
*EL SISTEMA ENDÓGENO DE SEROTONINA
NO PARTICIPA EN LA ABSTINENCIA OPIÁCEA,
AUNQUE SU INHIBICIÓN POR ESTIMULACIÓN
DEL RECEPTOR 5-HT_{1A} INCREMENTA LA EFICACIA
ANTIDISFÓRICA DE LA CLONIDINA EN RATAS*

Emilio Fernández ¹, Luis Stinus ², Umberto Spampinato ², Philippe De Deurwaerdère ², Stéphanie Caillé ², George F. Koob ³

¹ Departamento de Fisiología. Universidad de Sevilla

² Unité UMR-CNRS 5541, Université de Bordeaux 2, Francia.

³ Department of Neuropharmacology, The Scripps Research Institute, La Jolla, California, EEUU

RESUMEN

El objetivo del estudio fue discernir el papel del sistema endógeno de serotonina en la abstinencia opiácea, tanto en su vertiente somática como emocional, así como su posible interacción con los efectos de la clonidina. Con tal fin, se empleó un protocolo basado en la lesión casi total de los principales centros serotoninérgicos del mesencéfalo, y también se bloqueó la actividad serotoninérgica mediante 8-hidroxi-dipropilamino-tetralina (8-OHDPAT), agonista 5-HT_{1A}. Los resultados indicaron que el sistema serotoninérgico no se encuentra involucrado en el síndrome somático de abstinencia y que la clonidina mantuvo su eficacia en el síndrome somático tras la depleción de serotonina. Los resultados también mostraron que el sistema de serotonina tampoco se encuentra involucrado en el síndrome emocional en la rata, evaluado mediante la aversión condicionada tras naloxona. Sin embargo, la eficacia antiaversiva de la clonidina se vio incrementada casi 10 veces tras la depleción casi com-

pleta de serotonina cerebral. Además, la inhibición farmacológica del sistema serotoninérgico con 8-OHDPAT indujo efectos similares a la depleción serotoninérgica respecto a la eficacia antiaversiva de la clonidina. Por tanto, el uso combinado de compuestos agonistas del receptor 5-HT1A y clonidina podría ser eficaz para el tratamiento del síndrome de abstinencia opiáceo.

ABSTRACT

The aim of the study was to discern the role of the endogenous serotonin system in opiate withdrawal, in both somatic and emotional aspects, along with its possible interaction with clonidine effects. To this end, a protocol based on near complete lesion of main serotonergic brain centers was carried out, and serotonin neurotransmission was also blocked by 8-hydroxy-dipropylaminotetraline (8-OHDPAT), 5-HT1A receptor agonist. The findings revealed that the serotonin system is not involved in somatic abstinence, and clonidine efficacy was not affected after serotonin depletion. The findings also revealed that the serotonin system is not involved in the emotional aspect of opiate abstinence, as measured through conditioned place aversion in rats. However, antiaversive clonidine efficacy was enhanced near 10 times following serotonin depletion. Moreover, 8-OHDPAT treatment induced similar effects on antiaversive clonidine efficacy to those found after serotonin depletion. Hence, the combined use of 5-HT1A receptor agonists and clonidine could be of value for treatment of opiate withdrawal syndrome.

Key words: opiáceo, abstinencia, morfina, serotonina, clonidina, 5-HT1A.

INTRODUCCIÓN

La teoría de los “procesos opuestos” postula que la dependencia opiácea representa un estado homeostático nuevo donde mecanismos neurofisiológicos se tornan hiper o hipoactivos, en parte para contrarrestar el efecto de los opiáceos en el organismo (Solomon, 1980; Koob y Bloom, 1988). Durante el síndrome de abstinencia, dichos mecanismos alterados se pondrían de manifiesto dando lugar a la sintomatología abstinente.

Las bases neurobiológicas de la abstinencia opiácea se han estudiado intensamente a nivel experimental, y se han implicado estructuras como la amígdala, la amígdala extendida, el núcleo accumbens y la sustancia gris periacueductal (Stinus et al., 1990; Maldonado et al., 1992; Heinrichs et al., 1995; Christie et al., 1997).

Se sabe que, durante la abstinencia aguda, existe un importante aumento de la actividad noradrenérgica que incide sobre estos centros, y que se correlaciona con la gravedad del síndrome. De hecho, el bloqueo de la hiperactividad noradrenérgica mediante fármacos como la clonidina (agonista adrenérgico alfa-2 que disminuye la liberación de noradrenalina a nivel presináptico) es capaz de atenuar significativamente la sintomatología del síndrome de abstinencia. Antes se creía que este fenómeno era debido a una hiperactividad en el locus coeruleus, fuente principal de noradrenalina del cerebro. Sin embargo, nuestros estudios han permitido demostrar que dicho núcleo no juega un papel relevante (Caillé et al., 1999), pues su destrucción no altera el síndrome de abstinencia opiáceo. Otros autores han detectado que la actividad noradrenérgica que se origina en las áreas noradrenérgicas espinales (A1-A3) sí es clave en la sintomatología somática del síndrome de abstinencia (Delfs et al., 2000).

Respecto a la actividad dopaminérgica, se detecta un gran aumento de dopamina en la corteza prefrontal durante el síndrome agudo de abstinencia en ratas, junto a una depresión acentuada de la liberación de dopamina en el núcleo accumbens. Nuestros estudios y los de otros autores permiten postular que los cambios en corteza prefrontal son de naturaleza dual, tanto compensatoria como agravante del síndrome (Fernández Espejo et al., 2000). Así, el aumento de dopamina prefrontal disminuye la gravedad somática del síndrome (ejemplo de mecanismo homeostático), pero de modo reactivo disminuye la actividad dopaminérgica en el núcleo accumbens, lo que es un hecho importante en el desarrollo de la disforia emocional propia del síndrome de abstinencia (Nestler, 2001). Otros autores han confirmado que la disforia se relaciona con hipoactividad dopaminérgica en el núcleo accumbens, pero que ésta también es debida al aumento de AMPc intracelular que ocasiona la liberación de dinorfinas que inhiben la liberación de dopamina en el núcleo accumbens. Por tanto la disforia, que es un signo cardinal de la abstinencia opiácea, parece ser mediada por una disminución de la actividad dopaminérgica mesolímbica causada tanto por la liberación de dinorfinas como por una acción inhibitoria de origen prefrontal.

La participación del sistema de serotonina en la abstinencia opiácea se ha postulado pero no se conoce con detalle. En ratas, parece ser que este sistema no es responsable de la sintomatología abstinenta, exceptuando ciertos signos somáticos (Cervo et al., 1983). En la vertiente emocional del síndrome, caracterizada por disforia y anhedonia, podría verse involucrado, aunque los resultados son contradictorios. Algunos autores han observado que el empleo de antagonistas del receptor 5-HT₃ alivia la aversión condicionada (manifestación de disforia) en ratas (Acquas et al., 1990; Higgins et al., 1991). Antagonistas del receptor 5-HT₃, como ondansetrón, se emplean de hecho en la clínica para el tratamiento de la abstinencia opiácea (Carreño et al., 2002).

El objetivo del estudio fue discernir el papel del circuito serotoninérgico en la abstinencia opiácea, tanto en su vertiente somática como emocional, así como su posible interacción con los efectos de la clonidina. Con tal fin, se empleó un protocolo basado en la lesión casi total de los principales centros serotoninérgicos del mesencéfalo, o sea, los núcleos dorsal del rafe (RD), magno del rafe (MR) y núcleo entopeduncular por donde pasan numerosas fibras serotoninérgicas ascendentes. También se bloqueó farmacológicamente la actividad serotoninérgica mediante 8-hidroxi-dipropilaminotetralina (8-OHDPAT), agonista de los receptores presinápticos 5-HT_{1A}. Los efectos de la lesión se estudiaron en ratas dependientes de morfina, tras la precipitación del síndrome de abstinencia mediante naloxona, antagonista opiáceo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Se emplearon ratas Sprague-Dawley (200-300 g), alojadas en un animalario con temperatura (22°C) y ciclo luz-oscuridad regulados (luz de 0800 a 2000 horas). El alimento y la bebida se disponían ad libitum.

Cirugía estereotáxica

Las ratas se inyectaron con desmetilimipramina (10 mg/Kg IP) y nomifensina (10 mg/Kg IP) treinta minutos antes de la lesión, para proteger las neuronas noradrenérgicas y dopaminérgicas respectivamente del tóxico. Se anestesiaron con ketamina (10mg/kg) y xilazina (1 mg/kg) IM, y se

colocaron en un aparato estereotáxico Kopf, con la barra de incisivos a 3,3 mm bajo la línea interauricular. Se abrió el campo quirúrgico y se taladró un orificio en el cráneo sobre las coordenadas de lesión: rafe dorsal, AP -4,4; L ±0,5; V -6.3 mm y AP -5,4; L ±0,5; V -6.2 mm; núcleo interpeduncular, AP -5,4; L ±0,5; V -9,2 mm, y rafe magno, AP -5,4; L ±0,5; V -9,2 mm respecto a bregma según el atlas de Paxinos y Watson (1997). Se inyectó en cada sitio 4 µl de 5,7-DHT (2 µl de una solución con 0,9% de NaCl y 0,2% de ácido ascórbico), durante cinco minutos a través de una microcánula de 30 gauge, conectada a una jeringa Hamilton de 10 µl y a una bomba de inyección regulable. La microcánula se mantuvo 5 min tras la lesión y se retiró lentamente. Antes de la cirugía, las ratas recibirán una inyección profiláctica de penicilina (100000 UI IM). Las ratas control (con falsa lesión) siguieron el mismo protocolo, pero la solución inyectada no contenía 5,7-DHT. Los experimentos comenzaron 1 semana tras la lesión.

Experimentos

Se realizaron dos experimentos. En el experimento 1, se evaluó el síndrome de abstinencia somático, así como los efectos de la clonidina en el mismo. En el experimento 2, se valoró el aspecto emocional del síndrome de abstinencia por medio de la aversión condicionada tras naloxona. En este experimento se utilizó también clonidina y 8-OHDPAT.

Inducción de la dependencia a morfina y precipitación del síndrome de abstinencia

Se implantaron dos pastillas de morfina SC (75 mg cada, National Institute of Drug Abuse, Baltimore, MD, USA), bajo anestesia con halotano. La incisión se cerró con clips quirúrgicos y se aplicó antiséptico a la herida. Las dos pastillas de morfina inducen una dependencia opiácea durante 13-14 días (Gold et al., 1994). Para el experimento 1, el síndrome de abstinencia se precipitó con naloxona (0, 10, 50, 100 y 1000 µg/kg SC), disuelta en solución salina (NaCl al 0,9%). Para el experimento 2, se empleó naloxona a 0, 1.8, 3.7, 7.5 y 15 µg/kg. Se inyectó los días 3, 5, 7, 9 y 10 de la dependencia para el estudio somático (cambiando de modo secuencial la dosis inicial para cada rata). Los efectos comportamentales y emocionales se estudiarán durante 20 min a partir de la inyección de naloxona.

Estudio del síndrome de abstinencia

Aspectos somáticos

Se estudiaron en una arena neutral que consiste en un enclave cilíndrico transparente (31 x 40 cm), cubierto para que la rata no escape. Cada prueba duró 20 min. El enclave se iluminó con una luz roja de 15W, a 1,5 m encima del enclave. El enclave se colocó en un cuarto aislado de ruidos, con ruido blanco para enmascarar posibles ruidos externos. La conducta de la rata se evaluó de acuerdo a un catálogo de pautas de conducta, que incluía frecuencias de salto y masticación, duración de postura encogida, pérdida de peso (antes y 1 h después de la naloxona), diarrea, salivación y vocalizaciones (Fernández Espejo et al., 1995). En la arena neutral, la conducta de la rata se filmó y las filmaciones se analizaron mediante el teclado del ordenador y programas informáticos apropiados. También se empleó un índice global de abstinencia, que incluye diversos signos ponderados (Gellert y Holtzman, 1978).

Aspecto emocional

Se estudió con el protocolo de aversión condicionada. El aparato consiste en tres compartimentos rectangulares (40 x 33 x 34 cm), en ángulo de 120° y todos accesibles desde un espacio triangular central. Los tres enclaves se colocaron en un cuarto insonorizado, iluminado con luz roja de 15W. Cada compartimento se identifica mediante tres estímulos: color del suelo (blanco, puntos negros, líneas negras); olor (ácido acético, anís, sin olor), o textura del suelo (áspero, liso, muy áspero). Cada compartimento se equipa con cinco células fotoeléctricas separadas 8,5 cm entre sí, a 3,5 cm sobre el suelo. La posición de la rata se detecta por la interrupción de la célula fotoeléctrica, y se registra automáticamente el tiempo en cada compartimento (Stinus et al., 1990, 2000). El procedimiento se basó en tres fases: 1) Fase de acondicionamiento: los animales se colocaron en el espacio central y se registró su posición durante 22 min. Los animales con una fuerte aversión (<17%) o preferencia (>44%) por un compartimento se desecharon. Para cada rata, se eligieron los dos compartimentos con tiempo de estancia más parecidos, para

la fase de acondicionamiento. Uno se asoció al azar con la administración de naloxona, y el otro con la de salina. 2) Fase de acondicionamiento: cuatro días consecutivos alternando naloxona y salina (2 días para cada). Las puertas de cada compartimento se cerraban permitiendo que el animal permaneciera en el elegido durante 20 min tras la inyección. 3) Fase de prueba: dos sesiones iguales a la de acondicionamiento, 24 y 48 h tras la última sesión de acondicionamiento. La aversión de lugar se calculó como la diferencia entre la fase de prueba (media de las dos sesiones) y la de acondicionamiento, en el compartimento asociado con la naloxona.

Tratamientos con clonidina y 8-OHDPAT

Para el experimento 1, las ratas lesionadas o control recibieron clonidina a dosis de 0, 50 y 200 µg/kg IP, antes de la administración de naloxona (1000 µg/kg). Para el experimento 2, se emplearon diversas dosis de clonidina: 0, 6, 12, 25, 50, 100, 200 y 400 µg/kg IP durante el acondicionamiento y cada día de administración de naloxona (15µg/kg SC), 1 hora antes de la inyección del antagonista opiáceo. La 8-OHDPAT se empleó para el experimento 2, con el fin de inhibir la liberación de serotonina mediante un mecanismo presináptico. Se empleó la dosis de 50 µg/kg IP.

Medición de los niveles tisulares de aminas biógenas

Las ratas se sacrificaron tras los experimentos. Se extirpó el cerebro y se diseccionó bajo microscopio la corteza, estriado e hipocampo, y se almacenaron a -80°C. Los niveles de serotonina, noradrenalina y dopamina se midieron posteriormente mediante un sistema de cromatografía líquida de alta resolución siguiendo la metodología habitual (Caillé et al., 2003).

Estadística

Los niveles de aminas biógenas se compararon con el test de Student. En el caso de los tests de conducta, se emplearon los tests de Kruskal-Wallis para comparar varios grupos entre sí, así como el test de Mann-Whitney para dos grupos independientes y el de Wilcoxon para dos grupos apareados.

RESULTADOS

Verificación bioquímica de la lesión de serotonina

Los resultados se presentan en la tabla 1. Las inyecciones múltiples en el RD, RM y núcleo interpeduncular indujeron una depleción casi completa de la inervación serotoninérgica. La depleción de 5-HT fue del 88% en córtex ($p < 0,001$), 86% en el hipocampo ($p < 0,001$) y del 99,6% en el estriado ($p < 0,0001$). La noradrenalina no se afectó significativamente en el hipocampo y córtex. Los niveles de dopamina tampoco se afectaron significativamente en el estriado

Noradrenalina	Dopamina	5-HT	
<i>Estriado</i>			
Control	n.d.	10198±1319	256±19
Lesión 5,7-DHT	n.d.	9050±508 (-11%)	1±1 (-99,6%)*
<i>Córtex</i>			
Control	201±22	n.d.	127±13
Lesión	224±17 (+10%)	n.d.	16±4 (-88%)*
<i>Hipocampo</i>			
Control	190±18	n.d.	165±8
Lesión	193±11 (+1%)	n.d.	24±12 (-86%)*

Los resultados se expresan en media ± EEM de ng/mg de tejido. * $p < 0,001$ respecto al grupo control (test de Student). Porcentaje de depleción respecto a control en paréntesis. n.d. = no determinado.

Experimento 1

Efectos de la lesión de 5-HT sobre el síndrome de abstinencia somático

Como se observa en la tabla 2, tanto en ratas control como lesionadas, la inyecciones de naloxona indujeron un incremento significativo de salto, masticación, postura encogida, pérdida de peso, diarrea ($p < 0,01$), salivación ($p < 0,01$) y vocalizaciones ($p < 0,001$). Los máximos valores se detectaron tras la dosis de 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en ambos grupos de ratas, que no mostraron diferencias significativas entre sí.

Pauta	Dosis de naloxona ($\mu\text{g}/\text{kg SC}$)	Grupo control	Grupo lesionado
Salto (frecuencia)	0	0	0
	10	0	0
	50	3±1 *	1±1
	100	3,5±1,2 *	2,1±1 *
	1000	3,1±1 *	3±0,9 *
Masticación (frecuencia)	1	0	0
	10	18±1 **	17,8±1 **
	50	18,1±1 **	18,5±0,8 **
	100	19,7±1,1 **	21,5±2 **
	1000	22,2±2 **	22,8±1,8 **
Postura encogida (duración)	0	0	0
	10	280±32 **	268±26 **
	50	700±78 **	677±89 **
	100	787±98 **	797±67 **
	1000	820±88 **	815±79 **
Pérdida de peso (porcentaje)	0	1	1
	10	1,5±1 *	1,6±1 *
	50	2,5±0,8 *	2,5±1 *
	100	4,1±1 **	4,3±2 *
	1000	4,8±2 **	5±2 **
Diarrea (porcentaje de animales)	0	2	0
	10	3	34
	50	75	81
	100	98	97
	1000	90	95
Salivación (porcentaje de animales)	0	0	0
	10	7	0
	50	0	15
	100	88	89
	1000	86	88
Vocalizaciones (porcentaje de animales)	0	0	0
	10	48	21
	50	86	57
	100	100	100
	1000	97	97

Las frecuencias y duraciones se expresan como media ± EEM + p<0,05, ** p < 0,01 respecto a la dosis 0 (test de Wilcoxon). El incremento en los diversos signos de abstinencia fue similar en ambos grupos de ratas, sin diferencias significativas.

Comparación entre medias mediante ANOVA. Comparación entre grupos mediante la prueba de Scheffé. Diferencias con p<0.05. NS: No significativo. aAlcohol con Heroína y Cocaína, bAlcohol con Cocaína y Heroína con Cocaína, cAlcohol con Heroína y Cocaína con Heroína, dHeroína con Alcohol y Cocaína.

BECK=Inventario Depresión de Beck, STAI/E/R=Cuestionario de Ansiedad Estado/Rasgo, BSI=Brief Symptom Inventory, GSI=Índice de Severidad Global, PSDI=Índice de malestar, PST=Total síntomas positivos, IPC=Inventario Procesos de Cambio, AC=Aumento concienciación, AU=Autoliberación, LS=Liberación Social, AUT=Autoliberación, RA=Reevaluación ambiental, CO=Contracondicionamiento, CON=Control de contingencias, MA=Manejo de estímulos, RE=Relieve dramático, RA= Relaciones de ayuda, AN-CON= Años de consumo, AN-ABU= Años de abuso, TRA-ANT=Tratamientos anteriores, ING-HOS=Ingresos Hospitalarios.

Lesión de 5-HT y efectos de la clonidina en el síndrome de abstinencia somático

En ambos grupos de ratas, la clonidina sola no afectó a la conducta y la inyección de naloxona (1000 µg/kg) indujo un fuerte síndrome de abstinencia (medido por el índice global de Gellert-Holtzman) como se esperaba. Tras la administración de clonidina (50 y 200 µg/kg IP) antes de la inyección de naloxona, el síndrome de abstinencia se atenuó significativamente de igual modo en ambos grupos de ratas, como muestra la figura 1.

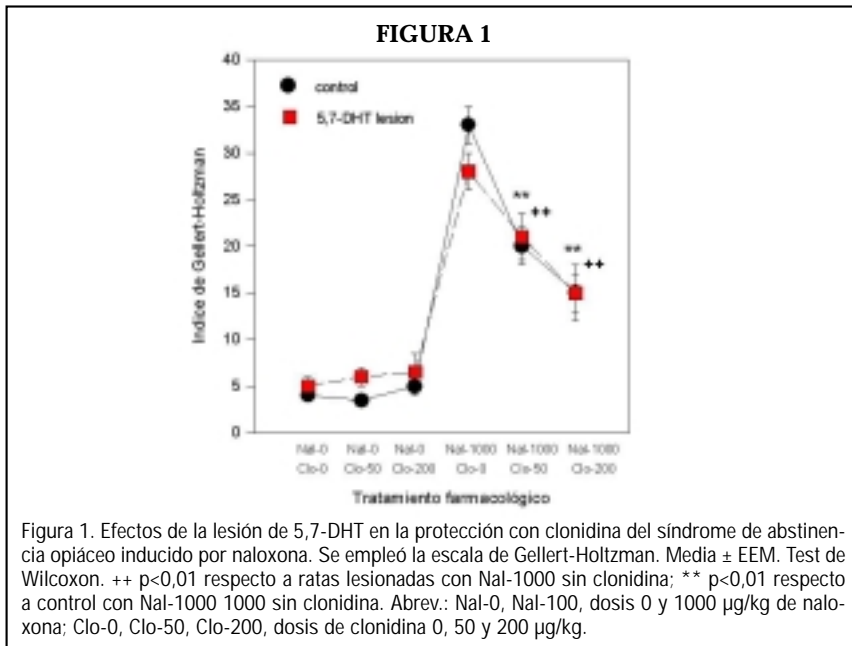


Figura 1. Efectos de la lesión de 5,7-DHT en la protección con clonidina del síndrome de abstinencia opiáceo inducido por naloxona. Se empleó la escala de Gellert-Holtzman. Media ± EEM. Test de Wilcoxon. ++ p<0,01 respecto a ratas lesionadas con Nal-1000 sin clonidina; ** p<0,01 respecto a control con Nal-1000 1000 sin clonidina. Abrev.: Nal-0, Nal-100, dosis 0 y 1000 µg/kg de naloxona; Clo-0, Clo-50, Clo-200, dosis de clonidina 0, 50 y 200 µg/kg.

Experimento 2

Efectos de la lesión de 5-HT sobre la aversión condicionada tras naloxona

Las ratas control mostraron una aversión significativa a las dosis de naloxona de 7,5 y 15 µg/kg (p<0,01). En las ratas lesionadas se observó una aversión al compartimento asociado con naloxona a las dosis de 3,7 (p<0,05), 7,5 y 15 µg/kg (p<0,01). Los animales, durante la aversión, preferían la estancia en el compartimento asociado a la inyección de salino. No hubo diferencias significativas entre las ratas lesionadas y control, indicando que ambos grupos presentaron un grado de aversión similar tras la naloxona, como se observa en la Tabla 3.

TABLA 3
Aversión inducida por la naloxona en ratas control y lesionadas con 5,7-DHT

Grupo	Dosis de Naloxona (µg/kg SC)	Diferencia de tiempo de estancia en el compartimento asociado a naloxona respecto a preconditionamiento (s)	Diferencia de tiempo de estancia en el compartimento asociado a control salino respecto a preconditionamiento (s)
Control	0	+10±40	+8±36
	1,8	-3±9	+68±70
	3,7	-98±25	+25±15
	7,5	-210±45 **	+210±80 *
	15	-187±40 **	+125±45 *
5,7-DHT	0	+8±30	+2±4
	1,8	-23±19	+34±19
	3,7	-99±20 *	-8±25
	7,5	-188±47 **	-145±47 *
	15	-157±45 *	-137±42 *

Los resultados se expresan en media ± EEM * p<0,01, ** p< 0,01 respecto al tiempo de estancia en el preconditionamiento (test de Wilcoxon). La aversión condicionada en ambos grupos de ratas fue similar.

Lesión de 5-HT y efectos de la clonidina en la aversión condicionada tras naloxona

Como se observa en la tabla 4, en las ratas control la clonidina fue efectiva para suprimir la aversión al compartimento asociado con naloxona a dosis superiores a 100 µg/kg IP, y se observó aversión condicionada significativa a dosis menores. Sin embargo, en las ratas lesionadas, la dosis menor efectiva de clonidina fue de 25 µg/kg, y sólo se detectó

aversión condicionada a dosis de 6 y 12 µg/kg ($p < 0,01$). El cálculo de la ED50 reveló que en las ratas lesionadas su valor fue 12 µg/kg y en el grupo control fue 114 µg/kg. Los resultados indicaron que el efecto antiaversivo de la clonidina se incrementó casi 10 veces en las ratas lesionadas.

TABLA 4

Efecto de la clonidina sobre la aversión inducida por la naloxona (15 µg/kg SC) en ratas control y lesionadas con 5,7-DHT

Grupo	Dosis de Clonidina (µg/kg SC)	Diferencia de tiempo de estancia en el compartimento asociado a naloxona respecto a precondicionamiento (s)	Diferencia de tiempo de estancia en el compartimento asociado a control salino respecto a precondicionamiento (s)
Control	0	-130±40 *	+90±45
	6	-145±49 *	+35±39
	12	-125±25 *	+33±25
	25	-88±34 *	+41±33
	50	-188±37 **	+125±43
5,7-DHT	100	-186±42 **	+80±32
	200	+20±5	+21±5
	400	+15±7	+35±4
	0	-135±46 **	+267±55 **
	6	-201±39 **	+186±49 **
	12	-127±24 **	+100±35 *
	25	-28±34	+51±63
	50	-39±37	+101±33 *
	100	-8±4	-2±33
	200	-2±5	+2±5
	400	+1±7	+3±4

Los resultados se expresan en media ± EEM. Se observa que las ratas control presentaron aversión del compartimento asociado a naloxona hasta 100 µg/kg de clonidina, pero la aversión en las ratas lesionadas se anuló a una dosis de clonidina de 25 µg/kg. La clonidina se inyectó 60 min antes de la naloxona. * $p < 0,01$, ** $p < 0,01$ respecto al tiempo de estancia en el precondicionamiento (test de Wilcoxon).

Efecto de 8-OHDPAT en la protección de la clonidina sobre la aversión condicionada tras naloxona

Los resultados mostraron que, tras 8-OHDPAT (50 µg/kg), la dosis de clonidina de 25 µg/kg fue efectiva en atenuar la aversión condicionada tras naloxona, y la dosis de 50 µg/kg de clonidina anuló completamente

la aversión condicionada, como se observa en la tabla 5. Este hecho concuerda con los datos obtenidos tras la lesión serotoninérgica, donde la dosis efectiva de clonidina fue también de 25 µg/kg, en contraste con la dosis necesaria en ratas control de 100 µg/kg. La 8-OHDPAT sola (dosis 0 de clonidina) no afectó a la aparición de aversión condicionada tras naloxona.

TABLA 5

Efecto de la clonidina sobre la aversión inducida por la naloxona (15 µg/kg) en ratas tratadas con 8-OHDPAT (50 µg/kg)

Grupo	Dosis de Clonidina (µg/kg SC)	Diferencia de tiempo de estancia en el compartimento asociado a naloxona respecto a precondicionamiento (s)	Diferencia de tiempo de estancia en el compartimento asociado a control salino respecto a precondicionamiento (s)
	0	-80±35 *	3±4
	6	-115±28 *	+36±29
	12	-145±25 **	+93±35
	25	-28±34	+24±23
	50	-10±7	+21±13

Los resultados se expresan en media ± EEM. Se observa que en las ratas tratadas con 8-OHDPAT se anuló la aversión condicionada a una dosis de clonidina de 25 µg/kg, de igual modo que sucedió tras la lesión selectiva de serotonina con 5,7-DHT. La clonidina se inyectó 60 min antes, y el 8-OHDPAT 20 min antes de la naloxona. * $p < 0,01$, ** $p < 0,01$ respecto al tiempo de estancia en el precondicionamiento (test de Wilcoxon).

DISCUSIÓN

La participación del sistema de serotonina en la abstinencia opiácea es objeto actual de estudio. Nuestro trabajo indica que no se encuentra involucrado en el síndrome somático de abstinencia. Así, las distintas pautas de conducta durante la abstinencia inducida por naloxona no se vieron alteradas tras la depleción casi completa de la inervación serotoninérgica cerebral. Los datos no confirman que algunos signos como el salto estén relacionados con el tono serotoninérgico como se ha postulado (Cervo et al., 1983). Por otra parte, la clonidina es efectiva en el tratamiento de la abstinencia opiácea, tanto en ratas como humanos (Gold et

al., 1978), y se observó que la clonidina sigue siendo igual de efectiva tras la depleción de serotonina, de acuerdo con otros autores (Romandini et al., 1984; Samanin et al., 1980).

Los resultados muestran que el sistema de serotonina tampoco se encuentra involucrado en el síndrome emocional en la rata, evaluado mediante la aversión condicionada tras naloxona. Sin embargo, algunos autores han detectado que el bloqueo selectivo de receptores de serotonina del tipo 5-HT₃ es efectivo para inhibir la disforia en ratas abstinentes (Acquas et al., 1990; Higgins et al., 1991), y de hecho este perfil farmacológico se emplea en la clínica. Nuestros datos se refieren a una inhibición global de la actividad serotoninérgica. Por otra parte, un resultado muy interesante fue que la eficacia de la clonidina se vio incrementada casi 10 veces tras la depleción casi completa de serotonina cerebral. Este hecho indica que existe alguna interacción serotonina/noradrenalina en el síndrome de abstinencia opiáceo, que se modifica tras la depleción de serotonina. Además, considerando que la clonidina no aumentó su eficacia en el síndrome somático, se apoya que existe diferenciación entre síndrome somático y emocional, y que se encuentran mediados por distintos procesos neurobiológicos (Stinus et al., 1990; Maldonado et al., 1992).

La inhibición farmacológica del sistema serotoninérgico se puede llevar a cabo con agonistas del receptor 5-HT_{1A} (Goodwin et al., 1987), de modo que se empleó 8-OHDPAT para "inhibir" farmacológicamente la actividad serotoninérgica. Los resultados indican que la administración de 8-OHDPAT a una dosis efectiva induce efectos similares a la depleción serotoninérgica respecto a la eficacia de la clonidina, que aumentó también 10 veces. Es de destacar que el incremento de la eficacia de la clonidina no se acompañó de "recompensa", pues no apareció preferencia condicionada. En fin, los resultados sugieren que el uso combinado de compuestos agonistas del receptor 5-HT_{1A} y clonidina podría ser eficaz para el tratamiento del síndrome de abstinencia opiáceo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acquas E, Carboni E, Di Chiara G. *Profound depression of mesolimbic dopamine release after morphine withdrawal in dependent rats*. Eur J Pharmacol 1991, 193: 133-134.
- Caillé S, Espejo EF, Reneric JP, Cador M, Koob GF, Stinus L. *Total neurochemical lesion of noradrenergic neurons of the locus coeruleus does not alter either naloxone-*

precipitated or spontaneous opiate withdrawal nor does it influence the ability of clonidine to reverse opiate withdrawal. J Pharmacol Exp Therap 1999, 290: 881-892.

- Caillé S, Stinus L, Fernandez Espejo E, De Deurwaerdere P, Spampinato U, Koob GF. *Inhibition of 5-HT neurotransmission increases clonidine protective effects on naloxone-induced conditioned place aversion in morphine-dependent rats*. Neurosychopharmacology 2003, 28: 276-283.
- Carreño JE, Alvarez CE, San Narciso GI, Bascarán MT, Cerceda A, Hoyos M, Brewer C, Bobes J. *Tratamiento de mantenimiento con antagonistas opiáceos depot. Una alternativa en el tratamiento de dependientes de opiáceos*. Salud y Drogas 2002, 2: 83-104.
- Christie MJ, Williams JT, Osborne PB, Bellchambers CE. *Where is the locus in opioid withdrawal?* Trends Pharmacol Sci 1997, 18: 134-140.
- Delfs JM, Zhu Y, Druhan JP, Aston-Jones G. *Noradrenaline in the ventral forebrain is critical for opiate withdrawal-induced aversion*. Nature 2000, 430: 430-434.
- Fernández Espejo E, Cador M, Stinus L. *Ethopharmacological analysis of naloxone-precipitated morphine withdrawal in rats: a newly-developed "etho-score"*. Psychopharmacology 1995, 122:122-130.
- Fernández Espejo E, Serrano MI, Caillé S, Stinus L. *The behavioral expression of opiate abstinence is altered after prefrontocortical dopamine depletion in rats: monoaminergic correlates*. Neuropsychopharmacology 2000, 25: 204-212.
- Gellert VF, Holtzman SG. *Development and maintenance of morphine tolerance and dependence in the rat by scheduled access to morphine drinking solution*. J Pharmacol Exp Ther 1978, 205: 536-546
- Gold LH, Stinus L, Inturrisi CE, Koob GF. *Prolonged tolerance, dependence and abstinence following subcutaneous morphine pellet implantation in rats*. Eur J Pharmacol 1994, 253: 45-51
- Heinrichs SC, Menzaghi F, Schulteis G, Koob GF, Stinus L. *Suppression of corticotropin-releasing factor in the amygdala attenuates aversive consequences of morphine withdrawal*. Behav Pharmacol 1995, 6: 74-80
- Higgins G, Nguyen P, Joharchi N, Sellers EM. *Effects of 5HT₃ receptor antagonists on behavioral measures of naloxone-precipitated opioid withdrawal*. Psychopharmacology 1991, 105: 322-328.

Koob GF, Bloom FE. *Cellular and molecular mechanisms of drug dependence*. Science 1988, 68: 683-690.

Maldonado R, Stinus L, Gold LH, Koob GF. *Role of different brain structures in the expression of the physical morphine withdrawal syndrome*. J Pharmacol Exp Ther 1992, 261: 669-677.

Nestler EJ. *Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction*. Nature Rev Neurosci 2001, 2: 119-128.

Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, Sydney, 1997.

Romandini S, Cervo L, Samanin R. *Evidence that drug increasing 5-hydroxytryptamine transmission block jumping but not wet dog shakes in morphine-abstinent rats: a comparison with clonidine*. J Pharm Pharmacol 1984, 36: 68-70.

Samanin R, Cervo L, Rochat C. *Changes of physical morphine dependence in rats chronically treated with drugs acting on brain 5-hydroxytryptamine*. J Pharm Pharmacol 1980, 32: 150.

Solomon RL. *The opponent process theory of acquired motivation: the costs of pleasure and the benefits of pain*. Am Psychol 1980, 35: 691-712.

Stinus L, Caille S, Koob GF. *Opiate withdrawal induced place aversion lasts for up to 16 weeks*. Psychopharmacology 2000, 149: 115-120.

Stinus L, Le Moal M, Koob GF. *Nucleus accumbens and amygdala are possible substrates for the aversive stimulus effects of opiate withdrawal*. Neuroscience 1990, 37: 767-773.

Correspondencia

Dr. Emilio Fernández Espejo, Departamento de Fisiología Médica, Universidad de Sevilla, Av. Sánchez Pizjuán 4, 41009 Sevilla.
Tel: 954556584, Fax: 954551769, Email: efespejo@us.es

EVALUACIÓN DEL PROGRAMA DE PREVENCIÓN DE DROGAS "BARBACANA"

José Antonio García del Castillo*, Carmen López**,
Isabel Fernández**, Luis Catala**.

*INID. Universidad Miguel Hernández.

**Dpto. de Sociología II, Psicología, Comunicación y Didáctica.
Universidad de Alicante.

RESUMEN

El presente trabajo es parte de una evaluación más amplia del programa de prevención de drogas Barbacana, enfocado a alumnos de secundaria con un doble objetivo:

1. Evaluar las herramientas del programa y del proceso de implantación: conocer cómo se han desarrollado las actividades programadas.

2. Evaluar los resultados: describir los efectos del programa en los destinatarios del mismo y el grado de cumplimiento de los objetivos marcados.

Para la consecución del primer objetivo hemos aplicado una metodología cualitativa basada en entrevistas semiestructuradas a los profesores encargados de llevar a cabo el programa en distintos centros de la Comunidad Valenciana. De la información resultante podemos comprobar que tanto los materiales como el proceso han sido calificados de positivo o muy positivo, tanto entre los aplicadores como entre los receptores.

Para el segundo objetivo, optamos por un diseño cuasiexperimental con grupo de comparación no equivalente, en un mismo momento temporal que nos permite medir las diferencias y equivalencias entre ambos, confirmando nuestra hipótesis causal de partida: "las diferencias entre los alumnos del grupo experimental y de control en cuanto a información y niveles de consumo hacia las drogas, se deben básicamente a la aplicación del programa Barbacana".

Palabras Clave: programa, prevención, drogas, adolescencia, información, consumo, evaluación.