

La administración sistémica e intra-accumbens del agonista 5-HT1B CP94253 modula la auto-administración oral de etanol en ratas

Jiménez, Juan C^a; Cortés-Salazar, Felipe^a; Cedillo-Ildefonso, Benita^a y Miranda, Florencio^{* a}

Artículo Original

Resumen

Abstract

Tabla de Contenido

Algunas propiedades adictivas del etanol (EtOH) son moduladas por receptores 5-HT1B en el núcleo accumbens (nAcc). Esta investigación se diseñó para evaluar los efectos de la administración sistémica e intra-accumbens del agonista 5-HT1B CP94253 en la auto-administración oral de EtOH. Se utilizaron ratas machos Wistar que se privaron de agua por 24 h, y se entrenaron a presionar una palanca para obtener EtOH como reforzador hasta que la tasa de respuestas permaneció estable al 80%. Después, a un grupo de ratas se les administró una inyección intraperitoneal del agonista 5-HT1B CP94253 antes de someterse al programa RF3 (razón fija 3) con EtOH como reforzador. Otro grupo de ratas, después de un entrenamiento similar, se les administró una inyección intra-accumbens de CP94253. Los datos indicaron que tanto la inyección sistémica como la intra-accumbens de CP94253 redujeron la auto-administración oral de EtOH. Esto sugiere que los receptores 5-HT1B podrían participar en la modulación de la auto-administración oral de EtOH.

Systemic and intra-accumbal administration of the 5-HT1B receptor agonist CP94253 modulates oral self-administration of ethanol in rats It has been suggested that some addictive properties of ethanol (EtOH) are modulated by 5-HT1B receptors in the nucleus accumbens (nAcc). This research was designed to assess the effects of systemic and intra-accumbal administration of the 5-HT1B receptor agonist CP94253 on the oral self-administration of EtOH in rats. Male Wistar rats were water deprived for 24 h, and then trained to lever-press for EtOH reinforcement on a FR3 schedule until response rate remained stable at 80%. After this training, a group of rats received an intraperitoneal injection of 5-HT1B receptor agonist CP94253 before rats were under FR3 schedule of reinforcement for EtOH access. Another group of rats, after similar training, received intra-accumbal injection of CP94253. The data showed that both systemic and intra-accumbal injections reduced oral self-administration of EtOH. These findings suggest that the 5-HT1B receptors activation may modulate the reduction of oral self-administration of EtOH in rats.

Introducción	68
Método	70
Animales	70
Aparatos	70
Drogas	70
Proc. de cirugía	70
Histología	70
Proc. conduc.	71
A. estadístico	72
Resultados	74
Discusión	75
Agradecimiento	78
Referencias	78

Palabras clave:

receptores 5-HT1B, EtOH, nAcc, auto-administración.

Keywords:

5-HT1B receptors, EtOH, nAcc, self-administration

Recibido el 20 de marzo de 2020; Aceptado el 14 de diciembre de 2020

Editaron este artículo: Mariana Bentosela, Paula Abate, Tamara Kobic y Federico Giovannetti

Introducción

El alcohol etílico o etanol (EtOH) tiene como blanco principal, pero no el único, el sitio alostérico α de los receptores del ácido gamma-aminobutírico

A (GABA_A, por sus siglas en inglés) localizados en las interneuronas GABAérgicas del área tegmental ventral (ATV) (Enoch, 2008; Kumar et al., 2009). La

^a Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Ciudad de México, México

*Enviar correspondencia a: Miranda, F. E-mail: fmirandah@yahoo.com

Citar este artículo como: Jimenez, J. C., Cortés-Salazar, F., Cedillo-Ildefonso, B., & Miranda, F. (2022). La administración sistémica e intra-accumbens del agonista 5-HT1B CP94253 modula la auto-administración oral de etanol en ratas. *Revista Argentina de Ciencias del Comportamiento*, 14(1), 68-81

activación de estos receptores por EtOH produce la inhibición de la actividad de las interneuronas GABAérgicas del ATV (Stobbs et al., 2004), y como consecuencia de esta inhibición, las neuronas DAérgicas del ATV incrementan su liberación de dopamina (DA) en el núcleo accumbens (nAcc). Este incremento en DA en el nAcc es el responsable de las propiedades adictivas del EtOH (Weiss, Lorang, Bloom, & Koob, 1993).

El control inhibitorio de las interneuronas GABAérgicas sobre las neuronas DAérgicas del ATV está modulado por diversos receptores, como el receptor de cannabinoides CB1, el receptor μ opioide, el receptor colinérgico (Achérgico) tipo nicotínico, el receptor GABA_A (Creed, Ntamati, & Tan, 2014), el cual contiene el sitio alostérico donde se unen las moléculas de EtOH (Enoch, 2008). En estas interneuronas GABAérgicas del ATV, también se encuentran receptores serotoninérgicos (5-HTérgicos) del tipo 5-HT2C y 5-HT1B (Bruinvels et al., 1994; Bubar & Cunningham, 2007).

Recientemente, se ha sugerido que los receptores 5-HT1B juegan un papel importante en la modulación de los efectos adictivos de algunas drogas, incluido el EtOH (García, Cotter, Leslie, Olive, & Neisewander, 2017; Sari, 2013; Yan, Zheng, Feng, & Yan, 2005). El receptor 5-HT1B está formado por 386 aminoácidos y pertenece a la familia de receptores de siete dominios transmembranales acoplados a las proteínas G y está acoplado negativamente a la adenilciclasa (Schoeffter & Hoyer, 1989), la activación de este receptor 5-HT1B inhibe la actividad de la enzima adenilciclasa a través de la subunidad α_i de las proteínas G, hecho que lleva a la disminución de los niveles de monofosfato de adenosina cíclico (AMPC) (Schoeffter & Hoyer, 1989). Adicionalmente, la activación de este receptor abre canales de K⁺ a través de la subunidad α (posiblemente el dímero $\beta\gamma$) lo que produce la hiperpolarización de la neurona donde se localiza el receptor 5-HT1B (Hoyer, Hannon, & Martin, 2002).

Los receptores 5-HT1B son autorreceptores y se encuentran localizados en las terminales presinápticas de neuronas 5-HTérgicas y como heterorreceptores en las terminales presinápticas de neuronas no 5-HTérgicas (Ruf & Bhagwagar, 2009). En ambos casos, su activación por agonistas 5-HT1B, inhibe la liberación de 5-HT y otros neurotransmisores, respectivamente. La administración de antagonistas 5-HT1B, produce el

efecto contrario (Hannon & Hoyer, 2008). Es conveniente mencionar que no se han encontrado diferencias estructurales entre auto y heterorreceptores 5-HT1B (Sari, 2013) aunque algunos estudios han reportado que los autorreceptores exhiben una mayor sensibilidad a los ligandos 5-HT1B en comparación con los heterorreceptores (Sarhan & Fillion, 1999). En el circuito de la recompensa del cerebro, los autorreceptores 5-HT1B se encuentran localizados en las terminales de la vía rafe dorsal-nAcc y rafe dorsal-ATV y los heterorreceptores se encuentran localizados en las terminales glutamatérgicas (Gluérgicas) de la vía cortico-nAcc (Sari, 2013) y en las terminales axónicas de las neuronas espinosas medianas (MSNs, por sus siglas en inglés) que proyectan del nAcc al ATV (Muramatsu, Lapiz, Tanaka, & Grenhoff, 1998). Además, también se ha reportado la localización de heterorreceptores 5-HT1B en las terminales presinápticas de interneuronas colinérgicas (iAchérgicas) en el nAcc que regulan, indirectamente, la actividad de las MSNs y a un fenotipo conductual relacionado con la depresión (Virk et al., 2016).

La presencia de receptores 5-HT1B en las iAchérgicas en el nAcc podría ser relevante en las propiedades gratificantes del EtOH debido a que la actividad de las iAchérgicas, aunque estas representan cerca del 1% de todas las neuronas en el nAcc, modulan la actividad de circuitos locales y la liberación de DA (Cachope et al., 2012; Koós & Tepper, 2002). La activación de los receptores 5-HT1B localizados en las terminales presinápticas de las iAchérgicas inhibe la función de estas iAchérgicas (Virk et al., 2016). Se ha reportado que la adquisición de una conducta operante reforzada con cocaína o con remifentanilo aumenta los niveles de acetilcolina (Ach) en el nAcc y que la conducta operante bajo estas condiciones fue bloqueada con antagonistas nicotínicos (Crespo, Sturm, Saria, & Zernig, 2006). Los datos previos indican la necesidad de demostrar si en la reducción en el consumo de EtOH estarían involucrados los autorreceptores o los heterorreceptores 5-HT1B localizados en el nAcc. Una estrategia conductual que podría ayudar a conocer cuáles de los heterorreceptores están involucrados en la reducción de las propiedades motoras, gratificantes y reforzantes de las drogas de abuso, es administrar ligandos 5-HT1B previo a la ingesta de una droga, como el EtOH, y observar el efecto conductual que produce este

procedimiento, para determinar si los heterorreceptores que están localizados en las terminales cortico-accumbens o los que están localizados en las terminales de las MSNs que proyectan al ATV o los que están localizados en las terminales de las iAchérgicas podrían estar jugando un papel modulador en el consumo de drogas adictivas como el EtOH. Lo anterior sugiere la necesidad de investigación conductual en esta área que pudiera agregar información adicional sobre el mecanismo involucrado en la reducción de conductas relacionadas con el consumo de EtOH. Los candidatos idóneos son los heterorreceptores 5-HT1B localizados en las iAchérgicas, ya que se ha demostrado que su estimulación provoca indirectamente una disminución de los niveles de DA en el nAcc (Hanada et al., 2018), por lo que podríamos suponer que si la administración intra-nAcc de un agonista 5-HT1B estimula los heterorreceptores 5-HT1B localizados en las terminales axónicas de las iAchérgicas, entonces el efecto conductual sería la observación de una reducción en las conductas relacionadas con el consumo de EtOH.

El presente estudio se diseñó para evaluar los efectos de la administración sistémica e intra-accumbens del agonista 5-HT1B CP94253 en el mantenimiento de la conducta de auto-administración oral de EtOH en ratas. Para determinar si estos efectos resultan de la acción específica del agonista CP94253 en los receptores 5-HT1B, también se evaluaron los efectos del antagonista selectivo de los receptores 5-HT1B SB216641 sobre los efectos del CP94253 en la auto-administración oral de EtOH.

Método

Animales

Se utilizaron 80 ratas machos de la cepa Wistar de aproximadamente 120 días de edad al inicio de los experimentos alojadas en grupos durante los primeros 120 días y con un peso promedio de 200 a 250 g provenientes del Bioterio General de la FES-Iztacala. Al momento de llegar al laboratorio, las ratas se alojaron individualmente en cajas-hogar de acero inoxidable y bajo un ciclo luz-obscuridad (luz = 8:00 a.m.-8:00 p.m.) y a una temperatura ambiente de 21 (\pm 1) °C. La comida y el agua siempre estuvieron disponibles. Los animales se privaron de agua por 24 h durante todos los procedimientos experimentales. Los

procedimientos de cuidado y manejo de animales se realizaron conforme a la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-00-1999), titulada "Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio".

Aparatos

La auto-administración oral de EtOH en ratas se cuantificó en cajas de condicionamiento operante modelo MED-008-D1 (MED-Associates, St. Albans, VT, USA) equipadas con palancas retráctiles y bebederos automáticos. Las presiones a las palancas se detectaron a través de una interfase que estuvo conectada con una computadora PC. También se utilizaron cajas especiales con botellas graduadas que se llenaron con agua o una solución de EtOH con agua en una concentración al 12% (v/v). Al final se cuantificó el número total de respuestas a la presión de la palanca.

Drogas

Se utilizó una solución de EtOH (Baker, México) con agua al 12 %. También se utilizó el agonista 5-HT1B CP94253 (Tocris, Ballwin, MO, USA) y el antagonista 5-HT1B SB216641 (Tocris, Ballwin, MO, USA). Ambos compuestos se disolvieron en solución salina (0.9 %) y se administraron intraperitonealmente en un volumen de 1.0 ml/kg.

Procedimiento de cirugía estereotáxica

Las ratas se anestesiaron con una inyección intraperitoneal (ip) que contenía una mezcla de ketamina-xilacina (22.5 mg/kg = 112.5 mg/kg), y se colocaron en un aparato para cirugía estereotáxica (Stoelting, Wood Dale, Illinois, USA). Una cánula guía se implantó unilateralmente en el hemisferio derecho del shell del nAcc (las cirugías unilaterales producen menos daño al tejido cerebral que las cirugías bilaterales). La cánula se colocó 2.0 mm arriba del sitio de inyección de acuerdo a las coordenadas del Atlas de Paxinos y Watson (1998) del shell del nAcc (AP +1.4 mm, ML 0.6 mm, DV 4.6 mm en relación a Bregma y 22° en ángulo de la vertical). Al final de las cirugías, se les administró penicilina benzatínica (300.000 UI/kg im) para prevenir infecciones.

Histología

Al finalizar los procedimientos experimentales de la administración intra-accumbens de los ligandos 5-HT1B, las ratas se sacrificaron con una dosis de pentobarbital sódico (80 mg/kg, ip) y los

cerebros se retiraron del cráneo y se preservaron en una solución de formaldehído/salina al 10 % durante una semana. Después, los cerebros se congelaron y se cortaron en rebanadas sagitales de 300 µm con un vibrátomo. Al final, se verificaron los sitios de inyección con un microscopio óptico.

Procedimientos conductuales

Efectos agudos de la administración sistémica de ligandos 5-HT1B sobre el consumo de agua.

Antes de comenzar los experimentos principales, se evaluaron los efectos agudos del CP94253 y SB216641 sobre el consumo de agua, para averiguar si estos compuestos tenían efectos intrínsecos en el consumo de líquidos que pudieran enmascarar los efectos sobre la auto-administración oral de EtOH. En grupos independientes de ratas ($n = 10$) se evaluó en una ocasión los efectos de diferentes dosis de CP94253 (2.0, 4.0 y 8.0 mg/kg) y SB216641 (2.5, 5.0 y 7.5 mg/kg). Las ratas se entrenaron a beber agua diariamente por 7 días en periodos de 30 min en sus cajas-hogar. Después de este entrenamiento se llevó a cabo una sesión de prueba, las ratas se colocaron en cajas experimentales donde tuvieron acceso a una botella de agua por 30 min. Quince min antes del acceso al agua se les administró ip una dosis de los ligandos 5-HT1B CP94253 o SB216641, una dosis por sesión y por grupo.

Procedimiento del entrenamiento de auto-administración oral de EtOH

El cronograma del procedimiento general se ilustra en la [figura 1A](#). En los primeros 7 días las ratas tuvieron acceso a una botella con agua durante 30 min en sus cajas-hogar. Los siguientes 4 días, las ratas tuvieron acceso a una botella con una solución de agua con EtOH al 12 % durante 30 min en sus cajas-hogar. Posteriormente, las ratas se sometieron a un entrenamiento de presionar la palanca para la obtención de 0.01 ml de agua bajo un programa de reforzamiento de razón fija 1 (RF1) por 30 min/día durante 3 días consecutivos. A partir del cuarto día, el agua se substituyó por una solución de EtOH al 12 % bajo un programa RF1 durante 3 días consecutivos en sesiones de 30 min/día. Posteriormente, el programa RF1 cambió a RF3, esto es, las ratas presionaron la palanca tres ocasiones para obtener 0.01 ml de la solución de EtOH como reforzador. Una vez que las ejecuciones por EtOH se estabilizaron (cuando las respuestas para obtener EtOH como reforzador no variaron más del 20 % en tres sesiones

consecutivas), se evaluaron los efectos de los ligandos 5-HT1B en las respuestas para obtener EtOH como reforzador como sigue: a las ratas se les inyectó la dosis 1 de la droga 1 y se sometieron al programa de reforzamiento RF3 para la obtención de EtOH como reforzador. Después de esta prueba, las ratas se sometieron a sesiones de reentrenamiento idénticas a las sesiones previas de la sesión de prueba, programa de reforzamiento RF3 con EtOH como reforzador. El ciclo programa de reforzamiento RF3 para obtener EtOH como reforzador-sesión de prueba se llevó a cabo hasta que se evaluaron todas las dosis de las drogas.

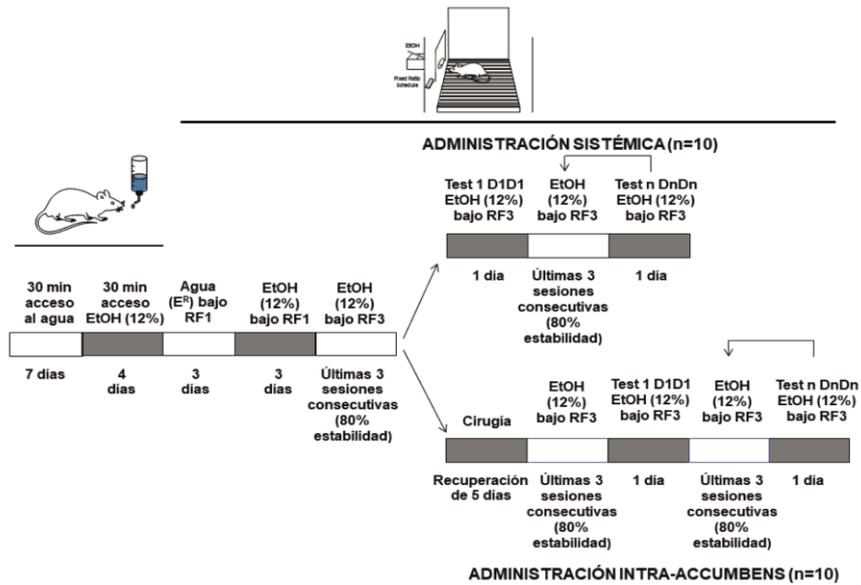
Efectos de la administración sistémica de ligandos 5-HT1B en la auto-administración oral de EtOH.

En este experimento se utilizó un diseño intra-sujetos en el cual un grupo de ratas ($n = 10$) fue evaluado de acuerdo al procedimiento descrito en la sección de procedimiento del entrenamiento de auto-administración oral de EtOH. Después de que la tasa de respuestas se mantuvo estable por 3 días consecutivos, se evaluaron diferentes dosis de CP94253 (0.0, 2.0, 4.0 y 8.0 mg/kg), SB216641 (0.0, 2.5, 5.0 y 7.5 mg/kg) y la co-administración de CP94253 (8.0 mg/kg) + SB216641 (0.0, 2.5, 5.0 y 7.5 mg/kg), una dosis por sesión de prueba. Las dosis de las drogas se administraron 15 min antes de la prueba y se administraron en un orden azaroso.

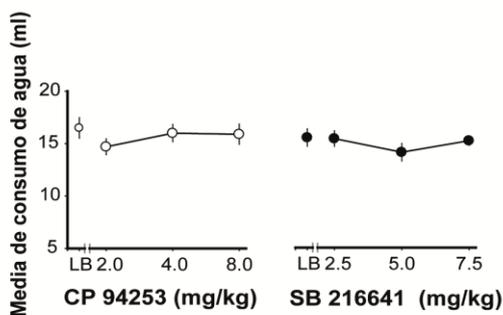
Efectos de la administración intra-accumbens de ligandos 5-HT1B en la auto-administración oral de EtOH

En un grupo diferente de ratas ($n = 10$) se utilizó un diseño intra-sujetos. Después del establecimiento y estabilización de la conducta de auto-administración oral de EtOH, las ratas se anestesiaron con una inyección ip con una mezcla de ketamina-xilacina (22.5 mg/kg: 112.5 mg/kg), y se les implantó una cánula guía unilateralmente con la ayuda de un aparato para cirugías estereotáxicas. Después de la recuperación de la cirugía, las ratas se reentrenaron al programa de RF3 para obtener 0.01 ml de la solución de EtOH como reforzador. Una vez que las ejecuciones de las ratas se estabilizaron, en sesiones de prueba se administró una dosis del agonista 5-HT1B CP94253 (1.25 y 2.5 µg) o la co-administración del agonista 5-HT1B CP94253 (2.5 µg) + el antagonista 5-HT1B SB216641 (1.0 y 3.0 µg) y se valoró su efecto sobre la conducta de auto-administración oral de etanol

A



B



C

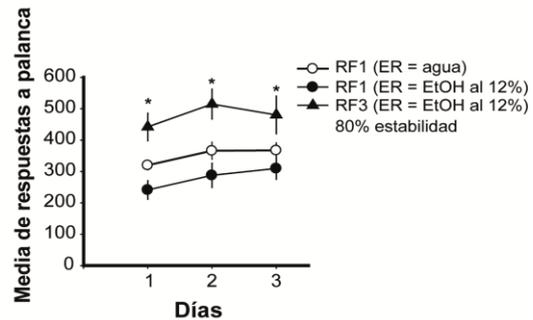


Figura 1. Protocolo experimental para la adquisición y mantenimiento de la auto-administración oral de EtOH. A. Cronograma del procedimiento que se utilizó en esta investigación, para mayor explicación ver texto. B. Se muestran los efectos agudos del agonista y el antagonista de 5-HT_{1B} en el consumo de agua. Los símbolos representan la media ± EEM. LB: línea base. C. Se muestran las respuestas reforzadas con agua bajo un programa RF1 (círculos abiertos) o reforzadas con EtOH (al 12% mezclado con agua) bajo un programa RF1 (círculos cerrados) o bajo un programa RF3 (triángulos cerrados). Los símbolos representan la media ± EEM. Los asteriscos (*) indican diferencias significativas de la condición experimental RF3 reforzamiento con EtOH y estabilidad del 80% durante las últimas tres sesiones con las sesiones correspondientes de las otras condiciones experimentales.

Análisis estadístico

Durante los experimentos del presente estudio se midió el consumo de agua en mililitros, y en otros casos, el número de respuestas a la palanca. En el experimento de la administración aguda de los ligandos 5-HT_{1B}, los datos se analizaron con un ANOVA de una vía. Los datos obtenidos en las condiciones experimentales con programas de reforzamiento con agua o con EtOH se analizaron con un ANOVA factorial de medidas repetidas de dos vías, con efectos principales de programa de reforzamiento y respuestas en los días 1, 2 y 3. Los datos obtenidos en las pruebas de administración

sistémica de los compuestos CP94253 y SB216641 se analizaron con un ANOVA de una vía de medidas repetidas. Cuando los ANOVAs fueron significativos, se llevó a cabo un análisis de comparaciones posteriores con la prueba Bonferroni. En todas las pruebas, el nivel de rechazo del error tipo I fue de .05. En los experimentos de la administración intra-nAcc de los compuestos CP94253 y SB216641, los datos se analizaron con una prueba t de student para muestras relacionadas. Los datos fueron analizados con el programa de análisis estadísticos SPSS Statistics versión 22 (IBM Corp., 2019).

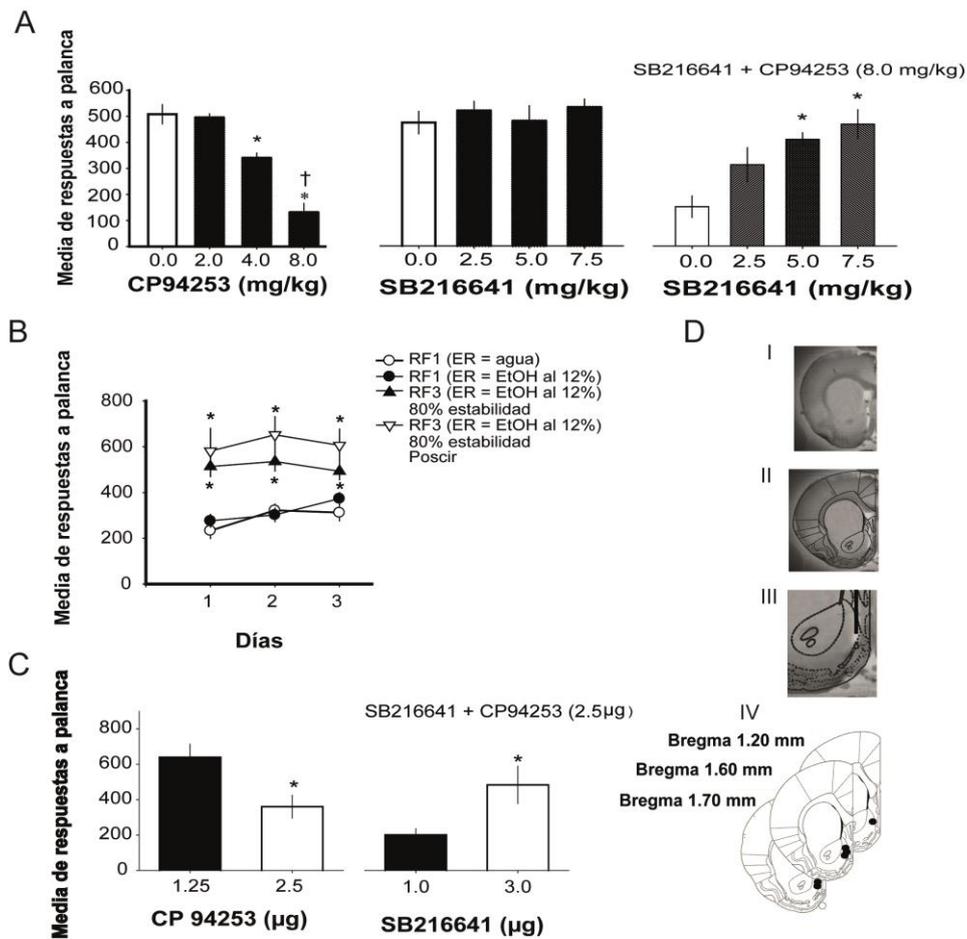


Figura 2. Efectos de la administración sistémica e intra-accumbens de ligandos 5-HT1B en la auto-administración oral de EtOH. A. Se muestran los efectos de la administración sistémica del agonista 5-HT1B CP94253 (panel izquierdo), del antagonista 5-HT1B SB216641 (panel central) y la co-administración de CP94253+SB216641 (panel derecho). Las barras representan la media \pm EEM de las respuestas reforzadas con EtOH. Los asteriscos (*) significan diferencias con la dosis de 0.0 y 2.0 mg/kg de CP94253 y con las dosis de 0.0 y 2.5 mg/kg de SB216641. La cruz (†) significa diferencias con la condición de 4.0 mg/kg de CP94253 (Bonferroni $<$.05 después de ANOVA de una vía de medidas repetidas). B. Se muestra la media de las respuestas reforzadas con agua bajo un programa RF1 (círculos abiertos), reforzadas con EtOH (al 12% mezclado con agua) bajo un programa RF1 (círculos cerrados) o bajo un programa RF3 (triángulos cerrados hacia arriba) o después de la cirugía y sometidos a la condición de RF3 (triángulos abiertos hacia abajo). Los asteriscos (*) indican diferencias significativas de la condición experimental RF3 reforzamiento con EtOH previa y posterior al procedimiento de cirugía y las correspondientes sesiones de las otras condiciones experimentales. Los símbolos representan la media \pm EEM. C. El panel izquierdo muestra los efectos de la administración intra-nAcc del agonista 5-HT1B CP94253 sobre la conducta de auto-administración oral de EtOH y el panel derecho muestra los efectos de la administración intra-nAcc del antagonista SB216641 sobre los efectos del CP94253 en la conducta de auto-administración oral de EtOH. Las barras representan la media \pm EEM de las respuestas reforzadas con EtOH. Los asteriscos (*) significan diferencias con las dosis representadas con las barras negras (t de student para muestras relacionadas $<$.05). D. Esquema que representa cortes sagitales de cerebro de ratas después de la administración de ligandos 5-HT1B dentro del shell del nAcc y sus coordenadas estereotáxicas de acuerdo al atlas de Paxinos y Watson (1998). I. Fotografía de una sección coronal tomada a la altura donde se insertó la cánula. II. Ampliación del sitio de inyección. III. La barra negra muestra la trayectoria de la cánula. IV. Representación esquemática de todas las cánulas implantada en el shell del nAcc. Los círculos negros indican las localizaciones de las cánulas confirmadas histológicamente en los animales incluidos en el análisis estadístico de los experimentos.

Resultados

Efectos agudos de la administración sistémica de ligandos 5-HT1B en el consumo de agua

La figura 1B muestra el consumo de agua cuando se administraron por vía ip diferentes dosis del agonista del receptor 5-HT1B CP94253 o del antagonista del receptor 5-HT1B SB216641. Un ANOVA de una vía mostró que no hay diferencias de consumo de agua cuando se administró el CP94253 ($F[3, 36] = 0.735, p = .538$) o el SB216641 ($F[3, 36] = 0.768, p = .520$).

Efectos de la administración sistémica de ligandos 5-HT1B en la auto-administración oral de EtOH

La figura 1C muestra la autoadministración oral de EtOH mezclado con agua al 12 % bajo distintas condiciones. El promedio de respuestas reforzadas con agua bajo un programa RF1 (ver gráfico con círculos abiertos) fue muy similar en los tres días que muestra la figura. El gráfico con círculos cerrados muestra el promedio de respuestas de auto-administración oral de EtOH bajo un programa RF1, y como se puede observar, el promedio de respuestas fue muy similar. Sin embargo, el gráfico con triángulos cerrados, muestra que cuando las respuestas fueron reforzadas con EtOH bajo un programa RF3 se observó un incremento en las respuestas, pero en las tres últimas sesiones que se graficaron no se observaron diferencias en el promedio de respuestas. Un ANOVA factorial de medidas repetidas de dos vías confirmó lo anterior ya que los efectos principales de grupo fueron significativos ($F [2,27] = 15.285, p = .0001$), mientras que el efecto principal de días ($F [2,54] = 2.550, p = .087$) y la interacción grupo y días ($F [4,54] = .192, p = .942$) no fueron significativos. Las comparaciones posteriores con la prueba de Bonferroni revelaron diferencias significativas de las respuestas diarias bajo la condición RF3 reforzadas con EtOH con las sesiones correspondientes de las otras condiciones. La figura 2A, panel izquierdo, muestra los efectos de la administración de diferentes dosis del agonista 5-HT1B CP94253 sobre la autoadministración oral de EtOH mantenida por un programa RF3. Los datos muestran que administración de CP94253 produjo un efecto dependiente de la dosis, a mayor dosis mayor la atenuación de las respuestas de auto-administración oral de EtOH. Un ANOVA de una vía de medidas repetidas mostró diferencias significativas entre las dosis ($F[3, 27] = 41.755, p =$

.001). Las comparaciones posteriores con la prueba de Bonferroni revelaron que las dosis de 4.0 y 8.0 mg/kg fueron diferentes con la dosis de 0.0 y 2.0 mg/kg. También se observaron diferencias significativas entre las dosis de 4.0 y 8.0 mg/kg. La figura 2A, panel central, muestra los efectos de la administración del antagonista 5-HT1B SB216641 sobre la autoadministración oral de EtOH. Como se puede observar, la administración del SB216641 no produjo ningún efecto sobre las respuestas de auto-administración oral de EtOH. Un ANOVA de una vía de medidas repetidas confirmó lo anterior ($F[3, 27] = .525, p = .659$). La figura 2A, panel derecho, muestra que la administración de diferentes dosis del antagonista SB216641 en combinación con una dosis fija del agonista CP94253 produjo una disminución, dependiente de la dosis, en los efectos del agonista CP94253 en la auto-administración oral de EtOH. Un ANOVA de una vía de medidas repetidas confirmó lo anterior ($F[3, 27] = 10.255, p = .001$). La prueba de comparaciones posteriores Bonferroni reveló que la condición en la cual se administró 5.0 y 7.5 mg/kg de SB216641 en conjunto con CP94253 (8.0 mg/kg) difirió de la condición de 0.0 y 2.5 mg/kg de SB216641.

Efectos de la administración intra-accumbens de ligandos 5-HT1B en la auto-administración oral de EtOH

La figura 2B muestra la auto-administración oral de EtOH (12 %) bajo distintas condiciones. El promedio de respuestas reforzadas con agua bajo un programa RF1 (ver gráfico con círculos abiertos) fue muy similar en los tres días que muestra la figura. El gráfico con círculos cerrados muestra el promedio de respuestas de auto-administración oral de EtOH bajo un programa RF1, y como se puede observar, el promedio de respuestas fue muy similar. Sin embargo, el gráfico con triángulos cerrados, muestra que cuando las respuestas fueron reforzadas con EtOH bajo un programa RF3 se observó un incremento en las respuestas, pero en las tres últimas sesiones que se graficaron no se observaron diferencias en el promedio de respuestas. El gráfico con triángulos abiertos muestra también un incremento en el promedio de respuestas bajo un programa de reforzamiento RF3 para obtener EtOH como reforzador durante las últimas tres sesiones después del procedimiento de cirugía (tres ratas murieron después de la cirugía). Como se muestra, las respuestas no variaron más

del 20 %. Un ANOVA factorial de dos vías confirmó lo anterior ya que los efectos principales de grupo fueron significativos ($F[3,33] = 26.977, p = .0001$), mientras que el efecto principal de días ($F[2,66] = 1.751, p = .181$) y la interacción grupo y días ($F[6,66] = .620, p = .713$) no fueron significativos. Las comparaciones posteriores con la prueba de Bonferroni revelaron diferencias significativas de las respuestas diarias bajo las condiciones RF3 reforzadas con EtOH previas y posteriores al procedimiento de cirugía con las sesiones correspondientes de las otras condiciones. En la [figura 2C](#), paneles izquierdo y derecho, se muestra que la administración intra-accumbens del agonista 5-HT1B produjo una disminución significativa de la auto-administración oral de EtOH ($f[5] = 2.475, p = .041$) y la administración del antagonista 5-HT1B SB216641 previno este efecto ($f[5] = -2.581, p = .047$). La [figura 2D](#) muestra la localización histológica de los sitios de inyección dentro del shell del nAcc. Las ratas que mostraron que la colocación de la cánula estaba fuera del shell del nAcc se descartaron del análisis (1/7).

Discusión

Algunas investigaciones han sugerido que los receptores 5-HT1B podrían ser un blanco útil para el desarrollo de terapias farmacológicas que ayuden al tratamiento del abuso de drogas psicoestimulantes y otras ([García et al., 2017](#)). Actualmente se sabe que los receptores 5-HT1B localizados en el sistema de la recompensa del cerebro modulan algunas conductas inducidas por las drogas de abuso, incluido el EtOH ([Cao, LaRocque, & Li, 2013](#); [Pentkowski et al., 2014](#); [Sari, 2013](#)). En este sistema, los receptores 5-HT1B se encuentran localizados como auto y heterorreceptores en el nAcc. En esta investigación se planteó la necesidad de investigación conductual que pudiera agregar información adicional sobre cuál tipo de receptor 5-HT1B pudiera estar involucrado en la reducción de conductas relacionadas con el consumo de EtOH en ratas de laboratorio. Nosotros sugerimos que los candidatos idóneos serían los heterorreceptores 5-HT1B localizados en las iAchérgicas del nAcc y también sugerimos que si la administración intra-nAcc de un agonista 5-HT1B estimula los heterorreceptores 5-HT1B localizados en las terminales axónicas de las iAchérgicas, entonces el efecto conductual sería la observación de una reducción en las conductas relacionadas con el

consumo de EtOH. Por lo que el propósito del presente estudio fue evaluar los efectos de la administración sistémica e intra-accumbens de ligandos 5-HT1B en el mantenimiento de la conducta de auto-administración oral de EtOH en ratas. Nuestros datos indican que la administración sistémica del agonista 5-HT1B CP94253 disminuyó la auto-administración oral de EtOH, este efecto fue prevenido por la administración del antagonista 5-HT1B SB216641. También obtuvimos resultados similares cuando se administraron los ligandos 5-HT1B dentro del shell del nAcc.

Rol del receptor 5-HT1B en efectos reforzantes de varias drogas

Nuestros resultados apoyan la importancia de los receptores 5-HT1B en la modulación de las propiedades reforzantes del EtOH y están en línea con los resultados de otras investigaciones previas. Por ejemplo, la administración ip del agonista 5-HT1B CP94253 redujo la auto-administración de EtOH al 10% de concentración ([Maurel, De Vry, & Schreiber, 1999](#)). De igual manera, la administración intraperitoneal del agonista 5-HT1B RU24969, aunque este también muestra afinidad por el receptor 5-HT1A, suprimió significativamente la auto-administración de EtOH y este efecto fue revertido por la administración del antagonista selectivo por los receptores 5-HT1B GR127935 ([Tomkins & O'Neill, 2000](#)). La administración ip del potente agonista 5-HT1B anpirtolina, aunque este también puede actuar como antagonista de los receptores 5-HT3, disminuyó el consumo de EtOH en ratones ([Miczek & de Almeida, 2001](#)). Los receptores 5-HT1B no solo modulan las propiedades gratificantes del EtOH, sino que también podrían estar involucrados en los efectos de algunos psicoestimulantes. Por ejemplo, un estudio reportó que la administración del agonista CP94253 atenuó la auto-administración de cocaína bajo un programa de razón progresiva después de un periodo largo de abstinencia, pero no después de un periodo corto ([Pentkowski et al., 2014](#)). También, la administración intra-accumbens del CP94253 disminuyó la auto-administración de anfetamina bajo un programa de razón progresiva ([Fletcher, Azampanah, & Korth, 2002](#)), la administración sistémica del CP94253 también disminuye las propiedades discriminativas de la anfetamina ([Miranda et al., 2007](#)). Adicionalmente, se ha reportado que el agonista 5-HT1B CP94253 disminuyó el consumo de metanfetamina en ratas

bajo un programa de reforzamiento RV5 antes y después de un periodo de abstinencia y la administración del antagonista 5-HT1B SB224289 previno el efecto del CP94253. También se reportó que el zolmitriptán, agonista menos selectivo por los receptores 5-HT1B, también disminuyó el consumo de metanfetamina en condiciones similares cuando se administró el CP94253 (García et al., 2017).

Possible mecanismo que explica los resultados

Los resultados previos y los que reportamos en este estudio sugieren que los agonistas del receptor 5-HT1B son importantes para regular algunas conductas relacionadas con el consumo de psicoestimulantes y EtOH. Aunque el mecanismo neuroquímico involucrado en los efectos de los agonistas 5-HT1B no se ha aclarado bien hasta el momento, se podrían especular algunas consideraciones al respecto. Primero, el sistema 5-HTérgico juega un papel importante en la modulación de conductas relacionadas con el consumo de drogas adictivas, incluido el EtOH (Müller, Carey, Huston, & De Sousa Silva, 2007; Müller & Homberg, 2015; Sari, Johnson, & Weedman, 2011). El nAcc y el ATV, son estructuras importantes del sistema de la gratificación del cerebro que reciben proyecciones 5-HTérgicas a través de varios subtipos de receptores (Müller & Huston, 2006). Segundo, varias líneas de evidencia sugieren que los receptores 5-HT1B localizados en el sistema de la gratificación del cerebro, particularmente en el nAcc, juegan un papel importante en la modulación de conductas asociadas al consumo de drogas de abuso, incluido el EtOH (García et al., 2017; Yan et al., 2005). Tercero, los receptores 5-HT1B son fuertemente expresados en el shell del nAcc (Bruinvels et al., 1994). Varios estudios han sugerido que los receptores 5-HT1B están expresados tanto en neuronas 5-HTérgicas como neuronas no 5-HTérgicas, actuando como auto y heterorreceptores, respectivamente, regulando la liberación de 5-HT y de otros neurotransmisores (Morikawa, Manzoni, Crabbe, & Williams, 2000). Los heterorreceptores 5-HT1B se han localizado en las terminales axónicas de las MSNs que proyectan del nAcc al ATV y a otras estructuras, también se han localizado en terminales Gluérgicas que llegan al nAcc (Muramatsu et al., 1998). Es bien documentado que la administración o consumo de EtOH produce un aumento en los

niveles extracelulares de DA en el nAcc (Di Chiara & Imperato, 1988; Imperato & Di Chiara, 1986; Clarke, Adermark, Chau, Söderpalm, & Ericson, 2014; Yan et al., 2005) por lo que una disminución en las conductas relacionadas con el EtOH debería involucrar un mecanismo que redujera los niveles extracelulares de DA en el nAcc (Sari, 2013). Una primera aproximación sería considerar a los heterorreceptores 5-HT1B que se localizan en las terminales axónicas de las MSNs que proyectan del nAcc al ATV. La estimulación de estos receptores por la 5-HT o agonistas exógenos 5-HT1B, inhibiría la liberación de GABA por las MSNs provenientes del nAcc, lo que provocaría, una desinhibición de las neuronas DAérgicas de ATV y, como consecuencia, se observaría una mayor liberación de DA en el nAcc (Parsons, Koob, & Weiss, 1999). Debido a lo anterior, este mecanismo podría descartarse como responsable de los efectos de agonistas 5-HT1B sobre el consumo de EtOH observados en algunos experimentos (Miczek & de Almeida, 2001) y en los resultados de este estudio. Otra explicación podría involucrar a los heterorreceptores 5-HT1B localizado en terminales Gluérgicas que llegan al nAcc. Una disminución de los inputs excitatorios provenientes de neuronas Gluérgicas reduciría o inhibiría la actividad de las MSNs en el nAcc lo que produciría al final un aumento en los niveles presinápticos de DA en el nAcc (Muramatsu et al., 1998), por lo cual se podría descartar este mecanismo para explicar nuestros resultados y los de otros.

Otro posible mecanismo que explicaría los resultados de esta investigación y los de otros estudios, involucraría a los heterorreceptores 5-HT1B localizados en las terminales axónicas de las iAchérgicas en el nAcc (Virk et al., 2016). Algunos estudios han reportado que la liberación de Ach por las iAchérgicas del nAcc activan a los receptores nicotínicos localizados en las terminales de neuronas no Achérgicas de DA (Yorgason, Zeppenfeld, & Williams, 2017), GABA (Zhou, Wilson, & Dani, 2002) y otras. De esta forma, la actividad de las iAchérgicas influye en gran parte en la actividad de la población neuronal del nAcc (Zhou et al., 2002). La estimulación de los heterorreceptores 5-HT1B en las iAchérgicas del nAcc disminuiría los inputs excitatorios a las neuronas DAérgicas, y como consecuencia, disminuirían los niveles presinápticos de DA en el nAcc (Hanada et al., 2018). Este mecanismo es consistente con nuestros datos y los de otros. En

apoyo a esta sugerencia, se ha reportado, en primer lugar, que la liberación de DA en el nAcc shell es modulada por las iAchérgicas a través de los receptores nicotínicos localizados en las terminales presinápticas de DA (Shin, Adrover, & Alvarez, 2017) y la estimulación de los receptores 5-HT1B en las terminales de iAchérgicas podrían inhibir la liberación de Ach y, como consecuencia, disminuir los inputs excitatorios en las neuronas DAérgicas (Virk et al., 2016). Adicionalmente, se ha reportado que la administración del antagonista de los receptores Achérgicos tipo nicotínicos, mecamilamina, previno el escalamiento de la auto-administración de cocaína (Hansen & Mark, 2007).

Aunque el último mecanismo podría explicar nuestros resultados y los de otras investigaciones, también pudiera ser conveniente considerar a los autorreceptores 5-HT1B. Estos autorreceptores se encuentran localizados en las terminales presinápticas de neuronas 5-HTérgicas y su activación inhibe la liberación de 5-HT (Sari, 2004). Si se estimulan los autorreceptores 5-HT1B de una

terminal 5-HTérgica, se reduciría la liberación de 5-HT por esa terminal (Sari et al., 2011), lo que reduciría la estimulación de los heterorreceptores 5-HT1B en neuronas no 5-HTérgicas, provocando que el control inhibitorio sobre las neuronas no 5-HTérgicas se redujera (O'Dell & Parsons, 2004; Yan & Yan, 2001). Si estas neuronas no 5-HTérgicas fueran las MSNs que provienen del nAcc que proyectan sus axones terminales en las neuronas DAérgicas del ATV, la reducción inhibitoria que ejercen los heterorreceptores 5-HT1B en las MSNs, provocaría, primero, un aumento en la liberación de GABA, y en segundo lugar, una reducción en la liberación de DA en el nAcc, esta sugerencia también podría explicar los resultados de esta investigación. Sin embargo, una limitación de este estudio es que no se hizo ninguna manipulación farmacológica, electrofisiológica, transferencia genética con virus u optogenética, que permitiera averiguar cuál tipo de receptor 5-HT1B está modulando la auto-administración oral de EtOH de esta investigación.

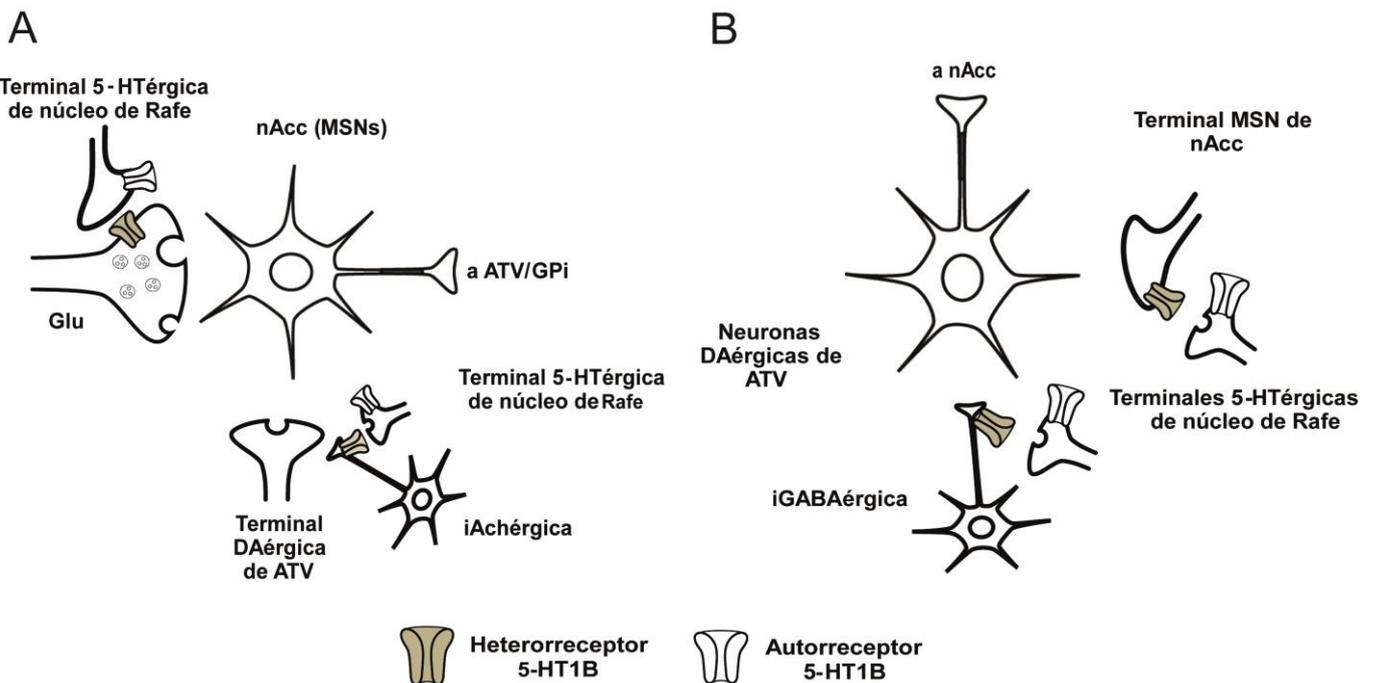


Figura 3. Representación esquemática de las estructuras y receptores que podrían estar involucrados en los efectos del agonista 5-HT1B CP94253 en la auto-administración oral de EtOH. En A se representan las neuronas espinosas medianas (MSNs) en el núcleo accumbens (nAcc), las neuronas que liberan glutamato (Glu) y terminales serotonérgicas (5-HTérgicas) provenientes del núcleo del Rafe. Así como la terminal dopaminérgica (DAérgica) proveniente del área tegmental ventral (ATV). Se representan también las interneuronas colinérgicas (iAchérgicas) localizadas en el nAcc. En B se representan las neuronas DAérgicas en el ATV así como las terminales de MSNs que provienen del nAcc, las terminales 5-HTérgicas provenientes del núcleo del Rafe y las interneuronas GABAérgicas (iGABAérgicas) localizadas en el ATV. Para una explicación, consultar la sección de Discusión.

En la **Figura 3** se puede visualizar los diferentes roles que tendrían los auto y heterorreceptores 5-HT1B en la disminución de la auto-administración oral de EtOH provocada por el CP94253 y se necesitarían estudios adicionales para llegar a una conclusión más sólida sobre cuál tipo de receptor está involucrado en esta disminución. También es conveniente mencionar que durante las pruebas donde se administró solo el antagonista 5-HT1B SB216641 (ver **figura 2A** panel central), este compuesto no produjo efectos en la auto-administración oral de EtOH en este estudio. La ausencia de efectos podría reflejar una de dos condiciones. La primera es que la falta de efectos del antagonista SB216641 podría reflejar que los receptores 5-HT1B no ejercen influencia tónica sobre la conducta de auto-administración oral de EtOH. La segunda, como algunos estudios han sugerido, para observar efectos de este antagonista sobre alguna conducta relacionada con el consumo de EtOH, es necesario la administración crónica, en lugar de la aguda (Tomkins & O'Neill, 2000). En la presente investigación, por el diseño intra-sujetos, nosotros administramos el antagonista SB216641 en varias ocasiones, no la misma dosis, que pudo ser una condición insuficiente para observar efectos sobre la conducta de auto-administración oral de EtOH.

Aunque con los datos de este estudio no se podría descartar con claridad ningún mecanismo señalado arriba, los datos obtenidos con la administración sistémica del agonista CP94253 indicarían que en la auto-administración oral de EtOH no solo estarían participando los receptores 5-HT1B en el nAcc, sino también los localizados en las interneuronas GABAérgicas del ATV. En el caso de la localización de estos receptores en el nAcc, podría ser posible que la estimulación de los receptores 5-HT1B en el nAcc esté actuando en un mecanismo complejo en el que podrían participar diversos tipos de neuronas para alterar las conductas relacionadas con el consumo de EtOH. También se podrían señalar algunas condiciones que podrían limitar las generalizaciones del estudio. Por ejemplo, en el experimento de la administración intra-nAcc de los ligandos 5-HT1B no se incluyó la dosis de 0.0. Aunque la administración del vehículo, la dosis 0.0, de los ligandos 5-HT1B no se llevó a cabo en el experimento donde la administración fue intra-nAcc, en el experimento donde se administraron sistémicamente los ligandos, los resultados de la

administración del vehículo mostraron que no producen efectos bajo estas condiciones. Podríamos especular que la administración del vehículo en el nAcc podría no alterar la conducta de auto-administración oral de EtOH. Sin embargo, no deja de ser una limitación metodológica del diseño experimental de este estudio, por lo que se debería considerar para cualquier generalización de los datos de este experimento.

Hay otra condición que también podría limitar las contribuciones del estudio, y es el tamaño de la muestra en los experimentos. Aunque el tamaño de la *n* comenzó con 10 ratas, en el experimento de la administración intra-nAcc concluyó con seis ratas. Pudieran parecer pocos sujetos que limitarían las conclusiones del estudio en relación a la administración intra-nAcc. No obstante, los resultados que obtuvimos son similares a los obtenidos con la administración sistémica. El diseño que se empleó fue un diseño intra-sujetos porque esto evita emplear un número mayor de animales experimentales, pero hace el estudio más largo y los sujetos reciben mayor número de administraciones de los ligandos 5-HT1B. No obstante, se podría argumentar que este efecto, si lo hubiera, debió presentarse con la administración del vehículo en los experimentos de la administración sistémica, caso que no hubo. Sin embargo, no deja de ser una variable que habría que considerar en futuros experimentos.

En conclusión, la presente investigación mostró que la administración del agonista 5-HT1B CP94253 disminuyó la auto-administración oral de EtOH en ratas, esta disminución fue revertida por el pre-tratamiento con el antagonista selectivo de los receptores 5-HT1B SB216641. Estos datos, junto con los de otros estudios, proporcionan evidencia del papel modulador de los receptores 5-HT1B en las conductas relacionadas con las drogas adictivas, incluyendo el EtOH.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Luis Aguayo de la Universidad de Concepción, Concepción Chile por sus comentarios a este manuscrito.

Este estudio fue subsidiado por PAPITT IN301717 (DGAPA-UNAM, México) a Florencio Miranda.

Referencias

Bruinvels, A. T., Landwehrmeyer, B., Gustafson, E. L.,

- Durkin, M. M., Mengod, G., Branchek, T. A., ... Palacios, J. M. (1994). Localization of 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D} alpha, 5-HT_{1E} and 5-HT_{1F} receptor messenger RNA in rodent and primate brain. *Neuropharmacology*, 33(3-4), 367-386. doi: [10.1016/0028-3908\(94\)90067-1](https://doi.org/10.1016/0028-3908(94)90067-1)
- Bubar, M. J., & Cunningham, K. A. (2007). Distribution of serotonin 5-HT_{2C} receptors in the ventral tegmental area. *Neuroscience*, 146(1), 286-297. doi: [10.1016/j.neuroscience.2006.12.071](https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.12.071)
- Cachope, R., Mateo, Y., Mathur, B. N., Irving, J., Wang, H. L., Morales, M., ... Cheer, J. F. (2012). Selective activation of cholinergic interneurons enhances accumbal phasic dopamine release: setting the tone for reward processing. *Cell Reports*, 2(1), 33-41. doi: [10.1016/j.celrep.2012.05.011](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.05.011)
- Cao, J., LaRocque, E., & Li, D. (2013). Associations of the 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 1B gene (HTR1B) with alcohol, cocaine, and heroin abuse. *American Journal of Medical Genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics: the Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics*, 162B(2), 169-176. doi: [10.1002/ajmg.b.32128](https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32128)
- Clarke, R. B., Adermark, L., Chau, P., Söderpalm, B., & Ericson, M. (2014). Increase in nucleus accumbens dopamine levels following local ethanol administration is not mediated by acetaldehyde. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 49(5), 498-504. doi: [10.1093/alcalc/agu047](https://doi.org/10.1093/alcalc/agu047)
- Creed, M. C., Ntamati, N. R., & Tan, K. R. (2014). VTA GABA neurons modulate specific learning behaviors through the control of dopamine and cholinergic systems. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 8. doi: [10.3389/fnbeh.2014.00008](https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00008)
- Crespo, J. A., Sturm, K., Saria, A., & Zernig, G. (2006). Activation of muscarinic and nicotinic acetylcholine receptors in the nucleus accumbens core is necessary for the acquisition of drug reinforcement. *The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience*, 26(22), 6004-6010. doi: [10.1523/JNEUROSCI.4494-05.2006](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4494-05.2006)
- Di Chiara, G., & Imperato, A. (1988). Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(14), 5274-5278. doi: [10.1073/pnas.85.14.5274](https://doi.org/10.1073/pnas.85.14.5274)
- Enoch, M. A. (2008). The role of GABA(A) receptors in the development of alcoholism. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 90(1), 95-104. doi: [10.1016/j.pbb.2008.03.007](https://doi.org/10.1016/j.pbb.2008.03.007)
- Fletcher, P. J., Azampanah, A., & Korth, K. M. (2002). Activation of 5-HT(1B) receptors in the nucleus accumbens reduces self-administration of amphetamine on a progressive ratio schedule. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 71(4), 717-725. doi: [10.1016/s0091-3057\(01\)00717-1](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(01)00717-1)
- Garcia, R., Cotter, A. R., Leslie, K., Olive, M. F., & Neisewander, J. L. (2017). Preclinical evidence that 5-HT_{1B} receptor agonists show promise as medications for psychostimulant use disorders. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 20(8), 644-653. doi: [10.1093/ijnp/pyx025](https://doi.org/10.1093/ijnp/pyx025)
- Hanada, Y., Kawahara, Y., Ohnishi, Y. N., Shuto, T., Kuroiwa, M., Sotogaku, N., ... Nishi, A. (2018). p11 in cholinergic interneurons of the nucleus accumbens is essential for dopamine responses to rewarding stimuli. *eNeuro*, 5(5), ENEURO 0332-18. doi: [10.1523/ENEURO.0332-18.2018](https://doi.org/10.1523/ENEURO.0332-18.2018)
- Hannon, J., & Hoyer, D. (2008). Molecular biology of 5-HT receptors. *Behavioural Brain Research*, 195(1), 198-213. doi: [10.1016/j.bbr.2008.03.020](https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.03.020)
- Hansen, S. T., & Mark, G. P. (2007). The nicotinic acetylcholine receptor antagonist mecamylamine prevents escalation of cocaine self-administration in rats with extended daily access. *Psychopharmacology*, 194(1), 53-61. doi: [10.1007/s00213-007-0822-z](https://doi.org/10.1007/s00213-007-0822-z)
- Hoyer, D., Hannon, J. P., & Martin, G. R. (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 71(4), 533-554. doi: [10.1016/s0091-3057\(01\)00746-8](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(01)00746-8)
- IBM Corp. (2019). *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0*. Armonk, NY: IBM Corp.
- Imperato, A., & Di Chiara, G. (1986). Preferential stimulation of dopamine release in the nucleus accumbens of freely moving rats by ethanol. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 239(1), 219-228.
- Koós, T., & Tepper, J. M. (2002). Dual cholinergic control of fast-spiking interneurons in the neostriatum. *The Journal of Neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 22(2), 529-535. doi: [10.1523/JNEUROSCI.22-02-00529.2002](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-02-00529.2002)
- Kumar, S., Porcu, P., Werner, D. F., Matthews, D. B., Diaz-Granados, J. L., Helfand, R. S., & Morrow, A. L. (2009). The role of GABA(A) receptors in the acute and chronic effects of ethanol: a decade of progress. *Psychopharmacology*, 205(4), 529-564. doi: [10.1007/s00213-009-1562-z](https://doi.org/10.1007/s00213-009-1562-z)
- Maurel, S., De Vry, J., & Schreiber, R. (1999). 5-HT receptor ligands differentially affect operant oral self-administration of ethanol in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 370(3), 217-223. doi: [10.1016/s0014-2999\(99\)00125-9](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(99)00125-9)
- Miczek, K. A., & de Almeida, R. M. (2001). Oral drug self-administration in the home cage of mice: alcohol-heightened aggression and inhibition by the 5-HT_{1B} agonist anpirtoline. *Psychopharmacology*, 157(4), 421-429. doi: [10.1007/s002130100831](https://doi.org/10.1007/s002130100831)
- Miranda, F., Sandoval-Sánchez, A., Cedillo, L. N., Jiménez, J. C., Millán-Mejía, P., & Velázquez-

- Jiménez, J.C., Cortés-Salazar, F., Cedillo-Ildefonso, B. y Miranda, F./ RACC, 2022, Vol. 14, N°1, 68-81
- Martínez, D. N. (2007). Modulatory role of 5-HT1B receptors in the discriminative signal of amphetamine in the conditioned taste aversion paradigm. *Pharmacological Reports*, 59(5), 517–524.
- Morikawa, H., Manzoni, O. J., Crabbe, J. C., & Williams, J. T. (2000). Regulation of central synaptic transmission by 5-HT(1B) auto- and heteroreceptors. *Molecular Pharmacology*, 58(6), 1271–1278. doi: 10.1124/mol.58.6.1271.
- Müller, C. P., Carey, R. J., Huston, J. P., & De Souza Silva, M. A. (2007). Serotonin and psychostimulant addiction: focus on 5-HT1A-receptors. *Progress in Neurobiology*, 81(3), 133–178. doi: 10.1016/j.pneurobio.2007.01.001.
- Müller, C. P., & Homberg, J. R. (2015). The role of serotonin in drug use and addiction. *Behavioural Brain Research*, 277, 146–192. doi: 10.1016/j.bbr.2014.04.007.
- Müller, C. P., & Huston, J. P. (2006). Determining the region-specific contributions of 5-HT receptors to the psychostimulant effects of cocaine. *Trends in Pharmacological Sciences*, 27(2), 105–112. doi: 10.1016/j.tips.2005.12.003.
- Muramatsu, M., Lapid, M. D., Tanaka, E., & Grenhoff, J. (1998). Serotonin inhibits synaptic glutamate currents in rat nucleus accumbens neurons via presynaptic 5-HT1B receptors. *The European Journal of Neuroscience*, 10(7), 2371–2379. doi: 10.1046/j.1460-9568.1998.00248.x.
- O'Dell, L. E., & Parsons, L. H. (2004). Serotonin1B receptors in the ventral tegmental area modulate cocaine-induced increases in nucleus accumbens dopamine levels. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 311(2), 711–719. doi: 10.1124/jpet.104.069278.
- Parsons, L. H., Koob, G. F., & Weiss, F. (1999). RU 24969, a 5-HT1B/1A receptor agonist, potentiates cocaine-induced increases in nucleus accumbens dopamine. *Synapse (New York, N.Y.)*, 32(2), 132–135. doi: 10.1002/(SICI)1098-2396(199905)32:2<132::AID-SYN6>3.0.CO;2-V.
- Paxinos, G., & Watson, C. (1998). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego: American Press Inc.
- Pentkowski, N. S., Harder, B. G., Brunwasser, S. J., Bastle, R. M., Peartree, N. A., Yanamandra, K., ... Neisewander, J. L. (2014). Pharmacological evidence for an abstinence-induced switch in 5-HT1B receptor modulation of cocaine self-administration and cocaine-seeking behavior. *ACS Chemical Neuroscience*, 5(3), 168–176. doi: 10.1021/cn400155t.
- Ruf, B. M., & Bhagwagar, Z. (2009). The 5-HT1B receptor: a novel target for the pathophysiology of depression. *Current Drug Targets*, 10(11), 1118–1138. doi: 10.2174/138945009789735192.
- Sarhan, H., & Fillion, G. (1999). Differential sensitivity of 5-HT1B auto and heteroreceptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 360(4), 382–390. doi: 10.1007/s002109900067.
- Sari, Y. (2004). Serotonin1B receptors: from protein to physiological function and behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28(6), 565–582. doi: 10.1016/j.neubiorev.2004.08.008.
- Sari, Y. (2013). Role of 5-hydroxytryptamine 1B (5-HT1B) receptors in the regulation of ethanol intake in rodents. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 27(1), 3–12. doi: 10.1177/0269881112463126.
- Sari, Y., Johnson, V. R., & Weedman, J. M. (2011). Role of the serotonergic system in alcohol dependence: from animal models to clinics. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 98, 401–443. doi: 10.1016/B978-0-12-385506-0.00010-7.
- Schoeffer, P., & Hoyer, D. (1989). 5-Hydroxytryptamine 5-HT1B and 5-HT1D receptors mediating inhibition of adenylate cyclase activity. Pharmacological comparison with special reference to the effects of yohimbine, rauwolscine and some beta-adrenoceptor antagonists. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 340(3), 285–292. doi: 10.1007/BF00168512.
- Shin, J. H., Adrover, M. F., & Alvarez, V. A. (2017). Distinctive modulation of dopamine release in the nucleus accumbens shell mediated by dopamine and acetylcholine receptors. *The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience*, 37(46), 11166–11180. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0596-17.2017.
- Stobbs, S. H., Ohran, A. J., Lassen, M. B., Allison, D. W., Brown, J. E., & Steffensen, S. C. (2004). Ethanol suppression of ventral tegmental area GABA neuron electrical transmission involves N-methyl-D-aspartate receptors. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 311(1), 282–289. doi: 10.1124/jpet.104.071860.
- Tomkins, D. M., & O'Neill, M. F. (2000). Effect of 5-HT(1B) receptor ligands on self-administration of ethanol in an operant procedure in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 66(1), 129–136. doi: 10.1016/s0091-3057(00)00232-x.
- Virk, M. S., Sagi, Y., Medrihan, L., Leung, J., Kaplitt, M. G., & Greengard, P. (2016). Opposing roles for serotonin in cholinergic neurons of the ventral and dorsal striatum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(3), 734–739. doi: 10.1073/pnas.1524183113.
- Weiss, F., Lorang, M. T., Bloom, F. E., & Koob, G. F. (1993). Oral alcohol self-administration stimulates dopamine release in the rat nucleus accumbens: genetic and motivational determinants. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*,

Jiménez, J.C., Cortés-Salazar, F., Cedillo-Ildefonso, B. y Miranda, F./ RACC, 2022, Vol. 14, N°1, 68-81
267(1), 250–258.

- Yan, Q. S., & Yan, S. E. (2001). Serotonin-1B receptor-mediated inhibition of [(3)H]GABA release from rat ventral tegmental area slices. *Journal of Neurochemistry*, 79(4), 914–922. doi: [10.1046/j.1471-4159.2001.00643.x](https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00643.x).
- Yan, Q. S., Zheng, S. Z., Feng, M. J., & Yan, S. E. (2005). Involvement of 5-HT1B receptors within the ventral tegmental area in ethanol-induced increases in mesolimbic dopaminergic transmission. *Brain Research*, 1060(1-2), 126–137. doi: [10.1016/j.brainres.2005.08.051](https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.08.051).
- Yorgason, J. T., Zeppenfeld, D. M., & Williams, J. T. (2017). Cholinergic interneurons underlie spontaneous dopamine release in nucleus accumbens. *The Journal of Neuroscience: the Official Journal of the Society for Neuroscience*, 37(8), 2086–2096. doi: [10.1523/JNEUROSCI.3064-16.2017](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3064-16.2017).
- Zhou, F. M., Wilson, C. J., & Dani, J. A. (2002). Cholinergic interneuron characteristics and nicotinic properties in the striatum. *Journal of Neurobiology*, 53(4), 590–605. doi: [10.1002/neu.10150](https://doi.org/10.1002/neu.10150).