

de melancolía trasladándonos con sus canciones a momentos concretos de nuestra biografía personal; nos ha descubierto la vida desde muchos puntos de vista, nos ha descubierto misterios y ha provocado otros.

Hace ochenta años que la radio no ha dejado un solo día de sonar. Ha mantenido su latido todos los días durante estos años. Tan solo algunas veces hemos dejado de escuchar unos segundos sus voces, quizás porque algún arma apuntaba al reportero —como en el 23F—, o porque todos los locutores decidieron callar en alguna gran protesta. Y, en esos momentos, cuando la radio calla, conseguimos por fin comprender la dimensión de su poder, la dimensión de su magnetismo, su entrañable compañía, la necesidad que tenemos todos de tenerla ahí, siempre alerta, rápida y dispuesta para nosotros.

Edith Checa
Periodista

Depto. de Radio UNED

Vulnerabilidad a la drogadicción

Igual que para otras patologías, entre las personas existe un diferente grado de vulnerabilidad a la adicción a las drogas. No todo el mundo que tiene oportunidad de consumir una sustancia adictiva lo hace, ni todo aquel que consume drogas de abuso llega a ser adicto. Los procesos conductuales implicados en el abuso de drogas son complejos y los factores neurobiológicos que contribuyen a las diferencias individuales en la vulnerabilidad a la drogadicción probablemente también lo son.

Al preguntarnos por qué una persona “cae” más fácilmente en la adicción a las drogas que otras y por qué algunas son capaces de “dejarlo” y otras no, lo ideal sería poder estudiar cuáles son los sustratos neurobiológicos de la vulnerabilidad al inicio, mantenimiento y resistencia a la extinción de la conducta

drogadicta. Cuando trabajamos con sujetos humanos tenemos limitaciones experimentales y éticas para intervenir en los factores neurobiológicos y ambientales que pueden mediar en este desorden del comportamiento. Afortunadamente, hay aproximaciones experimentales con animales que permiten modificar o mantener constante el entorno y/o variables neurobiológicas importantes para el consumo de drogas. Así, hay modelos animales de autoadministración de drogas que remedan los aspectos básicos de la conducta drogadicta humana en un grado considerable. Empleando estos modelos animales se ha comprobado que, en general, *los animales se autoadministran todas las drogas que son adictivas en humanos y no se autoadministran aquellas sustancias que no son adictivas en las personas*. Es decir, los animales se autoadministran alcohol, nicotina, cafeína, cocaína, heroína, cannabinoides...etc, y *no* otras sustancias, aunque tengan propiedades psicoactivas como los antidepresivos, antipsicóticos, etc.

Estos hallazgos sugieren que, en lo que se refiere al efecto adictivo de las drogas, el sistema nervioso de los animales y de los humanos tiene muchos aspectos en común. Además, trabajando con estos modelos de drogadicción se ha comprobado que hay animales que son más susceptibles a los efectos de las drogas que otros. Se han llegado, incluso, a establecer cepas de roedores de laboratorio que se distinguen por su respuesta a diferentes efectos de las drogas (por ejemplo, hay ratones que una vez hechos dependientes de alcohol, la no presencia de esta droga en su cuerpo provoca que les den ataques; otros a los que mínimas cantidades de alcohol los duermen profundamente durante mucho tiempo, otros que ingieren libremente mucha más cantidad de una droga que otros..., etcétera).

Nosotros tratamos de indagar en la cuestión de por qué hay gente más susceptible que otra a los efectos adictivos de las drogas estudiando el comportamiento y el sistema

nervioso de dos cepas (o razas) de roedores de laboratorio, que se diferencian por su “preferencia” por variadas drogas de abuso. Una de estas cepas de ratas se llama Lewis y la otra Fischer 344. La rata Lewis “prefiere” todo tipo de drogas en mayor grado que la Fischer 344. Es decir, parece que la rata Lewis es más vulnerable que la Fischer 344. En estudios previos comprobamos que la cepa Lewis adquiere la conducta de autoadministración de morfina (el principio activo de la heroína) más rápidamente que la Fischer 344. A continuación nos preguntamos si las diferencias encontradas pueden estar relacionadas con la actividad opioide basal en ambas cepas. Esto es, la heroína y la morfina son sustancias opiáceas análogas a otras, llamadas opioides, que tenemos en nuestro cerebro y que conocemos por nombres como las encefalinas, endorfinas y dinorfinas. Pudiera ser que hubiera diferencias en las cantidades fisiológicas de estos opioides endógenos entre las dos cepas, y que ello estuviera relacionado con las diferencias en las preferencias por las drogas que manifiestan ambas cepas.

Se piensa que hay personas dependientes de drogas porque encuentran en ellas el “alivio” de disfunciones mentales que padecen por desequilibrios en la comunicación química de sus neuronas. Es decir, es como si en el fondo estas personas se “automedicaran” con sustancias adictivas. La hipótesis de la automedicación también está implícita en la resistencia a dejar el mal hábito de la dependencia de drogas. Estas personas se han hecho enfermas a sí mismas porque el consumo crónico de drogas produce cambios cerebrales. Una persona adicta, sea cual sea la droga, no tiene sus funciones cerebrales en el mismo estado que cuando no era adicta. La ausencia de ciertos niveles de la sustancia en su organismo, aunque sea por cortos períodos de tiempo, “detecta” ese mal funcionamiento cerebral que sólo se “arregla” si vuelve a tomarla. La sustan-

cia que le produjo la enfermedad es también su medicamento. En consecuencia, es posible que bien porque se tengan deficiencias de forma natural en ciertos sistemas de neurotransmisores cerebrales, bien porque el consumo abusivo previo de una droga haya producido una alteración de los niveles de neurotransmisores, la propensión a tomar drogas refleja déficits en la fisiología cerebral que se restauran con la presencia de estas sustancias en el organismo.

El moderno desarrollo de metodologías de análisis de imágenes cerebrales por medios no invasivos es probable que en el futuro pueda verificar o refutar estos planteamientos. No obstante, aún con todas las salvedades que se derivan de estudiar esta compleja patología con sujetos no humanos, los modelos animales siguen proporcionando una valiosa ayuda para entender la neurobiología de la vulnerabilidad a la drogadicción. Como posible muestra de esta modesta afirmación, a continuación presentamos un estudio realizado con las cepas Lewis y Fischer 344 que sugiere que las diferencias en las preferencias por morfina entre estas dos cepas puede estar relacionado con sus diferencias endógenas de niveles de opioides. Para ello, hemos analizado los niveles de ARN mensajero de proencefalina (un péptido opioide que es el precursor de las encefalinas) y de receptores μ -opioides (a estos receptores se une la morfina y la heroína para producir sus efectos euforizantes) en regiones cerebrales que parecen mediar en los efectos reforzantes positivos (o euforizantes) de los opioides. Hicimos varios cortes coronales de cerebros de animales de ambas razas, no expuestos previamente a drogas, a la altura del estriado dorsal y del núcleo accumbens (estas dos regiones cerebrales parecen ser sustratos neurales de los comportamientos adictivos). Estos cortes se procesaron mediante hibridación *in situ* y autorradiografía de receptores. Encontramos una densidad mayor de receptores

μ -opioides (38% más) en el núcleo accumbens de la raza Fischer 344 comparada con la raza Lewis. De igual modo, los niveles de ARNm de proencefalina fueron más altos (58% más) en el estriado de las ratas Fischer 344 que en el de las Lewis. Estos resultados sugieren que un nivel opioide basal más alto en la raza Fischer 344 puede estar relacionado con una menor adquisición de la conducta de autoadministración de morfina y con un menor grado de vulnerabilidad genética al consumo de opioides.

En las páginas que siguen explicamos el procedimiento experimental que llevamos a cabo, los resultados obtenidos y algunas conclusiones. Los métodos experimentales que hemos empleado han sido: autoadministración intravenosa de drogas, autorradiografía de receptores e hibridación *in situ*.

—La **autoadministración de drogas** es uno de los mejores procedimientos comportamentales para evaluar la capacidad adictiva de las drogas. A los sujetos se les implanta un catéter en la vena yugular, el cual se conecta a una bomba programada mediante ordenador para dispensar drogas cuando el animal realice el comportamiento que quiere el investigador. Comúnmente, ese comportamiento es apretar una palanca. La ejecución de esa conducta (voluntariamente) se traduce en la “recompensa” (o refuerzo) de una inyección de droga que la bomba le administra automáticamente. Muy pronto los sujetos aprenden que presionando de nuevo la palanca recibirán otra inyección, de modo que en seguida se autoadministran las dosis que quieren a voluntad. Es curioso comprobar que cada sujeto tiene diferentes “necesidades” de droga y que suelen ser muy regulares en el mantenimiento de esa necesidad. Es decir, aquellos animales que desde el principio necesitan altos niveles de droga en sangre suelen obtener un buen número de inyecciones en cada sesión experimental. Otros, por el contrario, parecen “necesitar” menos desde el principio y

mantienen un número reducido de inyecciones por sesión a lo largo de todo el experimento.

La **autorradiografía de receptores** es una metodología que permite la identificación y cuantificación de las proteínas de las membranas celulares (o receptores) que reconocen a los neurotransmisores y a las cuales también se unen las drogas. En este procedimiento se le aplica al tejido cerebral una sustancia (llamada más propiamente “ligando”) que reconoce a determinados receptores de neurotransmisores y se une a ellos. La sustancia va marcada radiactivamente, de manera que una vez unida al receptor forma un complejo con el mismo. Si la unión es suficientemente duradera, puede ponerse una película muy sensible encima del tejido cerebral. A medida que la radiactividad del complejo ligando radiactivo-receptor va emitiéndose, va impresionando la película y va haciendo una radiografía del tejido. Como es el propio tejido el que lleva la radiactividad, al procedimiento se llama “autorradiografía”. Esta técnica, desarrollada en animales, es la base de los modernos procedimientos de análisis de imagen no invasivos que se aplican a humanos, como la Tomografía Axial Computarizada (TAC).

El fundamento de la **hibridación *in situ*** es muy similar al de la autorradiografía. La diferencia estriba en que en la hibridación *in situ* se emplea un ligando radiactivo que reconoce a un ácido nucleico, el ARN mensajero de un péptido o de una proteína. Este péptido o la proteína pueden ser un receptor de neurotransmisores, una enzima que participa en la síntesis de otras sustancias o un neurotransmisor de naturaleza peptídica. Normalmente, en la hibridación *in situ* el ligando radiactivo es un fragmento de oligonucleótidos sintético capaz de reconocer a un ácido nucleico. Cuando lo reconoce y se une a él se dice que se hibrida, porque la unión entre ácidos nucleicos es una hibridación. Este procedimiento se hace

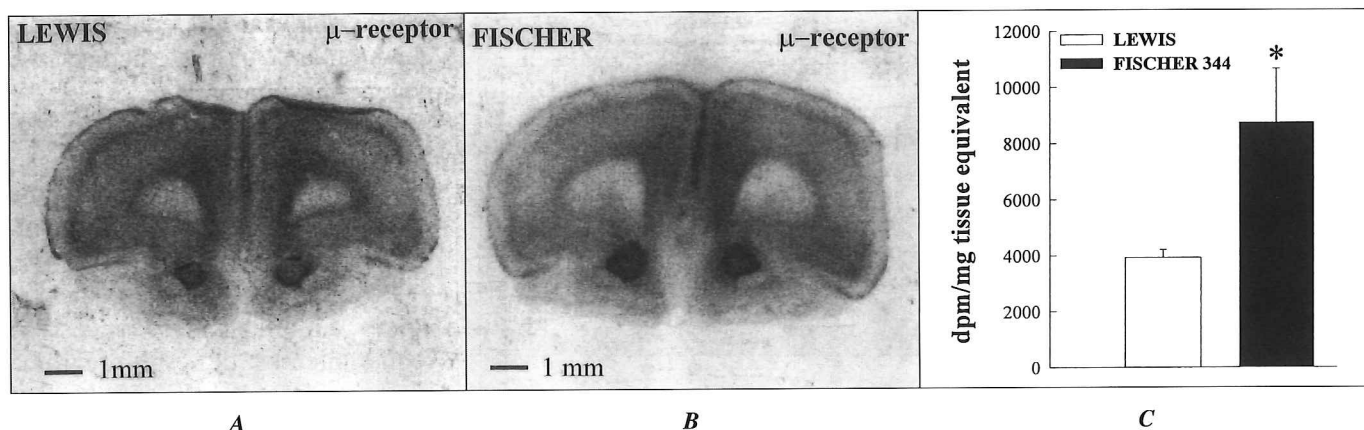


Figura 1. La densidad de los receptores μ -opioides en el núcleo accumbens de la cepa Fischer 344 es mayor que la de Lewis. Los paneles 1A y 1B muestran autorradiogramas de cortes cerebrales coronales al nivel del núcleo accumbens que señalan la presencia de receptores μ -opioides en animales no expuestos a morfina de las razas Fischer 344 y Lewis. En el panel C se presenta la medición de la densidad de esos receptores marcados con 125 IDAMGO. La densidad de receptores μ -opioides en el núcleo accumbens de la raza Fischer 344 fue significativamente más grande que la de la raza Lewis ($p < 0.05$).

sobre las propias neuronas y de ahí el nombre de *in situ*. El resto del proceso es prácticamente igual al de la autorradiografía, y al final también se obtiene una radiografía del propio tejido que se llama autorradiograma.

La conjunción de un procedimiento experimental comportamental (autoadministración intravenosa de drogas) y otros neuroquímicos derivados de la Bioquímica (autorradiografía), y de la Biología Molecular (hibridación *in situ*) nos permite estudiar aspectos básicos de la dependencia de drogas. A continuación detallamos la metodología seguida.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Sujetos

Empleamos ratas machos de las razas Lewis y Fischer 344 de un peso que oscilaba entre 275 y 300 gramos. Los animales no habían sido expuestos previamente a ningún procedimiento experimental. Estos sujetos se alojaron en jaulas individuales en habitaciones con temperatura (23°C) y ciclo día-noche controlado (de 8:00 a 20:00 horas la luz estaba encendida). Todos los animales tuvieron libre acceso a agua y comida y se mantuvieron a lo largo del estudio en las condiciones que señalan las Reglas

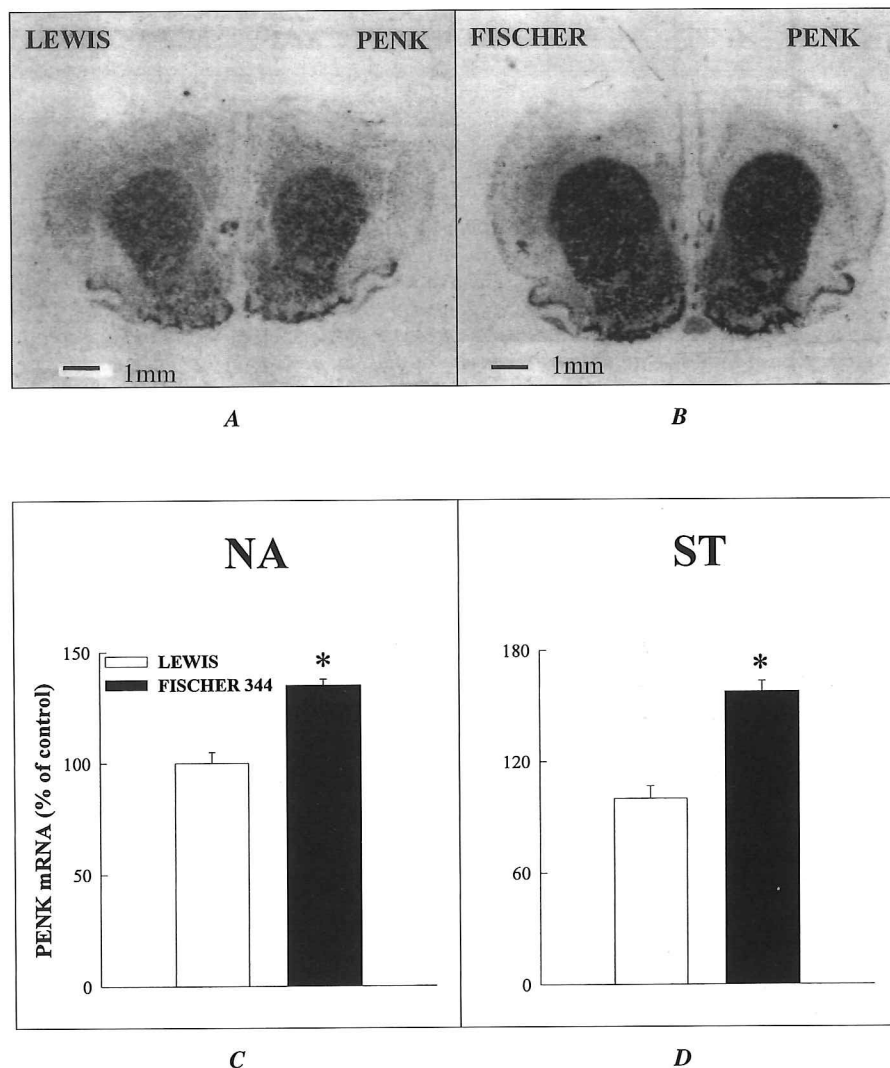


Figura 2. La expresión del gen de la proencefalina es mayor en el núcleo accumbens y en el estriado de la cepa Fischer 344 que en la Lewis. Los paneles A y B muestran autorradiogramas de cortes cerebrales coronales al nivel del núcleo accumbens y del estriado en las razas Fischer 344 y Lewis. Los paneles C (núcleo accumbens) y D (estriado) representan la densidad de ARNm de proencefalina expresados en valores de niveles de gris. La densidad de ARNm en el núcleo accumbens y el estriado de la raza Fischer 344 es significativamente más grande que en la raza Lewis ($p < 0.05$).

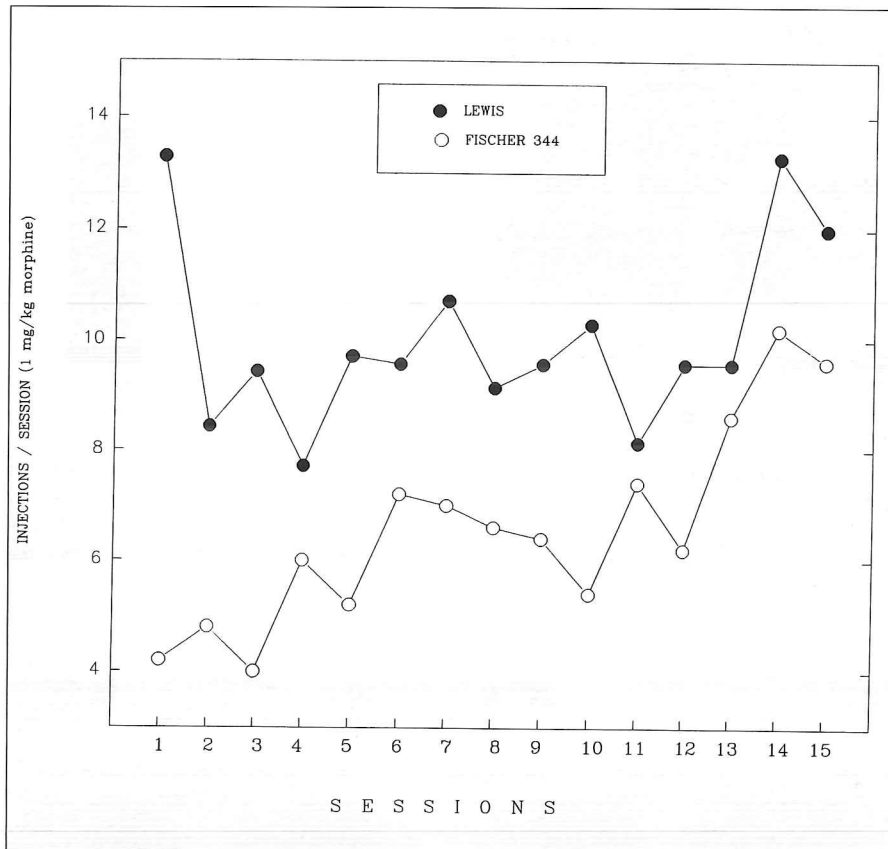


Figura 3. La raza Lewis alcanzó mayores puntos de cese que la Fischer 344 en la conducta de autoadministración intravenosa de morfina. Autoadministración de morfina bajo un programa de reforzamiento de Razón Progresiva en las razas Fischer 344 y Lewis durante 15 días ($n=5-7$ por cepa). Los valores se expresan como el total de inyecciones autoadministradas. Los puntos de cese fueron más altos en la raza Lewis que en la raza Fischer 344 a lo largo de todo el experimento. En los tres primeros días del período de adquisición, las diferencias estadísticamente significativas fueron más evidentes ($p < 0.05$, test U de Mann-Whitney).

para el Cuidado de Animales de Laboratorio de la Unión Europea.

2. Cirugía

A los animales se les implantó un catéter en la vena yugular a la altura de la aurícula derecha. El catéter se sacó al exterior por la espalda del animal al nivel medio escapular y se conectó a un sistema protector del catéter, que se montó sobre la calota del animal con cemento dental. Tras la cirugía, todos los sujetos permanecieron durante al menos 7 días recobrándose antes de iniciar los experimentos.

3. Aparatos

Empleamos doce cámaras de condicionamiento operante para el estudio de la autoadministración de morfina. Cada cámara disponía de dos palancas que registraban las respues-

tas cuando se les aplicaba un/a peso/fuerza de 3 gramos. Estas palancas están separadas entre sí por 14 cm y montadas sobre una de las paredes laterales de la cámara. Las inyecciones de morfina se realizaban gracias a la activación de una bomba de inyección automática. El registro de los datos y su análisis posterior se realizaron con ordenadores IBM compatibles.

4. Autoadministración de morfina

Habitualmente, los animales se autoadministran las drogas de acuerdo con una serie de requerimientos comportamentales que el investigador programa previamente. En el que usamos en este estudio el número de presiones de palanca que se necesitaba para obtener una inyección de morfina se incrementa sucesivamente hasta que el animal deja-

ba de completar los requerimientos del programa. A este momento se denomina "punto de cese" (breaking point). En nuestro experimento, el número de presiones de palanca requeridos para obtener una inyección de morfina se incrementaba de acuerdo con la serie: 2, 3, 5, 7, 9, 12, 15,.... 675,.... etc. Cuando el sujeto completaba los sucesivos requerimientos de este programa presionando sobre la palanca del lado izquierdo se encendía una luz por encima de dicha palanca (para señalar la disponibilidad de la droga) y se activaba la bomba automática que administraba 1 mg/kg de morfina sulfato. Se permitió el acceso a morfina durante las 12 horas del ciclo oscuro. Durante el resto del tiempo, los sujetos también permanecieron en sus cámaras, en la que disponían de agua y comida. El ciclo día-noche también se mantuvo gracias a la iluminación de la cámara con una luz blanca. La droga se administró en un volumen de 90-115 μ l por inyección (dependiendo del peso del animal) durante 15 segundos. Después de cada inyección se programó un tiempo de 30 segundos durante el cual no se podía obtener la droga.

5. Autorradiografía de los receptores Mu-opioides e Hibridación *in situ* de Proencefalina

En un experimento aparte, se procesaron cerebros ($n = 6$) de animales de ambas razas citadas (que no habían sido expuestos a autoadministración de morfina) para la medición de sus niveles de receptores μ -opioides y de ARNm de proencefalina.

Se obtuvieron cortes cerebrales coronales de 20 μ m al nivel del núcleo accumbens y del estriado. En el estudio autorradiográfico, los receptores μ -opioides se marcaron con 1nM de 125 IDAMGO (Amersham) y la unión no específica se estimó con 100 μ M de levalorfan. Los cortes se expusieron a películas de 3 H-Hyperfilm durante 15 días. La hibridación *in situ* se realizó empleando una prueba sintética de oligonucleótido

de 48 bases complementarias con la secuencia 388-435 del gen de la proencefalina. Los cortes se expusieron a películas Hyperfilm β -max durante un máximo de 3 días.

Los autorradiogramas resultantes de estos estudios se analizaron con un analizador de imágenes computarizado. En el caso de la hibridación *in situ* las densidades ópticas que representan los niveles de ARNm de Proencefalina se expresaron en valores de gris. Los resultados se presentan en porcentajes. En el caso de la autorradiografía, se emplearon patrones marcados con ^{125}I (Amersham) para compensar la respuesta no lineal de la radiactividad en la película. Los resultados se expresan en dpm/mg de tejido equivalente.

6. Análisis de los datos

El número de inyecciones por sesión fue la variable dependiente en el estudio de autoadministración. La prueba no paramétrica de Friedman y el test U de Mann-Whitney se emplearon para analizar los resultados conductuales de la autoadministración intravenosa de morfina. Los resultados de los autorradiogramas de los receptores μ -opioides y de los niveles de ARNm de proencefalina se analizaron mediante ANOVA seguido del test Student-Newman-Keul. Se consideró que había diferencias significativas si la probabilidad de error era menor del 5%. Todos los análisis estadísticos se hicieron con el paquete SPSS.

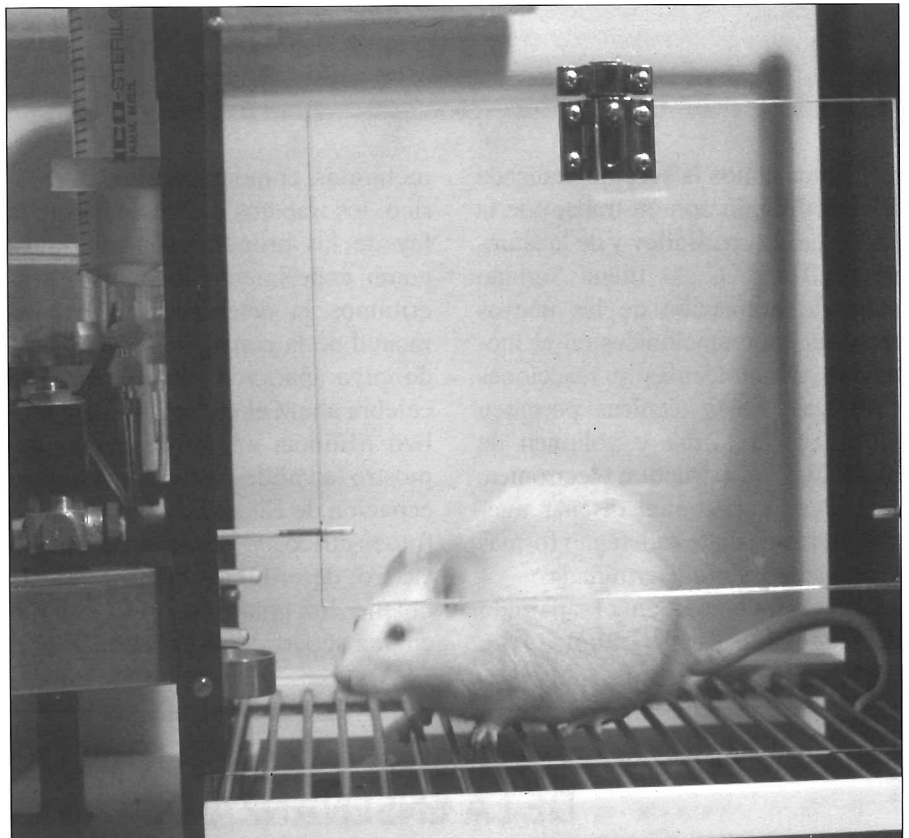
RESULTADOS

Los resultados que obtuvimos aparecen reflejados en la serie de figuras que exponemos a continuación. En el pie de cada figura se explica lo obtenido.

CONCLUSIONES

A la vista de estos resultados podemos extraer algunas conclusiones. A saber:

1. En la raza Fischer 344 la densidad de receptores μ -opioides



Animal en la situación experimental para el estudio de la autoadministración.

- en el núcleo accumbens es un 38% más grande que en la raza Lewis. Igualmente, la densidad de ARNms de proencefalina en la raza Fischer 344 es un 58% mayor en el estriado y un 35% más grande en el núcleo accumbens que en la raza Lewis. Estos resultados sugieren que la raza Fischer 344 tiene un tono opioide endógeno mayor que la raza Lewis.
2. Los puntos de cese de la raza Lewis son más altos que los de la raza Fischer 344, lo cual sugiere que esta última raza es menos sensible a la eficacia reforzante de la morfina.
 3. En conjunto, estos resultados sugieren que las diferencias en el tono basal opioide pueden explicar las variaciones en la frecuencia de autoadministración de morfina y una menor vulnerabilidad genética de la raza Fischer 344 a los efectos reforzantes de la morfina.

La validez predictiva del modelo de autoadministración de drogas y la precisión y resolución anatómica

de la autorradiografía e hibridación *in situ*, nos permiten especular que es posible que en las personas más vulnerables a los efectos adictivos de las drogas haya sensibles diferencias en su fisiología cerebral y que, cuando por razones ambientales (culturales, sociales...etc), esas personas se hayan expuesto a las drogas, los particulares efectos positivos de las mismas pueden ser especialmente reforzantes y/o muy dolorosos de abandonar.

AGRADECIMIENTOS

Parte de esta investigación ha sido financiada por la Dirección General de Enseñanza Superior e Investigación Científica con la ayudas PB93-0290 y PM97-0027.

Emilio Ambrosio
 Profesor Titular de Psicobiología
Sonsoles Martín Jiménez y
José Antonio Crespo
 Becarios Predoctorales de FPI
Carmen García Lecumberri
 Profesora Asociada
 Depto. de Psicobiología