

Los receptores nicotínicos neuronales: una nueva diana regulada por los derivados anfetamínicos e implicada en su neurotoxicidad

David Pubill*, Sara García-Ratés, Elena Escubedo
y Jordi Camarasa

Departamento de Farmacología
y Química Terapéutica. Sección
de Farmacología. Instituto
de Biomedicina de la UB

(IBUB). Facultad de Farmacia.
Universitat de Barcelona.
Av. Joan XXIII s/n, 08028
Barcelona.

* Correspondence:
✉ d.pubill@ub.edu

Resumen

Los derivados anfetamínicos metanfetamina (MA) y 3,4-metilendioxi metanfetamina (MDMA) tienen como dianas los transportadores de monoaminas de membrana citoplasmática y vesicular, provocando el desplazamiento y la salida de estos neurotransmisores por transporte reverso. Ciertas pautas de administración producen neurotoxicidad en animales, donde el incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) parece ser una de las principales causas. Trabajos recientes han demostrado que el bloqueo de los receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChR) de tipo $\alpha 7$ inhiben dicha producción de ROS, la cual depende de calcio y de la activación de la NO-sintasa. Además, los antagonistas de los nAChR $\alpha 7$ atenúan la neurotoxicidad *in vivo* producida por MA y MDMA, así como el deterioro cognitivo. Los experimentos de fijación de radioligandos demuestran que ambas drogas poseen afinidad por los nAChR $\alpha 7$ y los heteroméricos, mientras que ensayos de fluorescencia han demostrado que la MDMA se comporta como un agonista parcial $\alpha 7$, produciendo una entrada prolongada de calcio que estaría implicada en la toxicidad, y como antagonista de los heteroméricos. También se han descrito efectos moduladores de estas drogas sobre las poblaciones de nAChR que podrían estar implicados en efectos psiquiátricos de relevancia clínica.

Periodo revisado: (1978-2011).

Palabras clave: MDMA, metanfetamina, nicotínico, neuroprotección, entrada de calcio.

Neuronal nicotinic receptors: a new target regulated by amphetamine derivatives involved in its neurotoxicity.

Abstract

The amphetamine derivatives methamphetamine (MA) and 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) target the plasmalemmal and vesicular monoamine transporters inducing displacement and release of these neurotransmitters through reverse transport. Certain administration regimens in animals produce neurotoxicity, where increased production of oxygen reactive species (ROS) seems to be one of the main causes. Recent works have demonstrated that blockade of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors (nAChR) inhibit such ROS production, which depends on calcium and NO-synthase activation. Also, $\alpha 7$ nAChR attenuate the *in vivo* MA- and MDMA-induced neurotoxicity, as well as the cognitive impairment. Radioligand binding experiments show that both drugs possess affinity to $\alpha 7$ and heteromeric nAChR, while fluorescence experiments demonstrate that MDMA behaves as a



This article is available from:
www.farmatoxicol.com

partial agonist on $\alpha 7$, inducing a prolonged calcium entry which would be implicated in toxicity, and as an antagonist on heteromeric nAChR. Finally, modulatory effects of MDMA on $\alpha 7$ and heteromeric nAChR populations have been described and could be of psychiatric clinical relevance.

Revised period: (1978-2011).

Keywords: MDMA; methamphetamine; nicotinic; neuroprotection; calcium influx.

Introducción

Los psicoestimulantes metanfetamina (MA) y 3,4-metilen-dioximetanfetamina (MDMA, éxtasis) son derivados anfetamínicos que se consumen con fines recreacionales en los países desarrollados. Entre sus efectos destacan la euforia, la supresión de la fatiga, la sensación de bienestar, así como la modificación de las percepciones sensoriales y la facilitación de las relaciones personales gracias a la marcada desinhibición que producen. El hecho de que sean mayoritariamente consumidas por jóvenes y que se haya demostrado que producen neurotoxicidad en animales (ver [1-4] para revisión) ha generado preocupación y ha llevado a realizar numerosos estudios en animales y humanos. Las consecuencias del consumo agudo o crónico de estas sustancias en humanos son todavía inciertas, pero existen estudios que demuestran alteraciones cognitivas y déficits dopaminérgicos y/o serotoninérgicos en consumidores crónicos de estas drogas [5-10]. Un metaanálisis reciente sobre los efectos de la MDMA en la memoria inmediata y la memoria de trabajo [11] concluyó que los consumidores de éxtasis obtenían, de forma significativa, peor puntuación en todas las modalidades de memoria, tanto en trabajos que los comparaba con controles que no tomaban drogas como con policonsumidores, y que dicho deterioro estaba directamente relacionado con la duración del periodo durante el cual el individuo había tomado la droga. Es un hecho reconocido que los consumidores de éxtasis presentan más psicopatologías que los no consumidores, siendo más frecuentes la depresión, la ansiedad, fobias, psicosis, somatización, agresividad y hostilidad, impulsividad y búsqueda de sensaciones (revisado por [5]). De todos modos, los resultados de estos estudios sufren sesgos debido a que es prácticamente imposible encontrar consumidores puros de MDMA, sino que ésta se toma conjuntamente con drogas como el cannabis, la cocaína, el alcohol, etc., que pueden modificar sus efectos psiquiátricos.

Existen numerosos estudios preclínicos que demuestran un daño duradero en los terminales neuronales dopaminérgicos y serotoninérgicos después del consumo crónico de MA y MDMA. Concretamente, el tratamiento con MA induce una

deplección persistente de los niveles de dopamina (DA) y sus metabolitos en el estriado [12], una reducción en la actividad tirosina hidroxilasa [12-14] y una pérdida de transportadores de dopamina (DAT) [15; 16]. Por otra parte, los efectos perjudiciales de la MDMA afectan principalmente a los terminales serotoninérgicos en ratas y primates, incluida la especie humana, con muy poco efecto en los terminales dopaminérgicos [17; 18]. Sin embargo, en ratones, la MDMA se comporta como una neurotoxina dopaminérgica y se ha descrito afectación adicional de terminales serotoninérgicos en algunas cepas [19], mientras que en otras como la C57BL/6J la disminución de serotonina (5-HT) estriatal no va acompañada de lesión serotoninérgica [20].

Desde el primer momento en que se dio a conocer, se han realizado numerosos estudios encaminados a estudiar los mecanismos implicados en la neurotoxicidad de los derivados anfetamínicos. Si bien algunos aspectos todavía no han sido desvelados, existe una clara evidencia de la acción coordinada de determinados factores que contribuyen a ésta: el funcionamiento de los transportadores de DA vesiculares (VMAT-2) y los DAT (de membrana), la mitocondria y su balance energético, el glutamato, los receptores de DA, la hipertermia y las especies reactivas de oxígeno (ROS, revisado por [21]). Desde que el papel de las ROS y la DA fue propuesto por Gibb y colaboradores en 1989 [22], los trabajos que le siguieron demostraron que dichas especies parecen ser los ejecutores finales del daño neuronal al reaccionar con moléculas funcionales y estructurales. Las ROS pueden producirse a partir de la autooxidación de la DA citosólica [23], de la excitotoxicidad producida por el glutamato, previa producción de óxido nítrico (NO) [24; 25] o de la activación de los receptores dopaminérgicos D1 del estriado, la cual provoca el incremento de la expresión del ARNm para la sintasa inducible de NO (nNOS) [26]. La resultante inhibición de la función mitocondrial también lleva a la producción de ROS en este orgánulo. Asimismo, la activación de la microglía como fuente de ROS ha sido propuesta para la administración de MA [15; 17; 27; 28], pero no de MDMA [17]. Existen también otras vías que han sido propuestas y que han aportado evidencias para explicar aspectos como la neurotoxicidad serotoninérgica de la

MDMA en zonas con mínima inervación dopaminérgica. De ellas destaca la formación de un/os derivado/s metabólico/s reactivo/s de la MDMA [29], el agonismo de la MDMA sobre receptores 5-HT_{2A} activando la apoptosis inducida por calcio y la excitotoxicidad por glutamato tras su liberación inducida por MDMA [30], o el metabolismo de la 5-HT a especies reactivas [31].

La hipótesis de las ROS llevó a desarrollar un modelo *in vitro* que utiliza sinaptosomas de estriado de rata para inducir y detectar estas especies utilizando la citometría de flujo y un fluorocromo sensible a éstas [32]. Éste ha constituido una nueva manera de estudiar la participación de varias vías de señalización en la producción de ROS inducida por MA y MDMA. El hecho de que el antagonista de los receptores nicotínicos homoméricos metillicaconitina (MLA) bloqueara la producción de ROS inducida por MA en este modelo, desveló un nuevo mecanismo de acción para la anfetaminas que merecía ser estudiado con más detalle. En este artículo revisaremos e integraremos los trabajos llevados a cabo hasta el momento acerca del papel de los receptores nicotínicos neuronales (nAChR) en los efectos de los derivados anfetamínicos.

Los receptores nicotínicos neuronales. Aspectos generales

Los nAChR pertenecen a la superfamilia de receptores ionotrópicos. Existen diferentes subtipos, formados por la asociación de cinco subunidades que están codificadas por diversos genes. Hasta el momento, los genes clonados codifican para dos subfamilias, una de nueve subunidades α ($\alpha 2$ – $\alpha 10$) y otra de tres subunidades β ($\beta 2$ – $\beta 4$), cuya expresión se ha detectado en el sistema nervioso central, la coclea y diversos tejidos no neuronales [33–35]. Estas subunidades se ensamblan formando pentámeros, que pueden ser homoméricos o heteroméricos, dejando un canal central permeable a iones que posee diferentes propiedades estructurales, funcionales y farmacológicas [36]. Los nAChR pueden agruparse en dos familias: los sensibles a α -bungarotoxina (α -BgTx), formados por subunidades $\alpha 7$, $\alpha 8$, $\alpha 9$ y/o $\alpha 10$, y que pueden formar receptores homoméricos o heteroméricos, y los no sensibles a α -BgTx, heteroméricos formados por subunidades $\alpha 2$ – $\alpha 6$ y $\beta 2$ – $\beta 4$, a los que se une con elevada afinidad la nicotina y diversos agonistas nicotínicos [37].

En función de las subunidades que los forman, los nAChR son permeables a los cationes Na⁺, K⁺ o Ca²⁺ (revisado por [38]). En general, los nAChR heteroméricos poseen una baja permeabilidad para el Ca²⁺, mientras que los homoméricos $\alpha 7$ poseen una de las corrientes fraccionales más altas para este catión. Tanto es así que la corriente de Ca²⁺ que se ha

medido en receptores humanos es de las más altas medidas para receptores ionotrópicos, igualando a la de los receptores de glutamato NMDA [39]. Además, la despolarización inicial inducida por la entrada de Na⁺ y Ca²⁺ puede inducir la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje incrementando la entrada de dicho catión. Estos dos mecanismos son complementarios a nivel fisiológico y juegan un papel importante en la señalización celular activando vías intracelulares (revisado por [40]) como la proteína cinasa C (PKC) y la nNOS, de las cuales, curiosamente, se ha demostrado su implicación en la neurotoxicidad por derivados anfetamínicos [41; 42].

Los nAChR poseen una serie de lugares de modulación alostérica, además de los lugares de fijación de la acetilcolina (ACh). De este modo, se dispone de diversos compuestos que se unen a dichos lugares y se comportan como moduladores alostéricos de la función de los nAChR [43].

Las funciones cerebrales donde los nAChR juegan un papel importante son diversas. Podríamos destacar la cognición, la locomoción, la analgesia [44–47] y la adicción a nicotina [48]. En el SNC, los nAChR se encuentran principalmente a nivel presináptico, modulando la liberación de prácticamente todos los neurotransmisores, a destacar la DA, pero también tienen una localización postsináptica en algunas áreas, donde median una transmisión sináptica rápida [37; 40; 43].

Vías implicadas en la producción de ROS inducida por MA y MDMA

La participación de las ROS en la neurotoxicidad inducida por MA y MDMA está ampliamente demostrada, ya que si se inhibe su formación o se previenen sus efectos, se consigue la neuroprotección frente a estas sustancias. De este modo, si se incrementan los recursos antioxidantes celulares como la glutatión peroxidasa [49] o las isoformas de superóxido dismutasa [50; 51], se protege del daño inducido por estas sustancias. También los antioxidantes como el selenio [52], la melatonina [52; 53], la L-carnitina [54], la N-acetilcisteína [55] o el antioxidante endógeno carnosina [56] han demostrado efectos neuroprotectores frente a dicho daño.

Asimismo, la administración de derivados anfetamínicos produce *in vivo* una elevación de la temperatura corporal que se potencia cuando la temperatura ambiente también es elevada. Se ha propuesto que la hipertermia podría potenciar la producción de 6-hidroxidopamina (neurotóxica) o demás ROS relacionados [57], así como sus efectos lesivos hacia los lípidos. De hecho, la hipertermia potencia la neurotoxicidad por anfetaminas [58] y se ha demostrado que, evitando dicha hipertermia, se reduce la neurotoxicidad por estas sustancias [59]. Tanto es así que posteriormente se descubrió que la neu-

roprotección que conseguían algunos compuestos era debida a la reducción de la hipertermia que provocaban, y no a su principal mecanismo de acción farmacológico [60, 20]. Por ello, era necesario poner a punto un modelo *in vitro*, donde medir la producción de ROS y donde se evitara este tipo de interferencias, para probar la participación de diversas vías en la producción de ROS inducida por MA y MDMA.

Los sinaptosomas semi-purificados de estriado de rata cargados con el fluorocromo sensible a las ROS, 2'.7'-diclorofluorescina diacetato (DCFH-DA), y tratados con MA y MDMA proporcionaron un modelo para estudiar la producción de estas especies utilizando el citómetro de flujo como instrumento de medida [32, 61].

La adición de MA a los sinaptosomas inducía un incremento en la fluorescencia, lo que indica que las ROS se producen en el interior del sinaptosoma y no en el exterior a partir de, por ejemplo, la DA liberada [32]. Ello daría explicación a la selectividad de estas sustancias para inducir daño a los terminales dopaminérgicos y no a las neuronas colindantes.

Varios autores han propuesto a la DA como una de las principales fuentes de ROS tras el tratamiento con anfetaminas. Cuando se aplicaba MA a sinaptosomas de estriados procedentes de ratas mermadas de dicho neurotransmisor (tratadas con reserpina o reserpina más α -metil-*p*-tiroxina), la producción de ROS estaba inhibida [32]. Dichos resultados corroboraban la DA intracelular como principal fuente de ROS. La MA, al alterar el gradiente de pH intracelular, interfiere el funcionamiento del VMAT y provoca la salida de DA al citosol [62], donde se encuentra desprotegida y puede oxidarse. De acuerdo con ello, la incubación con MA de sinaptosomas no mermados de DA en presencia del inhibidor del VMAT, reserpina, previno la formación de ROS.

El NO y el peroxinitrito (ONOO⁻) son dos especies reactivas que juegan un papel clave en el daño neuronal inducido por los derivados anfetamínicos. Diversos estudios *in vivo* demuestran la implicación de la nNOS en la neurotoxicidad dopaminérgica por MA. Así, la administración de MA induce la sobreexpresión de la nNOS en estriado de ratón [41]. El NO es un inhibidor de los complejos II y IV de la cadena respiratoria mitocondrial y reacciona rápidamente con el superóxido para producir ONOO⁻, el cual es un potente oxidante e inhibidor de los complejos II y III. Así, el ONOO⁻ formado en las mitocondrias provocaría su mal funcionamiento y comprometería su integridad. Además, el ONOO⁻ oxida el glutatión, el α -tocoferol y el ascorbato, comprometiendo las reservas esenciales de antioxidantes mitocondriales [63; 64]. También el NO y el calcio actúan sinérgicamente inactivando el complejo mitocondrial I, causando una pérdida de citocromo c, probablemente a través de la formación de ONOO⁻ [65]. Por

todo ello el ONOO⁻ se ha propuesto como el principal responsable del daño celular tras la administración de los derivados anfetamínicos y diversos trabajos describen como su inhibición atenúa la neurotoxicidad por MA y MDMA [66-71]. En el modelo de sinaptosomas de estriado, el 7-nitroindazol, un inhibidor de la nNOS, inhibió completamente la producción de ROS inducida por MA, corroborando la participación de esta enzima en el proceso [32]. El NO resultante de la activación de la nNOS produce NO, que reacciona con los radicales peróxido que podrían originarse de la autooxidación de la DA, produciendo el ONOO⁻, de mayor toxicidad. También se ha demostrado que el ONOO⁻ inhibe el funcionamiento del DAT [72; 73]. Dicha inhibición favorecería la acumulación de DA citosólica, lo cual incrementaría las ROS dentro de los sinaptosomas.

Las cinasas como la PKC también están implicadas en la funcionalidad del DAT [74]. Concretamente, se ha descrito que la PKC participa en la fosforilación del DAT, produciendo un deterioro de su función [75-77]. De acuerdo con ello, la inhibición de la PKC también previno la formación de ROS en el modelo de sinaptosomas [32], corroborando el papel clave de la PKC en el proceso. De este modo, el efecto protector del inhibidor de la PKC se explicaría por el mantenimiento de la función del DAT, que seguiría siendo capaz de expulsar al exterior del terminal la DA desplazada por la MA, evitándose su oxidación en el interior.

Trabajos posteriores con MDMA utilizando sinaptosomas de estriado de ratón describieron efectos similares [61; 78]. Curiosamente, la curva concentración-respuesta de producción de ROS de la MDMA mostró un perfil de U invertida, con una actividad pro-oxidante máxima entre 50 y 100 μ M que disminuía a concentraciones más altas. Una explicación a dicho efecto vendría por el hecho que, a concentraciones mayores de 100 μ M, la MDMA inhibe la monoamino-oxidasa B (MAO-B), la cual es responsable de la degradación enzimática de la DA, dando lugar a peróxido de hidrógeno. Dicha acción fue corroborada por el hecho que el L-deprenilo, inhibidor de la MAO-B, inhibió el efecto oxidativo de la MDMA (50 μ M).

Analizando los resultados obtenidos en este modelo de sinaptosomas, se deduce que es necesario un incremento de la DA citosólica y la activación de la nNOS y la PKC (bloqueando la salida de DA por el DAT) para que se generen ROS en el terminal dopaminérgico después de la exposición a MA/MDMA. La PKC y la nNOS requieren calcio para su activación y, en este modelo, si el calcio se quelaba con EGTA, se anulaba el efecto oxidante de estas drogas [78; 79].

De todo ello se puede formular un nuevo mecanismo integrador mediante el cual MA y MDMA inducen la producción de ROS en los sinaptosomas (**Figura 1**). Se iniciaría con la

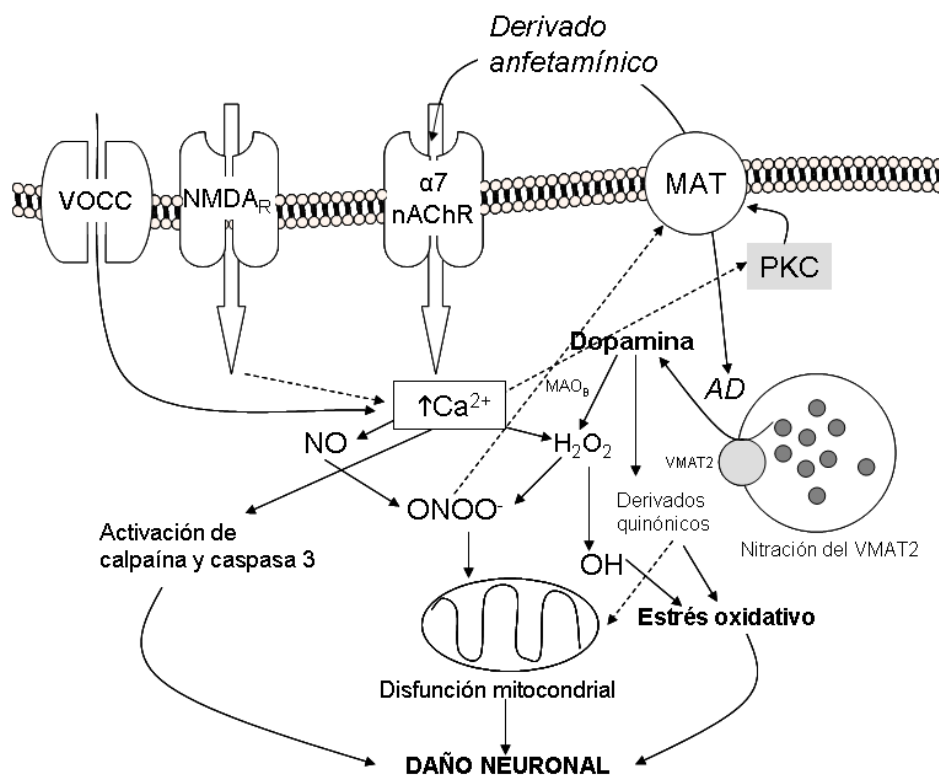


Figura 1. Representación esquemática de las vías implicadas en el estrés oxidativo y la neurotoxicidad inducida por derivados anfetamínicos. La activación de los nAChR $\alpha 7$ por estos compuestos, conjuntamente con otros mecanismos propuestos (como la activación de receptores NMDA) conlleva un incremento del Ca^{2+} intracelular que facilita la activación de la nNOS y la producción de NO. El NO puede producir ONOO⁻ reaccionando con el superóxido. El ONOO⁻ induce daño directo a las estructuras celulares e induce disfunción mitocondrial, que conduce a un colapso metabólico y a citotoxicidad. Asimismo, el ONOO⁻ puede inducir la nitración de los transportadores de monoaminas MAT y VMAT. El Ca^{2+} también activa la calpaína y la caspasa 3 (ver apartado 7.2), que están implicadas en la proteólisis y en mecanismos de muerte celular, así como la PKC, que se ha relacionado con el bloqueo del MAT y la acumulación de DA dentro del terminal sináptico. Al mismo tiempo, los derivados anfetamínicos inducen un incremento de la DA citosólica que puede ser metabolizada por la MAO-B a peróxido de hidrógeno y superóxido, que a su vez pueden ser convertidos a través de la reacción de Fenton a radicales hidroxilo que contribuirían al estrés oxidativo. Además, la DA puede ser metabolizada a derivados quinónicos reactivos que también contribuyen al deterioro de las funciones celulares [134]. También puede haber una entrada adicional de Ca^{2+} a través de la apertura de canales dependientes de voltaje (VOCC) o liberarse del retículo endoplásmico.

entrada del derivado anfetamínico al sinaptosoma a través del DAT (la producción de ROS por MDMA se anulaba con cocaína, un bloqueante del mismo) o por difusión pasiva y la inducción de la liberación de DA desde las vesículas sinápticas al citosol. La DA citosólica sufriría una oxidación inicial, generando ROS que modificarían la función del DAT. Paralelamente, tendría lugar un incremento del calcio citosólico que activaría la nNOS y la PKC. La activación de la PKC conllevaría la fosforilación de proteínas como el DAT que daría lugar, conjuntamente con los efectos del ONOO⁻, a la inhibición del funcionamiento del DAT y a la acumulación de DA citosólica, lo cual agravaría el estrés oxidativo en el interior del terminal. De acuerdo con esta hipótesis, faltaba un punto para clari-

ficar: el mecanismo a través del cual se incrementaba el calcio intrasinaptosomal. El bloqueante de los canales de calcio de tipo L, nitrendipino, y los inhibidores de la liberación de calcio desde el retículo endoplásmico, dantroleno y 2-aminoetoxidifenilborato (2-APB), inhibieron la producción de ROS inducida por MDMA en sinaptosomas de estriado de ratón [79]. Ello, juntamente con la inhibición de las ROS mediante la quelación del calcio extracelular, indicaba que tendría que existir un evento despolarizante inicial desencadenado por MA/MDMA, que provocara la apertura de los canales dependientes de voltaje o la liberación de calcio inducida por calcio desde el retículo endoplásmico.

Liu y col. [80] habían descrito que la D-anfetamina incrementaba la entrada de calcio y la liberación de catecolaminas en células cromafines adrenales bovinas a través de la activación de un receptor nicotínico que parecía del subtipo $\alpha 7$. Por otra parte, Skau y Gerald [81] habían descrito que la D-anfetamina inhibía la unión de la α -BgTx en la unión neuromuscular y Klinger y col. [82], más recientemente, identificaron los nAChR como una de las dianas fisiológicas de la MDMA en la unión neuromuscular. Estos indicios llevaron a probar los antagonistas de los nAChR $\alpha 7$ MLA y α -BgTx sobre la producción de ROS inducida por MA/MDMA en sinaptosomas de estriado. Ambos antagonistas inhibieron dicha producción de ROS en este modelo [32; 78], situando a los nAChR $\alpha 7$ como una posible nueva diana para prevenir el daño oxidativo inducido por los derivados anfetamínicos.

Papel de los nAChR en los efectos producidos por MA y MDMA

Efectos sobre el DAT

El tratamiento agudo de ratas con MA o MDMA produce una disminución en la captación de DA y 5-HT tritadas en los sinaptosomas de sus estriados, como consecuencia de los cambios rápidos y reversibles que provocan estas sustancias sobre los transportadores de monoaminas. Este efecto puede reproducirse *in vitro* incubando los sinaptosomas con MA o MDMA [76]. Por ello, la preparación de sinaptosomas anteriormente descrita se utilizó para estudiar una posible modulación de estos efectos por ligandos nicotínicos.

La captación de [3 H]5-HT (en sinaptosomas de hipocampo) y [3 H]DA (en sinaptosomas de estriado) sirvió como indicador del efecto agudo de MDMA y MA sobre los transportadores SERT y DAT, respectivamente [32; 61; 78; 84]. La preincubación de los sinaptosomas con MDMA (15 μ M) indujo una reducción significativa de la captación de [3 H]5-HT de alrededor del 40%. Asimismo, la preincubación con MDMA y MA (1 μ M) también inhibió la captación de [3 H]DA alrededor del 75% y el 80%, respectivamente. Dicha inhibición tenía lugar una vez se habían retirado las anfetaminas mediante el lavado de la preparación, por lo cual los efectos observados se debían a cambios en el transportador y no a efectos directos de dichas sustancias. Asimismo, ya que la incubación de los sinaptosomas fue llevada a cabo en presencia del inhibidor de la MAO-A, clorgilina, y de glutatión, el efecto de estas sustancias sobre los transportadores de monoaminas no podía atribuirse a las ROS.

El efecto de las anfetaminas sobre DAT/SERT se previno mediante la quelación del calcio e inhibidores de la nNOS y la

PKC (ambas, enzimas dependientes de calcio). Otros autores ya habían descrito la relación entre la PKC y el efecto de las anfetaminas sobre el DAT [76] y más recientemente se estableció la asociación física entre la nNOS y el SERT, la cual regulaba la función del transportador [24]. También Cao y Reith habían descrito cómo el NO inhibe la captación de DA [85].

Tomándose como base estos resultados y los obtenidos con la producción de ROS, se probaron los efectos de los antagonistas $\alpha 7$, MLA y memantina, sobre los efectos de MA y MDMA sobre el DAT [32, 61, 78], donde también ejercieron un efecto protector. La memantina (ver sección 4.2 para más detalles) posee un doble mecanismo de acción, al ser antagonista de los receptores de glutamato NMDA y de los nAChR $\alpha 7$ [86]. Sin embargo, el PNU 282987, un agonista $\alpha 7$, previno el efecto protector de la memantina, mientras que el MK-801, antagonista del receptor NMDA, no modificó los efectos de las anfetaminas, lo cual confirmaba que el efecto de la memantina sobre la inhibición persistente de la captación por MA/MDMA se debía al bloqueo de los nAChR $\alpha 7$. Dicho resultado indicaba que la activación del nAChR $\alpha 7$ solo o combinado con otros mecanismos de los derivados anfetamínicos, llevaba a la activación de vías (nNOs, PKC) implicadas en la inhibición del MAT.

Aznar y col. [87] describieron la presencia de nAChR $\alpha 7$ en terminales de neuronas serotoninérgicas que se proyectan hacia el hipocampo. De acuerdo con ello, el PNU 282987 inhibió la captación de 5-HT, lo cual indica que la funcionalidad del SERT en los terminales serotoninérgicos hipocámpales puede ser regulada por nAChR $\alpha 7$, y potenció el efecto inhibitorio de la MDMA sobre la función del SERT [84; 88].

Estudios sobre el efecto de los antagonistas $\alpha 7$ sobre la neurotoxicidad de MA y MDMA *in vivo*.

Dados los resultados *in vitro* obtenidos hasta el momento, los siguientes estudios se encaminaron a investigar si el antagonismo sobre el nAChR $\alpha 7$ era también capaz de prevenir o atenuar la neurotoxicidad dopaminérgica y serotoninérgica de los derivados anfetamínicos *in vivo*. Por ello se llevaron a cabo estudios en ratones tratados con una pauta neurotóxica clásica de MA (7,5 mg/kg s.c., cada 2h, 4 dosis) o MDMA (25 mg/kg, s.c., cada 3h, 3 dosis), comparándose algunos de los principales marcadores de neurotoxicidad dopaminérgica con los de ratones que previamente habían recibido el antagonista $\alpha 7$ MLA [61; 78]. En todos los casos se descartó un efecto anti-hipertérmico de la MLA.

La MA indujo una pérdida significativa de DAT (alrededor del 73%) que se evidenció mediante la fijación de [3 H]WIN 35428 en el estriado de ratones sacrificados 72 h después de la última dosis [78]. Dicha pérdida fue menor en animales

pretratados con MLA (un 43%), sin afectarse la hipertermia. Asimismo, la MLA también previno la disminución de los niveles de tirosina hidroxilasa, enzima clave en la síntesis de DA que también se usa como indicativa de toxicidad dopaminérgica. La reacción glial que se produce en el estriado tras el tratamiento con MA, medida como incremento en la fijación de [³H]PK 11195, también fue atenuada por el pretratamiento con MLA. Todo ello indicaba, pues, un efecto neuroprotector de la MLA frente a la neurotoxicidad dopaminérgica por MA.

En posteriores experimentos usando MLA y MDMA en ratones [61], se obtuvieron resultados similares. Curiosamente, la MLA no previno la pérdida de terminales serotoninérgicos (fijación de [³H]paroxetina), lo que indicaba que el efecto neuroprotector en ratones era selectivo para los terminales dopaminérgicos. Más recientemente, este efecto neuroprotector dopaminérgico selectivo ha sido corroborado por otros investigadores [89].

La memantina es un fármaco utilizado en clínica para tratar la enfermedad de Alzheimer de grado moderado-grave que actúa como antagonista no competitivo de los receptores de glutamato NMDA. Sin embargo, posteriormente a su introducción en terapéutica, se descubrió que, a concentraciones similares a las alcanzadas con su uso clínico, era también capaz de bloquear de manera no competitiva los nAChR $\alpha 7$, de forma incluso más eficaz que los NMDA [86]. Posteriormente, Unger y col. [90] describieron que el tratamiento con memantina incrementaba la densidad de nAChR $\alpha 7$ en la corteza frontal y retrosplenial de ratones, corroborando la interacción de este fármaco con estos receptores, ya que su regulación al alza es un efecto característico que pueden inducir sus ligandos (tanto agonistas como antagonistas, ver apartado 6 para más información).

El uso de la MLA en humanos podría estar impedido por su complejidad química y efectos adversos tóxicos [91; 92], pero no el de la memantina que, si debido a su mecanismo dual fuera capaz de proteger de la neurotoxicidad por derivados anfetamínicos en roedores, podría ensayarse en la especie humana como prevención de los efectos nocivos de estas drogas o incluso para tratar la adicción a éstas. Incluso podría tener efectos beneficiosos sobre el deterioro de la memoria que suelen sufrir los consumidores crónicos de estas drogas [93; 94].

De acuerdo con este razonamiento, se estudió el efecto de la memantina sobre la neurotoxicidad dopaminérgica (característica de la MDMA en ratones) usando el modelo *in vitro* de sinaptosomas de estriado [84; 88]. La memantina inhibió, a una concentración de 0,3 μ M, la producción de ROS inducida por MA y MDMA, sin presentar ella sola efectos antioxidantes directos. Esta inhibición era contrarrestada en presencia

de PNU 282987, agonista $\alpha 7$ específico, y no se modificaba por agonistas glutamatérgicos en el medio de incubación, lo que indicaba que el efecto protector tenía lugar a través del bloqueo de los nAChR $\alpha 7$.

Con posterioridad se realizaron experimentos administrando memantina y MDMA a ratas Dark Agouti, como modelo para estudiar la neurotoxicidad serotoninérgica inducida por MDMA [84; 88]. La cepa Dark Agouti tiene un déficit de determinadas isoformas del citocromo CYP P-450 y sufre una lesión serotoninérgica significativa con sólo una única dosis de MDMA [95], contrariamente a lo que ocurre con las cepas más corrientes, que requieren varias dosis para llegar al mismo grado de lesión [96]. Para el estudio sobre la neurotoxicidad dopaminérgica se usaron ratones CD-1 tratados con MA. En ambos casos se administró memantina (5 mg/kg, i.p.) 30 min antes de la correspondiente dosis de MDMA o MA, sin modificarse la hipertermia en ninguno de ambos casos.

Como resultado de dichos tratamientos, se observó un descenso significativo de lugares de fijación para la [³H]paroxetina en el hipocampo (**Fig. 2A**) y la corteza frontal de las ratas tratadas con MDMA y sacrificadas 7 días después de la última dosis, aunque el daño serotoninérgico ya se evidenciaba a las 24 h [88]. En ambos casos, el pretratamiento con memantina previno la pérdida de dichos lugares de unión, indicando un efecto neuroprotector sobre los terminales serotoninérgicos. Asimismo, la memantina previno la activación glial posterior, detectada como un incremento en la fijación de [³H]PK 11195 en animales sacrificados a los 7 días, corroborando el efecto neuroprotector.

Un incremento en la producción de ROS puede dar lugar a la activación de diversos factores de transcripción, como el factor nuclear kappa B (NF- κ B). El NF- κ B induce la expresión de genes pro-inflamatorios y citotóxicos, jugando un papel esencial en el balance entre la supervivencia y la muerte celulares. Después de realizar diversos tratamientos en ratas con MDMA y memantina, se analizó en extractos de hipocampo la traslocación de P65, la subunidad activa del NF- κ B, al núcleo celular, lo que indica su activación. El tratamiento con MDMA incrementó dicha traslocación, que fue inhibida por el pretratamiento con memantina, lo que concordaría con el efecto citotóxico de la MDMA y protector de la memantina. Asimismo, por lo que respecta al daño dopaminérgico, la memantina también previno la pérdida de lugares de fijación para el [³H]WIN 35428 (**Fig. 2B**) y de tirosina hidroxilasa, así como la respuesta microglial [84, 88].

La memantina mostró un mejor efecto protector que la MLA frente a la neurotoxicidad dopaminérgica inducida por MDMA y MA en ratones. Una posible explicación sería su mecanismo adicional de antagonista NMDA. Sin embargo,

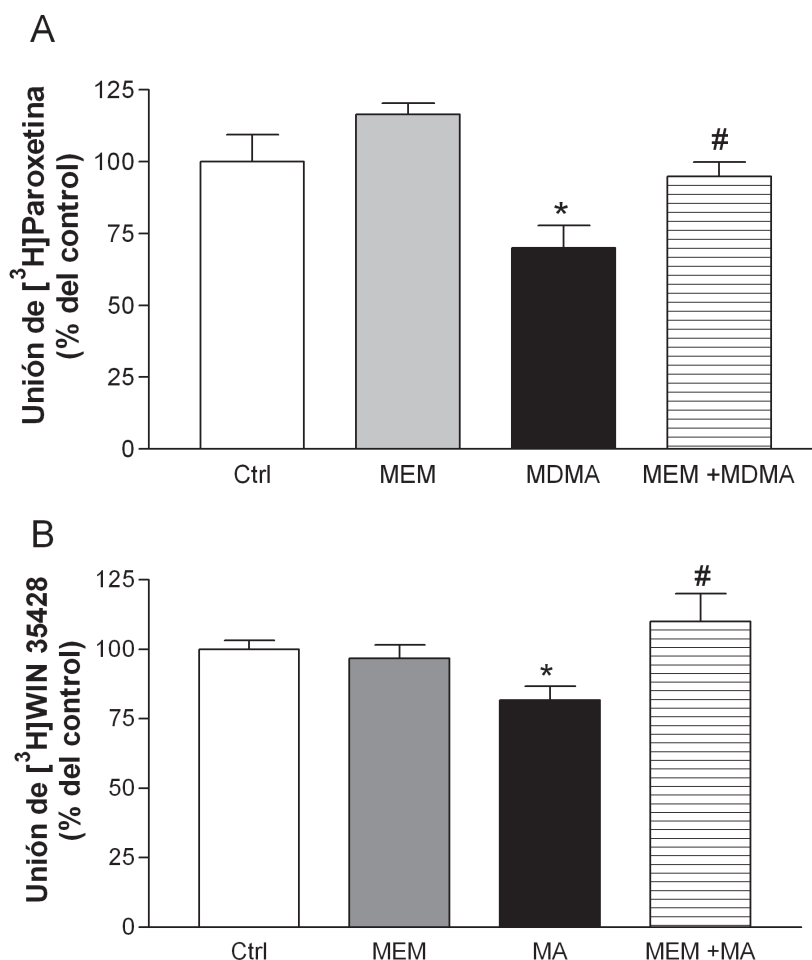


Figura 2. Efecto neuroprotector de la memantina (MEM) sobre A: la neurotoxicidad serotoninérgica inducida por MDMA en hipocampo de ratas Dark Agouti medida por la pérdida de lugares de unión para la [³H]paroxetina (marcador del SERT) y B: sobre la neurotoxicidad dopaminérgica inducida por MA en estriado de ratones y cuantificada mediante la pérdida de fijación de [³H]WIN 35428 (marcador de los DAT). Datos extraídos de [31].

los experimentos realizados *in vitro* con antagonistas NMDA no habían demostrado un efecto protector de éstos frente a la citotoxicidad y ROS inducidos por MA y MDMA [97]. Aún y así, puede ser que *in vivo* el efecto dual de la memantina le otorgue un mejor perfil neuroprotector. La descarga de las neuronas dopaminérgicas está modulada por aferentes glutamatérgicas (excitadoras), de tal manera que la activación de receptores NMDA induce la liberación de DA. Si la memantina bloquea los receptores NMDA tendría por lo tanto lugar una disminución de los niveles extracelulares de DA y, de acuerdo con la hipótesis integrada de Sprague y col. [98], disminuiría la captación de esta DA por los terminales serotoninérgicos mermados de 5-HT y, por tanto, el daño serotoninérgico. Por ello, el antagonismo NMDA podría contribuir *in vivo* efecto neuroprotector de la memantina. Más recientemente se ha

publicado que la liberación de glutamato inducida por MA es inhibida por MLA, lo que indica que se inicia tras la activación de nAChR $\alpha 7$ [89]. De este modo, la memantina inhibiría tanto la liberación de glutamato como la activación de los receptores NMDA, mostrando un perfil neuroprotector más marcado que la MLA frente al daño inducido por MA y MDMA.

Estudios con antagonistas nicotínicos sobre el deterioro cognitivo inducido por MA y MDMA.

Vistos los efectos neuroprotectores de la memantina, se realizaron trabajos encaminados a determinar si este fármaco podía prevenir el deterioro cognitivo inducido por MA y MDMA. Dichos trabajos estudiaron el efecto del tratamiento

con MA/MDMA y del pretratamiento con memantina a ratas Long Evans sobre la ejecución de los tests de reconocimiento de objetos y del laberinto acuático de Morris [99; 100]. Los resultados mostraron que los animales pretratados con memantina no mostraban el deterioro en la memoria que presentaban los tratados con el derivado anfetamínico solo. De este modo podría deducirse que el efecto neuroprotector de la memantina también atenúa el deterioro cognitivo producido por estas drogas. Este nuevo efecto protector podría representar una nueva estrategia terapéutica para el tratamiento de los efectos adversos que produce el consumo a largo plazo de derivados anfetamínicos.

Interacción de los derivados anfetamínicos con los nAChR

A la vista de los resultados obtenidos *in vitro* e *in vivo* una pregunta que precisaba respuesta era si MA y MDMA presentaban afinidad por los nAChR. De este modo se realizaron experimentos de fijación de radioligandos usando [³H]epibatidina para marcar los receptores heteroméricos y [³H]MLA para marcar los homoméricos $\alpha 7$, y las células PC12 y el homogeneizado de cerebro de ratón como sustratos. Tanto la MA como la MDMA desplazaron la unión de ambos radioligandos en los dos sustratos, corroborando que pueden interactuar directamente con los nAChR [101]. La MDMA mostró mayor afinidad que la MA por ambos tipos de nAChR. Los valores de la constante de inhibición (K_i) se encontraban unos en el rango micromolar bajo y otros en el rango micromolar alto (Tabla I).

Tabla I. Valores de K_i de MA y MDMA frente a la unión de [³H]MLA y [³H]epibatidina en células PC12 y cerebro de ratón. n_H es el coeficiente de Hill. * $P < 0,05$ y ** $P < 0,001$ vs. 1. Datos reproducidos de [261].

Droga	Células PC 12		Cerebro de ratón	
	K_i (μ M)	n_H	K_i (μ M)	n_H
	[³ H]MLA			
MA	283 \pm 109	1,20 \pm 0,15	369,77 \pm 95,61	0,29 \pm 0,08**
MDMA	15,35 \pm 1,03	1,35 \pm 0,11	34,21 \pm 6,71	0,40 \pm 0,27*
	[³ H] Epibatidina			
MA	155,36 \pm 5,36	0,76 \pm 0,11	23,90 \pm 2,65	1,27 \pm 0,28
MDMA	25,71 \pm 3,13	0,92 \pm 0,04	0,76 \pm 0,11	0,83 \pm 0,12

Un valor que merece especial atención es el de la afinidad de la MDMA hacia los nAChR heteroméricos en cerebro de ratón (K_i alrededor de 0,7 μ M), el cual es prácticamente el mismo que el que presenta esta droga hacia el SERT, su principal diana (0,61 μ M, [96]). De ello se deduce que la interacción de la MDMA con los nAChR heteroméricos a dosis recreacionales es realmente posible. El hecho de que los valores menores de K_i se encontraran en los ensayos de fijación de [³H]epibatidina indica que MA y MDMA presentan mayor afinidad hacia los nAChR heteroméricos, que son los más abundantes en el SNC. Posteriormente también se publicaron valores de afinidad por los receptores $\alpha 7$ en membranas de cerebro de rata [84]. En el caso de la MA, la competición se ajustó mejor a dos lugares de unión, dando un valor de K_i de 4 μ M para el lugar de alta afinidad y uno mucho mayor para el de baja, mientras que la MDMA se ajustó mejor a un solo sitio de unión, con una K_i de 9 μ M. Este ajuste disminuía las diferencias de afinidad entre MA y MDMA hacia estos receptores y permitía mantener la hipótesis de la neurotoxicidad mediada por éstos.

Efectos de MA y MDMA sobre la densidad de nAChR

Los nAChR sufren una regulación característica después del contacto prolongado con un ligando como la nicotina: si lo que suele esperarse después de un estímulo continuado por un agonista es una regulación a la baja, en los nAChR ocurre lo contrario, detectándose un incremento en la fijación de radioligandos específicos [102; 103], lo que se denomina regulación al alza. Desde su descubrimiento se han realizado numerosos estudios encaminados a investigar el complejo mecanismo que gobierna dicha regulación, y que fueron revisados por Gaimarri y col. [104]. La regulación al alza de los nAChR podría ser una respuesta a la desensibilización que sigue a la presencia constante de un agonista [105], con la finalidad de restablecer las sinapsis nicotínicas necesarias.

El mecanismo de dicha regulación es complejo y por el momento no se ha dilucidado completamente. Algunos trabajos indican que este aumento no está acompañado de cambios en el ARN_m de las diferentes subunidades [106, 107]. Ello llevó a establecer nuevas hipótesis como la de la reducción de la endocitosis de receptores, la inducción o favorecimiento del ensamblaje y migración a la membrana de las subunidades intracelulares preexistentes [108] o la disminución de la velocidad de recambio de los receptores [109]. Más recientemente, Sallette y col. [110] demostraron que la nicotina actuaba como un facilitador de la maduración (chaperona) y ensamblaje de aquellas subunidades precursoras intracelulares que de otra manera serían degradadas. Sin embargo, el mismo

año Vallejo y col. [111] publicaron que la regulación al alza de los receptores $\alpha 4\beta 2$ inducida por la nicotina era debida a un incremento o estabilización de la proporción de receptores en estado de alta afinidad. Todos estos trabajos estaban realizados con líneas celulares transfectadas, de naturaleza no neuronal, con la cual cosa es difícil discernir cual es realmente el mecanismo implicado en neuronas o si realmente coexisten y se trata de una combinación de todos los propuestos.

Independientemente del mecanismo y dados los trabajos que demostraban la afinidad de MA y MDMA por los nAChR, se estudió si estas drogas inducían regulación al alza de estos receptores de manera análoga a como lo haría la nicotina [101]. Los estudios realizados en células PC 12 diferenciadas a fenotipo neuronal mostraban que MA y MDMA inducían la regulación al alza de los nAChR heteroméricos y $\alpha 7$ de manera dependiente de la concentración y del tiempo de contacto. Además, se ensayaron diferentes inhibidores para dilucidar el posible mecanismo. Los resultados indicaron que MA y MDMA inducían regulación al alza de los nAChR a través de un complejo mecanismo post-traduccional, de manera similar a la nicotina. De hecho, se ha descrito que los efectos reguladores sobre los nAChR los pueden ejercer tanto agonistas como antagonistas [112]. Asimismo, dicha regulación está facilitada cuando la sustancia cruza la membrana citoplasmática para interactuar con las formas inmaduras de los receptores [113]. Así pues, MA y MDMA cumplen los dos requisitos, ya que presentan afinidad por los nAChR y pueden acceder al citoplasma al ser transportadas por el DAT, que abunda en las células PC12 [114; 115].

Asimismo, experimentos preliminares *in vivo* indican también que determinados regímenes de tratamiento con MDMA inducen regulación al alza de nAChR en determinadas áreas y potencian los efectos reguladores de la nicotina [116].

Efectos funcionales de MA y MDMA sobre los nAChR: experimentos de calcio y electrofisiología

Efectos inmediatos

La activación de los nAChR en células PC12 produce un incremento del calcio intracelular tanto por vía directa (apertura de los canales $\alpha 7$) como indirecta (después de la despolarización inicial inducida por activación de los receptores heteroméricos y apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje [117]). García-Ratés y col. [118] utilizaron un método fluorimétrico en microplaca para investigar los efectos de la MDMA sobre los niveles de Ca^{2+} en células PC 12, así como

la implicación de los diferentes nAChR y otras vías de movilización del Ca^{2+} en dicha respuesta.

La MDMA inhibió los efectos de los agonistas nicotínicos (ACh, nicotina y PNU 282987), pero si se aplicaba sola a concentraciones micromolares bajas inducía un incremento concentración-dependiente del Ca^{2+} intracelular. El efecto de la MDMA no llegó a alcanzar los valores de la ACh, lo que indicaría que se comporta farmacodinámicamente como un agonista parcial (**Fig. 3A**). El valor de CE_{50} se encontraba alrededor de 45 μM , lo que está de acuerdo con los resultados previos de los ensayos de unión.

Paralelamente, en ensayos de electrofisiología con ovocitos de *Xenopus* que expresaban los nAChR humanos, se demostró que la MDMA se comportaba como agonista sobre los $\alpha 7$ y como antagonista sobre los $\alpha 4\beta 2$ [118].

El hecho de que la MDMA indujera un incremento del Ca^{2+} citosólico llevó a estudiar las vías que podrían estar implicadas en el mismo mediante el uso de bloqueadores específicos. Los antagonistas $\alpha 7$ MLA y α -BgTx antagonizaron el efecto de la MDMA, mientras que el antagonista $\alpha 4\beta 2$ dihidro- β -eritroidina no lo modificó. Por lo tanto, el incremento de Ca^{2+} se iniciaría tras la activación de los receptores $\alpha 7$ y la afinidad por los $\alpha 4\beta 2$ obtenida de los ensayos de unión estaría de acuerdo con las propiedades antagonistas descubiertas en los ensayos de electrofisiología [118].

Asimismo se describió una implicación secundaria de los canales de calcio dependientes de voltaje y de la liberación de Ca^{2+} inducida por Ca^{2+} desde el retículo endoplásmico tras la aplicación de MDMA, procesos que ya se habían descrito que acompañaban a la activación de los nAChR $\alpha 7$ [40, 117]. El incremento de Ca^{2+} inducido por MDMA resultó también dependiente de los niveles extracelulares de este catión, ya que su supresión anuló completamente el efecto de esta anfetamina. De este modo, el proceso se iniciaría tras la apertura de los canales acoplados a los nAChR $\alpha 7$ y paralelamente los canales dependientes de voltaje. El Ca^{2+} entrante induciría la liberación de más Ca^{2+} desde el retículo. Si bien no pueden descartarse totalmente otros mecanismos diferentes a la activación de los nAChR $\alpha 7$, la prácticamente completa inhibición de la respuesta por MLA y α -BgTx indica que dicha activación juega, como mínimo, un papel preponderante en el proceso.

Efectos a largo plazo

Ya que los nAChR se desensibilizan tras una estimulación continuada, se estudiaron los efectos de una incubación de 24 h con MDMA sobre los niveles basales de Ca^{2+} en células PC 12 [118]. Después de la incubación y de retirarse la droga, las células tratadas con MDMA presentaban niveles basales

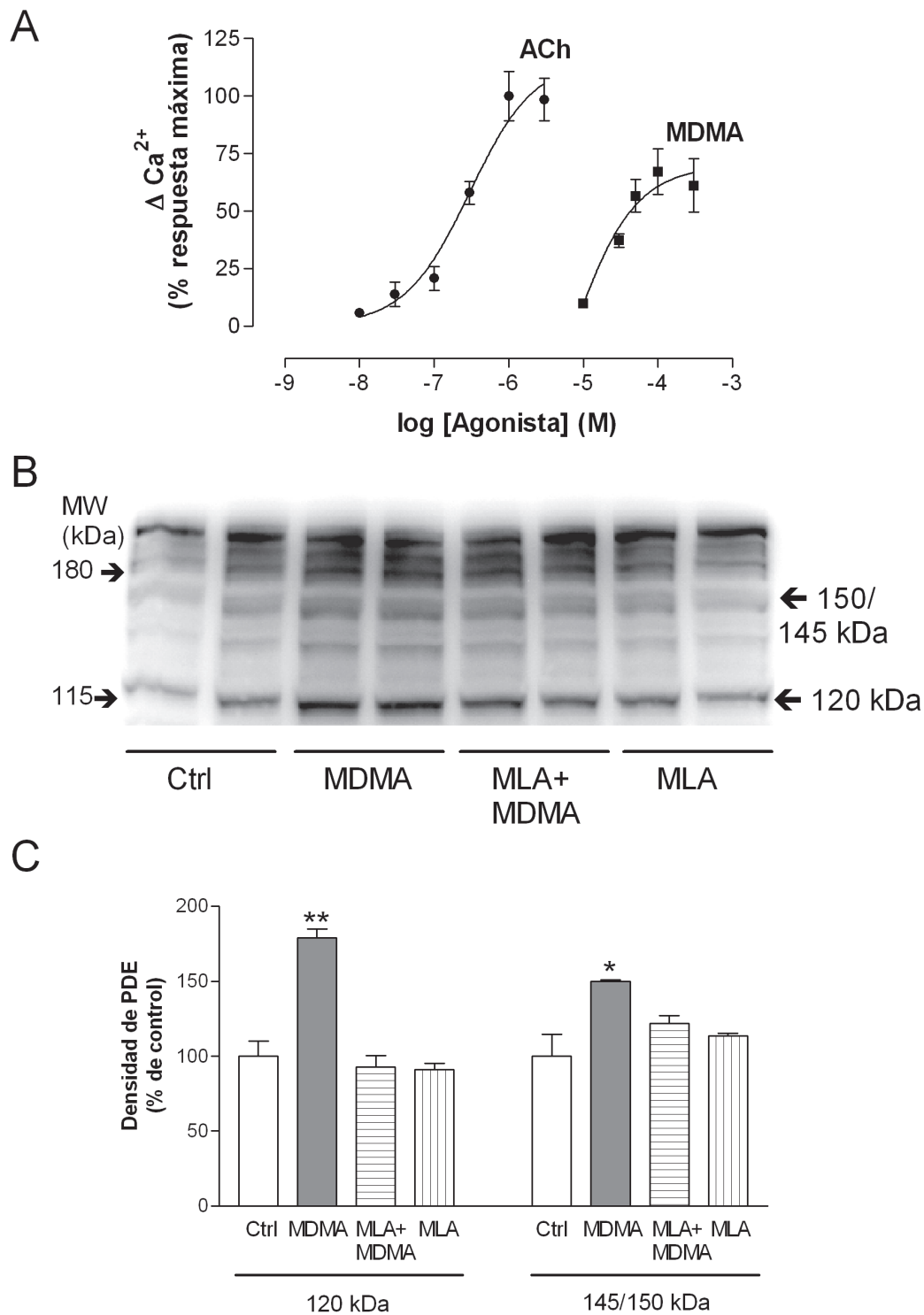


Figura 3. A. Curvas concentración-respuesta representativas que muestran el incremento del Ca^{2+} intracelular inducido por MDMA y ACh en células PC 12. B. Western blot representativo de los productos de degradación de la espectrina (PDE) producidos por la activación de la calpaína (145 y 150 kDa) y de la caspasa 3 (120 y 150 kDa) después del tratamiento de células PC 12 durante 24 h con medio de cultivo (Ctrl), MDMA (50 μ M), MLA + MDMA y MLA sola. A la derecha se indica la localización de los marcadores de peso molecular. EL panel C muestra la cuantificación relativa de los niveles de PDE. Los datos son la media \pm EEM de tres cultivos diferentes, cargados por duplicado en los geles. * $P < 0,05$ y ** $P < 0,001$ vs. control. Reproducido de [40].

de Ca^{2+} significativamente mayores que las control. Curiosamente, si se preincubaban con nicotina sólo presentaban niveles incrementados al cabo de 1h, pero no a tiempos más largos de incubación. Ello indicaba que las células eran capaces al cabo de pocas horas de tamponar el incremento de calcio inducido por nicotina, pero no la inducida por MDMA, lo que indicaría una mayor vulnerabilidad a esta droga, ya que permitiría una entrada prolongada de Ca^{2+} que podría conducir a un proceso similar a la excitotoxicidad.

La entrada sostenida de Ca^{2+} inducida por MDMA podría favorecer su citotoxicidad a través de la activación de vías dependientes de Ca^{2+} como la calpaína. La calpaína es una proteasa dependiente de Ca^{2+} cuya activación está presente en diversos tipos de enfermedades neurodegenerativas como la excitotoxicidad asociada a daño cerebral traumático, la isquemia y la hipertermia [119, 120]. La calpaína degrada rápidamente una proteína del citoesqueleto, la espectrina, dando fragmentos de 145 y 150 kDa.

La incubación de las células PC 12 con MDMA durante 24 h indujo un incremento significativo de la fragmentación de la espectrina, detectándose por Western blot un aumento de los fragmentos de 145 y 150 kDa, lo cual indica activación de calpaína. Asimismo se detectó un incremento de un producto de 120 kDa que, conjuntamente al aumento de los niveles del fragmento de 150 kDa, indicaba la activación de la caspasa 3 (**Fig. 3B**). El antagonista $\alpha 7$ MLA antagonizó los incrementos en los productos de degradación de la espectrina, lo cual indicaba nuevamente que los nAChR $\alpha 7$ jugaban un papel clave en este proceso.

Regulación al alza funcional

Paralelamente a la regulación al alza en la fijación de radioligando, los nAChR pueden sufrir cambios en su estequiometría y un incremento en su estado funcional (regulación al alza funcional) después del contacto prolongado con un ligando [104]. Dicha regulación al alza también se produce a un nivel post-transcripcional. La incubación de células PC 12 con MDMA durante 24 h produjo un incremento en sus respuestas a los agonistas nicotínicos PNU 282987 (selectivo $\alpha 7$) y 5-I-A-85380 (selectivo para los receptores con subunidad $\beta 2$)[118]. Ello indica que la MDMA también es capaz de inducir regulación al alza funcional de los nAChR.

Consideraciones finales y perspectivas

Los derivados anfetamínicos son todavía una familia de drogas con una elevada incidencia de abuso, principalmente utilizadas con fines sociales y recreacionales. Si bien los usuarios creen que son drogas seguras, existe una clara evidencia de deterioro cognitivo y dependencia en consumidores habituales [121]. En este artículo se han revisado las investigaciones que han aportado una nueva pieza al rompecabezas que constituye los efectos celulares de estas drogas, el efecto sobre los nAChR. Un aspecto a destacar es la observación de una entrada prolongada de calcio en las células inducida por MDMA y mediada por los nAChR $\alpha 7$, que lleva a la activación de vías citotóxicas y podría ser responsable de los efectos neurotóxicos a largo plazo en consumidores habituales.

Por otra parte, independientemente de la acción antagonista de la MDMA sobre los nAChR heteroméricos, el efecto regulador de estas sustancias sobre la densidad de población de nAChR podría ser responsable de ciertos trastornos neuropsiquiátricos.

Una de las posibles aplicaciones de estos descubrimientos podría ser la prevención de los efectos no deseados que producen estas drogas, tal y como demuestran los experimentos de neuroprotección. Si bien cuando nos referimos a una droga de abuso, la forma más aconsejable de prevención es no consumirla, este nuevo mecanismo de acción proporcionaría nuevas estrategias para tratar o disminuir la adicción o algunos de los efectos perjudiciales que causan estas drogas.

La memantina ha mostrado resultados prometedores en el tratamiento de la adicción a anfetamina [122]. Sin embargo, en la actualidad no existen fármacos aprobados en la UE o en los EEUU para el tratamiento de la adicción a MA o MDMA. El tratamiento con fluoxetina se ha recomendado como protección de la neurotoxicidad serotoninérgica a largo plazo inducida por MDMA, dados los efectos neuroprotectores mostrados en diversos trabajos con animales de experimentación [123; 124]. Al bloquear el SERT de manera sostenida impide la entrada de la droga en el terminal neuronal y que ésta ejerza sus efectos neurotóxicos. Sin embargo, recientemente se ha informado de que la fluoxetina reduce el aclaramiento de la MDMA y uno de sus metabolitos, la metilendioxianfetamina, lo que se traduciría en un riesgo aumentado de los efectos tóxicos agudos de la MDMA [125].

La MDMA se había utilizado como coadyuvante en la psicoterapia, pero sus efectos adversos llevaron a su retirada. También se ha ensayado y ha sido propuesta como fármaco para tratar trastornos de ansiedad como el estrés post-traumático [126], pero por los mismos motivos existe reticencia para dicho uso. Los datos recopilados en este artículo sugieren un posible nuevo mecanismo neuroprotector frente a estos efectos (antagonismo de los nAChR $\alpha 7$) que, si se ensayara en humanos y resultara eficaz, podría llevar en un futuro a reconsiderar o facilitar su uso médico para estas aplicaciones.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado por el Plan Nacional sobre Drogas (2008-I003). Generalitat de Catalunya (2005SGR00793, 2009SGR977) y el Ministerio de Educación y Ciencia (SAF2006-01456).

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses en todo lo expuesto en este artículo.

Referencias bibliográficas

1. Capela JP, Carmo H, Remiao F, Bastos ML, Meisel A, Carvalho F. Molecular and cellular mechanisms of ecstasy-induced neurotoxicity: an overview. *Mol Neurobiol* 2009; 39(3):210-271.
2. Krasnova IN, Cadet JL. Methamphetamine toxicity and messengers of death. *Brain Res Rev* 2009; 60(2):379-407.
3. Lyles J, Cadet JL. Methylendioxyamphetamine (MDMA, Ecstasy) neurotoxicity: cellular and molecular mechanisms. *Brain Res Brain Res Rev* 2003; 42(2):155-168.
4. Thrash B, Karuppagounder SS, Uthayathas S, Suppiramian V, Dhanasekaran M. Neurotoxic effects of methamphetamine. *Neurochem Res* 2010; 35(1):171-179.
5. Karlsen SN, Spigset O, Slordal L. The dark side of ecstasy: neuropsychiatric symptoms after exposure to 3,4-methylendioxyamphetamine. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008; 102(1):15-24.
6. McCann UD, Mertl M, Eligulashvili V, Ricaurte GA. Cognitive performance in (+/-) 3,4-methylendioxyamphetamine (MDMA, "ecstasy") users: a controlled study. *Psychopharmacology* 1999; 143(4):417-425.
7. Parrott AC, Lees A, Garnham NJ, Jones M, Wesnes K. Cognitive performance in recreational users of MDMA of 'ecstasy': evidence for memory deficits. *Journal of Psychopharmacology* 1998; 12(1):79-83.
8. Reneman L, Endert E, de Bruin K, Lavalaye J, Feenstra MG, de Wolff FA et al. The acute and chronic effects of MDMA ("ecstasy") on cortical 5-HT_{2A} receptors in rat and human brain. *Neuropsychopharmacology* 2002; 26(3):387-396.
9. Rogers G, Elston J, Garside R, Roome C, Taylor R, Younger P et al. The harmful health effects of recreational ecstasy: a systematic review of observational evidence. *Health Technol Assess* 2009; 13(6):iii-xii, 1.
10. Volkow ND, Chang L, Wang GJ, Fowler JS, Ding YS, Sedler M et al. Low level of brain dopamine D2 receptors in methamphetamine abusers: association with metabolism in the orbitofrontal cortex. *Am J Psychiatry* 2001; 158(12):2015-2021.
11. Nulsen CE, Fox AM, Hammond GR. Differential effects of ecstasy on short-term and working memory: a meta-analysis. *Neuropsychol Rev* 2010; 20(1):21-32.
12. Ricaurte GA, Guillery RW, Seiden LS, Schuster CR, Moore RY. Dopamine nerve terminal degeneration produced by high doses of methylamphetamine in the rat brain. *Brain Res* 1982; 235(1):93-103.
13. Ellison G, Eison MS, Huberman HS, Daniel F. Long-term changes in dopaminergic innervation of caudate nucleus after continuous amphetamine administration. *Science* 1978; 201(4352):276-278.
14. Hotchkiss AJ, Gibb JW. Long-term effects of multiple doses of methamphetamine on tryptophan hydroxylase and tyrosine hydroxylase activity in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 1980; 214(2):257-262.
15. Escubedo E, Guitart L, Sureda FX, Jimenez A, Pubill D, Pallas M et al. Microgliosis and down-regulation of adenosine transporter induced by methamphetamine in rats. *Brain Research* 1998; 814(1-2):120-126.
16. Ricaurte GA, Seiden LS, Schuster CR. Further evidence that amphetamines produce long-lasting dopamine neurochemical deficits by destroying dopamine nerve fibers. *Brain Res* 1984; 303(2):359-364.
17. Pubill D, Canudas AM, Pallas M, Camins A, Camarasa J, Escubedo E. Different glial response to methamphetamine- and methylenedioxyamphetamine-induced neurotoxicity. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2003; 367(5):490-499.
18. Quinton MS, Yamamoto BK. Causes and consequences of methamphetamine and MDMA toxicity. *AAPS J* 2006; 8(2):E337-E347.
19. Stone DM, Hanson GR, Gibb JW. Differences in the central serotonergic effects of methylenedioxyamphetamine (MDMA) in mice and rats. *Neuropharmacology* 1987; 26(11):1657-1661.
20. O'Callaghan JP, Miller DB. Neurotoxicity profiles of substituted amphetamines in the C57BL/6J mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270(2):741-751.
21. Riddle EL, Fleckenstein AE, Hanson GR. Mechanisms of methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity. *AAPS J* 2006; 8(2):E413-E418.
22. Gibb JW, Stone DM, Johnson M, Hanson GR. Role of dopamine in the neurotoxicity induced by amphetamines and related designer drugs. *NIDA Res Monogr* 1989; 94:161-178.
23. Chiueh CC, Miyake H, Peng MT. Role of dopamine autoxidation, hydroxyl radical generation, and calcium overload in underlying mechanisms involved in MPTP-induced parkinsonism. *Adv Neurol* 1993; 60:251-258.
24. Garthwaite J. Neuronal nitric oxide synthase and the serotonin transporter get harmonious. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(19):7739-7740.
25. Nash JF, Yamamoto BK. Methamphetamine neurotoxicity and striatal glutamate release: comparison to 3,4-methylendioxyamphetamine. *Brain Res* 1992; 581(2):237-243.
26. Wang JQ, Lau YS. Dose-related alteration in nitric oxide synthase mRNA expression induced by amphetamine and the full D1 dopamine receptor agonist SKF-82958 in mouse striatum. *Neurosci Lett* 2001; 311(1):5-8.
27. Guilarte TR, Nihei MK, McGlothan JL, Howard AS. Methamphetamine-induced deficits of brain monoaminergic neuronal markers: distal axotomy or neuronal plasticity. *Neuroscience* 2003; 122(2):499-513.
28. Thomas DM, Walker PD, Benjamins JA, Geddes TJ, Kuhn DM. Methamphetamine neurotoxicity in dopamine nerve endings of the striatum is associated with microglial activation. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 311(1):1-7.

29. Monks TJ, Jones DC, Bai F, Lau SS. The role of metabolism in 3,4-(+)-methylenedioxyamphetamine and 3,4-(+)-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) toxicity. *Ther Drug Monit* 2004; 26(2):132-136.
30. Capela JP, Ruscher K, Lautenschlager M, Freyer D, Dirnagl U, Gaio AR et al. Ecstasy-induced cell death in cortical neuronal cultures is serotonin 2A-receptor-dependent and potentiated under hyperthermia. *Neuroscience* 2006; 139(3):1069-1081.
31. Wrona MZ, Dryhurst G. Oxidation of serotonin by superoxide radical: implications to neurodegenerative brain disorders. *Chem Res Toxicol* 1998; 11(6):639-650.
32. Pubill D, Chipana C, Camins A, Pallas M, Camarasa J, Escubedo E. Free radical production induced by methamphetamine in rat striatal synaptosomes. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 204(1):57-68.
33. Gotti C, Moretti M, Gaimarri A, Zanardi A, Clementi F, Zoli M. Heterogeneity and complexity of native brain nicotinic receptors. *Biochem Pharmacol* 2007; 74(8):1102-1111.
34. Hogg RC, Raggenbass M, Bertrand D. Nicotinic acetylcholine receptors: from structure to brain function. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2003; 147:1-46.
35. Taly A, Corringier PJ, Guedin D, Lestage P, Changeux JP. Nicotinic receptors: allosteric transitions and therapeutic targets in the nervous system. *Nat Rev Drug Discov* 2009; 8(9):733-750.
36. Le Novère N, Corringier PJ, Changeux JP. The diversity of subunit composition in nAChRs: evolutionary origins, physiologic and pharmacologic consequences. *J Neurobiol* 2002; 53(4):447-456.
37. Gotti C, Clementi F. Neuronal nicotinic receptors: from structure to pathology. *Prog Neurobiol* 2004; 74(6):363-396.
38. Fucile S. Ca²⁺ permeability of nicotinic acetylcholine receptors. *Cell Calcium* 2004; 35(1):1-8.
39. Jatzke C, Watanabe J, Wollmuth LP. Voltage and concentration dependence of Ca(2+) permeability in recombinant glutamate receptor subtypes. *J Physiol* 2002; 538(Pt 1):25-39.
40. Dajas-Bailador F, Wonnacott S. Nicotinic acetylcholine receptors and the regulation of neuronal signalling. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25(6):317-324.
41. Deng X, Cadet JL. Methamphetamine administration causes overexpression of nNOS in the mouse striatum. *Brain Research* 1999; 851(1-2):254-257.
42. Kramer HK, Poblete JC, Azmitia EC. Activation of protein kinase C (PKC) by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) occurs through the stimulation of serotonin receptors and transporter. *Neuropsychopharmacology* 1997; 17(3):117-129.
43. Jensen AA, Frolund B, Liljefors T, Krogsgaard-Larsen P. Neuronal nicotinic acetylcholine receptors: structural revelations, target identifications, and therapeutic inspirations. *J Med Chem* 2005; 48(15):4705-4745.
44. Champtiaux N, Changeux JP. Knock-out and knock-in mice to investigate the role of nicotinic receptors in the central nervous system. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 2002; 1(4):319-330.
45. Drago J, McColl CD, Horne MK, Finkelstein DI, Ross SA. Neuronal nicotinic receptors: insights gained from gene knockout and knockin mutant mice. *Cell Mol Life Sci* 2003; 60(7):1267-1280.
46. Picciotto MR, Caldarone BJ, King SL, Zachariou V. Nicotinic receptors in the brain. Links between molecular biology and behavior. *Neuropsychopharmacology* 2000; 22(5):451-465.
47. Picciotto MR, Caldarone BJ, Brunzell DH, Zachariou V, Stevens TR, King SL. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit knockout mice: physiological and behavioral phenotypes and possible clinical implications. *Pharmacol Ther* 2001; 92(2-3):89-108.
48. Dani JA, Harris RA. Nicotine addiction and comorbidity with alcohol abuse and mental illness. *Nat Neurosci* 2005; 8(11):1465-1470.
49. Hom DG, Jiang D, Hong EJ, Mo JQ, Andersen JK. Elevated expression of glutathione peroxidase in PC12 cells results in protection against methamphetamine but not MPTP toxicity. *Brain Res Mol Brain Res* 1997; 46(1-2):154-160.
50. Jayanthi S, Ladenheim B, Andrews AM, Cadet JL. Overexpression of human copper/zinc superoxide dismutase in transgenic mice attenuates oxidative stress caused by methylenedioxymethamphetamine (Ecstasy). *Neuroscience* 1999; 91(4):1379-1387.
51. Maragos WF, Jakel R, Chesnut D, Pocernich CB, Butterfield DA, St CD et al. Methamphetamine toxicity is attenuated in mice that overexpress human manganese superoxide dismutase. *Brain Res* 2000; 878(1-2):218-222.
52. Imam SZ, Ali SF. Selenium, an antioxidant, attenuates methamphetamine-induced dopaminergic toxicity and peroxynitrite generation. *Brain Res* 2000; 855(1):186-191.
53. Imam SZ, el-Yazal J, Newport GD, Itzhak Y, Cadet JL, Slikker W, Jr. et al. Methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity: role of peroxynitrite and neuroprotective role of antioxidants and peroxynitrite decomposition catalysts. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 939:366-380.
54. Virmani A, Gaetani F, Imam S, Binienda Z, Ali S. The protective role of L-carnitine against neurotoxicity evoked by drug of abuse, methamphetamine, could be related to mitochondrial dysfunction. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 965:225-232.
55. Fukami G, Hashimoto K, Koike K, Okamura N, Shimizu E, Iyo M. Effect of antioxidant N-acetyl-L-cysteine on behavioral changes and neurotoxicity in rats after administration of methamphetamine. *Brain Res* 2004; 1016(1):90-95.
56. Pubill D, Verdaguer E, Sureda FX, Camins A, Pallas M, Camarasa J et al. Carnosine prevents methamphetamine-induced gliosis but not dopamine terminal loss in rats. *Eur J Pharmacol* 2002; 448(2-3):165-168.
57. Seiden LS, Lew R, Malberg JE. Neurotoxicity of methamphetamine and methylenedioxymethamphetamine. *Neurotox Res* 2001; 3(1):101-116.
58. Tata DA, Raudensky J, Yamamoto BK. Augmentation of methamphetamine-induced toxicity in the rat striatum by unpredictable stress: contribution of enhanced hyperthermia. *Eur J Neurosci* 2007; 26(3):739-748.
59. Bowyer JF, Davies DL, Schmued L, Broening HW, Newport GD, Slikker W, Jr. et al. Further studies of the role of hyperthermia in methamphetamine neurotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 268(3):1571-1580.
60. Ali SF, Newport GD, Slikker W, Jr. Methamphetamine-induced dopaminergic toxicity in mice. Role of environmental temperature and pharmacological agents. *Ann N Y Acad Sci* 1996; 801:187-198.
61. Chipana C, Camarasa J, Pubill D, Escubedo E. Protection against MDMA-induced dopaminergic neurotoxicity in mice by methyllycaconitine: involvement of nicotinic receptors. *Neuropharmacology* 2006; 51(4):885-895.
62. Sulzer D, Rayport S. Amphetamine and other psychostimulants reduce pH gradients in midbrain dopaminergic neurons and chromaffin granules: a mechanism of action. *Neuron* 1990; 5(6):797-808.
63. Vatassery GT. Oxidation of vitamin E, vitamin C, and thiols in rat brain synaptosomes by peroxynitrite. *Biochem Pharmacol* 1996; 52(4):579-586.
64. Vatassery GT, Lai JC, DeMaster EG, Smith WE, Quach HT. Oxidation of vitamin E and vitamin C and inhibition of brain mitochondrial oxidative phosphorylation by peroxynitrite. *J Neurosci Res* 2004; 75(6):845-853.
65. Jekabsons A, Ivanoviene L, Brown GC, Borutaite V. Nitric oxide and calcium together inactivate mitochondrial complex I and induce cytochrome c release. *J Mol Cell Cardiol* 2003; 35(7):803-809.
66. Ali SF, Itzhak Y. Effects of 7-nitroindazole, an NOS inhibitor on methamphetamine-induced dopaminergic and serotonergic neurotoxicity in mice. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 844:122-130.
67. Colado MI, Camarero J, Mehan AO, Sanchez V, Esteban B, Elliott JM et al. A study of the mechanisms involved in the neurotoxic action of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ecstasy) on dopamine neurones in mouse brain. *Br J Pharmacol* 2001; 134(8):1711-1723.

68. Darvesh AS, Yamamoto BK, Gudelsky GA. Evidence for the involvement of nitric oxide in 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced serotonin depletion in the rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312(2):694-701.
69. Imam SZ, Crow JP, Newport GD, Islam F, Slikker W, Jr., Ali SF. Methamphetamine generates peroxynitrite and produces dopaminergic neurotoxicity in mice: protective effects of peroxynitrite decomposition catalyst. *Brain Res* 1999; 837(1-2):15-21.
70. Itzhak Y, Martin JL, Ail SF. nNOS inhibitors attenuate methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity but not hyperthermia in mice. *Neuroreport* 2000; 11(13):2943-2946.
71. Sanchez V, Zeini M, Camarero J, O'Shea E, Bosca L, Green AR et al. The nNOS inhibitor, AR-R17477AR, prevents the loss of NF68 immunoreactivity induced by methamphetamine in the mouse striatum. *J Neurochem* 2003; 85(2):515-524.
72. Demiryurek AT, Cakici I, Kanzik I. Peroxynitrite: a putative cytotoxin. *Pharmacol Toxicol* 1998; 82(3):113-117.
73. Park SU, Ferrer JV, Javitch JA, Kuhn DM. Peroxynitrite inactivates the human dopamine transporter by modification of cysteine 342: potential mechanism of neurotoxicity in dopamine neurons. *J Neurosci* 2002; 22(11):4399-4405.
74. Foster JD, Pananusorn B, Vaughan RA. Dopamine transporters are phosphorylated on N-terminal serines in rat striatum. *J Biol Chem* 2002; 277(28):25178-25186.
75. Giambalvo CT. Differential effects of amphetamine transport vs. dopamine reverse transport on particulate PKC activity in striatal synaptoneuroosomes. *Synapse* 2003; 49(2):125-133.
76. Sandoval V, Riddle EL, Ugarte YV, Hanson GR, Fleckenstein AE. Methamphetamine-induced rapid and reversible changes in dopamine transporter function: an in vitro model. *J Neurosci* 2001; 21(4):1413-1419.
77. Zhang L, Coffey LL, Reith ME. Regulation of the functional activity of the human dopamine transporter by protein kinase C. *Biochem Pharmacol* 1997; 53(5):677-688.
78. Escubedo E, Chipana C, Perez-Sanchez M, Camarasa J, Pubill D. Methyllycaconitine prevents methamphetamine-induced effects in mouse striatum: involvement of alpha7 nicotinic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 315(2):658-667.
79. Chipana C, Garcia-Rates S, Camarasa J, Pubill D, Escubedo E. Different oxidative profile and nicotinic receptor interaction of amphetamine and 3,4-methylenedioxy-methamphetamine. *Neurochem Int* 2008; 52(3):401-410.
80. Liu PS, Liaw CT, Lin MK, Shin SH, Kao LS, Lin LF. Amphetamine enhances Ca²⁺ entry and catecholamine release via nicotinic receptor activation in bovine adrenal chromaffin cells. *Eur J Pharmacol* 2003; 460(1):9-17.
81. Skau KA, Gerald MC. Inhibition of alpha-bungarotoxin binding to rat and mouse diaphragms by amphetamine and related nonquaternary compounds. *J Pharmacol Exp Ther* 1978; 205(1):69-76.
82. Klingler W, Heffron JJ, Jurkat-Rott K, O'Sullivan G, Alt A, Schlesinger F et al. 3,4-Methylenedioxy-methamphetamine (ecstasy) activates skeletal muscle nicotinic acetylcholine receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 314(3):1267-1273.
83. Hastings TG, Lewis DA, Zigmond MJ. Role of oxidation in the neurotoxic effects of intrastriatal dopamine injections. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(5):1956-1961.
84. Chipana C, Torres I, Camarasa J, Pubill D, Escubedo E. Memantine protects against amphetamine derivatives-induced neurotoxic damage in rodents. *Neuropharmacology* 2008; 54(8):1254-1263.
85. Cao BJ, Reith ME. Nitric oxide inhibits uptake of dopamine and N-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺) but not release of MPP⁺ in rat C6 glioma cells expressing human dopamine transporter. *Br J Pharmacol* 2002; 137(8):1155-1162.
86. Aracava Y, Pereira EF, Maelicke A, Albuquerque EX. Memantine blocks alpha7* nicotinic acetylcholine receptors more potently than n-methyl-D-aspartate receptors in rat hippocampal neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 312(3):1195-1205.
87. Aznar S, Kostova V, Christiansen SH, Knudsen GM. Alpha 7 nicotinic receptor subunit is present on serotonin neurons projecting to hippocampus and septum. *Synapse* 2005; 55(3):196-200.
88. Chipana C, Camarasa J, Pubill D, Escubedo E. Memantine prevents MDMA-induced neurotoxicity. *Neurotoxicology* 2008; 29(1):179-183.
89. Northrop NA, Smith LP, Yamamoto BK, Eyerman DJ. Regulation of glutamate release by alpha7 nicotinic receptors: differential role in methamphetamine-induced damage to dopaminergic and serotonergic terminals. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 336(3):900-907.
90. Unger C, Svedberg MM, Schutte M, Bednar I, Nordberg A. Effect of memantine on the alpha 7 neuronal nicotinic receptors, synaptophysin- and low molecular weight MAP-2 levels in the brain of transgenic mice over-expressing human acetylcholinesterase. *J Neural Transm* 2005; 112(2):255-268.
91. Green BT, Welch KD, Gardner DR, Stegelmeier BL, Pfister JA, Cook D et al. A toxicokinetic comparison of norditerpenoid alkaloids from *Delphinium barbeyi* and *D. glaucescens* in cattle. *J Appl Toxicol* 2011; 31(1):20-26.
92. Pfister JA, Panter KE, Manners GD. Effective dose in cattle of toxic alkaloids from tall larkspur (*Delphinium barbeyi*). *Vet Hum Toxicol* 1994; 36(1):10-11.
93. Simon NG, Mattick RP. The impact of regular ecstasy use on memory function. *Addiction* 2002; 97(12):1523-1529.
94. Simon SL, Dacey J, Glynn S, Rawson R, Ling W. The effect of relapse on cognition in abstinent methamphetamine abusers. *J Subst Abuse Treat* 2004; 27(1):59-66.
95. Kovacs GG, Ando RD, Adori C, Kirilly E, Benedek A, Palkovits M et al. Single dose of MDMA causes extensive decrement of serotonergic fibre density without blockage of the fast axonal transport in Dark Agouti rat brain and spinal cord. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2007; 33(2):193-203.
96. Battaglia G, Yeh SY, De Souza EB. MDMA-induced neurotoxicity: parameters of degeneration and recovery of brain serotonin neurons. *Pharmacol Biochem Behav* 1988; 29(2):269-274.
97. Jimenez A, Jorda EG, Verdaguer E, Pubill D, Sureda FX, Canudas AM et al. Neurotoxicity of amphetamine derivatives is mediated by caspase pathway activation in rat cerebellar granule cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004; 196(2):223-234.
98. Sprague JE, Everman SL, Nichols DE. An integrated hypothesis for the serotonergic axonal loss induced by 3,4-methylenedioxy-methamphetamine. *Neurotoxicology* 1998; 19(3):427-441.
99. Camarasa J, Marimon JM, Rodrigo T, Escubedo E, Pubill D. Memantine prevents the cognitive impairment induced by 3,4-methylenedioxy-methamphetamine in rats. *Eur J Pharmacol* 2008; 589(1-3):132-139.
100. Camarasa J, Rodrigo T, Pubill D, Escubedo E. Memantine is a useful drug to prevent the spatial and non-spatial memory deficits induced by methamphetamine in rats. *Pharmacol Res* 2010; 62(5):450-456.
101. Garcia-Rates S, Camarasa J, Escubedo E, Pubill D. Methamphetamine and 3,4-methylenedioxy-methamphetamine interact with central nicotinic receptors and induce their up-regulation. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; 223(3):195-205.
102. Flores CM, Rogers SW, Pabreza LA, Wolfe BB, Kellar KJ. A subtype of nicotinic cholinergic receptor in rat brain is composed of alpha 4 and beta 2 subunits and is up-regulated by chronic nicotine treatment. *Mol Pharmacol* 1992; 41(1):31-37.
103. Marks MJ, Burch JB, Collins AC. Effects of chronic nicotine infusion on tolerance development and nicotinic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 226(3):817-825.
104. Gaimarri A, Moretti M, Riganti L, Zanardi A, Clementi F, Gotti C. Regulation of neuronal nicotinic receptor traffic and expression. *Brain Res Rev* 2007; 55(1):134-143.
105. Picciotto MR. Nicotine as a modulator of behavior: beyond the inverted U. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24(9):493-499.

106. Pauly JR, Marks MJ, Robinson SF, van de Kamp JL, Collins AC. Chronic nicotine and mecamylamine treatment increase brain nicotinic receptor binding without changing alpha 4 or beta 2 mRNA levels. *J Pharmacol Exp Ther* 1996; 278(1):361-369.
107. Peng X, Gerzanich V, Anand R, Wang F, Lindstrom J. Chronic nicotine treatment up-regulates alpha3 and alpha7 acetylcholine receptor subtypes expressed by the human neuroblastoma cell line SH-SY5Y. *Mol Pharmacol* 1997; 51(5):776-784.
108. Blumenthal EM, Conroy WG, Romano SJ, Kassner PD, Berg DK. Detection of functional nicotinic receptors blocked by alpha-bungarotoxin on PC12 cells and dependence of their expression on post-translational events. *J Neurosci* 1997; 17(16):6094-6104.
109. Peng X, Gerzanich V, Anand R, Whiting PJ, Lindstrom J. Nicotine-induced increase in neuronal nicotinic receptors results from a decrease in the rate of receptor turnover. *Mol Pharmacol* 1994; 46(3):523-530.
110. Sallette J, Pons S, Devillers-Thiery A, Soudant M, Prado dC, Changeux JP et al. Nicotine upregulates its own receptors through enhanced intracellular maturation. *Neuron* 2005; 46(4):595-607.
111. Vallejo YF, Buisson B, Bertrand D, Green WN. Chronic nicotine exposure upregulates nicotinic receptors by a novel mechanism. *J Neurosci* 2005; 25(23):5563-5572.
112. Gopalakrishnan M, Molinari EJ, Sullivan JP. Regulation of human alpha4beta2 neuronal nicotinic acetylcholine receptors by cholinergic channel ligands and second messenger pathways. *Mol Pharmacol* 1997; 52(3):524-534.
113. Nashmi R, Lester H. Cell autonomy, receptor autonomy, and thermodynamics in nicotine receptor up-regulation. *Biochem Pharmacol* 2007; 74(8):1145-1154.
114. Hansen JP, Riddle EL, Sandoval V, Brown JM, Gibb JW, Hanson GR et al. Methylenedioxymethamphetamine decreases plasmalemmal and vesicular dopamine transport: mechanisms and implications for neurotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 300(3):1093-1100.
115. Metzger RR, Hanson GR, Gibb JW, Fleckenstein AE. 3-4-Methylenedioxymethamphetamine-induced acute changes in dopamine transporter function. *European Journal of Pharmacology* 1998; 349(2-3):205-210.
116. Pubill D, Garcia-Rates S, Escubedo E, Camarasa J. In vivo upregulation of central nicotinic receptors induced by methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and its association with nicotine. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2010; 107(Suppl.1):533.
117. Dickinson JA, Hanrott KE, Mok MH, Kew JN, Wonnacott S. Differential coupling of alpha7 and non-alpha7 nicotinic acetylcholine receptors to calcium-induced calcium release and voltage-operated calcium channels in PC12 cells. *J Neurochem* 2007; 100(4):1089-1096.
118. Garcia-Rates S, Camarasa J, Sanchez-Garcia AI, Gandia L, Escubedo E, Pubill D. The effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on nicotinic receptors: intracellular calcium increase, calpain/caspase 3 activation, and functional upregulation. *Toxicol Appl Pharmacol* 2010; 244(3):344-353.
119. Buki A, Koizumi H, Povlishock JT. Moderate posttraumatic hypothermia decreases early calpain-mediated proteolysis and concomitant cytoskeletal compromise in traumatic axonal injury. *Exp Neurol* 1999; 159(1):319-328.
120. Pike BR, Zhao X, Newcomb JK, Posmantur RM, Wang KK, Hayes RL. Regional calpain and caspase-3 proteolysis of alpha-spectrin after traumatic brain injury. *Neuroreport* 1998; 9(11):2437-2442.
121. Degenhardt L, Bruno R, Topp L. Is ecstasy a drug of dependence? *Drug Alcohol Depend* 2010; 107(1):1-10.
122. Levi MS, Borne RF. A review of chemical agents in the pharmacotherapy of addiction. *Curr Med Chem* 2002; 9(20):1807-1818.
123. Sanchez V, Camarero J, Esteban B, Peter MJ, Green AR, Colado MI. The mechanisms involved in the long-lasting neuroprotective effect of fluoxetine against MDMA ('ecstasy')-induced degeneration of 5-HT nerve endings in rat brain. *Br J Pharmacol* 2001; 134(1):46-57.
124. Schmidt CJ. Neurotoxicity of the psychedelic amphetamine, methylenedioxymethamphetamine. *J Pharmacol Exp Ther* 1987; 240(1):1-7.
125. Upreti VV, Eddington ND. Fluoxetine pretreatment effects pharmacokinetics of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ECSTASY) in rat. *J Pharm Sci* 2008; 97(4):1593-1605.
126. Johansen PO, Krebs TS. How could MDMA (ecstasy) help anxiety disorders? A neurobiological rationale. *J Psychopharmacol* 2009; 23(4):389-391.

Síguenos:



En [Medicalia.org.es](http://medicalia.org.es)

Los médicos disponen de una red social para intercambiar experiencias clínicas, comentar casos y compartir conocimiento. También proporciona acceso gratuito a numerosas publicaciones. ¡Únase ahora!

<http://medicalia.org.es/>

Publish with iMedPub

<http://www.imedpub.com>

- ✓ "Farmacología y Toxicología" es una revista internacional para la distribución de información científica en español en relación con estas disciplinas, con un énfasis especial en sus frecuentes interrelaciones.
- ✓ Se considerarán para su publicación artículos de investigación originales, revisiones, ensayos, comunicaciones cortas o cartas al editor en cualquiera de los campos de la Farmacología y la Toxicología básica y clínica: molecular, celular, animal, ensayos clínicos, terapéutica, y nuevos métodos y tecnologías en medicina veterinaria y humana.
- ✓ La distribución de la información podrá hacerse bajo la modalidad de libre acceso o de pago, según lo determinen los autores.

Envíe sus artículos aquí:

<http://farmatocol.com/>