

## La adicción a la nicotina: vulnerabilidad, epigenesis y modelos animales de estudio

Pastor, Verónica<sup>a</sup>; Vázquez, Pablo<sup>a</sup>; Corapi, Enrique<sup>a</sup> y Bernabeu, Ramon<sup>\*a</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Biología Celular y Neurociencias E De Robertis y Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

### Psicología Comparada y Cognición Animal

#### Resumen

Este artículo es un resumen de las investigaciones actuales sobre los efectos de la nicotina en el sistema nervioso y su relación con la generación de una conducta adictiva. Al igual que otros psicoestimulantes, la nicotina activa la vía de la recompensa, la que también está involucrada en ciertas enfermedades psiquiátricas. Existen individuos que presentan una alta vulnerabilidad a volverse adictos a la nicotina. Esto puede deberse a factores tanto genéticos como epigenéticos y/o al entorno. En este trabajo se describen algunos factores epigenéticos implicados en estos fenómenos. Para este tipo de estudios, existen dos modelos comportamentales en animales: la autoadministración y el condicionamiento al lugar (CPP). Aquí, el CPP se explica en detalle por su potencial aplicación en humanos. Además, se describe la determinación comportamental de la actividad locomotora (lo cual indica el efecto causado por un psicoestimulante) como modelo para estudiar la vulnerabilidad individual a las drogas.

#### Palabras claves:

Adicción a la Nicotina; Condicionamiento Clásico; Epigenesis; Vulnerabilidad.

Recibido el 30 de Enero de 2013; Recibida la revisión el 17 de Febrero 2013; Aceptado el 7 de Abril de 2013.

#### 1. Introducción

##### 1.1. *Del placer a la adicción: los efectos de las drogas de abuso*

Todas las drogas de abuso pueden inducir placer la o las primeras veces que se las consume, produciendo sensaciones de calidez, lucidez, y sensaciones diferentes de las normales. Por un breve periodo de tiempo todo funciona, pero algo está sucediendo dentro del cerebro de ese individuo, y algo peor va a ocurrir con el consumo repetido, independientemente del tipo de droga que sea. La dosis que en un primer momento producía placer, dejará de tener su efecto y se necesitará una dosis mayor para conseguir el efecto deseado. El consumo reiterado de drogas cambia la homeostasis del

#### Abstract

**Nicotine addiction: studies about vulnerability, epigenesis and animal models:** This article is a summary about the current research of nicotine effects on the nervous system and its relationship to the generation of an addictive behavior. Like other drugs of abuse, nicotine activates the reward pathway, which in turn is involved in certain psychiatric diseases. There are individuals who have a high vulnerability to nicotine addiction. This may be due to genetic and epigenetic factors and/or the environment. In this review, we described some epigenetic factors that may be involved in those phenomena. The two animal models most widely used for studying the reinforcing effects of nicotine are: self-administration and conditioning place preference (CPP). Here, we emphasized the CPP, due to its potential application in humans. In addition, we described the locomotor activity model (as a measure of psychostimulant effects) to study vulnerability to drugs of abuse.

#### Key Words:

Nicotine Addiction; Classical Conditioning; Epigenesis; Vulnerability.

organismo, y cuando el consumo disminuye produce que el individuo se deprima, se vuelva irritable y físicamente enfermo. En este punto, el individuo puede volverse adicto, generando la búsqueda desesperada de la droga, poniendo en riesgo su salud, su economía, y sus relaciones personales. En este artículo nos centraremos en describir dos importantes aspectos que se hayan asociados a la dependencia al tabaco (como forma de consumo de nicotina): la vulnerabilidad individual y alguno de los posibles mecanismos genéticos y epigenéticos que participan en la búsqueda de la droga.

\* Enviar correspondencia a: Bernabeu, R.  
E-mail: rbernabeu@fmed.uba.ar

### 1.2. ¿Dónde y cómo actúan las drogas de abuso?

Las drogas de abuso activan una serie de estructuras cerebrales que componen el circuito denominado “vía de la recompensa” (Chen, Hopf & Bonci, 2010). Naturalmente, las estructuras de esta vía se activan en el caso de consumir las dos funciones más placenteras de los animales, comer/beber y copular (Hernández y Hoebel, 1988). Estos actos están relacionados con la supervivencia del individuo y de la especie. Recientemente, se ha encontrado que la ingesta está regulada por péptidos hipotalámicos como la galanina y la orexina, los cuales están relacionados con ciertas adicciones (ver más adelante) (Parker & Bloom, 2012). El hecho de que estas dos funciones primordiales provoquen placer/recompensa está aparentemente relacionado con la tendencia a repetirlos. Como una simple aproximación, se puede decir que las drogas producen adicción mediante la estimulación de esta vía de la recompensa (Koob & Volkow, 2010; Schultz, 2011). La estimulación de esta vía produce placer en un principio, pero también induce un desequilibrio en un sistema que normalmente está equilibrado o en homeostasis. Ciertos cambios generados por las drogas pueden ser reversibles (Bellone C & Lüscher C, 2006; Chen et al. 2010; Mameli et al. 2009) aunque, en algunos casos, las drogas de abuso inducen alteraciones persistentes (Goriounova & Mansvelder, 2012; Selemón, Begović, Goldman-Rakic & Castner, 2007; Winder, Egli, Schramm & Matthews, 2002).

El componente central de este circuito de recompensa es el sistema mesolímbico dopaminérgico, que consta de una serie de neuronas que se originan en el área tegmental ventral (ATV), y que envían proyecciones a otras regiones frontales del cerebro, como el núcleo accumbens (NA) y la corteza prefrontal (CPF) (Koob & Volkow, 2010; Laviolette & van der Kooy, 2004). Estas conexiones son mayoritariamente dopaminérgicas, pero también se hallan neuronas inhibitorias GABAérgicas que participan de esta vía modulando la actividad neuronal (Barrot et al. 2012; Carr & Sesack, 2000). Estas neuronas GABAérgicas son moduladas, además, por neuronas opiáceas que expresan el receptor Mu. Estas neuronas tienen la capacidad de inhibir a las neuronas GABAérgicas (que son inhibitorias) generando una activación del sistema dopaminérgico mesocorticolímbico cuando son estimuladas, lo que explica la activación opiáceo-dependiente del sistema (Xiao, Zhang, Krnjević & Ye, 2007). Las proyecciones dopaminérgicas que van desde el ATV al NA son críticas en la adicción. Se observó que animales con lesiones en este circuito presentan desinterés por las drogas de abuso (Arvanitogiannis,

Waraczynski & Shizgall, 1996). El ATV envía información a las otras estructuras acerca del grado de recompensa asociada a un estímulo determinado. Resulta llamativo, sin embargo, que todas las drogas de abuso (activando la misma vía de la recompensa) puedan generar efectos conductuales tan diferentes (el alcohol y la cocaína, por ejemplo). Posiblemente, estas diferencias se deban a que las drogas de abuso no restringen su efecto solamente a la vía de la recompensa, sino que también activan otras estructuras cerebrales. Entre las estructuras modulatorias de la vía de la recompensa más estudiadas se encuentran, la amígdala y el hipocampo (Lisman & Grace, 2006; Koob & Volkow, 2010). La amígdala se activa diferencialmente en una situación placentera o en una aversiva, aportando información para determinar si una acción será repetida o evitada (Johansen, Cain, Ostroff & LeDoux, 2011). El hipocampo es una estructura central en la formación de memorias (Andersen, Morris, Amaral, Bliss & O’Keefe, 2007; Kandel, Schwartz & Jessell, 2001). Las regiones de la corteza cerebral coordinan, integran, y procesan toda la información sensorial y motora, lo cual determinará el comportamiento general del individuo (Amodio & Frith, 2006; Xue et al. 2009).

El uso continuado de drogas induce cambios adaptativos en el sistema nervioso central, lo que conduce a fenómenos como la tolerancia, la dependencia física, la sensibilización, el craving y la recaída (para más detalles ver: Cami & Farre, 2003; Robinson & Berridge, 2008; Siegel, 2005).

### 1.3. La nicotina

La nicotina es una de las drogas más consumidas en todo el mundo (World Health Organization, 2010). Se considera que es el principal componente psicoactivo del tabaco, responsable de su poder adictivo y de la alta tasa de recaída que genera (Benowitz, 2010; Stolerman & Jarvis, 1995). El síndrome de abstinencia al consumo de nicotina provoca alteraciones conductuales que pueden ser estudiadas también en los modelos animales. Entre las más notorias manifestaciones de la privación a la nicotina se encuentran: la irritabilidad, los problemas de sueño, las náuseas, los estados depresivos y la ansiedad. (para mayores detalles, ver Bruijnzeel, 2012). Hoy en día, existe acuerdo en que el efecto adictivo de la nicotina es mediado fundamentalmente por la activación de receptores colinérgicos nicotínicos (nAChRs), en las neuronas dopaminérgicas del ATV y otras estructuras cerebrales (Changeux, 2010; Mansvelder, Mertz & Role, 2009; Pidoplichko et al. 2004).

La nicotina es un alcaloide altamente tóxico presente en el tabaco y fumar produce en el cerebro altas concentraciones de la misma (Benowitz, 2010; Hukkanen, Jacob & Benowitz, 2005). Esta droga se absorbe en el pulmón entre un 79 y un 90 %, entra en la circulación arterial, llega hasta el cerebro en segundos, donde ejerce su acción psicoactiva (Benowitz, 2010). La nicotina es metabolizada en el hígado, principalmente por las enzimas CYP2A6, CYP2B6 y CYP2E1 (Benowitz, Swan, Jacob, Lessov-Schlaggar & Tyndale, 2006). En sangre, la vida media de la nicotina es de 2 a 3 horas (Benowitz, Lessov-Schlaggar & Swan 2008). La nicotina a dosis altas genera malestar y náuseas. Ha sido postulado que cuanto más rápida es la velocidad de absorción y entrada en el cerebro de una droga, mayor es el efecto y el refuerzo positivo que genera. Al fumar, por ejemplo, la rapidez en el aumento de los niveles plasmáticos de la nicotina produce una leve sensación aversiva, lo cual lleva al fumador a ajustar la dosis para obtener el efecto farmacológico deseado, reforzando de este modo la autoadministración y facilitando el desarrollo de la adicción (Benowitz, Hukkanen & Jacob 2009). En el caso de la cocaína, se ha postulado que la base libre (paco y crack) es más adictiva que el clorhidrato debido a que es fumada y no inhalada (Van Dyke & Byck, 1982). Se supone que la abrupta caída de la concentración de la droga en sangre luego de consumirla es la responsable de este fenómeno (Breiter et al. 1997; Le Moal & Koob, 2007).

Los nAChR son canales catiónicos, permeables a Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup>. En cuanto a su estructura molecular, están compuestos por 5 subunidades. Hasta el momento, se conocen diez subunidades  $\alpha$  ( $\alpha 1$ - $\alpha 10$ ), tres subunidades  $\beta$  ( $\beta 2$ - $\beta 4$ ), una  $\gamma$  y una  $\delta$ . De la combinación de estas subunidades surgen los distintos tipos de receptores, cada uno con características particulares (Barik & Wonnacott, 2009; Changeux, 2010; Gotti, Zoli & Clementi, 2006). Los nAChR se expresan en todo el sistema nervioso, tanto central como periférico, razón por la cual el efecto de esta droga se ejerce, no sólo en el cerebro, sino también en las fibras musculares lisas del intestino (sistema nervioso entérico) y en el sistema nervioso autónomo (Kandel et al. 2001; Barik & Wonnacott, 2009). No existe acuerdo con respecto a la existencia de alguna subunidad que se encuentre más estrechamente relacionada con el proceso adictivo (ver más adelante) (Changeux, 2010; Fowler, Arends & Kenny, 2008).

Llamativamente, la nicotina no produce ningún gran cambio observable a nivel conductual cuando se la consume, comparándola con otras drogas de abuso. Esto también es evidente en los modelos animales.

Aparentemente, por este motivo, el número de laboratorios en el mundo que trabajan a nivel comportamental con nicotina es muy reducido, en comparación con lo que ocurre con otras drogas de abuso como la cocaína y la anfetamina.

#### 1.4. Modelos animales para estudiar los efectos de la nicotina

Los modelos animales más utilizados para el estudio de las propiedades reforzantes de la nicotina son dos y fueron desarrollados en la década del sesenta. El primero se denomina autoadministración y se basa en el condicionamiento operante desarrollado por Skinner, el cual fue diseñado para estudiar la memoria en palomas (Koob et al. 2007; Skinner, 1938). En este procedimiento, el animal debe elegir presionar una palanca o meter el hocico en un agujero (actividades exploratorias típicas) para recibir una dosis de la droga (generalmente por vía intravenosa) la cual constituye la recompensa del condicionamiento operante (Ahmed, 2012; Koob, Caine, Roberts & Parsons. 2007). La autoadministración ha sido ampliamente utilizada para estudiar los efectos reforzantes de la cocaína (Everitt et al. 2008). En el caso particular de la nicotina, se presenta el problema de que, como fue mencionado anteriormente, a dosis altas induce aversión, malestar e incluso vómitos y si el animal no puede regular su autoadministración, ésta le produce aversión en lugar de preferencia (Caille, Clemens, Stinus & Kador, 2012).

El otro modelo utilizado para evaluar las propiedades reforzantes de las drogas es el condicionamiento de preferencia al lugar (CPP, conditioned place preference). El dispositivo experimental utilizado para el CPP es una caja que posee dos compartimientos o ambientes que poseen diferencias visuales, táctiles y olfativas. En uno de esos ambientes se administra la droga en estudio y en el otro, el vehículo. Luego de repetir este procedimiento varias veces, se puede establecer una asociación de tipo Pavloviana entre la droga y el ambiente asociado a ésta. Esto se evidencia en la sesión de testeo, donde se deja al animal explorar libremente los 2 ambientes. Si el animal pasa más tiempo en el compartimiento que había sido previamente asociado con la droga, se asume que la misma tiene efectos reforzantes. De lo contrario, si el animal evita dicho compartimiento, se asume que los efectos de la droga son aversivos (Tzschentke, 2007). Éste es un modelo bien establecido para medir la preferencia o búsqueda de una droga, basándose en el condicionamiento clásico desarrollado por Pavlov (1927). El condicionamiento es fundamental para el proceso adictivo e implica cambios en la transmisión

sináptica, similares a los que subyacen a la memoria declarativa (Hyman, Malenka & Nestler, 2006; Milton & Everitt, 2012)

Durante muchos años, el modelo animal de la autoadministración fue considerado el más adecuado para estudiar la adicción, debido a que –en los seres humanos- las drogas de abuso son autoadministradas (Ahmed, 2012; O'Connor, Chapman, Butler & Mead, 2011). Sin embargo, últimamente, el modelo del CPP ha cobrado mayor interés. Esto se debe, en parte, a que se ha descubierto que el ambiente asociado a la droga juega un rol gatillador del consumo y puede inducir la recaída luego de largos períodos de abstinencia, tanto en humanos (Hayes, Villatte, Levin & Hildebrandt, 2011) como en animales (Liu, Le Foll, Liu, Wang & Lu, 2008; Pascual, Pastor & Bernabeu, 2009). A su vez, a diferencia de lo que ocurre con la autoadministración, los modelos basados en el condicionamiento clásico pueden utilizarse en estudios con seres humanos, a tal punto que ha sido propuesta su utilización con fines terapéuticos (Xue, et al. 2012; Schiller et al. 2010).

### 1.5. *La vulnerabilidad individual a la dependencia de drogas de abuso*

La vulnerabilidad a la nicotina puede considerarse según la predisposición a comenzar a consumir la droga o la fragilidad a recaer en su consumo (D'souza & Markou, 2011). En este artículo, nos referiremos solamente al primer concepto. En los seres humanos, el inicio del consumo de drogas puede deberse a múltiples causas. Sin embargo, sólo un porcentaje mínimo de los individuos que consumen o han consumido alguna droga de abuso desarrollan una adicción a dicha sustancia (O'Brien & Anthony 2005; WHO, 2010). El número de individuos que cumplen con los criterios para ser considerados adictos varía dependiendo de la droga en cuestión, abarcando aproximadamente un 31% en el caso del tabaco (Anthony, Warner & Kessler, 1994).

Como ocurre con ciertas enfermedades, la vulnerabilidad a las drogas de abuso difiere de una persona a otra, dependiendo de varios factores de riesgo presentes en cada individuo y del entorno que frecuenta (Piazza & Le Moal, 1996). En los seres humanos, la vulnerabilidad puede estar influenciada tanto por la constitución biológica del individuo (factores genéticos), como por el ambiente que lo rodea (entorno asociado al consumo). El Instituto Nacional de Drogas de Abuso de los Estados Unidos (NIDA) ha sugerido que los factores genéticos y epigenéticos constituyen del 40 al 60 % de la vulnerabilidad a la adicción (NIDA, 2008).

Para evidenciar los factores genéticos en modelos animales, suelen utilizarse distintas cepas de la misma especie o animales transgénicos. Generalmente, en otro tipo de estudios, se utiliza una única cepa (Wistar, por ejemplo), con lo cual los cambios debido a los factores genéticos se ven altamente reducidos, pero no los epigenéticos.

La adolescencia también es un período crítico para el desarrollo de las conductas adictivas, tanto en humanos como en modelos animales (Adriani et al., 2003; Belluzi, Lee, Oliff & Leslie., 2004; Koob & Le Moal, 2008; NIDA, 2008; Pascual et al., 2009). Experimentos con animales indican que las ratas adolescentes son más propensas que las adultas a adquirir CPP y/o a autoadministrarse nicotina (Adriani et al, 2003; Belluzi et al, 2004; Shram, Funk, Li & Lê, 2006; Torres, Tejeda, Natividad & O'Dell, 2008; Vastola, Douglas, Varlinskaya & Spear, 2002). Además, las ratas adolescentes son más resistentes a los efectos aversivos de la nicotina que las adultas (Shram et al, 2006; Wilmouth y Spear, 2004). En humanos, se reportó que la edad de inicio del consumo de tabaco se relaciona con el total de años que se fumará y con la probabilidad de dejar de fumar (Chassin, Presson, Scherman & Edwards, 1990). Fumar en esta etapa del desarrollo ha sido asociado con una mayor tendencia a desarrollar dependencia a otras drogas de abuso (Taioli & Wynder, 1991; Breslau & Peterson, 1996; Chen & Millar, 1998). Cabe mencionar que la expresión de dos de las moléculas relacionadas con el apetito, la galanina y la orexina son moduladas por la nicotina (Mineur et al. 2011), y es la principal razón por la cual las adolescentes comienzan a fumar, para controlar su peso (Voorhees, Schreiber, Schumann, Biro & Crawfordl. 2002).

Por otro lado, las personas con trastornos mentales tienen un mayor riesgo de consumir drogas y de desarrollar una dependencia, en comparación con la población en general (Koob & Le Moal, 2008; NIDA, 2008). A su vez, la dependencia a los psicoestimulantes no es sólo un trastorno psiquiátrico primario, sino que también representa un factor de comorbilidad significativa para varios trastornos psiquiátricos (Cramer, Waldorp, van der Maas & Borsboom 2010; Regier et al. 1990). Es interesante destacar que los circuitos alterados en ciertas enfermedades psiquiátricas incluyen estructuras de la vía de la recompensa. Siendo más precisos, el NA, la CPF, y el ATV están involucrados en muchas patologías que incluyen, entre otras, la depresión, el trastorno bipolar, y la esquizofrenia (Floresco, Zhang & Enomoto. 2009; Labrie, Pai & Petronis. 2012; Post, 2010; Schultz,

2011). Probablemente, ésta es la razón por la cual ambos grupos de patologías están tan altamente interrelacionadas. Los pacientes con esquizofrenia son generalmente adictos al tabaco (alrededor del 90%), y éstos consumen hasta 3 veces más que los fumadores habituales (Diwan, Castine, Pomerleau, Meador-Woodruff & Dalack 1998; Lasser et al. 2000). En general, las personas con enfermedades mentales de cualquier tipo son dos veces más propensas a fumar que el resto de la población (Lasser, 2000; Mackowick, Lynch, Weinberger & George, 2012). Por otro lado, se ha demostrado que las personas que abandonan el tabaco son más propensas a episodios de depresión (Covey, Glassman & Stetner 1997). Aparentemente, entonces, la nicotina tiene un lado oscuro adictivo y nocivo y otro con propiedades ansiolíticas y antidepressivas.

En definitiva, las interacciones entre los factores genéticos o epigenéticos, la edad del individuo, los factores ambientales y las enfermedades mentales podrían afectar la predisposición de un individuo a convertirse en un consumidor compulsivo de drogas (Baler & Volkow, 2011; Le Moal & Koob, 2007).

En estudios realizados con animales, se han desarrollado diversos modelos para evidenciar fenotipos con diferente vulnerabilidad para desarrollar una conducta de tipo adictiva a psicoestimulantes (Piazza, Deminière, Le Moal & Simon, 1989; Piazza & Le Moal, 1996). En estos modelos, se expone a los animales a un estímulo inicial para clasificarlos de acuerdo a su respuesta locomotora (como medida de reacción a dicho estímulo) y se evalúa, posteriormente, el desarrollo de una conducta de tipo adictiva, empleando alguno de los modelos clásicos para tal fin (la autoadministración y/o el CPP). Varios estudios han utilizado la exposición a un ambiente novedoso como estímulo inicial. La novedad es levemente estresante e induce un aumento de la actividad locomotora en ratas, generándose de este modo dos grupos de animales, los de alta y baja respuesta locomotora al ambiente novedoso (ARL y BRL, respectivamente) (Kabaj, 2006; Piazza et al. 1989; Redolat, Perez-Martinez, Carrasco & Mesa, 2009; Suto, Austin & Vezina, 2001). Llamativamente, los animales de ARL tienen una mayor tendencia que los de BRL a autoadministrarse, tanto cocaína (Cummings et al. 2011) como nicotina (Suto et al., 2001). Además de la novedad, se ha utilizado la exposición a psicoestimulantes como estímulo inicial para clasificar a los animales en altos o bajos respondedores a la droga (ARD y BRD, respectivamente). En nuestro laboratorio, hemos utilizado este modelo con nicotina en ratas adolescentes

(Pastor, Andrés & Bernabeu, 2013). El hecho de utilizar una preexposición a la droga como estímulo inicial resulta interesante porque, además de clasificar a los animales de acuerdo a su respuesta locomotora a la nicotina, se pueden evaluar las consecuencias de una exposición previa a la droga. En humanos, por ejemplo, se ha reportado que la sensación experimentada durante el primer contacto con la nicotina puede predecir el riesgo de desarrollar dependencia. Así, se halló una correlación entre la sensación de relajación en respuesta al primer cigarrillo fumado y el desarrollo de adicción a nicotina (DiFranza, 2008). Nosotros demostramos, por primera vez, que la clasificación en altos y bajos respondedores a la nicotina (ARNi y BRNi, respectivamente) predice la vulnerabilidad para la adquisición del CPP inducido por la nicotina, en ratas adolescentes (Pastor et al. 2013). Más específicamente, los BRNi mostraron un CPP positivo luego de 7 sesiones de condicionamiento con nicotina, a diferencia de los ARNi, que no desarrollaron CPP. En coincidencia con lo descrito por Allen, Everett, Nelson, Gulley y Zahniser (2007) para la cocaína, nosotros encontramos que un grupo de la población total, los animales pertenecientes al fenotipo que responde inicialmente menos a la droga, serían más vulnerables a desarrollar una preferencia asociada a la nicotina (CPP), en futuras exposiciones. Estos hallazgos sugieren que existen semejanzas entre la vulnerabilidad a la nicotina y a la cocaína y que, quizás, los fenómenos de vulnerabilidad posean similitudes para todas las drogas de abuso. Si bien son necesarios más estudios para comprobar esta hipótesis, existen trabajos en humanos que han reportado una vulnerabilidad genética común para desarrollar adicción por distintas drogas de abuso (True et al. 1999; Xian et al. 2008).

Otro dato interesante que surgió de nuestro último trabajo es que se necesitaron 7 sesiones de condicionamiento para evidenciar el CPP, en los animales que habían sido preexpuestos a la nicotina; mientras que –en ausencia de esa preexposición– con sólo 4 sesiones se obtiene un CPP robusto (Le Foll & Goldberg, 2005; Pascual et al., 2009; Pastor, Host, Zwiller & Bernabeu, 2011; Pastor et al., 2013). En este caso, aparentemente, la administración de la nicotina durante la preexposición habría interferido en la asociación posterior entre la droga y el entorno en la caja del CPP. Esto podría explicarse teniendo en cuenta que la presentación del estímulo incondicionado (nicotina) en ausencia del estímulo condicionado (caja del CPP) podría estar induciendo el fenómeno de inhibición latente, e impidiendo o disminuyendo la asociación entre la droga y el entorno (Lubow, 1973).

En resumen, estos resultados arrojan dos posibles conclusiones: primero, el método de clasificación (altos y bajos respondedores) podría predecir la probabilidad de un individuo de desarrollar una conducta de tipo adictiva si el individuo realiza un consumo repetitivo de la nicotina; y segundo, el individuo preexpuesto presentaría una menor probabilidad de desarrollar una conducta adictiva si posteriormente a la preexposición su consumo es esporádico o moderado.

Los modelos animales clásicamente han probado ser esenciales para nuestra comprensión de los mecanismos neurobiológicos implicados en los procesos de adicción. Del mismo modo, los modelos que evalúan la vulnerabilidad podrían resultar una estrategia clave a la hora de encontrar factores genéticos o epigenéticos involucrados en este proceso, permitiendo identificar de manera temprana a los individuos más vulnerables. De hecho, actualmente en nuestro laboratorio estamos estudiando la expresión de diversos genes en áreas cerebrales del circuito mesocorticolímbico, como posibles determinantes de la vulnerabilidad en los altos y bajos respondedores a la nicotina.

#### 1.6. *Los factores genéticos y la nicotina*

Uno de los factores que ha llamado más la atención para ser considerado de riesgo para pasar de un uso ocasional al abuso de drogas o a la dependencia es el genotipo de cada individuo. En el caso de la nicotina, varios estudios en humanos han encontrado variantes alélicas asociadas al consumo compulsivo de tabaco, focalizándose –principalmente– en los receptores nicotínicos y en las enzimas responsables del metabolismo de la nicotina (ver sección previa “la nicotina”) (Berrettini et al. 2008; Saccone et al. 2007; Thorgeirsson et al. 2010). Se ha postulado que hay individuos con ciertas variantes alélicas del CYP2A6 que serían menos susceptibles a desarrollar adicción a esta droga de abuso (Messina, Tyndale & Sellers. 1997; Pianezza, Sellers & Tyndale, 1998; Rao et al. 2000). Por otro lado, teniendo en cuenta que la nicotina ejerce sus efectos principalmente actuando sobre los nAChR, es lógico pensar que la existencia de distintos polimorfismos en los genes que codifican para dichos receptores modulen los efectos producidos por la nicotina. En este sentido, varios estudios han reportado que existen polimorfismos en el cluster génico que codifica para las subunidades  $\alpha 5/\alpha 3/\beta 4$  que aumentan el riesgo para desarrollar adicción al tabaco (Berrettini et al. 2008; Picciotto & Kenny, 2013; Saccone et al. 2007; Thorgeirsson & Steffanson. 2008). Particularmente, en los últimos años, han cobrado gran interés los estudios

sobre la expresión de la subunidad  $\alpha 5$  en la habénula, donde se evidenció –mediante estudios en roedores– que dicha estructura estaría relacionada con el control del consumo de nicotina (Fowler, Lu, Johnson, Marks & Kenny, 2011; Frahm et al, 2011). Por otro lado, ciertos polimorfismos del gen que codifica para la subunidad  $\alpha 4$  han sido asociados con una disminución en el riesgo de adquirir dependencia a la nicotina en humanos (Feng et al. 2004). Entonces, la constitución genética de cada individuo podría ser un factor clave para desarrollar dependencia a la nicotina, ayudando al pasaje de un uso ocasional al consumo compulsivo.

#### 1.7. *Los factores epigenéticos y la nicotina*

Desde hace unos años, ha sido sugerido que las drogas de abuso inducen cambios sinápticos a largo plazo en el sistema nervioso central (Nestler, 2001). Esto se evidencia por el hecho de que –a pesar de presentarse períodos de abstinencia, que pueden ser de unos días, meses e incluso años– frecuentemente se vuelven a manifestar deseos incontrolables de consumir la droga. El hecho de volver a consumir la droga luego de una abstinencia se denomina recaída. Precisamente, nuestro laboratorio fue uno de los primeros en vincular ciertos cambios bioquímicos con el fenómeno de la recaída a la nicotina, mediante estudios de CPP con nicotina en ratas adolescentes (Pascual et al. 2009). En este trabajo, demostramos que, una vez establecida una preferencia por el lugar asociado a la nicotina, y luego de 12 días de abstinencia a la droga, con la administración de una dosis mínima se restableció la conducta adictiva, con un índice de preferencia significativamente mayor que el inicial. Estos hallazgos sugieren que, con el paso del tiempo, no sólo se restablece el consumo, sino que –luego de períodos de abstinencia– dicho consumo puede aumentar significativamente con sólo una exposición a la droga. A nivel bioquímico, identificamos que un factor de transcripción (cAMP responsive element binding protein, CREB) aumenta su grado de fosforilación durante la recaída. Cuando CREB es fosforilado (pCREB) conlleva a un aumento en la probabilidad de la transcripción de un número mayor de genes (Renthal y Nestler, 2009). En estos momentos, estamos tratando de dilucidar algunos de los posibles genes asociados al proceso de la recaída en varias estructuras del cerebro. Un gen ya caracterizado es delta fosB, un gen cuyo ARN mensajero puede sobrevivir por largos períodos de tiempo, acumulándose en la célula y que ha sido sugerido como uno de los principales factores involucrados en la sensibilización en respuesta a la cocaína (Levine et al. 2005). Desafortunadamente, no se

conoce mucho más acerca de los mecanismos que pueden ser responsables de las adaptaciones neuronales a largo plazo inducidas por las drogas de abuso; pero estudios preliminares sugieren que, probablemente, sean necesarias alteraciones en la transcripción génica (Cassel et al. 2006; Levine et al. 2011; Renthall & Nestler, 2009).

Recientemente, han comenzado a cobrar gran importancia los procesos epigenéticos, es decir, alteraciones reversibles en los cromosomas que no involucran cambios en la secuencia del ADN (a diferencia de las mutaciones, por ejemplo, que son irreversibles), resultando además en un fenotipo que puede ser heredable (Berger, Kouzarides, Shiekhataar & Shilatifard, 2009; Reik, 2007). El genoma es regulado por el epigenoma. Básicamente, que ocurra o no la transcripción genética depende del estado de relajación del ADN. Así, si el ADN se encuentra en su forma laxa ("eucromatina"), la transcripción se facilitará; pero si se encuentra en su forma compacta ("heterocromatina"), la transcripción será impedida. Las modificaciones del ADN o de las histonas (proteínas de andamiaje de la doble hélice del ADN) pueden favorecer una u otra conformación, afectando la transcripción génica (Berger et al., 2009; Cheung, Briggs & Allis, 2000). Por ejemplo, la acetilación de histonas (mediada por histona acetiltransferasas, HATs) promueve la separación de estas proteínas del ADN y favorece la transcripción. Lo contrario ocurre con la desacetilación (mediada por histona desacetilasas, HDACs) o la metilación (mediada por histona metil transferasas, HMTs), que aumentan la unión de las histonas al ADN, favoreciendo la compactación y, por lo tanto, el silenciamiento de genes (represión). A su vez, el ADN puede metilarse (mediante enzimas metil transferasas, DMTs) y reclutar ciertas proteínas y enzimas que participan en la regulación la transcripción genética, entre ellas, las HDACs (Dobosy & Selker 2001; Jones et al. 1998; Robison & Nestler, 2011; Weake & Workman, 2010). Otra proteína importante que es anclada al ADN metilado es MeCP2, la cual se halla asociada al síndrome de Rett (Samaco & Neul, 2011). En nuestro laboratorio, demostramos que la expresión de MeCP2 aumenta en el CPP utilizando nicotina, como evidenciamos, además, para la HDAC2. Aparentemente, al contrario de lo que se pensó inicialmente, las HDACs no producen una disminución generalizada en la transcripción, y sólo un conjunto limitado de genes (aproximadamente el 2%) son regulados principalmente a través de mecanismos dependientes de estas enzimas (Van Lint, Emiliani & Verdin, 1996). Sin embargo, estos serían suficientes

para generar el fenotipo adictivo asociado por lo menos a la nicotina (Pastor et al., 2011).

El uso de inhibidores de las HDACs ha emergido como una herramienta poderosa para estudiar el rol de la acetilación de histonas en la regulación de la transcripción (MacDonald & Roskams 2009). Para la cocaína, por ejemplo, se describió que la regulación génica en respuesta a la administración repetida de dicha droga induce alteraciones celulares a largo plazo, que están parcialmente bajo el control de las HDACs (Cassel et al. 2006; Renthall and Nestler, 2009). A su vez, ha sido reportado que estas enzimas participan en el desarrollo del CPP de morfina (Sanchis-Segura, Lopez-Atalaya & Barco, 2009) y en la extinción del CPP de cocaína (Malvaez, Sanchis-Segura, Vo, Lattal & Wood, 2010). Con respecto a la nicotina, en nuestro laboratorio hemos encontrado que las HDACs están involucradas en el establecimiento del CPP en ratas adolescentes (Pastor et al., 2011). Concretamente, demostramos no solamente que la expresión de HDAC2 se encuentra aumentada (como ya mencionamos antes) sino que el fenilbutirato, un inhibidor de las HDACs, disminuye el CPP inducido por la nicotina, sin alterar los efectos conductuales aversivos de la droga (CPA, conditioned place aversion). Estos resultados parecen indicar que dichas enzimas participarían exclusivamente en los efectos reforzantes de la nicotina sin alterar los efectos aversivos. Nuestros hallazgos apoyan la idea de que las HDACs estarían involucradas en el fenómeno de plasticidad sináptica asociado a los efectos reforzantes de la nicotina, es decir, que dichos procesos estarían gobernados por mecanismos neurobiológicos que implican la acetilación de histonas. Llamativamente, los inhibidores de las HDACs facilitan las memorias de larga duración (Stefanko, Barrett, Ly, Reolon & Wood, 2009; Vecsey et al., 2007), y ha sido postulado que el mantenimiento de una adicción está asociado a este tipo de memoria. Teniendo en cuenta estos antecedentes, nosotros esperábamos que los inhibidores de las HDACs facilitaran el CPP de nicotina; sin embargo, nuestros resultados sorpresivamente mostraron lo contrario. Estos hallazgos concuerdan con la teoría de que en la adicción el componente motivacional jugaría un rol más importante que el mnésico. Se ha sugerido que la formación de un aprendizaje asociativo dirigiría el enfoque del individuo hacia los entornos que fueron asociados con las drogas (reforzando la vía de la recompensa) provocando una creciente conducta patológica de incentivación por los estímulos relacionados con la droga (Robinson & Berridge, 2008). Esta idea es apoyada, en nuestro caso particular, por el hecho de que la inhibición de las

HDACs no altera los efectos aversivos inducidos por la nicotina (Pastor et al., 2011), mientras que como fue descrito recientemente, los inhibidores de las HDACs alteran las memorias aversivas (Gräff & Tsai, 2013). Esto indicaría que la inhibición de la desacetilación de histonas afecta, principalmente, el componente motivacional de la nicotina (su preferencia), alterando quizás sólo parcialmente el componente mnésico (la aversión), necesario para la asociación entre la droga y el entorno. Nosotros pensamos que los resultados obtenidos con el fenilbutirato abren la posibilidad del uso de estos compuestos en el tratamiento de la adicción a la nicotina.

La mayoría de los adictos a la cocaína u otras drogas de abuso comienzan a usar la droga después de haber fumado cigarrillos. En general, la nicotina y el alcohol son las primeras drogas en consumirse, en parte debido a su fácil accesibilidad y por tratarse de drogas legales. Recientemente, el grupo del Dr. Kandel (Levine et al. 2011) encontró que los ratones que recibieron durante un curso de 7 días la administración de nicotina, antes del condicionamiento con cocaína, exhibieron un aumento del 78% en el CPP de cocaína, cuando se los comparó con los ratones que no habían sido pretratados con la nicotina. La nicotina ayudaría a mantener la acetilación de las histonas por tener una capacidad inhibitoria de las HDACs. Esta modificación epigenética inducida por la nicotina podría dar lugar a una estructura abierta o relajada de la cromatina que facilitaría la transcripción de genes (FosB entre otros, como fue descrito anteriormente), aumentando la actividad transcripcional luego del uso crónico de cocaína, y por lo tanto facilitando o promoviendo los comportamientos de consumo de cocaína. En este sentido, el consumo de nicotina podría facilitar y potenciar el uso de otros psicoestimulantes más potentes y peligrosos como la cocaína (Levine et al., 2011).

Para resumir, en individuos con mayor vulnerabilidad para el consumo de nicotina, debido a factores de riesgo como la edad, su genética, su epigenética, o su entorno, esta droga no solamente provocaría cambios a largo plazo que conducirían a la adicción y a la alteración del comportamiento, sino que además facilitaría la transición al consumo de drogas ilegales mucho más peligrosas para la persona y para la sociedad en su conjunto.

## 2. Conclusión

El consumo de tabaco es un problema a nivel mundial que genera grandes gastos a la sociedad y una disminución en la calidad y esperanza de vida de los

fumadores.

Si bien se han hecho grandes avances en el campo de las adicciones, en general, y de la nicotina, en particular, no se conoce exactamente el mecanismo por el cual esta droga ejerce su efecto adictivo.

La nicotina es un ejemplo interesante, ya que es una droga que presenta efectos conductuales sutiles a nivel agudo pero a largo plazo genera un nivel de adicción comparable al de otros psicoestimulantes, como la cocaína y las anfetaminas. La vía de administración podría estar contribuyendo a este fenómeno. Posiblemente, por este motivo, las terapias de suplantación con nicotina sean actualmente las más utilizadas en el tratamiento de la adicción al tabaco, debido a que se basan en la administración moderada y gradual de la droga (Stead et al, 2012).

En el texto, mencionamos distintos factores de riesgo para el pasaje del uso ocasional al consumo compulsivo, entre ellos, la adolescencia y las enfermedades psiquiátricas. En este punto, se plantea una controversia, ya que podría darse el caso de que la vulnerabilidad de los adolescentes enmascarase vulnerabilidades psiquiátricas, erróneamente atribuidas a la edad. Además, estos dos fenómenos podrían estar influenciados por factores genéticos o epigenéticos. En resumen, es difícil diferenciar estos aspectos en humanos, sin embargo, los modelos animales sugieren que el efecto de la edad es en sí mismo un factor de riesgo y que existen ciertos factores epigenéticos que estarían involucrados en el consumo compulsivo (Adriani et al., 2003; Belluzi et al., 2004; Kumar et al., 2005; Pastor et al., 2011)

Los modelos animales han sido de gran utilidad a la hora de estudiar los efectos de las drogas de abuso. Los modelos de vulnerabilidad podrían servir para evidenciar fenotipos que responden de distinta manera a las drogas de abuso, por ejemplo, animales con distinta sensibilidad a un psicoestimulante. Entre las hipótesis relacionadas a las posibles causas de la vulnerabilidad, aparecen los factores genéticos como los mejores candidatos. El estudio de las modificaciones genéticas o epigenéticas asociadas a estos fenotipos es de sumo interés para avanzar en el conocimiento de los mecanismos moleculares subyacentes a la vulnerabilidad. A su vez, estos modelos podrían ayudar a predecir quiénes son los individuos más vulnerables a los efectos reforzantes de las drogas de abuso. Es posible que, en un futuro, se puedan desarrollar terapias para tratar las adicciones teniendo en cuenta los fenotipos con distinta vulnerabilidad, las alteraciones moleculares y los procesos epigenéticos asociados.

Dentro de los modelos animales, el CPP ha sido



validado y muy utilizado para el estudio de los efectos de la nicotina. Además, presenta un interés particular por su potencialidad para ser utilizado para dejar de fumar, en el campo de las terapias cognitivas en humanos. Estudios preliminares sugieren que se puede disminuir la búsqueda compulsiva de la droga (seeking) utilizando un condicionamiento para extinguir la asociación entre los efectos de las drogas y las señales ambientales (Schiller et al., 2010). De esta manera, se pretende evitar la recaída desencadenada por el ambiente asociado a las drogas, que ocurre incluso luego de largos períodos de abstinencia.

En conclusión, la adicción al tabaco es una enfermedad lo suficientemente grave y expandida a nivel mundial como para que amerite una mayor profundización en su estudio y su comprensión.

## Referencias

- Adriani, W., Spijker, S., Deroche-Gamonet, V., Laviola, G., Le Moal, M., Smit, A. B., & Piazza, P. V. (2003). Evidence for enhanced neurobehavioral vulnerability to nicotine during periadolescence in rats. *Journal of Neuroscience*, 23, 4712–4716.
- Ahmed SH. (2012) The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience*, 211,107-25.
- Allen RM, Everett CV, Nelson AM, Gulley JM, Zahniser NR (2007) Low and high locomotor responsiveness to cocaine predicts intravenous cocaine conditioned place preference in male Sprague-Dawley rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 86,37-44.
- Amodio DM & Frith CD. (2006) Meeting of minds: the medial frontal cortex and social cognition. *Nature Reviews. Neuroscience*, 7,268-77.
- Andersen, P., Morris, R., Amaral, D., Bliss, T. & O'Keefe, J. (2007). *The Hippocampus Book*. Oxford:Oxford University Press.
- Anthony JC, Warner LA, Kessler RC. (1994) Comparative epidemiology of dependence on tobacco, alcohol, controlled substances, and inhalants: basic findings from the National Comorbidity Survey. *Experimental and Clinica Psychopharmacology*. 2, 244–68.
- Arvanitogiannis A, Waraczynski M, Shizgal P. (1996) Effects of excitotoxic lesions of the basal forebrain on MFB self-stimulation. *Physiology Behavior*, 59,795-806.
- Baler RD & Volkow ND. (2011) Addiction as a systems failure: focus on adolescence and smoking. *Journal of the American Academy of Child and Adolescent Psychiatry*, 50,329-39.
- Barik J & Wonnacott S. (2009) Molecular and cellular mechanisms of action of nicotine in the CNS. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 192,173-207.
- Barrot M, Sesack SR, Georges F, Pistis M, Hong S, Jhou TC. (2012) Braking dopamine systems: a new GABA master structure for mesolimbic and nigrostriatal functions. *Journal of Neuroscience*, 32,14094-101.
- Bellone C & Lüscher C. (2006) Cocaine triggered AMPA receptor redistribution is reversed in vivo by mGluR-dependent long-term depression. *Nature Neuroscience* 9 (5):636-41.
- Belluzzi JD, Lee AG, Oliff HS, Leslie FM (2004) Age-dependent effects of nicotine on locomotor activity and conditioned place preference in rats. *Psychopharmacology (Berlin)*, 174,389–395.
- Benowitz NL. (2010) Nicotine addiction. *The New England Journal of Medicine*,362,2295-303.
- Benowitz NL, Hukkanen J, Jacob P (2009) Nicotine chemistry, metabolism, kinetics and biomarkers. *Handbook of Experimental Pharmacology*,192,29-60.
- Benowitz NL, Lessov-Schlaggar CN, Swan GE. (2008) Genetic influences in the variation in renal clearance of nicotine and cotinine. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 84,243-7.
- Benowitz NL, Swan GE, Jacob P 3rd, Lessov-Schlaggar CN, Tyndale RF. (2006) CYP2A6 genotype and the metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Clinical. Pharmacology and Therapeutics*,80,457–67.
- Berger SL, Kouzarides T, Shiekhatar R, Shilatifard A. (2009) An operational definition of epigenetics. *Genes & Development*, 23,781-3.
- Berrettini W, Yuan X, Tozzi F, Song K, Francks C, Chilcoat H, Mooser V. (2008) Alpha-5/alpha-3 nicotinic receptor subunit alleles increase risk for heavy smoking. *Molecular Psychiatry*,13,368-73.
- Breiter HC, Gollub RL, Weisskoff RM, Kennedy DN, Makris N, Berke JD,....Hyman S E. (1997) Acute effects of cocaine on human brain activity and emotion. *Neuron*, 19,591-611.
- Breslau N & Peterson EL. (1996) Smoking cessation in young adults: age at initiation of cigarette smoking and other suspected influences. *American Journal of Public Health* 86 (2):214-20.
- Bruijnzeel AW (2012) Tobacco addiction and the dysregulation of brain stress systems. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews* 36 (5):1418-41.
- Caille S, Clemens K, Stinus L, Cador M. (2012) Modeling nicotine addiction in rats. *Methods in Molecular Biology*,829,243-56.
- Carr DB & Sesack SR. (2000) Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *Journal of Neuroscience*, 20,3864-73.
- Camí J & Farré M. (2003) Drug addiction *The New England Journal of Medicine*,349,975-86. Versión en español: [http://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/Drogo-dependencia\\_archivos.pdf](http://www.juntadeandalucia.es/export/drupaljda/Drogo-dependencia_archivos.pdf)
- Cassel S, Carouge D, Gensburger C, Anglard P, Burgun C, Dietrich JB., Zwiller J (2006) Fluoxetine and cocaine induce the epigenetic factors MeCP2 and MBD1 in adult rat brain. *Molecular. Pharmacology*, 70, 487–492.
- Changeux JP. (2010) Nicotine addiction and nicotinic

- receptors: lessons from genetically modified mice. *Nature Reviews. Neuroscience*, 11,389-401.
- Chassin L, Presson CC, Sherman SJ, Edwards DA (1990) The natural history of cigarette smoking: predicting young-adult smoking outcomes from adolescent smoking patterns. *Health Psychology*, 9,701-16.
- Chen BT, Hopf FW, Bonci A. (2010) Synaptic plasticity in the mesolimbic system: therapeutic implications for substance abuse. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1187,129-39.
- Chen J & Millar WJ. (1998) Age of smoking initiation: implications for quitting. *Health Reports* 9(4):39-46
- Cheung WL, Briggs SD, Allis CD. (2000) Acetylation and chromosomal functions. *Current Opinions in Cell Biology*, 12,:326-33.
- Covey LS, Glassman AH, Stetner F. (1997) Major depression following smoking cessation. *The American Journal of Psychiatry*, 154,263-5.
- Cramer AO, Waldorp LJ, van der Maas HL, Borsboom D. (2010) Comorbidity: a network perspective. *The Behavioral and Brain Sciences*, 33,137-50.
- Cummings JA, Gowl BA, Westenbroek C, Clinton SM, Akil H, Becker JB (2011) Effects of a selectively bred novelty-seeking phenotype on the motivation to take cocaine in male and female rats. *Biology of Sex Differences*, 11,:2-3.
- DiFranza JR. (2008) Hooked from the first cigarette. *Scientific American*, 298,82-7.
- Diwan A, Castine M, Pomerleau CS, Meador-Woodruff JH, Dalack GW. (1998) Differential prevalence of cigarette smoking in patients with schizophrenic vs mood disorders. *Schizophrenia Research*, 33,113-8.
- Dobosy JR & Selker EU. (2001) Emerging connections between DNA methylation and histone acetylation. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58,721-7.
- D'Souza MS & Markou A (2011) Neuronal mechanisms underlying development of nicotine dependence: implications for novel smoking-cessation treatments. *Addiction Science & Clinical Practice*, 6,4-16.
- Everitt BJ, Belin D, Economidou D, Pelloux Y, Dalley JW, Robbins TW. (2008) Neural mechanisms underlying the vulnerability to develop compulsive drug-seeking habits and addiction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 363,3125-35.
- Feng Y, Niu T, Xing H, Xu X, Chen C, Peng S., Xu X (2004) A common haplotype of the nicotine acetylcholine receptor alpha 4 subunit gene is associated with vulnerability to nicotine addiction in men. *American Journal of Human Genetics*, 75,112-21.
- Floresco SB, Zhang Y, Enomoto T. (2009) Neural circuits subserving behavioral flexibility and their relevance to schizophrenia. *Behavioural Brain Research*, 204,396-409.
- Fowler CD, Arends MA, Kenny PJ. (2008) Subtypes of nicotinic acetylcholine receptors in nicotine reward, dependence, and withdrawal: evidence from genetically modified mice. *Behavioural Pharmacology*, 19,461-84.
- Fowler CD, Lu Q, Johnson PM, Marks MJ, Kenny PJ (2011) Habenular  $\alpha 5$  nicotinic receptor subunit signalling controls nicotine intake. *Nature*, 471,597-601.
- Frahm S, Slimak MA, Ferrarese L, Santos-Torres J, Antolin-Fontes B, Auer S, AL..., Ivañez-Tallion I. (2011) Aversion to nicotine is regulated by the balanced activity of  $\beta 4$  and  $\alpha 5$  nicotinic receptor subunits in the medial habenula. *Neuron*, 70,522-35.
- Goriounova NA, Mansvelder HD. (2012) Nicotine exposure during adolescence leads to short- and long-term changes in spike timing-dependent plasticity in rat prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience* 32(31):10484-93.
- Gotti C, Zoli M, Clementi F. (2006) Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance. *Trends in Pharmacological Sciences*, 27,482-91.
- Gräff J & Tsai LH. (2013) The Potential of HDAC Inhibitors as Cognitive Enhancers. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 53,311-30.
- Hayes SC, Villatte M, Levin M, Hildebrandt M. (2011) Open, aware, and active: contextual approaches as an emerging trend in the behavioral and cognitive therapies. *Annual Review of Clinical Psychology*, 7,141-68
- Hernandez L & Hoebel BG. (1988) Food reward and cocaine increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens as measured by microdialysis. *Life Sciences*, 42,1705-12.
- Hukkanen J, Jacob P, Benowitz NL. (2005) Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacological Reviews*, 57,79-115.
- Hyman SE, Malenka RC, Nestler EJ. (2006) Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annual Review of Neurosciences*, 29,565-98
- Johansen JP, Cain CK, Ostroff LE, LeDoux JE. (2011) Molecular mechanisms of fear learning and memory. *Cell*, 147,509-24.
- Jones P. L., Veenstra G. J., Wade P. A., Vermaak D., Kass S. U., Landsberger N.,..., Wolffe AP. (1998) Methylated DNA and MeCP2 recruit histone deacetylase to repress transcription. *Nature Genetics*, 19, 187-191.
- Kabbaj M. (2006) Individual differences in vulnerability to drug abuse: the high responders/low responders model. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, 5,513-20.
- Kandel E, Schwartz J, Jessell T. (2001) Principles of Neural Science. Fourth Edition. New York. Mc Graw Hill editors.
- Koob GF & Volkow ND. (2010) Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology*, 35,217-38.
- Koob GF & Le Moal M (2008) Addiction and the brain antireward system. *Annual Review of Psychology*, 59,29-53.
- Koob, G.F., Caine, S.B., Roberts, A.J., Parsons, L.H. (2007) Drug self-administration and microdialysis in rodents.

- In: Short Course I: What's Wrong with My Mouse? Strategies for Rodent Behavior Phenotyping, (J.N. Crawley, Ed.) pp. 35-51, Society for Neuroscience, Washington D.C.
- Labrie V, Pai S, Petronis A. (2012) Epigenetics of major psychosis: progress, problems and perspectives. *Trends in Genetics*, 28,427-35.
- Lasser K, Boyd JW, Woolhandler S, Himmelstein DU, McCormick D, Bor DH. (2000) Smoking and mental illness: A population-based prevalence study. *The Journal of the American Medical Association*, 284,2606-10.
- Lavolette SR & van der Kooy D. (2004) GABAA receptors signal bidirectional reward transmission from the ventral tegmental area to the tegmental pedunculopontine nucleus as a function of opiate state. *European Journal of Neuroscience*, 20,2179-87.
- Le Foll B & Goldberg SR (2005) Nicotine induces conditioned place preferences over a large range of doses in rats. *Psychopharmacology (Berlin)*, 178,481-492.
- Le Moal M & Koob GF (2007) Drug addiction: pathways to the disease and pathophysiological perspectives. *European Neuropsychopharmacology*, 17,377-93.
- Levine A, Huang Y, Drisaldi B, Griffin EA Jr, Pollak DD, Xu S, ...Candel E R(2011) Molecular mechanism for a gateway drug: epigenetic changes initiated by nicotine prime gene expression by cocaine. *Science Translational Medicine* 3,107ra109.
- Levine AA, Guan Z, Barco A, Xu S, Kandel ER, Schwartz JH. (2005) CREB-binding protein controls response to cocaine by acetylating histones at the fosB promoter in the mouse striatum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102,19186-91.
- Lisman JE & Grace A (2006) The Hippocampal-VTA Loop: Controlling the Entry of Information into Long-Term Memory. *Neuron*, 46,703-713.
- Liu Y, Le Foll B, Liu Y, Wang X, Lu L. (2008) Conditioned place preference induced by licit drugs: establishment, extinction, and reinstatement. *Scientific World Journal*, 8,1228-45.
- Lubow RE (1973) Latent inhibition. *Psychological Bulletin*, 79,398-407.
- MacDonald JL & Roskams AJ (2009) Epigenetic regulation of nervous system development by DNA methylation and histone deacetylation. *Progress in Neurobiology*, 88, 170-183.
- Mackowick KM, Lynch MJ, Weinberger AH, George TP. (2012) Treatment of tobacco dependence in people with mental health and addictive disorders. *Current Psychiatry Reports*, 14,478-85.
- Malvaez M., Sanchis-Segura C., Vo D., Lattal K. M. and Wood M. A. (2010) Modulation of chromatin modification facilitates extinction of cocaine-induced conditioned place preference. *Biological Psychiatry*, 67, 36-43.
- Mameli M, Halbout B, Creton C, Engblom D, Rodriguez Parkitna J, Spanagel R & Lüscher C (2009) Cocaine-evoked synaptic plasticity: persistence in the VTA triggers adaptations in the NAc *Nature Neuroscience* 12, 1036 - 1041
- Mansvelder HD, Mertz M, Role LW. (2009) Nicotinic modulation of synaptic transmission and plasticity in cortico-limbic circuits. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 20,432-40.
- Messina ES, Tyndale RF, Sellers EM. (1997) A major role for CYP2A6 in nicotine C-oxidation by human liver microsomes. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 282,1608-1614.
- Milton AL & Everitt BJ. (2012) The persistence of maladaptive memory: addiction, drug memories and anti-relapse treatments. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36s1 119-39.
- Mineur YS, Abizaid A, Rao Y, Salas R, DiLeone RJ, Gündisch D., Picciotto M R. (2011) Nicotine decreases food intake through activation of POMC neurons. *Science* 332,1330-2.
- Nestler EJ. (2001) Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nature Reviews of Neuroscience*, 2,119-28.
- NIDA, National Institute of Drug Abuse (2008) Las drogas, el cerebro y el comportamiento: La ciencia de la adicción. Publicación NIH No. 08-5605 (S)
- O'Brien M S & Anthony J C. (2005) Risk of becoming cocaine dependent: epidemiological estimates for the United States, 2000-2001. *Neuropsychopharmacology*, 30, 1006-1618.
- O'Connor EC, Chapman K, Butler P, Mead AN. (2011) The predictive validity of the rat self-administration model for abuse liability. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35,912-38.
- Parker JA & Bloom SR. (2012) Hypothalamic neuropeptides and the regulation of appetite. *Neuropharmacology*, 63,18-30.
- Pascual MM, Pastor V, Bernabeu RO (2009) Nicotine-conditioned place preference induced CREB phosphorylation and Fos expression in the adult rat brain. *Psychopharmacology (Berlin)*, 207,57-71.
- Pastor V, Andrés ME, Bernabeu RO. (2013) The effect of previous exposure to nicotine on nicotine place preference. *Psychopharmacology (Berlin)* 226, 551-60
- Pastor V, Host L, Zwiller J, Bernabeu R (2011) Histone deacetylase inhibition decreases preference without affecting aversion for nicotine. *Journal of Neurochemistry*, 116,636-645.
- Pavlov, I. P. (1927). *Conditioned Reflexes: An Investigation of the Physiological Activity of the Cerebral Cortex*. Translated and Edited by G. V. Anrep. London: Oxford University
- Pianezza ML, Sellers EM, Tyndale RF. (1998) Nicotine metabolism defect reduces smoking. *Nature*, 393,750.
- Piazza PV, Deminière JM, Le Moal M, Simon H (1989) Factors that predict individual vulnerability to

- amphetamine self-administration. *Science*, 245,1511–1513.
- Piazza PV & Le Moal ML (1996) Pathophysiological basis of vulnerability to drug abuse: role of an interaction between stress, glucocorticoids, and dopaminergic neurons. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 36,359-78.
- Picciotto MR & Kenny PJ. (2013) Molecular mechanisms underlying behaviors related to nicotine addiction. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3,a012112
- Pidoplichko VI, Noguchi J, Areola OO, Liang Y, Peterson J, Zhang T, Dani JA. (2004) Nicotinic cholinergic synaptic mechanisms in the ventral tegmental area contribute to nicotine addiction. *Learning and Memory*,11,60-9.
- Post RM. (2010) Mechanisms of illness progression in the recurrent affective disorders. *Neurotoxicitysearch* 18,256-71
- Rao Y, Hoffmann E, Zia M, Bodin L, Zeman M, Sellers EM, Tyndale RF (2000) Duplications and defects in the CYP2A6 gene: identification, genotyping, and in vivo effects on smoking. *Molecular Pharmacology*, 58,747-55.
- Redolat R, Pérez-Martínez A, Carrasco MC, Mesa P (2009) Individual differences in novelty-seeking and behavioral responses to nicotine: a review of animal studies. *Current Drug Abuse Reviews*, 2,230–242.
- Regier DA, Farmer ME, Rae DS, Locke BZ, Keith SJ, Judd LL, Goodwin FK (1990) Comorbidity of mental disorders with alcohol and other drug abuse. Results from the Epidemiologic Catchment Area (ECA) Study. *The Journal of the American Medical Association*,264,2511-8.
- Reik W. (2007) Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development. *Nature*, 447,425-32.
- Renthal W. & Nestler E. J. (2009) Histone acetylation in drug addiction. Seminars in *Cell & Developmental Biology*, 20, 387–394.
- Robinson TE & Berridge KC. (2008) The incentive sensitization theory of addiction: some current issues. *Philos Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*,363,3137-46.
- Robison AJ & Nestler EJ. (2011) Transcriptional and epigenetic mechanisms of addiction. *Nature Reviews. Neuroscience*,12,623-636.
- Saccone SF, Hinrichs AL, Saccone NL, Chase GA, Konvicka K, Madden PA, ... Bierut L J. (2007) Cholinergic nicotinic receptor genes implicated in a nicotine dependence association study targeting 348 candidate genes with 3713 SNPs. *Human Molecular Genetics*,16,36-49.
- Samaco RC & Neul JL. (2011) Complexities of Rett syndrome and MeCP2. *Journal of Neuroscience*,31,7951-9.
- Sanchis-Segura C., Lopez-Atalaya J. P. and Barco A. (2009) Selective boosting of transcriptional and behavioral responses to drugs of abuse by histone deacetylase inhibition. *Neuropsychopharmacology*,34, 2642–2654.
- Schiller D, Monfils MH, Raio CM, Johnson DC, Ledoux JE, Phelps EA. (2010) Preventing the return of fear in humans using reconsolidation update mechanisms. *Nature*, 463,49-53.
- Schultz W. (2011) Potential vulnerabilities of neuronal reward, risk, and decision mechanisms to addictive drugs. *Neuron*, 69,603-17.
- Selemon LD, Begović A, Goldman-Rakic PS, Castner SA. (2007) Amphetamine sensitization alters dendritic morphology in prefrontal cortical pyramidal neurons in the non-human primate. *Neuropsychopharmacology*. 32(4):919-31.
- Shram MJ, Funk D, Li Z & Lê AD (2006) Periadolescent and adult rats respond differently in tests measuring the rewarding and aversive effects of nicotine. *Psychopharmacology* 186:201–208
- Siegel S (2005) Drug Tolerance, Drug Addiction, and Drug Anticipation. *Current Directions in psychological science*,14,296-300.
- Skinner B.F. (1938). *The Behavior of Organisms: An Experimental Analysis*. Cambridge, Massachusetts: B.F. Skinner Foundation. ISBN 1-58390-007-1, ISBN 0-87411-487-X
- Stead LF, Perera R, Bullen C, Mant D, Hartmann-Boyce J, Cahill K, Lancaster T. (2012) Nicotine replacement therapy for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev*.11:CD000146
- Stefanko DP, Barrett RM, Ly AR, Reolon GK, Wood MA. (2009) Modulation of long-term memory for object recognition via HDAC inhibition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*,106,9447-52.
- Stolerman IP & Jarvis MJ (1995) The scientific case that nicotine is addictive. *Psychopharmacology*,117,2–10.
- Suto N, Austin JD, Vezina P (2001) Locomotor response to novelty predicts a rat's propensity to self-administer nicotine. *Psychopharmacology*, 158,175–180.
- Taioli E & Wynder EL. (1991) Effect of the age at which smoking begins on frequency of smoking in adulthood. *The New England Journal of Medicine* 325(13):968-9.
- Thorgeirsson TE, Gudbjartsson DF, Surakka I, Vink JM, Amin N, Geller F, Stefansson K. (2010) Sequence variants at CHRN3-CHRNA6 and CYP2A6 affect smoking behavior. *Nature Genetics*,42,448-53.
- Thorgeirsson TE & Stefansson K. (2008) Genetics of smoking behavior and its consequences: the role of nicotinic acetylcholine receptors. *Biological Psychiatry*, 64,919-21.
- Torres OV, Tejada HA, Natividad LA & O'Dell LE. (2008) Enhanced vulnerability to the rewarding effects of nicotine during the adolescent period of development. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 90(4):658-63.
- True WR, Xian H, Scherrer JF, Madden PA, Bucholz KK, Heath AC, et al. (1999) Common genetic vulnerability

- for nicotine and alcohol dependence in men. *Archives of General Psychiatry*, 56,655-61.
- Tzschentke TM. (2007) Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade. *Addiction Biology*, 12,227-462.
- Van Dyke C & Byck R. (1982) Cocaine. *Scientific American*, 246,128-41.
- Van Lint C, Emiliani S, Verdin E. (1996) The expression of a small fraction of cellular genes is changed in response to histone hyperacetylation. *Gene Expression*, 5,245-53.
- Vastola BJ, Douglas LA, Varlinskaya EI & Spear LP (2002) Nicotine-induced conditioned place preference in adolescent and adult rats. *Physiology and Behavior* 77:107-114
- Vecsey CG, Hawk JD, Lattal KM, Stein JM, Fabian SA, Attner MA,...., Wood M A. (2007) Histone deacetylase inhibitors enhance memory and synaptic plasticity via CREB:CBP-dependent transcriptional activation. *Journal of Neurosciences*, 27,6128-40.
- Voorhees CC, Schreiber GB, Schumann BC, Biro F, Crawford PB. (2002). Early predictors of daily smoking in young women: The national heart, lung, and blood institute growth and health study. *Preventive Medicine*, 34, 616-624.
- Weake VM & Workman JL. (2010) Inducible gene expression: diverse regulatory mechanisms. *Nature Reviews. Genetics*, 11,426-37.
- Wilmouth CE & Spear LP (2004) Adolescent and adult rats' aversion to flavors previously paired with nicotine. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1021:462-4.
- Winder DG, Egli RE, Schramm NL, Matthews RT. (2002) Synaptic plasticity in drug reward circuitry. *Current Molecular Medicine*, 2,667-76.
- World Health Organization (2010) Atlas 2010 of drug of abuse around the world
- Xian H, Scherrer JF, Grant JD, Eisen SA, True WR, Jacob T et al. (2008) Genetic and environmental contributions to nicotine, alcohol and cannabis dependence in male twins *Addiction*, 103,1391-8.
- Xiao C, Zhang J, Krnjević K, Ye JH. (2007) Effects of ethanol on midbrain neurons: role of opioid receptors. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research* 31(7):1106-13.
- Xue G, Lu Z, Levin IP, Weller JA, Li X, Bechara A. (2009) Functional dissociations of risk and reward processing in the medial prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 19,1019-27.
- Xue YX, Luo YX, Wu P, Shi HS, Xue LF, Chen C., Lu L. (2012) A memory retrieval-extinction procedure to prevent drug craving and relapse. *Science*, 336,241-5.