

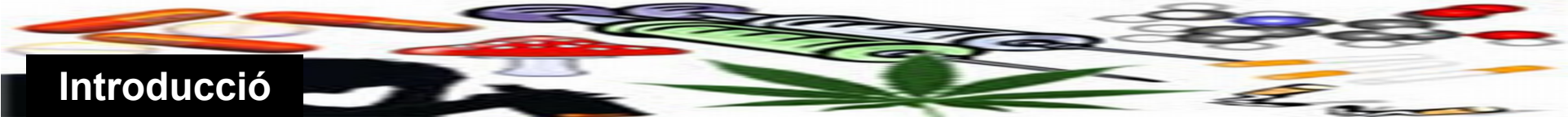
Alteracions comportamentals i moleculares del consum d'alcohol i MDMA

Clara Ros Simó

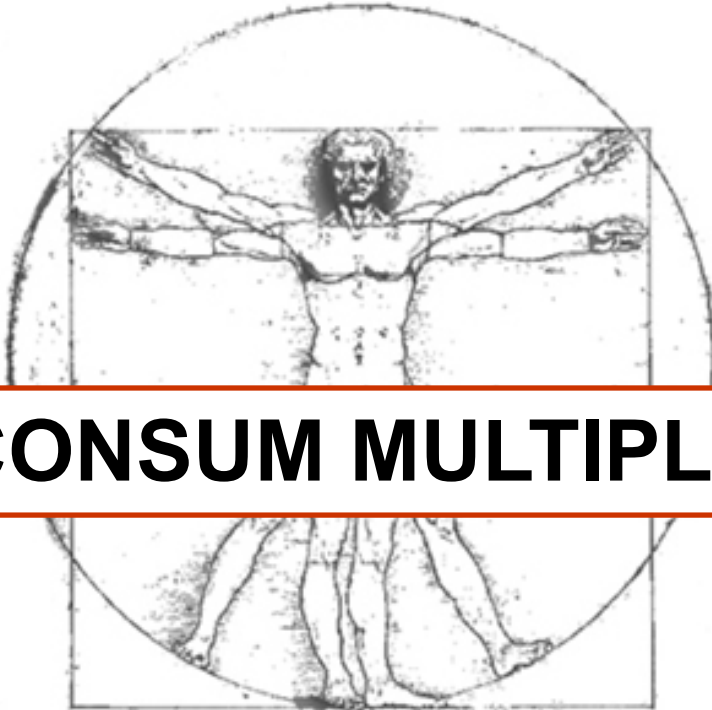
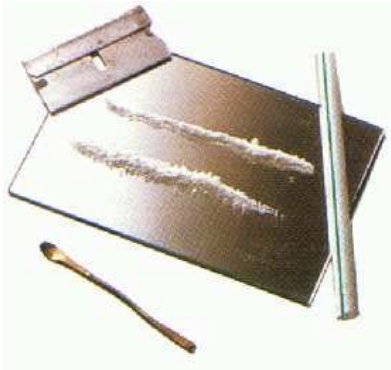
Grup de Recerca de Neurobiologia del Comportament

Universitat Pompeu Fabra

23 Maig 2011



Introducció



CONSUM MULTIPLE



Procès d'addició

Fase d'intoxicació
(aguda)/Reforç positiu

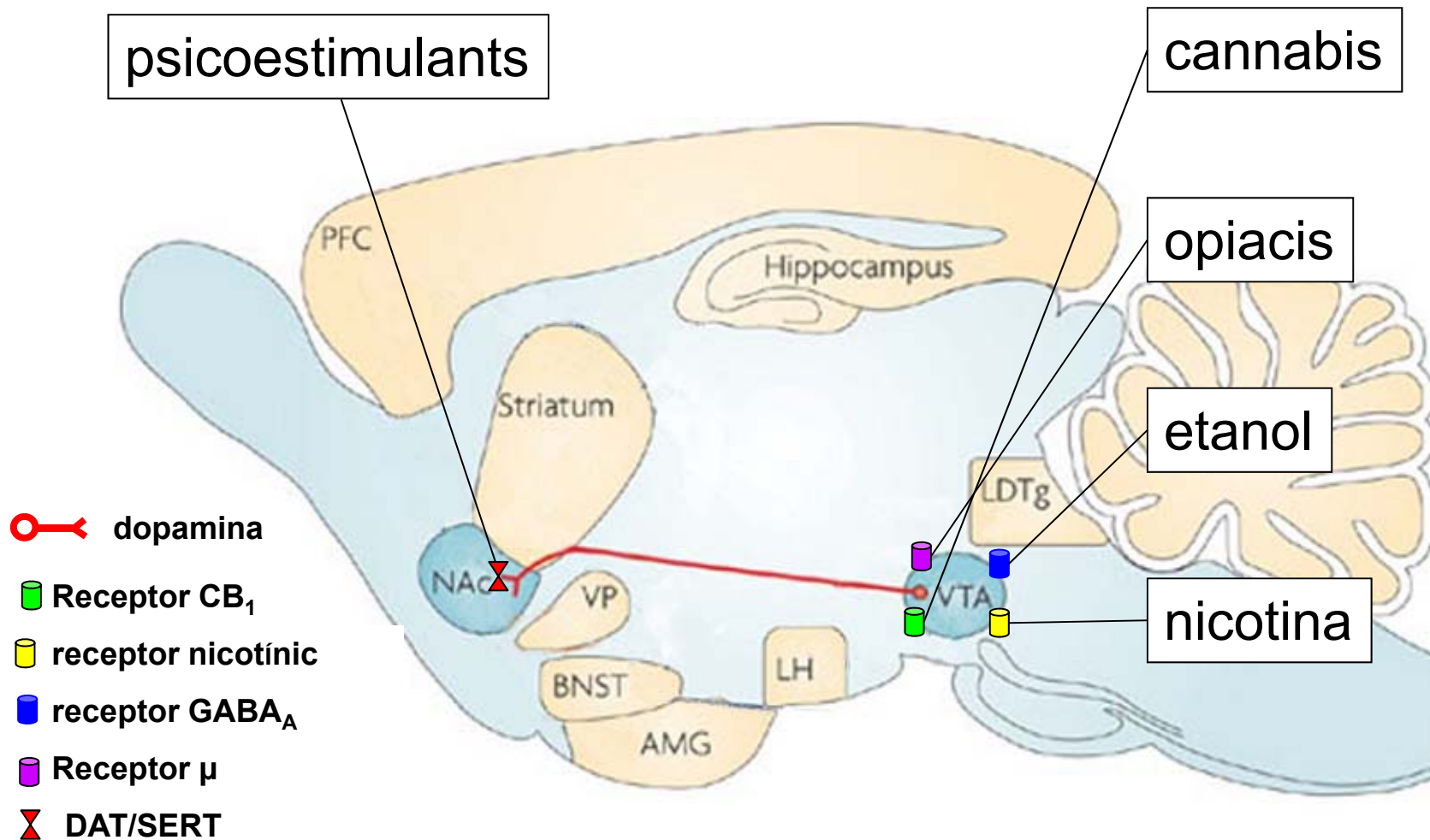


Fase de retirada/Reforç
negatiu



Fase d'obsessió/Ànsia
(desordre crònic)

Reforç positiu

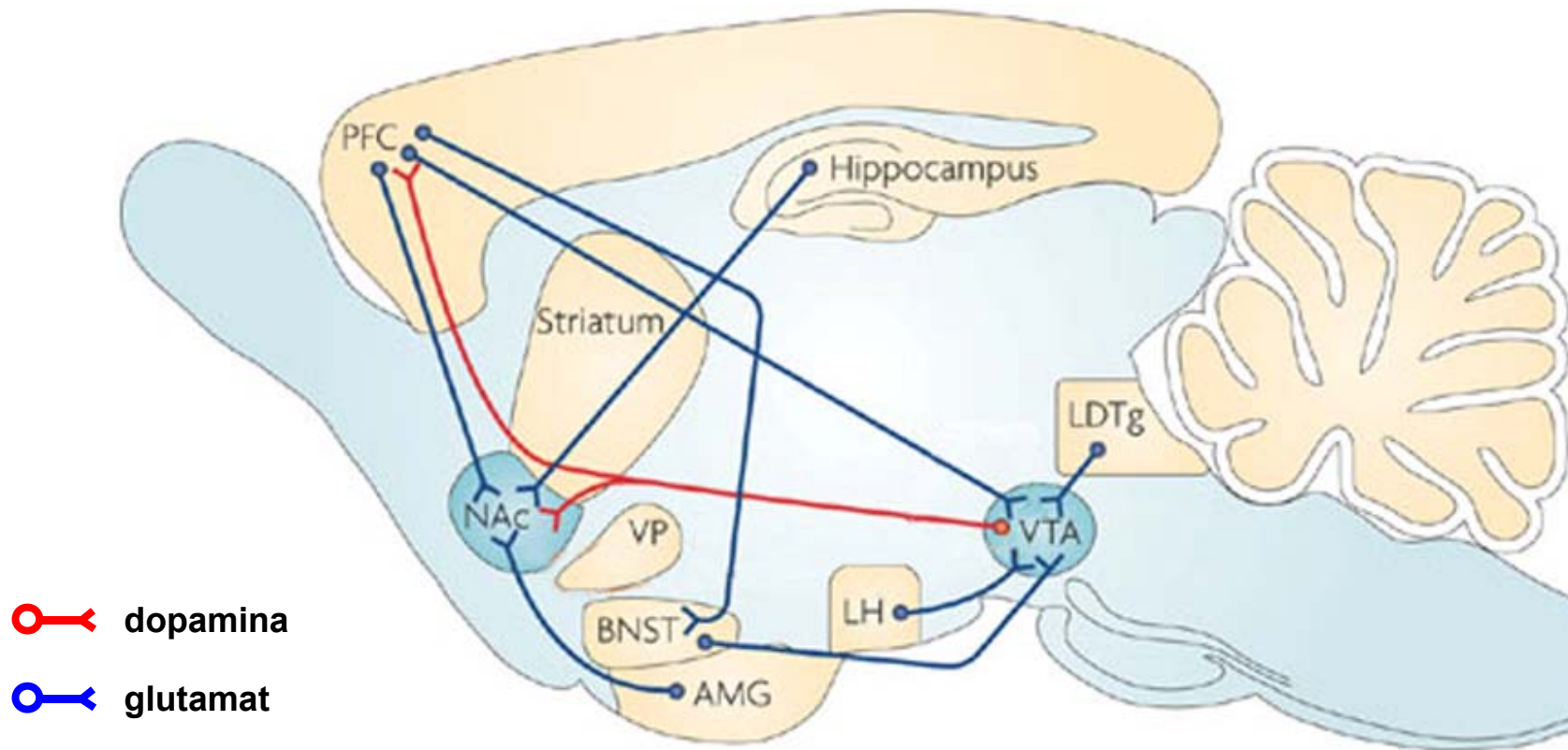


Introducció

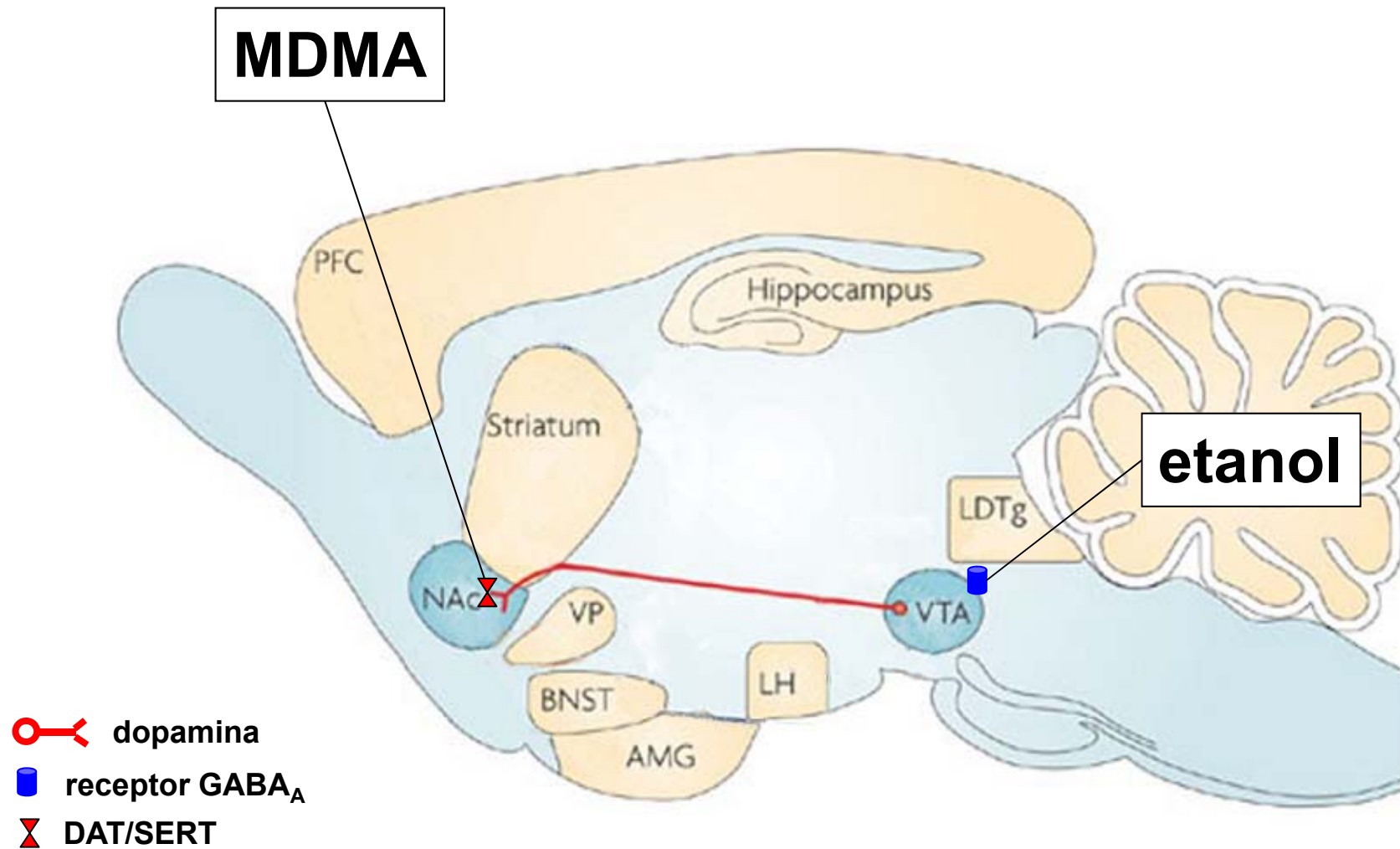
Reforç positiu: via mesolímbica



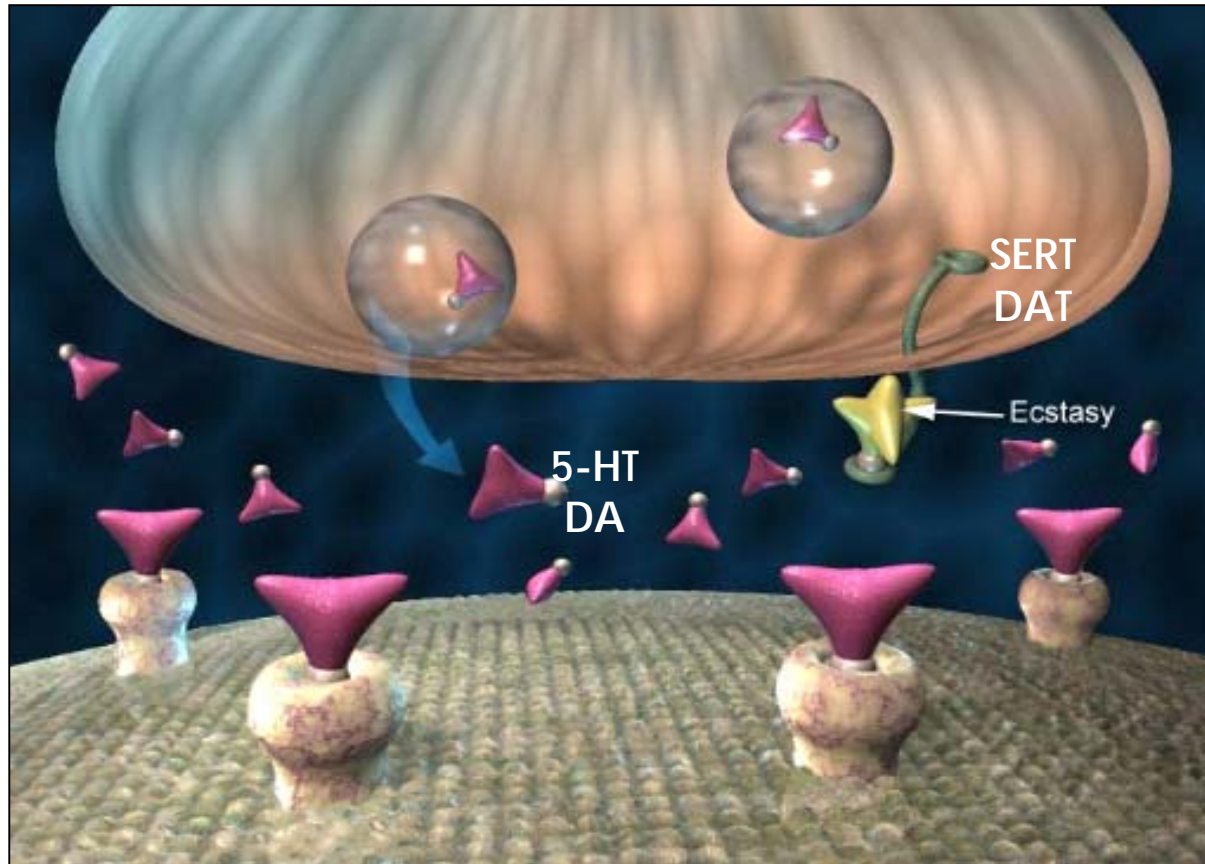
Reforçament: via mesolímbicacortical



Introducció



3,4-metilendioximetamfetamina (MDMA, èxtasi)



Augment de monoamines al NAcc

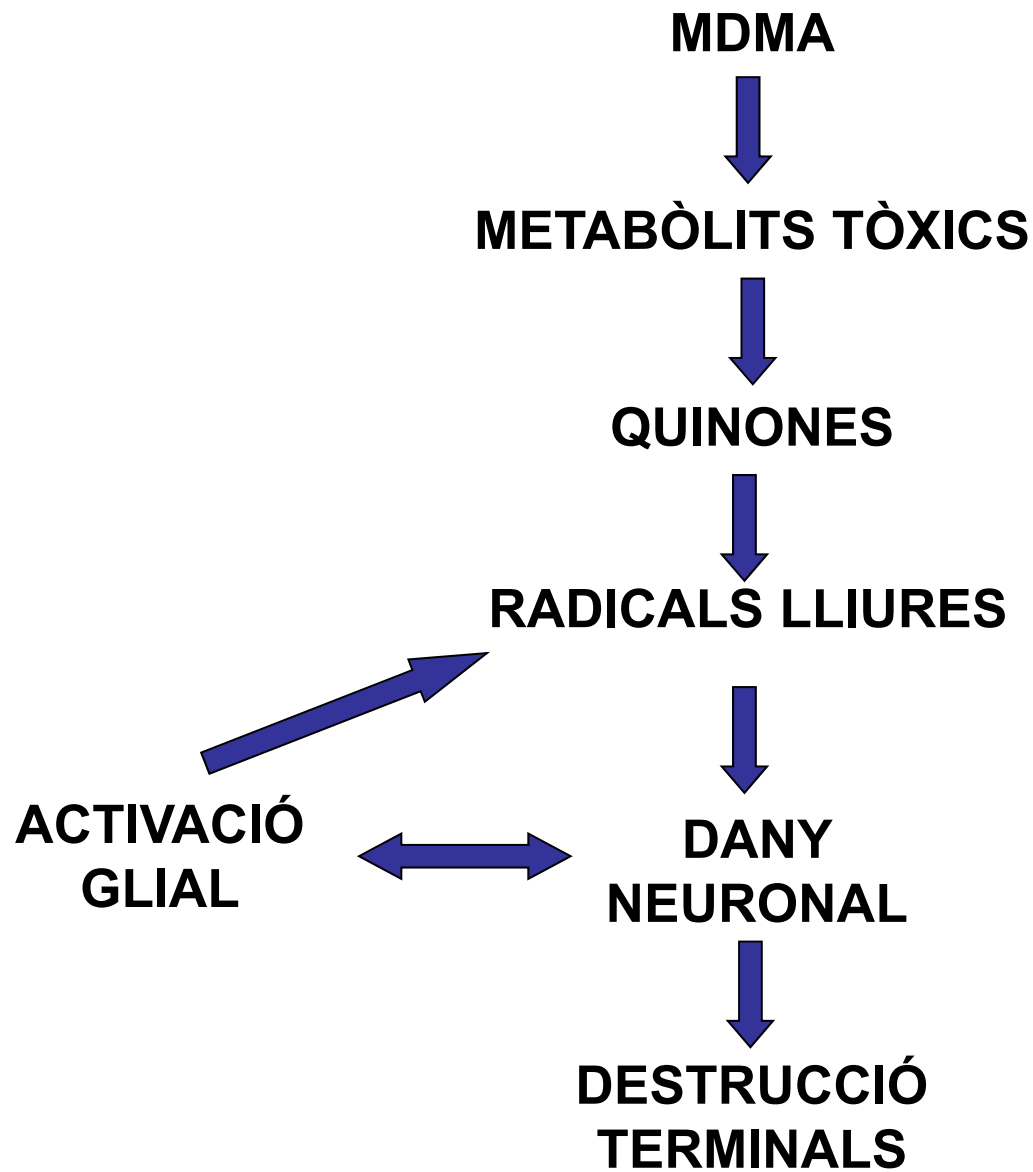
Efectes del MDMA

Efectes aguts

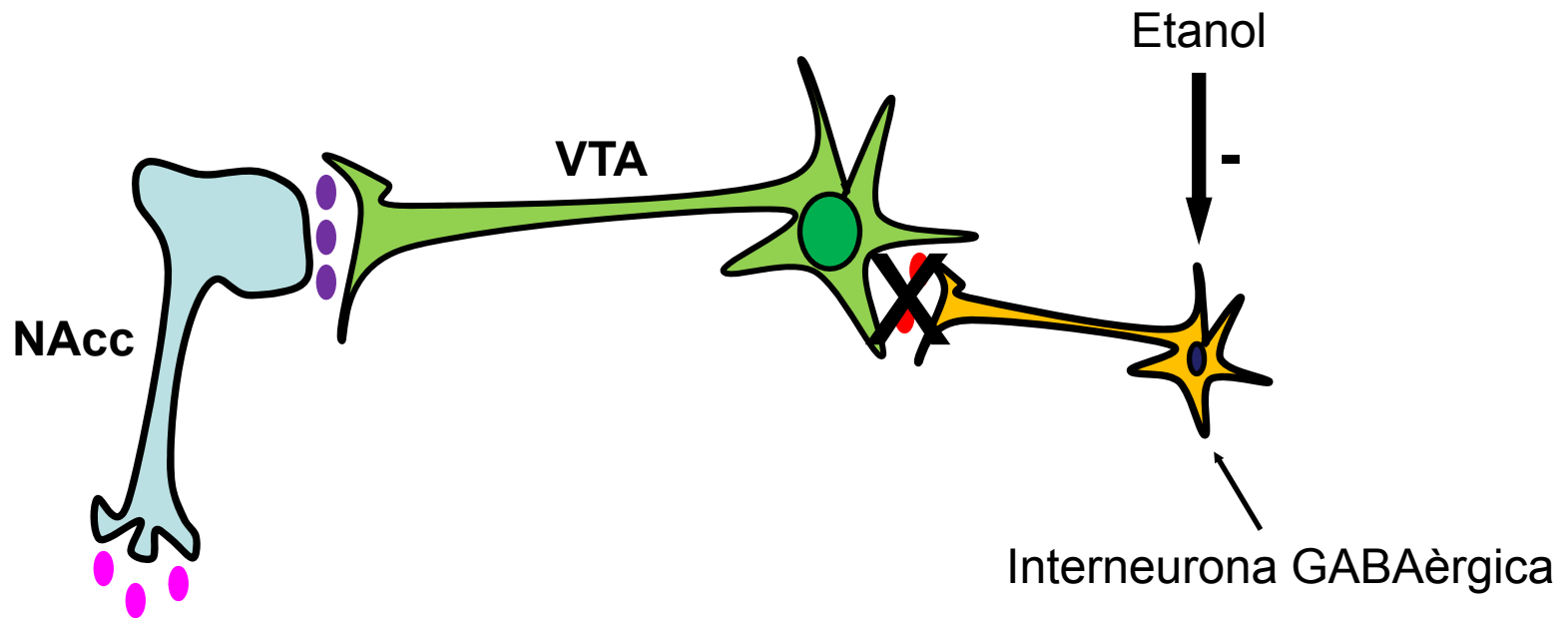
- Empatia
- Eufòria
- Desinhibició
- Hiperlocomoció
- Hipertèrmia

Efectes a llarg plaç

- Ansietat
- Depressió
- Alteracions en memòria i aprenentatge



Mecanisme de recompensa de l'etanol



L'etanol provoca la desinhibició de la via dopaminèrgica mesolímbica gràcies a la inhibició de les interneurons gabaèrgiques provocant un augment de dopamina al NAcc

Efectes de l'etanol

Dosis baixes

- Eufòria
- Desinhibició
- Impulsivitat
- Activació psicomotora

Dosis moderades/altes

- Disfunció de la coordinació motora
- Sedació
- Alteracions cognitives
- Intoxicació

- Efectes a llarg plaç:**
- Desordres emocionals
 - Hepatotoxicitat
 - Neurotoxicitat

OBJECTIU: estudiar els efectes del consum d'cohol en combinació amb MDMA

1. Estudi d'alteracions a nivell fisiològic i comportamental

- temperatura corporal
- coordinació motora
- alteracions emocionals: ansietat, desesperació

2. Estudi de la neurotoxicitat

- neuroinflamació

immunohistoquímica: GFAP, anti Iba 1

- anàlisis de modificacions oxidatives en proteïnes

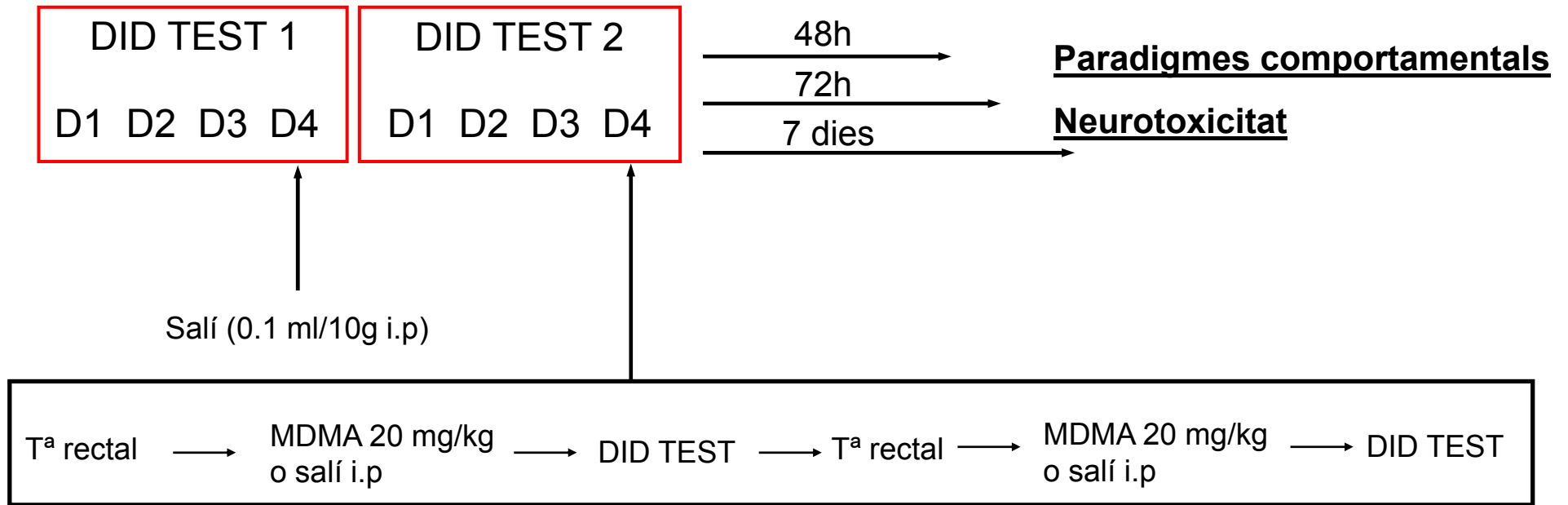
gels bidimensionals: detecció de carbonils (marcador de lesió oxidativa)

DRINKING IN THE DARK TEST (DID TEST)

- Protocol d'intoxicació alcohòlica
- Solució d'etanol al 20%
- **Accès limitat** a l'etanol (2 hores/dia) durant la **fase fosca**
- 4 dies a la setmana i durant 2 setmanes



Materials i mètodes



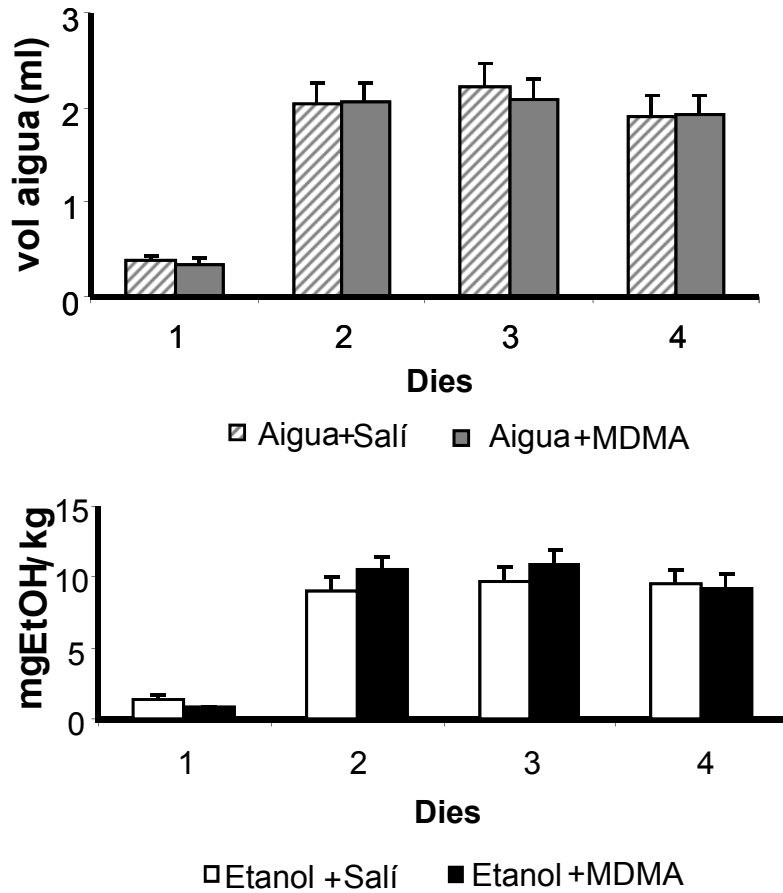


Ratolins CD1 adolescents (35-40 dies)

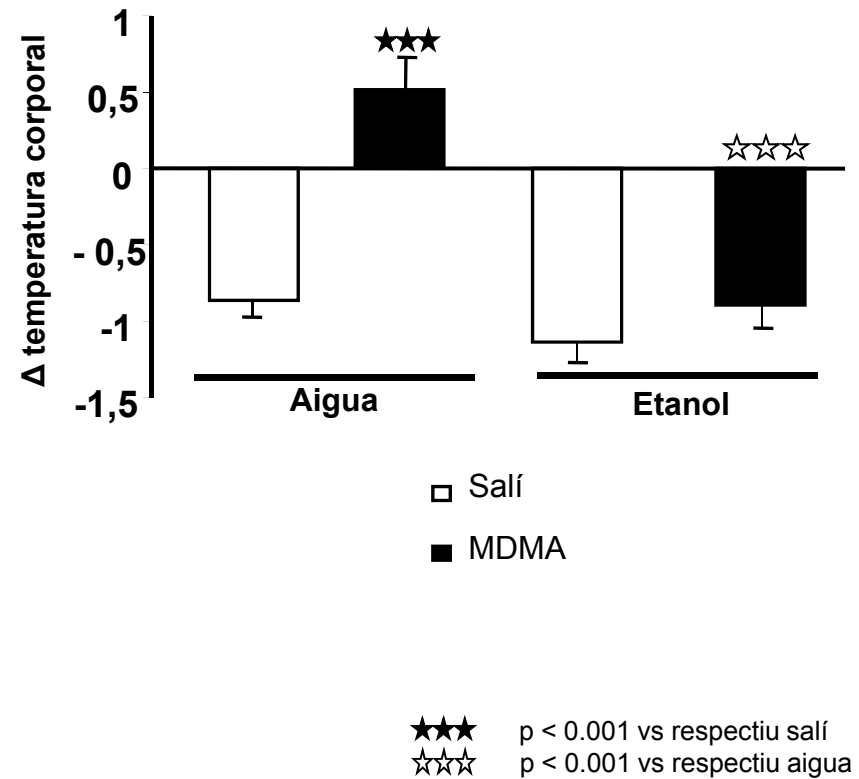
- Aigua + Salí
- Aigua + MDMA
- Etanol + Salí
- Etanol + MDMA

Resultats: COMPORTAMENTALS

Consum aigua/etanol



Temperatura



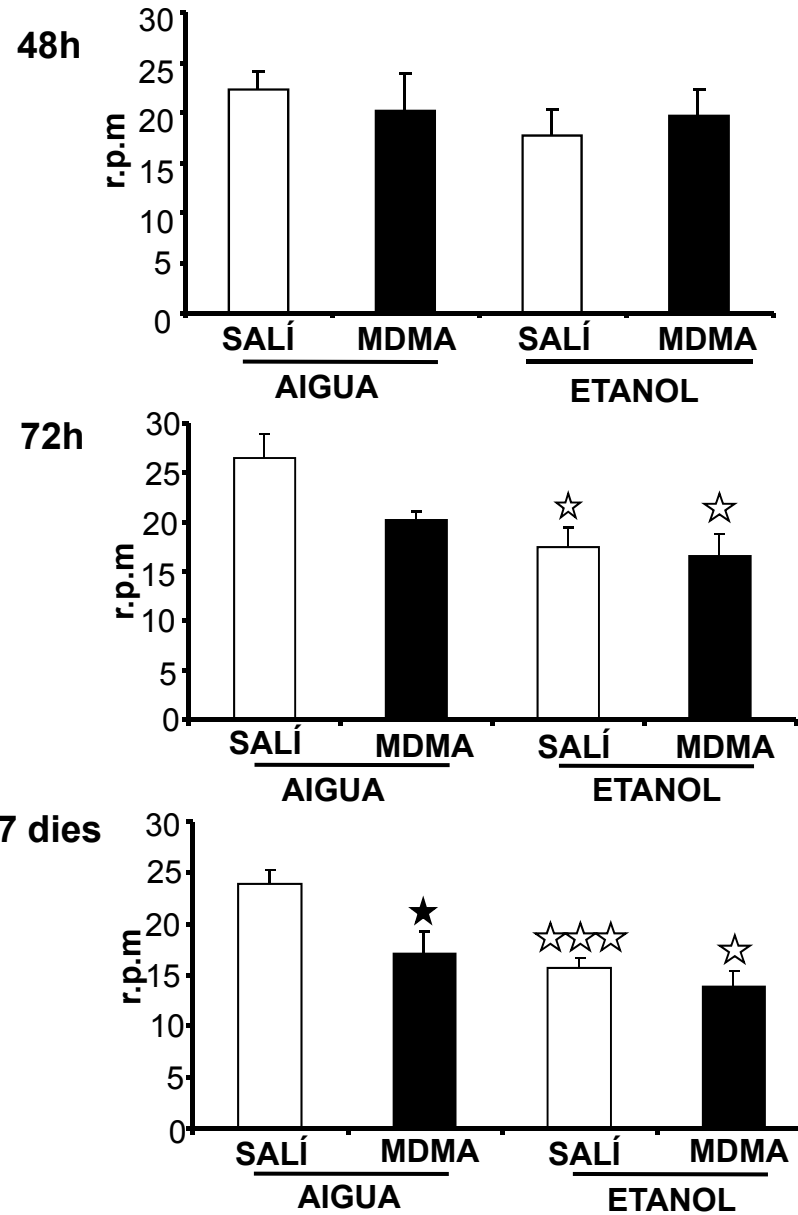
Primer DID TEST
D1 D2 D3 D4

Segon DID TEST
D1 D2 D3 **D4**

Coordinació motora



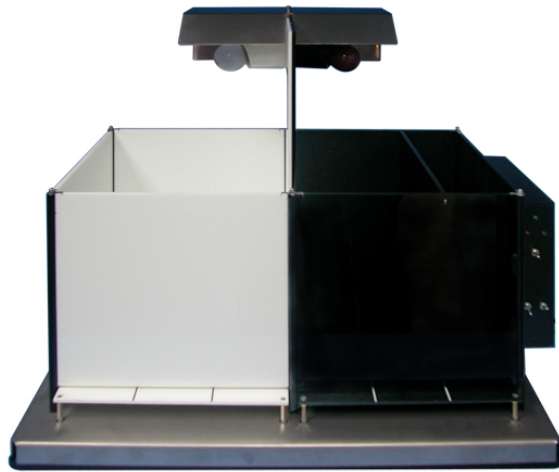
Rota-rod



★ p < 0.05 vs respectiu salí
 ☆ p < 0.05 vs respectiu aigua
 ☆☆☆ p < 0.001 vs respectiu aigua

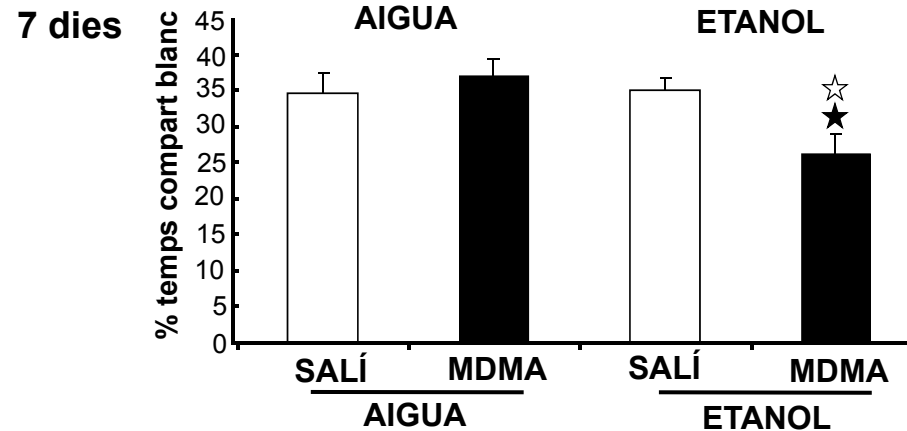
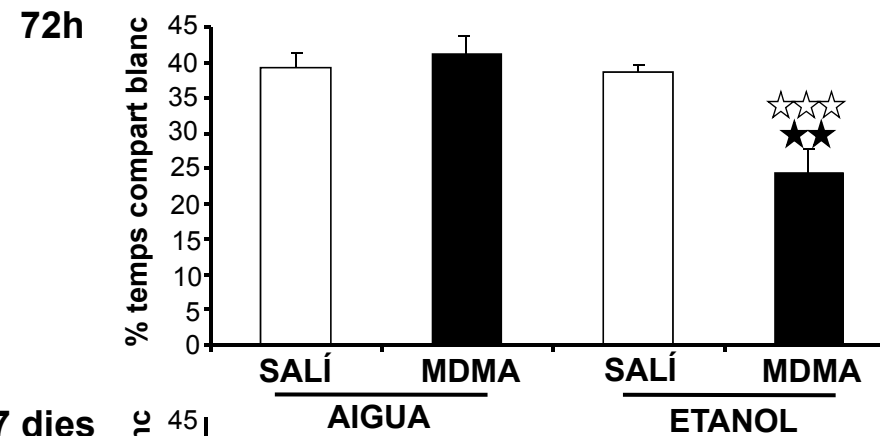
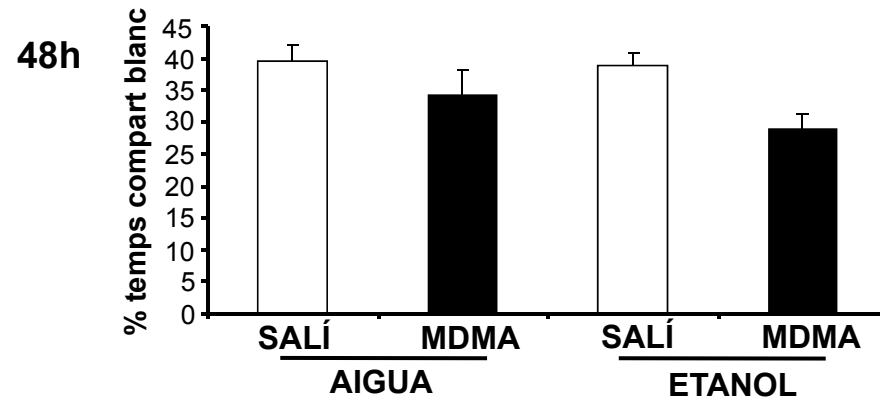
Resultats: COMPORTAMENTALS

Test d'ansietat



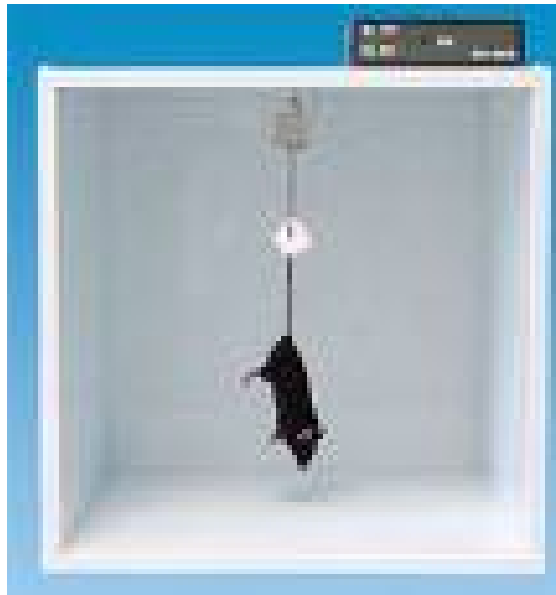
Dark-light box

- ★ p < 0.05 vs respectiu salí
- ★★ p < 0.01 vs respectiu salí
- ☆ p < 0.05 vs respectiu aigua
- ☆☆☆ p < 0.001 vs respectiu aigua



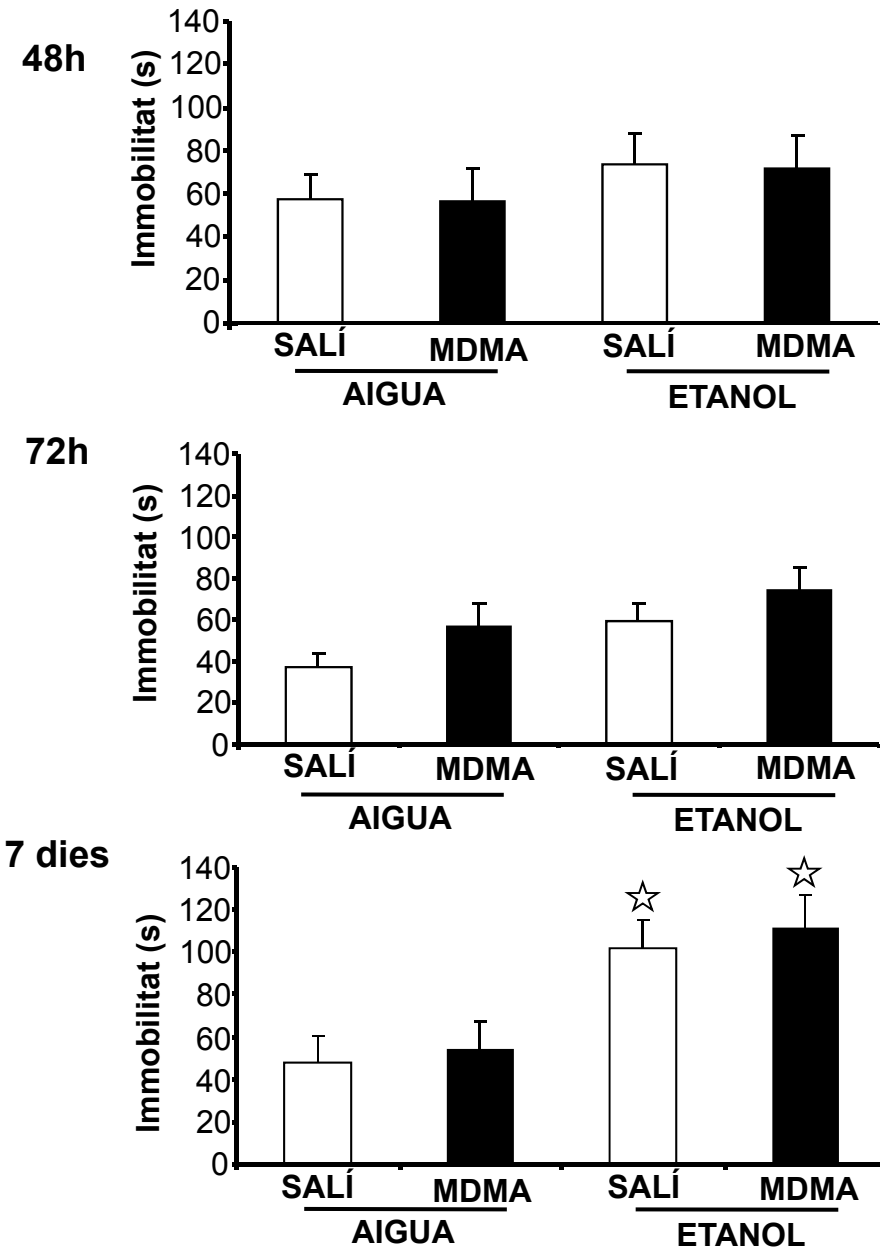
Resultats: COMPORTAMENTALS

“Depressive-like behavior”

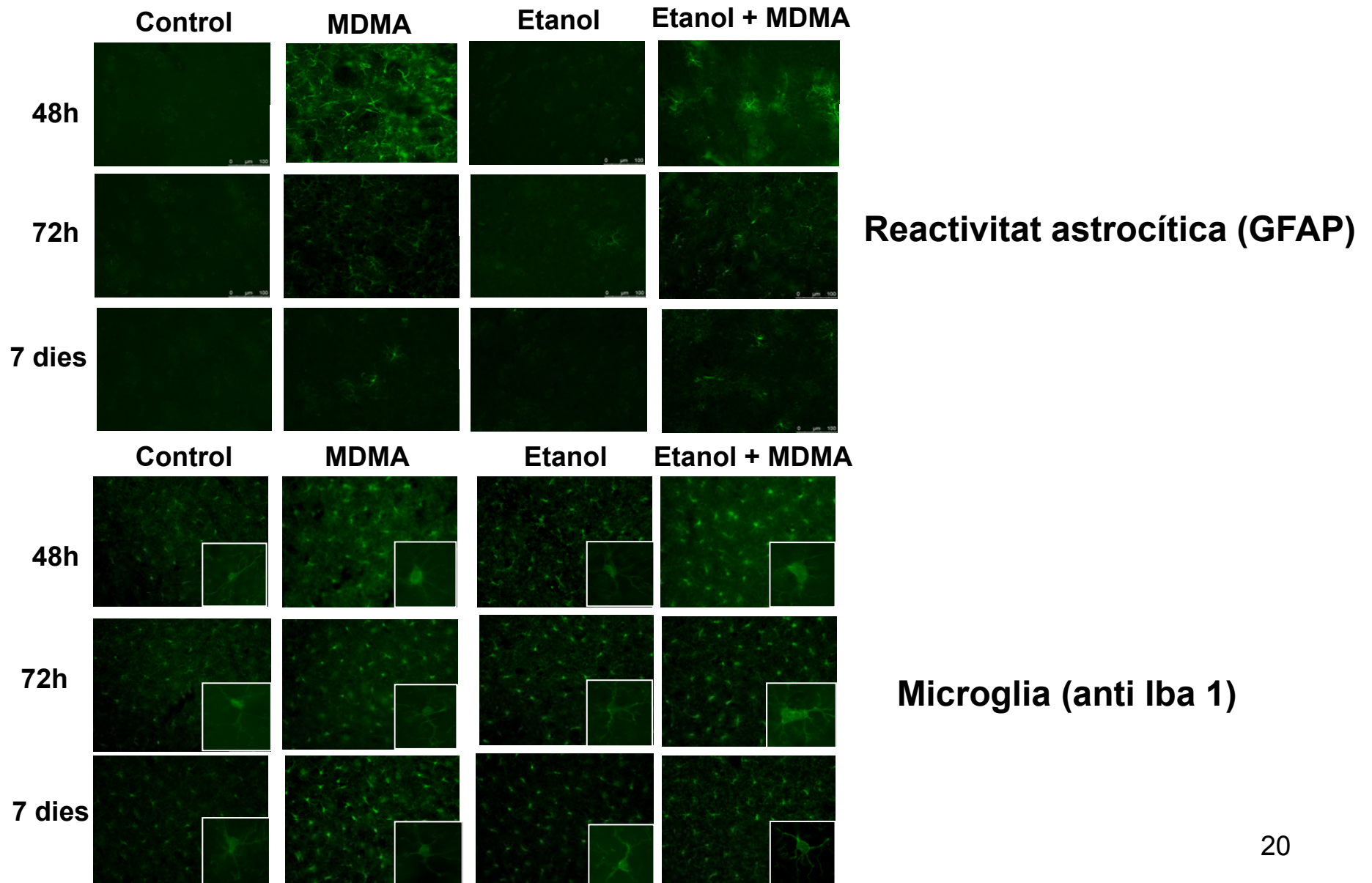


Test de suspensió de la cua

☆ $p < 0.05$ vs respectiu aigua



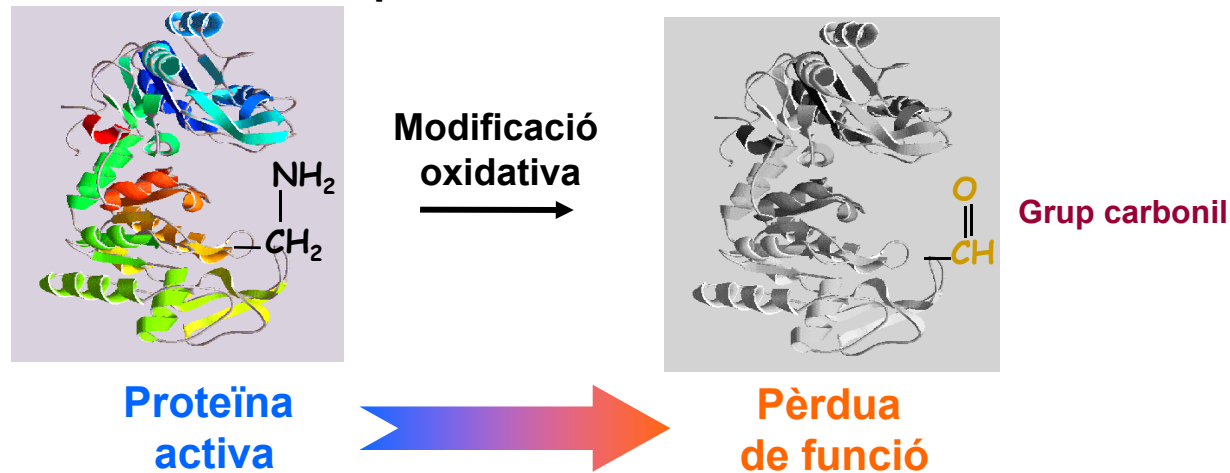
Resultats: NEUROINFLAMACIÓ ESTRIAT



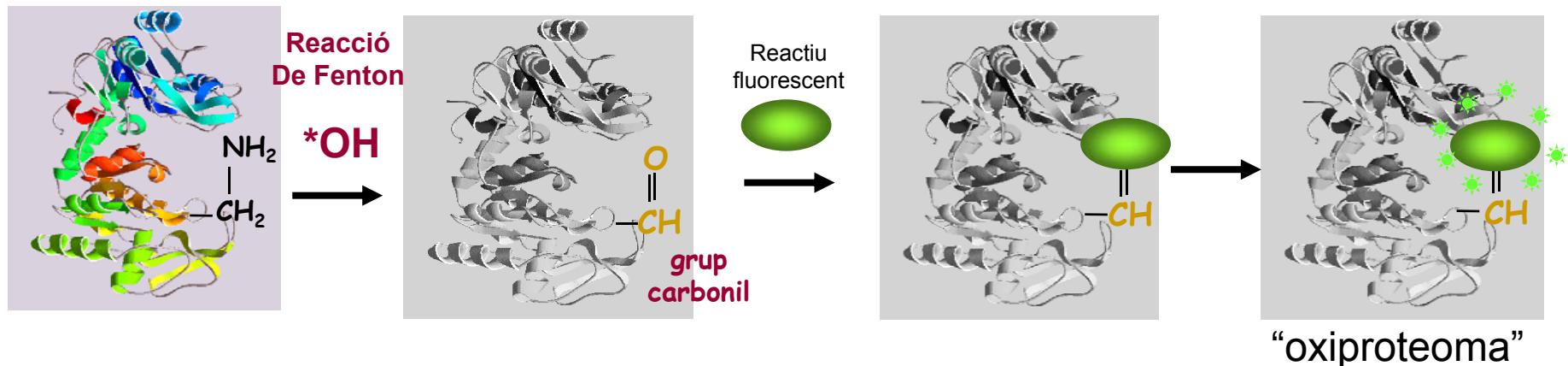
Resultats: OXIPROTEOMA

- L'estrès oxidatiu resultant del metabolisme del MDMA provoca oxidació de proteïnes?
- Quin paper té la preexposició a etanol en aquesta oxidació?

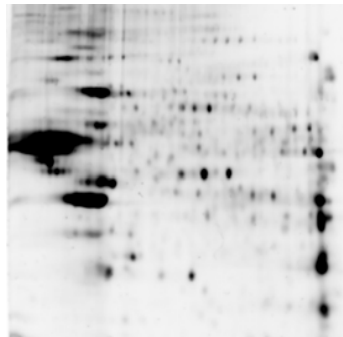
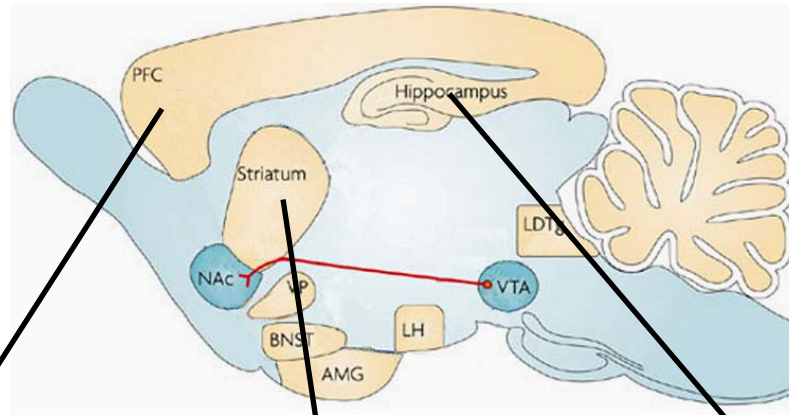
Són útils perquè les conseqüències fisiològiques poden ser degut a l'especificitat de les funcions



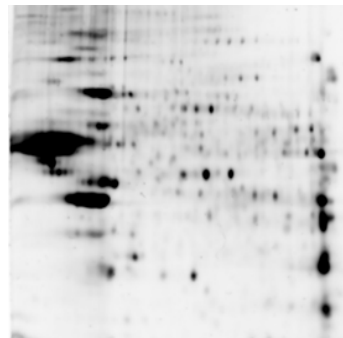
Detecció dels grups carbonil per derivatització amb **Hidrazides fluorescentes**



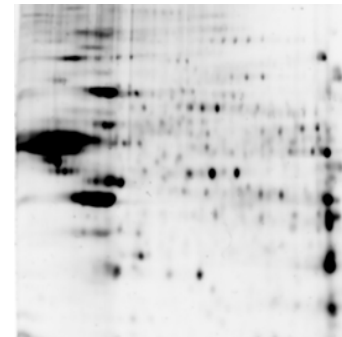
Resultats: OXIPROTEOMA



Còrtex PF



Estriat

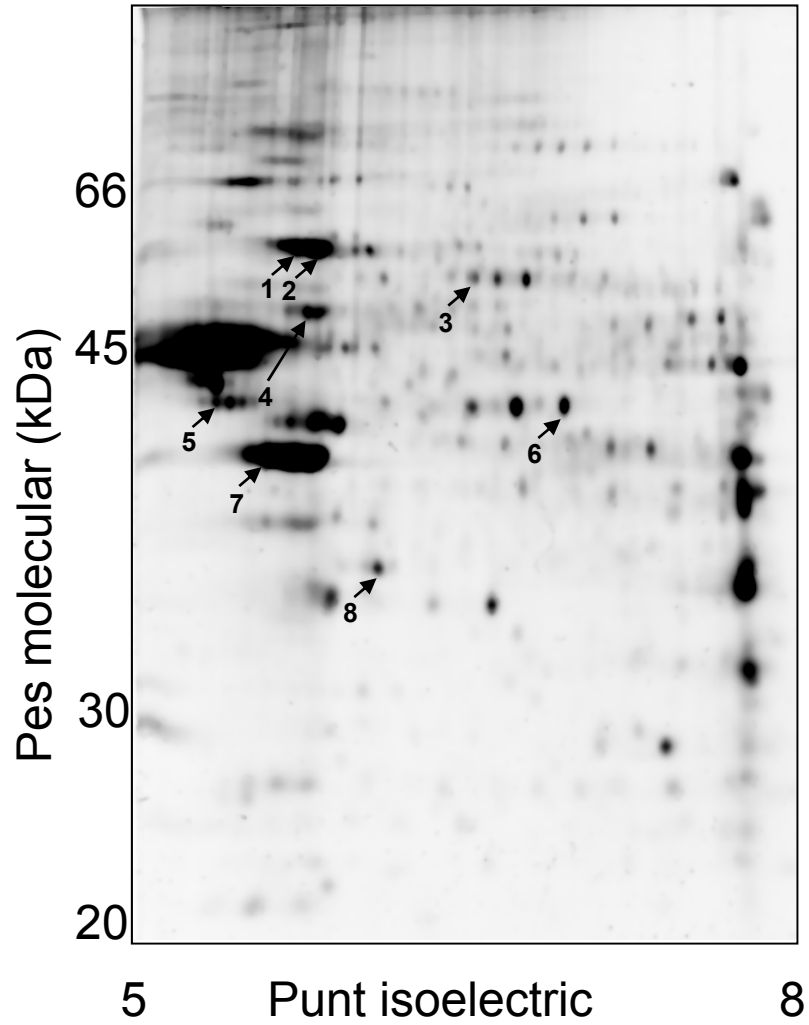


Hipocamp

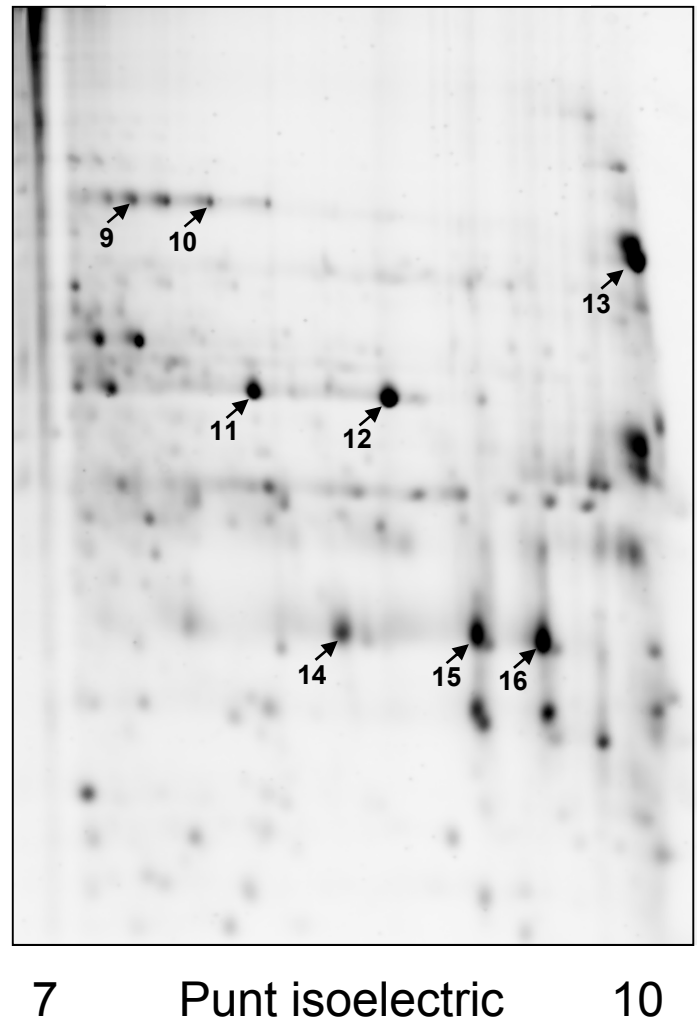
Marcatge
modificació
oxidativa

Resultats: OXIPROTEOMA

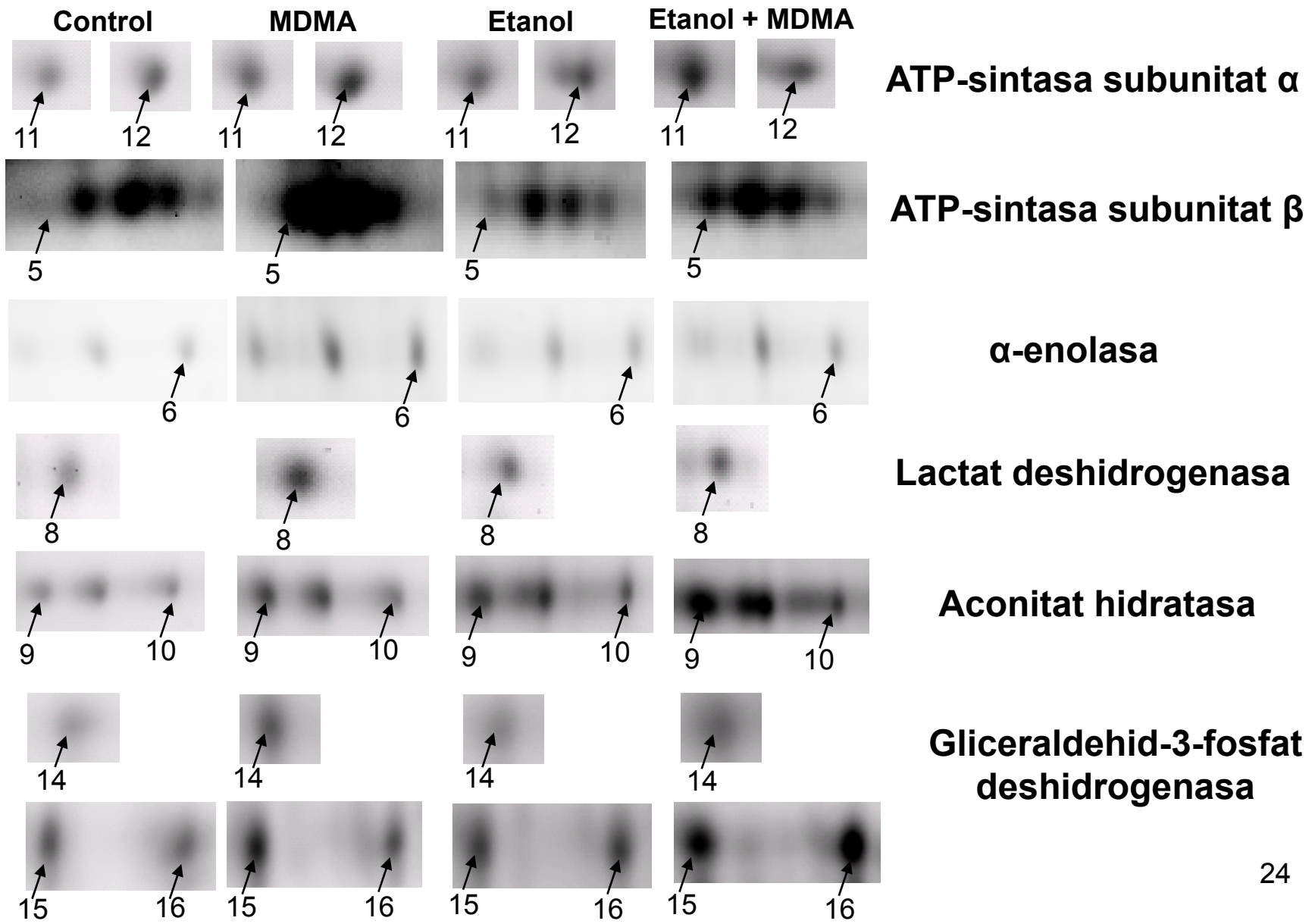
Hipocamp pH 5-8



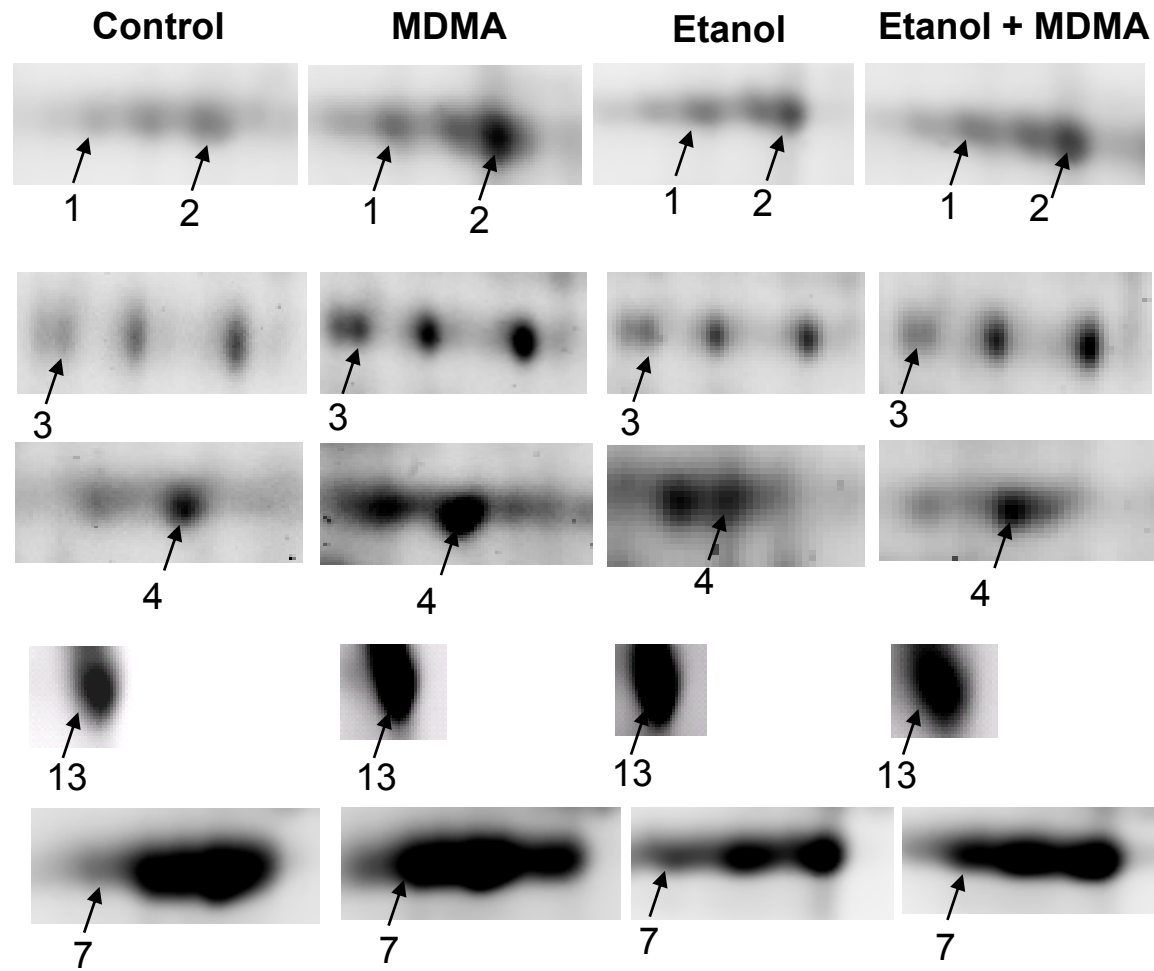
Hipocamp pH 7-10



Resultats: OXIPROTEOMA



Resultats: OXIPROTEOMA



Heat Shock Protein 71

**Dihidropirimidinas
(DRP-2 o CRMP-2)**

α -internexina

Sinapsina-1

Actina

Resultats: OXIPROTEOMA

Ratio oxidació > 1.8 vs salí → Estadísticament significatiu

PROTEÏNA	ETANOL	MDMA	ETANOL + MDMA
Metabolisme energètic			
ATP-sintasa subunitat α	1.44	1.87	1.72
ATP-sintasa subunitat α	2.14	1.97	1.98
ATP-sintasa subunitat β	1.43	3.08	1.88
α -enloasa	1.97	1.71	2.12
Lactat deshidrogenasa	1.09	1.9	3.3
Gliceraldehid-3-fosfat deshidrogenasa	1.16	1.65	4.12
Gliceraldehid-3-fosfat deshidrogenasa	1.64	2.28	2.11
Aconitat hidratasa	1.36	3.17	1.18
Aconitat hidratasa	1.76	1.64	1.91
Plegament proteic			
Heat shock cognate protein 71	2.19	2.19	5.52
Heat shock cognate protein 71	2.06	2.18	2.4
Estructura i funció neuronal			
Dihidropirimidinasa	1.69	4.35	3.55
α -internexina	1.54	1.55	2.32
Actina	0.66	3.79	1.6
Sinapsina-1	2.9	2.6	1.9



Conclusions

- L'efecte hipertèrmic del MDMA queda anul·lat en el grup preexposat a etanol. Possible implicació en la reactivitat astrocítica.
- Evidència que el coabús de les dues drogues augmenta les alteracions comportamentals, especialment a llarg plaç (7 dies després del tractament).
- Tot i no observar activació astrocítica en el grup tractat amb alcohol i MDMA, sí s'observa una activació de la microglia igual que en el grup tractat només amb MDMA.
- L'estrés oxidatiu provocat pel metabolisme del MDMA produeix dany oxidatiu específic en proteïnes implicades en metabolisme energètic i estructura i funció neuronal, especialment en hipocamp.
- El coabús de les dues drogues incrementa el grau d'oxidació i el número de proteïnes oxidades, per tant, el dany és major.

- 1.** Estudi de la implicació del sistema endocanabinoide (EC) i purinèrgic endògen en el substrat neurobiològic de l'addicció a drogues d'abús
- 2.** Estudi d'un model de neurotoxicitat induït per MDMA i la interacció d'aquest psicoestimulant amb el sistema EC i purinèrgic endògen.
- 3.** Efecte de l'enriquiment ambiental en l'etiologia de desordres psiquiàtrics com la depressió, l'esquizofrènia i la dependència alcohòlica.



Olga Valverde
Jessica Ruiz
Clara Ros
Neus Toro
Naghman Salman



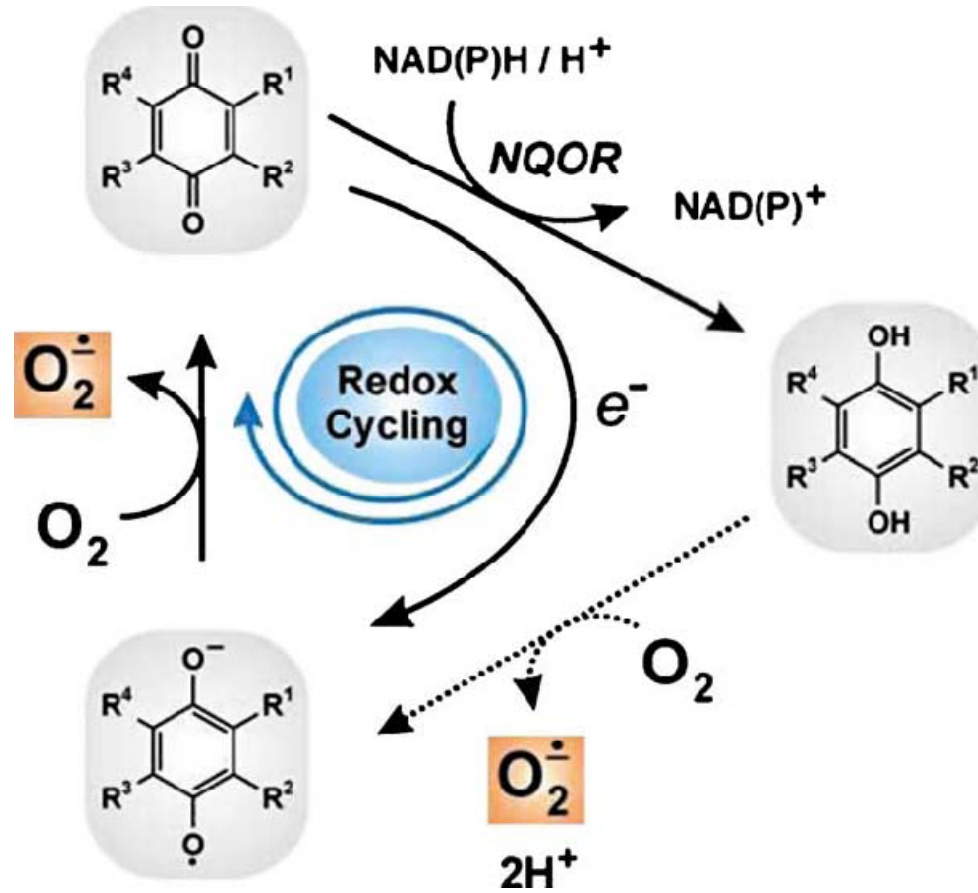


Figure 2. Redox cycling of quinones. Quinones may be reduced intracellularly to their corresponding semiquinone, e.g. by microsomal reductases. The semiquinone can either disproportionate to generate quinone and hydroquinone (not shown) or react with molecular oxygen to generate superoxide, thereby regenerating the quinone. NAD(P)H:quinone oxidoreductase-1 (NQOR) catalyses the divalent reduction to the hydroquinone at the expense of NADH or NADPH.

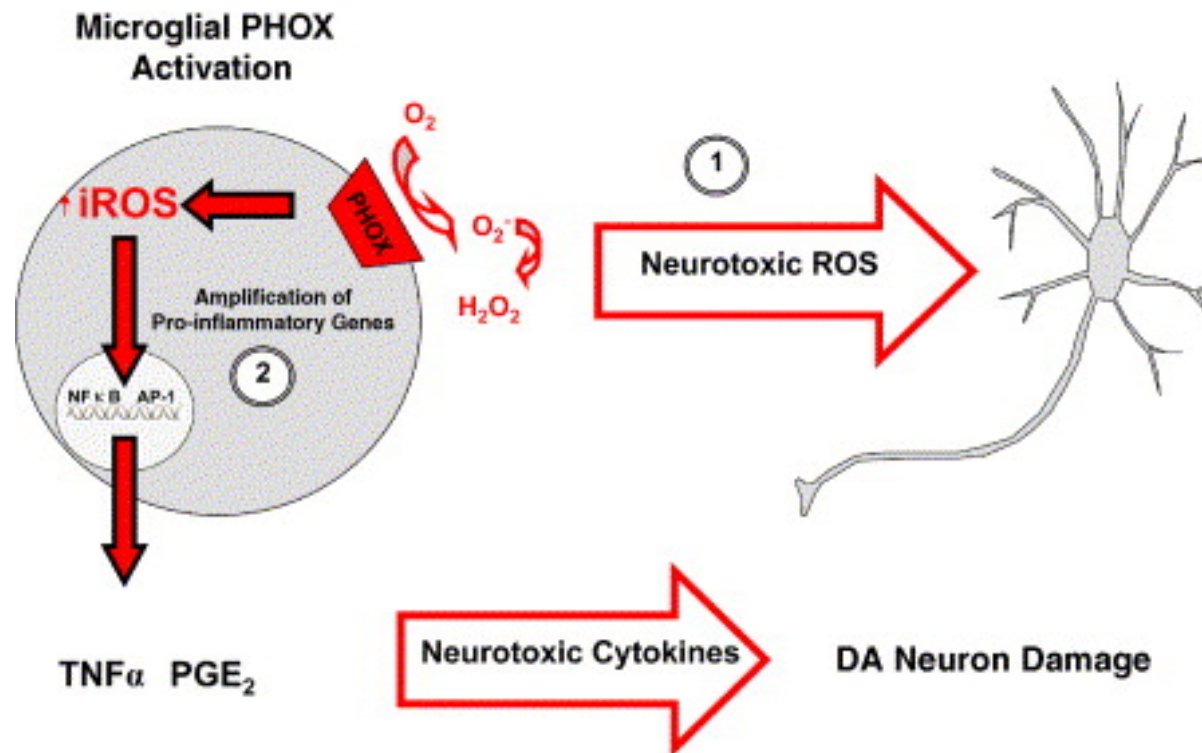


Fig. 5. Dual mechanisms of NADPH oxidase-mediated neurotoxicity. Here we depict the critical mechanisms through which microglial NADPH oxidase (PHOX) mediates neurotoxicity. Extracellular ROS produced as a consequence of PHOX activation is toxic to neurons. Additionally, the increase in intracellular ROS that occurs in microglia as a response to PHOX activation enhances the production of neurotoxic pro-inflammatory factors from microglia. (Block and Hong, 2005)

