F.; Giampaoli, S.; Jansen, A.; Menotti, A.; Nedeljkovic, S.; Pekkarinem, M.; Simic, B.S.; Toshima, H.; Feskens, E.J.; Hollman, P.C. i Katan, M.B. (1995). Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Archives of Internal Medicine, 155:* 381-6.
- Heyser, C.J.; Schulteis, G. i Koob, G.F. (1997). Increased ethanol self-administration after a period of imposed ethanol deprivation in rats trained in a limited access paradigm. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research, 21:* 784-91.
- Hodge, C.W.; Samson, H.H. i Chappelle, A.M. (1997). Alcohol self-administration: further examination of the role of dopamine receptors in the nucleus accumbens. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research, 21:* 1083-91.
- Hoffman, F.G. (1983). *A handbook on drug and alcohol abuse: The biomedical aspects*. Oxford University Press: Oxford.
- Hoffman, P.L.; Rabe, C.S.; Moses, F. i Tabakoff, B. (1989). N-Methyl-D-aspartate receptors and ethanol: inhibition of calcium flux and cyclic GMP production. *Journal of Neurochemistry, 52:* 1937-40.
- Hoffman, P.L. i Tabakoff, B. (1994). The role of the NMDA receptor in ethanol withdrawal. *EXS, 71:* 61-70.
- Hoffmann, S.E. i Matthews, D.B. (2001). Ethanol-induced impairments in spatial working memory are not due to deficits in learning. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research, 25:* 856-61.
- Holloway, F.A.; King, D.A.; Michaelis, R.C.; Harland, R.D. i Bird, D.C. (1989). Tolerance to ethanol's disruptive effects on operant behavior in rats. *Psychopharmacology, 99:* 479-85.
- Hughes, J.R. (1993). Treatment of smoking cessation in smokers with past alcohol/drug problems. *Journal of Substance Abuse Treatment, 10:* 181-7.
- Hughes, J.R. (1994). Smoking and alcoholism. En: Cos, J.L. i Hatsukami, D.K. (Eds.). *Behavioral Approaches to Addiction*. Belle Mead, NJ: Cahners Healthcare Communications.
- Hunt, W.A. (1996). Role of acetaldehyde in the actions of ethanol on the brain—review. *Alcohol, 13:* 147-51.

- Hyman, S.E. (1993). Molecular and cell biology of addiction. *Current Opinion in Neurology and Neurosurgery*, 6: 609-13.
- Hyman, S.E. (1994). Why does the brain prefer opium to broccoli? *Harvard Reviews of Psychiatry*, 2: 43-6.
- Ikonen, S.; McMahan, R.; Gallagher, M.; Eichenbaum, H. i Tanila, H. (2002). Cholinergic system regulation of spatial representation by the hippocampus. *Hippocampus*, 12: 386-97.
- Imperato, A. i Di Chiara, G. (1986). Preferential stimulation of dopamine release in the nucleus accumbens of freely moving rats by ethanol. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 239: 219-28.
- Iovino, M., Poenaru, S. i Annunziato, L. (1983). Basal and thirst-evoked vasopressin secretion in rats with electrolytic lesion of the medio-ventral septal area. *Brain Research*, 258: 123-6.
- Isaacson, R.L. (1974). *The Limbic System*. Plenum Press: New York.
- Iso, H. i Sakaki, N. (1980). Effects of ethanol administration on lever press responding by rats under a fixed-ratio schedule of reinforcement. *Ann Rev Ani Psychol*, 30: 135-43.
- Iso, H. i Sakaki, N. (1982). Lever-press responding as a measure of ethanol preference in rats. *Psychopharmacology*, 76: 36-9.
- Iso, H. (1986). Voluntary ethanol consumption in the absence of hunger and thirst drives. *Psychopharmacology*, 88: 101-4.
- Istvan, J. i Matarazzo, J.D. (1984). Tobacco, alcohol and caffeine use: a review of their interrelationships. *Psychology Bulletin*, 95: 301.
- Jacobs, E.H.; Smit, A.B.; de Vries, T.J. i Schoffelmeer, A.N. (2003). Neuroadaptive effects of active versus passive drug administration in addiction research. *Trends in Pharmacological Sciences*, 24: 566-73.
- Jacobson, R.R. i Lishman, W.A. (1987). Selective memory loss and global intellectual deficits in alcoholic Korsakoff's syndrome. *Psychological Medicine*, 17: 644-55.
- Jaffe, J.H.; Cascell, N.G.; Kumor, K.M. i Sherer, M.A. (1989). Cocaine-induced cocaine craving. *Psychopharmacology*, 97: 59-64.
- Jakab, R.L. i Leranth, C. (1995). Septum. En Paxinos, G. (Ed.). *The rat nervous system*, 2nd ed. Academic Press: San Diego.
- Jamal, M.; Ameno, K.; Wang, W.; Kumihashi, M.; Ameno, S.; Ikuo, U.; Shinji, A. i Ijiri, I. (2005). Inhibition of acetaldehyde metabolism decreases acetylcholine release in medial frontal cortex of freely moving rats. *Brain Research*, 1039: 90-6.

- Jamal, M.; Ameno, K.; Ameno, S.; Morishita, J.; Wang, W.; Kumihashi, M.; Ikuo, U.; Miki, T. i Ijiri, I. (2007). Changes in cholinergic function in the frontal cortex and hippocampus of rat exposed to ethanol and acetaldehyde. *Neuroscience*, 144: 232-8.
- Janisiewicz, A.M. i Baxter, M.G. (2003). Transfer effects and conditional learning in rats with selective lesions of medial septal/diagonal band cholinergic neurons. *Behavioral Neuroscience*, 117: 1342-52.
- Janisiewicz, A.M.; Jackson, O.; Firoz, E.F. i Baxter, M.G. (2004). Environment-spatial conditional learning in rats with selective lesions of medial septal cholinergic neurons. *Hippocampus*, 14: 265-73.
- Jellinek, E.M. (1960). Alcoholism: a genus and some of its species. *Canadian Medical Association Journal*, 83: 1341-5.
- Jerningan, T.L.; Butters, N.; DiTriaglia, G.; Schafer, K.; Smith, T.; Irwin, M.; Grant, I.; Schuckit, M. i Cermak, L.S. (1991). Reduced cerebral grey matter observed in alcoholics using magnetic resonance imaging. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 15: 418-27.
- Ji, Y.; Yang, P. i Li, J. (2000). Preventive effect of *Hovenia dulcis* Thunb on alcohol-induced liver injury. *Pharmacol Clinics Chin Mat Med*, 6: 9-20.
- Ji, D.; Lape, R. i Dani, J.A. (2001). Timing and location of nicotinic activity enhances or depresses hippocampal synaptic plasticity. *Neuron*, 31: 131-41.
- Ji, Y.; Li, J. i Yang, P. (2001). Effects of fruits of *Hovenia dulcis* Thunb on acute alcohol toxicity in mice. *Zhong Yao Cai*, 24: 126-8.
- John, U.; Meyer, C.; Rumpf, H.J. i Hapke, U. (2003). Probabilities of alcohol high-risk drinking, abuse or dependence estimated on grounds of tobacco smoking and nicotine dependence. *Addiction*, 98: 805-14.
- Johnson, B.A.; Jasinski, D.R.; Galloway, G.P.; Kranzler, H.; Weinreib, R.; Anton, R.F.; Mason, B.J.; Bohn, M.J.; Pettinati, H.M.; Rawson, R. i Clyde, C. (1996). Ritanserin in the treatment of alcohol dependence. A multi-center clinical trial. Ritanserin Study Group. *Psychopharmacology*, 128: 206-15.
- Johnson, B.A.; Roache, J.D.; Javors, M.A.; DiClemente, C.C.; Cloninger, C.R.; Prihoda, T.J.; Bordnick, P.S.; Ait-Daoud, N. i Hensler, J. (2000). Ondansetron for reduction of drinking among biologically predisposed alcoholic patients: a randomized controlled trial. *Journal of the American Medical Association*, 284: 963-71.
- Johnson, B.A.; Ait-Daoud, N. ; Bowden, C.L.; DiClemente C.C.; Roache, J.D.; Lawson, K. i Javors, M.A. (2003). Oral topiramate for treatment of alcohol dependence: a randomised controlled trial. *The Lancet*, 361: 1677-85.
- Johnson, B.A.; Ait-Daoud, N.; Akhtar, F.Z. i Ma, J.Z. (2004). Oral topiramate reduces the consequences of drinking and improves the quality of life of alcohol-dependent individuals: A randomized controlled trial. *Archives of General Psychiatry*, 61: 905-12.

- Johnson, B.A.; Ait-Daoud, N.; Akhtar, F.Z. i Javors, M.A. (2005). Use of oral topiramate to promote smoking abstinence among alcohol-dependent smokers: A randomized controlled trial. *Archives of Internal Medicine*, 165: 1600-5.
- Jornvall, H.; Hempel, J.; Vallee, B.L.; Bosron, W.F. i Li, T-K. (1984). Human liver alcohol dehydrogenase: Amino acid substitution in the $\beta_2\beta_2$ Oriental isozymes explains functional properties, establishes an active site structure, and parallels mutational exchanges in the yeast enzyme. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81: 3024-8.
- Juarez, J. i Vazquez-Cortes, C. (2003). Alcohol intake in social housing and in isolation before puberty and its effects on voluntary alcohol consumption in adulthood. *Developmental Psychobiology*, 43: 200-7.
- Jung, Y.C. i Namkoong, K. (2006). Pharmacotherapy for alcohol dependence: Anticraving medications for relapse prevention. *Yonsei Medical Journal*, 47: 167-78.
- Kalant, H. (1971). Absorption, diffusion, distribution, and elimination of ethanol: effects on biological membranes. En Kissin, B. i Begleiter, H. (Eds.). *The biology of alcoholism. Vol. I: Biochemistry*. Plenum Press: New York.
- Kalant, H. (1983). Animal models of alcohol and drug dependence: some questions, answers and clinical implications. En: Gottheil, E.; Druley, K.A.; Skododa, T.E. i Waxman, H.M. (Eds.). *Etiologic aspects of alcohol and drug abuse*. C.C. Thomas: Springfield, I.L.
- Kalén, P. i Wiklund, L. (1989). Projections from the medial septum and diagonal band of Broca to the dorsal and central superior raphe nuclei: A non-cholinergic pathway. *Experimental Brain Research*, 75: 401-16.
- Kalivas, P.W.; Duffy, P. i Eberhardt, H. (1990). Modulation of A10 dopamine neurons by gamma-aminobutyric acid agonists. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 253: 858-66.
- Kalmijn, S., van Boxtel, M.P.; Verschuren, M.W.; Jolles, J. i Launer, L.J. (2002). Cigarette smoking and alcohol consumption in relation to cognitive performance in middle age. *American Journal of Epidemiology*, 156: 936-44.
- Kankaanpää, A.; Lillsunde, P.; Ruotsalainen, M.; Ahtee, L. i Seppala, T. (1996). 5-HT₃ receptor antagonist MDL 72222 dose-dependently attenuates cocaine and amphetamine-induced elevations of extracellular dopamine in the nucleus accumbens and the dorsal striatum. *Pharmacology and Toxicology*, 78: 317-21.
- Kàsa, P. (1986). The cholinergic systems in brain and spinal cord. *Progress in Neurobiology*, 26: 211-72.
- Kato, A.; Suzuki, K.; Kaneta, H.; Obara, H.; Fujishima, Y. i Sato, S. (2000). Regional differences in cerebral glucose metabolism in cirrhotic patients with subclinical hepatic encephalopathy using positron emission tomography. *Hepatology Research*, 17: 237-45.

- Katz, J.L. i Goldberg, S.R. (1987). Second-order schedules of drug injection. En: Bozarth, M.A. (Ed.). *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs*. Springer Verlag: New York.
- Katz, J.L. (1989). Drugs as reinforcers: pharmacological and behavioural factors. En Liebman, J.M.; Cooper, S.J. (Eds.). *The neuropharmacological basis of reward*. Oxford University Press: Oxford.
- Katz, J.L. i Higgins, S.T. (2003). The validity of the reinstatement model of craving and relapse to drug use. *Psychopharmacology*, 168: 21-30.
- Keehn, J.D. i Stoyanov, E. (1986). Adjunctive drinking in a mixed reinforcement schedule: effect of reinforcement magnitude on schedule-induced polydipsia. *The Psychological Record*, 36: 553-61.
- Keiding, S.; Christensen, N.J.; Damgaard, S.E.; Dejgard, A.; Iversen, H.L.; Jacobsen, A.; Johansen, S.; Lundquist, F.; Rubinstein, E. i Winkler, K. (1983). Ethanol metabolism in heavy drinkers after massive and moderate alcohol intake. *Biochemical Pharmacology*, 32: 3097-3102.
- Kelley, A.E. (2004). Memory and addiction: shared neural circuitry and molecular mechanisms. *Neuron*, 44: 161-79.
- Khanna, J.M. i Israel, Y. (1980). Ethanol metabolism. En Javitt, N.B. (Ed.). *Liver and biliary tract physiology I. International review of physiology*, 21, pp: 275-315. University Park Press: Baltimore.
- Kia, H.K.; Brisorgueil, M.J.; Daval, G.; Langlois, X. ; Hamon, M. i Verge, D. (1996). Serotonin 1A receptors are expressed by a subpopulation of cholinergic neurons in the rat medial septum and diagonal band of Broca : A double immunocytochemical study. *Neuroscience*, 74: 143-54.
- Kiefer, F.; Jahn, H.; Tarnaske, T.; Helwig, H.; Briken, P.; Holzbach, R.; Kampf, P.; Stracke, R.; Baehr, M.; Naber, D. i Wiedemann, K. (2003). Comparing and combining naltrexone and acamprosate in relapse prevention of alcoholism: A double-blind, placebo-controlled study. *Archives of General Psychiatry*, 60: 92-9.
- Kiefer, F. i Mann, K. (2005). New achievements and pharmacotherapeutic approaches in the treatment of alcohol dependence. *European Journal of Pharmacology*, 526: 163-71.
- Kirk, J. (1998). Frequency modulation of hippocampal theta by the supramammillary nucleus, and other hypothalamo-hippocampal interactions: Mechanisms and functional implications. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 22: 291-302.
- Kitchener, P.D. i Diamond, J. (1993). Distribution of choline acetyltransferase immunoreactivity and NADPH diaphorase reactivity in neurons within the medial septum and diagonal band of Broca in the rat basal forebrain. *Journal of Comparative Neurology*, 335: 1-15.

- Kitson, K.E. i Weiner, H. (1996). Ethanol and acetaldehyde metabolism: Past, present and future. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 20(s8): 82a-92a.
- Klink, R.; de Kerchove d'Exaerde, A.; Zoli, M. i Changeux, J.P. (2001). Molecular and physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors in the midbrain dopaminergic nuclei. *Journal of Neuroscience*, 21: 1452-63.
- Klitenick, M.A.; De Witte, P. i Kalivas, P.W. (1992). Regulation of somatodendritic dopamine release in the ventral tegmental area by opioids and GABA: an in vivo microdialysis study. *Journal of Neuroscience*, 12: 2623-32.
- Knekt, P.; Jarvinen, R.; Reunanen, A. i Maatela, J. (1996). Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *British Medical Journal*, 312: 478-81.
- Kocsis, B. i Kaminski, M. (2006). Dynamic changes in the direction of the theta rhythmic drive between supramammillary nucleus and the septohippocampal system. *Hippocampus*, 16: 531-40.
- Koechling, U.M. i Amit, Z. (1994). Effects of 3-amino-1,2,4-triazole on brain catalase in the mediation of ethanol consumption in mice. *Alcohol*, 11: 235-9.
- Köhler, C. i Chan-Palay, V. (1983). Distribution of gamma aminobutyric acid containing neurons and terminals in the septal area: An immunohistochemical study using antibodies to glutamic acid decarboxylase in the rat brain. *Anatomy and Embriology*, 167: 53-66.
- Kokavec, A. i Crowe, S.F. (1999). A comparison of cognitive performance in binge versus regular chronic alcohol misusers. *Alcohol and Alcoholism*, 34: 601-8.
- Konopacki, J.; Maciver, M.B.; Bland, B.H. i Roth, S.H. (1987). Theta in hippocampal slices: relation to synaptic responses of dentate neurons. *Brain Research Bulletin*, 18: 25-7.
- Koob, G.F. i Bloom, F.E. (1988). Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science*, 242: 715-23.
- Koop, D.R. (1992). Oxidative and reductive metabolism by cytochrome P4502E1. *The FASEB Journal*, 6: 724-30.
- Kopelman, M.D. i Corn, T.H. (1988). Cholinergic "blockade" as a model for cholinergic depletion: A comparison of memory deficits with those of Alzheimer-type dementia and the alcoholic Korsakoff syndrome. *Brain*, 111: 1079-110.
- Kornet, M.; Goosen, C. i Van Ree, J.M. (1990). The effect of interrupted alcohol supply on spontaneous alcohol consumption by rhesus monkeys. *Alcohol and Alcoholism*, 4: 407-412.
- Kornetsky, C.; Bain, G.T.; Unterwald, E.M. i Lewis, M.J. (1988). Brain stimulation reward: effects of ethanol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 12: 609-16.

- Kosobud, A.; Bodor, A.S. i Crabbe, J.C. (1988). Voluntary consumption of ethanol in WSP, WSC and WSR selectively bred mouse lines. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 29: 601-7.
- Kozlowski, L.T.; Jelinek, L.C. i Pope, M.A. (1986). Cigarette smoking among alcohol abusers: a continuing and neglected problem. *Canadian Journal of Public Health*, 77: 205-7.
- Kramis, R.; Vanderwolf, C.H. i Bland, B.H. (1975). Two types of hippocampal rhythmical slow activity in both the rabbit and the rat: relations to behavior and effects of atropine, diethyl ether, urethane, and pentobarbital. *Experimental Neurology*, 49: 58-85.
- Krank, M.D. (1989). Environmental signals for ethanol enhance free-choice ethanol consumption. *Behavioral Neuroscience*, 103: 365-72.
- Krank, M.D. i Wall, A.M. (1990). Cue exposure during a period of abstinence reduces the resumption of operant behavior for oral ethanol reinforcement. *Behavioral Neuroscience*, 104: 725-33.
- Kranzler, H.R.; Burleson, J.A.; Korner, P.; Del Boca, F.K.; Bohn, M.J.; Brown, J. i Liebowitz, N. (1995). Placebo-controlled trial of fluoxetine as an adjunct to relapse prevention in alcoholics. *American Journal of Psychiatry*, 152: 391-7.
- Krill, J.J.; Halliday, G.M.; Svodova, M.D. i Cartwright, H. (1997). The cerebral cortex is damaged in chronic alcoholics. *Neuroscience*, 79: 983-98.
- Krystal, J.H. i Tabakoff, B. (2002). Ethanol abuse, dependence, and withdrawal: Neurobiology and clinical implications. En Davis, K.L.; Charney, D.S.; Coyle, J.T. i Nemeroff, C. (Eds.). *Psychopharmacology: A Fifth Generation of Progress*, pp: 1425-43. Lippincott Williams and Wilkins: Philadelphia.
- Krystal, J.H.; Petrakis, I.L.; Mason, G.; Trevisan, L. i D'Souza, D.C. (2003). N-methyl-D-aspartate glutamate receptors and alcoholism: reward, dependence, treatment, and vulnerability. *Pharmacology and Therapeutics*, 99: 79-94.
- Kuikka, J.T.; Repo, E.; Bergström, K.A.; Tupala, E. i Tiihonen, J. (2000). Specific binding and laterality of human extrastriatal dopamine D2/D3 receptors in late onset type 1 alcoholic patients. *Neuroscience Letters*, 292: 57-9.
- Kumari, M. i Ticku, M.K. (2000). Regulation of NMDA receptors by ethanol. *Progress in Drug Research*, 54: 153-89.
- Kuryatov, A.; Olale, F.A.; Choi, C. i Lindström, J. (2000). Acetylcholine receptor extracellular domain determines sensitivity to nicotine-induced inactivation. *European Journal of Pharmacology*, 393: 11-21.
- Laine, T.P.J.; Ahonen, A.; Torniaainen, P.; Heikkilä, J.; Pyhtinen, J.; Räsänen, P.; Niemelä, O. i Hillbom, M. (1999). Dopamine transporters increase in human brain after alcohol withdrawal. *Molecular Psychiatry*, 4: 189-91.

- Lamour, Y. i Epelbaum, J. (1988). Interactions between cholinergic and peptidergic systems in the cerebral cortex and hippocampus. *Progress in Neurobiology*, 31: 109-48.
- Lancaster, F.E. i Spiegel, K.S. (1992). Sex differences in pattern of drinking. *Alcohol*, 9: 415-20.
- Lands, W.E. (1998). A review of alcohol clearance in humans. *Alcohol*, 15: 147-60.
- Laposata, E.A. i Lang, L.G. (1986). Presence of non-oxidative ethanol metabolism in human organs commonly damaged by ethanol abuse. *Science*, 231: 497-9.
- LaVaque, T.J. (1966). Conditioned avoidance response perseveration in septal rats during massed extinction trials. *Psychonomic Science*, 5: 409-10.
- Le, A.D. i Shaham, Y. (2002). Neurobiology of relapse to alcohol in rats. *Pharmacology and Therapeutics*, 94: 137-56.
- Le Bourhis, B. (1988). Dépendance envers l'alcool intérêt et limites des modèles expérimentaux. *Synthèse*, 6: 346-51.
- Le Foll, B. i Goldberg, S.R. (2005). Cannabinoid CB1 receptor antagonists as promising new medications for drug dependence. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 312: 875-83.
- Lechtenberg, R. i Worner, T.M. (1991). Relative kindling effect of detoxification and non-detoxification admissions in alcoholics. *Alcohol and Alcoholism*, 26: 221-5.
- Lechtenberg, R. i Worner, T.M. (1992). Total ethanol consumption as a seizure risk factor in alcoholics. *Acta neurologica Scandinavica*, 85: 90-4.
- Lee, Y.J.; Pantuck, C.B. i Pantuck, E.J. (1993). Effect of ginseng on plasma level of ethanol in the rat. *Planta Medica*, 59: 17-9.
- Lejoyeux, M. (1996). Use of serotonin (5-hydroxytryptamine) reuptake inhibitors in the treatment of alcoholism. *Alcohol*, 31 (Suppl.1): 69-75.
- Lejoyeux, M.; Solomon, J. i Adès, J. (1998). Benzodiazepine treatment for alcohol-dependent patients. *Alcohol and Alcoholism*, 33: 563-75.
- LeMarquand, D.; Pihl, R.O. i Benkelfat, C. (1994). Serotonin and alcohol intake, abuse, and dependence: findings of animal studies. *Biological Psychiatry*, 36: 395-421.
- Lemberger, L.; Rowe, H.; Bergstrom, R.F.; Farid, K.Z. i Enas, G.G. (1985). Effect of fluoxetine on psychomotor performance, physiologic response and kinetics of ethanol. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 37: 658-64.
- Leonard, B.E. (1989). From animals to man: advantages, problems and pitfalls of animal models in psychopharmacology. En: Hindmarch, I.; Stonier, P.D. (Eds.). *Human psychopharmacology: measures and methods*, Vol 2. John Wiley & Sons: Chichester.

- Leranth, C. i Vertes, R.P. (1999). Median raphe serotonergic innervation of medial septum/diagonal band of Broca (MSDB) parvalbumin-containing neurons: Possible involvement of the MSDB in the desynchronization of the hippocampal EEG. *Journal of Comparative Neurology*, 410: 586-98.
- Leranth, C. i Vertes, R.P. (2000). Neuronal networks that control the septal pacemaker system: synaptic interconnections between the septal complex, hippocampus, supramammillary area, and median raphe. En Numan, R. (Ed.). *The behavioral neuroscience of the septal region*, pp: 15-70. Springer-Verlag: New York.
- Lester, D. (1961). Self-maintenance of intoxication in the rat. *Quarterly Journal of Studies on Alcohol*, 22: 223-31.
- Lester, D. i Freed, E. (1973). Criteria for an animal model of alcoholism. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 1: 103-7.
- Leung, L.S.; Martin, L.A. i Stewart, D.J. (1994). Hippocampal theta rhythm in behaving rats following ibotenic acid lesion of the septum. *Hippocampus*, 4: 136-47.
- Levin, E.D. i Simon, B.B. (1998). Nicotinic acetylcholine involvement in cognitive function in animals. *Psychopharmacology*, 138: 217-30.
- Levin, E.D. i Rezvani, A.H. (2000). Development of nicotinic drug therapy for cognitive disorders. *European Journal of Pharmacology*, 393: 237-42.
- Lewis, C.E.; Rice, J.P. i Helzer, J.E. (1983). Psychiatric diagnostic interactions: Alcoholism and antisocial personality. *The Journal of Nervous and Mental Disease*, 171: 105-13.
- Li, T.K., Lumeng, L.; McBride, W.J. i Murphy, J.M. (1987). Rodent lines selected for factors affecting alcohol consumption. *Alcohol and Alcoholism, Suppl. 1*: 91-6.
- Li, X.; Rainnie, D.G.; McCarley, R.W. i Greene, R.W. (1998). Presynaptic nicotinic receptors facilitate monoaminergic transmission. *Journal of Neuroscience*, 18: 1904-12.
- Li, S.; Varga, V.; Sik, A. i Kocsis, B. (2005). GABAergic control of the ascending input from the median raphe nucleus to the limbic system. *Journal of Neurophysiology*, 94: 2561-74.
- Liao, R.M. i Yeh, C.C. (2000). Influences on water intake in the rat after lesions of the septal subareas. *Proceedings of the National Science Council, Republic of China*, 24: 26-32.
- Lieber, C.S. i DeCarli, L.M. (1968). Ethanol oxidation by hepatic microsomes: Adaptive increase after ethanol feeding. *Science*, 162: 917-8.
- Lieber, C.S. i DeCarli, L.M. (1970). Hepatic microsomal ethanol-oxidizing system. *The Journal of Biological Chemistry*, 245: 2505-12.
- Lieber, C.S. i DeCarli, L.M. (1986). The feeding of ethanol in liquid diets. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 10: 550-3.

- Lieber, C.S. (1988). Metabolic effects of acetaldehyde. *Biochemical Society Transactions*, 16: 241-7.
- Lieber, C.S. i DeCarli, L.M. (1989). Liquid diet technique of ethanol administration administration. *Alcohol and Alcoholism*, 24: 197-211.
- Lieber, C.S. (1991a). Hepatic, metabolic and toxic effects of ethanol: 1991 Update. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 15: 573-92.
- Lieber, C.S. (1991b). Alcohol and the liver. En Palmer, T.N. (Ed.): *The molecular pathology of alcoholism*. Oxford University Press. Oxford.
- Lieber, C.S. (1997). Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. *Clinica Chimica Acta*, 257: 59-84.
- Lieber, C.S. (1999). Microsomal Ethanol-Oxidizing System (MEOS): The First 30 Years (1968-1998). A Review. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 23: 991-1007.
- Lieber, C.S. (2004). The discovery of the microsomal ethanol oxidizing system and its physiologic and pathologic role. *Drug Metabolism Reviews*, 36: 511-29.
- Lima-Landman, M.T. i Albuquerque, E.X. (1989). Ethanol potentiates and blocks NMDA-activated single-channel currents in rat hippocampal pyramidal cells. *FEBS Letters*, 247: 61-7.
- Lin, G.W.J. (1989). Liquid diet preparation for study of chronic alcohol ingestion in the rat. *Laboratory Animal Science*, 39: 618-20.
- Lindstrom, J.; Anand, R.; Peng, X.; Gerzanich, V.; Wang, F. i Li, Y. (1995). Neuronal nicotinic receptor subtypes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 757: 100-16.
- Lingford-Hughes, A.; Acton, P.; Gacinovic, S.; Suckling, J.; Busatto, G.F.; Boddington, S.J.; Bullmore, E.; Woodruff, P.W.; Costa, D.C.; Pilowsky, L.S.; Ell, P.J.; Marshall, E.J. i Kerwin, R.W. (1998). Reduced levels of GABA-benzodiazepine receptor in alcohol dependency in the absence of grey matter atrophy. *British Journal of Psychiatry*, 173: 116-22.
- Lingford-Hughes, A.; Acton, P.; Gacinovic, S.; Boddington, S.J.; Costa, D.C.; Pilowsky, L.S.; Ell, P.J.; Marshall, E.J. i Kerwin, R.W. (2000). Levels of gamma-aminobutyric acid-benzodiazepine receptors in abstinent, alcohol-dependent women: preliminary findings from an ¹²³I-iomazenil single photon emission tomography study. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 24: 1449-55.
- Lovinger, D.M.; White, G. i Weight, F.F. (1989). Ethanol inhibits NMDA activated ion current in hippocampal neurons. *Science*, 243: 1721-4.
- Lovinger, D.M.; White, G. i Weight, F.F. (1990). NMDA receptor-mediated synaptic excitation selectively inhibited by ethanol in hippocampal slice from adult rat. *Journal of Neuroscience*, 10: 1372-9.

- Lovinger, D.M. (1993a). High ethanol sensitivity of recombinant AMPA-type glutamate receptors expressed in mammalian cells. *Neuroscience Letters*, 159: 83-7.
- Lovinger, D.M. (1993b). Excitotoxicity and alcohol-related brain damage. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 17: 19-27.
- Lovinger, D.M.; Sung, K.W. i Zhou, Q. (2000). Ethanol and trichloroethanol alter gating of 5-HT₃ receptor-channels in NCB-20 neuroblastoma cells. *Neuropharmacology* 39: 561-70.
- Lovinger, D.M. (2002). NMDA receptors lose their inhibitions. *Nature Neuroscience*, 5: 614-6.
- Ludvig, N.; Altura, B.T.; Fox, S.E. i Altura, B.M. (1995). The suppressant effects of ethanol, delivered via intrahippocampal microdialysis, on the firing of local pyramidal cells in freely behaving rats. *Alcohol*, 12: 417-21.
- Ludwig, A.M.; Wikler, A. i Stark, L.H. (1974). The first drink. Psychobiological aspects of craving. *Archives of General Psychiatry*, 30: 539-47.
- Ludwig, A.M. (1986). Pavlov's "bells" and alcohol craving. *Addictive Behaviors*, 11: 87-91.
- Luijckx, G.J.; Niewhof, C.; Troost, J. i Weber, W.E. (1995). Parkinsonism in alcohol withdrawal: case report and review of the literature. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 97: 336-9.
- Lukoyanov, N.V.; Madeira, M.D. i Paula-Barbosa, M.M. (1999). Behavioral and neuroanatomical consequences of chronic ethanol intake and withdrawal. *Physiology and Behavior*, 66: 337-46.
- Lukoyanov, N.V.; Brandao, F.; Cadete-Leite, A.; Madeira, M.D. i Paula-Barbosa, M.M. (2000). Synaptic reorganization in the hippocampal formation of alcohol-fed rats may compensate for functional deficits related to neuronal loss. *Alcohol*, 20: 139-48.
- Lumeng, L.; Doolittle, D.P. i Li, T.K. (1986). New duplicate lines of rats that differ in voluntary alcohol consumption. *Alcohol and Alcoholism*, 21: 25.
- Lundqvist, G. (1996). The clinical use of chlomechiazole. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 42 (Suppl 92): 113-4.
- Ma, C.L. ; Li, F.Q. i Zhao, Y.Z. (1992). Effect of total saponin from stems and leaves of *Panax ginseng* L. on acute alcohol toxicity in rats. *Heilongjiang Med Pharm*, 5: 18-9.
- MacDougall, J.M.; Van Hoesen, G.W. i Mitchell, J.C. (1969). Development of post S^r and post non S^r DRL performance and its retention following septal lesions in rats. *Psychonomic Science*, 16: 45-6.
- Macintosh, J.J. (1977). Stimulus control: attentional factors. En Honig, W.K. i Staddon, J.E.R. (Eds.). *Handbook on operant behavior*. Prentice-Hall: New Jersey.

- Majchrowicz, E. (1975). Induction of physical dependence upon ethanol and the associated behavioral changes. *Psychopharmacologia*, 43: 245-54.
- Malcolm, R.; Roberts, J.S.; Wang, W.; Myrick, H. i Anton, R.F. (2000). Multiple previous detoxifications are associated with less responsive treatment and heavier drinking during an index outpatient detoxification. *Alcohol*, 22: 159-64.
- Malcolm, R.J. (2003). GABA systems, benzodiazepines, and substance dependence. *Journal of Clinical Psychiatry*, 64 (Suppl 3): 36-40.
- Mann, K.; Lehter, P. i Morgan, M.Y. (2004). The efficacy of acamprosate in maintaining abstinence in alcohol-dependent individuals: Results of metaanalysis. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 28: 51-63.
- Mardones, J. (1960). Experimentally induced changes in the free selection of ethanol. *International Review of Neurobiology*, 2: 41-76.
- Markel, E.; Nyakas, C.S.; Tal, E. i Endroczi, E. (1986). Changes in avoidance behavior following ethanol treatment in rats of different ages. *Acta Physiologica Hungarica*, 68: 175-8.
- Markwiese, B.J.; Acheson, S.K.; Levin, E.D.; Wilson, W.A. i Swartzwelder, H.S. (1998). Differential effects of ethanol on memory in adolescent and adult rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 22: 416-21.
- Marques, A. i Guerri, C. (1988). Effects of ethanol on rat brain (Na+K) ATPase from native and delipidized synaptic membranes. *Biochemical Pharmacology*, 37: 601-6.
- Martí-Tusquets, J.L. i Murcia-Grau, M. (1988). *Conceptos fundamentales de drogodependencias*. Herder: Barcelona.
- Martin, P.R.; Adinoff, B.; Weingartner, H. et al. (1986). Alcoholic organic brain disease: Nosology and psychophysiology mechanism. *Progress in Neuropsychopharmacology Biological Psychiatry*, 10: 147-64.
- Martínez, S.E. ; Vaglenova, J. ; Sabrià, J.; Martínez, M.C.; Farres, J. i Pares, X. (2001). Distribution of alcohol dehydrogenase mRNA in the rat central nervous system. Consequences for brain ethanol and retinoid metabolism. *European Journal of Biochemistry*, 268: 5045-56.
- Mascia, M.P.; Maiya, R.; Borghese, C.M.; Lobo, I.A.; Hara, K.; Yamakura, T.; Gong, D.H. i Beckstead, M.J. (2001). Does acetaldehyde mediate ethanol action in the central nervous system? *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 25: 1570-5.
- Masood, K.; Wu, C.; Brauneis, U. i Weight, F.F. (1994). Differential ethanol sensitivity of recombinant N-methyl-D-aspartate receptor subunits. *Molecular Pharmacology*, 45: 324-9.
- Matsuyama, S.; Matsumoto, A.; Enomoto, T. i Nishizaki, T. (2000). Activation of nicotinic acetylcholine receptors induces long-term potentiation in vivo in the intact mouse dentate gyrus. *European Journal of Neuroscience*, 12: 3741-7.

- Matsuyama, S. i Matsumoto, A. (2003). Epibatidine induces long-term potentiation (LTP) via activation of alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) in vivo in the intact mouse dentate gyrus: both alpha7 and alpha4beta2 nAChRs essential to nicotinic LTP. *Journal of Pharmacological Sciences*, 93: 180-7.
- Matthews, D.B.; Devaud, L.L.; Fritschy, J.M.; Sieghart, W. i Morrow, A.L. (1998). Differential regulation of GABA_A receptor gene expression by ethanol in the rat hippocampus versus cerebral cortex. *Journal of Neurochemistry*, 70: 1160-6.
- Matthews, D.B. i Morrow, A.L. (2000). Effects of acute and chronic ethanol exposure on spatial cognitive processing and hippocampal function in the rat. *Hippocampus*, 10: 122-30.
- McBride, W.J.; Murphy, J.M.; Gatto, G.J.; Levy, A.D.; Yoshimoto, K.; Lumeng, L. i Li, T.K. (1993). CNS mechanisms of alcohol administration. *Alcohol and Alcoholism*, 2: 463-7.
- McBride, W.J. i Li, T.K. (1998). Animal models of alcoholism: neurobiology of high alcohol-drinking behavior in rodents. *Critical Reviews in Neurobiology*, 12: 339-69.
- McClearn, G.E. i Kakihana, R. (1981). Selective breeding for ethanol sensitivity: short-sleep and long-sleep mice. En McClearn, G.E.; Deitrich, R.A. i Erwin, G. (Eds.). *Development of animal models as pharmacogenetic tools*. NIAAA Research Monograph n°6. U.S. Government Printing Office: Whashington.
- McClearn, E.; Wilson, J.R.; Petersen, D.R. i Allen, D.L. (1982). Selective breeding in mice for severity of ethanol withdrawal syndrome. *Substance and Alcohol Actions/Misuse*, 3: 135-43.
- McCleary, R.A. (1966). Response-modulating functions of the limbic system: initiation and suppression. En Stellar, I.E. i Sprague, J.M. (Eds.). *Progress in Physiological Psychology*, Vol. 1, pp. 209-272. Academic Press: New York.
- McCoy, J.G.; Strawbridge, C.; McMurtrey, K.D.; Kane, V.B. i Ward, C.P. (2003). A re-evaluation of the role of tetrahydropapaveroline in ethanol consumption in rats. *Brain Research Bulletin*, 60: 59-65.
- McGehee, D.S. i Role, L.W. (1995). Physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by vertebrate neurons. *Annual Review of Physiology*, 57: 521-46.
- McKim, W.A. (2003). *Drugs and behavior. An introduction to behavioral pharmacology*. Fifth edition. Prentice Hall: New Jersey.
- McKinzie, D.L.; Nowak, K.L.; Yorger, L.; McBride, W.J.; Murphy, J.M.; Lumeng, L. i Li, T.K. (1998). The alcohol deprivation effect in the alcohol-preferring P rat under free-drinking and operant access conditions. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 22: 1170-6.
- McMillen, B.A. (1997). Toward a definition of a valid model of alcoholism: multiple animal models for multiple diseases. *Alcohol*, 14: 409-19.

- McNeish, C.S.; Svingos, A.L.; Hitzemann, R. i Strecker, R.E. (1993). The 5-HT₃ antagonist zacopride attenuates cocaine-induced increases in extracellular dopamine in rat nucleus accumbens. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 45: 759-63.
- Meibach, R. i Siegel, A. (1977). Efferent connections of the septal area in the rat: An analysis using retrograde and anterograde transport methods. *Brain Research*, 119: 1-20.
- Meisch, R.A. i Thompson, T. (1974). Ethanol intake as a function of concentration during food deprivation and satiation. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2: 589-96.
- Meisch, R.A. (1984). Alcohol self-administration by experimental animals. En: Smart, R.G.; Glaser, F.B.; Isreal, Y.; Cappell, H.; Kalant, H.; Schmidt, W. i Sellers, E.M. (Eds.). *Research advances in alcohol and drug problems, Vol. 8*. Plenum: New York.
- Meisch, R.A. i Carroll, M.E. (1987). Oral drug self-administration: drugs as reinforcers. En: Bozarth, M.A (Ed.). *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs*. Springer Verlag: New York.
- Melander, T.; Staines, W.A.; Hökfelt, T.; Rökaeus, A.; Eckenstein, F.; Salvaterra, P.M. i Wainer, B.H. (1985). Galalin-like immunoreactivity in cholinergic neurons of the septum basal forebrain complex projecting to the hippocampus of the rat. *Brain Research*, 360: 130-8.
- Melchior, C.L. (1979). Interaction of salsolinol and tetrahydropapaveroline with catecholamines. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 3: 364-7.
- Melchior, C.L. i Tabakoff, B. (1985). Features of environment-dependent tolerance to ethanol. *Psychopharmacology*, 87: 94-100.
- Melchior, C.L.; Glasky, A.J. i Ritzmann, R.F. (1993). A low dose of ethanol impairs working memory in mice in a win-shift foraging paradigm. *Alcohol*, 10: 491-3.
- Melis, F.; Stancampiano, R.; Imperato, A.; Carta, G. i Fadda, F. (1996). Chronic ethanol consumption in rats: correlation between memory performance and hippocampal acetylcholine release in vivo. *Neuroscience*, 74: 155-9.
- Mello, N.K. i Mendelson, M.D. (1972). Drinking patterns during work-contingent and noncontingent alcohol acquisition. *Psychosomatic Medicine*, 34: 139-64.
- Mello, N.K. (1973). A review of methods to induce alcohol addiction in animals. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 1: 89-101.
- Mereu, G. i Gessa, G.L. (1985). Low doses of ethanol inhibit the firing of neurons in the substantia nigra, pars reticulata: A GABAergic effect? *Brain Research*, 360: 325-30.
- Mhatre, M.C.; Pena, G.; Sieghart, W. i Ticku, M.K. (1993). Antibodies specific for GABA_A receptor alpha subunits reveal that chronic alcohol treatment downregulates alpha-subunit expression in rat brain regions. *Journal of Neurochemistry*, 61: 1620-5.

- Michaelis, E.K.; Freed, W.J.; Galton, N.; Foye, J.; Michaelis, M.L.; Phillips, I. i Kleinman, J.E. (1990). Glutamate receptor changes in brain synaptic membranes from human alcoholics. *Neurochemical Research*, 15: 1055-63.
- Miczek, K.A. i O'Donnell, I.M. (1980). Alcohol and chlordiazepoxide increase suppressed aggression in mice. *Psychopharmacology*, 52: 231-7.
- Mihic, S.J. (1999). Acute effects of ethanol on GABA_A and glycine receptor function. *Neurochemistry International*, 35: 115-23.
- Mikolajczak, P.; Okulicz-Kozaryn, I. et al. (2001). Ethanol facilitation of short-term memory in adult rats with a disturbed circadian cycle. *Alcohol and Alcoholism*, 36: 292-7.
- Miller, N.S. (1991). Nosology of drug and alcohol addiction. En Miller, N.S. (Ed.). *Comprehensive handbook of drug and alcohol addiction*. Marcel Dekker: New York.
- Miller, N.S. i Gold, M.S. (1993). *Alcohol*. Biblioteca de Toxicomanies: Barcelona.
- Miller, D.K.; Wilkins, L.H.; Bardo, M.T.; Crooks, P.A. i Dwoskin, L.P. (2001). Once weekly administration of nicotine produces long-lasting locomotor sensitization in rats via a nicotinic receptor-mediated mechanism. *Psychopharmacology*, 156: 469-76.
- Milner, T.A. i Amaral, D.G. (1984). Evidence for a ventral septal projection to the hippocampal formation of the rat. *Experimental Brain Research*, 55: 579-585.
- Minabe, Y.; Ashby, C.R.; Schwartz, J.E. i Wang, R.Y. (1991). The 5-HT₃ receptor antagonists LY 277359 and granisetron potentiate the suppressant action of apomorphine on the basal firing rate of ventral tegmental dopamine cells. *European Journal of Pharmacology*, 209: 143-50.
- Mirshahi, T. i Woodward, J.J. (1995). Ethanol sensitivity of heteromeric NMDA receptors: effects of subunit assembly, glycine and NMDAR1 Mg²⁺-insensitive mutants. *Neuropharmacology*, 34: 347-55.
- Mogelson, S. i Lange, L.G. (1984). Nonoxidative ethanol metabolism in rabbit myocardium purification to homogeneity of fatty acid ethyl ester synthase. *Biochemistry*, 23: 4075-81.
- Mohler, H. (2000). Functions of GABA_A-receptors: Pharmacology and pathophysiology. En Mohler, H. (Ed.). *Pharmacology of GABA and Glycine Neurotransmission*. Handbook of Pharmacology, pp. 101-16. Springer-Verlag: Berlin.
- Molina, J.C.; Serwatka, J. i Spear, N.E. (1986). Alcohol drinking patterns of young adult rats as a function of infantile aversive experiences with alcohol odor. *Behavioral and Neural Biology*, 46: 257-71.
- Monmaur, P. i Breton, P. (1991). Elicitation of hippocampal theta by intraseptal carbachol injection in freely moving rats. *Brain Research*, 544: 150-5.

- Montes, R., Garcia Del Rio, C., Bolanos, J. i Mora, F. (1986). Adipsia-Ploydipsia induced by simultaneous lesion of the medioventral septum and anteroventral third ventricle area in the rat. *Brain Research Bulletin*, 17: 823-8.
- Monti, P.M.; Rohsenow, D.J.; Hutchison, K.E., Swift, R.M.; Mueller, T.I.; Collby, S.M.; Brown, R.A.; Gulliver, S.B.; Gordon, A. i Abrams, D.B. (1999). Naltrexone's effect on cue-elicited craving among alcoholics in treatment. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 23: 1386-94.
- Moran, J.S. i Blass, E.M. (1976). Inhibition of drinking by septal stimulation in rats. *Physiology and Behavior*, 17: 23-27.
- Moreno, A. i Pares, X. (1991). Purification and characterization of a new alcohol dehydrogenase from human stomach. *Journal of Biochemistry*, 266: 1128-33.
- Morin, F. (1950). An experimental study of hypothalamic connections in the guinea pig. *Journal of Comparative Neurology*, 92: 193-213.
- Morrisett, R.A. i Swartzwelder, H.S. (1993). Attenuation of hippocampal long-term potentiation by ethanol: a patch-clamp analysis of glutamatergic and GABAergic mechanisms. *Journal of Neuroscience*, 13: 2264-72.
- Motohashi, N.; Dubois, A. i Scatton, B. (1987). Lesions of the posterior septum or of the habenula decrease ³H-hemicholinium-3 binding (as measured by audiography) in the interpeduncular nucleus of the rat. *Neuroscience Letters*, 76: 339-44.
- Mucha, R.F.; Van der Kooy, D.; O'Shaughnessy, M. i Bucenicks, P. (1982). Drug reinforcement studied by the use of place conditioning in rat. *Brain Research*, 243: 91-105.
- Mucha, R.F. i Iversen, S.D. (1984). Reinforcing properties of morphine and naloxone revealed by conditioned place preference: a procedural examination. *Psychopharmacology*, 82: 241-7.
- Murphy, J.M.; Waller, M.B.; Gatto, G.J.; McBride, W.J.; Lumeng, L. i Li, T.K. (1988). Effects of fluoxetine on the intragastric self-administration of ethanol in the alcohol preferring P line of rats. *Alcohol*, 5: 283-6.
- Myers, R.D. i Melchior, C.L. (1977). Alcohol drinking: abnormal intake caused by tetrahydropapaveroline in brain. *Science*, 196: 554-6.
- Myers, W.D.; Ng, K.T. i Singer, G. (1982). Intravenous self-administration of acetaldehyde in the rat as a function of schedule, food deprivation and photoperiod. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 17: 807-11.
- Myers, W.D.; Ng, K.T. i Singer, G. (1984). Effects of naloxone and buprenorphine on intravenous acetaldehyde self-injection in rats. *Physiology and Behavior*, 33: 449-55.
- Myers, R.D. (1989). Isoquinolines, beta-carbolines and alcohol drinking: involvement of opioid and dopaminergic mechanisms. *Experientia*, 45: 436-43.

- Myers, R.D. i Privette, T.H. (1989). A neuroanatomical substrate for alcohol drinking: identification of tetrahydropapaveroline (THP)-reactive sites in the rat brain. *Brain Research Bulletin*, 22: 899-911.
- Myers, R.D.; Robinson, D.E.; West, M.W.; Biggs, T.A. i McMillen, B.A. (1998). Genetics of alcoholism: rapid development of a new high-ethanol preferring (HEP) strain of female and male rats. *Alcohol*, 16: 343-57.
- Myers, R.D. i Robinson, D.E. (1999). Tetrahydropapaveroline injected in the ventral tegmental area shifts dopamine efflux differentially in the shell and core of nucleus accumbens in high-ethanol-preferring (HEP) rats. *Alcohol*, 18: 83-90.
- Nadal, R.; Pallarés, M. i Ferré, N. (1992). Conditioned place preference for ethanol and individual differences in rats. *Personality and Individual Differences*, 13: 287-94.
- Nadal, R.; Prat G.; Pallarés, M.; Hernández-Torres, M. i Ferré, N. (1996). Effects of bromocriptine on self-administration of sweetened ethanol solutions in rats. *Psychopharmacology*, 128: 45-53.
- Nagy, J.; Kolok, S.; Dezső, P.; Boros, A. i Szombathelyi, Z. (2003). Differential alterations in the expression of NMDA receptor subunits following chronic ethanol treatment in primary cultures of rat cortical and hippocampal neurones. *Neurochemistry International*, 42: 35-43.
- Nagy, J.; Horvath, C.; Farkas, S.; Kolok, S. i Szombathelyi, Z. (2004). NR2B subunit selective NMDA antagonists inhibit neurotoxic effect of alcohol-withdrawal in primary cultures of rat cortical neurones. *Neurochemistry International*, 44: 17-23.
- Namkoong, K.; Lee, B.O.; Lee, P.G.; Choi, M.J. i Lee, E. (2003). Acamprosate in Korean alcohol-dependent patients: A multi-centre, randomized, doubleblind, placebo-controlled study. *Alcohol and Alcoholism*, 38: 135-41.
- Naranjo, C.A.; Sellers, E.M.; Lawrin, M.O. (1986). Modulation of ethanol intake by serotonin uptake inhibitors. *Journal of Clinical Psychiatry*, 47 (Suppl.4): 16-22.
- Naranjo, C.A.; Kadlec, K.E.; Sanhueza, P.; Woodley-Remus, D. i Sellers, E.M. (1990). Fluoxetine differentially alters alcohol intake and other consummatory behaviors in problem drinkers. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 47: 490-8.
- Neff, N.H.; Hadjioconstantinou, M.; Wemlinger, T.A. i Rossetti, Z.L. (1995). Tyrosine hydroxylase and aromatic L-amino acid decarboxylase activities during ethanol withdrawal. *Society of Neuroscience. Abstr.* 21(2): 1134.
- Nestler, E.J. (2002). Common molecular and cellular substrates of addiction and memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, 78: 637-47.
- Newhouse, P.A.; Potter, A. i Lenox, R.H. (1993). The effects of nicotinic agents on human cognition: possible therapeutic applications in Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Medicinal Chemistry Research*, 2: 628-42.

- Nieber, K.; Poelchen, W.; Sieler, D. i Illes, P. (1998). Inhibition by ethanol of excitatory amino acid receptors in rat locus coeruleus neurons in vitro. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 357: 299-308.
- Niemela, O. (2001). Distribution of ethanol-induced protein adducts in vivo: relationship to tissue injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 31: 1533-8.
- Numan, R. (2000). Septal modulation of the working memory for voluntary behavior. En Numan, R. (Ed.). *The behavioral neuroscience of the septal region*, pp: 298-326. Springer-Verlag: New York.
- Nyakas, C.; Luiten, P.G.M.; Spencer, D.G. i Traber, J. (1987). Detailed projection patterns of septal and diagonal band efferents to the hippocampus in the rat with emphasis on innervation of CA1 and dentate gyrus. *Brain Research Bulletin*, 18: 533-45.
- O'Brien, C.P.; Testa, T.; O'Brien, T.J.; Brady, J.P. i Wells, B. (1977). Conditioned narcotic withdrawal in humans. *Science*, 195: 1000-2.
- O'Brien, C.P.; Childress, A.R.; Mclellan, T.A. i Ehrman, R. (1992). Classical conditioning in drug dependent humans. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 654: 400-15.
- O'Brien, C.P. (2005). Anticraving medications for relapse prevention: A possible new class of psychoactive medications. *American Journal of Psychiatry*, 162: 1423-31.
- Oddie, S.D.; Bland, B.H.; Colom, L.V. i Vertes, R.P. (1994). The midline posterior hypothalamic region comprises a critical part of the ascending brainstem hippocampal synchronizing pathway. *Hippocampus*, 4: 454-73.
- Okamoto, M. (1992). Animal models of drug addiction. Barbiturates. En Boulton, A.A.; Baker, G.B. i Wu, P.H. (Eds.). *Animal models of drug addiction*. Humana Press: New Jersey.
- O'Malley, S.S.; Jaffe, A.J.; Chang, G.; Schottenfeld, R.S.; Meyer, R.E. i Rounsaville, B. (1992). Naltrexone and coping skills therapy for alcohol dependence: A controlled study. *Archives of General Psychiatry*, 49: 881-7.
- Orgogozo, J.M.; Dartigues, J.F.; Lafont, S.; Letenneur, L.; Commenges, D.; Salamon, R.; Renaud, S. i Breteler, M.B. (1997). Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in the Bordeaux area. *Revue Neurologique (Paris)*, 153: 185-92.
- Oster, S.M.; Toalston, J.E.; Kuc, K.A.; Pommer, T.J.; Murphy, J.M.; Lumeng, L. et al. (2006). Effects of multiple alcohol deprivations on operant ethanol self-administration by high-alcohol drinking replicate rat lines. *Alcohol*, 38: 155-64.
- Overstreet, D.H.; Keung, W.M.; Rezvani, A.H.; Massi, M. i Lee, D.Y. (2003). Herbal remedies for alcoholism: Promises and possible pitfalls. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27: 177-85.

- Owens, J.C.; Balogh, S.A.; McClure-Begley, T.D.; Butt, C.M.; Labarca, C.; Lester, H.A.; Picciotto, M.R.; Wehner, J.M. i Collins, A.C. (2003). Alpha4beta2* Nicotinic acetylcholine receptors modulate the effects of ethanol and nicotine on the acoustic startle response. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27: 1867-75.
- Pallarés, M. (1990). *Etanol i conducta: relació entre addicció alcohòlica i aprenentatge inhibitori en rates*. Tesi doctoral. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona.
- Pallarés, M.; Nadal, R. i Ferré, N. (1992). Effects of oral ethanol self-administration on the inhibition of the lever-press response in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 43: 589-95.
- Pallarés, M.; Nadal, R. i Ferré, N. (1994). Effects of limited access. Food deprivation and solution palatability on oral ethanol self-administration in rats. *Behavioural Pharmacology*, 3: 65.
- Pallarés, M.; Nadal, R., Silvestre, J. i Ferré, N. (1995). Effects of ketamine, a non-competitive NMDA antagonist, on the acquisition of the lever-press response in rats. *Physiology and Behavior*, 57: 389-92.
- Pallarés, M.; Nadal, R.; Hernández-Torres, M. i Ferré, N. (1997). Etoh self-administration on shuttle box avoidance learning and extinction in rats. *Alcohol*, 14: 503-9.
- Pallarés, M.; Darbra, S.; Prat, G. i Ferré, N. (2001). Immediate and delayed voluntary ethanol effects on motor performance learning and inhibition in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 69: 41-9.
- Panula, P.; Pirvola, U.; Auvinen, S. i Airaksinen, M.S. (1989). Histamine-immunoreactive nerve fibers in the rat brain. *Neuroscience*, 28: 585-610.
- Parent, M.B. i Baxter, M.G. (2004). Septohippocampal acetylcholine: Involved in but not necessary for learning and memory? *Learning and Memory*, 11: 9-20.
- Pares, X.; Farres, J.; Moreno, A.; Saubi, N.; Boleda, M.D.; Cederlund, E.; Hoog, J-O. i Jornvall, H. (1993). Class IV alcohol dehydrogenase: Structure and function. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 328: 475-80.
- Parson, O.A. (1987). Intellectual impairment in alcoholics: Persistent issues. *Acta Medica Scandinava*, 717: 36-46.
- Pasqualotto, B.A. i Vincent, S.R. (1991). Galanin and NADPH-diaphorase coexistence in cholinergic neurons of the rat basal forebrain. *Brain Research*, 551: 78-86.
- Pastorcic, M.; Boyadjieva, N. i Sarkar, D.K. (1994). Comparison of the effects of alcohol and acetaldehyde on proopiomelanocortin mRNA levels and β -endorphin secretion from hypothalamic neurons in primary cultures. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 5: 580-6.

- Paula-Barbosa, M.M.; Brandao, F.; Madeira, M.D. i Cadete-Leite, A. (1993). Structural changes in the hippocampal formation after long-term alcohol consumption and withdrawal in the rat. *Addiction*, 88: 237-47.
- Paxinos, G. i Watson, C. (1986). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press: New York.
- Pei, Q.; Zetterstrom, T.; Leslie, R.A. i Grahame-Smith, D.G. (1993). 5-HT₃ receptor antagonists inhibit morphine-induced stimulation of mesolimbic dopamine release and function in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 230: 63-8.
- Pérez de los Cobos, J. i Guardia, J. (1998). Alcoholismo. En Vallejo, J. (Ed.). *Introducción a la psicopatología y la psiquiatría*. 4ª Edición. Masson: Barcelona.
- Perry, D.C.; Davila-Garcia, M.I.; Stockmeier, C.A. i Kellar, K.J. (1999). Increased nicotinic receptors in brains from smokers: membrane binding and autoradiography studies. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 289: 1545-52.
- Person, R.E.; Chen, H.; Fantel, A.G. i Juchau, M.R. (2000). Enzymic catalysis of the accumulation of acetaldehyde from ethanol in human prenatal cephalic tissues: Evaluation of the relative contributions of CYP2E1, alcohol dehydrogenase and catalase peroxidases. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 24: 1433-42.
- Peters, J.A. i Lambert, J.J. (1989). Electrophysiology of 5-HT₃ receptors in neuronal cell lines. *Trends in Pharmacological Sciences*, 10: 172-5.
- Petsche, H.; Stumpf, C. i Gogolak, G. (1962). The significance of the rabbit's septum as a relay station between midbrain and the hippocampus: I. The control of hippocampus arousal activity by the septum cells. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 14: 202-11.
- Phillips, T.J. i Crabbe, J.C. (1991). Behavioral studies of genetic differences in alcohol action. En: Crabbe, J.C.; Harris, R.A. (Eds.). *The genetic basis of alcohol and drug actions*. Plenum Press: New York.
- Pierce, R.C. i Kumaresan, V. (2006). The mesolimbic dopamine system: The final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 30: 215-38.
- Pizzo, D.P.; Thal, L.J. i Winkler, J. (2002). Mnemonic deficits in animals depend upon the degree of cholinergic deficit and task complexity. *Experimental Neurology*, 177: 292-305.
- Planas, B.; Kolb, P.E.; Raskind, M.A. i Miller, M.A. (1997). Nerve growth factor induces galanin gene expression in the rat basal forebrain: Implications for the treatment of cholinergic dysfunction. *Journal of Comparative Neurology*, 379: 563-70.
- Poelchen, W.; Kittner, H.; Sieler, D.; Regenthal, R.; Preiss, R. i Illes, P. (2001). In vitro tolerance to inhibition by ethanol of N-methyl-D-aspartate-induced depolarization in locus coeruleus neurons of behaviorally ethanol-tolerant rats. *Neurochemistry International*, 39: 51-8.

- Ponce, G.; Rodríguez-Jiménez, R.; Ortiz, H.; Rubio, G.; Jiménez-Arriero, M.A. i Palomo, T. (2005). Oxcarbacepina para la prevención de patología epiléptica en la desintoxicación alcohólica. *Revista de Neurología*, 40: 577-80.
- Poncelet, M.; Maruani, J.; Calassi, R. i Soubrie, P. (2003). Overeating, alcohol and sucrose consumption decrease in CB1 receptor deleted mice. *Neuroscience Letters*, 343: 216-8.
- Prat, G. (1995). *Validació i anàlisi funcional d'un model animal d'alcoholisme*. Tesi doctoral. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona.
- Pratt, O.E.; Rooprai, H.K.; Shaw, G.K. i Thomson, A.D. (1990). *The genesis of alcoholic brain tissue injury*. *Alcohol and Alcoholism*, 25: 217-30.
- Pratt, J.A. (1991). Psychotropic drug tolerance and dependence: common underlying mechanisms?. En Pratt, J.A. (Ed.). *The biological bases of drug tolerance and dependence*. Academic Press: London.
- Pubols, L.M. (1966). Changes in food motivated behavior of rats as a function of septal and amygdaloid lesions. *Experimental Neurology*, 15: 240-54.
- Quertemont, E. i De Witte, P. (2001). Conditioned stimulus preference after acetaldehyde but not ethanol injections. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 68: 449-54.
- Quertemont, E. (2004). Genetic polymorphism in ethanol metabolism: Acetaldehyde contribution to alcohol abuse and alcoholism. *Molecular Psychiatry*, 9: 570-81.
- Quertemont, E. i Tambour, S. (2004). Is ethanol a pro-drug? Role of acetaldehyde in the central effects of ethanol. *Trends in Pharmacological Sciences*, 25: 130-4.
- Quertemont, E.; Tambour, S.; Bernaerts, P.; Zimatkin, S.M. i Tirelli, E. (2004). Behavioral characterization of acetaldehyde in C57BL/6J mice: locomotor, hypnotic, anxiolytic and amnesic effects. *Psychopharmacology*, 177: 84-92.
- Quertemont, E.; Eriksson, C.J.; Zimatkin, S.M.; Pronko, P.S.; Diana, M.; Pisano, M.; Rodd, Z.A.; Bell, R.R. i Ward, R.J. (2005a). Is ethanol a pro-drug? Acetaldehyde contribution to brain ethanol effects. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 29: 1514-21.
- Quertemont, E.; Grant, K.A.; Correa, M.; Arizzi, M.N.; Salamone, J.D.; Tambour, S.; Aragón, C.M.; McBride, W.J.; Rodd, Z.A.; Goldstein, A.; Zaffaroni, A.; Li, T.K.; Pisano, M. i Diana, M. (2005b). The role of acetaldehyde in the central effects of ethanol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 29: 221-34.
- Quertemont, E.; Tambour, S. i Tirelli, E. (2005c). The role of acetaldehyde in the neurobehavioral effects of ethanol: A comprehensive review of animal studies. *Progress in Neurobiology*, 75: 247-74.
- Radcliffe, K.A.; Fisher, J.L.; Gray, R. i Dani, J.A. (1999). Nicotinic modulation of glutamate and GABA synaptic transmission of hippocampal neurons. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 868: 591-610.

- Rao, G.A.; Tsukamoto, H.; Larkin, E.C. i Derr, R.F. (1985). Nutritional inadequacy of diets for young growing rats used in models of chronic alcohol ingestion. *Biochemical Archives*, 1: 97-101.
- Rao, A.G.; Larkin, E.C. i Derr, R.F. (1987). Continuous intragastric infusion model for chronic alcohol administration: a possible deficient intake of lipotropes. *Biochemical Archives*, 3: 197-202.
- Rao, G.A.; Nishimura, C.Y.; Larkin, E.C. i Sankaran, H. (1988). Inverse relationship of blood alcohol levels to energy availability in chronic alcoholic rats. *Biochemical Archives*, 4: 1-6.
- Raskin, N.H. (1975). Alcoholism or acetaldehydism? *The New England Journal of Medicine*, 292: 422-3.
- Rasmussen, K.; Stockton, M.E. i Czachura, J.F. (1991). The 5-HT₃ receptor antagonist zatosetron decreases the number of spontaneously active A10 dopamine neurons. *European Journal of Pharmacology*, 205: 113-6.
- Rassnick, S.; Pulvirenti, L. i Koob, G.F. (1992). Oral ethanol self-administration in rats is reduced by the administration of dopamine and glutamate receptor antagonists into the nucleus accumbens. *Psychopharmacology*, 109: 92-8.
- Reddy, B.V. i Sarkar, D.K. (1993). Effect of alcohol, acetaldehyde, and salsolinol on β -endorphin secretion from the hypothalamic neurons in primary cultures. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 17: 1261-7.
- Reddy, B.V.; Boyadjieva, N. i Sarkar, D.K. (1995). Effect of ethanol, propanol, butanol, and catalase enzyme blockers on β -endorphin secretion from primary cultures of hypothalamic neurons: evidence for a mediatory role of acetaldehyde in ethanol stimulation of β -endorphin release. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 19: 339-44.
- Reid, L.D.; Hunter, G.A.; Beaman, C.M. i Hubbell, C.L. (1985). Toward understanding ethanol's capacity to be reinforcing: a conditioned place preference following injections of ethanol. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 22: 483-7.
- Reinikainen, K.J.; Keränen, T.; Halonen, T.; Komulainen, H. i Riekkinen, P.J. (1987). Comparison of oxcarbazepine and carbamazepine: A double blind study. *Epilepsy Research*, 1: 284-9.
- Repo, E.; Kuikka, J.T.; Bergström, K.A.; Karhu, J.; Hiltunen, J. i Tiihonen, J. (1999). Dopamine transporter and D₂-receptor density in late-onset alcoholism. *Psychopharmacology*, 147: 314-8.
- Rezvani, A.H.; Overstreet, D.H.; Perfumi, M. i Massi, M. (2003). Plant derivatives in the treatment of alcohol dependency. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 75: 593-606.
- Ribas, V. (2002). *Nicotina i mecamilamina en el circuit septobipocàmpic en rates alcohòliques: efectes en l'aprenentatge complexe*. Treball de recerca. Universitat Autònoma de Barcelona.

- Richmond, R. i Zwar, N. (2003). Review of bupropion for smoking cessation. *Drug and Alcohol Review*, 22: 203-20.
- Richter, C.P. i Campbell, K.H. (1940). Alcohol taste thresholds and concentrations of solutions preferred by rats. *Science*, 9: 507-8.
- Richter, C.P. (1941). Alcohol as food. *Quarterly Journal of Studies on Alcohol*, 1: 650-62.
- Riley, J.N. i Walker, D.W. (1978). Morphological alterations in hippocampus after long-term alcohol consumption in mice. *Science*, 201: 646-8.
- Rinaldi-Carmona, M.; Barth, F.; Congy, C.; Martinez, S.; Oustric, D.; Perio, A.; Poncelet, M.; Maruani, J.; Arnone, M.; Finance, O. et al. (2004). SR147778 [5-(4-bromophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-ethyl-N-(1-piperidinyl)-1H-pyrazole-3-carboxamide], a new potent and selective antagonist of the CB1 cannabinoid receptor. Biochemical and pharmacological characterization. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 310: 905-14.
- Risold, P.Y. i Swanson, L.W. (1997a). Chemoarchitecture of the rat lateral septal nucleus. *Brain Research Reviews*, 24: 91-113.
- Risold, P.Y. i Swanson, L.W. (1997b). Connections of the rat lateral septal complex. *Brain Research Reviews*, 24: 115-95.
- Risold, P.Y.; Thompson, R.H. i Swanson, L.W. (1997). The structural organization of connections between hypothalamus and cerebral cortex. *Brain Research Reviews*, 24: 197-254.
- Risold, P.Y. (2004). The septal region. En Paxinos, G. (Ed.). *The rat nervous system*, 3th ed. Elsevier Academic Press: San Diego.
- Ritzmann, R.F. i Tabakoff, B. (1976). Dissociation of alcohol tolerance and dependence. *Nature*, 263: 418-20.
- Roach, M.K.; Davis, D.L.; Pennington, W. i Nordyke, E. (1973). Effect of ethanol on the uptake by rat brain synaptosomes of [³H]dl-norepinephrine, [³H]5-hydroxytryptamine, [³H]GABA and [³H]glutamate. *Life Sciences*, 12: 433-41.
- Robbins, T.W. i Everitt, B.J. (2002). Limbic-striatal memory systems and drug addiction. *Neurobiology of Learning and Memory*, 78: 625-36.
- Roberto, M.; Nelson, T.E.; Ur, C.L. i Gruol, D.L. (2002). Long-term potentiation in the rat hippocampus is reversibly depressed by chronic intermittent ethanol exposure. *Journal of Neurophysiology*, 87: 2385-97.
- Roberts, B.J.; Shoaf, S.E.; Jeong, K-S i Song, B.J. (1994). Induction of CYP2E1 in liver, kidney, brain and intestine during chronic ethanol administration and withdrawal: Evidence that CYP2E1 possesses a rapid phase half-life of 6 hours or less. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 205: 1064-71.

- Robinson, T.E. i Berridge, K.C. (1993). The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research Reviews*, 18: 247-91.
- Robles, N. (2003). *Estudio de la ejecución de un programa de intervalo fijo y de los receptores nicotínicos en ratas alcohólicas*. Treball de recerca. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Robles, N.; Ferré, N. i Sabrià, J. (2003). Hippocampal nicotinic receptors in alcoholic rats: a binding study. 30th Annual Meeting of the EBBS. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, vol 63.
- Robles, N.; Ferré, N. i Sabrià, J. (2004). Modulation of neural $\alpha 7$ and non- $\alpha 7$ nicotinic receptors in rat hippocampus after mid-term and long-term chronic ethanol. 12th World Congress Biomedical Alcohol Research. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, Supp. Col 28, n° 8.
- Rodd-Henricks, Z.A.; McKinzie, D.L.; Shaikh, S.R.; Murphy, J.M.; McBride, W.J.; Lumeng, L. i Li, T.K. (2000a). Alcohol deprivation effect is prolonged in the alcohol preferring (P) rat after repeated deprivations. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 24: 8-16.
- Rodd-Henricks, Z.A.; McKinzie, D.L.; Crile, R.S.; Murphy, J.M. i McBride, W.J. (2000b). Regional heterogeneity for the intracranial self-administration of ethanol within the ventral tegmental area of female Wistar rats. *Psychopharmacology*, 149: 217-24.
- Rodd-Henricks, Z.A.; Bell, R.L.; Kuc, K.A.; Murphy, J.M.; McBride, W.J. i Lumeng, L. (2001). Effects of concurrent access to multiple ethanol concentrations and repeated deprivations on alcohol intake of alcohol-preferring (P) rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 25: 1140-50.
- Rodd-Henricks, Z.A.; Melendez, R.I.; Zaffaroni, A.; Goldstein, A.; McBride, W.J. i Li, T.K. (2002). The reinforcing effects of acetaldehyde in the posterior ventral tegmental area of alcohol-preferring rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 72: 55-64.
- Rodd, Z.A.; Bell, R.L.; Kuc, K.A.; Murphy, J.M.; Lumeng, L. i Li, T.K. et al. (2003). Effects of repeated alcohol deprivations on operant ethanol self-administration by alcohol-preferring (P) rats. *Neuropsychopharmacology*, 28: 1614-21.
- Rodd, Z.A.; Bell, R.L.; Sable, H.J.; Murphy, J.M. i McBride, W.J. (2004). Recent advances in animal models of alcohol craving and relapse. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 79: 439-50.
- Rodd-Henricks, Z.A.; Bell, R.L.; Zhang, Y.; Murphy, J.M.; Goldstein, A.; Zaffaroni, A.; Li, T.K. i McBride, W.J. (2005). Regional heterogeneity for the intracranial self-administration of ethanol and acetaldehyde within the ventral tegmental area of Alcohol-Preferring (P) Rats: Involvement of dopamine and serotonin. *Neuropsychopharmacology*, 30: 303-8.
- Rodriguez de Fonseca, F.; Roberts, A.J.; Bilbao, A.; Koob, G.F. i Navarro, M. (1999). Cannabinoid receptor antagonist SR141716A decreases operant ethanol self administration in rats exposed to ethanol-vapor chambers. *Zhongguo Yao Li Xue Bao*, 20: 1109-14.

- Role, L.W. i Berg, D.K. (1996). Nicotinic receptors in the development and modulation of CNS synapses. *Neuron*, 16: 1077-85.
- Ron, M.A. (1987). Brain damage in chronic alcoholism: A neuropathological, neuroradiological and psychological review. *Psychological Medicine*, 17: 644-55.
- Rosenbaum, J.F. i Tollefson, G.D. (2004). Fluoxetine. En Schatzberg, A.F. i Nemeroff, C.B. (Eds.). *Textbook of psychopharmacology*. American Psychiatric Publishing: Washington D.C.
- Rossetti, Z.L.; Melis, F.; Carboni, S. i Gessa, G.L. (1991). Marked decrease of extraneuronal dopamine after alcohol withdrawal in rats: reversal by MK-801. *European Journal of Pharmacology*, 200: 371-2.
- Rossetti, Z.L.; Melis, F.; Carboni, S.; Diana, M. i Gessa, G.L. (1992). Alcohol withdrawal in rats is associated with a marked fall in extraneuronal dopamine. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 16: 529-32.
- Rossetti, Z.L. i Carboni, S. (1995). Ethanol withdrawal is associated with increased extracellular glutamate in the rat striatum. *European Journal of Pharmacology*, 283: 177-83.
- Rotzinger, A.; Smith, B.R. i Amit, Z. (1994). Catalase inhibition attenuates the acquisition of ethanol and saccharine-quinine consumption in laboratory rats. *Behavioural Pharmacology*, 5: 203-9.
- Rousseaux, J.P. ; Hers, D. i Ferauge, M. (1996). Does acamprosate diminish the appetite for alcohol in weaned alcoholics. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 51: 65-8.
- Rowntree, C.I. i Bland, B.H. (1986). An analysis of cholinceptive neurons in the hippocampal formation by direct microinfusion. *Brain Research*, 362: 98-113.
- Rubin, E.; Lieber, C.S. i Altman, K. (1976). Prolonged ethanol consumption increases testosterone metabolism in the liver. *Science*, 191: 563-4.
- Rydberg, U. i Neru, A. (1972). 4-Methylpyrazole as an inhibitor of ethanol metabolism: Differential metabolic and central nervous effects. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 31: 421-32.
- Sakai, K.; Yamane, T. i Chie, I. (1989). Effect of water extracts of Aloe and some herbs in decreasing blood ethanol concentrations in rats. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 37: 155-9.
- Salaspuro, M.P. i Lieber, C.S. (1978). Non-uniformity of blood ethanol elimination: Its exaggeration after chronic consumption. *Annals of Clinical Research*, 10: 294-7.
- Salimov, R.; Salimova, N.B.; Klodt, P. i Maisky, A. (1993). Interaction between alcohol deprivation and morphine withdrawal in mice. *Drug and Alcohol Dependence*, 34: 59-66.

- Salmela, K.S.; Kaihovaara, P.; Salaspuro, M. i Roine, R.P. (1996). Role of catalase in rat gastric mucosal ethanol metabolism in vitro. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 20: 1011-5.
- Samson, H.H.; Roehrs, T.A. i Tolliver, G.A. (1982). Ethanol reinforced responding in the rat: a concurrent analysis using sucrose as the alternate choice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 17: 333-9.
- Samson, H.H. (1986). Initiation of ethanol reinforcement using a sucrose-substitution procedure in food and water sated rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 10: 436-42.
- Samson, H.H. i Grant, K.A. (1990). Some implications of animal alcohol self-administration studies for human alcohol problems. *Drug and Alcohol Dependence*, 25: 141-4.
- Samson, H.H. i Harris, R.A. (1992). Neurobiology of alcohol abuse. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13: 206-11.
- Samson, H.H.; Hodge, C.W.; Tolliver, G.A. i Haraguchi, M. (1993). Effect of dopamine agonists and antagonists on ethanol-reinforced behavior: the involvement of the nucleus accumbens. *Brain Research Bulletin*, 30: 133-41.
- Samson, H.H. i Chappell, A. (2003). Dopaminergic involvement in medial prefrontal cortex and core of the nucleus accumbens in the regulation of ethanol self-administration: a dual-site microinjection study in the rat. *Physiology and Behavior*, 79: 581-90.
- Sánchez-Turet, M. (1997). Alcohol y Alcoholismo. En Gómez-Jarabo, G. (Ed.). *Farmacología de la conducta: Manual básico para psicoterapeutas y clínicos*. Editorial Sintesis. Madrid.
- Sanger, D.J. (1986). Drug taking as adjunctive behavior. En Goldberg, S.R.; Stolerman, I.P. (Eds.). *Behavioral analysis of drug dependence*. Academic Press: Orlando.
- Sanger, D.J. i Blackman, D.E. (1978). The effect of drugs on adjunctive behavior. En Blackman, D.E. i Sanger, D.J. (Eds.). *Contemporary research in behavioral pharmacology*. Plenum Press: New York.
- Sanger, D.J. (1991). Screening for abuse and dependence liabilities. En Willner, P. (Ed.). *Behavioural models in Psychopharmacology: theoretical, industrial and clinical perspectives*. Cambridge University Press: Cambridge.
- Sanna, E.; Mostallino, M.C.; Busonero, F.; Talani, G.; Tranquilli, S.; Mameli, M.; Spiga, S.; Follesa, P. i Biggio, G. (2003). Changes in GABA_A receptor gene expression associated with selective alterations in receptor function and pharmacology after ethanol withdrawal. *Journal of Neuroscience*, 23: 11711-24.
- Santín, L.J.; Rubio, S.; Begega, A. i Arias, J.L. (2000). Effects of chronic alcohol consumption on spatial reference and working memory tasks. *Alcohol*, 20: 149-59.

- Sarter, M.F.; Draut, A.; Herzog, C.D. i Bruno, J.P. (2002). Effects of septohippocampal cholinergic deafferentation on attention and learning. *Program No. 674.8*. <http://sfn.scholarone.com>
- Sass, H.; Soyka, M.; Mann, K. i Zieglgänsberger, W. (1996). Relapse prevention by acamprosate: Results from a placebo controlled study in alcohol dependence. *Archives of General Psychiatry*, 53: 673-80.
- Schmidt, L.G.; Dettling, M.; Graef, K.J.; Heinz, A.; Kuhn, S.; Podschus, J. i Rommelspacher, H. (1996). Reduced dopaminergic function in alcoholics is related to severe dependence. *Biological Psychiatry*, 39: 193-8.
- Schober, A.; Brauer, K. i Luppä, H. (1989). Alternative coexistence of NADPH-diaphorase with choline acetyltransferase or somatostatin in the rat neostriatum and basal forebrain. *Acta Histochemica and Cytochemica*, 22: 669-74.
- Schwartz, R.D. i Kellar, K.J. (1983). Nicotinic cholinergic receptor binding sites in the brain: regulation in vivo. *Science*, 220: 214-6.
- Schwartzbaum, J.S.; Kellicutt, M.H.; Spieth, L.M. i Thompson, J.D. (1964). Effects of septal lesions in rats on response inhibition associated with food reinforced behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 58: 217-24.
- Segal, M. i Landis, S.C. (1974). Afferents to the septal area of the rat studies with the method of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. *Brain Research*, 82: 263-8.
- Sellers, E.M. i Kalant, H. (1976). Alcohol intoxication and withdrawal. *New England Journal of Medicine*, 294: 757-62.
- Semba, K. (2000). Multiple output pathways of the basal forebrain: organization, chemical heterogeneity and roles in vigilance. *Behavioral Brain Research*, 115: 117-41.
- Shaham, Y.; Shalev, U.; Lu, L.; de Wit, H. i Stewart, J. (2003). The reinstatement model of drug relapse: history, methodology, and major findings. *Psychopharmacology*, 168: 3-20.
- Shalev, U.; Grimm, J.W. i Shaham, Y. (2002). Neurobiology of relapse to heroin and cocaine: a review. *Pharmacological Reviews*, 54: 1-42.
- Shank, R.P.; Gardocki, J.F.; Streeter, A.J. i Maryanoff, B.E. (2000). An overview of the preclinical aspects of topiramate: pharmacology, pharmacokinetics, and mechanism of action. *Epilepsia*, 41(Suppl1): S3-S9.
- Sharples, C.G.; Kaiser, S.; Soliakov, L.; Marks, M.J.; Collins, A.C.; Washburn, M.; Wright, E.; Spencer, J.A.; Gallagher, T.; Whiteaker, P. i Wonnacott, S. (2000). UB-165: A novel nicotinic agonist with subtype selectivity implicates the alpha4beta2* subtype in the modulation of dopamine release from rat striatal synaptosomes. *Journal of Neuroscience*, 20: 2783-91.

- Sharples, C. i Wonnacott, S. (2001). Neuronal nicotinic receptors. *Tocris Review*, 19.
- Shaw, G.K.; Waller, S.; Latham, C.J.; Dunn, G. i Thomson, A.D. (1998). The detoxification experience of alcoholic in-patients and predictors of outcome. *Alcohol and Alcoholism*, 33: 291-303.
- Sheehan, T. i Numan, M. (2000). The septal region and social behavior. En Numan, R. (Ed.). *The behavioral neuroscience of the septal region*, pp: 175-209. Springer-Verlag: New York.
- Shen, W.W. (1984). Extrapyramidal symptoms associated with alcohol withdrawal. *Biological Psychiatry*, 19: 1037-43.
- Sherif, F.M.; Tawati, A.M.; Ahmed, S.S. i Sharif, S.I. (1997). Basic aspects of GABA transmission in alcoholism, with particular reference to GABA-transaminase. *European Neuropsychopharmacology*, 7: 1-7.
- Shute, C.C.D. i Lewis, P.R. (1967). The ascending cholinergic reticular system: Neocortical, olfactory and subcortical projections. *Brain*, 90: 497-522.
- Siegel, S. i Sdao-Jarvie, K. (1986). Attenuation of ethanol tolerance by a novel stimulus. *Psychopharmacology*, 88: 258-61.
- Sieghart, W. (1992). GABA_A receptors: ligand-gated Cl⁻ ion channels modulated by multiple drug-binding sites. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13: 446-50.
- Sieghart, W. (2000). Unraveling the function of GABA_A receptor subtypes. *Trends in Pharmacological Sciences*, 21: 411-3.
- Siggins, G.R.; Pittman, Q.J. i French, E.D. (1987). Effects of ethanol on CA1 and CA3 pyramidal cells in the hippocampal slice preparation: an intracellular study. *Brain Research*, 414: 22-34.
- Silvestre, J. (1993). *Valoració conductual de la ketamina: interaccions amb l'etanol en rates*. Tesi doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Silvestre, J.; Nadal, R.; Pallarès, M. i Ferré, N. (2002). Opposite effects of ethanol and ketamine in the elevated plus-maze test in Wistar rats undergoing a chronic oral voluntary consumption procedure. *Journal of Psychopharmacology*, 16: 305-12.
- Simson, P.E.; Criswell, H.E.; Johnson, K.B.; Hicks, R.E. i Breese, G.R. (1991). Ethanol inhibits NMDA-evoked electrophysiological activity in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 257: 225-31.
- Simson, P.E.; Criswell, H.E. i Breese, G.R. (1993). Inhibition of NMDA-evoked electrophysiological activity by ethanol in selected brain regions: evidence for ethanol-sensitive and ethanol-insensitive NMDA-evoked responses. *Brain Research*, 607: 9-16.
- Sinclair, J.D. i Senter, R.J. (1967). Increased preference for ethanol in rats following deprivation. *Psychonomic Science*, 8: 11-2.
- Sinclair, J.D. (1971). The alcohol-deprivation effect in monkeys. *Psychonomic Science*, 25: 1-22.

- Sinclair, J.D.; Walker, S. i Jordan, W. (1973). Behavioral and physiological changes associated with various durations of alcohol deprivation in rats. *Quarterly Journal of Studies on Alcohol*, 34: 744-57.
- Sinclair, J.D. i Li, T.K. (1989). Long and short alcohol deprivation: effects on AA and P alcohol-preferring rats. *Alcohol*, 6: 505-9.
- Sinclair, J.D. (2001). Evidence about the use of naltrexone and for different ways of using it in the treatment of alcoholism. *Alcohol and Alcoholism*, 36: 2-10.
- Singer, G.; Oei, T.P.; Wallace, M. (1982). Schedule-induced self-injection of drugs. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 6: 77-83.
- Sinha, R. (2001). How does stress increase risk of drug abuse and relapse. *Psychopharmacology*, 158: 343-59.
- Sircar, R. i Sircar, D. (2005). Adolescent rats exposed to repeated ethanol treatment show lingering behavioral impairments. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 29: 1402-10.
- Skolnick, P i Paul, S.M. (1982). Benzodiazepine receptors in the central nervous system. *International Review of Neurobiology*, 23: 103-40.
- Smith, B.R.; Amit, Z. i Splawinsky, J. (1984). Conditioned place preference induced by intraventricular infusions of acetaldehyde. *Alcohol*, 1: 193-5.
- Smith, B.R.; Aragón, C.G. i Amit, Z. (1997). Catalase and production of brain acetaldehyde: A possible mediator of the psychopharmacological effects of ethanol. *Addiction Biology*, 2: 277-89.
- Smith, A.D. i Weiss, F. (1999). Ethanol exposure differentially alters central monoamine neurotransmission in alcohol-preferring versus -nonpreferring rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 288: 1223-8.
- Snyder, S.H. (1980). *Biological aspects of mental disorders*. Oxford University Press: Oxford.
- Snyder, F.R.; Davis, F.C. i Henningfield, J.E. (1989). The tobacco withdrawal syndrome: performance decrements assessed on a computerized test battery. *Drug and Alcohol Dependence*, 23: 259-66.
- Sobrieviela, T.; Clary, D.O.; Reichardt, L.F.; Brandabur, M.M.; Kordower, J.H. i Mufson, E.J. (1994). Trk-A immunoreactive profiles in the central nervous system: Colocalization with neurons containing p75 nerve growth factor receptor, choline acetyltransferase and serotonin. *Journal of Comparative Neurology*, 350: 587-611.
- Sobrieviela, T.; Jaffar, S. i Mufson, E.J. (1998). Tyrosine kinase A, galanin and nitric oxide synthase within basal forebrain neurons in the rat. *Neuroscience*, 87: 447-61.
- Söderpalm, B.; Ericson, M.; Olausson, P.; Blomqvist, O. i Engel, J.A. (2000). Nicotinic mechanisms involved in the dopamine activating and reinforcing properties of ethanol. *Behavioural Brain Research*, 113: 85-96.

- Song, B.J. i Cederbaum, A.I. (1996). Ethanol inducible cytochrome P450 (CYP2E1): Biochemistry, molecular biology and clinical relevance: 1996 Update. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 20: 138a-46a.
- Spanagel, R. (2003). Alcohol addiction research: from animal models to clinics. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology*, 17: 507-18.
- Sparks, P.D. i Ledoux, J.E. (1995). Septal lesions potentiate freezing behavior to contextual but not to phasic conditioned stimuli in rats. *Behavioral Neuroscience*, 109: 184-8.
- Sparks, P.D. i Ledoux, J.E. (2000). The septal complex as seen through the context of fear. En Numan, R. (Ed.). *The behavioral neuroscience of the septal region*, pp: 234-269. Springer-Verlag: New York.
- Spiriduso, W.W.; Schallert, T.; Erickson, C.; Fenton, H.M. et al. (1987). Ethanol and aging effects on movement initiation can be dissociated from general behavioral impairment using a high-speed lever-release task in rats. *Alcohol and Drug Research*, 7: 259-71.
- Spuhler, K.; Deitrich, R.A. i Baker, R.C. (1990). Selective breeding of rats differing in sensitivity to the hypnotic effects of acute ethanol administration. En Deitrich, R.A. i Pawlowski, A.A. (Eds.). *Initial sensitivity to alcohol*. NIAAA Research Monograph n°20. U.S. Government Printing Office: Washington.
- Srisurapanont, M. i Jarusuraisin, N. (2005). Naltrexone for the treatment of alcoholism: A meta-analysis of randomized controlled trials. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 8: 267-80.
- Staiger, J.F. i Wouterlood, F.G. (1990). Efferent projections from the lateral septal nucleus to the anterior hypothalamus in the rat: A study combining Phaseolus vulgaris leucoagglutinin tracing with vasopressin immunocytochemistry. *Cell and Tissue research*, 261: 17-23.
- Steigerwald, E.S. i Miller, M.W. (1997). Performance by adult rats in sensory-mediated radial arm maze tasks is not impaired and may be transiently enhanced by chronic exposure to ethanol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 21: 1553-9.
- Stewart, J.; De Wit, H. i Eikelboom, R. (1984). Role of unconditioned and conditioned drug effects in the self-administration of opiates and stimulants. *Psychological Review*, 91: 251-68.
- Stewart, R.B. i Grupp, L.A. (1981). An investigation of the interaction between the reinforcing properties of food and ethanol using the place preference paradigm. *Progress in Neuro-Psychopharmacology*, 5: 609-13.
- Stewart, R.B. i Grupp, L.A. (1984). A simplified procedure for producing ethanol self-selection in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 21: 255-8.
- Stewart, R.B. i Grupp, L.A. (1986). Conditioned place aversion mediated by orally self-administered ethanol in the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 24: 1369-75.

- Stewart, J. i De Wit, H. (1987). Reinstatement of drug-taking behavior as a method of assessing incentive motivational properties of drugs. En Bozarth, M.A. (Ed.). *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs*. Springer: New York.
- Stewart, M. i Steven, E.F. (1990). Do septal neurons pace the hippocampal theta rhythm? *Trends in Neuroscience*, 13: 163-8.
- Stewart, R.B. i Grupp, L.A. (1992). Models of alcohol consumption using the laboratory rat. En Boulton, A.A.; Baker, G.B. i Wu, P.H. (Eds.). *Animal models of drug addiction*. Humana Press: New Jersey.
- Stitzel, J.A.; Jimenez, M.; Marks, M.J.; Tritto, T. i Collins, A.C. (2000). Potential role of the alpha4 and alpha6 nicotinic receptor subunits in regulating nicotine-induced seizures. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 293: 67-74.
- Stobbs, S.H.; Ohran, A.J.; Lassen, M.B.; Allison, D.W.; Brown, J.E. i Steffensen, S.C. (2004). Ethanol suppression of ventral tegmental area GABA neuron electrical transmission involves N-methyl-D-aspartate receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 311: 282-9.
- Stolerman, I.P. (1992). Drugs of abuse: behavioural principles, methods and terms. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13: 170-6.
- Stricker, E.M. (1978). Excessive drinking by rats with septal lesions during hypovolemia induced by subcutaneous colloid treatment. *Physiology and Behavior*, 21: 905-7.
- Stricker, E.M. (1984). Thirst and sodium appetite after colloid treatment in rats with septal lesions. *Behavioral Neuroscience*, 98: 356-60.
- Sullivan, E.V.; Rosenbloom, M.J. i Deshmukh, A. (1995). Alcohol and the cerebellum: Effects on balance, motor coordination, and cognition. *Alcohol Health and Research World*, 19: 138-41.
- Sundstrom-Poromaa, I.; Smith, D.H.; Gong, Q.H.; Sabado, T.N.; Li, X.; Light, A.; Wiedmann, M.; Williams, K. i Smith, S.S. (2002). Hormonally regulated alpha(4)beta(2)delta GABA_A receptors are a target for alcohol. *Nature Neuroscience*, 5: 721-2.
- Svensson, T.H. i Waldeck, B. (1973). Significance of acetaldehyde in ethanol induced effects on catecholamine metabolism and motor activity in the mouse. *Psychopharmacology*, 31: 229-38.
- Swanson, L.W. i Cowan, W.M. (1979). The connections of the septal region in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 186: 621-56.
- Swanson, L.W.; Köhler, C. i Björklund, A. (1987). The septohippocampal system. En Björklund, A.; Hökfelt, T. i Swanson, L.W. (Eds.). *Handbook of chemical neuroanatomy*. Vol.5, Part I: 125-277. Elsevier: Amsterdam.

- Swanson, L.W. i Risold, P.Y. (2000). On the basic of architecture of the septal region. En Numans, R. (Ed.). *The behavioral neuroscience of the septal region*, pp: 1-14. Springer-Verlag: New York.
- Tabakoff, B.; Anderson, R.A. i Ritzmann, R.F. (1976). Brain acetaldehyde after ethanol administration. *Biochemical Pharmacology*, 25: 1305-9.
- Tabakoff, B. i Hoffman, P.L. (1987a). Biochemical pharmacology of ethanol. En Metzger, H.Y. (Ed.). *Psychopharmacology: the third generation of progress*. Raven Press: New York.
- Tabakoff, B. i Hoffman, P.L. (1987b). Biochemical pharmacology of alcohol. *Alcohol*, 7: 1521-6.
- Tabakoff, B. i Hoffman, P.L. (1988). Tolerance and the etiology of alcoholism: Hypothesis and mechanism. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 12: 184-5.
- Tabakoff, B.; Hoffman, P.L. i McLaughlin, A. (1988). Is ethanol a discriminating substance? *Seminars in Liver Disease*, 8: 26-35.
- Tabakoff, B. i Hoffman, P.L. (1992). Alcohol: neurobiology. En Lowinson, J.H.; Ruiz, P.; Millman, R.B.; Langrod, J.G. (Eds.). *Substance abuse. A comprehensive textbook*. Williams and Wilkins: Baltimore, US.
- Tampier, L.; Urrutia, C. i Quintanilla, M.E. (1988). Effect of different treatment regimens with ethanol and p-chlorophenylalanine on tolerance development in UChA and UChB rats. *Alcohol*, 5: 343-7.
- Tampier, L. i Quintanilla, M.E. (1991). Effect of 3-amino-1,2,4-triazole on the hypothermic effect of ethanol and on ethanol tolerance development. *Alcohol*, 8: 279-82.
- Tampier, L.; Quintanilla, M.E. i Mardones, J. (1994). Effects of aminotriazole on ethanol, water and food intake and on brain catalase in UCHA and UCHB rats. *Alcohol*, 12: 31-4.
- Tampier, L. i Quintanilla, M.E. (2002). Effects of acetaldehyde on acute tolerance and ethanol consumption in drinker and non drinker rats. *Journal of Studies on Alcohol*, 63: 257-62.
- Tang, M.T. i Falk, J.L. (1977). Ethanol dependence as a determinant of fluid preference. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 7: 471-4.
- Tang, M.T.; Brown, C. i Falk, J.L. (1982). Complete reversal of chronic ethanol polydipsia by schedule withdrawal. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 16: 155-8.
- Tang, M.T. i Falk, J.L. (1990). Schedule-induced oral self-administration of cocaine and ethanol solutions: lack of effect of chronic desipramine. *Drug and Alcohol Dependence*, 25: 21-5.
- Taraschi, T.F.; Ellingson, J.S. i Wu, A. (1986). Membrane tolerance to ethanol is rapidly lost after withdrawal: a model for studies of membrane adaptation. *Proceedings of National Academy Society*, 83: 3669-73.

- Tarter, R.E.; Kabene, M.; Escallier, E.A.; Laird, S.B. i Jacob, T. (1990). Temperament deviation and risk for alcoholism. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 14: 380-2.
- Teitelbaum, H.; Lee, J.F. i Johannessen, J.N. (1975). Behaviorally evoked hippocampal theta waves: a cholinergic response. *Science*, 188: 1114-6.
- Terenina-Rigaldie, E.; Jones, B.C. i Mormède, P. (2004). The High-Ethanol Preferring rat as a model to study the shift between alcohol abuse and dependence. *European Journal of Pharmacology*, 504: 199-206.
- Thielen, R.J.; Morzorati, S.L. i McBride, W.J. (2001). Effects of ethanol on the dorsal raphe nucleus and its projections to the caudate putamen. *Alcohol*, 23: 131-9.
- Thielen, R.J.; Engleman, E.A.; Rodd, Z.A.; Murphy, J.M.; Lumeng, L.; Li, T.K. i McBride, W.J. (2004). Ethanol drinking and deprivation alter dopaminergic and serotonergic function in the nucleus accumbens of alcohol-preferring rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 309: 216-25.
- Thompson, T. i Pickens, R. (1969). Drug self-administration and conditioning. En Steinberg, H. (Ed.). *Scientific basis of drug dependence*. Churchill: London.
- Thurman, R.G. i Handler, J.A. (1989). New perspectives in catalase-dependent ethanol metabolism. *Drug Metabolism Reviews*, 20: 679-88.
- Tolliver, G.A.; Sadeghi, K.G.; Samson, H.H. (1988). Ethanol preference following the sucrose-fading initiation procedure. *Alcohol*, 5: 9-13.
- Tomie, A.; Cunha, C.; Mosakowski, E.M; et al. (1998). Effects of ethanol on Pavlovian autoshaping in rats. *Psychopharmacology*, 139: 154-9.
- Tomimoto, H.; Kamo, H.; Kameyama, M.; McGeer, P.L. i Kimura, H. (1987). Descending projections of the basal forebrain in the rat demonstrated by the anterograde neural tracer Phaseolus vulgaris leucoagglutinin (PHA-L). *Brain Research*, 425: 248-55.
- Tomlinson, D.; Wilce, P. i Bedi, K.S. (1998). Spatial learning ability of rats following differing levels of exposure to alcohol during early postnatal life. *Physiology and Behavior*, 63: 205-11.
- Torvik, A. i Torp, S. (1986). The prevalence of alcoholic cerebral atrophy. A morphometric and histological study of an autopsy material. *Journal of the Neurological Sciences*, 75: 43-51.
- Tritto, T.; Marley, R.J.; Bastidas, D.; Stitzel, J.A. i Collins, A.C. (2001). Potential regulation of nicotine and ethanol actions by alpha4-containing nicotinic receptors. *Alcohol*, 24: 69-78.
- Truitt, E.E. i Walsh, M.J. (1971). The role of acetaldehyde in the actions of ethanol. En Kissin, B. i Begleiter, H. (Eds.). *The Biology of Alcoholism*. Plenum Press: New York–London.

- Trujillo, H.M. (1994). Tolerancia a las drogas y condicionamiento clásico. *Psicología Conductual*, 2: 43-69.
- Tsai, G.C. i Coyle, J.T. (1998). The role of glutamatergic neurotransmission in the pathophysiology of alcoholism. *Annual Review of Medicine*, 49: 173-84.
- Tupala, E.; Hall, H.; Särkioja, T.; Räsänen, P. i Tiihonen, J. (2000). Dopamine transporter density in nucleus accumbens of type-1 alcoholics. *Lancet*, 355: 380.
- Tupala, E.; Kuikka, J.T.; Hall, H.; Bergström, K.; Särkioja, T.; Räsänen, P.; Mantere, T.; Hiltunen, J.; Vepsäläinen, J. i Tiihonen, J. (2001a). Measurement of the striatal dopamine transporter density and heterogeneity in type 1 alcoholics using human whole hemisphere autoradiography. *NeuroImage*, 14: 87-94.
- Tupala, E.; Hall, H.; Bergström, K.; Särkioja, T.; Räsänen, P.; Mantere, T.; Callaway, J.; Hiltunen, J. i Tiihonen, J. (2001b). Dopamine D2/D3-receptor and transporter densities in nucleus accumbens and amygdala of type 1 and 2 alcoholics. *Molecular Psychiatry*, 6: 261-7.
- Tupala, E. i Tiihonen, J. (2004). Dopamine and alcoholism: neurobiological basis of ethanol abuse. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 28: 1221-47.
- Upadhyya, S.; Tirumalai, S.; Boyd, M.R.; Mori, T. i Ravindranath, V. (2000). Cytochrome P4502E (CYP2E1) in brain: Constitutive expression, induction by ethanol and localization by fluorescence in situ hybridation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 373: 23-4.
- Vallano, M.L. (1998). Developmental aspects of NMDA receptor function. *Critical Reviews in Neurobiology*, 12: 177-204.
- Vanderkooi, J.M. (1979). Effect of ethanol on membranes: a fluorescent probe study. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 3: 60-3.
- Van der Kooy, D.; O'Shaunessy, M; Mucha, R. i Kalant, H. (1983). Motivational properties of ethanol in naive rats as studied by place conditioning. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 19: 441-5.
- Veening, J.G.; Swanson, L.W.; Cowan, W.M.; Nieuwenhuys, R. i Geeraedts, L.M. (1982). The medial forebrain bundle of the rat. An autoradiographic study of the topography of the major descending and ascending components. *Journal of Comparative Neurology*, 206: 82-108.
- Vertes, R.P. (1981). An analysis of ascending brain stem systems involved in hippocampal synchronization and desynchronization. *Journal of Neurophysiology*, 46: 1140-59.
- Vertes, R.P. (1988). Brainstem afferents to the basal forebrain in the rat. *Neuroscience*, 24: 907-35.
- Vertes, R.P. (1992). PHA-L analysis of projections from the supramammillary nucleus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 326: 595-622.

- Vertes, R.P.; Kinney, G.G.; Kocsis, B. i Fortin, W.J. (1994). Pharmacological suppression of the median raphe nucleus with 5-HT_{1A} agonists, 8-OH-DPAT and Buspirone, produces hippocampal theta rhythm in the rat. *Neuroscience*, 60: 441–51.
- Victor, M.; Adams, R.D. i Mancall, E.L. (1959). A restricted form of cerebellar cortical degeneration occurring in alcoholic patients. *Archives of Neurology*, 1: 579-688.
- Victor, M.; Adams, R.A. i Collins, G.H. (1989). *The Wernicke-Korsakoff syndrome and related disorders due to alcoholism and malnutrition*. Davis: Filadelfia.
- Vinogradova, O.S. (1995). Expression, control, and probable functional significance of the neuronal theta-rhythm. *Progress in Neurobiology*, 45: 523-83.
- Volkow, N.D.; Wang, G.-J.; Fowler, J.S.; Logan, J.; Hitzemann, R.; Ding, Y.-S.; Pappas, N.; Shea, C. i Piscani, K. (1996). Decreases in dopamine receptors but not in dopamine transporters in alcoholics. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 20: 1594-8.
- Von Wartburg, J.P.; Papenber, G.J. i Aebi, H. (1965). An atypical human alcohol dehydrogenase. *Canadian Journal of Biochemistry*, 43: 889-98.
- Von Wartburg, J.P. (1989). Pharmacokinetics of alcohol. En Crow, K.E. i Batt, R.D. (Eds.). *Human metabolism of alcohol. Vol. I. Pharmacokinetics, medicolegal aspects, and general interests*. CRC Press: Boca Raton, Florida.
- Wada, E.; Wada, K.; Boulter, J.; Deneris, E.; Heinemann, S.; Patrick, J. i Swanson, L.W. (1989). Distribution of alpha 2, alpha 3, alpha 4, and beta 2 neuronal nicotinic receptor subunit mRNAs in the central nervous system: a hybridization histochemical study in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 284: 314-35.
- Wainer, B.H.; Bolam, J.P.; Freund, T.F.; Henderson, Z.; Totterdell, S. i Smith, A.D. (1984a). Cholinergic synapses in the rat brain: a correlated light and electron microscopic immunohistochemical study employing a monoclonal antibody against choline acetyltransferase. *Brain Research*, 308: 69-76.
- Wainer, B.H.; Levey, A.I.; Mufson, E.J. i Mesulam, M.M. (1984b). Cholinergic systems in mammalian brain identified with antibodies against choline acetyltransferase. *Neurochemistry International*, 6: 163-82.
- Wainer, B.H.; Levey, A.I.; Rye, D.B.; Mesulam, M.M. i Mufson, E.J. (1985). Cholinergic and non-cholinergic septohippocampal pathways. *Neuroscience letters*, 54: 45-52.
- Walker, D.W. i Freund, G. (1971). Impairment of shuttle box avoidance learning following prolonged alcohol consumption in rats. *Physiology and Behavior*, 7: 773-8.
- Walker, D.W.; Barnes, D.E.; Zornetzer, S.F.; Hunter, B.E. i Kubanis, P. (1980). Neuronal loss in hippocampus induced by prolonged ethanol consumption in rats. *Science*, 209: 711-3.
- Wallace, M.; Sanson, A. i Singer, G. (1978). Adjunctive behavior in humans on a food delivery schedule. *Physiology and Behavior*, 20: 203-4.

- Waller, M.B.; McBride, W.J.; Lumeng, L. i Li, T.K. (1982). Induction of dependence on ethanol by free-choice drinking in alcohol-preferring rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 16: 501-7.
- Wang, Y.L.; Han, Y. i Qian, J.P. (1994). Experimental study on anti-lipoperoxidation of *Hovenia dulcis* Thunb. *Chinese Traditional Herbal Drugs*, 25: 306 -7.
- Wang, J.Y.; Wang, J.Y.; Wang, Y. i Wang, J.Y. (2000). A comparison between acute exposures to ethanol and acetaldehyde on neurotoxicity, nitric oxide production and NMDA-induced excitotoxicity in primary cultures of cortical neurons. *Chinese Journal of Physiology*, 43: 131-8.
- Ward, L.C. (1987). Animal models of chronic alcohol ingestion: the liquid diet. *Drug and Alcohol Dependence*, 19: 333-44.
- Ward, R.J.; Colantuoni, C.; Dahchour, A.; Quertemont, E. i De Witte, P. (1997). Acetaldehyde-induced changes in the monoamine and amino acid extracellular microdialysate content of the nucleus accumbens. *Neuropharmacology*, 36: 225-32.
- Ward, R.J. i Coutelle, C.H. (2003). Women and alcohol susceptibility: Could differences in alcohol metabolism predispose women to alcohol-related diseases? *Archives of Women's Mental Health*, 6: 231-8.
- Weiner, J.L.; Zhang, L. i Carlen, P.L. (1994). Potentiation of GABA_A-mediated synaptic current by ethanol in hippocampal CA1 neurons: possible role of protein kinase C. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 268: 1388-95.
- Weiner, J.L.; Gu, C. i Dunwiddie, T.V. (1997). Differential ethanol sensitivity of subpopulations of GABA_A synapses onto rat hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Journal of Neurophysiology*, 77: 1306-12.
- Weiss, F.; Parsons, L.H.; Schulteis, G.; Hyytiä, P.; Lorang, M.T.; Bloom, F.E. i Koob, G.F. (1996). Ethanol self-administration restores withdrawal-associated deficiencies in accumbal dopamine and 5-hydroxytryptamine release in dependent rats. *Journal of Neuroscience*, 16: 3474-85.
- Wenk, G.L. (1997). The nucleus basalis magnocellularis cholinergic system: One hundred years of progress. *Neurobiology of learning and memory*, 67: 85-95.
- White, A.M. i Best, P.J. (2000). Effects of ethanol on hippocampal place-cell and interneuron activity. *Brain Research*, 876: 154-65.
- White, A.M.; Matthews, D.B. i Best, P.J. (2000). Ethanol, memory, and hippocampal function: A review of recent findings. *Hippocampus*, 10: 88-93.
- Whiteaker, P.; Davies, A.R.; Marks, M.J.; Blagbrough, I.S.; Potter, B.V.; Wolstenholme, A.J.; Collins, A.C. i Wonnacott, S. (1999). An autoradiographic study of the distribution of binding sites for the novel alpha7-selective nicotinic radioligand [³H]-methyllycaconitine in the mouse brain. *European Journal of Neuroscience*, 11: 2689-96.

- Whiting, P.J. (1999). The GABA_A receptor gene family: new targets for therapeutic intervention. *Neurochemistry International*, 34: 387-90.
- Whitworth, A.B.; Fischer, F.; Lesch, O.M.; Nimmerrichter, A.; Oberbauer, H.; Platz, T.; Potgieter, A.; Walter, H. i Fleischhacker, W.W. (1996). Comparison of acamprosate and placebo in long-term treatment of alcohol dependence. *Lancet*, 347: 1438-42.
- Williams, C.M. i Skinner, A.E.G. (1990). The cognitive effects of alcohol abuse: A controlled study. *British Journal of Addiction*, 85: 911-7.
- Williams, S.H. (2005). Medications for treating alcohol dependence. *American Family Physician*, 72: 1775-80.
- Willner, P. (1991). Animal models as simulations of depression. *Trends in Pharmacological Science*, 12: 131-6.
- Winslow, J.T. i Miczek, K.A. (1985). Social status as determinant of alcohol effects on aggressive behavior in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *Psychopharmacology*, 85: 167-72.
- Wirkner, K.; Poelchen, W.; Köles, L.; Mühlberg, K.; Scheibler, P.; Allgaier, C. i Illes, P. (1999). Ethanol-induced inhibition of NMDA receptor channels. *Neurochemistry International*, 35: 153-62.
- Wirkner, K.; Eberts, C.; Poelchen, W.; Allgaier, C. i Illes, P. (2000). Mechanism of inhibition by ethanol of NMDA and AMPA receptor channel functions in cultured rat cortical neurons. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 362: 568-76.
- Wise, R.A. (1978). Catecholamine theories of reward: A critical review. *Brain Research*, 152: 215-47.
- Wise, R.A. (2004). Dopamine, learning and motivation. *Nature Reviews. Neuroscience*, 5: 483-94.
- Wolffgramm, J. (1990). Free choice ethanol intake of laboratory rats under different social conditions. *Psychopharmacology*, 101: 233-9.
- Wolffgramm, J. (1991). An ethopharmacological approach to the development of drug addiction. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 15: 515-9.
- Wolffgramm, J. i Heyne, A. (1991). Social behavior, dominance, and social deprivation of rats determine drug choice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 38: 389-99.
- Wolffgramm, J. i Heyne, A. (1995). From controlled drug intake to loss of control: the irreversible development of drug addiction in the rat. *Behavioral Brain Research*, 70: 77-94.
- Wong, D.F. i Brasic, J.R. (2001). In vivo imaging of neurotransmitter systems in neuropsychiatry. *Clinical Neuroscience Research*, 1: 35-45.
- Wong, D.F.; Maini, A.; Rousset, O.G. i Brasic, J.R. (2003). Positron emission tomography. A tool for identifying the effects of alcohol dependence on the brain. *Alcohol Research and Health*, 27: 161-73.

- Wonnacott, S. (1990). The paradox of nicotinic acetylcholine receptor upregulation by nicotine. *Trends in Neurosciences*, 11: 216-9.
- Wonnacott, S. (1997). Presynaptic nicotinic ACh receptors. *Trends in Neuroscience*, 20: 92-8.
- Woodhams, P.L.; Roberts, G.W.; Polak, J.M. i Crow, T.J. (1983). Distribution of neuropeptides in the limbic system of the rat: The bed nucleus of the stria terminalis, septum and preoptic area. *Neuroscience*, 8: 677-703.
- Woodward, J.J. (1999). Ionotropic glutamate receptors as sites of action for ethanol in the brain. *Neurochemistry International*, 35: 107-13.
- Woodward, J.J. (2000). Ethanol and NMDA receptor signalling. *Critical Reviews in Neurobiology*, 14: 69-89.
- Wolf, N.J. (1991). Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord. *Progress in Neurobiology*, 37: 475-524.
- Worner, T.M. (1996). Relative kindling effect of readmissions in alcoholics. *Alcohol and Alcoholism*, 31: 375-80.
- Wozniak, K.M.; Pert, A. i Linnoila, M. (1990). Antagonism of 5-HT₃ receptors attenuates the effects of ethanol on extracellular dopamine. *European Journal of Pharmacology*, 187: 287-9.
- Wozniak, K.M.; Pert, A.; Mele, A. i Linnoila, M. (1991). Focal application of alcohols elevates extracellular dopamine in rat brain: A microdialysis study. *Brain Research*, 540: 31-40.
- Wurst, F.M.; Skipper, G.E. i Weinmann, W. (2003). Ethyl glucuronide-the direct ethanol metabolite on the threshold from science to routine use. *Addiction*, 98 (Suppl. 2): 51-61.
- Xu, B.J.; Zheng, Y.N. i Sung, C.K. (2005). Natural medicines for alcoholism treatment: A review. *Drug and Alcohol Review*, 24: 525-36.
- Yamamoto, J. (1998). Effects of nicotine, pilocarpine, and tetrahydroaminoacridine on hippocampal theta waves in freely moving rabbits. *European Journal of Pharmacology*, 359: 133-7.
- Yasunami, M.; Chen, C.S. i Yoshida, A. (1991). A human alcohol dehydrogenase gene (ADH6) encoding an additional class of isozyme. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88: 7610-4.
- Yi, D. (1991). Alcohol. En: Miller, N.S. (Ed.). *Comprehensive handbook of drug and alcohol addiction*. Marcel Dekker: New York.
- Yim, H.J.; Schallert, T.; Randall, P.K. i Gonzales, R.A. (1998). Comparison of local and systemic ethanol effects on extracellular dopamine concentration in the rat nucleus accumbens by microdialysis. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 22: 367-74.

- Yim, H.J.; Robinson, D.L.; White, M.L.; Jaworski, J.N.; Randall, P.K.; Lancaster, F.E. i Gonzales, R.A. (2000). Dissociation between the time course of ethanol and extracellular dopamine concentrations in the nucleus accumbens after a single intraperitoneal injection. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 24: 781-8.
- Yin, S.J.; Wang, M.F.; Liao, C.S.; Chen, C.M. i Wu, C.W. (1990). Identification of a human stomach alcohol dehydrogenase with distinctive kinetic properties. *Biochemistry International*, 22: 829-35.
- Yoder, R.M. i Pang, K.C.H. (2005). Involvement of GABAergic and cholinergic medial septal neurons in hippocampal theta rhythm. *Hippocampus*, 15: 381-92.
- Yoshida, K.; Engel, J. i Liljequist, S. (1982). The effects of chronic ethanol administration on high affinity ³H-nicotine binding in rat brain. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*, 321: 74-6.
- Yoshida, K. i Oka, H. (1995). Topographical projections from the medial septum-diagonal band complex to the hippocampus: A retrograde tracing study with multiple fluorescent dyes in rats. *Neuroscience Research*, 21: 199-209.
- Yoshikawa, M.; Murakami, T.; Harada, E.; Murakami, N.; Yamahara, J. i Matsuda H. (1996). Bioactive saponins and glycosides. VI. Elatosides A and B, potent inhibitors of ethanol absorption, from the bark of *Aralia elata* Seem.(Araliaceae): the structure-requirement in oleanolic acid glucuronide-saponins for the inhibitory activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 44: 1915-22.
- Yoshimoto, K.; McBride, W.J.; Lumeng, L. i Li, T-K. (1992). Alcohol stimulates the release of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens. *Alcohol*, 9: 17-22.
- Yoshimoto, K.; Yayama, K.; Sorimachi, Y.; Tani, J.; Ogata, M.; Nishimura, A.; Yoshida, T.; Ueda, S. i Komura, S. (1996). Possibility of 5-HT₃ receptor involvement in alcohol dependence: a microdialysis study of nucleus accumbens dopamine and serotonin release in rats with chronic alcohol consumption. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 20 (Suppl. 9): 311A-319A.
- Zacny, J.P. (1990). Behavioral aspects of alcohol–tobacco interactions. *Recent Developments in Alcoholism*, 8: 205-19.
- Zagon, A.; Totterdell, S. i Jones, R.S. (1994). Direct projections from the ventrolateral medulla oblongata to the limbic forebrain: Anterograde and retrograde tract-tracing studies in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 340: 445-68.
- Zhang, L.; Hosoi, M.; Fukuzawa, M.; Sun, H.; Rawlings, R.R. i Weight, F.F. (2002). Distinct molecular basis for differential sensitivity of the serotonin type 3A receptor to ethanol in the absence and presence of agonist. *Journal of Biological Chemistry*, 277: 46256-64.
- Zhou, Q.; Verdoorn, T.A. i Lovinger, D.M. (1998). Alcohols potentiate the function of 5-HT₃ receptor-channels on NCB-20 neuroblastoma cells by favouring and stabilizing the open channel state. *Journal of Physiology*, 507: 335-52.

- Ziechner, A.; Allen, J.D.; Petrie, C.D.; Raasmussen, P.R. i Giaancola, P.R. (1993). Attention allocation: Effects of alcohol and information salience on attentional process in male social drinkers. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 17: 727-32.
- Zimatkin, S.M. (1991). Histochemical study of aldehyde dehydrogenase in the rat CNS. *Journal of Neurochemistry*, 56: 1-11.
- Zimatkin, S.M.; Rout, U.K.; Koivusalo, M.; Buhler, R. i Lindros, K.O. (1992). Regional distribution of low-K_m mitochondrial aldehyde dehydrogenase in the rat central nervous system. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 16: 1162-7.
- Zimatkin, S.M. i Deitrich, R.A. (1995). Aldehyde dehydrogenase activities in the brain of rats and mice genetically selected for different sensitivity to alcohol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 19: 1300-6.
- Zimatkin, S.M. i Deitrich, R.A. (1997). Ethanol metabolism in brain. *Addiction Biology*, 2: 387-99.
- Zimatkin, S.M.; Liopo, A.V. i Deitrich, R.A. (1998). Distribution and kinetics of ethanol metabolism in rat brain. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 22: 1623-7.
- Zimatkin, S.M.; Pronko, S.P.; Vasiliou, V.; Gonzalez, F.J. i Deitrich, R.A. (2006). Enzymatic mechanisms of ethanol oxidation in the brain. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 30: 1500-5.
- Zucoloto, S.; Rossi, M.A. i Wright, N.A. (1984). Experimental models of chronic alcoholism, solid diet versus liquid diet. *International Journal of Vitamin and Nutrition Research*, 54: 387-91.
- Zuo, Y.; Kuryatov, A.; Lindstrom, J.M.; Yeh, J.Z. i Narahashi, T. (2002). Alcohol modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors is α subunit dependent. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 26: 779-84.
- Zuo, Y.; Nagata, K.; Yeh, J.Z. i Narahashi, T. (2004). Single-channel analyses of ethanol modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 28: 688-96.

7. ANNEX I

7. ANNEX I

Cronograma de l'Experiment I

DIES DE VIDA

1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21 Deslletament i inici del consum d'alcohol o glucosa
22 Fase lliure Accés	23 Accés <i>ad libitum</i> al menjar	24	25	26	27	28
29	30	31	32	33	34	35
36	37	38	39	40	41	42
43 Fase Accés Restringit 5 dies setmana	44	45	46	47	48 No EtOH No Glu	49 No EtOH No Glu
50	51	52	53	54	55 No EtOH No Glu	56 No EtOH No Glu
57	58	59	60 Individualització Consum 1 hora/dia			

continuació...

DIES DE VIDA

Setmana 1	60 Individualització Consum 1 hora/dia	61 Menjar 3 hores/dia	62	63	64	65 Menjar <i>ad libitum</i>	66 Menjar <i>ad libitum</i>
Setmana 2	67	68	69	70	71	72 Menjar <i>ad libitum</i>	73 Menjar <i>ad libitum</i>
Setmana 3	74 Cirurgia	75 Cirurgia	76 Cirurgia	77 Cirurgia	78 Cirurgia	79	80
Setmana 4	81 Inici de la privació al 80%	82	83	84	85	86	87
Setmana 5	88 Habitució Injecció Assignació	89 Habitució Injecció	90 Habitució Injecció Abstinència	91 Injecció i Free Shaping	92 2º Free Shaping	93	94
Setmana 6	95 Reinstauració del consum	96	97	98	99	100 Eutanàsia Histologia	101

Cronograma Experiment II

DIES DE VIDA

Setmana 7	102 TR	103 TR	104 sessió discriminació 1 (Disc1)	105 sessió discriminació 2 (Disc2)	106 sessió discriminació 3 (Disc3)	107	108
Setmana 8	109 sessió discriminació 4 (Disc1)	110 sessió discriminació 5 (Disc4)	111 sessió discriminació 6 (Disc5)	112 sessió discriminació 7 (Disc6)	113 sessió discriminació 8 (Disc7)	115	115
Setmana 9	116 sessió discriminació 9 (Disc4)	116 sessió discriminació 10 (Disc5)	118 sessió discriminació 11 (Disc6) Inici Abstinència	119 Injecció Intraseptal Prova de Dos Estimuls de Pavlov	120 Sessió d'extinció	121 Eutanàsia Histologia	122

8. ANNEX II

8. ANNEX II.

Per ordre de presentació, gràfiques del registre acumulatiu:

- o d'una sessió de discriminació
- o de la Prova de Dos Estímuls de Pavlov
- o de la sessió d'extinció