

ANEXO IV

JUSTIFICACION DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN EN DROGODEPENDENCIAS

MEMORIA CIENTÍFICA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

1ª ANUALIDAD  2ª ANUALIDAD  3ª ANUALIDAD  FINAL X

Número Expediente: 2010I024

Investigador Principal: **Mercè Correa Sanz**

**Otros Investigadores:**

Laura Font Hurtado

Marta Pardo Andrés

Laura López Cruz (contratada)

Maria Carbó-Gas (contratada)

**Título Proyecto o subproyecto:** IMPACTO DE LA DOSIS DE CAFEINA EN LAS "BEBIDAS ENERGETICAS" SOBRE LAS CONDUCTAS IMPLICADAS EN EL ABUSO Y LA ADICCION AL ALCOHOL: INTERACCION DE LOS SISTEMAS DE NEUROMODULACION ADENOSINERGICOS Y DOPAMINERGICOS.

**Título Proyecto coordinado en el que se integra** (Sólo en caso de ser un subproyecto)

**Organismo:** Universitat Jaume I

**Centro:** Facultat de Ciències Humanes i Socials

**Departamento:** Psicología Básica, Clínica y Psicobiología

**Comunidad Autónoma:** **Valenciana**

**Duración:** 3 años

**Fecha de inicio:** Enero de 2011

**Fecha de finalización:** Diciembre de 2013

**Año Convocatoria:** 2010

**Área Temática:** **Investigaciones sobre determinantes biológicos y culturales del policonsumo de drogas**

**Palabras Clave:** **Alcohol, Cafeína, Bebidas Energéticas**

**RESUMEN:** (Objetivo, ámbito de estudio, sujetos de estudio, instrumentalización, resultados, conclusiones. Máximo 2.000 palabras.)

Recientemente entre la población joven de diversos países, se ha incrementado el consumo de bebidas energéticas con alto contenido en cafeína como una manera de contrarrestar los efectos de la ingesta de dosis altas de alcohol. Aunque el consumo de bebidas energéticas a bajas dosis no es un problema en sí mismo, el consumo de altas dosis de cafeína y su combinación con el alcohol puede tener numerosos riesgos. Entre estos produce una sensación de mejora de las capacidades psicomotoras que no se corrobora con datos objetivos. Los pocos datos existentes sugieren que dado que el sujeto se percibe como menos incoordinado suele incrementar la cantidad de alcohol consumida. También, a largo plazo pudieran,

haber cambios conductuales que lleven al desarrollo y fortalecimiento de la adicción. El presente proyecto analiza los efectos de dosis moderadas y elevadas de cafeína en combinación con el alcohol en modelo animal. A nivel conductual se ha estudiado el efecto sobre diferentes parámetros motores y sobre el desarrollo de la sensibilización motora, los efectos sobre ansiedad, la preferencia por la interacción social y el cambio en la adquisición y los patrones de consumo y búsqueda del alcohol. Estos procesos conductuales son importantes componentes o manifestaciones de la motivación normal y patológica. Por ello se ha estudiado, mediante la técnica de expresión del gen temprano c-fos, cómo cambia la actividad de áreas cerebrales que regulan aspectos emocionales y activacionales implicados en la motivación. Así se ha estudiado, dentro del circuito que controla la motivación al Núcleo Accumbens (Nacb) y al Cortex Cingulado Anterior (CgA). Como áreas implicadas en la conducta motora se han estudiado diferentes regiones del estriado y como áreas implicadas en la regulación emocional se han analizado diferentes regiones de la amígdala.

La **cafeína y su metabolito teofilina** actúan sobre los **receptores de adenosina A1 y A2A que se encuentran colocalizados en el Nacb y el CgA** con receptores de dopamina D1 y D2 respectivamente. Por otro lado, se ha demostrado que el **etanol y sus metabolitos acetaldehído y acetato** también modulan el sistema de adenosina y potencian el sistema dopaminérgico mesolímbico y mesocortical. Dada esta convergencia en los mecanismos de acción de ambas drogas, uno de los objetivos centrales del presente proyecto de investigación ha sido estudiar los sistemas de neurotransmisión y neuromodulación dopaminérgico y adenosinérgico. También se ha estudiado el papel de los metabolitos de ambas sustancias como posibles mediadores de tales efectos.

Los sujetos experimentales han sido ratones macho de diversas cepas en función de los requerimientos del test conductual: CD1 (para los experimentos de locomoción), C57/6J (para los experimentos de ingesta de alcohol) y ratones homocigóticos KO para el receptor de adenosina A2A. Todos los ratones están en una franja de edad que corresponde con las primeras fases de la edad adulta. Hemos utilizado como herramientas farmacológicas, **antagonistas de los receptores de adenosina no selectivos como cafeína y teofilina y otros selectivos para los receptores A1 y A2A**. También se ha utilizado **etanol como solución para consumo y como sustancia administrada, al igual que sus metabolitos acetaldehído y acetato**.

Las conductas y paradigmas experimentales utilizados son **actividad locomotora en rueda de actividad**, procedimiento que genera altos niveles de actividad voluntaria, **coordinación motora en rotarod** paradigma que fuerza a los animales a andar coordinadamente y **actividad locomotora aguda y sensibilizada en campo abierto**. En cuanto a medidas de ansiedad hemos utilizado el **paradigma de enterramiento de objetos nuevos, laberinto elevado en cruz y caja de luz-oscuridad**. Así mismo, se ha introducido un paradigma nuevo de **preferencia por la interacción social** para estudiar en que medida la combinación de ambas sustancias altera a la sociabilidad y agresividad modulada por estas drogas. Finalmente hemos evaluado la **ingesta voluntaria de alcohol en paradigmas de consumo compulsivo y también de acceso libre**, teniendo en cuenta las diferencias individuales en consumo de alcohol y el impacto de la cafeína en estas diferencias.

Los **resultados** muestran que sólo dosis altas de cafeína (30 mg/kg, IP) modifican la coordinación motora producida por el alcohol. Ante dosis altas de alcohol (2 g/kg, IP) administradas de manera aguda, una dosis alta de cafeína mejora ligeramente, aunque de manera significativa dicho deterioro. Lo contrario ocurre en el caso del deterioro producido por dosis más bajas de alcohol (1,5 g/kg, IP), esta dosis de cafeína empeora la coordinación motora ya afectada por el alcohol. Estos efectos de la cafeína sobre la incoordinación motora producida por una dosis aguda de alcohol desaparecen en el caso de la pérdida de coordinación motora potenciada por la administración repetida de alcohol (1,5 g/kg) durante 5 sesiones.

Por otro lado la cafeína (15 y 30 mg/kg), potenció la estimulación motora producida por alcohol a dosis intermedias (1,5 y 2,5 g/kg) administradas de manera aguda. La conducta de ergirse sobre las patas traseras, la cual muestra la coordinación normal del animal, también se ve levemente mejorada por la cafeína en los animales que han recibido una dosis relativamente pequeña de alcohol (1,5 g/kg). Sin embargo, los efectos de dosis más altas de alcohol (3,5 g/kg) que producen un efecto depresor de la locomoción se vieron incrementados por la cafeína.

Por otro lado, en un paradigma como la rueda de actividad donde el alcohol fácilmente reduce la locomoción, la cafeína sólo consiguió mejorar levemente esta reducción producida por la dosis más alta de alcohol (2,5 g/kg) utilizada en este paradigma.

En cuanto al efecto de sensibilización cruzada, la cafeína aguda a una dosis (30 mg/kg) que induce locomoción, redujo la estimulación locomotora en aquellos animales que habían recibido una dosis repetida de alcohol (1,5 o 2,5 g/kg), los cuales habían demostrado estar sensibilizados a los efectos estimulantes del alcohol (1,5 g/kg). Así pues la cafeína parece no favorecer la sensibilización que el alcohol produce, sino bloquearla.

Todos estos efectos de la cafeína en interacción con el alcohol no son producidos por cambios en la farmacocinética de éste, dado que los niveles de alcohol en sangre no se vieron afectados por ninguna de las dosis de cafeína.

Por otro lado, dosis altas de cafeína tienen efectos ansiogénicos y a estas dosis (15 y 30 mg/kg), los animales reducen la interacción social con otros congéneres. El alcohol (1 g/kg) a dosis ansiolíticas consigue reducir este efecto de retirada social. Este efecto parece estar producido por el antagonismo de los receptores A2A de adenosina, ya que el antagonista selectivo de estos receptores MSX-3 produce este efecto incluso de manera más eficiente que la cafeína. Este resultado también encuentra apoyo experimental en el hecho de que se observa el mismo patrón conductual en los animales KO para el receptor A2A. Sin embargo, los receptores A1 no parecen tener un papel claro en ninguno de los anteriores efectos.

El patrón de expresión de cFos indica que los cambios en la actividad del Nacb core y del CgA correlacionan con los cambios en conducta encontrados tras la administración de alcohol, de cafeína, así como de sus respectivos metabolitos; acetaldehído y teofilina respectivamente.

En relación al impacto de la cafeína sobre el consumo de alcohol, hemos encontrado un patrón de resultados diferente dependiendo de los niveles de consumo basal de los animales así como de las condiciones de acceso al alcohol. Hemos demostrado que aunque todos los ratones de la cepa C57/6J consumen altos niveles de alcohol en cualquier condición, la cafeína sólo afectó a aquellos animales que consumían por encima de la mediana y a los que se consideró como “altos consumidores”. Así, demostramos que en un paradigma de acceso restringido, en el cual los animales beben una gran cantidad de alcohol en un breve periodo de tiempo, la dosis más alta de cafeína (20 mg/kg), redujo la ingesta voluntaria de alcohol. Este mismo efecto también se observa cuando los animales reciben la misma dosis de otra metilxantina; la teofilina. Sin embargo, no se observaron efectos de los antagonistas selectivos de los receptores A1, ni de los A2A, ni tampoco de su combinación. Además el efecto de las metilxantinas fue selectivo para el consumo de alcohol ya que no afectaron al consumo de otra solución con alto contenido en calorías como la sucrosa.

Por el contrario, en un paradigma de acceso ilimitado en el que los animales tienen acceso durante 24 horas al día y pueden elegir entre consumir agua o consumir alcohol, la administración de cafeína a dosis intermedias (5 y 10 mg/kg), incrementó el consumo de alcohol sólo en los altos consumidores nuevamente.

En el caso del impacto de la cafeína sobre la reinstauración del consumo de alcohol tras la retirada del acceso al mismo, una administración repetida de cafeína (5 ó 40 mg/kg), consigue reducir el consumo de alcohol tras episodios repetidos de retirada del acceso. Este efecto supresor del consumo puede ser debido al efecto ansiogénico que produce la cafeína en animales que pasan por un efecto de retirada de alcohol. Demostramos que, aunque los animales se acostumbran a los efectos ansiogénicos de la administración repetida de la cafeína, la retirada del alcohol favoreció la respuesta ansiogénica a dosis altas de cafeína, efecto que no aparece en animales que no consumieron alcohol.

Así pues como **conclusiones generales** hemos demostrado que el efecto de dosis altas de cafeína sobre los efectos del alcohol es complejo. El patrón que emerge sugiere que (a diferencia de lo que popularmente se cree) dosis altas de cafeína empeoran los efectos supresores del alcohol y consiguen incrementar el consumo de alcohol en aquellos sujetos que ya de normal tienen altos niveles de consumo. La interacción de estas dos sustancias parece deberse a su acción sobre el sistema de adenosina en áreas con alto contenido en dopamina y que son parte esencial del circuito cerebral que controla las conductas motivadas.

**ARTÍCULOS PUBLICADOS COMO CONSECUENCIA DE LA ACCIÓN:** Se adjuntará una separata de cada uno de ellos y se remitirá una copia en formato digital a [pndinvestigacion@msssi.es](mailto:pndinvestigacion@msssi.es) para el fondo bibliográfico de la Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas

## **ARTÍCULOS PUBLICADOS**

1.- Correa M, Salamone JD, Segovia KN, Pardo M, Longoni R, Spina L, Peana AT, Vinci S, Acquas E. (2012). Piecing together the puzzle of acetaldehyde as a

neuroactive agent. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**. 36: 404 - 430. (doi:10.1016/j.neubiorev.2011.07.009). **FI: 9.015**

2.- Escrig MA, Pardo M, Aragon CM, Correa M. (2012). Anxiogenic and stress-inducing effects of peripherally administered acetaldehyde in mice: similarities with the disulfiram-ethanol reaction. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**. 100: 404-412. (doi: 10.1016/j.pbb.2011.10.002). **FI: 2.624**

3.- Lopez-Cruz L, Salamone JD, Correa, M. (2013). The impact of caffeine on the behavioral effects of ethanol related to abuse and addiction: a review of animal studies. **Journal of Caffeine Research**. 3(1): 9-21. doi: 10.1089/jcr.2013.0003

4.- Segovia KN, Vontell R, López-Cruz L, Salamone JD, Correa M. (2013). c-Fos immunoreactivity in prefrontal, basal ganglia and limbic areas of the rat brain after central and peripheral administration of ethanol and its metabolite acetaldehyde. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**. 7:48. doi: 10.3389/fnbeh.2013.00048. **FI: 4.8**

5.- Pardo M, Betz AJ, San Miguel N, López-Cruz L, Salamone JD, Correa M. (2013). Acetate as an active metabolite of ethanol: studies of locomotion, loss of righting reflex, and anxiety in rodents. **Frontiers in Behavioral Neuroscience**. 7:81. doi:10.3389/fnbeh.2013.00081. **FI: 4.8**

6.- López-Cruz L, Pardo M, Salamone JD, Correa M. (2014). The nonselective adenosine receptor antagonists caffeine and theophylline differ in their efficacy on motor and mood effects: importance for their therapeutical profile. **Behavioral Brain Research**. 270:213-222. doi: 10.1016/j.bbr.2014.05.020. **FI: 3.327**.

#### **CAPÍTULOS DE LIBRO PUBLICADOS**

1.- Salamone, J.D., Correa, M., Randall P.A., Nunes, E.J., Pardo, M., Lopez-Cruz, L. (2013). **The role of adenosine in the ventral striatal circuits regulating behavioral activation and effort-related decision making: Importance for normal and pathological aspects of motivation**. Pp: 493-512. In: Adenosine: a Key Link between Metabolism and CNS Activity. S. Masino and D. Boison D (eds). Ed: Springer Berlag. ISBN 978-1-4614-3902-8.

2.- M Correa, N San Miguel, L López-Cruz, P Bayarri, L Monferrer and JD Salamone. (2014). **Caffeine Modulation of Alcohol Intake: Impact on its psychomotor effects and withdrawal**. In: Caffeine: Consumption, Side Effects and Impact on Performance and Mood. Tolley, A.S. (editor). Ed: NOVA Science Publishers, Inc. Series: Food and Beverage Consumption and Health. Pp: 89-111. ISBN: 978-1-63117-777-4 / 778-1 (eBook).

**ARTÍCULOS ENVIADOS PARA SU EVALUACIÓN, CUYOS DATOS HAN SIDO PRESENTADOS EN CONGRESOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS EN ACTAS.**

A.- López-Cruz L, Carbó-Gas M, Pardo M, Bayarri P, Valverde O, Ledent C, Salamone JD, Correa M. **Dissociation between anxiety and preference for social interaction in adenosine A2A receptor KO mice.** Genes, Brain and Behavior. (en revisión)

B.- López-Cruz L, San Miguel N, Bayarri P, Baqi Y, Müller CE, Salamone JD, Correa M. **Effect of caffeine and ethanol coadministration on social interaction and recognition in mice: role of adenosine receptors.** Neuropharmacology. (en revisión).

C.- San Miguel N, López-Cruz L, Bayarri P, Baqi Y, Müller CE, Salamone JD, Correa M. **Impact of caffeine on voluntary alcohol intake in mice: involvement of adenosine receptors and the role of individual differences.** Psychopharmacology. (en revisión)

D.- López-Cruz L, San Miguel N, Carbó-Gas M, Monferrer L, Pardo M, Salamone JD, Correa M. **Impact of high doses of caffeine on acute and sensitized motor activity modulated by ethanol in mice: changes in dopamine receptor dependent pDARPP-32.** Addiction Biology. (en revisión)

#### OBJETIVOS

**PLANTEADOS:** (Transcribir los del proyecto original)

**El objetivo general del presente proyecto de investigación es estudiar en modelos animales, la interacción entre dosis altas de cafeína, similares a las consumidas mediante la ingesta de las bebidas energéticas, y alcohol, especialmente en aquellos procesos conductuales implicados en el desarrollo de la adicción.**

**El segundo gran objetivo es conocer el sustrato neuroanatómico y neurofarmacológico de dicha interacción mediante el estudio de la implicación de los sistemas de neurotransmisión y neuromodulación dopaminérgico y adenosinérgico.**

**Objetivos concretos:**

1.- Aunque la cafeína a dosis bajas, reduce los efectos ansiolíticos de una administración aguda de etanol, desconocemos si dosis mayores como las potencialmente consumidas con varias bebidas energéticas, pueden ejercer un **efecto aditivo sobre la ansiedad producida a las pocas horas de la retirada aguda de alcohol**, empeorando por tanto el conjunto de síntomas que en humanos constituyen el fenómeno de “resaca”. Asimismo, estudiaremos si la administración de cafeína en un amplio rango de dosis puede **incrementar el efecto ansiogénico producido por la retirada del alcohol en animales dependientes**, lo cual podría en humanos llevar a un ataque de ansiedad. Estos dos tipos de estudios serán realizados también con antagonistas selectivos de los receptores A1 y A2A. Estudiaremos el sustrato neural de esta interacción a través del patrón de expresión de la proteína cFos en diferentes áreas del sistema mesolímbico, incluida la amígdala.

2.- Dado que uno de las razones fundamentales por las cuales en humanos se

consumen bebidas energéticas en combinación con alcohol es la reducción de los efectos sedativos e incoordinantes del alcohol, en el presente trabajo estudiaremos el impacto de un amplio rango de **dosis de cafeína administradas de manera aguda sobre parámetros motores inducidos por dosis elevadas de alcohol que produzcan, ataxia, incoordinación motora aguda y tolerancia a la incoordinación desarrollada tras la administración repetida de alcohol.** Estudiaremos también la implicación de los antagonistas selectivos de los receptores A1 y A2A en dichos efectos mediante manipulaciones farmacológicas y en animales KO para los receptores A2A. Los datos conductuales irán acompañados de medidas inmunohistoquímicas de expresión de la proteína cFos en diferentes áreas del encéfalo donde se coexpresan ambos tipos de receptores, especialmente en áreas del estriado y el Nacb que han demostrado estar implicadas en la regulación de estas conductas, entre otros, a través del sistema dopaminérgico.

3.- Estudiaremos si el desarrollo y la expresión de sensibilización motora producida por la administración repetida e intermitente de alcohol se ve potenciada por la administración de un amplio rango de dosis de cafeína. Con ello conoceremos si al igual que sucede con otras drogas de abuso, el policonsumo puede favorecer ciertos componentes implicados en el desarrollo de la adicción. Estudiaremos si este efecto depende de la activación de ambos receptores de adenosina mediante manipulaciones farmacológicas y en animales KO para los receptores A2A. Realizaremos medidas inmunohistoquímicas de expresión de cFos en áreas como el Nacb para esclarecer el posible sustrato neuroanatómico de la interacción de ambas sustancias.

4.- Dado que tanto el CPP y el CPA inducidos por etanol en ratones son fenómenos claros que explican cuales son las condiciones en las que el alcohol marca la saliencia de los estímulos asociados a su administración, y que con ello consiguen hacer que el sujeto se aproxime o se aleje, estudiaremos cual es el impacto de la cafeína, especialmente a dosis altas, sobre estos efectos del alcohol. También estudiaremos si la administración de dosis de cafeína que no produzcan un efecto por si mismas en estos paradigmas, tienen un efecto aditivo sobre dosis no efectivas de alcohol. En estudios independientes la cafeína será sustituida por antagonistas selectivos A1 o A2A y el impacto del alcohol y la cafeína en estos procedimientos será estudiada también en animales KO para los receptores A2A. Mapearemos el sustrato neural de estos efectos mediante el patrón de expresión de cFos.

5.- Como los datos acerca del impacto de la cafeína en la ingesta de alcohol son escasos y parecen entrar en contradicción con los datos obtenidos utilizando antagonistas selectivos de los receptores A1 y A2A, así como con los datos de ratones KO para A2A, **estudiaremos el impacto de un amplio rango de dosis de cafeína sobre la iniciación y el mantenimiento del consumo de alcohol** en ratones. Así mismo, utilizaremos diferentes paradigmas para medir el consumo, tanto de acceso libre, en los que la dopamina parece tener una menor implicación, como paradigmas en los que el animal deba trabajar para conseguir la droga (condicionamiento operante razón fija 5, FR5). Los mismos tipos de estudios se realizarán con antagonistas selectivos de los receptores A1 y A2A y en animales KO para los receptores A2A. Finalmente, una vez clarificado cual es el receptor o receptores de adenosina implicados se estudiará si estos pueden revertir los efectos de los antagonistas dopaminérgicos D1 o D2 sobre la autoadministración operante de alcohol. Los datos conductuales irán acompañados de medidas inmunohistoquímicas

de expresión de la proteína cFos en diferentes áreas del encéfalo donde se coexpresan ambos tipos de receptores, especialmente en el Nacb. Ello nos informará del nivel de activación génica que los diferentes parámetros conductuales y farmacológicos producen en dichas áreas cerebrales.

6.- Por último estudiaremos si los efectos observados en conducta tras la administración de ambas sustancias son debidos **a cambios en la farmacocinética del etanol**. Evaluaremos también los niveles de alcohol en sangre cuando este ha sido administrado solo o en combinación con cafeína.

**ALCANZADOS:** (Ordenar de igual forma que los planteados. En el caso de proyectos coordinados, el coordinador deberá describir además el desarrollo de la coordinación entre subproyectos en este año, y los resultados de dicha coordinación con relación a los objetivos globales del proyecto)

El objetivo general del presente proyecto de investigación es estudiar en modelos animales, la interacción entre dosis altas de cafeína, similares a las consumidas mediante la ingesta de las bebidas energéticas, y alcohol, especialmente en aquellos procesos conductuales implicados en el desarrollo de la adicción.

El segundo gran objetivo es conocer el sustrato neuroanatómico y neurofarmacológico de dicha interacción mediante el estudio de la implicación de los sistemas de neurotransmisión y neuromodulación dopaminérgico y adenosinérgico.

**Estos dos objetivos han sido cumplidos en su totalidad, ya que hemos demostrado que esta combinación de drogas incrementa el consumo de alcohol en aquellos sujetos que ya tienen de normal un consumo elevado. Además hemos demostrado que el circuito cerebral más afectado por esta interacción es aquel que controla las conductas motivadas normales (circuito dopaminérgico mesolímbico y mesocortical) y cuya disregulación conduce a conductas patológicas como la adicción. Estos objetivos han sido publicados en los trabajos de revisión que adjuntamos (artículos 1 y 3 y capítulos de libro 1 y 2).**

#### **Objetivos concretos:**

1.- **Estudio de los efectos ansiogénicos de la interacción a nivel agudo y tras el consumo repetido de alcohol y su retirada: mecanismo de acción.** Este objetivo ha sido conseguido y sus resultados han sido publicados en los trabajos que adjuntamos (**capítulo de libro 2 y artículos 2, 4, 5, 6, A y D**).

2.- **Estudio de los efectos de dosis de cafeína administradas de manera aguda sobre parámetros motores inducidos por dosis elevadas de alcohol que produzcan, ataxia, incoordinación motora aguda y tolerancia a la incoordinación desarrollada tras la administración repetida de alcohol: mecanismo de acción.** Este objetivo ha sido conseguido y sus resultados han sido publicados en los trabajos que adjuntamos (**capítulo de libro 2 y artículos 4, 5, 6 y D**).

3.- **Estudio del desarrollo y la expresión de sensibilización motora producida por la administración repetida e intermitente de alcohol y su potenciación por cafeína: mecanismo de acción.** Este objetivo ha sido conseguido y sus resultados



han sido publicados en los trabajos que adjuntamos (**capítulo de libro 1 y artículos 3, 4 y D**).

**4.- Estudio de la preferencia de lugar condicionada por etanol: mecanismo de acción.** Este objetivo ha sido modificado para introducir un paradigma de preferencia por la interacción social y memoria social a largo plazo. Estimamos que este procedimiento aportaba información más concreta sobre los cambios en las preferencias y en las memorias del animal ante estímulos claramente importantes como es el contacto con congéneres, dado que este parámetro lo relaciona más con los efectos del alcohol observados en humanos. **Los resultados de estos estudios han sido redactados en las publicaciones A y B.**

**5.- Estudio del impacto de la cafeína sobre la iniciación y el mantenimiento del consumo de alcohol: mecanismo de acción.** Este objetivo ha sido alcanzado y sus resultados aparecen en publicaciones (**capítulos 1, 2 y artículo C**).

**6.- Estudios de los cambios en la farmacocinética del etanol.** Este objetivo ha sido conseguido y los resultados aparecen en la publicación **D**.

#### METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO

##### PROYECTADO

##### **Procedimientos conductuales:**

Incoordinación motora en Rotarod

Test de Ansiedad en Cámara de luz-oscuridad.

Actividad locomotora en campo abierto.

Sensibilización locomotora en campo abierto.

Preferencia de lugar condicionada

Autoadministración de alcohol mediante procedimiento operante de razón fija (FR5).

##### **Estudios bioquímicos:**

Medidas de expresión de c-Fos en cortes de cerebro.

Determinación de la concentración de etanol en sangre.

***FASE I: Efecto de la administración de dosis altas de cafeína, el antagonismo farmacológico y la delección genética de los receptores de adenosina A1 o A2A, en la incoordinación, la sensibilización motora y los efectos sobre los efectos ansiogénicos inducidos por el alcohol o su retirada. Estudio neuroanatómico del patrón de expresión de c-Fos en las estructuras mesolímbicas y estriatales.***

Experimento 1. Estudios sobre la tolerancia y la incoordinación motora medida en rotarod producidas por alcohol.

Experimento 2. Estudios sobre las respuestas ansiogénicas medidas en caja de luz oscuridad inducidas por la retirada del alcohol.

Experimento 3. Estudios sobre la activación locomotora aguda y la sensibilización motora tras la administración de alcohol.

Con formato: Sin subrayado

Con formato: Sin subrayado

***FASE II: Efecto de la administración de dosis altas de cafeína, el antagonismo farmacológico y la delección genética de los receptores de adenosina A1 o A2A, en el desarrollo de la preferencia de lugar y en el consumo de alcohol en condiciones de libre acceso. Estudio neuroanatómico del patrón de expresión de c-Fos en las estructuras mesocorticales, mesolímbicas y estriatales.***

Experimento 4. Estudios sobre el condicionamiento de lugar inducido por el apareamiento repetido con alcohol.

Experimento 5. Estudios sobre el consumo de alcohol en condiciones de libre acceso con posibilidad de elección entre concentraciones.

***FASE III. Efecto de la administración de dosis altas de cafeína, el antagonismo farmacológico y la delección genética de los receptores de adenosina A1 o A2A, en la autoadministración de alcohol mediante procedimiento operante y tras la administración de antagonistas de DA D1 y D2. Estudio de las vías estriatales y corticales a través del patrón de expresión de c-Fos.***

Experimento 6. Estudios del efecto de los antagonistas de adenosina sobre el consumo de alcohol en paradigma operante con posibilidad de elección entre respuestas en función del esfuerzo.

Experimento 7. Estudios del efecto de los antagonistas de adenosina sobre la retirada en el consumo de alcohol.

#### **EJECUTADO**

***FASE I: Finalizada en su totalidad con ampliación en experimentos 2 y 3.***

Experimento 1. Estudios sobre la tolerancia y la incoordinación motora medida en rotarod producidas por alcohol.

Experimento 2. Estudios sobre las respuestas ansiogénicas medidas en caja de luz oscuridad inducidas por la retirada del alcohol. Utilizando el mismo número de animales, se han añadido dos paradigmas para la medición de ansiedad: Laberinto elevado en cruz y test de enterramiento de objetos. Este último paradigma aporta medidas de conducta compulsiva para la evitación de estímulos ansiogénicos.

Experimento 3. Estudios sobre la activación locomotora aguda y la sensibilización motora tras la administración de alcohol. Estos datos se obtuvieron tanto en campo abierto (paradigma que produce actividad exploratoria relativamente reducida), como en rueda de actividad (paradigma que produce altos niveles de actividad y por lo tanto es más susceptible a ser suprimida).

***FASE II: Finalizada en su totalidad con modificación de procedimiento en el experimento 4.***

Experimento 4. Hemos sustituido los estudios de preferencia de lugar inducida por alcohol, utilizando en su lugar un paradigma de preferencia por la interacción social con congéneres. Este último procedimiento nos pareció más interesante y novedoso dados los datos en humanos acerca del efecto del alcohol en la desinhibición conductual y también en la agresividad.

Experimento 5. Estudios sobre el consumo de alcohol en condiciones de libre acceso con posibilidad de elección entre concentraciones.

***FASE III. Completada en su totalidad con modificación del experimento 6.***

Experimento 6. Estudios del efecto de los antagonistas de adenosina sobre el consumo de alcohol en paradigma operante con posibilidad de elección entre respuestas en función del esfuerzo. Se ha sustituido el procedimiento operante por otro paradigma de acceso restringido que modela de manera más adecuada el consumo excesivo en momentos concretos (“binge drinking”).

Experimento 7. Estudios del efecto de los antagonistas de adenosina sobre la retirada en el consumo de alcohol.

**ACTIVIDADES**

**PROYECTADAS**

El proyecto establecerá contactos entre diversas universidades que posibiliten el establecimiento de redes de trabajo e intercambio de información para futuros proyectos.

Viajes de asistencia a congresos de las siguientes sociedades para difundir los datos en ámbitos científicos:

“European Behavioural Pharmacology Society” (EBPS)

"Forum of European Neuroscience" (FENS)

“Society for Neuroscience” (SFN)

**EJECUTADAS**

Tal como lo atestiguan las diversas publicaciones, en la elaboración de los experimentos hemos **colaborado con laboratorios internacionales y nacionales**. En concreto los laboratorios con los que hemos colaborado y que aparecen en las publicaciones resultado de los trabajos del presente proyecto de investigación son:

**Dr. John D. Salamone:**

Dept. of Psychology, University of Connecticut. Storrs, USA.

**Dra. Olga Valverde:**

Department of Experimental and Health Sciences. Universitat Pompeu Fabra. Barcelona, Spain.

**Dra. Catherine Ledent:**

Universite Libre de Bruxelles, IRIBHM. Bruxelles, **Belgium.**

**Dra. Christa E. Müller:**

Pharma-Zentrum Bonn, Pharmazeutisches Institut, Pharmazeutische Chemie, Universität Bonn. Bonn, **Germany.**

**Dra. Alessandra T. Peana:**

Department of Drug Sciences, University of Sassari. Sassari. **Italy.**

**Dr. Elio Acquas:**

Centre of Excellence on Neurobiology of Addiction, University of Cagliari. Cagliari, **Italy.**

**Asistencia a Congresos Científicos Internacionales por parte de los diferentes miembros del grupo. Se detallan las presentaciones realizadas en los mismos.**

**CONGRESO: 13th ESBRA European Society for Biomedical Research on Alcoholism. Viena, Austria. 2011**

**Presentación oral invitada:**

Correa, M.; Segovia, K.N.; Pardo, M.; Lopez-Cruz, L.; Salamone J.D. Brain mapping of cFos immunoreactivity after central and peripheral administration of ethanol and acetaldehyde in rats. **Alcohol and Alcoholism.** 46 (S1):i3-i4.  
SIMPOSIO: Neurophysiology of acetaldehyde: from channels to behavior. *Control number: 2010-S-27-ESBRA*

**CONGRESO: Behavioral Pharmacology Society (BPS). 8-9 Abril. Washington, USA. 2011**

**Presentación oral invitada:**

Correa, M.; Segovia, K.N.; Pardo, M.; Lopez-Cruz, L.; Salamone J.D. Differential actions of ethanol and its metabolite acetaldehyde depending on the route of administration: behavioral effects and cellular activations as measured by c-Fos immunoreactivity.

**CONGRESO: 41th Congress of the Society for Neuroscience. (SFN). Washington, U.S.A. November. 2011.**

**Poster:**

M. Correa, L. Lopez-Cruz, M. Pardo, O. Valverde, C. Ledent, J.D. Salamone. Effects of the nonselective adenosine antagonists caffeine and theophylline on measures of motor activity and anxiety in mice: studies of acute and chronic administration and comparison with adenosine A2A receptor KO mice. **Society for Neuroscience, 2011. Online. 103.09/XX6**

**CONGRESO: 14th European Behavioural Pharmacology Society (EBPS). Amsterdam. Netherlands. 2011.**

**Poster:**

L. Lopez-Cruz, M. Pardo, A. Dosda, J.D. Salamone, M. Correa. (2011). Comparison between high doses of caffeine and theophylline on motor and anxiogenic effects in

CD1 mice: studies of acute and chronic administration. **Behavioural Pharmacology**. 22: 71-72.

**CONGRESO: 43rd EBBS. European Brain and Behaviour Society Meeting. Sevilla. Spain. 2011.**

**Poster:**

L. Lopez-Cruz, M. Pardo, A. Dosda, J.D. Salamone, M. Correa. (2011). Effect of high doses of methylxanthines on motor parameters and anxiety: implications for their therapeutical effect on bradykinesia induced by dopamine antagonists. Actas de congreso Publicadas Online. 146. D11-87

**CONGRESO: 28 th CINP World Congress of Neuropsychopharmacology. Stockholm, Sweden. 3-7 Junio. 2012**

**Poster:**

M. Pardo, L. López-Cruz, N. San Miguel, M. Ibarra, J.D. Salamone, M. Correa. (2012). Dopamine and adenosine antagonism have opposite effects on the activational and the directional components of sucrose-motivated behavior: Studies in rats and mice. The International Journal of Neuropsychopharmacology. Pp 192. CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS. ISSN: 1461-1457 EISSN: 1469-5111 PUBLICACIÓN EN ACTAS ONLINE: <http://www1.cinp-congress.org/guest/ID38009c5f550de2/AbstractView?ABSID=10227>

**CONGRESO: 8th FENS Forum of Neuroscience. Barcelona, Spain. 14-18 July. 2012.**

**Poster:**

L. López-Cruz, M. Pardo, N. San Miguel, J.D. Salamone, M. Correa. (2012). Impact of high doses of caffeine on acute and sensitized motor activity induced by ethanol in mice. Pp: 594.  
PUBLICACIÓN EN ACTAS ONLINE: <http://w3.kenes-group.com/mailshot/congress/fens2012/pdf/FENS-FORUM-2012-Programme.pdf>

**CONGRESO: EBBS Satellite. Stress, the story of our social lives. Barcelona, Spain. 13 July. 2012.**

**Poster:**

L. López-Cruz, M. Pardo, M. Carbó-Gas, T. Doñate, M. Capilla, O. Valverde, C. Ledent, J.D. Salamone, M. Correa. The effect of adenosine A2A receptor deletion on anxiety does not impair social interaction in KO mice. Congress proceedings.

**CONGRESO: 14th Congress of the Italian Society for Neuroscience (SINS). Catania, Italia. 19-22 Abril. 2012.**

**Presentación oral invitada:**

SIMPOSIO: Alcohol and tobacco: is acetaldehyde the reinforcing bridge?  
Correa, M.; Salamone J.D.; Pardo, M.; López-Cruz, L. Acetaldehyde induced anxiolysis as a reinforcing effect after alcohol drinking or cigarette smoking

**CONGRESO: 15th European Behavioural Pharmacology Society (EBPS). La Rochelle. France. 2013.**

**Poster:**

López-Cruz, L; San Miguel, N; Carbó-Gas, M; Bayarri, P; Pardo, M; Ros, X; Valverde, O; Ledent, C; Salamone, JD; Correa, M. (2013). Caffeine induces anxiety and impairs social interaction in mice: the role of adenosine receptors and impact on ethanol. **Libro de actas del Congreso.**

San Miguel, N; López-Cruz, L; Bayarri, P; Monferrer, L; Salamone, JD; Correa, M. (2013). Impact of caffeine on voluntary ethanol intake and the alcohol deprivation effect in mice. **Libro de actas del Congreso.**

**CONGRESO: 37<sup>th</sup> Annual Meeting of Research Society on Alcoholism (RSA) and 17<sup>th</sup> Congress of International Society for Biomedical Research on Alcoholism (ISBRA). Bellevue WS. USA. June 21-25. 2014**

**Presentación oral invitada:**

Correa, M.; López-Cruz, L; San Miguel, N; Pardo, M; Bayarri, P; Salamone, J.D. Acetaldehyde induces anxiolysis or anxiogenesis depending on the route of administration. **Alcoholism: Clinical and Experimental Research.**

**EN CASO DE FINANCIACIÓN DE ESTANCIA AVALADA POR EL NIDA:**

- **Objetivos alcanzados**
- **Actividades realizadas vinculadas con el proyecto**
- **Duración de la estancia**

**APLICABILIDAD Y UTILIDAD PRÁCTICA DE LOS RESULTADOS EN EL ÁREA DE LAS DROGODEPENDENCIAS.** (En caso de memoria final)

El patrón que emerge de los resultados del presente proyecto sugiere que (a diferencia de lo que popularmente se cree) dosis altas de cafeína empeoran los efectos supresores del alcohol y consiguen incrementar el consumo de alcohol en aquellos sujetos que ya de normal tienen altos niveles de consumo. Esto debería ser informado en campañas educativas a realizar, sobre todo, entre la población más joven (institutos, universidades, etc.) dado que son los mayores consumidores.

Teniendo en cuenta que los individuos que consumen más alcohol incrementan el consumo de esta droga, debería informarse de que en los momentos en que el consumo de alcohol es elevado (fiestas y fines de semana), el riesgo de llegar a niveles de alcohol en sangre que produzcan incoordinación motora es alto, y ello puede afectar a la percepción de la capacidad psicomotora que se evidencie en situaciones como conducir un coche.

Se debería informar también de que la cafeína (a los niveles que contienen las bebidas energéticas) incrementa los riesgos potenciales en la adquisición de conductas que faciliten el abuso del alcohol y que puedan derivar en adicción a esta sustancia. Esto viene confirmado por los resultados que demuestran que el circuito cerebral más afectado por la interacción de ambas drogas es el circuito dopaminérgico que regula la motivación normal y también la patológica como la adicción.

Todo esto debería tenerse en cuenta a la hora de establecer regulaciones del contenido de cafeína en las bebidas energéticas y en aquellas que están mezcladas con alcohol, o en todo caso, debería ser informado en los embases que contienen estas bebidas.

**TRANSFERENCIA Y DIFUSIÓN DE RESULTADOS A LA CIUDADANÍA: ACCIONES LLEVADAS A CABO.** (En caso de memoria segunda anualidad y final)

- **Noticias en los principales periódicos autonómicos (se adjuntan) y nacionales.**
  - Noticia en el periódico Mediterráneo (18/2/2011)
  - Noticia en el periódico Levante (20/3/2012)
  - Reportaje en el periódico La Vanguardia (16/2/2014)
- **Video en youtube y programa de radio encaminados a explicar la línea de trabajo y las aplicaciones del mismo.**  
<http://youtu.be/cqvSfz8DKzU>  
[http://www.radio.uji.es/play.php?tipo=P&file=11\\_01\\_13\\_finestra\\_ciencia.mp3](http://www.radio.uji.es/play.php?tipo=P&file=11_01_13_finestra_ciencia.mp3)
- **Publicación divulgativa sobre ciencia en la revista española del “Scientific American” Investigación y Ciencia: Mente y Cerebro” n°62/ Septiembre-Octubre 2013 pp: 45-47.**

**PATENTES U OTROS RESULTADOS EXPLOTABLES COMERCIALMENTE QUE SEAN CONSECUENCIA DEL PROYECTO.** (En caso de memoria final)

**OTRAS SUBVENCIONES O RECURSOS (INCLUIDOS FONDOS PROPIOS) QUE FINANCIAN ESTE PROYECTO O PENDIENTES DE RESOLUCIÓN:** importe, procedencia y aplicación

**No se ha pedido financiación anteriormente ni parcial ni total**

**SUBVENCIONES O AYUDAS SOLICITADAS PARA ESTE PROYECTO Y NO CONCEDIDAS:** organismo, convocatoria y cantidad.

**No se ha pedido financiación anteriormente ni parcial ni total**

**OTRAS CONSIDERACIONES QUE SE DESEE HACER CONSTAR**

En esta fecha se remite también por correo electrónico, a la dirección [pndinvestigacion@msssi.es](mailto:pndinvestigacion@msssi.es) la presente memoria.

En Castelló a 10 de Febrero de 2014

**NOMBRE Y FIRMA DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL**

**Mercè Correa Sanz.**