

Ingeniería y Ciencia, ISSN 1794-9165

Volumen 1, número 1, páginas 77-96, marzo de 2005

Receptores GABA_A (ácido γ -aminobutírico) y su relación con la dependencia al alcohol¹

Aura Rengifo², Carolina Tapiero³ y Clara Spinel⁴

Recepción: 08 de octubre de 2004 — Aceptación: 25 de enero de 2005

Se aceptan comentarios y/o discusiones al artículo

Resumen

El síndrome de dependencia al alcohol es una enfermedad multifactorial, ambiental, cultural, social y genética. Son innumerables las investigaciones que han intentado elucidar los posibles mecanismos neurobiológicos de este síndrome para entender los cambios fisiológicos y comportamentales del individuo, de tal manera que se puedan brindar alternativas farmacológicas que ayuden a controlar este tipo de dependencia.

Esta revisión describe el papel de la neurotransmisión involucrada en el síndrome de dependencia al alcohol, principalmente la relacionada con el glutamato, la dopamina, los opioides y en especial el ácido γ -aminobutírico (**GABA**), porque la activación del receptor GABA_A (receptor canal de cloro) desencadena un efecto inhibitorio a nivel neuronal, y en individuos alcohólicos presenta hipofunción, la cual no le permite modular la recurrente excitación neuronal obteniendo como resultado un estado de desinhibición/hiperexcitación típico de alcohólicos. Por otra parte, los genes que codifican para las subunidades de los receptores GABA_A ubicados en los cromosomas 4 y 15 han sido asociados con alcoholismo, al presentarse fuertes relaciones entre el desequilibrio de unión entre estos genes y el fenotipo de las ondas β en los electroencefalogramas de los individuos con el síndrome de dependencia al alcohol y sus descendientes.

De acuerdo a las investigaciones en el tema, finalmente proponemos las posibles vías y sus mecanismos de control implicados en el síndrome de dependencia al alcohol.

Palabras claves: síndrome de dependencia al alcohol, síndrome de abstinencia al alcohol, reforzamiento, recompensa, inhibición, hiperexcitación.

Abstract

The alcohol dependence syndrome is a multifactorial, environmental, cultural, social, and

¹ Trabajo realizado con el apoyo de la Universidad Nacional de Colombia y el Centro Internacional de Física (CIF).

² Licenciada en Química, aurakatheriner@yahoo.es, docente, Inelpres, Colombia.

³ Licenciada en Biología, carolinatapiero@yahoo.com, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Colombia.

⁴ PhD en Ciencias Médicas, cmspinelg@unal.edu.co, profesora titular, Universidad Nacional de Colombia.

genetic disease. The investigations are countless that have tried to elucidate the possible neurobiologic mechanisms of this syndrome to understand the individual's physiologic and behavioral changes, in such way that it can be offered pharmacological alternatives that help to control this type of dependence.

This revision describes the neurotransmission's paper involved in the dependence syndrome to the alcohol, mainly the related with the glutamato, the dopamina, the opioides and especially the γ -aminobutyric acid (GABA), because the activation of GABA_A receptor (channel of chlorine receptor) it unchains an inhibitory effect at level neuronal, in alcoholic people the activation causes hypofunction which does not allow to modulate recurrent excitement, getting as result a no-inhibition/hyperexcitation state very common in alcoholics. By other hand, the genes that code for the subunidades of the GABA_A receptors located in the chromosomes 4 and 15 has been associated with alcoholism, as finding strong relationships among the disequilibrium of union between these genes and the fenotipo of the waves β in the electroencefalograms of the individuals with the alcohol dependence syndrome and their descendants.

According to the investigations in the topic, finally we propose the possible vias and their control mechanisms implied in the alcohol dependence syndrome.

Key words: alcohol dependence syndrome, alcohol withdrawal syndrome, reinforcement, rewards, inhibition, hyperexcitation.

1 Introducción

El alcohol es la sustancia psicoactiva de mayor abuso por el hombre, después de la cafeína. Se ha generado todo un sistema socioeconómico alrededor de su consumo llevando a un incremento del número de personas que dependen de él [38]. El consumo excesivo de alcohol conlleva a la activación de un desorden mental conocido como: síndrome de dependencia al alcohol o alcoholismo.

La dependencia involucra numerosos neurotransmisores que se cree pueden estar alterados antes o después del consumo, los más implicados son el GABA, la dopamina, los opioides y el glutamato, y sus respectivos receptores en las células blanco. Las evidencias muestran que los genes que codifican para el receptor GABA_A son uno de los blancos principales del alcohol. Recientes evidencias han relacionado las modificaciones genéticas de este receptor con algunos efectos de comportamiento durante el consumo agudo y crónico del alcohol.

Actualmente, la Naltrexona, antagonista opioide, es el fármaco que ha demostrado mayor éxito en el tratamiento del alcoholismo, al disminuir la ansiedad, el deseo y los síntomas del síndrome de abstinencia del alcohol. Sin embargo, un aspecto que resulta de interés, es que a pesar de la fuerte relación del alcoholismo con el receptor GABA_A, sea un antagonista opioide en los efectos mencionados [25].

Esta es una descripción detallada de las evidencias que han permitido ubicar algunas áreas del cerebro como el Núcleo Acumbens (**NAc**), el Área Tegmental Ventral (**ATV**) y el Núcleo Arcuado (**NAr**) como blancos de acción de la naltrexona y de los efectos de reforzamiento y recompensa que se observan en el alcoholismo. Por lo cual, las

autoras proponen posibles vínculos entre los sistemas de neurotransmisión implicados en alcoholismo y sus efectos en las áreas cerebrales mencionadas. Esto lleva a establecer un posible mecanismo neurobiológico del síndrome de dependencia al alcohol, que pueda ser utilizado en investigaciones futuras encargadas de dar soluciones al problema.

2 Sistema nervioso central (SNC)

El sistema nervioso, en general, está compuesto por neuronas conformando una red de comunicación entre los tejidos y órganos permitiendo que un organismo interactúe apropiadamente con el ambiente. El SNC está constituido por la médula espinal y el encéfalo y existen áreas de asociación que las clasifican de acuerdo a la modalidad de información que procesan [36]. Una de las áreas más importantes en el SNC y objeto de este estudio, es el área de asociación límbica porque contiene los centros de recompensa (placer) y castigo (dolor), razón por la cual está relacionada con el aprendizaje y la conducta y el hipotálamo, el centro más importante de control [23]. Las principales regiones asociadas con el sistema de recompensa son el ATV, el NAc, el NAr, la amígdala, el hipotálamo, el hipocampo y la corteza frontal. La forma en que interactúan algunas de estas áreas se observa en la figura (1). La comunicación entre las neuronas se hace por

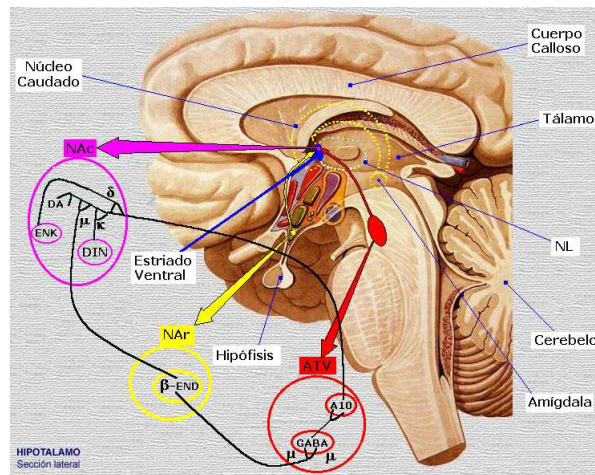


Figura 1: Áreas asociadas con el sistema de recompensa

ligandos o mediadores químicos, específicamente neuropéptidos y neurotransmisores que interactúan con los receptores de las neuronas blanco que los presentan [40], en la tabla (1) se describen los receptores y neurotransmisores objeto de esta revisión.

Las ramificaciones neuronales con β -endorfina (β -END), del (NAr) se proyectan hacia el ATV estimulando las neuronas GABAérgicas allí presentes, estas neuronas en condiciones normales estimulan áreas dopaminérgicas A10 cuyas neuronas se proyectan hacia

el NAc ubicado en el estriado ventral liberando dopamina. Las neuronas del NAr también se proyectan hacia el NAc induciendo de manera directa la liberación de dopamina (DA).

Tabla 1: Principales receptores involucrados en alcoholismo

Neurotransmisor	Tipos de receptores	Naturaleza del receptor	Efecto fisiológico
GABA	GABA _A GABA _B GABA _C	Canal iónico Cl- Ligado PGi- AC Canal iónico Cl-	Inhibidor
Dopamina	D1 D2 D3 D4 D5	Ligado PGs- AC Ligado PGq- PLC *Ligado PGi- AC Ligado PGi- AC Ligado PGs- AC	Estimulador
Opioides β -Endorfinas Enkefalinas Dinorfinas	μ δ κ	Ligado PGi- AC Ligado PGi- AC Ligado PGi- AC	Inhibidor/estimulador
Glutamato	NMDA AMPA Kainato	Canal iónico Ca ⁺⁺ Canal iónico Ca ⁺⁺ PG q- PLC	Estimulador

GABA;

ácido γ -aminobutírico, PGs-i; proteína G estimuladora-inhibidora; AC; adenil cilasa; PLC; fosfolipasa C

3 Síndrome de dependencia al alcohol o alcoholismo

Según la organización mundial de la salud el síndrome de dependencia al alcohol se define como un estado de alteración subjetiva, en el que se deteriora el dominio de la persona manifestándose una importancia de beber alcohol, que se vuelve primordial sobre el resto de sus actividades. Además, se observa un estado de alteración psicobiológica, con signos y síntomas en la abstinencia del alcohol, siendo necesaria la ingestión de alcohol para atenuarla en donde puede aumentar la tolerancia [20]. Para establecerse que un individuo es dependiente deben observarse al menos tres de las características anteriores durante un periodo de doce meses [42].

La dependencia al alcohol es un trastorno crónico resultado de una serie de factores genéticos, psicosociales y ambientales [7]. Ésta debe analizarse en dos fases, en la primera fase o consumo agudo, se presenta un reforzamiento que consiste en realizar una acción repetitiva, cuando ésta finaliza en un evento de recompensa es llamado reforzamiento positivo; en la segunda fase o consumo crónico, ocurre una adaptación del cerebro y cuando el consumo es interrumpido surge el Síndrome de Abstinencia al Alcohol (AWS,

Alcohol Withdrawal Syndrome). Si el reforzamiento no está basado en la recompensa sino en retirar un estímulo doloroso ocurre un reforzamiento negativo y la ansiedad característica de este síndrome, [2] y [28].

El mecanismo etiopatogénico del AWS, no se conoce bien; están implicados el aumento de receptores NMDA y la disminución funcional del sistema GABAérgico, lo cual parece estar determinado por un componente genético. Al mismo tiempo, se produce un aumento de los sistemas noradrenérgico y dopaminérgico [7]. Generalmente, la abstinencia al alcohol presenta efectos adversos como déficit cognitivo, [32] y [42], y daño neuronal como excitotoxicidad [24]. Las personas dependientes requieren tomar alcohol para evitar los síntomas del AWS evitando llegar a un estado de “nerviosidad extrema” luego de varias horas de abstinencia, no siendo éste el único factor de motivación del consumo. El AWS es una de las consecuencias más serias del alcoholismo, su aparición define la amplitud de la dependencia al alcohol. El AWS se caracteriza clínicamente por hiperactividad, agitación, insomnio y disforia, de hecho se cree que la “resaca”, término popular que define el estado del individuo después de haberse embriagado, es muy similar a los síntomas de abstinencia, [7] y [13]. El manejo farmacológico del AWS teóricamente podría suprimirse con el mismo alcohol, pero debido a la baja duración y estrecha acción de las benzodiazepinas con el receptor se suministran éstas en lugar del alcohol. El uso de esta droga es consistente con la hipótesis de que la tolerancia y la dependencia al alcohol son debidas a una disminución compensada en la neurotransmisión GABAérgica, puesto que las benzodiazepinas controlan este efecto por aumento de esta neurotransmisión [13].

La ansiedad es un estado de miedo sin saberse realmente a qué. La relación entre alcoholismo y ansiedad produce una patología dual debido a que uno conduce al otro y viceversa [5]. La relación entre la ansiedad y los sistemas de neurotransmisores está dada entre los receptores N-metil-d-aspartato (NMDA) y GABA_A. Los receptores NMDA median la excitabilidad de las neuronas y durante el retiro del consumo agudo el incremento de dichos receptores parece contribuir a la incidencia de ataques y convulsiones, [17] y [38]. La activación del receptor GABA_A junto con muchos fármacos, entre ellos, los antagonistas de NMDA bloquean los efectos de ansiedad que produce la abstinencia, al igual que los antagonistas del sitio glicina (sitio agonista de NMDA) quienes también tienen efectos ansiolíticos, [17] y [41].

El consumo crónico de etanol produce el desarrollo de tolerancia metabólica y farmacodinámica. La primera se refiere a que los sistemas enzimáticos degradativos del alcohol se encuentran más activos, y por lo tanto, pueden metabolizar la sustancia con mayor rapidez (ésta puede desaparecer en tres semanas). La tolerancia farmacodinámica o tolerancia tisular se refiere a los cambios adaptativos a nivel celular, en especial a nivel neuronal, como resultado de una exposición crónica al alcohol, ésta tarda años en retirarse, [13] y [38].

4 Efectos del consumo de alcohol

Los efectos que pueda tener el consumo del alcohol dependen de la dosis, la frecuencia de suministro y el tiempo de consumo [16]. Existen dos tipos de consumo: agudo y crónico. El consumo agudo se considera una intoxicación causada por ingestión masiva de alcohol en ocasiones esporádicas. La intoxicación crónica es la que se da por consumos agudos cada vez más frecuentes [13]. En el consumo crónico están implicados varios factores: a) cambios químicos en el cerebral que producen la adaptación por el uso prolongado de alcohol, [41] y [28]; b) factores genéticos o genes alterados que codifican neurotransmisores y sus receptores [4]. Recientes investigaciones han postulado a los genes que codifican las subunidades del receptor GABA_A como posibles candidatos que influyen en el riesgo para alcoholismo; c) efectos psicológicos y fisiológicos, se cree que el alcohol incrementa la excitación de las neuronas, pero en realidad deprime muchos centros cerebrales [8]. En alcohólicos crónicos se provocan graves trastornos cerebrales, hepáticos (cirrosis) y cardiovasculares. El deterioro cognitivo e impacto neuronal debido al consumo fuerte del alcohol tiene serias consecuencias a largo plazo, incluso el bebedor moderado puede afectar adversamente la función cognitiva, no obstante ciertos deterioros cognitivos son reversibles con abstinencia, [32] y [30].

El efecto que el alcohol tiene sobre el cerebro es complejo. Para algunas neuronas el alcohol puede causar su muerte, mientras que en otras simplemente interfiere en su función. Un ejemplo de la variación que se observa acerca de los efectos del alcohol se ve a través de la células Purkinje durante el desarrollo embrionario: cuando están en divisiones el efecto del alcohol es mínimo, sin embargo, cuando comienzan a diferenciarse son vulnerables a morir [21].

El consumo agudo de etanol en altos niveles inhibe la función del receptor NMDA, lo cual indica que este consumo podría reducir la excitotoxicidad [21], siendo corroborado por estudios *in vitro* realizados por [15], quienes además muestran una disminución en la formación de óxido nítrico (NO); no obstante, otros estudios encontraron dichas deducciones solo durante eventos neuropatológicos como la isquemia cerebral.

5 Reforzamiento, neuroadaptación y recompensa

Algunos cambios neuroadaptativos pueden ser permanentes, produciendo la persistente sensación de disconformidad que puede llevar a la recaída después de estar en abstinencia [2]. Una manifestación común de neuroadaptación es la aparición de AWS agudo, seguido por la sensación abrupta de consumir grandes cantidades de alcohol porque el cerebro al intentar superar los efectos adversos después de la presencia continua de etanol, produce un aumento de las respuestas de los receptores de glutamato tipo NMDA incrementando las respuestas de compensación, [7] y [17]; al igual que la sobreactivación de los canales de calcio tipo L, ya que el bloqueo de estos canales elimina este efecto [44]. Se cree que la hiperexcitabilidad se debe a un efecto compensatorio que surge de la

disminución en la transmisión GABAérgica, lo que se corrobora con el uso de benzodiazepinas (anticonvulsivos, agonistas de GABA), puesto que su uso disminuye los síntomas del AWS por favorecer la transmisión GABAérgica en alcohólicos [13]. Las estructuras neurológicas asociadas con las acciones de refuerzo de los efectos del alcohol y otras sustancias psicoactivas pueden envolver el circuito neuronal del sistema mesolímbico [2]. Las evidencias experimentales, sugieren que el efecto del reforzamiento de muchos abusos de drogas, incluyendo el alcohol, son mediados por la vía mesolímbica dopaminérgica, constituido principalmente por el grupo A10 de neuronas dopaminérgicas, cuyos cuerpos celulares A10 se proyectan en el ATV hacia núcleos del cerebro posterior, principalmente NA, núcleo caudado, tubérculo olfativo, corteza frontal, amígdala y septum [19], como se observa en la figura (1).

6 Receptor GABA_A

GABA es el principal neurotransmisor inhibitorio del SNC en mamíferos y tiene tres tipos de receptores. El receptor GABA_A es un canal de Cl⁻ que sólo permite la entrada de aniones y especies poliatómicas, como formaldehído, acetato y bicarbonato (figura 1); también contiene cuatro familias de subunidades que han sido identificadas y designadas α , β , δ y γ . El receptor GABA_A presenta una simetría de cinco dobleces sugiriendo una estructura pentamérica, la cual posee varios sitios de modulación farmacológica como se observa en la figura (2). La estructura pentamérica está formada por hélices que revisten



Figura 2: Complejo receptor GABA_A

el poro permitiendo la apertura y cierre del canal, una de sus hélices contiene residuos de histidina y arginina, que repelen el paso de cationes debido a su carga positiva facilitando el paso del cloro. Durante el consumo inicial del alcohol ocurre disminución de la acción excitatoria del neurotransmisor glutamato, al receptor NMDA y la producción

de acciones inhibitorias del neurotransmisor GABA al receptor GABA_A. Estas acciones muestran las razones por las que a menudo el alcohol es conocido como un depresivo [2]. Los efectos en el comportamiento debidos a la administración aguda del alcohol son remarcablemente similares al efecto de las benzodiazepinas y barbitúricos, ambos moduladores del receptor GABA_A, es decir, que actúa como ansiolítico, hipnótico, sedativo y deteriora la coordinación motora [22]. Un gran número de los efectos producidos por el etanol son atenuados por antagonistas del receptor GABA_A o agonistas inversos y potenciados por agonistas del receptor.

La administración crónica de etanol induce tolerancia funcional de receptores GABA_A, sin reducir el número total de canales de Cl abiertos por GABA. Este fenómeno ha resultado inquietante y ha generado una serie de investigaciones que buscan explicarlo. Muchos estudios han mostrado que la administración crónica altera la expresión de varias subunidades del receptor GABA_A, esta alteración provoca modificaciones en el ensamblaje de las subunidades del canal contribuyendo así con los cambios de función y de unión con el ligando [9].

Otros estudios sugieren que la administración crónica puede resultar en un desacoplamiento funcional de los sitios de reconocimiento de GABA y benzodiazepina. Un mecanismo de neuroadaptación es la endocitosis de los receptores GABA_A sin el ligando. Otro posible mecanismo de alteración es el cambio conformacional en la estructura, lo cual explica la tolerancia y segundos dominios transmembranales del receptor, que influyen en la posición del receptor en la membrana [22].

Los receptores GABA_A han resultado de gran interés en farmacología para el tratamiento de muchas enfermedades. En la búsqueda de una mayor aplicación farmacológica se ha intentado determinar el papel de las subunidades que lo conforman. Para la subunidad α cuando se altera el gen α_1 , no responden los procesos sedativos del diazepam. Si se altera el gen α_2 fallan los efectos del diazepam, la razón es que esta subunidad se expresa en las zonas que procesan los estímulos emocionales, como lo es el núcleo central de la amígdala. Además, los receptores que contienen esta subunidad son densamente empaquetados sobre el segmento inicial de las células principales de la corteza cerebral y el hipocampo [37]. Para γ_2 , que posee dos isoformas se deteriora la respuesta a las benzodiazepinas por modificación en la formación del sitio de unión a las benzodiazepinas, los individuos con esta alteración muestran una respuesta de ansiedad más alta a estímulos adversos naturales y aprendidos [37]. En animales de experimentación, con niveles reducidos de la subunidad γ_2 en la corteza cerebral se incrementa el consumo de etanol [26].

7 Dopamina y dependencia al alcohol

La vía mesolímbica dopaminérgica está formada por neuronas que se proyectan desde el A10 al estriado ventral, al NAc, al tubérculo olfativo y a otras regiones del sistema límbico como la amígdala, hipocampo y septum. La dopamina sirve como modulador glutamatérgico desde áreas corticales o a través de los ganglios basales, de igual forma el

NAc recibe aferentes glutamatérgicas desde algunas áreas corticales y también desde la amígdala e hipocampo [13].

Como se ha mostrado la dopamina es el neurotransmisor clave de la mayoría de abusos a drogas, por esta razón gran parte de las farmacoterapias tienen como blanco este sistema [33]. Diferentes trabajos con tomografía de emisión de positrones (PET) y resonancia magnética funcional (MRF) han demostrado que el mecanismo de recaída está involucrado con la activación de regiones específicas dentro del sistema mesolímbico dopaminérgico, las cuales inducen a un deseo repetitivo del consumo, [34] y [12]. Por otro lado, se conoce que la activación de receptores de serotonina inducida por el alcohol, puede estimular la actividad dopaminérgica en el NAc contribuyendo potencialmente a los efectos de recompensa del alcohol [2].

En relación con los hallazgos en estas regiones, en especial el NAc, diferentes entidades han adelantado investigaciones que proporcionan evidencias del papel que juega en la dependencia. Una de las más recientes investigaciones es la del National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA) que encontró la anticipación del incremento de la actividad de recompensa en el NAc (estriado ventral). Estos hallazgos son corroborados por el grupo de investigadores del M.D Daniel Hommer y un grupo de investigadores de Harvard quienes luego de trabajar con imágenes de resonancia Magnética Funcional (fMRI) observaron la actividad cerebral en un grupo de voluntarios que participaron en una tarea de videojuego, la cual se estimulaba con dinero real; aquí el participante intentaba ganar o evitaba perder. A través del experimento los investigadores examinaron la respuesta del NAc durante la anticipación de los estímulos de recompensa (ganar) o castigo (perder). Ellos encontraron que la actividad del NAc se incrementa anticipadamente cuando hay recompensa pero no cuando hay castigo, mientras en el caudado medial se observó incremento de la actividad en ambas circunstancias; concluyendo que la actividad en el NAc puede estar relacionada con los tipos de sentimientos positivos que ocurren cuando los individuos esperan recompensa natural asociando una vez más los sentimientos de recompensa a la función del NAc [30]. Otro estudio relacionó el aumento de liberación de dopamina, con la potenciación de la transmisión de glutamato y la disminución del efecto inhibitorio de GABA como el factor que aumenta las propiedades de recompensa en la dependencia. Esta deducción se obtuvo por medio de los experimentos realizados por Gelme y Col en el 2003, quienes expusieron las células del ATV a nicotina por diez minutos para luego medir las propiedades del tejido cerebral. Aquí se encontró que la nicotina afecta la transmisión de glutamato y GABA, observándose una potenciación a largo término por parte del glutamato y una duración de pocos segundos de la transmisión de GABA, la cual no se recuperó mientras las células se expusieron a la sustancia [45]. La importancia del estudio con nicotina radica en que los receptores nicotínicos de acetilcolina están envueltos en la regulación del consumo del alcohol y se encuentran localizados especialmente en el ATV, ya que el bloqueo de éstos por microinyecciones de antagonistas del receptor directamente sobre esta área disminuye el consumo en ratas.

8 GABA_A, sistema mesolímbico dopaminérgico y alcoholismo

Gran número de investigaciones soportan la noción que el sistema mesolímbico dopaminérgico compuesto por: amígdala (AMG), NAc y ATV es clave para el consumo y abuso de drogas. Se sugiere que la dopamina juega un papel central en el reforzamiento que subyace en el mecanismo de consumo de varios tipos de drogas, incluyendo el etanol. Lo anterior se soporta por los resultados obtenidos en varios grupos de investigación. Unos sugieren que el aumento en los niveles de dopamina en el NAc es un paso clave para el inicio del consumo de drogas, llegando en algunos casos a la activación de la dependencia; mientras otras evidencias establecen que la activación de la neurotransmisión de dopamina puede ser influenciada por el consumo de drogas [10].

En otro estudio la administración directa de agonistas o antagonistas del receptor GABA_A sobre el sistema mesolímbico altera el consumo de etanol, a un grupo de ratas se le aplicó etanol directamente en el ATV al igual que Muscimol (agonista de GABA) por microinyecciones, y se observó un aumento de neurotransmisión GABAérgica, una prolongación en la respuesta normal al etanol, sin cambios en el consumo total del mismo. La microinyección del mismo fármaco sobre el NAc disminuyó el consumo total de etanol [22]. La microinyección de Muscimol sobre el ATV incrementó los niveles de dopamina en el NAc [22]. Estos dos últimos experimentos sugieren que la activación del receptor GABA_A, en el ATV está involucrada con la liberación de dopamina en el NAc luego de administrarse etanol. Otras investigaciones muestran que la liberación de dopamina en el NAc es menor en ratas dependientes, pero se equilibra cuando hay consumo de alcohol [44]. Mientras la activación de GABA_A en el ATV aumenta el consumo, la misma en el NAc lo disminuye [22]. La AMG también puede jugar un papel específico o importante en el comportamiento del bebedor, la estimulación de receptores GABA_A por inyección de muscimol sobre la amígdala central de ratas dependientes, reduce la autoadministración de etanol [22]. Hasta aquí es claro notar que los niveles de dopamina aumentan durante el consumo de sustancias psicoactivas, pero a diferencia del etanol en el consumo inicial de nicotina se potencia la transmisión glutamatérgica, mientras que en el consumo inicial de etanol disminuye.

9 GABA_A y genética del alcoholismo

Las redes neuronales representan diferentes estados de sincronización caracterizados por las respectivas frecuencias de oscilación en el electroencefalograma (EEG); estas frecuencias y la mayoría de los parámetros del EEG son estables y se encuentran determinados, en su mayor extensión, por factores genéticos. El Collaborative Study on the Genetics of Alcoholism (COGA), encontró que el promedio de herencia del poder espectral correspondiente a la banda de oscilaciones beta es del 86%. Las oscilaciones β del EEG representan la función de redes de interneuronas inhibitorias que actúan como marcapasos [27], siendo el resultado de la acción de los receptores GABA_A lo que se corrobora al encontrar significativa la relación entre ondas β del EEG y un grupo de genes del receptor GABA_A en el brazo corto del cromosoma 4 de humanos, [29] y [35].

Algunos autores opinan que la acción de los receptores GABA_A es indispensable para la producción de oscilaciones γ y β en el EEG, por lo que se piensa que el bloqueo de estos receptores conduce a una pérdida de la sincronización. Por lo tanto, si la presencia de oscilaciones eléctricas producidas por una población de neuronas refleja el patrón de despolarización de un gran número de células piramidales excitatorias, los mecanismos que subyacen a la producción de oscilaciones γ y β dependen de los patrones de despolarización de una red de interneuronas inhibitorias activadas por la acción de los receptores GABA_A, [29] y [39]. Partiendo de los estudios que ubican a GABA como responsable de la dependencia y tolerancia al alcoholismo, algunos científicos han especulado que las perturbaciones de la actividad de GABA_A son responsables de la alta actividad de las oscilaciones β en EEG de alcohólicos y sus descendientes [29].

Un estudio en donde se fusionó la información obtenida por EEG y mapeo genético mostró que las oscilaciones β (13 a 28 Hz), junto con las oscilaciones γ (30 a 50 Hz) representan los ritmos de acción envueltos con los receptores GABA_A. En este estudio se encontró que un grupo de genes del cromosoma 4 (tabla 2), relacionados con la expresión del receptor GABA_A, muestran una significativa asociación con el fenotipo β del EEG, encontrándose mayor asociación con el gen GABRB1 [35]. En otro estudio, a pesar de encontrar consistente la unión del desequilibrio de ligamiento y el fenotipo beta entre GABRB1 del cromosoma 4 y el alcoholismo con un $p > 0,03$, pero se determinó la existencia más fuertes de asociaciones con este síndrome, en los genes GABRA5 ($p > 0,04$) y GABRB3 ($p > 0,07$) del cromosoma 15q (tabla 2), en donde además se determinó que los genes eran expresados exclusivamente desde el cromosoma paterno. Para ello se analizaron, los genes que codifican subunidades del receptor GABA_A ubicados en el cromosoma 4, 5 y 15 en individuos clasificados como dependientes, según el criterio COGA de este análisis no se obtuvo resultados de asociación con alcoholismo para los genes ubicados en el cromosoma 5 [39]. Basándose en estos resultados, una investigación posterior, halló que el gen GABRG3, posee mayor asociación respecto a los genes analizados en el estudio anterior, donde las variaciones del gen contribuyen con el riesgo de alcoholismo [11]. Estos hallazgos se soportan con los resultados de unión de EEG y esta región del cromosoma 15 [18]. Por otro lado, un estudio determinó que frecuencias de oscilaciones β en EEG, entre 19,5 y 39,8 Hz, predicen la recaída de abuso de sustancias psicoactivas mejor que otros factores medidos en pacientes con historia familiar de dependencia, donde se estableció que la onda β se origina en una región del cerebro frontal, resultado que se acepta debido a la alta heredabilidad y confiabilidad proporcionada por el EEG [3]; también se planteó la hipótesis, que el tener actividad ansiolítica la subunidad α_2 del receptor GABA_A [37] la ubica como candidata más involucrada en las alteraciones de las bandas espectrales β de EEG en alcohólicos [35].

En 1999, Begleiter y Porjesz, hipotetizaron que la predisposición al alcoholismo es heredada como un estado general del CNS de desinhibición/hiperexcitabilidad. Este estado es asociado con un número de desórdenes externalizados. Ellos sugieren que la dependencia al alcohol se da entre estos desórdenes, debido a que la hiperexcitabilidad es atenuada por el uso del alcohol, quien proporciona un efecto normalizante. Debido a las interacciones neuronales en las que participa GABA ha sido propuesto como responsable del estado

Tabla 2: Genes que codifican las subunidades del receptor GABA_A

Gen	Cromosoma	Subunidad
GABRA2	4p12	α_2
GABRA4	4p12	α_4
GABRB1	4p12	β_1
GABRG1	4p12	γ_1
GABRA1	5q34	α_1
GABRA6	5q34	α_6
GABRB2	5q34	β_2
GABRG2	5q34	γ_2
GABRA5	15q11, 2-q12	α_5
GABRB3	15q11, 2q12	α_3
GABRG3	15q11, 2-q12	γ_3

Las letras p y q que acompañan a los cromosomas 4, 5 y 15 indican brazo corto y brazo largo del cromosoma respectivamente. Los números que siguen de la letra indican la región del cromosoma en la que se encuentra. La región 2-q12 muestra que las subunidades α_5 , β_3 y γ_3 también se expresan en el brazo largo del cromosoma 2

alterado de desinhibición/hiperexcitabilidad, debido a que las interneuronas GABAérgicas proporcionan una inhibición retroalimentada, para regular la recurrente excitación. Así, es posible que este estado de desinhibición/hiperexcitación pueda ser resultado de una respuesta alterada de GABA [11].

10 Opioides endógenos, receptores opioides y alcohol

Los péptidos opioides producidos en el cuerpo actúan como moduladores de las neuronas modificando la acción de otros neurotransmisores en el SNC debido a la alteración de las propiedades eléctricas de las neuronas donde actúan, haciendo que se hagan más difíciles de excitar y también pueden influir la liberación de varios neurotransmisores [43]. Se conocen tres familias distintas de péptidos opioides endógenos: encefalinas, endorfina y dinorfina. La β -endorfina sintetizada en el NAr, proyecta sus neuronas a varias regiones del cerebro incluyendo el ATV, NAc, septum, AMG, hipocampo, corteza frontal y sustancia gris periacuaductal [19].

Los péptidos opioides presentan diferentes afinidades por cada uno de los receptores opioides (μ , κ y δ) como se observa en la tabla (1). Las β -endorfinas se unen con igual afinidad a receptores μ y δ met y leuencefalinas se unen con mayor afinidad a receptores δ que a receptores μ , y las dinorfinas se unen selectivamente a receptores κ . Las interacciones de endorfinas y encefalinas con receptores μ y δ incrementan la liberación de dopamina en el NAc y puede iniciar los procesos asociados con recompensa y reforzamiento. Mientras que la unión de dinorfina a receptores κ s ha mostrado estados adversos

(disforia) y disminución en la liberación de dopamina, logrando prevenir el reforzamiento, [19] y [1].

El alcohol altera la actividad de los opioides endógenos en el cerebro y la pituitaria, estas alteraciones modulan muchos de los efectos de comportamiento y neuroendocrinos del alcohol, lo que puede contribuir al reforzamiento y excesivo consumo de alcohol en animales y humanos, todo esto se corrobora por los resultados obtenidos con el uso de antagonistas no selectivos como naltrexona y naloxona al igual que antagonistas selectivos de receptores μ y δ quienes muestran disminución del consumo en ratas y monos, [14] y [19, pág. 307]. Por otro lado se sabe que existe una determinación genética, al observarse que el tener incrementadas las respuestas de los péptidos frente al alcohol puede contribuir a la predisposición del alcoholismo en algunas personas, debido a que al exponer células y tejidos aislados a suministros agudos de etanol se observa un aumento en la expresión de los genes de endorfinas y encefalinas, incrementándose con ello la liberación desde la glándula pituitaria y el cerebro. Por otro lado, cuando la exposición es crónica se presenta lo contrario [14].

Las investigaciones se han enfocado en conocer los efectos del alcohol sobre las β -endorfinas en el cerebro y la pituitaria. En experimentos de administración de alcohol a corto plazo, se observan incrementos en la liberación de β -endorfinas por la glándula pituitaria, el hipotálamo y otras regiones del cerebro, estas pueden interactuar con receptores específicos μ y δ en regiones del cerebro que median muchos de los efectos de neurocomportamiento del etanol. Por otro lado, los efectos a largo plazo de la administración de alcohol en el hipotálamo y la pituitaria son inconsistentes, ya que los estudios realizados no reportan cambio en la actividad de β -endorfinas. Por el contrario, la disminución en la actividad de las β -endorfinas después de una exposición prolongada al alcohol puede mantener y promover el consumo del mismo a través de mecanismos de reforzamiento negativo, más que positivo. Después de una exposición a largo plazo, muchos sistemas neuronales sufren cambios adaptativos para superar los efectos del alcohol y mantener su actividad funcional cerca de los niveles normales. En abstinencia, se presenta una anormalidad en los distintos sistemas neuronales que puede causar la disconformidad, incrementando el deseo y la motivación para consumir alcohol (reforzamiento negativo) [19]. Los individuos alcohólicos con una amplia historia familiar de dependencia al alcohol, exhiben deficiencia en el SNC de opioides, comparados con alcohólicos sin antecedentes de alcoholismo, dicha deficiencia puede estar asociada entre otros, con la disminución hipotalámica y pituitaria en la síntesis y liberación de β -endorfinas, al igual que con la disminución en la densidad de los receptores opioides en distintas regiones del cerebro, [14], [13] y [19]. La baja actividad de los opioides en individuos con historia familiar de alcoholismo, puede incrementar su vulnerabilidad al alcohol por la alteración de la liberación de dopamina en el NAc; se puede hipotetizar que en condiciones basales, la liberación de dopamina estimulada por los opioides, es baja en individuos con riesgo de dependencia. No obstante, cuando se aplican directamente agonistas de receptores μ en el NAc la liberación de dopamina no es afectada, de manera similar la elevación de dopamina en el NAc por inhibidores selectivos de recaptación no alteran la auto-administración de alcohol lo que indica que el consumo no depende de la activación directa de la do-

pamina en el NAc [44]. El alcohol estimula el sistema de opioides endógenos central por incremento en la liberación de péptidos opioides o por alteración de las propiedades de unión de los receptores opioides o ambos [19].

El alcohol disminuye los niveles de dinorfinas en el hipotálamo y en el hipocampo, pero no en el striatum, cerebro medio y glándula pituitaria de ratas machos. Se ha reportado un incremento en prodinorfinas en el NAc después de la auto-administración prolongada de alcohol en líneas de animales específicos [19, pág. 307]. Con lo anterior se confirma que el sistema opioide es clave en la mediación de los efectos agradables de algunas drogas, tales como el alcohol por incrementar los niveles de dopamina [33].

El estudio de opioides al igual que otros sistemas de neurotransmisión, involucrados en el alcoholismo, han permitido la elaboración de fármacos que buscan disminuir los síntomas de la abstinencia en pacientes en tratamiento, [43], [7] y [31]. La Naltrexona es uno de estos, su actividad es antagonizar los receptores opioides, principalmente μ , permitiendo que se disminuyan los efectos de recompensa del alcohol [6] demostrando ser más eficiente frente a otros fármacos utilizados con anterioridad, como Acamprosato [25]. Otro estudio demostró que la Naltrexona además de ser efectiva durante la no abstinencia en pacientes con alcoholismo, también es eficaz en el tratamiento de pacientes durante la abstinencia controlada y el consumo independiente del alcohol. Los resultados de este estudio mostraron mayor actividad del fármaco en algunas zonas relacionadas con el sistema dopaminérgico, tales como ATV, Ganglios Basales, Área Mesial Ventral Izquierda, donde hubo disminución del flujo sanguíneo cerebral regional (rCBF, Regional Cerebral Blood Flow). Este hallazgo permitió establecer la hipótesis de que las estructuras del lóbulo mesial temporal están implicadas en la patofisiología de la adicción, donde se establece la posible relación entre el bloqueo del sistema opioide y la inhibición de los circuitos de memoria emocional [6].

11 Vía de recompensa en el abuso del alcohol

Conociendo los efectos del alcohol sobre los sistemas de neurotransmisión, en especial GABA, opioides y dopamina en las regiones del sistema mesolímbico dopaminérgico, podemos establecer las posibles interacciones de éstos en el fenómeno de recompensa en un individuo con alto riesgo de dependencia al alcohol (figura 4) y hacemos la comparación con individuos que presentan el síndrome de dependencia al alcohol (figura 3).

La figura (3) muestra que durante el consumo crónico de alcohol ocurren alteraciones en el sistema opioide, donde se inhibe la capacidad de las neuronas GABAérgicas a nivel del ATV para inducir la liberación de dopamina en el NAc; pero sí ocurre la liberación directa de dopamina por activación de los receptores μ y δ en el NAc, debido a las neuronas aferentes que contienen las β -endorfina en el NAr.

La figura (4) muestra que las vías dopaminérgicas en individuos con riesgo de alcoholismo podrían presentar un deterioro de la liberación de dopamina desde el ATV hacia el NAc al igual que desde la vía directa del NAr-Nac, teniendo en cuenta que los individuos con riesgo de alcoholismo presentan niveles bajos de dopamina y de β -END.

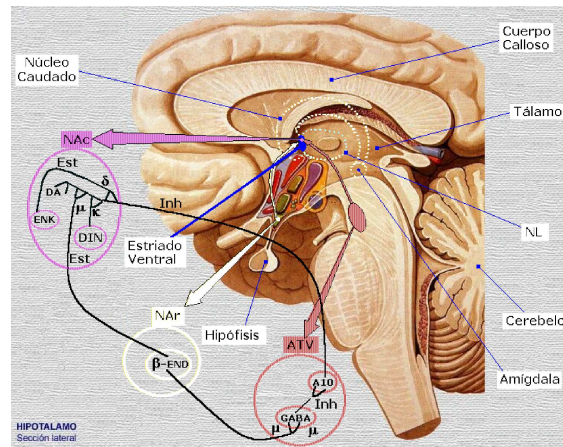


Figura 3: Recompensa adquirida por el consumo crónico de alcohol
 GABA: ácido γ -aminobutírico; B-EP: β endorfina; ENK: encefalinas; DYN: dinorfina; NAr: Núcleo Arcuado; ATV: Área Tegmental Ventral, Nac: Núcleo Acumbens; NL: Núcleo Lenticular; (inh) indica inhibición; (Est) indica excitación o estimulado. Adaptado de [19, pág. 306]

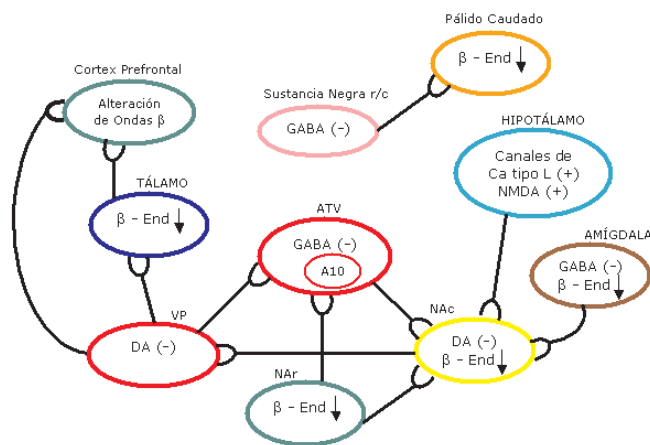


Figura 4: Posible estado de las vías dopaminérgicas en individuos con riesgo de alcoholismo
 NAr, Núcleo Arcuado; VP, Ventral Pálido; AMG, Amígdala; VTA, área tegmental ventral; TAL, tálamo; Nac, núcleo acumbens; PC, Putamen-Caudado; CPF, Cortex Prefrontal; SNr/c, Sustancia Negra reticulada/compacta; DA, Dopamina; B-END, Beta-Endorfina; (-), inhibición; (+), estimulado; niveles bajos (▼)

12 Conclusiones

El síndrome de dependencia al alcohol es un fenómeno multifactorial en donde interactúan factores ambientales, sociales, culturales y genéticos, siendo este último determinante en cuanto a la evolución del mismo.

El comportamiento del bebedor está determinado por la neuroadaptación, que origina alteraciones en el SNC afectando principalmente los sistemas de neurotransmisores de GABA, glutamato, dopamina y opioides. Esta alteración produce hiperexcitabilidad en la señalización neuronal, principal responsable de provocar la ansiedad característica del reforzamiento negativo en el síndrome de abstinencia.

Gracias a los estudios patrocinados por el National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism, es posible ubicar las áreas tales como NAc, ATV, AMG, caudado medial, hipotálamo y tálamo, como vías responsables de mediar la conducta propia del bebedor, siendo éstas los sitios en donde se observan alteraciones en los niveles de dopamina. En alcohólicos los niveles de dopamina en el Núcleo Acumbens se encuentran disminuidos respecto a individuos sin historia familiar de alcoholismo, lo que incrementa el reforzamiento negativo.

Debido a su acción neuromoduladora, los péptidos opioides contribuyen con los efectos de recompensa y reforzamiento que genera el consumo del alcohol. Individuos con historia familiar de alcoholismo presentan niveles bajos de β -endorfinas y encefalinas en el plasma antes del consumo, los cuales se elevan respecto a individuos sin antecedentes después de la exposición al alcohol. Teniendo en cuenta estos hallazgos se ha generado una gama de fármacos que atenúan los efectos de la dependencia, uno de los más usados en la actualidad por su eficiencia en el tratamiento de alcoholismo es el antagonista opioide Naltrexona.

La liberación de dopamina en el NAc, modula la transmisión excitatoria; durante la primera fase del consumo del alcohol se observa una disminución en la transmisión de glutamato, principalmente en el receptor NMDA y un aumento en la transmisión GABAérgica, incrementándose la expresión de receptores GABA. Después de abandonar el consumo o en síndrome de abstinencia, puede ocurrir una alta señal excitatoria, baja señal inhibitoria e hipofunción de la dopamina.

El sistema GABAérgico, ha sido ubicado como el principal modulador de la actividad dopaminérgica en el sistema límbico con alteraciones de la conducta en el fenómeno del alcoholismo.

Las anormalidades que predisponen a la dependencia se pueden atribuir a una baja regulación de la actividad de dopamina por parte del sistema GABA, sumada con la baja modulación del sistema opioide y a la alta actividad de los receptores de glutamato tipo NMDA. No obstante, estas alteraciones deben tomarse como el resultado de un factor genético que predispone al individuo a las mismas en el fenómeno del alcoholismo.

Los estudios que ubican a la subunidad α_2 como efector de la actividad ansiolítica del receptor GABA_A, permiten sugerir que las propiedades farmacológicas de esta subunidad son un blanco interesante para la elaboración de nuevos fármacos con el fin de mejorar

los tratamientos y evitar los efectos adversos/secundarios que generalmente se presentan al hallar vías más puntuales en donde enfocar la acción farmacológica.

13 Agradecimientos

Las autoras agradecen a la profesora Marcela Camacho del CIF y Universidad Nacional de Colombia, a la profesora Adys Ayala de la Universidad Distrital Francisco José de Caldas y al Ingeniero Andrés Alvarado por el soporte técnico.

Referencias

- [1] *Alcohol Research & Health*, Research refines alcoholism treatment options, **24**(1), 53-61 (2000).
- [2] Anonimo, *Alcohol the brain and behavior: mechanisms of addiction*, Alcohol research and health, **24**(1), 12-15 (2000).
- [3] Lancer Bauer, *Predicting relapse to alcohol and drug abuse via quantitative electroencephalography*, Neuropsychopharmacology, **25**, 332-340 (2001).
- [4] P. Buckland, *Genetic association studies of alcoholism problems with the candidate gene approach*, Alcohol and Alcoholism, **36**(2), 99-103 (2001).
- [5] J. C. Valderrama y María P. de Vicente, *Ansiedad y alcoholismo*, www.saludalia.com, (2001).
- [6] A. Catafau et al, *Regional cerebral blood flow changes in chronic alcoholic patients induced by naltrexone challenge during Detoxification*, The journal of nuclear medicine, **40**(1), 19-24 (1999).
- [7] M. Centeno et al, *Tratamiento farmacológico de los problemas por el alcohol*, Medicina general, **31**, 135-140 (2001).
- [8] D. Córdoba, *Toxicología*, Manual Moderno, Bogotá, 302-307 (2002).
- [9] Devaud et al, *Sensitization of γ -aminobutyric acid receptor to neuroactive steroids in rats during ethanol withdrawal*, Journal Pharmacol Exp Ther, **278**, 510-517 (1996).
- [10] Imperato Dichiara, *Drugs abuse by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system in freely moving rats*, Proc Natl Aca Sci USA, **85**, 5274-5278 (1988).
- [11] Danielle Dick, *Association of GABRG3 with alcohol dependence* Alcoholism clinical and experimental research, **29**(1), 4-9 (2004).

- [12] P. Fadda, *Baclofen antagonizes nicotine-, cocaine-, and morphine- induced dopamine release*, In the nucleus accumbens of rat. *Synapse*, **50**(1), 1-6 (2003).
- [13] R.S. Feldman, *Principles of Neuropsychopharmacology*, Massachussets: Sinauer Associates Publisher, 29-30, 417-435, 625-662 (1997).
- [14] J. Froehlich, *Opioid peptides*, *Alcohol Health & Research World*, **21**(2), 132-136 (1997).
- [15] T. Fulton et al, *Etanol, stroke, brain damage, and excitotoxicity*, *Pharmacology biochemistry and behavior*, **59**(4), 981-991 (1998).
- [16] W. Ganong, *Fisiología Médica*, Manual Moderno, México, 93-127 (2002).
- [17] M. B. Gatch et al, *Effects of NMDA antagonists on etanol-withdrawal induced "anxiety" in the elevated plus-maze*, Elsevier Science Inc., **19**(3), 207-211 (1999).
- [18] S. Ghosh et al, *Linkage mapping of beta 2 EEG waves via non- parametric regression*, *American Journal of Medical Genetics*, 118B, 66-71 (2003).
- [19] C. Gianoulakis, *Influence of the endogenous ipioiod on high alcohol consumption and genetic predisposition to alcoholism*, *Journal of psychiatry & neuroscience*, **26**(4), 304-314 (2001).
- [20] S. Gimeno, *Diferencia entre dependencia de alcohol y abuso de alcohol*, (2002).
- [21] C. R. Goodlett et al, *Mechanisms of alcohol - induced damage to the developing nervous system*, NIAAA publications, (2000).
- [22] C. Grobin et al, *The role of GABA_textA receptors in the acute and Chronic effects of ethanol*, *Psychopharmacology*, 139, 2-19 (1998).
- [23] A. Guyton, *Tratado de Fisiología Médica*, México: Mc Graw Hill. 9^a edición, 618-619 (1997).
- [24] J.M. Khanna, e t al, *NMDA antagonist and tolerance to drugs affecting the central nervous system*, Neva Press, Branfort Connecticut, **5**(2), 165-176 (1999).
- [25] F. Kiefer et al, *Comparing and combining Naltrexone and acampro-sate in relapse prevention of alcoholism (a double-blind, placebo-controlled study)*, *Arch gen psychiatry*, 60, 92-99 (2003).
- [26] Ewa Malatynska, et al, *Change in ethanol preference by rats treated with γ_1 and γ_2 GABA_textA receptor subunids and antisense oligodeosynu-cleotides*, **36**(4), 309-313 (2001).
- [27] Edvard Moser, *Interneurons take charge*, *Nature*, 421, 797-798 (2003).
- [28] National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA), *Alcohol Alert*, **33**, (1996).

- [29] National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA), *Alcohol Researchers Identify Genetic Locus of Human Brain Wave (Beta EEG Frequency)*, Alcohol Alert, (2002).
- [30] National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA), *Alcohol Researchers Localize Brain Region That Anticipates Reward*, Alcohol Alert, (2003).
- [31] National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA), *New Advances in Alcoholism Treatment*, Alcohol Alert, 49, (2000).
- [32] National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA), *Cognitive impairment and recovery from alcoholism*, (Octubre de 2000).
- [33] D. J. Nutt et al, *Future directions in substance dependence research Neural Transm Suppl*, 64, 95-103 (2003).
- [34] GP. Panikkar, *Cocaine Addiction: Neurobiology and Related Current Research in Pharmacotherapy*, Subst Abus, **20**(3), 149-166 (1999).
- [35] B. Porjesz et al, *Linkage disequilibrium between the beta frequency of the human EEG and a GABA_A receptor gene locus*, Proceedings of the National Academy of Sciences, **99**(60), 3729-3733 (2002).
- [36] P. Reisinnet, *Bases Farmacológicas de la terapéutica*, México: Mc Graw Hill, 296-97-302 (1996).
- [37] U. Rudolph et al, *GABA_A receptor subtypes: dissecting their pharmacological functions*, Trends in pharmacological sciences, **22**(4), 188-194 (2001).
- [38] R. Salin, *Bases Bioquímicas y farmacológicas de la neuropsiquiatría*, México: Mc Graw Hill Interamericana, 59-79, 184-189 (1997).
- [39] J. Song, *Association of GABA_A receptors and alcohol dependence and the effects of genetic imprinting*, Am J Med Genet, **117B**(1), 39-45 (2003).
- [40] PD. Suzdak, *Stimulates γ -aminobutyric acid receptor mediated transport in rat brain synaptoneurosome*, Proc Natl Acad Sci USA, 83, 4071-4075 (1986).
- [41] R. Swift, *Drug Therapy for Alcohol Dependence*, The New England journal of medicine, 340, 1882-1890 (1999).
- [42] Thomas et al, *Fetal alcohol syndrome. Does alcohol withdrawal play a role?*, Alcohol health & research world, **22**(1), 47-53 (1998).
- [43] M. Villarejo et al, *Farmacología de los agonista y antagonistas de los receptores opioides*, Educación e investigación clínica, **1**(2), 106-137 (2000).
- [44] F. Weiss, *Behavioral Neuro-biology of Alcohol Addiction: Recent Advances and Challenges* The Journal of Neuroscience, **22**(9), 3332-3337 (2002).

- [45] Patrick Zicler, *Cocaine's effect on blood components may be linked to Herat attack and stroke*, National Institute on Drug Abuse, **17**(6), 5-6 (2003).