

**UNIVERSIDAD DE MÁLAGA**

Facultad de Psicología

Departamento de Psicobiología y Metodología de las Ciencias del Comportamiento



**PERFIL CONDUCTUAL DE LAS DROGAS DE DISEÑO  
MBDB, MDEA Y PMA EN MODELOS ANIMALES DE  
AGRESIÓN Y ANSIEDAD**

**TESIS DOCTORAL**

**Presentada por:  
Ana Teresa Muela Mora**

**Dirigida por:  
Dra. M<sup>a</sup> Mercedes Martín López  
Dr. José Francisco Navarro Humanes**

**Málaga, 2016**

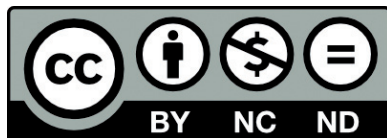


Publicaciones y  
Divulgación Científica

AUTOR: Ana Teresa Muela Mora

 <http://orcid.org/0000-0002-4002-1186>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): [riuma.uma.es](http://riuma.uma.es)



UNIVERSIDAD  
DE MÁLAGA

**PERFIL CONDUCTUAL DE LAS DROGAS DE DISEÑO  
MBDB, MDEA Y PMA EN MODELOS ANIMALES DE  
AGRESIÓN Y ANSIEDAD**

Ana Teresa Muela Mora

Departamento de Psicobiología y Metodología de las  
Ciencias del Comportamiento  
Universidad de Málaga

Directores: José Francisco Navarro Humanes y M<sup>a</sup> Mercedes Martín López

Málaga, noviembre de 2015





Mediante la presente se certifica que:

La tesis doctoral: “Perfil conductual de las drogas de diseño MBDB, MDEA y PMA en modelos animales de agresión y ansiedad”, presentada por Ana Teresa Muela Mora ha sido supervisada por los profesores José Francisco Navarro Humanes y M<sup>a</sup> Mercedes Martín López, del Departamento de Psicobiología y Metodología de las Ciencias del Comportamiento de la Universidad de Málaga, y cumple los requisitos para el grado de Doctor en Psicología.

Málaga, noviembre de 2015

José Francisco Navarro Humanes

M<sup>a</sup> Mercedes Martín López



*A Antonio y*

*A mis padres, Luis y Ana*





# Agradecimientos

Quiero agradecer la realización de esta Tesis Doctoral en primer lugar a mis directores, Dra. Mercedes Martín López y Dr. J. Francisco Navarro Humanes, por la confianza y el ánimo en cada fase de este proyecto. Su rigurosa guía y excepcional disposición han constituido una ayuda inestimable.

Por supuesto, también he de agradecer a María Cavas y Juan Manuel Antúnez su valiosa colaboración en los experimentos, gracias a ellos los fines de semana en el laboratorio de Psicobiología de la Universidad de Málaga fueron más amenos. A Vanesa, por iniciarme en la evaluación conductual y compartir buenos momentos allá donde fuéramos de congreso. Así como a mis compañeros Natalia, Camino, Marta, Berto y Patricia, por la acogida que me dieron y lo mucho que me enseñaron durante mi estancia en la Universidad de Oviedo.

Asimismo me gustaría agradecer a mis amigas y compañeras de carrera, Geno y Loli, por sus palabras de aliento y predisposición para ayudar en lo que fuera preciso.

Finalmente, me gustaría dar las gracias a mis padres que han sido un apoyo incondicional en todo momento, a mis hermanos Mario y Diana por su confianza y el suministro inagotable de gominolas cuando más falta hacía. De igual forma, quiero agradecer a Antonio el haber compartido conmigo cada etapa de este trabajo, por saber comprenderme y apoyarme en todo momento, y ser mi fuente de inspiración para mejorar cada día.



---

## ÍNDICE GENERAL

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.	DROGAS EMERGENTES .....	11
2.1.	METILBENZODIOXOLBUTANAMINA (MBDB) “EDÉN” .....	11
2.1.1.	Clasificación .....	11
2.1.2.	Farmacocinética.....	12
2.1.3.	Farmacodinamia: mecanismo de acción.....	15
2.1.4.	Efectos fisiológicos agudos .....	16
2.1.5.	Efectos conductuales del MBDB.....	19
2.2.	METILENODIOXIETILANFETAMINA (MDEA) “EVA” .....	26
2.2.1.	Clasificación .....	26
2.2.2.	Farmacocinética.....	27
2.2.3.	Farmacodinamia: mecanismo de acción.....	31
2.2.4.	Efectos fisiológicos agudos .....	34
2.2.5.	Efectos conductuales del MDEA.....	34
2.3.	PARAMETOXIANFETAMINA (PMA) “DR. DEATH” .....	38
2.3.1.	Clasificación .....	38
2.3.2.	Farmacocinética.....	40
2.3.3.	Farmacodinamia: mecanismo de acción.....	42
2.3.4.	Efectos fisiológicos agudos .....	47
2.3.5.	Efectos conductuales del PMA.....	50
2.4.	EFFECTOS DE LAS RSAS EMPATÓGENAS SOBRE LA CONDUCTA AGONÍSTICA Y LAS CONDUCTAS RELACIONADAS CON LA ANSIEDAD..	55
2.4.1.	Efectos del MDMA sobre la conducta agonística. ....	55
2.4.2.	Efectos del MDMA sobre la conducta relacionada con la ansiedad.....	61
3.	PSICOBIOLOGIA DE LA AGRESIÓN Y LA ANSIEDAD .....	71
3.1.	CONCEPTOS GENERALES.....	71

---

3.1.1.	El concepto de ansiedad en psicología.....	71
3.1.2.	El concepto de la conducta agresiva en psicología.....	75
3.1.3.	Los modelos animales en investigación .....	77
3.2.	EL ESTUDIO DE LA ANSIEDAD EN MODELOS ANIMALES .....	81
3.2.1.	Clasificación de los modelos animales de ansiedad .....	81
3.2.2.	El circuito neuronal del miedo y la ansiedad.....	88
3.2.3.	Neuroquímica de la ansiedad.....	98
3.3.	EL ESTUDIO DE LA AGRESIÓN EN MODELOS ANIMALES .....	106
3.3.1.	Clasificación de los modelos animales de agresión .....	106
3.3.2.	Neuroanatomía de la conducta agresiva .....	119
3.3.3.	Neuroquímica de la conducta agresiva.....	123
4.	PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL .....	137
5.	MATERIAL Y MÉTODO .....	143
5.1.	METODOLOGÍA DE LOS EXPERIMENTOS DE AGRESIÓN.....	143
5.1.1.	Animales.....	143
5.1.2.	Instrumentos .....	144
5.1.3.	Procedimiento de aislamiento de los animales experimentales.....	144
5.1.4.	Descripción de la anosmia.....	146
5.1.5.	Diseño experimental .....	147
5.1.6.	Administración de la droga.....	147
5.1.7.	Prueba conductual: encuentro agonístico .....	148
5.1.8.	Evaluación conductual.....	149
5.1.9.	Análisis estadístico. ....	149
5.2.	METODOLOGÍA DE LOS EXPERIMENTOS DE ANSIEDAD .....	157
5.2.1.	Animales.....	157
5.2.2.	Instrumentos .....	157
5.2.3.	Diseño experimental.....	158

5.2.4.	Administración de la droga.....	158
5.2.5.	Prueba conductual: laberinto elevado en cruz .....	159
5.2.6.	Evaluación conductual.....	159
5.2.7.	Análisis estadístico .....	161
6.	EXPERIMENTO 1: Efectos de la administración de MBDB sobre la conducta agonística en ratones.....	167
6.1.	PROCEDIMIENTO .....	167
6.2.	RESULTADOS .....	167
6.2.1.	Análisis de los parámetros etológicos .....	167
6.2.2.	Análisis de secuencias conductuales .....	173
6.2.3.	Evolución temporal de la conducta ofensiva de ataque.....	181
6.1.	DISCUSIÓN. ....	
7.	EXPERIMENTO 2: Efectos de la administración de MBDB sobre la ansiedad evaluada en el test del laberinto elevado en cruz en ratones. ....	201
7.1.	PROCEDIMIENTO .....	201
7.2.	RESULTADOS .....	201
7.2.1.	Efectos del MBDB sobre las medidas espaciotemporales evaluadas en el test EPM .....	204
7.2.2.	Efectos del MBDB sobre las medidas etológicas evaluadas en el test laberinto elevado en cruz.....	205
7.3.	DISCUSIÓN. ....	211
8.	EXPERIMENTO 3: Efectos de la administración de MDEA sobre la conducta agonística en ratones machos. ....	221
8.1.	PROCEDIMIENTO .....	221
8.2.	RESULTADOS .....	221
8.2.1.	Análisis de los parámetros etológicos .....	221
8.2.2.	Análisis de secuencias conductuales .....	227
8.2.3.	Evolución temporal de la conducta ofensiva de ataque.....	233

---

8.3. DISCUSIÓN.....	243
9. EXPERIMENTO 4: Efectos de la administración de MDEA sobre la ansiedad evaluada en el test del laberinto elevado en cruz en ratones machos.....	249
9.1. PROCEDIMIENTO.....	249
9.2. RESULTADOS.....	249
9.2.1. Efectos del MDEA sobre las medidas espaciotemporales evaluadas en el test laberinto elevado en cruz.....	252
9.2.2. Efectos del MDEA sobre las medidas etológicas evaluadas en el test laberinto elevado en cruz.....	252
9.3. DISCUSIÓN.....	257
10. EXPERIMENTO 5: Efectos de la administración de PMA sobre la conducta agonística en ratones machos.....	265
10.1. PROCEDIMIENTO.....	265
10.2. RESULTADOS.....	265
10.2.1. Análisis de los parámetros etológicos.....	265
10.2.2. Análisis de secuencias conductuales.....	271
10.2.3. Evolución temporal de la conducta ofensiva de ataque.....	278
10.3. DISCUSIÓN.....	287
11. EXPERIMENTO 6: Efectos de la administración de PMA sobre la ansiedad evaluada en el test del laberinto elevado en cruz en ratones machos.....	293
11.1. PROCEDIMIENTO.....	293
11.2. RESULTADOS.....	293
11.2.1. Efectos del PMA sobre las medidas espaciotemporales evaluadas en el test laberinto elevado en cruz.....	296
11.3. DISCUSIÓN.....	301
12. DISCUSIÓN GENERAL.....	307
13. CONCLUSIONES GENERALES.....	327
14. REFERENCIAS.....	331

## INDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 Modelos de ansiedad según el tipo de respuesta y el tipo de estímulo estresor .....	85
Tabla 3.2 Clasificación anatómica y funcional de los núcleos de la amígdala.....	92
Tabla 3.3 Clasificación de las conductas agresivas típicas de la especie .....	112
Tabla 3.4 Modelos animales de agresión según el tipo de manipulación y de agresión .....	117
Tabla 6.1 Parámetros conductuales agonísticos tras la administración aguda de MBDB o MDMA en el paradigma de agresión inducida por aislamiento.....	168
Tabla 6.2 Probabilidad de ocurrencia y de transición de las diadas conductuales tras la administración aguda de MBDB, en el paradigma de agresión inducida por aislamiento .....	175
Tabla 7.1 Parámetros espaciales y etológicos tras la administración aguda de MBDB o MDMA, en el paradigma de ansiedad EPM .....	202
Tabla 8.1 Parámetros conductuales agonísticos tras la administración aguda de MDEA, en el paradigma de agresión inducida por aislamiento .....	222
Tabla 8.2. Probabilidad de ocurrencia y de transición de las diadas conductuales tras la administración aguda de MDEA, en el paradigma de agresión inducida por aislamiento .....	228
Tabla 9.1 Parámetros espaciales y etológicos tras la administración aguda de MDEA, en el paradigma de ansiedad EPM.....	250
Tabla 10.1 Parámetros conductuales agonísticos tras la administración aguda de PMA, en el paradigma de agresión inducida por aislamiento .....	266
Tabla 10.2. Probabilidad de ocurrencia y de transición de las diadas conductuales tras la administración aguda de PMA, en el paradigma de agresión inducida por aislamiento .....	272
Tabla 11.1 Parámetros espaciales y etológicos tras la administración aguda de PMA, en el paradigma de ansiedad EPM.....	294
Tabla 12.1 Resumen general de los experimentos.....	308

## INDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Estructura molecular de las feniletilaminas MBDB y MDMA.....	11
Figura 2.2 Metabolitos del MBDB en fase I .....	13
Figura 2.3 Estructura molecular de las feniletilaminas MDEA y MDMA .....	26
Figura 2.4 Metabolitos del MDEA en fase I.....	30
Figura 2.5 Estructura modelcular de las feniletilaminas PMA y MDMA.....	38
Figura 2.6 Metabolito del PMA.....	41
Figura 3.1 Circuito neuronal de la ansiedad .....	92
Figura 5.1 Cálculo de matrices de probabilidad de ocurrencia y de transición.....	151
Figura 5.2 Categorías conductuales evaluadas en ratones durante el análisis etológico del modelo de agresión inducida por aislamiento.....	153
Figura 5.3 Procedimiento del modelo de agresión inducida por aislamiento.....	155
Figura 5.4 Categorías conductuales evaluadas en ratones durante el análisis etológico del modelo del laberinto elevado en cruz .....	162
Figura 5.5 Procedimiento del modelo del laberinto elevado en cruz .....	163
Figura 6.1 Perfil conductual agonístico tras la administración de MBDB .....	183
Figuras 6.2-6.6 Mapa conductual diádico de los grupos tratados con MBDB y MDMA .....	185
Figura 6.7 Evolución temporal del ataque tras el tratamiento con MBDB o MDMA ..	187
Figura 7.1 Medidas espaciales y etológicas en el laberinto elevado en cruz, tras la administración de MBDB y MDMA .....	209
Figura 8.1 Perfil conductual agonístico tras la administración de MDEA .....	235
Figuras 8.2-8.5 Mapa conductual diádico de los grupos tratados con MDEA.....	237
Figura 8.6 Evolución temporal del ataque tras el tratamiento con MDEA .....	241
Figura 9.1 Medidas espaciales y etológicas en el laberinto elevado en cruz, tras la administración de MDEA .....	255
Figura 10.1 Perfil conductual agonístico tras la administración de PMA.....	279
Figuras 10.2-10.6 Mapa conductual diádico de los grupos tratados con PMA.....	281
Figuras 10.7 Evolución temporal del ataque tras el tratamiento con PMA.....	285
Figura 11.1 Medidas espaciales y etológicas en el laberinto elevado en cruz, tras la administración de PMA .....	299



# 1. INTRODUCCIÓN



## 1. INTRODUCCIÓN

El objetivo de esta Tesis Doctoral ha sido analizar el perfil conductual de las drogas de diseño emergentes metilbenzodioxolbutanamina (MBDB), metilendioxietilamfetamina (MDEA) y parametoxianfetamina (PMA), en modelos animales de agresión y ansiedad. Estas sustancias son feniletilaminas sintéticas muy similares a la metilendioximetanfetamina (MDMA), que es el principal compuesto presente en las pastillas distribuidas bajo la denominación de “éxtasis”.

En la actualidad, el Observatorio europeo de drogas y toxicomanía (EMCDDA) emplea la nomenclatura oficial de drogas emergentes “*Emerging drugs*” o “*New psychoactive substances*” (NPS), para referirse a “los nuevos estupefacientes o drogas psicotrópicas, en su forma pura o preparada, que no están bajo control legal de la Convención Única de las Naciones Unidas de 1961 sobre estupefacientes, o en la Convención de 1971 sobre sustancias psicotrópicas, pero que pueden suponer una amenaza para la salud pública comparable a la planteada por las sustancias enumeradas en estas convenciones” (Decisión del Consejo 2005/387/JHA) (Eurosurveillance editorial team, 2012; Papaseit, Farré, Schifano, & Torrens, 2014).

Existen otros términos relacionados que tienen diferentes connotaciones. Entre ellos, el concepto de “*Drogas de Diseño*”, introducido por el farmacéutico californiano Gary Henderson en 1960, hace referencia a un conjunto de nuevas drogas con fines recreativos y sintetizadas clandestinamente en laboratorio para escapar de las restricciones legales (Liechti, 2015). De forma similar, bajo la denominación de “*Drogas de Síntesis*” se alude al origen sintético y artificial de éstas. Otro término común es el de “*Drogas Recreativas*” que destaca el contexto habitual de consumo (Reid, Derry & Thomas, 2014), o el de “*Legal Highs*” que enfatiza el vacío legal en la venta on-line, desde hierbas a drogas de síntesis no expresamente prohibidas (Hillebrand, Olszewski, & Sedefov, 2010). Por otra parte, en el contexto de la investigación, resulta bastante frecuente el uso del término “*Research chemicals*” (RCs), en referencia al estudio científico de distintos aspectos de las drogas de abuso, tales como el grado de toxicidad, metabolismo, mecanismos de acción y efectos de su consumo. Además, existen evidencias de que bastantes RCs son estructuralmente similares a diversos neurotransmisores cerebrales, lo cual parece estar relacionado con su potencial psicoactivo y hace que sea especialmente relevante su uso como herramienta para avanzar en el conocimiento del sistema nervioso mediante

---

modelos animales (Liechti, 2015). No obstante, como ya indicábamos al inicio, se ha empleado de forma más reciente la nomenclatura de “drogas emergentes” en algunos documentos oficiales, en parte debido a que la amplitud de este concepto es suficientemente general como para abarcar la totalidad de las sustancias psicoactivas disponibles sin entrar en detalles de contexto, consumo, ilegalidad o tipo de síntesis. Además, este calificativo resulta especialmente interesante debido a que el concepto de emergente o nuevo no se refiere necesariamente al diseño de nuevas drogas, sino también a la moda como factor clave en la disponibilidad y consumo de drogas psicoactivas ya existentes, que aparecen, emergen y se redescubren de forma recurrente a lo largo de los años (Ministerio de Sanidad y Política Social España, 2011; Papaseit et al., 2014).

Este aspecto resulta clave en relación al “éxtasis” ya que, con ciertas fluctuaciones, ha sido una de las drogas de mayor disponibilidad y consumo durante los últimos treinta años. Sin embargo, lejos de identificarse con una composición estándar, las pastillas que se distribuyen bajo esta nomenclatura presentan una gran adulteración respaldada por pruebas forenses. Según el último informe realizado por el EMCDDA, se denomina habitualmente “éxtasis” a la sustancia sintética MDMA; aunque en los últimos años la pureza de esta sustancia parece haber mejorado un poco, los datos disponibles a finales de la última década informaban de una muy baja calidad y una gran adulteración (EMCDDA, 2015a; Tanner-Smith, 2006), por lo que, en definitiva, resulta bastante habitual que las pastillas distribuidas como “éxtasis” contengan nuevas sustancias psicoactivas análogas al MDMA, así como otros compuestos químicos no relacionados. Entre las sustancias psicoactivas afines se encuentran diversos compuestos estructuralmente similares como MBDB, MDEA, Metilenedianfetamina (MDA), y de una forma más ocasional PMA, o Parametoximetanfetamina (PMMA), así como otros adulterantes habituales pertenecientes a otros grupos farmacológicos tales como las piperacinas o catinonas sintéticas (Carter, Ruttly, Milroy, & Forrest, 2000; Caudevilla González, & Fenoll, 2009; EMCDDA, 2012; Freudemann & Spitzer, 2004; Ochoa Mangado, 2002; Schifano, 2004; Schifano, Corkery, Deluca, Oyefeso, & Ghodse, 2006; Vaiva et al., 2001; Velea et al., 1999; Vogels et al., 2009; Vollenweider et al., 2002).

La inclusión de MBDB, MDEA o PMA en la composición de pastillas de “éxtasis” adulteradas puede deberse a su similitud estructural con el MDMA y también a que parecen compartir con esta molécula efectos psicotrópicos predominantemente de tipo entactógeno, como así indican algunos estudios de discriminación de drogas en animales

de experimentación (Boja & Schechter, 1987; Glennon & Misenheimer, 1989; Glennon, Young, Dukat, & Cheng, 1997; Glennon & Young, 2002; Nichols & Oberlender, 1989; Oberlender & Nichols, 1988; 1990; Sáez-Briones & Hernández, 2013; Vollenweider et al., 2002; Schechter, 1988). En este aspecto, el paradigma de discriminación de drogas resulta una herramienta adecuada para realizar una primera aproximación en el análisis de los efectos psicotrópicos de sustancias desconocidas. Estos efectos pueden ser esencialmente de cuatro tipos: estimulantes, alucinógenos, depresores y entactógenos/empatógenos. El citar en último lugar los efectos de tipo empatógeno/entactógeno obedece históricamente a que fueron los últimos en entrar en esta clasificación hace unos 25 años, precisamente cuando se empezó a constatar que los efectos conductuales del MDMA no llegaban a corresponderse abiertamente con ninguna de las categorías anteriormente citadas (Nichols & Oberlender, 1989; Oberlender & Nichols, 1988; 1990; Sáez-Briones & Hernández, 2013; Vollenweider, Liechti, Gamma, Greer, & Geyer, 2002). Respecto a esto, hay que tener en cuenta dos consideraciones relevantes. En esta nueva clase farmacológica denominada “Entactógenos” se incluyen diversas feniletilaminas sintéticas (MDMA, MBDB, MDEA, MDA, PMA, PMMA), pero también se han ido incorporando en esta categoría sustancias de diferentes grupos farmacológicos: catinonas sintéticas empatógeno-estimulantes (Metilona “ $\beta$ -keto MDMA”, o más recientemente la Mefedrona), aminoindanos (MDAI, MDMAI, 5-IAI, 2-AI, NM-2AI), benzodifuranos de efecto empatógeno (6-APDB, 6-APB) y algunas piperacinas (Metroclorpramida “mCPP”, Trifluorometilfenil-piperacina “TFMPP”). En segundo lugar, es necesario aclarar que las feniletilaminas sintéticas comúnmente denominadas anfetaminas de anillo sustituido (Ring-substituted amphetamines, “RSAs”) producen efectos psicotrópicos de lo más variado, pues aparte de las citadas sustancias empatógenas (MDMA, MBDB, MDEA, MDA, PMA, PMMA), existen compuestos que son claramente estimulantes (anfetamina, metanfetamina “Meth, Cristal”, sustancias 2C-[series] en dosis bajas); mientras que otras RSAs son de tipo alucinógeno, como el DOB o el DOM. Por tanto, aunque las primeras sustancias empatógenas fueran estructuralmente feniletilaminas sintéticas, este efecto psicotrópico no parece que se encuentre ligado de forma intrínseca a la estructura molecular de todas las RSAs, a la vez que puede observarse en compuestos relacionados con otros grupos farmacológicos (EMCDDA, 2015a; Liechti, 2015; Reid et al., 2014; Schifano, Orsolini, Duccio Papanti, & Corkery, 2015; UNODC, 2014).

El MDMA es una droga bien conocida, sobre todo en ambientes recreativos, por su capacidad para proporcionar una sensación de bienestar y apertura emocional que mejora y refuerza la comunicación empática, mitigando las dificultades para relacionarse y comunicarse de forma cercana, cálida o agradable (Hegadoren, Baker, & Bourin, 1999; Sáez-Briones & Hernández, 2013). Debido a estas características los jóvenes se sitúan en primera línea de riesgo, siendo la falta de reconocimiento de peligro un factor de riesgo importante (Velea, Hautefeuille, Vazeille, & Lantran-Davoux, 1999). La sensación subjetiva de facilitar la relación con los demás hace de estas drogas empatógenas (y otras legales como el alcohol), un recurso para sectores de la población especialmente vulnerables, por lo que el adecuado conocimiento de los efectos de estos compuestos es vital para elaborar planes de prevención y educación que sean eficientes. Además, resulta también evidente que el conocimiento de los efectos de compuestos ilegales fácilmente disponibles sin ninguna regulación es una cuestión de seguridad sanitaria.

El consumo de esta droga es capaz de producir una serie de efectos adversos secundarios difíciles de predecir con exactitud en humanos, ya que son inusualmente sensibles a pequeñas variaciones en la dosis y factores ambientales (Sáez-Briones & Hernández, 2013). Se han descrito efectos secundarios motores (aumento de la actividad locomotora), psicológicos (cambios perceptuales, incapacidad de concentración, ansiedad, depresión, psicosis), y efectos tóxicos a nivel sistémico como la elevación aguda de la temperatura corporal, sudoración, escalofríos, pérdida del apetito y aumento de la sed, hipertensión, fallo renal, rabdomiolisis, temblores, bruxismo, dolores musculares, coagulación intravascular diseminada y colapso cardiovascular, que pueden tener consecuencias fatales (Gouzoulis-Mayfrank, Hermle, Kovar, & Sass, 1996; Sauer & Weilemann, 1997; Schifano, 2004; Velea et al., 1999; Vollenweider, Gamma, Liechti, & Huber, 1998). Muchos de estos efectos no deseados se deben al “síndrome serotoninérgico” que se produce en respuesta a las drogas que aumentan las concentraciones sinápticas de serotonina en el sistema nervioso central (Callaghan, 2008).

La administración aguda de MDMA induce la liberación de neurotransmisores monoaminérgicos, principalmente serotonina (5-HT), y también dopamina (DA), en diversas regiones del sistema nervioso central tales como el estriado, núcleo accumbens, hipocampo y corteza prefrontal. Este incremento en la neurotransmisión monoaminérgica es resultado de la acción directa e indirecta sobre las proteínas transportadoras de 5-HT y DA (SERT y DAT, respectivamente), presentes en la membrana del terminal axónico. La

---

molécula de MDMA accede al interior de la neurona a través de las proteínas transportadoras, y una vez dentro altera el flujo monoaminérgico a varios niveles; por un lado invierte la función del transportador vesicular aumentando el nivel citoplasmático de monoaminas y, por otro lado, también invierte el flujo de los transportadores SERT y DAT facilitando la liberación no exocitótica de monoaminas al espacio sináptico e inhibiendo el proceso normal de recaptación (Halpin, Collins, & Yamamoto, 2014). Se ha descrito que la liberación de serotonina ejerce un efecto activador sobre la liberación de dopamina, y que estas monoaminas aumentan a su vez la actividad del sistema colinérgico. Además, la MDMA también incrementa la concentración extracelular de glucosa y lactato (Gudelsky & Yamamoto, 2008).

El interés en el estudio de las sustancias psicoactivas entactógenas, tanto de sus efectos conductuales como su mecanismo de acción, puede suponer un avance en el conocimiento de los circuitos emocionales en el sistema nervioso central y una posible vía para el tratamiento de diversos trastornos del estado de ánimo. El particular mecanismo de acción del MDMA y sus propiedades entactógenas, han despertado el interés científico por su posible uso terapéutico en el manejo farmacológico de diversos trastornos neuropsiquiátricos (Sáez-Briones & Hernández, 2013; Sessa, 2007), como la depresión (Majumder, White, & Irvine, 2012; Riedlinger & Riedlinger, 1994), trastorno por estrés postraumático (Bouso, Doblin, Farré, Alcázar, & Gómez-Jarabo, 2008; Check, 2004; Doblin, 2002) o el autismo (Riedlinger, 1985), al tiempo que existe gran preocupación por extremar las precauciones debido a la elevada cantidad de efectos tóxicos agudos o crónicos (Guillot & Berman, 2007; Parrott, 2007).

Aunque se han publicado un amplio número de estudios sobre el MDMA, apenas se dispone de información sobre el grado de toxicidad, mecanismos de acción y los efectos conductuales del consumo de las drogas MBDB, MDEA y PMA. Trabajos recientes realizados con animales de experimentación sugieren que el MDMA se asocia a un complejo perfil de efectos sobre la ansiedad y la agresión, produciendo a determinadas dosis un incremento de la ansiedad (Bhattacharya, Bhattacharya & Ghosal, 1998; Gurtman, Morley, Li, Hunt, & McGregor, 2002; Maldonado, Navarro, Cárdenas, Dávila, & Cavas, 2000; Navarro & Maldonado, 2002; Navarro, Rivera, Maldonado, Cavas, & De La Calle, 2004) y un efecto antiagresivo (Navarro & Maldonado, 1999; Maldonado & Navarro, 2001b). Sin embargo, hasta la fecha no existen estudios que evalúen el efecto

conductual de la administración de MBDB, MDEA y PMA sobre la conducta agresiva y la ansiedad. Por tanto, esta investigación pretende examinar el perfil conductual de las drogas MBDB, MDEA y PMA en modelos animales de agresión y ansiedad.

Este trabajo consta de dos partes diferenciadas: una teórica y otra experimental. En la primera parte, se presenta una revisión del perfil farmacológico y clínico de las tres sustancias objeto de estudio (aspectos farmacocinéticos, farmacodinámicos, efectos psicofarmacológicos, conductuales y fisiológicos más destacables), a continuación se expone una revisión del concepto de agresión y ansiedad, así como su forma de estudio desde la Psicobiología, ofreciendo una relación de los modelos animales de agresión y ansiedad disponibles, así como de las principales estructuras y sistemas de neurotransmisión implicados en los mismos.

En la segunda parte se expone el trabajo experimental. Para ello se ha realizado en primer lugar una descripción de la metodología empleada en los experimentos de sendos modelos conductuales, la descripción del diseño experimental, el sistema de evaluación conductual utilizado y el análisis estadístico. Seguidamente, se exponen en bloques separados los seis experimentos, en los cuales se explican los aspectos metodológicos y se discuten los resultados. Para finalizar, se presenta una discusión general y se plantean las conclusiones más relevantes a las que se ha llegado en esta Tesis Doctoral.



## **2. DROGAS EMERGENTES**



## 2. DROGAS EMERGENTES

### 2.1. Metilbenzodioxolbutanamina (MBDB) “Edén”

#### 2.1.1. Clasificación

La sustancia Metilbenzodioxolbutanamina (MBDB) conocida popularmente como “Methyl-J” o “Edén”, es una droga de síntesis o RCs de la familia de las fenetilaminas sintéticas o anfetaminas de anillo sustituido (RSAs), que se caracteriza por sus efectos psicotrópicos de tipo empatógeno o entactógeno. A nivel químico, el MBDB es el homólogo  $\alpha$ -etil del MDMA, por lo que estas dos sustancias guardan una gran similitud en su estructura (*Figura 2.1*) (Johnson & Nichols, 1989). Este compuesto con nomenclatura IUPAC [(RS)-1-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-N-methylbutan-2-amine] y número de registro químico (CAS/RN: 103818-46-8) según el portal web Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>); es común hallarlo con el término “N-methyl-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-butanamine”, o también como “N-methyl-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-butanamine”.

Nichols sintetizó MBDB por primera vez en la Universidad de Purdue (1986) y más tarde, Alexander Shulguin incluyó esta droga en su libro “Phikal” (1991). El comité experto en drogodependencias de la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization, 2000), recomendó no incluir a esta droga en las listas de sustancias prohibidas. En consecuencia, el MBDB no es un compuesto controlado actualmente en España, a diferencia de otros países en los que está prohibido explícitamente su uso (Austria, Suecia y Japón), o bien, en los que puede aplicarse la “ley de análogos” (EEUU y Noruega). No obstante, existen datos de que el MBDB (Furnari, Ottaviano, Rosati, & Tondi, 1998; Garofano et al., 1998; King, 2014; Mitrevski & Zdravkovski, 2005; Rothe

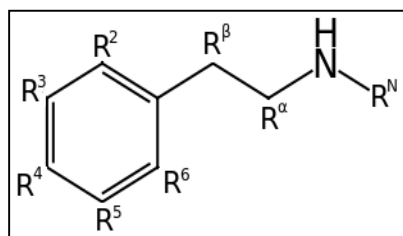
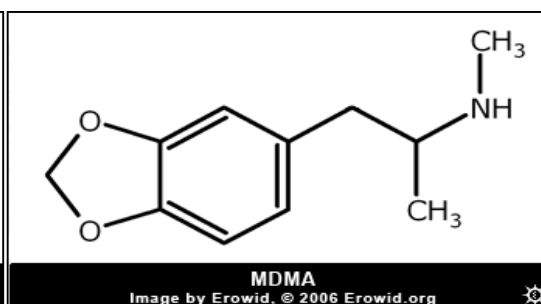
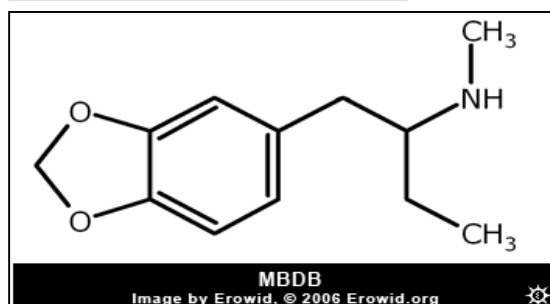


Figura 2.1 a) Estructura molecular de las feniletilaminas, b) Molécula Metilbenzodioxolbutanamina (MBDB), [N-methyl-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-butanamine] o [N-methyl-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-butanamine], c) Molécula Metilendioximetanfetamina (MDMA) o [3,4-methylenedioxy-N-methyl-amphetamine].



et al., 1997; Schifano et al., 2006; Vogels et al., 2009), y más recientemente su catinona derivada beta-keto “bk-MBDB” (Strano Rossi et al., 2014; Uchiyama, Kikura-Hanajiri, Kawahara, & Goda, 2008), se han encontrado en la composición de pastillas vendidas como éxtasis, en algunos casos con resultados de toxicidad letal (Carter et al., 2000; Rojek, Klys, Strona, Maciow, & Kula, 2012; Schifano et al., 2006). En la actualidad, la investigación sobre el MBDB se encuentra bastante limitada, a pesar de la relevancia de los datos anteriores, y de que se trata de una de las sustancias análogas al MDMA más interesante.

El MBDB constituye por sí mismo un hito en la clasificación psicofarmacológica por sus propiedades psicoactivas únicas, y su aparición está muy ligada a la historia del MDMA. El MDMA fue clasificado inicialmente en la década de 1980 como una anfetamina alucinógena, lo que constituyó un precedente para su control legalizado (van Aerts, Mallaret, & Rigter, 2000), sin embargo varios estudios posteriores y la opinión de psiquiatras que empezaban a usar esta sustancia como fármaco coadyuvante en psicoterapia, parecían indicar que el MDMA presentaba una actividad farmacológica particular que no podía clasificarse como estimulante ni tampoco exactamente como un alucinógeno (Sáez-Briones & Hernández, 2013). En este contexto, Nichols (1986; 1987) diseñó el MBDB con la intención específica de encontrar un componente que se diferenciase claramente de los compuestos alucinógenos, colocando para ello un grupo alfa-etil en el extremo de la cadena que impide completamente la dicho efecto. El perfil conductual del MBDB y MDMA en el test de discriminación de drogas (ver apartado A.3.1), dio lugar a la evidente necesidad de diferenciar una nueva clase farmacológica a la que se denominó “Entactógenos” caracterizada por su capacidad para facilitar la introspección, la empatía y la comunicación, y que se diferenciaba de los efectos de otras RSAs de tipo estimulante o bien alucinógeno hasta ese momento conocidos (Nichols & Oberlender, 1989; Oberlender & Nichols, 1988; 1990; Sáez-Briones & Hernández, 2013; Vollenweider et al., 2002).

### 2.1.2. Farmacocinética

#### ❖ *Absorción*

En su recorrido por el organismo, el MBDB es sometido a una serie de procesos hasta su total eliminación. La vía de administración de esta droga en humanos suele ser de tipo oral, generalmente en forma pastillas con diversos logos asociados al éxtasis. En

experimentación animal la vía de administración elegida suele ser parenteral, lo cual puede conllevar ciertas diferencias en la fase de absorción y en la biodisponibilidad de la sustancia. De forma general, cuando se administra un fármaco por vía oral, parte de éste se absorbe en el intestino y se dirige al hígado, donde puede sufrir un primer proceso de metabolización conocido como primer paso hepático, que no se llega a realizar tras la administración por vía parental.

#### ❖ *Distribución*

Los estudios realizados en ratas sobre la biodistribución del [ $C^{11}$ ]MBDB (con un marcador radiactivo), indican que esta sustancia se extrae rápidamente del torrente sanguíneo hacia los tejidos resultando en un bajo nivel de MBDB en sangre a los cinco minutos de su administración (Solbach, Gundisch, Wullner, Stahlschmidt, & Machulla, 1997). Los órganos que registran una mayor absorción del MBDB son el cerebro y los pulmones, en concreto 2.5 % y 0.59% de la dosis inyectada por gramo de tejido (ID/g). Debido a la baja actividad sanguínea, la proporción entre cerebro y sangre es de casi 12, e incluso de 7.3 pasados 30 minutos. A nivel periférico, se ha detectado que la absorción y disposición en el pelo tras el consumo de MDMA o MBDB es relativamente alta, lo que facilita la confirmación del consumo de estas drogas en humanos en estudios forenses (Chèze, Deveaux, Martin, Lhermitte, & Pépin, 2007; Kikura-Hanajiri, Kawamura, Saisho, Kodama, & Goda, 2007).

#### ❖ *Metabolización*

La metabolización de las RSAs (MDMA, MDA, MDEA, MBDB), resulta bastante similar como se ha podido comprobar mediante técnicas de espectrometría de masas de cromatografía de gases (GC-MS), espectrometría de masas de cromatografía de líquidos (LC-MS) y cromatografía líquida de alta eficacia (HPCL), tanto en muestras humanas y de ratas (Maurer, 1996; 2000), como en células de insectos (Meyer, Peters, & Maurer, 2009).

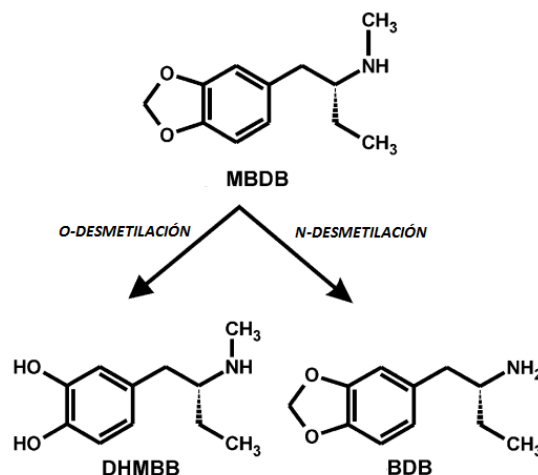


Figura 2.2 Metabolitos del MBDB en la fase I

Estas técnicas permiten incluso la identificación específica de compuestos con la misma masa tales como el MBDB y el MDEA (Awad, Belal, Maher, DeRuiter, & Clark, 2010; Thigpen, Awad, DeRuiter, & Clark, 2008). En la fase I de la metabolización hepática del MBDB, se realiza por dos rutas paralelas la O-desmetilación y la N-desmetilación (Figura 2.2). En la primera ruta, se degrada el anillo dimetoxi mediante O-desmetilación con las isoenzimas del citocromo P450 (CYP2D6, en menor medida CYP1A2 y CYP3A4 en humanos; CYP2D1 y CYP3A2 en ratas) lo que da lugar al metabolito “Dihidroxi-metilaminobutil-benceno“(DHMBB) [1,2-dihydroxy-4-(2-methylaminobutyl)benzene]. Por otra parte, la degradación del extremo N-metil de la molécula de MBDB mediante N-desmetilación con las isoenzimas del citocromo P450 (principalmente con CYP2D6, también CYP1A2 y CYP3A4 en humanos; CYP1A2, CYP2D1 y CYP3A2 en ratas) da lugar al metabolito “Benxodioxol-butanamina” (BDB) [3,4-methylenedioxybutanamine]. Posteriormente en la fase II, los metabolitos pueden someterse a varios procesos de conjugación como la metilación mediante la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT), la glucorinidación mediante la uridina-difosfatoglucorinil-transferasa (UGT) y sulfatación (SULT), estos dos últimos especialmente orientados a preparar los metabolitos para su excreción. Parece ser que la metabolización del MBDB se realiza principalmente mediante la isoenzima CYP2D6, mientras que la CYP2C19 parece ser la más enantioselectiva (2009). Por otra parte, en el ser humano, se han detectado ciertos polimorfismos genéticos de la CYP2D6 en la raza caucásica que parecen ser responsables de las deficiencias apreciadas en la metabolización del MBDB (van Aerts et al., 2000).

#### ❖ *Excreción*

En relación al proceso de excreción, una considerable cantidad del MBDB se elimina rápidamente a través de los riñones y la orina (16% ID/g a los 5 minutos), aunque la acumulación principal de radiactividad (21% ID/g) se detecta en el hígado, indicando que el MBDB sigue una doble ruta metabólica (Solbach et al., 1997). Después de 24 horas, la cantidad de MBDB excretado por la orina de la rata es  $\approx 35\%$  y la cantidad de BDB es de  $\approx 5\%$ . Además, existen evidencias de que la proporción de (-/+)-enantiómeros de MBDB y BDB en la orina, es igual o ligeramente menor que uno, por lo que se tiende a excretar una cantidad algo mayor de S(+)-dextroisómeros de ambas sustancias (Nagai et al., 2002). En relación a las diferencias existentes entre sus enantiómeros, se ha obtenido que el isómero R(-)MBDB es más activo y más potente que la misma dosis oral de S(+)-MBDB

(Steele, Nichols, & Yim, 1987; van Aerts et al., 2000). Por otra parte, desde que se mostró que el metabolismo *in vivo* e *in vitro* de RSAs es más o menos enantioselectivo (Fallon et al., 1999; Kalant, 2001; Kraemer & Maurer, 2002), se pensó que este fenómeno podía ser importante desde el punto de vista toxicológico.

El primer estudio sobre la neurotoxicidad del MBDB fue realizado por Johnson & Nichols (1989). Estos autores hallaron que la administración subaguda de MDMA o MBDB disminuye de forma similar diversos marcadores serotoninérgicos (5-HT, 5-HIAA y SERT), pero tan solo la administración MDMA produce un aumento del nivel de dopamina; por lo que sugirieron que el MBDB podía tener un efecto neurotóxico menor que el MDMA. Sin embargo, un estudio más reciente indica que tanto el MBDB como el MDMA provocan daños en el ADN y en las mitocondrias de hepatocitos de ratas, siendo la hepatotoxicidad del MBDB y de su metabolito BDB, mayor que la del MDMA (Nakagawa, Suzuki, Tayama, Ishii, & Ogata, 2009). Además, se ha comprobado que la temperatura elevada potencia la hepatotoxicidad inducida por éxtasis, lo que muy posiblemente sea extensible a las sustancias análogas (Carvalho et al., 2002).

### 2.1.3. Farmacodinamia: mecanismo de acción.

El MBDB tiene un inicio de acción más lento y suave que el MDMA, produce menos euforia (Nichols, 1986; Van Aerts et al., 2000), y no parece alterar los sistemas de neurotransmisión de la misma forma en que lo hace el MDMA (Johnson, Hoffman, & Nichols, 1986; Steele et al., 1987). Van Aerts et al. (2000) revisaron las propiedades farmacodinámicas, efectos neurofarmacológicos y riesgo del consumo de MBDB en ratas, señalando los siguientes mecanismos de acción del MBDB sobre diferentes sistemas de neurotransmisión monoaminérgicos:

- 1) El incremento de la liberación y la inhibición de la recaptación de serotonina en el cerebro. Los efectos en general son comparables a los del MDMA, aunque éste último es más potente. El incremento de la liberación de serotonina se ha constatado en muestras de células nerviosas del hipocampo mediante técnica *in vivo* (Johnson et al., 1986) y la inhibición de la recaptación de serotonina se muestra en tejidos del hipocampo, de la corteza cerebral y del núcleo caudado (Steele et al., 1987) siendo el MBDB la mitad de potente que su homólogo (Johnson, Conarty, & Nichols, 1991). Además se ha constatado que transcurridas unas horas la administración, tanto el MBDB como el MDMA reducen

el nivel de serotonina y su metabolito 5-HIAA en la corteza frontal (Johnson & Nichols, 1989), en otros estudios también se observó lo mismo tan sólo 40 minutos tras la administración de MBDB (5 mg/kg) o MDMA (3 mg/kg) en ratas (Callaway, Johnson, Gold, Nichols, & Geyer, 1991). Esta reducción del nivel tisular de serotonina puede prevenirse con pretratamiento de fluoxetina (Callaway et al., 1991; Callaway & Geyer, 1992).

2) A diferencia del MDMA, el MBDB no interfiere en la liberación de dopamina en el núcleo caudado (Johnson et al., 1986; 1989), ni tampoco inhibe su recaptación en el estriado (Steele et al., 1987). Es cierto que el MBDB puede producir un ligero incremento en la liberación de dopamina extracelular pero con una potencia muchísimo menor que el MDMA y que en ningún caso resulta significativa (Nash & Nichols, 1991). Por otra parte, estudios algo más recientes evidencian que la administración de MBDB a nivel sistémico consigue potenciar débilmente la liberación estriatal de dopamina, en comparación con otras fenetilaminas (MDA>MDMA>MDEA>MBDB) (Lebsanft, Mayerhofer, Kovar, & Schmidt, 2003). El hecho de esta ausencia de relación con el sistema dopaminérgico es muy importante ya que la dopamina se relaciona con la neurotoxicidad serotoninérgica del MDMA y con las propiedades reforzantes de sustancias como la cocaína y las anfetaminas.

3) En cuanto a si el MBDB inhibe la recaptación de noradrenalina en la rata encontramos resultados mixtos. En estudios *in vitro*, se ha hallado que el MBDB puede producir una inhibición de la recaptación de noradrenalina en el hipocampo (Steele et al., 1987), así como en muestras mixtas de la corteza, hipocampo y núcleo caudado en menor medida que el MDMA (Johnson et al., 1991). Sin embargo, en estudios *in vivo* ni el MDMA ni el MBDB reducen el nivel de noradrenalina en la corteza cerebral de la rata (Johnson & Nichols, 1989; van Aerts et al., 2000).

#### **2.1.4. Efectos fisiológicos agudos**

##### **❖ *Síntomas clínicos fisiológicos agudos en humanos.***

El consumo de MBDB en humanos se ha relacionado con alteración del estado de ánimo y a nivel sistémico con diversas alteraciones del sistema autónomo y fallo multiorgánico. Entre los efectos fisiológicos hay evidencias de un aumento notable de la temperatura corporal, alteraciones de la presión arterial y de la frecuencia cardiaca, coagulación intravascular diseminada, paro cardiaco, hemorragias intralveolares y



derrames pleurales, rabiomiolisis, daño en el bazo, fallo hepático y renal agudo, así como hipoglucemia, alteraciones en electrolitos (menos  $\text{Ca}^{2+}$ , más  $\text{K}^+$ ), convulsiones y coma (Carter et al., 2000; Rojek et al., 2012; Schifano et al., 2006).

Estos efectos en general son similares a los observados tras la administración de MDMA (Capela et al., 2009; Carvalho et al., 2012; Hysek, Vollenweider, & Liechti, 2010), entre los que se destacan por su frecuencia el aumento de la presión sanguínea, de frecuencia cardíaca y problemas de toxicidad cardíaca que puede derivar en valvulopatías (Baumann & Rothman, 2009). El MDMA también produce una alteración dosis dependiente de la temperatura central del cuerpo, induciendo una marcada respuesta de hipertermia en ambientes con una temperatura normal (20-22°C) o elevada. Como consecuencia de esta respuesta hipertérmica se aumenta tanto la tasa metabólica como la pérdida de agua por evaporación (Gordon, Watkinson, O'Callaghan, & Miller, 1991). Por este motivo una elevada temperatura ambiental tras la administración de esta sustancia suele ser un factor fatal para el consumidor. Por otra parte, también hay datos de que la administración de MDMA en un ambiente frío produce una respuesta de hipotermia significativa (Dafters, 1994; Gordon et al., 1991), pero en este caso no se observan alteraciones en la tasa metabólica (Gordon et al., 1991). Son muchos los estudios que muestran que las RSAs ejercen un efecto disfuncional sobre la termorregulación (Bexis, Phillis, Ong, White, & Irvine, 2004; Bexis & Docherty, 2006; Dafters, 1994; Hawrylak, Palepu, & Tremaine, 2006; Jaehne, Salem, & Irvine, 2005; Malpass, White, Irvine, Somogyi, & Bochner, 1999; Parrott et al., 2006; Parrott, 2012). En consumidores de éxtasis también se han descrito una serie de efectos secundarios que ordenados de mayor a menor incidencia son: bruxismo, sed y sequedad de boca, pérdida de apetito, dificultad de concentración, alteración del equilibrio y la marcha, fatiga, inquietud, palpitaciones, vértigo, temblores, tensión interna y disminución del umbral de dolor (Liechti & Vollenweider, 2000; Parrott, 2007).

No obstante, hay que tener en cuenta que los efectos tóxicos del MBDB en humanos se han recogido en su mayoría de estudios postmortem por policonsumo de drogas (MDMA, metanfetaminas, THC y benzodicepinas), lo que dificulta identificar los efectos propios de la Metilbenzodioxolbutanamina (Caldicott et al., 2003; Concheiro, Castro, Quintela, López-Rivadulla, & Cruz, 2006).

❖ *Efectos fisiológicos agudos del MBDB en animales experimentales.*

En animales, el MBDB también es capaz de inducir alteración de la presión arterial (15 min. tras la inyección) y de la frecuencia cardíaca (5 min. tras la inyección), sin embargo lo que se ha observado es una disminución de estos parámetros (Li et al., 1996). En general, los datos fisiológicos del MBDB en animales son más limitados que los del MDMA.

A nivel neurofisiológico, se ha estudiado los efectos de estas sustancias en la actividad eléctrica cerebral o potenciales evocados, mediante técnicas de radioelectroencefalografía cuantitativa (tele-stereo-EEG). Se ha observado que el patrón espectral generado por las sustancias S-MDMA y S-MBDB se caracteriza por una reducción general de la actividad eléctrica, en especial de las ondas alfa-2 y delta; mientras que las anfetaminas alucinógenas (DOM, DOB, DOI) incrementan la duración y frecuencia de la onda alfa-1 sobre todo en el estriado. Además, parece que existen diferencias entre ambos compuestos entactógenos, pues el MBDB reduce la actividad de la onda theta en la corteza frontal, mientras que el MDMA la aumenta (Dimpfel, Spuler, & Nichols, 1989).

Por otra parte, hay evidencias de que los agonistas serotoninérgicos como el MBDB o MDMA producen una interrupción de la respuesta de inhibición prepulso (PPI), (una reducción normal de la respuesta de sobresalto cuando se realiza una pre-estimulación débil); mientras que los antagonistas serotoninérgicos 5-HT1B aumentan la PPI (Dulawa, Hen, Scearce-Levie, & Geyer, 1998; Dulawa, Scearce-Levie, Hen, & Geyer, 2000; Padich, McCloskey, & Kehne, 1996). Es posible que esta respuesta se encuentre mediada por receptores 5-HT2A, pues también se ha observado una interrupción de la PPI con alucinógenos como el 5-Meo-DMT (Krebs-Thomson, Ruiz, Masten, Buell, & Geyer, 2006) y el LSD (Ouagazzal, Grottick, Moreau, & Higgins, 2001).

❖ *Efectos sobre el sistema neuroendocrino*

En el ser humano se han demostrado efectos del MDMA sobre el ACTH, cortisol, prolactina, la presión arterial y la frecuencia cardíaca (Grob, Poland, Chang, & Ernst, 1995; Mas et al., 1999). En consumidores habituales, la abstinencia de esta sustancia durante tres semanas induce una disminución de la respuesta de cortisol y prolactina frente a la fenfluramina (Gerra et al., 1998). Esta respuesta también se observa en ratas pretratadas con MDMA (Poland et al., 1997). Además, la MDMA afecta a la liberación de vasopresina en el ser humano (Henry et al., 1998).

Los efectos neuroendocrinos del MBDB en la rata son muy similares a los del MDMA. La administración de MBDB (5 mg/kg, i.p.) eleva en tan solo diez minutos el nivel de hormona adrenocorticotropa (ACTH) y renina plasmática, mientras que la prolactina llega a su pico máximo después de 30 minutos. No obstante, los efectos neuroendocrinos del MBDB se pueden bloquear con fluoxetina (fármaco inhibidor de la recaptación de serotonina, ISRS), mientras que este mismo pretratamiento no tiene efecto sobre la secreción hormonal inducida por MDMA. Se ha sugerido que el MBDB influye en la secreción de estas hormonas a través de la interacción con el transportador de serotonina (SERT) encargado de mediar en su recaptación (Li et al., 1996). Por otra parte, el MBDB (5 mg/kg) no parece elevar la concentración de oxitocina plasmática, al contrario de lo que ocurre con otros agentes liberadores de serotonina como el MMAI y MTA, ni tampoco parece alterar el nivel de vasopresina en ratas (Li et al., 1996). No hay disponibles estudios sobre los efectos neuroendocrinos del MBDB en humanos.

### **2.1.5. Efectos conductuales del MBDB**

#### *a) Estudios de discriminación de drogas*

El paradigma de discriminación de drogas ha sido una poderosa herramienta para caracterizar la farmacología conductual de los compuestos MDMA y MBDB, aunque en términos estrictos esta aproximación experimental no se debe considerar un modelo animal (Nichols & Oberlender, 1989). Las técnicas de discriminación de drogas consisten en el entrenamiento del animal mediante reforzamiento para que discrimine los efectos de la administración de una determinada droga de la administración de suero salino, y una vez establecida la señal discriminativa de la droga de entrenamiento, se procede a intentar sustituir el efecto de ésta con otros compuestos. En la medida en que se llegue a una sustitución completa y ésta se alcance en pocos ensayos, podemos suponer que los efectos de la droga de sustitución son similares a los de la droga de entrenamiento.

Hace más de dos décadas, Nichols observó que la molécula de MBDB producía un perfil conductual en roedores sometidos al test de discriminación de drogas, que la situaban claramente fuera de la categoría de los alucinógenos y de los estimulantes, de forma similar a lo que observó con otras feniletilaminas como el MDEA (3,4-metilenodioxietilamfetamina) y la MDMA. Se ha comprobado que la MDMA y MBDB no pueden sustituir la señal discriminativa generada por el entrenamiento con el alucinógeno ácido lisérgico (LSD) (Nichols, 1986), ni la generada por el entrenamiento

con el estimulante S(+)-Anfetamina (Oberlender & Nichols, 1988). Aunque los datos sobre la MDMA no son del todo concordantes, ya que otros estudios indican que no sustituye el efecto del alucinógeno DOM mientras que sí sustituye parcialmente el efecto del estimulante anfetamina (Glennon, Yousif, & Patrick, 1988), y también es capaz de generalizar el efecto del alucinógeno mescalina (Callahan & Appel, 1988).

Por otra parte, se ha comprobado que las drogas alucinógenas o no sustituyen (DOM, mescalina), o bien no sustituyen completamente (LSD)<sup>1</sup> la señal discriminativa del entrenamiento con MBDB o MDMA (Nichols & Oberlender, 1989; Oberlender & Nichols, 1990). Mientras que el estimulante S-(+)-Anfetamina no generaliza los efectos del entrenamiento con MBDB, pero puede sustituir parcialmente el efecto del MDMA (Oberlender & Nichols, 1988)<sup>2</sup> (Glennon & Misenheimer, 1989)<sup>3</sup> o de forma completa (Nichols & Oberlender, 1989)<sup>4</sup>. En la misma línea, hay evidencias algo más recientes de que el estímulo discriminativo generado del MBDB es distinto del producido por el estimulante anfetamina o el alucinógeno LSD, lo que se ha utilizado para caracterizar el perfil conductual de otras sustancias (Marona-Lewicka, Rhee, Sprague, & Nichols, 1995; Monte, Marona-Lewicka, Cozzi, & Nichols, 1993). Además, también se ha comprobado que la MDMA y MBDB generalizan su señal completa y mutuamente, así como también son capaces de suplir el estímulo discriminativo del MMAI, una potente droga liberadora de serotonina carente de efectos estimulantes y alucinógenos (Marona-Lewicka & Nichols, 1994; 1998; Oberlender & Nichols, 1990).

En conjunto, estos hallazgos sirvieron para argumentar sólidamente que la molécula de MBDB y MDMA pertenecían a una nueva clase farmacológica de RSAs con un efecto psicotrópico especial al que se denominó de tipo “Entactógeno”, capaz de facilitar la introspección, la empatía y la comunicación, y que se diferenciaban de los efectos de otras RSAs de tipo estimulante o bien alucinógeno hasta ese momento conocidos (Nichols & Oberlender, 1989; Oberlender & Nichols, 1988; 1990; Sáez-Briones & Hernández, 2013; Vollenweider et al., 2002).

---

Droga de entrenamiento (DE), Droga de sustitución (DS):

1 DE: MDMA.HCL (7.63 Mol/kg), DS: LSD (0.372 Mol/kg), sustitución parcial (78%).

DE: MBDB.HCL (7.19 Mol/kg), DS: LSD (0.186 Mol/kg), sustitución parcial (57%).

2 DE: MDMA.HCL (1.75 mg/kg), DS: S-(+)-Anfetamina (1.2 mg/kg), sustitución parcial (83%).

3 DE: MDMA.HCL (1.5 mg/kg), DS: S-(+)-Anfetamina, sustitución parcial (49%).

4 DE: MDMA.HCL (7.63μMol/kg), DS: S-(+)-Anfetamina (4.2μMol/kg), sustitución completa

---

b) *Efectos locomotores*

La administración de (RS)-(±)-MBDB racémico (5 o 10 mg/kg, s.c.) en ratas, produce un incremento de la actividad locomotora que dura alrededor de una hora, y que se acompaña de una supresión de la conducta exploratoria. La activación motora que produce el MBDB en el paradigma de conducta motora incondicionada “*Behavioral Pattern Monitor*” (BPM), es más moderada que la de su homólogo MDMA (Callaway & Geyer, 1992). Aunque existen evidencias de que una dosis intermedia-elevada de MDMA (5, 10 mg/kg) produce una disminución transitoria de la actividad motora los primeros diez minutos, tanto la MDMA como el MBDB en menor medida, inducen en general un incremento notable de la conducta motora horizontal en un amplio rango de dosis, lo que denota ciertas propiedades estimulantes (Gold, Geyer, & Koob, 1989). No obstante, ambas fenetilaminas muestran diferencias importantes respecto a los estimulantes típicos como la anfetamina, ya que a diferencia de ésta no incrementan sino que disminuyen, la conducta exploratoria vertical como la exploración elevada sobre las patas traseras “*rearings*” o la conducta de asomarse a los agujeros “*holepokes*”. La disminución de estas conductas junto con la evitación del área central son por otra parte características de los derivados de feniletilaminas o indolaminas de tipo alucinógeno (Callaway & Geyer, 1992; Gold et al., 1989).

Por otra parte, el patrón locomotor inducido por el MBDB y la MDMA también son muy similares y se caracterizan en el BPM, por una elevada tigmotaxis que se manifiesta con una locomoción continua alrededor de la periferia del recinto en contacto o proximidad con las paredes (Gold, Koob, & Geyer, 1988; Gold & Koob, 1989; Gold et al., 1989; Paulus & Geyer, 1992; Risbrough et al., 2006). Congruentemente, se ha observado que el MBDB reduce del estadístico descriptivo espacial “ $\delta$ ” usado en geometría fractal, lo que refleja una reducción de la variedad del patrón locomotor describiendo una trayectoria con tendencias lineales, aunque puede diferir dependiendo de las propiedades geométricas del espacio donde se realice la prueba (Paulus & Geyer, 1991; 1997). El patrón locomotor inducido por otras drogas es muy distinto, por ejemplo, la anfetamina produce un patrón más complejo con frecuentes cambios direccionales y distribuido ampliamente por el recinto, el LSD y otros alucinógenos también se caracterizan por un aumento de la diversidad del patrón locomotor y no producen tigmotaxis. Otros estimulantes como la cafeína o la nicotina producen hiperactividad sin

llegar a alterar significativamente el patrón locomotor (Gold et al., 1989). Por lo que en conjunto, el perfil conductual del MDMA y MBDB parece ser bastante singular.

Aunque no hay datos disponibles acerca de si el efecto motor del MBDB depende de su configuración quiral, parece ser que el MDMA sí que presenta una alta quiralidad selectiva. En concreto, la administración aguda de S(+)-MDMA o del modo racémico producen un marcado efecto hiperlocomotor y su administración subcrónica conduce a una sensibilización en un periodo de habituación corto (Spanos & Yamamoto, 1989), a diferencia de la R(-)-MDMA que incluso parece disminuir la actividad locomotora tras un tratamiento subcrónico (von Ameln & von Ameln-Mayerhofer, 2010). Por otra parte, cuando se administran dosis elevadas de BDB (16 mg/kg) en pollos recién nacidos y otras especies, este metabolito del MBDB es capaz de inducir importantes efectos motores tales como temblores, problemas para extender las alas y problemas para realizar vocalizaciones o ruidos guturales para llamar a la madre, conductas que se parecen a las inducidas por fármacos alucinógenos y también por estimulantes. Además, es común observar una postura corporal anormal y movimientos bruscos hacia adelante típicos de los alucinógenos, así como una pérdida del reflejo de enderezamiento (*righting reflex*), un efecto típico de la d-anfetamina pero no de los alucinógenos (Bronson, Jiang, DeRuiter, & Clark, 1995). A diferencia de los múltiples efectos motores observados tras la administración directa de su metabolito, la administración de MBDB no produce pérdida del reflejo de enderezamiento, ni movimientos bruscos hacia adelante, ni temblores, y es menos potente que el BDB en cuanto al resto de efectos descritos (Bronson et al., 1995; van Aerts et al., 2000).

La hiperactividad inducida por MDMA y MBDB es compleja en términos neuroquímicos y presenta componentes tanto dopaminérgicos como serotoninérgicos. Hay evidencias de que la administración de MBDB a nivel sistémico consigue potenciar débilmente la liberación estriatal de dopamina, algo que se aprecia de forma más evidente con otras RSAs (MDA>MDMA>MDEA>MBDB) (Lebsanft et al., 2003). La activación motora se encuentra relacionada con la activación del sistema dopaminérgico (Gold et al., 1989). En concreto, la activación del receptor dopaminérgico D1 podría relacionarse con el tipo de actividad motora (lineal vs. circunscrita), mientras que el receptor D2 parece que contribuye en la ejecución de conductas repetitivas cíclicas inducidas por MDMA (Risbrough et al., 2006). Sin embargo, cuando se administran estas drogas a nivel local directamente en el núcleo accumbens, se observa que a diferencia del MDMA, el MBDB

---

no es capaz de reproducir este efecto hiperlocomotor, por lo que en este caso no parece que la liberación de catecolaminas en el núcleo accumbens medie esta conducta (Callaway & Geyer, 1992). Por otra parte, se ha comprobado que el pretratamiento con fármacos inhibidores de la recaptación de serotonina (ISRS) es capaz de impedir el efecto hiperlocomotor del MBDB (Callaway et al., 1991), y también de reducir eficazmente la conducta de “circling” o rotacional característica de sustancias que producen una liberación alta o moderada de dopamina como la MDA y MDMA (Lebsanft et al., 2003; Lebsanft, Kovar, & Schmidt, 2005). Por lo que en esta línea, se ha sugerido que el efecto hiperlocomotor del MBDB y otras RSAs podría estar regulado por la activación indirecta del sistema dopaminérgico, a través del sistema serotoninérgico.

El “síndrome conductual serotoninérgico” fue descrito por primera vez por Grahame-Smith (Grahame-Smith, 1971b) tras la administración de fármacos inhibidores de la enzima metabolizadora (MAO) y precursores (L-triptófano) de la serotonina. Estudios posteriores muestran que este síndrome se puede producir también por agonistas 5-HT no selectivos (Grahame-Smith, 1971a; Green & Grahame-Smith, 1976), agonistas selectivos 5-HT<sub>1A</sub> (8-OH-DPAT) (Goodwin & Green, 1985) y compuestos liberadores de serotonina como el PCA (Green & Kelly, 1976). El síndrome serotoninérgico incluye hiperactividad, acompañado de movimientos laterales de cabeza, movimientos de boxeo de las patas delanteras, piloerección, erección y eyaculación, proptosis, salivación y defecación. Dado que el MBDB y la MDMA aumentan la liberación de serotonina en varias regiones cerebrales, no es sorprendente que la administración aguda de estas sustancias produzca una respuesta hiperlocomotora dosis dependiente (Green, Mehan, Elliott, O'Shea, & Colado, 2003).

En este sentido, se ha comprobado que el efecto hiperlocomotor inducido por MDMA se relaciona con la liberación de serotonina (Callaway, Wing, & Geyer, 1990; Callaway et al., 1991) y con la activación de diversos receptores serotoninérgicos. En ratones, la actividad motora inducida por MDMA se encuentra mediada al menos en parte por los receptores 5-HT<sub>1B</sub> (Green et al., 2003; Scarce-Levie, Viswanathan, & Hen, 1999). En ratas, esta conducta motora se ha relacionado con la activación de receptores 5-HT<sub>1B</sub> (Green et al., 2003; McCreary, Bankson, & Cunningham, 1999), y 5-HT<sub>2A</sub> (Kehne et al., 1996; Sáez-Briones & Hernández, 2013; Schmidt, Black, Abbate, & Taylor, 1990; Schmidt, Abbate, Black, & Taylor, 1990); mientras que hay evidencias de los receptores 5-HT<sub>(2B/2C)</sub> podrían tener un papel inhibitorio en la respuesta motora mediada por

mecanismos tanto serotoninérgicos como dopaminérgicos (Bankson & Cunningham, 2002; Gold & Koob, 1988; Green et al., 2003). De hecho, se ha comprobado la implicación de los receptores 5-HT(2A/2C) en la actividad dopaminérgica (Navailles, Moison, Cunningham, & Spampinato, 2008; Palfreyman et al., 1993; Porras et al., 2002), ya que a pesar de la baja afinidad micromolar que muestra el MDMA por éstos (Battaglia, Brooks, Kulsakdinun, & De Souza, 1988), su bloqueo altera la relación funcional entre los neurotransmisores 5-HT y DA provocando una disminución del nivel de DA que reduce el efecto motor del MDMA (Schmidt et al., 1992; Schmidt, Fadayel, Sullivan, & Taylor, 1992; Schmidt, Sullivan, & Fadayel, 1994). En conjunto, estos hallazgos sobre el MDMA, podrían suponer una evidencia indirecta de que el efecto hiperlocomotor del MBDB también se encuentre mediado por un mecanismo de acción similar de ambos sistemas de neurotransmisión a través de los receptores de serotonina (Paulus & Geyer, 1992; van Aerts et al., 2000).

*c) Efectos sobre el refuerzo*

El test de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) es un modelo animal basado en el condicionamiento clásico que permite evaluar el refuerzo inducido por las sustancias psicoactivas. En este modelo se asocian señales contextuales con la experiencia producida por la droga, de forma que el estímulo contextual puede adquirir una valoración hedónica-apetitiva reforzante, o bien aversiva, en función de las propiedades motivacionales de la droga. Existen evidencias de que diversas sustancias psicoactivas como el MDMA o estimulantes típicos, son capaces de incrementar la ejecución de respuestas condicionadas que siguen un programa de reforzamiento de intervalo fijo (Miczek & Haney, 1994).

En esta línea, se ha demostrado que el MBDB (10 mg/kg) produce condicionamiento de preferencia de lugar en ratas, con una potencia 2.5 veces menor que el MDMA (Marona-Lewicka, Rhee, Sprague, & Nichols, 1996). También en monos *Rhesus*, existen evidencias de que la administración del MBDB y MDMA aumenta la conducta de autoadministración, aunque con menor potencia que los estimulantes cocaína y metanfetamina (Fantegrossi, 2007). El efecto del MDMA y del MBDB sobre el condicionamiento parece seguir un patrón dosis-dependiente en forma de U invertida, exhibiendo propiedades reforzantes solo con dosis muy reducidas, en monos *Rhesus* (dosis efectivas: 0.1 mg/kg de MBDB y 0.03 mg/kg de MDMA, i.p.; dosis no efectiva:



0.3 mg/kg i.p. de MBDB o MDMA) y en ratones (dosis efectiva: 2.6 mg/kg de MDMA, i.v.; dosis no efectiva: 10 mg/kg de MDMA, i.v.) (Fantegrossi, 2007; Rodríguez-Alarcón, Canales, & Salvador, 2007). Por otra parte, existen evidencias de que la administración prolongada debilita el efecto reforzante de estas sustancias. Aunque, hay una serie de factores externos tales como la temperatura elevada (Cornish et al., 2003), el consumo de alcohol (Montagud-Romero et al., 2014) y el aislamiento social (Meyer, Mayerhofer, Kovar, & Schmidt, 2002b) que potencian los efectos reforzantes de éxtasis, aspectos que pueden resultar relevantes en consumidores humanos.

Por otra parte, la sustancia MBDB carece del componente de activación dopaminérgica significativo en el núcleo accumbens (Marona-Lewicka et al., 1996; Nash & Nichols, 1991), que sí está presente en su homólogo. En este sentido, resulta congruente que el MBDB presente unas propiedades reforzantes en el test de preferencia de lugar más débiles que las del MDMA (2.5 veces menor como se ha indicado anteriormente). En relación a la vía dopaminérgica mesocortical, se ha comprobado que el MBDB es igualmente capaz de inducir un leve incremento no significativo en el nivel de dopamina cortical (Callaway et al., 1991; Marona-Lewicka et al., 1996), una respuesta no tan contundente como la producida por la MDMA. No obstante, los datos obtenidos de la microdiálisis *in vivo* no proporcionan en conjunto una explicación satisfactoria que relacione las moderadas propiedades reforzantes del MBDB con la ausencia de actividad dopaminérgica mesolímbica significativa. Para ello, se ha sugerido la hipótesis de que un incremento muy leve del flujo de dopamina en el núcleo accumbens podría ser suficiente para inducir refuerzo en el test de condicionamiento del lugar de preferencia (Marona-Lewicka et al., 1996). Esta hipótesis, resulta congruente con estudios recientes sobre la reinstauración de la preferencia de lugar mediante una dosis *priming* de MDMA inferior a la empleada durante la fase de condicionamiento (Daza-Losada, Rodríguez-Arias, Aguilar, & Miñarro López, 2010). Además, también es acorde con la observación de que sustancias como la MMAI o la fenfluramina que producen aversión condicionada del lugar, no aumentan en absoluto los niveles de dopamina en el núcleo accumbens.

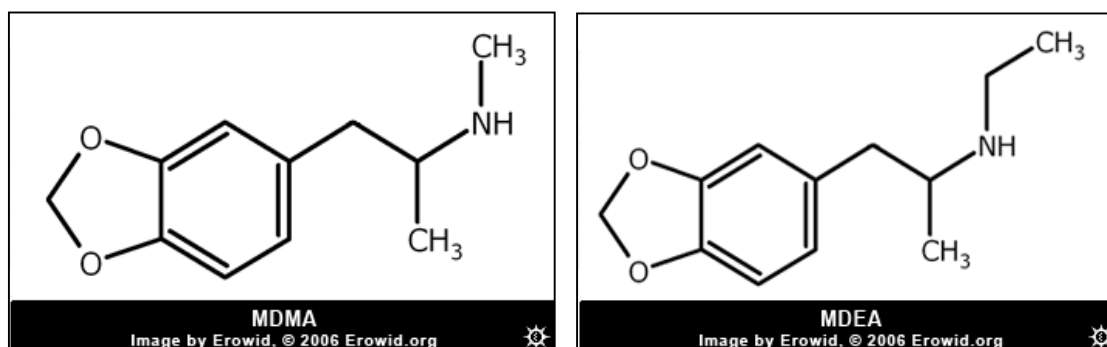
## 2.2. Metilendioxietilamfetamina (MDEA) “Eva”

### 2.2.1. Clasificación

La Metilendioxietilamfetamina (MDE, MDEA) también conocida como “Eva” o “N-Ethyl-mda”, es una droga de síntesis o *Research Chemicals* (RCs) de la familia de las fenetilaminas sintéticas o anfetaminas de anillo sustituido (RSAs), que posee efectos psicotrópicos de tipo empatógeno o entactógeno. La nomenclatura internacional IUPAC para la molécula de MDEA es [(RS)-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-N-ethyl-2-propanamine], aunque suele nombrarse como “N-ethyl-3,4-methylenedioxyamphetamine” (CAS/RN 82801-81-8). La estructura de la molécula de MDEA es muy similar a la del éxtasis, de hecho se considera químicamente el homólogo N-etil (*Figura 2.3*). El MDEA se basa como otras RSAs en la estructura de la fenetilamina, compuesta por un anillo aromático y una cadena alifática que proporciona asimetría o quiralidad a la molécula, de esta forma pueden distinguirse dos enantiómeros [R(-) y S(+)] de MDEA, y la forma racémica o combinada [RS (±)] del compuesto (Freudenmann & Spitzer, 2004).

Para hablar del origen de MDEA, se debe tener en cuenta su contexto histórico respecto a otras drogas de tipo RSAs (Freudenmann & Spitzer, 2004). El MDEA fue presentado a la comunidad científica a finales de la década de los 70 en los estudios realizados por el psicofarmacólogo experimental americano Alexander T. Shulgin (Braun, Shulgin, & Braun, 1980; Shulgin, 1978), y posteriormente sería incluido en su libro PIKHAL (Shulgin, 1991). En Europa y Norteamérica, el MDEA cobra relevancia en el ámbito recreativo tan sólo después de que el MDMA, entrará en la “Lista I de sustancias prohibidas en US” (1985/8). Así pues, el MDEA resurge como un sustituto legal durante pocos años hasta que llega a incluirse también en dicha lista americana en 1987, lo que

*Figura 2.3* a) Metilendioximetamfetamina (MDMA), [3,4-methylenedioxy-N-methylamphetamine] b) Metilendioxietilamfetamina (MDEA), [3,4-methylenedioxy-N-ethylamphetamine], [3,4-methylenedioxyethylamphetamine], [3,4-methylenedioxyethamphetamine] o [N-ethyl-3,4-methylenedioxyamphetamine].



---

de nuevo impulsa la inquietud química por sortear aspectos legales y sintetizar nuevas sustancias psicotrópicas (como el MBDB).

Es en este periodo, cuando comienzan a realizarse los primeros estudios sobre el perfil conductual del MDEA mediante el test de discriminación de drogas (Ver apartado 2.2.5.a). En conjunto, estos estudios indicaban que el MDEA era una feniletilamina con propiedades psicotrópicas similares a las del MDMA (Boja & Schechter, 1987; Glennon & Misenheimer, 1989; Schechter, 1988), que se distinguía claramente de los estimulantes y los alucinógenos (Boja & Schechter, 1991; Glennon et al., 1988; Schechter, 1991)., por lo que se ha clasificado como una sustancia “Entactógena” al igual que el MDMA o el MBDB. También en este periodo comienzan a publicarse los primeros informes sobre los efectos neurotóxicos del MDEA (Boja & Schechter, 1987; Glennon et al., 1988; Glennon & Misenheimer, 1989; Gold et al., 1988; Johnson, Hanson, & Gibb, 1987; Johnson, Hanson, & Gibb, 1989; Ricaurte et al., 1987; Schmidt, 1987; Stone, Johnson, Hanson, & Gibb, 1987), y las primeras muertes que implican directamente el consumo de esta sustancia (Dowling, McDonough, & Bost, 1987; Iwersen & Schmoldt, 1996; Ketabi-Kiyanvash, Weiss, Haefeli, & Mikus, 2003).

La ola de control legislativo del MDEA no tardó en llegar a otros países, y en la década de 1990 se prohíbe esta sustancia en Alemania (*“Appendix 1, Law on Hypnotics”*), en Netherlands, en Inglaterra (Categoría A, *“Misuse of Drugs Act”*) y Canadá (*“Schedule III, Controlled Drugs and Substances Act”*) (EMCDDA, 2015b). Según los datos del portal web Ecstasydata (<https://ecstasydata.org>), en el año 2004 cerca del 30% de las pastillas de éxtasis incluían MDEA, lo que supuso un incremento abrupto respecto a años anteriores. En la misma línea, la EMCDDA señala que la mayoría de las pastillas de éxtasis analizadas hasta 2007 contenían a parte de MDMA, otros análogos como el MDA y MDEA. No obstante, datos más actuales provenientes de Ecstasydata, indican una menor presencia de MDEA en pastillas de éxtasis (<1%) desde el 2011, aunque sigue habiendo evidencias de su disponibilidad en el mercado, y es susceptible que su presencia vuelva a resurgir.

### 2.2.2. Farmacocinética

Las propiedades farmacocinéticas de las RSAs metilendioxi-derivadas como el MDEA, están determinadas por una composición química que es muy similar a la del MDMA, mucho más conocida y estudiada hasta el momento, por lo que la mayoría de estudios sobre el proceso de metabolización del MDEA toman de referencia al MDMA.

### ❖ *Absorción*

Las vías de administración del MDEA son múltiples, en humanos suele ser de tipo oral en forma de pastillas, y en raras ocasiones por vía nasal o como supositorio. Además, como aminas, todas las RSAs son solubles en agua y alcohol, por lo que pueden ser inyectadas (Freudenmann & Spitzer, 2004). Las dosis para un consumidor de uso recreativo suele ser mayor para el MDEA (100-200 mg; 1.4-2.8 mg/kg) que para el MDMA (80-150 mg, 1.1-2.1 mg/kg) (Shulgin, 1991). Los efectos del MDEA suelen iniciarse entre 20-85 minutos, y su duración depende un poco de la dosis administrada aunque está en torno a las tres horas (140 mg unas 2-3 horas, 160 mg unas 3-5 horas) (Gouzoulis-Mayfrank et al., 1996; Shulgin, 1991), esto indica que el MDEA tiene una ventana de acción más corta que la MDMA (4-6h) y la MDA (8-12h). Los datos farmacocinéticos indican que el MDEA, tras una administración de 140 mg, alcanza una concentración plasmática máxima en torno a los 300ng/mL entre dos y tres horas, y se detecta en los primeros 20 minutos junto a su principal metabolito HME ( $C_{\max} \approx 400 \text{ ng/mL}$ ;  $t_{\max} 2.7-2.8 \text{ h}$ ), después de este tiempo también detecta su metabolito activo MDA ( $C_{\max} \approx 22 \text{ ng/mL}$ ;  $t_{\max} 3.4-5.5 \text{ h}$ ) (Brunnenberg, Lindenblatt, Gouzoulis-Mayfrank, & Kovar, 1998; Brunnenberg & Kovar, 2001; Freudenmann & Spitzer, 2004), lo que en conjunto es congruente con los efectos descritos.

En animales, el MDEA suele administrarse por vía parenteral. Los estudios en ratas también indican que la farmacocinética del MDEA es más rápida en comparación con el MDMA (Boja & Schechter, 1987; Freudenmann & Spitzer, 2004). Los efectos del MDEA en ratas comienzan a los 10 minutos, con un pico de acción máximo entre los 10-20 minutos, en general suelen tener una vida media de una hora sin llegar a sobrepasar las dos horas. En contraste, los efectos del MDMA en ratas duran una media de unos 100 minutos y pueden alcanzar las cuatro horas (Freudenmann & Spitzer, 2004).

### ❖ *Distribución*

En humanos se puede detectar el MDEA y sus metabolitos unas 30 horas después de la administración, y algunos metabolitos como el HME hasta casi una semana (Freudenmann & Spitzer, 2004). En relación a la distribución de estas sustancias, los casos de muerte por MDEA indican que esta sustancia se distribuye en varios órganos humanos (pulmones, hígado y riñones) (Tsatsakis, Michalodimitrakis, Angelo, & Patsalis, 1997). A nivel periférico, se ha detectado que la absorción y disposición en el pelo tras el

---

consumo de MDMA o MDEA es relativamente alta (Chèze et al., 2007; Kikura, Nakahara, Mieczkowski, & Tagliaro, 1997; Miki, Katagi, Shima, & Tsuchihashi, 2004), lo que facilita la confirmación del consumo de estas drogas en estudios forenses.

#### ❖ *Metabolización*

La metabolización de las RSAs (MDMA, MDA, MDEA, MBDB), resulta bastante similar como se ha podido comprobar mediante técnicas de espectrometría de masas de cromatografía de gases (GC-MS), espectrometría de masas de cromatografía de líquidos (LC-MS) y cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), tanto en muestras humanas normalmente de orina (Buechler et al., 2003; da Costa & da Matta Chasin, 2004; Ensslin, Kovar, & Maurer, 1996; Kim et al., 2008; Kraemer & Maurer, 2002; Maurer, 1996; Moawad, Khoo, Lee, & Hennell, 2010; Pirnay, Abraham, & Huestis, 2006; Stout, Horn, & Klette, 2002; Stout et al., 2010), en muestras de ratas (microsomos del hígado, orina, plasma, pelo) (Kikura et al., 1997; Matsushima, Nagai, & Kamiyama, 1998; Maurer et al., 2000; Schwaninger, Meyer, Zapp, & Maurer, 2012) y en muestras de conejos (Clauwaert et al., 2000). Estas técnicas permiten incluso la identificación específica de compuestos con la misma masa tales como el MBDB y el MDEA (Awad et al., 2010; Thigpen et al., 2008). En la actualidad, no tenemos datos sobre la metabolización del MDEA en ratones, pero existen algunas evidencias de que la metabolización del MDMA (su homólogo N-metil) es más rápida en el ratón que en la rata, y que también es mayor la concentración de MDMA y de sus metabolitos (Lim, Zeng, Chei, & Foltz, 1992; Mueller, Maldonado-Adrian, Yuan, McCann, & Ricaurte, 2013), sin que existan distintos perfiles de neurotoxicidad entre ambas especies (Mueller et al., 2013). La metabolización del MDEA, y en general de otras RSAs como la MDMA, es más bien complejo debido en parte a que algunos de los metabolitos generados son también sustancias psicoactivas.

En la fase I de la metabolización hepática del MDEA, la ruta principal es la O-desmetilación y en segundo lugar la N-desmetilación (70% y 4% en humanos respectivamente) (Buechler et al., 2003). En la primera ruta, se degrada el anillo dimetoxi dando lugar a dos metabolitos. El primer

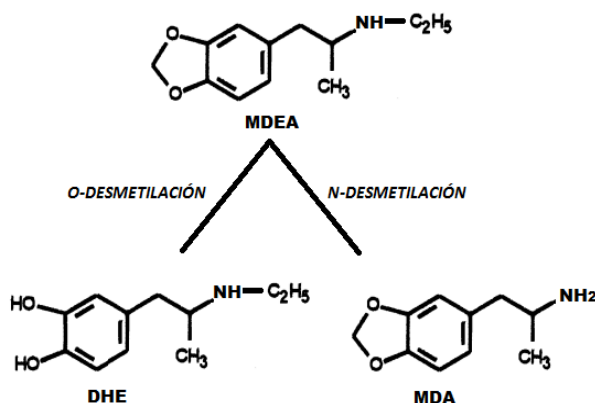


Figura 2.4 Metabolitos MDEA en la fase I.

metabolito “3-4-dihidroxi-etilamfetamina” (DHE) se obtiene por O-desmetilación mediante isoenzimas del citocromo P450 (CYP2D6 y CYP3A4 en humanos; CYP2D1 y CYP3A2 en ratas). A partir de éste, se genera el metabolito principal “4-hidroxi-3-metoxietilamfetamina” (HME), que se obtiene en la fase II por O-metilación de la DHE mediante la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT). Por otra parte, la degradación del otro extremo de la molécula de MDEA mediante N-desmetilación con isoenzimas P450 (CYP1A2, CYP2B6 y CYP3A4 en humanos; CYP1A2, CYP2D1 y CYP3A2 en ratas) da lugar al metabolito “Metilendioxi-anfetamina” (MDA), el cual también se obtiene en la metabolización del éxtasis. Aunque cuantitativamente esta segunda ruta sea de menor importancia, la MDA es un metabolito activo, y a su vez puede degradarse por O-desmetilación/O-metilación produciendo los metabolitos HHA y HMA (Buechler et al., 2003; Ensslin et al., 1996; Freudemann & Spitzer, 2004; Maurer et al., 2000). Como se ha señalado en la fase II, los metabolitos pueden a metilación (mediante COMT), y a otros procesos de conjugación que preparan los metabolitos para su excreción en humanos principalmente mediante sulfatación y en menor medida por glucorinidación (Schwaninger et al., 2012). Los datos *in vivo* y *in vitro* muestran por tanto que los principales pasos metabólicos del MDEA son los mismos que los del MDMA.

Se aprecian diferencias estereoselectivas en la farmacocinética del MDEA, ya que la cuantificación de los enantiómeros R(-)-MDEA es predominante en el plasma humano (R/S > 1) mostrando una vida media mayor que el S(+)-MDEA, por tanto la metabolización de éste último es más rápida. De acuerdo con esto, hay una mayor concentración de metabolitos S-MDA y S-HME (Brunnenberg et al., 1998; Brunnenberg & Kovar, 2001; Buechler et al., 2003; Peters et al., 2003; Spitzer et al., 2001). Esto es congruente con estudios que indican que el CYP450, la enzima COMT y otras enzimas

de la fase II metabolizan de forma preferente los isómeros S-MDEA (Meyer & Maurer, 2009; Meyer et al., 2009; Schwaninger et al., 2012). Curiosamente, en ensayos que comparan ambos enantiómeros de MDEA, el S-enantiómero parece responsable de producir los efectos entactógenos, mientras que el R-enantiómero se ha relacionado con efectos disfóricos (Spitzer et al., 2001).

Los datos obtenidos en humanos sobre la disposición esterosselectiva en MDMA son similares (MDMA R/S >1; MDA R/S<1) (Brunnenberg & Kovar, 2001; Fallon et al., 1999). En ratas, la metabolización del MDEA también es esterosselectiva, pero parece ser que de forma inversa a lo observado en humanos, ya que se han detectado una mayor cantidad de isómeros S-MDEA y metabolitos R-MDA y R-HME en el plasma y tejido cerebral de ratas a las que se le administró esta sustancia (Fitzgerald, Blanke, Rosecrans, & Glennon, 1989; Freudenmann & Spitzer, 2004; Hegadoren, Baker, & Coutts, 1995; Matsushima et al., 1998; Meyer, Mayerhofer, Kovar, & Schmidt, 2002a). Además, el MDEA se distingue de otras fenilisopropilaminas alucinógenas como el DOM o el DOB, en las cuales el R-enantiómero es el esteroisómero más activo (Halberstadt & Nichols, 2010; Shulgin, 1973).

#### ❖ *Excreción*

Las anfetaminas con sustitución metilendioxo en el anillo aromático, como la MDMA, el MBDB o el MDEA, se metabolizan ampliamente y su cantidad excretada sin biotransformarse es relativamente baja (Carvalho et al., 2012; De La Torre et al., 2004). La vida media de eliminación del MDEA o tiempo en que tarda en reducirse a la mitad la concentración plasmática, está en torno a las 7.5 horas para el isómero R-MDEA y las 4.2 horas para el isómero S-MDEA (Spitzer et al., 2001), mientras que la vida media de eliminación del MDMA es algo mayor (6 y 9 horas) (Carvalho et al., 2012; De La Torre et al., 2004) y la mayor parte de la dosis se excreta en las primeras 24 horas después de la ingestión (Fallon et al., 1999). Un estudio más reciente indica que la eliminación de los metabolitos de MDEA, MDMA y MBDB muestra ser enantioselectivo (Meyer & Maurer, 2009).

#### **2.2.3. Farmacodinamia: mecanismo de acción**

En el sistema nervioso, el mecanismo de acción de los compuestos MDEA y MDMA está relacionado con la modulación de procesos claves de la transmisión sináptica monoaminérgica, debido precisamente a la similitud estructural con feniletilaminas

naturales monoaminérgicas que son esenciales en la neurotransmisión. En concreto, hay evidencias de que tanto el MDEA y como el MDMA, tienen diversos mecanismos neurotóxicos interrelacionados que alteran la biosíntesis, liberación, recaptación y metabolización de monoaminas, así como también la activación de receptores, teniendo incluso en común un metabolito neurotóxico activo, la MDA (Capela et al., 2009; Carvalho et al., 2012; Freudenmann & Spitzer, 2004). La neurotoxicidad del MDEA y del MDMA también viene determinada por la fosforilación de proteínas por choque térmico, neuroinflamación, el incremento del estrés oxidativo aumentando la formación de radicales libres como especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS y RNS) y la inducción de daño mitocondrial (Barbosa et al., 2012; Capela et al., 2009; Carvalho, 2011; Carvalho et al., 2012; Freudenmann & Spitzer, 2004; Karuppagounder et al., 2014; Parrott, 2012).

Aunque en general, la investigación sobre el mecanismo de acción del MDEA, sea más limitada que la del MDMA, existen evidencias de que ambas drogas modulan varias fases del proceso de neurotransmisión serotoninérgico. Los estudios *in vivo* e *in vitro* revelan que la administración aguda de MDEA produce una importante liberación de serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) tan potente como otras RSAs análogas (MDMA o la MDA) e incluso más selectiva (Boja & Schechter, 1991; Colado, Granados, O'Shea, Esteban, & Green, 1999; Freudenmann & Spitzer, 2004; Johnson et al., 1987; Johnson et al., 1989; McKenna, Guan, & Shulgin, 1991; O'Loinsigh, Boland, Kelly, & O'Boyle, 2001; Schmidt, 1987; Series & Molliver, 1994). El mecanismo de acción farmacológica del MDEA sobre los terminales serotoninérgicos es similar al del MDMA (Capela et al., 2009). Ambas drogas son sustrato de los transportadores de serotonina situados en la membrana presináptica (SERT o 5-HTT) y los usan para entrar en el terminal neuronal, aunque en concentraciones altas pueden atravesar la membrana por difusión. Una vez dentro estas drogas producen una rápida liberación de serotonina almacenada en vesículas invirtiendo la función de los transportadores vesiculares (VMAT) y de los transportadores SERT, los cuales en vez de recaptar empiezan a expulsar el neurotransmisor del interior de las vesículas y de la célula. Los fármacos antidepresivos inhibidores de la recaptación de serotonina (ISRS) actúan bloqueando los transportadores SERT, y se ha demostrado que su administración previa atenúa el efecto de la MDA, MDMA y MDEA tanto en experimentos *in vitro* (Johnson et al., 1989; McKenna et al., 1991), como *in vivo* (Liechti, Baumann, Gamma, & Vollenweider, 2000). Por otra parte, el MDEA y MDMA pueden



actuar como agonistas débiles de los receptores postsinápticos 5-HT<sub>2</sub>, se ha detectado una preferencia estereoselectiva de los isómeros R-MDMA por este mecanismo de acción que parece mediar los débiles efectos alucinógenos del MDMA (Freudenmann & Spitzer, 2004).

La droga MDEA también inhibe la biosíntesis y degradación de serotonina interfiriendo con la enzima triptófano-hidroxilasa (TPH) y la monoaminoxidasa (MAO) respectivamente, aunque con una potencia menor que el éxtasis o el MDA. Estos mecanismos de acción propician a medio-largo plazo que el MDEA y otras RSAs (MDMA, MDA, MBDB) mengüen los recursos de la neurona serotoninérgica limitando la producción, recaptación y metabolización de serotonina tras haber agotado inicialmente las reservas de la misma. Por lo que se produce una depleción dosis dependiente de diversos marcadores serotoninérgicos como el nivel tisular de serotonina (5-HT), del metabolito ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), de la actividad de la TPH y del número lugares de recaptación de serotonina, no obstante, esta depleción parece ser unas cuatro veces menos potente que la producida por el MDMA (Carvalho, 2011; Freudenmann & Spitzer, 2004; Johnson et al., 1987; Johnson et al., 1989; Leonardi & Azmitia, 1994; Meyer et al., 2002a; Ricaurte et al., 1987; Ricaurte, Yuan, & McCann, 2000; Stone et al., 1987). Esta menor potencia podría explicar los resultados aparentemente contradictorios que indican que, a diferencia del MDMA y MDA, la administración aguda o crónica de MDEA no reduce a largo plazo todos los marcadores serotoninérgicos en la corteza cerebral de las ratas (Schmidt, 1987; Stone et al., 1987). En conjunto, parece ser que el efecto serotoninérgico del MDEA es menor que el de otras drogas como la MDMA o la MDA, por lo que se ha propuesto que el riesgo neurotóxico serotoninérgico a largo plazo es menor (Hegadoren et al., 1995).

Por otra parte, la influencia del MDEA sobre otros sistemas de neurotransmisión no está tan clara. Los estudios iniciales sobre discriminación de drogas indican que la señal discriminativa del MDEA parece relacionarse con la activación del sistema serotoninérgico y dopaminérgico (Boja & Schechter, 1991). En consonancia, el MDEA parece producir una liberación de dopamina en el estriado de las ratas, aunque para detectarlo es necesario una concentración molar unas diez veces mayor ( $10^{-8}$ M) que para detectar la liberación de serotonina (Schmidt, 1987). Sin embargo, hay evidencias de que el MDEA no interfiere en el nivel de dopamina y dependiendo del estudio, se ha detectado una reducción transitoria del nivel de su metabolito el ácido dihidroxifenilacético

(DOPAC) (Johnson et al., 1987), o ninguna alteración de sus metabolitos (Stone et al., 1987). En esta misma línea, hay evidencias de que una dosis elevada de MDEA (40 mg/kg) no parece reducir la concentración ni de dopamina en el estriado, ni de noradrenalina en el hipocampo (Meyer et al., 2002a; Ricaurte et al., 1987).

#### **2.2.4. Efectos fisiológicos agudos**

A nivel sistémico, los efectos tóxicos del MDEA (Freudenmann & Spitzer, 2004), se caracterizan por alteraciones en el sistema autónomo con aumento de la presión sanguínea, tasa cardíaca y un notable incremento de la temperatura corporal (Bexis & Docherty, 2006; Colado et al., 1999; Hawrylak et al., 2006; O’Loinsigh et al., 2001), así como disfunciones del sueño y alteraciones endocrinas con aumento de cortisol y prolactina en plasma (Gouzoulis-Mayfrank, Steiger, Ensslin, & Kovar, 1992; Gouzoulis-Mayfrank, Von Bardeleben, Rupp, & Kovar, 1993; Gouzoulis-Mayfrank & Hermle, 1998; Gouzoulis-Mayfrank et al., 1999). El MDEA afecta a diversos órganos produciendo toxicidad cardíaca, hepática y renal (Colado et al., 1999; Fineschi, Centini, Mazzeo, & Turillazzi, 1999; Leung & Ballantyne, 1998), también se observan otras alteraciones tales como rbdomiolisis y coagulación intravascular diseminada (Colado et al., 1999; Dowling et al., 1987; Fineschi et al., 1999; Gouzoulis-Mayfrank et al., 1996; Iwersen & Schmoldt, 1996; Tsatsakis et al., 1997). Estos efectos también se han registrado tras la administración de MDMA (Capela et al., 2009; Carvalho et al., 2012). El aumento de la temperatura corporal dosis dependiente es uno de los efectos más constatados y dañinos de estas sustancias, no obstante parece ser que la potencia hipertérmica del MDEA es la mitad que la del MDMA (Colado et al., 1999).

#### **2.2.5. Efectos conductuales del MDEA**

##### *a) Estudios de discriminación de drogas*

Los primeros estudios sobre el perfil conductual del MDEA mediante el test de discriminación de drogas, mostraron que el estímulo discriminativo generado por esta sustancia es generalizado completamente por la MDMA (Boja & Schechter, 1987; Glennon & Misenheimer, 1989; Schechter, 1988), y también a la inversa (Schechter, 1998), por lo que hay una gran similitud en la señal interoceptiva que producen ambas drogas empatógenas. Por otra parte, existen evidencias de que el MDEA no puede sustituir la señal discriminativa generada por el entrenamiento con el alucinógeno DOM ni con el estimulante (+)-Anfetamina (Glennon et al., 1988). Además, algunos estudios

de discriminación de drogas ya sugerían que la señal interoceptiva del MDMA y MDEA parecía implicar una compleja interacción entre varios neurotransmisores, entre los que destacan la serotonina y la dopamina, mientras que la señal estimulante de la anfetamina es mediada por neuronas dopaminérgicas (Boja & Schechter, 1991; Schechter, 1991). En conjunto, los primeros estudios conductuales de discriminación de drogas indicaban que el MDEA era una feniletilamina con propiedades psicotrópicas similares a las del MDMA, que se distinguían claramente de los estimulantes y los alucinógenos, por lo que se clasificó como una sustancia “Entactógena” al igual que el MDMA o el MBDB.

### b) Efectos locomotores

En el paradigma de conducta motora incondicionada “*Behavioral Pattern Monitor*” (BPM), las drogas MDMA y MDEA ( $\approx 1.0-10.0$  mg/kg) producen un perfil de actividad motora que presenta similitudes con drogas clásicas psicoestimulantes, pero también ciertas diferencias. Estas RSAs incrementan notablemente la locomoción horizontal de las ratas de forma dosis dependiente, no obstante hay evidencia de que estas sustancias (3 y 10 mg/kg de MDEA, 2.5-10 mg/kg de MDMA) producen curiosamente una reducción temporal de la locomoción durante los primeros diez minutos, seguida de un incremento motor sostenido (Gold et al., 1988; 1989). Acorde con este efecto general hiperlocomotor, de menor potencia pero similar al de las anfetaminas, se ha observado que el índice temporal “ $\alpha$ ” de geometría fractal disminuye indicando una menor duración de los eventos o secuencias que suceden en el periodo de evaluación, lo que se relaciona de forma directa con una mayor actividad del sujeto (Paulus & Geyer, 1992). Sin embargo, al contrario que la anfetamina y otros simpaticomiméticos, la MDMA y MDEA reducen las conductas de actividad exploratoria de agujeros “*holepokes*” o de zonas elevadas “*rearings*”, aspectos que junto con la evitación del área central resultan más comunes en drogas con efectos alucinógenos (Gold et al., 1989).

Asimismo, la administración aguda de una dosis mayor de MDEA o MDMA (20 mg/kg, i.p.) en el test del campo abierto, también produce una reducción de la conducta exploratoria vertical “*rearings*” y un aumento de conductas estereotipadas, cola erizada y movimientos laterales de cabeza (ésta última conducta incluso ligeramente más acentuada en ratas tratadas con MDEA) (O’Loinsigh et al., 2001). Mientras que la administración subcrónica de MDMA o MDEA (8 dosis de 20 mg/kg, i.p., repartidas en

cuatro días), es capaz de aumentar la conducta motora de la rata, siendo el efecto motor del MDMA más destacado que el producido por el MDEA (O'Loinsigh et al., 2001).

Además del efecto hiperlocomotor acompañado de hipoexploración, ambas sustancias entactógenas presentan un patrón de locomoción especial caracterizado por una evidente tigmotaxis. Es decir, las ratas deambulan preferentemente muy próximas a las paredes de la jaula evitando el área central, lo que a su vez se refleja en la disminución del índice espacial “ $\delta$ ” en geometría fractal. Consecuentemente, todo esto conlleva una tendencia hacia un patrón más estereotipado y predecible conforme se incrementa la dosis, con un recorrido alrededor del perímetro en el que abundan los patrones rectos o lineales y en el que suele haber una dirección predominante (Gold et al., 1988; 1989; Paulus & Geyer, 1992).

No obstante, no todos los estudios se muestran unánimes al respecto. De hecho algunos trabajos no encuentran alteraciones motoras tras la administración de MDEA (Hegadoren, Martin-Iverson, & Baker, 1995) o incluso de MDMA y MDEA (20 mg/kg, i.p.) (Bexis & Docherty, 2006).

Por otra parte, se han hallado evidencias de que la molécula MDMA tiene propiedades quirales diferenciadas en cuanto a la actividad motora, ya que el dextroisómero S-(+)-MDMA y la forma racémica RS-(±)-MDMA son moléculas con un efecto estimulante motor más potente que el levoisómero (Glennon et al., 1988). Aunque no se han estudiado las propiedades quirales del MDEA respecto a su efecto locomotor, sí que se han detectado diferencias enantioselectivas en la metabolización de esta sustancia, la cual presenta al igual que la MDMA una mayor concentración del isómero S-(+)-MDEA en el cerebro (Meyer et al., 2002a).

### c) *Efectos sobre el refuerzo*

La administración de MDMA, y en menor medida de MBDB, puede producir efectos reforzantes en ratas (Marona-Lewicka et al., 1996) y en monos *rhesus* (Fantegrossi, 2007), pero en este aspecto el efecto del MDEA es más confuso. Por una parte, ni la administración de MDEA racémica, ni la de ninguno de sus enantiómeros parece mostrar propiedades reforzantes en ratas evaluadas en el test de condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) (Meyer et al., 2002b). Sin embargo, este compuesto sí muestra propiedades reforzantes en primates no humanos, que se autoadministraban esta sustancia

---

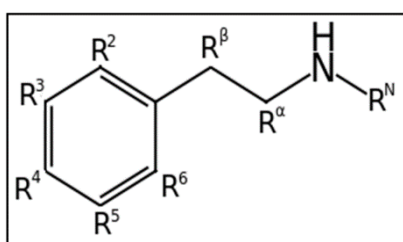
por vía intravenosa en un programa de reforzamiento fijo (Fantegrossi, 2007; Sannerud, Kaminski, & Griffiths, 1996).

## 2.3. Parametoxianfetamina (PMA) “Dr. Death”

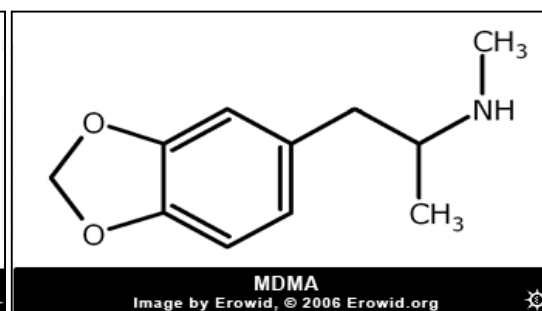
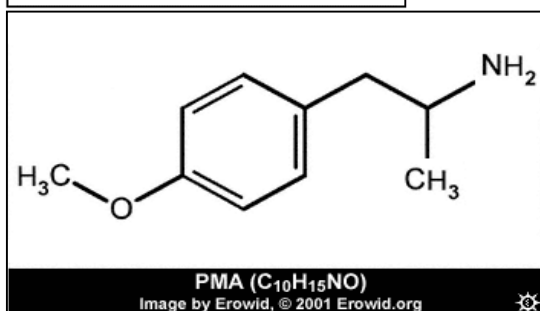
### 2.3.1. Clasificación

La Parametoxianfetamina (PMA o M-AM) es una droga de síntesis o *Research Chemicals* (RCs) de la familia de las fenetilaminas sintéticas o anfetaminas de anillo sustituido (RSAs), y está clasificada como una sustancia de efecto empatógeno también con propiedades alucinógenas (Matsumoto et al., 2014). La estructura de la molécula de PMA es muy similar a la de otras fenetilaminas como el MDMA o éxtasis (*Figura 2.5*). La nomenclatura internacional IUPAC para la molécula de PMA es [(RS) 1 (p-Meoxyphenyl)-2-aminopropane], pero también se encuentra en las bases de datos con otros nombres como “4-Methoxyamphetamine”, “p-Methoxyamphetamine”, “p-Methoxy-alpha-methylphenethylamine” o “1-p-Methoxyphenyl-2-propylamine”. Resulta de utilidad conocer el número de registro de la p-methoxyamphetamine (CAS RN: 64-13-1, o bien, 23239-32-9), para diferenciarlo de otra sustancia completamente distinta que es un promotor tumoral (phorbol-12-myristate-13-acetate, CAS RN: 16561-29-8) y que se nombra con las mismas siglas.

El PMA fue sintetizado por Alexander Shulgin cuando investigaba la relación entre la estructura y función de las anfetaminas de anillo sustituido sobre el funcionamiento del SNC (Shulgin, Sargent, & Naranjo, 1969). Este compuesto se ha introducido en la composición de las populares pastillas de éxtasis y es conocido popularmente con el nombre de “Dr. Death” por su frecuente presencia en casos de fallecimiento por consumo de éxtasis (Caldicott et al., 2003). Los primeros datos sobre la distribución del PMA constan en EEUU y Canadá a principios de la década de 1970 (Cimbura, 1974), después de una pausa reaparece en la década de los 90 en Australia, en donde llegó a ser



*Figura 2.5* a) Estructura general de las fenetilaminas, b) Molécula Parametoxianfetamina (PMA) o [4-Methoxyamphetamine], [p-Methoxyamphetamine] c) Molécula Metilendioxi metanfetamina (MDMA) o [3,4-methylenedioxy-N-methylamphetamine]



---

responsable de la mayoría de las muertes relacionadas con el consumo de éxtasis (Byard, James, Gilbert, & Felgate, 1999; Byard, Rodgers, James, Kostakis, & Camilleri, 2002; Caldicott et al., 2003; Chodorowski, Wierowski, & Sein Anand, 2002; Felgate, Felgate, James, Sims, & Vozzo, 1998; James & Dinan, 1998; Ling, Marchant, Buckley, Prior, & Irvine, 2001; Martin, 2001). En la siguiente década, se registraron fallecimientos relacionados con el consumo de PMA en diversas zonas de Europa y Norteamérica, indicando una mayor propagación del uso de esta droga (Becker, Neis, Röhrich, & Zörntlein, 2003; Dams et al., 2003; Kraner, McCoy, Evans, Evans, & Sweeney, 2001; Lora-Tamayo, Tena, & Rodríguez, 1997; Martin, 2001; Refstad, 2003), se han recogido datos mortales en Inglaterra, Bélgica, Alemania, Dinamarca (Becker et al., 2003; Galloway & Forrest, 2002; Johansen, Hansen, Müller, Lundemose, & Franzmann, 2003; Voorspoels et al., 2002), y más recientemente Taiwán (Lin, Liu, & Yin, 2007) e Israel (Lurie et al., 2012).

Los primeros estudios sobre el potencial psicoactivo del PMA, indicaban que esta sustancia posee potentes propiedades psicomiméticas o alucinógenas en humanos similares a las del LSD (Shulgin et al., 1969) y también en ratas sometidas a un modelo de evitación condicionada (Beaton, Smythies, Benington, Morin, & Clark Jr., 1968; Smythies et al., 1967; Winter, 1994). Además, el PMA también parece mostrar un perfil alucinógeno similar al de la mescalina en humanos (Shulgin et al., 1969), perros y monos, aunque no en roedores (Davis et al., 1978). Se ha señalado que la actividad alucinógena de esta sustancia podría estar determinada por la incorporación “para-metoxi”, es decir, el grupo metoxi presente en el carbono 4 del anillo fenil (Hitzemann, Loh, & Domino, 1971; Smythies et al., 1967). Por otra parte, el PMA es el análogo para-metoxi de la anfetamina y se puede sintetizar por metilación a partir de su metabolito primario, lo que ha llevado también a relacionar el PMA con las propiedades psicoestimulantes de estas sustancias y sugerir su posible implicación en la psicosis inducida por anfetamina (Smythies et al., 1967; Vaupel & Martin, 1977).

Los estudios de discriminación de drogas<sup>5</sup> en roedores, indican sin embargo que el PMA tiene propiedades psicotrópicas que coinciden sólo en parte con ambas

---

<sup>5</sup> Las técnicas de discriminación de drogas consisten en el entrenamiento del animal mediante reforzamiento para que discrimine los efectos de la administración de una determinada droga de la administración de suero salino, y una vez establecida la señal discriminativa de la droga de entrenamiento (DE), se procede a intentar sustituir el efecto de ésta con otros compuestos (DS). En la medida en que se

---

observaciones (ver apartado 2.3.5). En conjunto, el efecto del PMA en humanos se ha descrito como predominantemente alucinógeno, mientras que en animales no parece corresponderse completamente con ninguna de las dos categorías de efectos psicotrópicos, presentando un efecto muy similar al de sustancias entactógenas como la PMMA y un componente estimular común con el alucinógeno LSD, por lo que es común describirlo como como una sustancia entactógena con propiedades alucinógenas.

### 2.3.2. Farmacocinética

#### ❖ *Absorción*

El PMA suele administrarse oralmente en forma de pastillas de éxtasis o en forma de cápsulas (Caldicott et al., 2003), aunque como aminoras todas las RSAs son solubles en agua y alcohol por lo que pueden ser también inyectadas. Se ha sugerido que la dosis oral efectiva de PMA está entre los 50 y 80-100 mg (0.70 y 1.14-42 mg/kg), produciendo unos notables efectos alucinógenos en humanos y un aumento importante de la temperatura (Caldicott et al., 2003; EROWID, 2015; Shulgin, 1991). En otros animales, el PMA produce rápidos efectos en monos tanto si se administra por vía oral como parenteral, pero en estudios con ratas la conducta de autoadministración de esta sustancia es más eficiente por vía oral (Davis et al., 1978). A diferencia del MDMA, el PMA muestra una farmacocinética lineal simple en humanos, ratas, conejillos de indias y perros (Callaghan, 2008), pero no hay disponible mucha más información acerca de los diferentes parámetros farmacocinéticos *in vivo* de esta sustancia. Tan solo tenemos constancia de que el nivel en plasma de PMA en pacientes supervivientes varía entre 0.09-0.56 mg/L (Caldicott et al., 2003; Felgate et al., 1998). En un estudio reciente el pico incremento de serotonina se evidencia en los primeros 40 minutos, de forma similar al MDMA (40-60 minutos) (Golembiowska, Jurczak, Kaminska, Noworyta & Górska, 2015).

#### ❖ *Distribución*

Se ha comprobado mediante estudios toxicológicos postmortem en humanos, que esta sustancia se distribuye ampliamente por varios órganos (hígado 8 mg/kg, riñones 4-5 mg/kg, bazo 4 mg/kg, cerebro 4 mg/kg, pulmones 3-4 mg/kg, corazón 2 mg/kg), así

---

llegue a una sustitución completa y ésta se alcance en pocos ensayos, podemos suponer que los efectos de la droga de sustitución son similares a los de la droga de entrenamiento.



como por varios fluidos corporales (bilis 50 mg/kg, sangre 2-3 mg/kg, humor vítreo 2 mg/kg y en la orina <1 mg/kg) (Dams et al., 2003; Lurie et al., 2012; Martin, 2001). Además, sabemos que el PMA es un metabolito menor pero muy activo de la sustancia Parametoximetanfetamina (PMMA), y como tal se ha hallado distribuido por pulmones, cerebro, hígado y plasma (Rohanová & Balikova, 2009).

#### ❖ *Metabolización*

Los estudios de la metabolización del PMA, mediante técnicas de espectrometría de masas de cromatografía de gases (GC-MS), espectrometría de masas de cromatografía de líquidos (LC-MS) o cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), indican que el PMA a diferencia del MDMA, MDEA y MBDB, tiene una ruta metabólica relativamente simple.

Se ha comprobado que la ruta metabólica principal de la Parametoxianfetamina es la O-Desmetilacion mediante isoenzimas del citocromo P450 en la mayoría de las especies de laboratorio (CYP2D1 en ratas, conejillos de indias) y en humanos (CYP2D6), proporcionando el metabolito “4-hidroxyamphetamine” (OH-AM, o POHA) del cual solo existe constancia de su neurotoxicidad en humanos (Caldicott et al., 2003; Kaminskas, Irvine, Callaghan, White, & Kirkbride, 2002; Kraner et al., 2001).

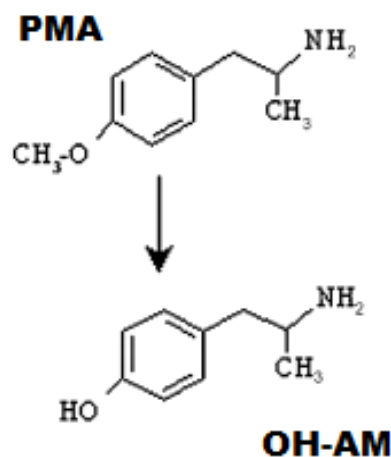


Figura 2.6 Metabolito del PMA.

#### ❖ *Excreción*

En ratas, el 70-80% del fármaco original se excreta como metabolito único en las 24 horas siguientes a la administración (Bach, Coutts, & Baker, 1999; Callaghan et al., 2007; Callaghan, 2008; Concheiro et al., 2007; Foster, Litster, & Lodge, 1991; Kitchen, Tremblay, & Andre, 1979). En humanos, la media de excreción de PMA por la orina fue del 6.7% de la dosis administrada en las primeras 24 horas, con un rango de 0.3-15%, puede que las variaciones en la excreción de PMA estén relacionadas con el PH de la orina (Schweitzer et al., 1971). Se ha indicado que es muy posible que la metabolización del PMA se encuentre inhibida en policonsumidores, prolongando así sus efectos (Bach

et al., 1999). En este sentido, se ha señalado que el incremento del número de muertes relacionadas con el consumo de PMA, MDEA y MDMA, podría deberse a una modulación de la farmacocinética de estas drogas combinadas, lo que puede suponer un factor de riesgo en la mortalidad relacionada con el éxtasis (Ketabi-Kiyanvash et al., 2003).

Los estudios sobre la toxicidad aguda del PMA en roedores muestran diferentes rangos de toxicidad letal, en función de la vía de administración. En el tipo de administración intravenosa la dosis letal media (LD50) en ratones oscila entre 25-46 mg/kg (Davis et al., 1978; Paton, Bell, Yee, & Cook, 1975). La LD50 asciende a unos 60.7 mg/kg de PMA en ratones tratados por vía subcutánea (Nichols, Ilhan, & Long, 1975), y a unos 284 (214-370) mg/kg si la administración es de tipo oral (Davis et al., 1978).

### 2.3.3. Farmacodinamia: mecanismo de acción

#### ❖ *Efectos sobre el sistema de neurotransmisión serotoninérgico.*

Los estudios sobre los efectos agudos del PMA en el sistema nervioso animal, indican que esta sustancia produce un marcado incremento del neurotransmisor serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT) tanto en el cerebro de la rata (Andén, Corrodi, Fuxe, & Meek, 1974; Martin-Iverson, Yamada, By, & Lodge, 1991; Nichols, Lloyd, Hoffman, Nichols, & Yim, 1982; Tseng, 1978; Tseng, Harris, & Loh, 1978; Tseng, 1979), como del ratón (3, 10 y 30 mg/kg de PMA) (Hitzemann et al., 1971; Menon, Tseng, & Loh, 1976).

En consonancia, diversos estudios *in vitro* indican que el PMA aumenta la serotonina en el área de la corteza cerebral (Hegadoren et al., 1995; Tseng, Menon, & Loh, 1976) y estriado (Hegadoren et al., 1994; Tseng et al., 1976). De forma similar, los estudios *in vivo* muestran que el PMA aumenta el nivel de serotonina en el estriado con un rango de dosis amplio de 2.5-20 mg/kg (Callaghan, Irvine, & Daws, 2005; Daws et al., 2000; Freezer, Salem, & Irvine, 2005; Gough, Imam, Blough, Slikker Jr., & Ali, 2002; Golembiowska et al., 2015; Romero et al., 2006; Stanley, Salem, & Irvine, 2007), la sustancia negra, el hipocampo, el núcleo accumbens y la corteza frontal (5 y 10 mg/kg de PMA) (Hewton, Salem, & Irvine, 2007; Golembiowska et al., 2015; Matsumoto et al., 2014).

El PMA es un agente liberador de serotonina más potente que la d-anfetamina (Callaghan, 2008; Hitzemann et al., 1971; Tseng et al., 1976), y muy similar al MDMA (Romero et al., 2006). No obstante, en una publicación reciente de Golembiowska et al. (2015) se indica que, aunque tanto el PMA como el MDMA aumentan la liberación de serotonina principalmente en la corteza frontal (4000 y 6000% de la línea base, respectivamente), seguido de estructuras como el estriado y el núcleo accumbens; la intensidad varía en función de la estructura. De esta forma, el MDMA (10 mg/kg) muestra un aumento de liberación de 5-HT en corteza y núcleo accumbens que es 1.5 y 3 veces mayor, respectivamente, que el producido por la misma dosis de PMA; mientras que es unas tres veces más débil en el estriado.

El mecanismo de acción del PMA parece similar al del MDMA, en tanto que se ha relacionado con la alteración de la función de los transportadores de serotonina (SERT). En este sentido, hay evidencias de que el PMA disminuye la recaptación de serotonina a través de las proteínas SERT en el área de la corteza cerebral y del estriado de la rata (Callaghan et al., 2005; Daws et al., 2000; Gough et al., 2002; Hegadoren et al., 1995; Tseng et al., 1976); lo cual parece ser congruente con el bajo nivel estriatal de su metabolito (ácido 5-hidroxiindolacético, 5-HIAA), pero no así con su aumento a nivel cortical (Golembiowska et al., 2015). El PMA, principalmente su dextroisómero, inhibe la recaptación con una potencia similar a la clormipramina (fármaco inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina “ISRS”, o inhibidor SERT) (Andén et al., 1974; Tseng et al., 1978). Además, el pretratamiento con ISRS (clormipramina, fluoxetina, desipramina) previene la liberación de serotonina inducida por PMA en el sistema nervioso central (Tseng et al., 1978), y también previene determinadas conductas motoras asociadas, como la actividad de contracción mioclónica (“*myoclonic twitch activity*”, MTA) en los músculos suprahioides localizados en el cuello (Clineschmidt & McGuffin, 1978; Menon et al., 1976; Tseng, 1978; Tseng, 1979). Estas evidencias han conducido a afirmar que el PMA, como otras RSAs, utiliza el sistema de recaptación de serotonina para acceder al interior de la neurona serotoninérgica y luego invierte la función de los transportadores incrementando la liberación indirecta de serotonina a la vez que inhibe su recaptación (Callaghan et al., 2005; Clineschmidt & McGuffin, 1978).

Por otra parte, un tema que no ha sido estudiado en profundidad es si el PMA tiene un efecto inhibitorio sobre la síntesis de serotonina, tal y como se ha descrito para el MDMA en diversas áreas como el estriado, corteza frontal, hipocampo e hipotálamo (Callaghan,

2008; Che, Johnson, Hanson, & Gibb, 1995; Schmidt & Taylor, 1987; Schmidt & Taylor, 1988; Stone, Hanson, & Gibb, 1987; Stone, Merchant, Hanson, & Gibb, 1987). No obstante, Golembiowska et al. (2015), indican que una dosis aguda de 10 mg/kg de PMA es capaz de aumentar el nivel tisular de serotonina y de su metabolito en el córtex frontal y el núcleo accumbens (pero no en el estriado donde el 5-HIAA disminuye), lo que podría sugerir que el PMA posee un efecto estimulante sobre la síntesis cortical de serotonina, a diferencia del MDMA. Esto parece ser congruente con los hallazgos en estudios que emplean una dosis similar pero subcrónica de PMA (dos dosis de 10-20 mg/kg, durante cuatro días), en los que este compuesto no produce una reducción cortical ni hipocampal del contenido de serotonina, a pesar de la importante reducción de 5-HIAA y de la densidad SERT en estas áreas; mientras que la administración subcrónica de MDMA reduce tanto la densidad SERT como el nivel de serotonina (Callaghan et al., 2006, 2007).

Además, la reducción del metabolito 5-HIAA sin alteración del nivel de serotonina en estriado tras una administración aguda de PMA (Golembiowska et al., 2015), o en la corteza e hipocampo tras una administración subcrónica de PMA (Callaghan et al., 2006, 2007); podría ser indicativo de que este compuesto es capaz de inhibir la función de la enzima MAO encargada de degradar las monoaminas, de forma similar al MDMA (el cual posee una afinidad diez veces mayor por la MAO-A que por la MAO-B) (Leonardi & Azmitia, 1994). De hecho, en estudios recientes se indica que el PMA es un inhibidor selectivo reversible de la MAO-A con una potencia similar al fármaco Moclobemida y más potente que la propia MDMA tanto *in vitro* como *in vivo*, aunque también parece ser capaz de inhibir la enzima MAO-B (Callaghan, 2008; Freezer et al., 2005; Garrick & Murphy, 1982; Green & HAIT, 1980; Hewton et al., 2007; Matsumoto et al., 2014; Stanley et al., 2007).

Por otra parte, el PMA como otros derivados anfetaminicos, actúa como un agonista de los receptores 5-HT<sub>2</sub> y en menor medida de los 5-HT<sub>1</sub> de la corteza (Battaglia & De Souza, 1989). El incremento notable del nivel extracelular de serotonina especialmente en la corteza frontal junto a la estimulación de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> de esta área, son efectos neuroquímicos del PMA que se han relacionado con las propiedades alucinógenas de sustancias como el DOM, LSD o la Mescalina (Andén et al., 1974; González-Maeso and Sealfon, 2009). En concreto, la base neuroquímica de este efecto es la estimulación de los receptores 5-HT<sub>2A</sub> situados en las células piramidales del córtex y la liberación de glutamato, que su vez conlleva una mayor estimulación de las vías excitatorias que

---

proyectan al área tegmental ventral (VTA) y núcleos del rafe. Este mecanismo parece ser responsable de las propiedades alucinógenas y potencial abuso de catinonas y derivados amfetaminicos (Mefedrona, PMA y PMMA) (Golembiowska et al., 2015).

❖ *Efectos sobre sistemas de neurotransmisión catecolaminérgicos.*

Los efectos agudos del PMA sobre las monoaminas catecolaminérgicas dopamina (DA) y noradrenalina (NA) han generado algunas discrepancias. Uno de los primeros estudios al respecto, expone que la administración en ratones de una dosis elevada de PMA (30 mg/kg, pero no 3-10 mg/kg), puede reducir ligeramente el nivel de ambas catecolaminas (Hitzemann et al., 1971). Esto resulta bastante singular, ya que la mayoría de estudios posteriores indican un aumento del nivel de DA o NA, y muestran alteraciones de otros índices de actividad catecolaminérgica que hacen pensar precisamente en lo contrario.

En general, el PMA se muestra como un débil agente liberador de dopamina en el área del estriado de ratones (Tseng & Loh, 1974) y ratas (Daws et al., 2000; Golembiowska et al., 2015; Gough et al., 2002; Hegadoren et al., 1994; Matsumoto et al., 2014; Romero et al., 2006; Tseng, Hitzemann, & Loh, 1974; Tseng & Loh, 1974; Tseng et al., 1976). Parece ser que este incremento de la liberación de dopamina estriatal inducida por el PMA es de tipo dosis dependiente, ya que en estudios de microdiálisis se ha hallado que una dosis de 5 mg/kg libera entre 150-290% del nivel de línea base de dopamina estriatal (Matsumoto et al., 2014), 10 mg/kg incrementa la liberación dopaminérgica entre 300-550% (Golembiowska et al., 2015; Romero et al., 2006) y 20 mg/kg aproximadamente en un 975% (Gough et al., 2002). En estos estudios, no hay acuerdo respecto a si el PMA es capaz de estimular la liberación estriatal de dopamina y serotonina con una eficacia similar (Romero et al., 2006), o si la liberación estriatal de dopamina es claramente inferior (Golembiowska et al., 2015). No obstante, en todo caso la liberación estriatal de dopamina inducida por PMA es ligeramente menor a la del MDMA (Daws et al., 2000; Golembiowska et al., 2015; Romero et al., 2006), mientras que es visiblemente menor que la producida por la d-anfetamina (Romero et al., 2006; Tseng et al., 1974; Tseng & Loh, 1974; Tseng et al., 1976). Además de la liberación de dopamina en el estriado, un estudio reciente informa de que el PMA libera dopamina de forma similar en el núcleo accumbens y con una potencia ligeramente mayor en la corteza frontal, como también se aprecia tras la administración de MDMA (Golembiowska et al., 2015).

Por otra parte, hay evidencias de que el PMA (2-32  $\mu\text{mol/kg}$ ) reduce de forma general el nivel tisular de los metabolitos (DOPAC, HVA), pero no de dopamina (Martin-Iverson et al., 1991). Un resultado similar se ha hallado a nivel local en el estriado con una dosis de 10 mg/kg de PMA; pero no así en estructuras como el núcleo accumbens y la corteza frontal en donde aumenta el nivel tisular de dopamina (Golembowska et al., 2015). Estos autores proponen que el aumento de DA junto con la reducción o no alteración del metabolito DOPAC en el córtex frontal y accumbens, podría ser resultado de la alteración del metabolismo intracelular MAO y de una inhibición de la recaptación a través de transportadores DAT (Matsumoto et al., 2014; Golembowska et al., 2015). La hipótesis de que el PMA podría actuar inhibiendo la recaptación de dopamina es de hecho bastante anterior (Hegadoren et al., 1995; Tseng et al., 1974), sin embargo otros estudios no apoyan la relevancia de este mecanismo de acción (Daws et al., 2000; Martin-Iverson et al., 1991).

En relación con el sistema noradrenérgico, el PMA actúa como un eficaz liberador de noradrenalina y también como un inhibidor de su recaptación principalmente en secciones del córtex (120%), estriado (160%) e hipocampo (140%) de roedores (Hegadoren et al., 1995; Martin-Iverson et al., 1991; Tseng et al., 1974). En estudios *in vitro*, la capacidad del PMA para liberar noradrenalina en el área del córtex se equipara a la de la d-anfetamina (Tseng et al., 1974; Tseng et al., 1976). En estudios *in vivo*, el PMA presenta mayor potencia que la d-anfetamina en córtex e hipocampo y también mayor potencia que la MDMA en estriado (Hegadoren et al., 1995). A pesar de estos hallazgos, aún no se sabe cuál es la función de la liberación de la noradrenalina en los efectos fisiológicos y conductuales del PMA.

Recientemente, se han evaluado los efectos de la administración repetida de PMA a medio-largo plazo sobre las catecolaminas. La administración subcrónica de PMA (dos dosis de 10-20 mg/kg durante cuatro días) no parece alterar el nivel de dopamina cortical ni de sus metabolitos dos semanas después del tratamiento (Callaghan et al., 2006), ni del nivel de NA en el hipocampo (Callaghan et al., 2007).

#### ❖ *Posibles mecanismos de acción implicados en la hipertermia*

El mecanismo de acción de ciertas fenetilaminas como el PMA, MDEA, MBDB y la MDMA, para elevar la temperatura, se ha relacionado inicialmente con el incremento de serotonina extracelular (Lin, Tsay, Su, & Chueh, 1998). No obstante, no parece que se

deba simplemente al incremento de este neurotransmisor, ya que el pretratamiento con ISRS no previene el efecto hipertérmico de estas drogas (Berger, Gu, & Azmitia, 1992; Malberg, Sabol, & Seiden, 1996; Mechan et al., 2002a; Schmidt et al., 1990); sino más bien a la activación de los receptores 5-HT<sub>2A</sub>, ya que el uso del antagonista ketanserina atenúa la respuesta hipertérmica inducida por el MDMA (Liechti, Saur, Gamma & Vollenweider, 2000). Otros estudios, sin embargo refieren una ineficacia de los antagonistas de diversos receptores serotoninérgicos, entre ellos el citado, para modular la hipertermia inducida por MDMA (Mechan et al., 2002a). Por otra parte, este efecto hipertérmico parece atenuarse con antagonistas dopaminérgicos D1 (SCH23390) y agonistas del GABA<sub>B</sub> (Bacoflen) (Bexis et al., 2004). Además, se sabe que la liberación inicial de 5-HT también regula la biosíntesis y liberación de DA mediante la activación de receptores post-sinápticos 5-HT<sub>2A</sub>. Por lo que se ha sugerido que la respuesta hipertérmica de las feniletilaminas podría estar regulada por la activación indirecta del sistema sistema dopaminérgico a través de los receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>2A</sub> (Carvalho et al., 2012), y/o por la alteración directa del sistema dopaminérgico (D1) y gabaérgico (GABA-B) (Callaghan, 2008).

#### 2.3.4. Efectos fisiológicos agudos

##### ❖ *Síntomas clínicos fisiológicos agudos en humanos.*

El consumo de PMA en humanos se ha relacionado a nivel sistémico con alteraciones agudas en el sistema autónomo y fallo multiorgánico, tales como un aumento notable de la temperatura corporal, alteraciones de la presión arterial y de la frecuencia cardiaca, coagulación intravascular diseminada, hemorragias intralveolares y derrames pleurales hemorrágicos, rhabdomiolisis, fallo hepático y renal agudo, así como hipoglucemia, alteraciones en electrolitos (menos Ca<sup>2+</sup>, más K<sup>+</sup>), convulsiones y coma (Byard et al., 2002; Caldicott et al., 2003; Dams et al., 2003; EROWID, 2015; Johansen et al., 2003; Kraner et al., 2001; Lin et al., 2007; Ling et al., 2001; Nichols et al., 1975; Refstad, 2003). Estos efectos en general son similares a los observados tras la administración de MDMA (Capela et al., 2009; Carvalho et al., 2012). No obstante, hay que tener en cuenta que los efectos tóxicos del PMA en humanos se han recogido en su mayoría de estudios postmortem por consumo combinado con otras sustancias (MDMA, metanfetaminas, THC y benzodiacepinas), lo que dificulta identificar los efectos propios de la Parametoxianfetamina (Caldicott et al., 2003).

❖ *Efectos fisiológicos agudos del PMA en animales experimentales.*

Los primeros estudios sobre los efectos del PMA en animales iniciados en la década de los 70 informaban de alteraciones mixtas de la frecuencia cardiaca (taquicardias y bradicardias) en perros (Cheng, Long, Nichols, & Barfknecht, 1974; Vaupel & Martin, 1977), así como también de hipertermia aguda en ratas con un rango de dosis amplio, desde 10 mg/kg (Menon et al., 1976) hasta en dosis cercanas a la letal (60.7 mg/kg  $\approx$  LD50) (Nichols et al., 1975). Estos trabajos iniciales no realizan un registro básico de la temperatura ambiente (Callaghan, 2008). Sin embargo, estudios más recientes han puesto de relieve que para determinar los efectos del PMA y el de otras alkilamfetaminas, es necesario tener en cuenta la temperatura ambiental junto con la dosis de sustancia administrada.

En ratas expuestas a una temperatura ambiente alrededor de 20°C, la administración de diferentes dosis de PMA (5-20 mg/kg) es capaz de inducir bradicardia, una leve disminución dosis dependiente de la presión sanguínea (Irvine, Toop, Phillis, & Lewanowitsch, 2001) y de la temperatura corporal (Daws et al., 2000). Estos datos parecen contradecir los obtenidos en humanos consumidores de PMA, y también parecen alejarse de los efectos simpaticomiméticos del MDMA como estimulante cardiaco (arritmias y taquicardias, vasoconstricción, aumento dosis dependiente de la presión arterial y tasa cardiaca) en roedores (Bexis et al., 2004; Fitzgerald & Reid, 1994; Gordon et al., 1991), y humanos (Capela et al., 2009; Vollenweider et al., 1998). Sin embargo, cuando se administra una dosis elevada de PMA (20 mg/kg) manteniendo al animal en una temperatura ambiente también elevada (30°C), los resultados varían mostrando un claro incremento de la frecuencia cardiaca y una curva térmica inicialmente descendente seguida de una destacada hipertermia.

No obstante, aunque la temperatura ambiente es un factor importante en la termorregulación, no hay una clara delimitación térmica que sea determinante. Esto se observa en otros experimentos, en los que una dosis intermedia de PMA o MDMA (10 mg/kg) tiende a elevar la curva de la temperatura corporal de forma no significativa cuando se mantiene al roedor en una temperatura ambiente de 22°C (Freezer et al., 2005), mientras que también hay evidencias de que esta dosis produce una hipertermia significativa tanto a 22°C como a 30°C ambiente (Hewton et al., 2007; Stanley et al., 2007). En consonancia, en un estudio previo con MDMA, ya se había advertido que pequeñas variaciones en la temperatura ambiente son capaces de provocar notables



---

cambios en la neurotoxicidad e hipertermia inducida por esta sustancia (Malberg & Seiden, 1998).

Por otra parte, aunque el efecto hipertérmico del PMA y del MDMA sea similar, parece existir una particularidad conductual clave. En diversos estudios, se ha señalado que tras la administración de PMA, las ratas no activan las conductas básicas de regulación de temperatura buscando lugares más frescos y tienden a permanecer preferentemente en ambientes templados lo que supone un factor de riesgo añadido para el potencial tóxico del PMA (Jaehne et al., 2005; Jaehne, Salem, & Irvine, 2007; Jaehne, 2010; Stanley et al., 2007). En conjunto estos estudios indican que una temperatura ambiental elevada constituye un factor de riesgo añadido tras el consumo de estas sustancias, y en particular la disminución de las conductas de regulación de la temperatura corporal que parece inducir el PMA, hace que se trate de un compuesto de riesgo especialmente en contextos calurosos.

### 2.3.5. Efectos conductuales del PMA

#### a) *Efectos sobre la discriminación de drogas y sobre el refuerzo.*

Resulta bastante complejo caracterizar el perfil conductual que produce el PMA. Se ha sugerido que en humanos, el PMA posee unas propiedades psicomiméticas o alucinógenas similares a las del LSD, así como una potencia cinco veces mayor que la mescalina (Shulgin et al., 1969). Algunos estudios en animales también indican que esta sustancia podría inducir un efecto similar al del LSD, por ejemplo, hay evidencias de que el PMA (1-3 mg/kg) posee actividad alucinógena en ratas en un modelo de alucinación basado en patrones de respuesta de evitación condicionada (Beaton et al., 1968; Smythies et al., 1967; Winter, 1994). En la misma línea, se ha comprobado que una dosis algo mayor de PMA (2-6 mg/kg), es capaz de anular completamente la conducta de presionar la palanca y facilitar la aparición de conductas extrañas tales como caminar hacia atrás (efecto frecuente de la mescalina), mantener la posición de verticalidad golpeando en el aire a modo de boxeo y una respuesta de sobresalto exagerada (Smythies et al., 1967). La presencia de actividad alucinógena parece que viene determinada por la incorporación del grupo metoxi en el carbono cuarto del anillo fenil (Hitzemann et al., 1971; Smythies et al., 1967).

En los estudios de discriminación de drogas hay evidencias de que el PMA no sustituye el estímulo discriminativo generado por el alucinógeno DOM en ratas (Glennon, Young, & Hauck, 1985; Glennon, Ismaiel, Martin, Poff, & Sutton, 1988). Sin embargo, respecto al LSD se logra una curiosa señal discriminativa intermedia<sup>6</sup>, que consiste en una sustitución parcial mutua de la señal PMA-LSD en torno al 50% (Winter, 1984); por lo que, aunque dichas señales interoceptivas sean considerablemente distintas, los autores indican que pueden tener un componente estimular común cuya naturaleza es una cuestión aún no esclarecida. El bloqueo que produce el antagonista serotoninérgico pizotilina, tanto de la señal del LSD como de los efectos intermedios de la sustitución con PMA en ratas entrenadas con LSD, sugiere que este componente común puede ser de naturaleza serotoninérgica. Sin embargo, la ausencia de efecto de la pizotilina en ratas entrenadas con PMA, indica que el componente serotoninérgico de la acción del PMA no

---

<sup>6</sup> (Winter, 1984) DE: LSD (0.1 mg/kg). DS: PMA (1 mg/kg, sustitución del 48%)

(Winter, 1984) DE: LSD (0.1 mg/kg). DS: PMA (3 mg/kg, sustitución del 75% en la mitad de los sujetos).

(Winter, 1984) DE: PMA (3 mg/kg). DS: LSD (0.1 mg/kg, sustitución del 51%; 0.3 mg/kg, 45%).

---

es esencial para la señal inducida por esta sustancia (Winter, 1984; Winter, 1994; Young & Glennon, 1986).

Por otra parte, el PMA es el análogo para-metoxi de la anfetamina y se puede sintetizar por metilación a partir de su metabolito primario, lo que ha llevado también a relacionar el PMA con las propiedades psicoestimulantes de estas sustancias y sugerir su posible implicación en la psicosis inducida por anfetamina (Smythies et al., 1967; Vaupel & Martin, 1977). En estudios de discriminación de drogas, el PMA presenta propiedades psicotrópicas que o no coinciden, o bien sólo coinciden en parte con las propias de los estimulantes clásicos. Se ha comprobado que en roedores, el preparado racémico RS( $\pm$ )-PMA<sup>7</sup> es capaz de sustituir parcialmente la señal interoceptiva generada por la d-anfetamina, pero para ello es necesario una dosis de 2 a 4 veces mayor y esta sustitución no se consigue en todos los sujetos (Glennon et al., 1985; Glennon et al., 1988; Huang & Ho, 1974). Otros trabajos concluyen que el PMA racémico no posee propiedades discriminativas de tipo anfetamínico<sup>8</sup> en ratas (Corrigall, Robertson, Coen, & Lodge, 1992), ni en monos rhesus (Woolverton & English, 1997). Tampoco los isómeros S(+)-PMA ni R(-)-PMA presentan propiedades anfetamínicas en ratas, tan solo la S(+)-PMA (0.75 mg/kg) es capaz de sustituir parcialmente la señal anfetamínica (1 mg/kg) con un máximo de efectividad del 33%, mientras que dosis ligeramente mayores de PMA no generalizan la señal en absoluto (Dukat, Young, & Glennon, 2002). En este sentido, se ha indicado que el PMA, a diferencia de la anfetamina, no produce conducta estereotipada en ratones (Menon et al., 1976; Tseng et al., 1976). Por otra parte, la conducta cuidado corporal o “*grooming*” se disminuye habitualmente en ratas tratadas con cocaína o metanfetamina; sin embargo tras la administración de PMA (40 $\mu$ m/kg; equivalente a 6.6 mg/kg), las ratas parecen mantener intacta esta conducta de autocuidado (Jaehne et al., 2007).

Por último, tanto el R(-)-PMA como el entactógeno MBDB son capaces de generalizar la señal producida por el entrenamiento con el entactógeno PMMA (análogo N-metil-

---

<sup>7</sup> (Huang, 1974) DE: d-anfetamina (0.8 mg/kg); DS: PMA (2 mg/kg, sustitución parcial “SP” 78%)  
(Glennon, 1985) DE: d-anfetamina (0.62 mg/kg) ; DS: PMA (2 mg/kg, SP 62% a los 15 minutos),  
(Glennon, 1985) DE: d-anfetamina (0.62 mg/kg) ; DS: PMA (2.25 mg/kg; SP 89% a los 5 minutos),  
(Glennon, 1988) DE: d-anfetamina (1 mg/kg), DS: PMA (2.25 mg/kg, SP 83%)

<sup>8</sup> (Corrigall, 1992) DE: d-anfetamina (1 mg/kg). DS: PMA (3 mg/kg; No sustitución 31%).  
(Woolverton, 1997) DE: d-anfetamina (0.69 mg/kg) DS: PMA (3 mg/kg). No sustitución (monos rhesus)

PMA) (Dukat et al., 2002; Rangisetty, Bondarev, Chang-Fong, Young, & Glennon, 2001). El efecto de estas sustancias es muy similar al del MDMA, pero sin las propiedades estimulantes de ésta (Glennon, Young, Dukat, & Cheng, 1997; Glennon & Young, 2002). Por lo que, es posible que el isómero R(-)-PMA pueda producir en humanos efectos similares a los del MDMA, pero sin efectos de tipo anfetamínico (Dukat et al., 2002).

En conjunto, el efecto del PMA en humanos se ha descrito como predominantemente alucinógeno, mientras que en animales esta sustancia presenta un efecto muy similar al de sustancias entactógenas como la PMMA y un componente estimular común con el alucinógeno LSD, sin una similitud estimular con otros alucinógenos o estimulantes. Por último, señalar que los pocos datos disponibles sugieren que el PMA no tiene propiedades reforzantes en ratas (Corrigall et al., 1992).

#### *b) Efectos locomotores*

Los escasos estudios realizados con PMA sugieren que esta sustancia tiene un efecto hiperlocomotor en ratas menor que el éxtasis (Daws et al., 2000; Jaehne et al., 2005; Romero et al., 2006) o inapreciable en rata (Bustamante, Díaz-Véliz, Paeile, Zapata-Torres, & Cassels, 2004; Hegadoren et al., 1995; Martin-Iverson et al., 1991), o en ratón (Glennon et al., 1988; Hitzemann et al., 1971). Incluso se ha indicado que en ratones albinos, el PMA podría provocar déficits en la conducta motora, a diferencia del aumento de la actividad motora descrito para el MDMA o la d-anfetamina (Hatoum & Davis, 1978).

Los estudios en ratas parecen indicar que los discretos cambios que provoca el PMA sobre la actividad locomotora no parecen depender demasiado de la temperatura ambiental en la que se encuentra el individuo, contrastando con el notable efecto hipertérmico que induce esta sustancia. En concreto, hay evidencias de que un rango amplio de dosis de PMA (5, 10, 15 y 20 mg/kg) no tiene efectos sobre la actividad motora de la rata a 20°C ambiente, y provoca un efecto hiperlocomotor bastante débil cuando el sujeto se encuentra a 30°C. Este efecto hiperlocomotor modesto se observa sobre todo con las dosis altas de PMA, y contrasta con la gran activación motora que induce el MDMA en ambas temperaturas ambiente (Daws et al., 2000). Asimismo, se ha descrito que el efecto hiperlocomotor que exhiben las ratas tratadas con una dosis moderada de PMA (10 mg/kg), aún siendo algo más notable que en el experimento anterior, solo se aprecia durante la primera media hora (periodo de confinamiento a 30°C), y luego se va

reduciendo hasta alcanzar niveles similares a los del grupo control en la siguiente media hora en la que se permite movilidad al sujeto. Esto sugiere, de nuevo que el PMA provoca en ratas un perfil hiperlocomotor muy moderado en comparación con la MDMA, sustancia que prolonga notablemente la actividad motora incluso una hora después del periodo de confinamiento (Jaehne et al., 2005).

Como se ha indicado en apartados anteriores, el tratamiento con PMA parece inducir en la rata una cierta preferencia por los ambientes templados, lo que ha llevado a sugerir que las conductas básicas de regulación de temperatura tales como la búsqueda o exploración de lugares frescos podrían encontrarse alteradas (Jaehne et al., 2005; Jaehne et al., 2007; Jaehne, 2010; Stanley et al., 2007). No obstante, teniendo en cuenta los estudios citados, este posible efecto hipoexploratorio no parece que se deba a un déficit motor.

De hecho, algunos estudios obtienen que el PMA (5-10 mg/kg) aumenta de forma dosis dependiente la actividad locomotora y la actividad mioclónica de la rata (Menon et al., 1976; Tseng et al., 1978). De forma semejante, en un estudio más reciente sobre el efecto de diversas RSAs sobre la conducta rotacional de ratas sometidas a una lesión unilateral de los ganglios basales mediante 6-hidroxidopamina (6-OHDA); se muestra que una dosis baja de PMA o de MDMA (2 mg/kg) produce un aumento significativo de la conducta rotacional ipsilateral pero de corta duración y de baja intensidad, junto con síntomas serotoninérgicos como hipocinesia, exoftalmos, rigidez e hiperreflexia de las patas anteriores y reducción de la actividad exploratoria. Sin embargo, la dosis de 10 mg/kg de MDMA provoca una respuesta rotacional ipsilateral de mayor duración (> 3 h.), que parece relacionarse con una mayor eficacia del MDMA para liberar dopamina en el hemisferio intacto, en comparación con el PMA (Romero et al., 2006).

Por otra parte, también se ha observado que la administración de PMA (2, 8 y 32  $\mu$ mol/kg; es decir, 0.4, 1.6 y 6.4 mg/kg, respectivamente) no tiene efectos relevantes sobre la actividad locomotora de la rata (Hegadoren et al., 1995; Martin-Iverson et al., 1991). En esta misma línea, se ha observado que treinta minutos después de la administración de 8 mg/kg de PMA las ratas reducen de forma significativa la conducta de cuidado corporal, pero no muestran alteración de la conducta motora espontánea, ni la actividad exploratoria vertical (rearings), ni de la respuesta de evitación condicionada, así como tampoco se aprecian respuestas estereotipadas (olisquear, lamer y morder repetitivamente) (Bustamante et al., 2004). Sin embargo, se ha descrito que dosis pequeñas de PMA (3 o 10 mg/kg) no producen un incremento de la actividad motora de la rata, pero dosis

mayores (30 mg/kg) si obtienen incrementos de la actividad locomotora.(Tseng & Loh, 1974).

La investigación de los efectos motores del PMA en ratones es si cabe más escasa. Congruentemente con los estudios anteriores, en ratones tan sólo se muestra un aumento de la actividad motora y de la actividad mioclónica con dosis altas de PMA (30 mg/kg). Por el contrario, el uso de una dosis inferior de PMA (1, 3, 10 mg/kg) no provoca alteraciones en la actividad motora, aunque muestre una tendencia no significativa descendente (Glennon et al., 1988; Hitzemann et al., 1971; Tseng & Loh, 1974). Sin embargo, hay evidencias de que en ratones machos albinos ICR la administración de PMA (10 mg/kg) reduce la actividad motora, independientemente de su condición como agrupado o aislado, un efecto motor inhibitorio que se acentúa con el pretratamiento de depletores monoaminérgicos y que resulta opuesto al observado con la MDMA o la d-anfetamina (Hatoum & Davis, 1978). Por lo que estos datos indican, que en ratones el PMA podría tener efectos diferentes en cepas distintas.

## 2.4. Efectos de las RSAs empatógenas sobre la conducta agonística y las conductas relacionadas con la ansiedad

A diferencia del MDMA, en la actualidad no hay disponibles estudios acerca de cómo influyen las feniletilaminas sintéticas MBDB, MDEA o PMA en la conducta agonística del ratón, ni tampoco en las conductas relacionadas con la ansiedad. En este aspecto, la MDMA es la única RSAs de tipo empatógeno en la que se han estudiado estos efectos conductuales emocionales, en modelos animales de agresión y ansiedad; por lo que en este apartado, solo es posible exponer una revisión de estos efectos del MDMA a modo de marco referencial.

### 2.4.1. Efectos del MDMA sobre la conducta agonística

La administración de MDMA altera el perfil conductual de roedores evaluados en modelos de agresión. La administración aguda de esta sustancia produce una reducción de las conductas agonísticas agresivas. No obstante, este efecto suele describirse como inespecífico, ya que se acompaña de cambios en otras conductas defensivas y de exploración social.

#### a) *Efectos sobre la conducta social*

El MDMA produce un incremento de la sociabilidad y proximidad tanto en humanos como en animales. Los consumidores de éxtasis informan de una mayor facilidad para la proximidad social y de un aumento de los sentimientos de empatía, amor y bienestar, que son sin duda los efectos más buscados al consumir esta sustancia no en vano conocida como “*love drug*”. Estos efectos prosociales también se han observado en encuentros agonísticos entre roedores. En ratones aislados con un perfil agresivo elevado, la administración aguda de MDMA (2.5 y 10 mg/kg) reduce las conductas agresivas y aumenta las conductas de *investigación social* tales como olisquear, perseguir y subirse sobre el oponente durante el test de interacción social, sin embargo, este efecto no se muestra en dosis elevadas (30 mg/kg) ni en ninguna de las dosis empleadas en ratones no agresivos (Machalova, Slais, Vrskova, & Sulcova, 2012). En este sentido, estudios con ratones adolescentes también encuentran resultados mixtos dependiendo de la dosis, de forma que se detecta un aumento de investigación social solo a dosis baja de MDMA (5 mg/kg) (Daza-Losada et al., 2009). En ratas, existen evidencias más consistentes que

respaldan la hipótesis del MDMA como facilitador de la interacción social, aumentando el tiempo en conductas de proximidad como tumbarse junto al oponente “*adjacent lying*” con dosis de 5 mg/kg de MDMA (Andó et al., 2006; Morley & McGregor, 2000; Morley, Arnold, & McGregor, 2005; Thompson, Callaghan, Hunt, Cornish, & McGregor, 2007), mientras que disminuye el olisqueo anogenital típico en la exploración social de congéneres desconocidos (Morley et al., 2005).

Los correlatos neuronales indican que el efecto sobre la conducta social de la administración aguda de MDMA se encuentra mediado por los receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>1A</sub> y posiblemente 5-HT<sub>(2B/2C)</sub>, aunque el bloqueo de éstos últimos además de prevenir el aumento de la interacción social causa una notable tigmotaxis (hiperactividad en la periferia y paredes del recinto) (Morley et al., 2005). En los últimos años se ha implicado a la oxitocina, un neuropéptido implicado en la regulación de las conductas filiativas, como mediador de los efectos prosociales del éxtasis. Al parecer, la señal interoceptiva del MDMA y la producida por un análogo de la oxitocina han resultado ser muy similares en el paradigma de discriminación de drogas (Broadbear, Tunstall, & Beringer, 2011). Estudios inmunohistoquímicos indican que el MDMA estimula las neuronas del núcleo supraóptico y paraventricular del hipotálamo que contienen oxitocina (Thompson et al., 2007), así como que la actividad de estas neuronas se encuentra mediada precisamente por receptores 5-HT<sub>1A</sub> (Hunt, McGregor, Cornish, & Callaghan, 2011). También se ha demostrado recientemente la implicación de los receptores de vasopresina V1Ar en la regulación de la conducta social inducida por éxtasis (Ramos et al., 2013). Resulta interesante señalar en este aspecto, que un contexto social enriquecido produce una mayor actividad de estas regiones tras el consumo de MDMA que una situación de aislamiento, lo que apoya la participación de la oxitocina en los efectos prosociales del éxtasis, y probablemente también las propiedades reforzantes de esta sustancia modulando el valor incentivo del estímulo social (Thompson, Hunt, & McGregor, 2009).

Sin embargo, se han descrito también resultados opuestos a los anteriores, es decir, la reducción de las conductas de investigación social en encuentros agonísticos en ratones machos aislados, tratados con MDMA con dosis que van desde 5 a 20 mg/kg (Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 1999) y en ratones aislados de perfil tímido-agresivo (2.5, 10, 30 mg/kg) (Machalova et al., 2012). Además, ratones adolescentes tratados con una dosis alta de éxtasis (20 mg/kg) reducen la conducta social de forma



significativa, a diferencia de los resultados obtenidos con dosis bajas (Daza-Losada et al., 2009). En este mismo sentido, también se ha observado una reducción de la interacción social en ratas adultas tratadas con con una dosis aguda de 5 mg/kg de MDMA Y en ratas adolescentes, el pretratamiento subcrónico (5 mg/kg, cuatro veces durante dos días, 8 semanas antes de la prueba) produjo la disminución de la conducta de investigación social (Bull, Hutson, & Fone, 2004).-Resulta probable que en muchos de estos estudios, tanto el contexto social cuya importancia se ha señalado anteriormente, como el uso de una dosis excesiva de MDMA, hayan sido factores claves en la obtención de este nivel bajo de interacción. Así, algunos estudios han descrito que el tratamiento con dosis altas y/o subcrónica de MDMA en ratas produce una reducción duradera del nivel de interacción social con una atenuación de los efectos prosociales de esta sustancia (Andó et al., 2006; Thompson, Callaghan, Hunt, & McGregor, 2008), algo que también se ha observado en conductas de juego social en ratas adolescentes (Homberg, Schiepers, Schoffelmeer, Cuppen, & Vanderschuren, 2007).

#### *b) Efectos sobre la conducta agonística agresiva*

Existen evidencias de que la administración aguda MDMA produce una disminución de la conducta agresiva (amenaza y ataque) sin incremento de la inmovilidad en roedores. Como así indican diversos estudios en ratones machos adultos en un amplio rango de dosis: 3, 6, 10 mg/kg de MDMA en el test residente-intruso (Miczek & Haney, 1994), 5-20 mg/kg (Navarro & Maldonado, 1999) y 8-15 mg/kg de MDMA (Maldonado & Navarro, 2001b) en el modelo de agresión inducida por aislamiento, así como tras la administración de 2.5 mg/kg de MDMA en ratones machos de perfil agresivo elevado sometidos al test de interacción social (Machalova et al., 2012). Por otra parte, también hay constancia de una disminución de las conductas agresivas en ratas tras la administración aguda de MDMA con dosis de 1.25-5 mg/kg (Morley & McGregor, 2000) y 15 mg/kg (Andó et al., 2006; Kirilly et al., 2006; Kirilly, 2010). Tras la administración subcrónica e intermitente de MDMA en ratones durante una semana, no se aprecian efectos de tolerancia o sensibilización a los efectos antiagresivos de esta droga (Navarro & Maldonado, 2004). Esta ausencia de tolerancia del MDMA, contrasta con la tolerancia descrita tras la administración subcrónica de d-anfetamina (Moro, Salvador, & Simon, 1997), un compuesto estructuralmente similar al MDMA.

El análisis temporal del encuentro agonístico entre ratones, indica que el MDMA (3 mg/kg) disminuye rápidamente la frecuencia de ataques desde el primer minuto y de

forma más pronunciada durante el resto de la prueba (5 min. en total) (Miczek & Haney, 1994). Con dosis menores, aunque no sea tan evidente la reducción de ataques, se observa una cierta desestructuración del patrón temporal, con una mayor proporción de ataques en los minutos finales de la prueba y un aumento del tiempo entre los mismos, es decir, disminuye el número de intervalos cortos entre ataques (Maldonado, 2000), al contrario que el estimulante d-anfetamina que lo incrementa (Moro et al., 1997).

Es preciso aclarar, que el MDMA produce un aumento de la *actividad locomotora* en modelos animales de agresión, por lo que parece ser que la reducción de conductas agonísticas agresivas no se debe a problemas de inmovilidad en los sujetos (Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 1999). En modelos animales de campo abierto y laberinto elevado en cruz, se ha observado un aumento dosis dependiente de la actividad locomotora en ratones adultos y adolescentes (Daza-Losada et al., 2009; Ferraz De Paula et al., 2011; Rodriguez-Arias et al., 2011), así como en ratas (Gurtman et al., 2002; Kirilly, 2010; Morley, Gallate, Hunt, Mallet, & McGregor, 2001; Walker et al., 2007). En particular, esta droga produce un notable incremento locomotor en ratas hembras, parece ser que por su posible interacción con los estrógenos (Palenicek, Votava, Bubenikova, & Horacek, 2005; Vidal, Perez-Padilla, & Pellon, 2013; Zhou, Cunningham, & Thomas, 2003), y se ha observado que sustancias como el alcohol potencian este efecto motor (Hamida et al., 2006).

Los correlatos neuronales, indican que el MDMA es un potente agonista monoaminérgico, que actúa liberando estos neurotransmisores por su interacción con los transportadores de monoaminas. Se ha comprobado que el bloqueo de estos transportadores previo a la administración de MDMA impide eficazmente la reducción de la conducta agresiva que produce esta sustancia a corto plazo (Piper, Fraiman, Owens, Ali, & Meyer, 2008). Sin embargo, el consumo de MDMA a largo plazo produce una depleción de los niveles monoaminérgicos (serotonina y noradrenalina) tanto en pretratamientos agudos (Clemens et al., 2004), como en subcrónicos (Mayerhofer, Kovar, & Schmidt, 2001; Miller, Lau, & Monks, 1996), lo que resulta congruente con el incremento de conductas agresivas observados en diversos estudios a largo plazo (Andó et al., 2006; Andó et al., 2010; Wallinga, ten Voorde, de Boer, Koolhaas, & Buwalda, 2009).

Los efectos del MDMA a medio-largo plazo sobre la agresión, no parecen ser los mismos evaluados a corto plazo, como sugieren algunos estudios sobre las consecuencias de la preposición al MDMA en ratas. Así, la administración aguda de MDMA (15 mg/kg) en ratas ya pretratadas (21 días antes) produce una marcada reducción de la agresión, mientras que en ratas solo prepuestas al MDMA se observa una conducta agresiva global tan elevada como la del grupo control, destacando incluso una mayor incidencia de patadas que éste (Kirilly et al., 2006; Kirilly, 2010). En otros estudios, el pretratamiento con MDMA produce una facilitación de la conducta agresiva que llega a ser más evidente. En el trabajo de Ando et al. (2006), el pretratamiento de MDMA con las mismas condiciones (15 mg/kg, 21 días antes del test), produjo un aumento de la agresión, actividad exploratoria y una desinhibición conductual similar a la agitación psicomotora. Asimismo, este mismo equipo observó que el pretratamiento con éxtasis puede alterar el efecto antiagresivo del agonista serotoninérgico fluoxetina (ISRS), provocando un aumento de las conductas agresivas (Andó et al., 2010). En un estudio reciente, Rodríguez et al. (2015), hallaron un curioso perfil proagresivo junto con un aumento de la investigación social, en ratones adolescentes pretratados con MDMA (20 mg/kg; 21 días antes). Por lo que, en conjunto parece ser que una sola dosis de MDMA puede causar cambios notables en la conducta agonística a largo plazo que apuntan a una cierta facilitación de la conducta agresiva en ratones machos tanto adultos como adolescentes.

Por otra parte, hay estudios que parecen indicar que no hay una correspondencia tan clara entre el daño neurotóxico a largo plazo de la administración de MDMA y su efecto conductual sobre la agresión. Así, Kirilly et al. (2010) hallaron una serie de efectos neurotóxicos en las semanas 1 y 3 tras la administración de MDMA, tales como la reducción de la densidad SERT del 20-40% en la mayoría de las áreas cerebrales (días 7 y 21) y una curva en la expresión de ARNm SERT en el núcleo del rafe (aumenta el día 7 y disminuye a los 21 días), mientras que la conducta agresiva global permanecía inalterada después de tres semanas de una administración aguda de éxtasis. Por otra parte, Ando et al. (2010) exponen que seis meses después del daño inducido por MDMA, los axones serotoninérgicos que habían sido reducidos (pérdida del 30-60%) muestran una recuperación en la mayoría de las áreas (con excepción del hipocampo y el tálamo ventromedial), sin embargo las conductas de ansiedad y la agresión permanecen alteradas. Además, otros estudios en ratas y ratones parecen indicar que tanto las diferencias a largo plazo en la depleción monoaminérgica, como la expresión conductual proagresiva están

---

a su vez relacionadas con características individuales rasgo, proponiendo que la agresividad rasgo puede constituir un factor de vulnerabilidad más relevante que la propia neurotoxicidad inducida por la droga (Wallinga et al., 2009; Wallinga, de Boer, Granneman, Koolhaas, & Buwalda, 2009). Por lo que, existen evidencias que indican que el MDMA, como otros derivados de las anfetaminas, produce una depleción de neurotransmisores monoaminérgicos. Sin embargo, no resulta posible establecer una relación directa entre este daño neurotóxico que conocemos y el efecto del MDMA sobre la conducta agresiva a largo plazo.

*c) Efectos sobre la conducta agonística defensiva*

En estudios que abarcan una evaluación completa de la conducta agonística exhibida por ratones machos en el test de interacción social, coinciden en que de forma paralela a la disminución de la agresión, la administración de MDMA (5-20 mg/kg) produce a corto plazo un aumento de conductas de evitación/huida (Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 1999; Navarro et al., 2004) y defensa/sumisión (Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 1999), sin que se aprecien variaciones significativas en dosis menores. En un estudio realizado en ratones en edad adolescente, se registró un incremento de conductas defensivas, pero no de evitación/huida (Daza-Losada et al., 2009). Por otra parte, también hay evidencias de un aumento de conductas de exploración a distancia (1-20 mg/kg de MDMA) y de una reducción de las conductas de cuidado corporal con diversas dosis (2.5, 8, 15, 20 mg/kg de MDMA) en ratones (Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 1999), así como una reducción de cuidado corporal en ratas (Kirilly, 2010). Estos datos sugieren que el MDMA parece tener un perfil ansiogénico en ratones machos.

En conjunto, la administración aguda de MDMA en modelos de agresión en roedores produce a corto plazo un perfil etofarmacológico complejo, que se caracteriza por una reducción de las conductas ofensivas sin que se aprecie afectación motora, el aumento de las conductas defensivas y de evitación, así como variaciones en la investigación social, cuidado corporal y conductas exploratorias, lo que sugiere un perfil antiagresivo inespecífico y ansiogénico. En general, se ha señalado que la disminución de conductas relacionadas con la agresión junto con el incremento de las conductas de investigación social que se observan en algunos estudios, está en consonancia con el carácter entactógeno y prosocial de esta sustancia observada en

humanos (Nichols, 1986). Asimismo, se ha comprobado que la administración subcrónica o intermitente de MDMA en ratones, produce los mismos efectos agudos sin que se aprecie tolerancia ni sensibilización al fármaco. A largo plazo, esta sustancia puede llegar a producir un efecto facilitador de la conducta agresiva, lo que se ha relacionado con la neurotoxicidad inducida por este compuesto, pero también con factores interindividuales como el rasgo de agresividad del sujeto.

#### 2.4.2. Efectos del MDMA sobre la conducta relacionada con la ansiedad

El estudio de los efectos conductuales del MDMA sobre la ansiedad es uno de los aspectos más controvertidos en relación a esta sustancia. Hasta la fecha, se han aportado evidencias experimentales en modelos animales que apoyan tanto la posibilidad de que el MDMA provoque efectos ansiogénicos como efectos ansiolíticos, las cuales se analizan en este apartado.

##### a) Efectos ansiolíticos

Una de las aproximaciones experimentales que apoya la hipótesis de que el MDMA puede producir un efecto ansiolítico, proviene de trabajos que documentan las propiedades reforzantes de esta sustancia en paradigmas como el de Test de preferencia condicionada de lugar (TPCL) (Daza-Losada et al., 2007; Feduccia & Duvauchelle, 2008; Marona-Lewicka et al., 1996; Ribeiro Do Couto et al., 2012; Rodríguez-Arias et al., 2015) y el de “Autoestimulación Eléctrica Intracraneal” (AEIC) (Hubner, Bird, Rassnick, & Kornetsky, 1988). A nivel neuroquímico, esta propiedad como reforzador parece que podría relacionarse con la capacidad del MDMA para aumentar la liberación de dopamina de modo indirecto (Feduccia & Duvauchelle, 2008; Roger-Sanchez, Rodríguez-Arias, Minarro, & Aguilar, 2013; Roger-Sánchez, Rodríguez-Arias, Miñarro, & Aguilar, 2013; Vidal-Infer et al., 2012), con el incremento de la actividad de los autorreceptores serotoninérgicos (McDevitt & Neumaier, 2011), así como de la activación de receptores opioides (Bilsky, Hubbell, Delconte, & Reid, 1991; Reid, Hubbell, Tsai, Fishkin, & Amendola, 1996) y cannabinoides (Rodríguez-Arias et al., 2013).

En estudios con modelos animales específicos de ansiedad, las primeras referencias sobre las propiedades ansiolíticas del MDMA provienen del “*Test de vocalizaciones ultrasónicas inducidas por separación de la madre*” (USVs), en el que se evalúa una de las conductas sociales más tempranas e importantes de los roedores. Las crías de rata emiten vocalizaciones ultrasónicas (30-70 kHz) para reclamar la atención maternal, una

conducta que se limita aproximadamente a los primeros quince días de vida. Winslow e Insel (1990) comprobaron que la administración aguda de MDMA (0.5, 10 mg/kg) en crías aisladas, produce una potente disminución de llamadas a la madre a corto plazo (90% durante 3 horas) que indica un posible efecto ansiolítico. No obstante, la dosis mayor produce un aumento rebote de vocalizaciones pocas horas más tarde (10-24 horas); mientras que la administración subcrónica de MDMA (10 mg/kg durante 4 días) parece que reduce la conducta de llamada de las crías de forma muy potente y consistente. Por otra parte, la administración de MDMA (5 mg/kg) en ratas adultas es capaz de reducir las vocalizaciones inducidas por un estímulo aversivo como pequeñas descargas eléctricas en patas, de forma muy similar a lo expuesto anteriormente sobre las crías aisladas (Morley & McGregor, 2000). En otras investigaciones en roedores adultos, el MDMA (2.5-10 mg/kg) sólo parece modificar algunas de las características acústicas de las vocalizaciones pero no su frecuencia, lo que junto al aumento de la locomoción y del tiempo en el centro de la jaula también sugiere un cierto perfil ansiolítico, diferenciado del incremento de vocalizaciones que produce la d-anfetamina (Sadananda, Natusch, Karrenbauer, & Schwarting, 2012; Simola et al., 2012; Simola, Frau, Plumitallo, & Morelli, 2014). En conjunto, estos trabajos parecen indicar que en situaciones aversivas el MDMA puede tener ciertos efectos ansiolíticos en ratas recién nacidas y adultas. No obstante, el estudio de la ansiedad en roedores adultos suele abordarse desde otros modelos conductuales, desde los que tan solo hay algunos hallazgos que parecen apoyar la hipótesis de un posible efecto ansiolítico del éxtasis.

En el modelo de ansiedad del “Laberinto elevado en cruz” (*Elevated plus maze*, EPM test), se considera que el incremento de tiempo en los brazos abiertos del laberinto junto con el aumento de conductas de riesgo y la reducción de la estancia en las áreas protegidas, son medidas que indican un posible perfil ansiolítico en el sujeto. Mientras que los parámetros que indican un posible perfil ansiolítico en el modelo del “Campo abierto” (*Open-field*, OF test), son el aumento de la locomoción horizontal, de la exploración (olisqueo y exploración vertical “rear”) y sobre todo el incremento de cruces o permanencia en el área central de la jaula. Conforme a lo expuesto, se ha observado que la administración aguda en ratones adultos de una dosis elevada de MDMA (20 mg/kg), produce un aumento de los parámetros evaluados en los brazos abiertos del test EPM, sin embargo, con una dosis inferior (4 mg/kg) se distingue un perfil conductual opuesto (Lin, Burden, Christie, & Johnston, 1999). También hay evidencias de que la administración

subcrónica de una dosis elevada de MDMA (15 mg/kg) puede tener efectos ansiolíticos sobre la conducta del ratón evaluada en el test EPM, sin embargo el tratamiento subcrónico o agudo con una dosis inferior (8 mg/kg) parece inducir de nuevo un perfil conductual muy diferente (Navarro & Maldonado, 2002). En otro estudio, la administración intermitente de MDMA, imitando el tipo de consumo humano, también parece inducir un efecto ansiolítico en el ratón en las pruebas EPM y OF tras la primera sesión de dosis, no obstante en sesiones posteriores se desarrolla tolerancia a los efectos conductuales evaluados en el test EPM (Kindlundh-Högberg, Zhang, & Svenningsson, 2009). En la misma línea, en ratas tratadas con una dosis elevada de MDMA (15 mg/kg) se ha hallado un incremento de tiempo en los brazos abiertos del EPM test, mientras que una dosis menor (7 mg/kg) produce una tendencia conductual opuesta (Ho, Pawlak, Guo, & Schwarting, 2004).

Actualmente se desconoce a qué puede deberse este tipo de resultados mixtos y dependiente de la dosis de MDMA, en modelos de ansiedad incondicionada basada en la exploración. En principio, se ha investigado la posibilidad de que el MDMA altere otros constructos como la impulsividad que puedan mediar o interferir en las respuestas conductuales de ansiedad. Pero en este sentido, hay evidencias de que a pesar de la neurotoxicidad serotoninérgica, el MDMA no altera la conducta impulsiva de la rata, con lo que resulta poco probable que constituya un factor mediador de las conductas ansiolíticas/ansiógenicas inducidas por el MDMA (Saadat, Elliott, Colado, & Gree, 2006).

Otra cuestión que se ha investigado es la posibilidad de que los efectos del MDMA sobre la ansiedad de los roedores dependan de factores individuales de los sujetos, como por ejemplo el género o el nivel de ansiedad rasgo alto "HA" o bajo "LA" que exhiben los sujetos en un pretest EPM. De esta forma, el nivel de ansiedad rasgo de las ratas no parece ser un factor relevante en el estudio de Ho et al. (2004). Mientras que en otro trabajo con el mismo modelo conductual, sólo se observan los efectos ansiolíticos del MDMA (5 mg/kg) en ratas LA, independientemente de que la administración fuera aguda o subcrónica (Ludwig, Mihov, & Schwarting, 2008). Por otra parte, tanto las ratas hembras como machos tratadas con una dosis de 10 mg/kg MDMA aumentan el tiempo de permanencia en los espacios desprotegidos del EMP test, mientras que no se observan diferencias respecto al control con dosis menores (2.5, 5 mg/kg de MDMA), por lo que, aunque se detecta una mayor locomoción en ratas hembra, el género no parece ser un

factor determinante en las diferencias halladas en el EPM (Palenicek et al., 2005). Por otra parte, en ratones tratados con 10 mg/kg de MDMA también se observa un aumento del tiempo en los brazos abiertos del EPM test y otros parámetros que correlacionan con un efecto ansiolítico en el test del campo abierto (Ferraz De Paula et al., 2011); sin embargo, estos autores concluyen que el MDMA parece tener un efecto más bien ansiogénico tras analizar otros tet conductuales y diversos correlatos fisiológicos.

En conjunto, este tipo de resultados mixtos y dependiente de la dosis, se pueden interpretar de dos formas muy distintas, la primera posibilidad es que el MDMA tenga un efecto bifásico sobre la ansiedad en roedores de tal forma que dosis altas reducen la ansiedad, mientras que las dosis menores parecen tener un efecto más bien ansiogénico en roedores. Una segunda explicación es que la conducta de “freezing” o respuesta de miedo extrema paralizante, podría estar enmascarando los resultados del test EPM en aquellos animales que acumulasen tiempo en los brazos abiertos del laberinto por miedo a moverse en un contexto aversivo, por lo que en este caso el MDMA estaría induciendo con dosis elevadas un estado ansiogénico considerable y no fácilmente detectable en dosis elevadas de MDMA (Maldonado, 2000; Steimer, 2002).

#### *b) Efectos ansiogénicos*

Aunque hay algunos estudios que sugieren que el MDMA reduce la conducta de ansiedad en roedores, hay evidencias más numerosas y consistentes de que esta sustancia parece producir un perfil completamente opuesto. Una de las aproximaciones experimentales que apoyan la hipótesis de que el MDMA induce un estado ansiogénico, proviene de trabajos que documentan un aumento general de la locomoción junto con una reducción de conductas exploratorias, tales como el olisqueo (sniffing) y la exploración vertical (rearing) (Callaway et al., 1991; Callaway & Geyer, 1992; Compan, Scarce-Levie, Crosson, Daszuta, & Hen, 2003; Gold et al., 1988; Gold & Koob, 1989; Paulus & Geyer, 1991; Paulus & Geyer, 1992; Piper et al., 2008).

Otras evidencias de los efectos ansiogénicos del MDMA en roedores, provienen de trabajos que emplean el modelo de ansiedad del “Laberinto elevado en cruz”. De esta forma, hay diversos estudios en ratones que informan de las propiedades ansiogénicas del éxtasis en el laberinto elevado en cruz, con administraciones agudas de 4 mg/kg (Lin et al., 1999), 8 mg/kg (Navarro & Maldonado, 2002); así como con la administración subcrónica de MDMA (1 y 8 mg/kg; durante 5 días) (Navarro & Maldonado, 2002).



También hay pruebas de los efectos ansiogénicos de esta sustancia en ratas expuestas al test EPM. Por ejemplo, Bhattacharya et al. (1998), indicaron que las ratas tratadas con MDMA (5, 10 mg/kg) presentaban una conducta en el test EPM, muy similar a la que produce la Yohimbina, un conocido compuesto ansiogénico. En la misma línea, Morley & McGregor (2000), demostraron que la administración aguda de MDMA (1.25-5 mg/kg) produce un efecto ansiogénico en la rata, de forma similar, a los resultados obtenidos más tarde con una dosis de 7 mg/kg de MDMA en ratas (Ho et al., 2004), y también de forma semejante al efecto ansiogénico que produjo la administración aguda de tres dosis de 10 mg/kg de MDMA en 6 horas (Sumnall, O'Shea, Marsden, & Cole, 2004a). Asimismo hay constancia de que la administración subcrónica de MDMA (1.25, 2.5 y 5 mg/kg/día, durante una semana), especialmente la dosis intermedia, induce un estado ansiogénico en la rata evaluada en el test EPM (Jahanshahi, Nikmahzar, Babakordi, Khosravi, & Seid-Hosseini, 2013).

En el test del “Campo Abierto”, un modelo conductual para la evaluación de la ansiedad de tipo exploratorio, la reducción de los cruces por el centro de la arena y de la exploración vertical (*rearing*), así como el aumento de las defecaciones o de la inmovilidad, son parámetros que indican un perfil ansiogénico en ratas adultas tratadas con 5 o 10 mg/kg de MDMA (Bhattacharya et al., 1998). En otras pruebas exploratorias, como el “Test de preferencia Luz/Oscuridad”, la reducción de la exploración vertical y de transiciones hacia el área luminosa, indican igualmente un perfil ansiogénico en ratones con MDMA (8 y 15 mg/kg) (Maldonado, 2000) y en ratas adolescentes (Kolyaduke & Hughes, 2013). En la misma línea, la reducción de la exploración de los agujeros “*head-dipping*” y de zonas elevadas “*rearing*” en el test “Hole-Board”, también corrobora los efectos ansiogénicos del MDMA (10 mg/kg) en ratones y ratas (Ferraz De Paula et al., 2011; Piper et al., 2008). En el test de emergencia, el incremento de la latencia de salida y del tiempo que permanece oculto el animal, así como la reducción del número de salidas, son también indicadores de un aumento de ansiedad en ratas tratadas con éxtasis (Clemens et al., 2004; Morley & McGregor, 2000; Morley et al., 2001; Morley et al., 2005).

Otra prueba muy usada en baterías para evaluar la ansiedad, es el “Test de interacción social” entre dos roedores, generalmente en un contexto no familiar. En este modelo se recogen determinadas conductas sociales como el *sniffing* (olfateo), *grooming* (aseo), *following* (seguimiento), *kicking* (golpeo), *boxing*, *wrestling* (lucha), *jumping on* (salto),

*crawling* (echarse sobre el congénere) y *adjacent lying* (tumbarse junto al congénere), que pueden inhibirse cuando se incrementa la ansiedad. Además, como se ha visto en el apartado anterior, la evaluación etológica completa en el modelo de agresión inducida por aislamiento también es sensible a la alteración de las conductas de ansiedad. En esta línea basada en la evaluación de la interacción social, los trabajos realizados con ratones machos indican que la administración de 5-20 mg/kg de MDMA parece incrementar la ansiedad de los sujetos (Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 1999; Navarro et al., 2004). Lo que también se ha observado en tratamientos agudos en ratas (5 y 10 mg/kg de MDMA) (Bhattacharya et al., 1998) y después de diferentes pretratamientos subcrónicos en sujetos adultos y preadolescentes (5 mg/kg de MDMA durante dos días, entre 6-12 semanas antes del test) (Bull et al., 2004; Gurtman et al., 2002; Morley et al., 2001).

Por último, en el modelo de “Evitación del olor aversivo”, un modelo de ansiedad basado en la exposición a un predador potencial, se ha demostrado que la administración de MDMA en ratas y ratones (5 y 10 mg/kg, respectivamente) es capaz de incrementar la ansiedad provocando una mayor evitación de la zona aversiva y la reducción de las conductas de riesgo (Ferraz De Paula et al., 2011; Morley & McGregor, 2000).

### c) Efectos a largo plazo sobre la ansiedad

Existe también una falta de concordancia respecto a los efectos a largo plazo del MDMA sobre las conductas relacionadas con la ansiedad de los roedores. En ratas adultas, la administración subcrónica moderada o elevada de MDMA puede incrementar el nivel de ansiedad<sup>9</sup> a largo plazo (de 2 semanas a 3 meses) (Gurtman et al., 2002; Morley et al., 2001), sin que se aprecien diferencias entre ambos sexos (Walker et al., 2007). Por otra parte, también hay evidencias de que la administración aguda de MDMA puede producir un perfil ansiogénico a medio-largo plazo en ratas (Cunningham, Raudensky, Tonkiss, & Yamamoto, 2009), sin embargo, en otro estudio se describe un efecto

---

Tipo de administración de MDMA aguda (A), subcrónica (S), intermitente (I) y test conductual:

<sup>9</sup> Gurtman (2002): 5 mg/kg en ratas; (S): 4 dosis al día durante 2 días. Test EPM 9 semanas después.

Walker (2007): 15 mg/kg en ratas de ambos sexos; (S): 2 dosis al día durante 4 días. Test EPM 2 semanas.

Morley (2001): 5 mg/kg en ratas; (S) régimen alto: 4 dosis al día durante dos días; régimen moderado: 1 dosis al día durante dos días. Test EPM tres meses más tarde.

Cunningham (2009): 7.5 mg/kg en ratas. (A). Test EPM 21 días después.

ansiolítico<sup>10</sup> a largo plazo (Mechan et al., 2002b). Contrariamente a estas dos perspectivas, también hay constancia de que la administración de MDMA (generalmente aguda) no altera la ansiedad de las ratas a largo plazo<sup>11</sup> (Cassel et al., 2005; Ho et al., 2004; Mechan et al., 2002b; Sumnall, O'Shea, Marsden, & Cole, 2004b).

En la última década, la atención se ha centrado también en los efectos a largo plazo del MDMA sobre la ansiedad de sujetos adolescentes, intentando simular en animales el consumo de fin de semana humano, mediante diversos patrones administración agudo, subcrónico y también intermitente. De esta forma, hay estudios que muestran que en roedores adolescentes, el MDMA puede producir un efecto ansiogénico<sup>12</sup> a largo plazo independientemente de que la administración sea aguda (Faria et al., 2006), subcrónica (Bull et al., 2004; Kolyaduke & Hughes, 2013), o intermitente (Rodríguez-Arias et al., 2011). Por otra parte, otros trabajos parecen indicar de forma opuesta, que una pauta de administración intermitente (Kindlundh-Högberg, Schiöth, & Svenningsson, 2007) o subcrónica de MDMA (Piper & Meyer, 2004), genera un estado ansiolítico<sup>13</sup> en roedores adolescentes. Mientras que muchos otros autores no hallan alteraciones en el nivel de ansiedad<sup>14</sup> tras la administración aguda o intermitente de MDMA (Kindlundh-Högberg et al., 2007), o incluso subcrónica en roedores adolescentes (Daza-Losada, Rodríguez-Arias, Maldonado, Aguilar, & Minarro, 2008; Piper, Fraiman, & Meyer, 2005).

Los diferentes resultados obtenidos probablemente se deban a diferencias metodológicas, incluyendo test conductuales, dosis y regímenes de administración del MDMA, como puede apreciarse en el detalle del pie de página. En un estudio reciente, se ha observado un efecto conductual ansiolítico del MDMA tan sólo en ratones que presentan un perfil bajo de búsqueda de novedad, por lo que el efecto del MDMA a largo

---

<sup>10</sup> Mechan (2002): 12.5 mg/kg en ratas, (A). Test O.F. 80 días después.

<sup>11</sup> Mechan (2002): 12.5 mg/kg en ratas, (A). Test O.F. 8 ó 29 días después.

Ho, Y.J (2004): 7.5 mg/kg en ratas, (A), Test EPM 12 días después.

Sumnall (2004): 10 mg/kg en ratas, (A): 3 dosis en 6 horas. Test EPM 14 días después

Cassel (2005): 10 mg/kg en ratas, (S): 1 dosis al día durante 4 días. Test EMP test 19 días después

<sup>12</sup> Faria (2006): 10m/kg en ratas, (A): 3 dosis en 6 horas. Test EPM 10 días después.

Bull (2004): 5 mg/kg en ratas, (S): 4 dosis en 4 horas, durante 2 días. Test de interacción social 55 días.

Rodríguez-Arias (2011): 20 mg/kg en ratones, (I): 8 dosis en 2 semanas (2 dosis/ días 1, 2, 9 y 10).Test EPM.

Kolyaduke (2013): 10 mg/kg en ratas, (S): 1 dosis durante 10 días. Test OF.

<sup>13</sup> Kindlundh (2007): 5 mg/kg en ratas, (I): 12 dosis en un mes (3 dosis/ días 1, 8, 15 y 22). Test O.F.

Piper (2004): 10 mg/kg en ratas, (S): 2 dosis al día durante 5 días. Test EPM.

<sup>14</sup> Kindlundh (2007): 5 mg/kg en ratones, (A): 3 dosis en nueve horas. Test O.F.

Daza-Losada (2009): 5, 10 ó 20 mg/kg en ratones, (S): 2 dosis al día durante tres días, EPM test.

plazo sobre la ansiedad podría depender además de variables individuales como el nivel de búsqueda de novedad previo del sujeto (Rodríguez-Arias et al., 2015).

Por último, los correlatos neuronales indican que la administración de MDMA en roedores, aumenta la actividad c-Fos en la amígdala central y basolateral (Navarro et al., 2004), una región íntimamente ligada al procesamiento del miedo y la ansiedad. Además, el MDMA produce a largo plazo una depleción serotoninérgica que se observa también en áreas como la amígdala, hipocampo y estriado (Cunningham et al., 2009; Gurtman et al., 2002; McGregor et al., 2003; Walker et al., 2007), acompañada de una menor densidad de astrocitos en el hipocampo (Jahanshahi et al., 2013), así como de un incremento del nivel de dopamina estriatal y del nivel de corticosterona (Ferraz De Paula et al., 2011). Por lo que, en conjunto los correlatos neuronales que se han realizado en diversos estudios conductuales de la ansiedad a corto y largo plazo, parecen ser congruentes con la hipótesis de que el MDMA incrementa el nivel de ansiedad de los sujetos.

### **3. AGRESIÓN Y ANSIEDAD**



### 3. PSICOBIOLOGÍA DE LA AGRESIÓN Y LA ANSIEDAD

La ansiedad y la agresión se consideran emociones universales íntimamente ligadas a los recursos de supervivencia del individuo, cuyos orígenes filogenéticos se remontan a los del propio reino animal. Actualmente, cuando hablamos de emoción nos referimos a una respuesta compleja con tres componentes: cognitivo, fisiológico y conductual. Es decir, el complicado mundo de las emociones incluye una amplia gama de sentimientos y cogniciones privadas o subjetivas (durante bastante tiempo considerados como propios del ser humano); pero también implica cambios en el estado corporal (arousal fisiológico) y una gran variedad de respuestas conductuales que nos permiten examinar la emociones de una forma objetiva tanto en animales no humanos como seres humanos (Steimer, 2002).

Al profundizar en el concepto de ansiedad y agresión, nos percatamos de las dificultades para definir estas emociones con exactitud y de forma unitaria. La investigación de estos estados emocionales ha dado lugar a diversas definiciones y tipologías, quizá una de las cuestiones más interesante al respecto sea la propia diferenciación entre procesos emocionales normales y patológicos. Actualmente, desde un punto de vista clínico supone un reto encontrar un modelo teórico comprensivo que permita conectar el estudio los procesos emocionales y afectivos normales con el de las experiencias emocionales patológicas. Además, en esta línea, la alteración de la ansiedad y la agresión son un tema de gran actualidad debido en parte a su estrecha asociación con el consumo de drogas psicoactivas (Johansen & Krebs, 2009; Kamilar-Britt & Bedi, 2015; Rugani et al., 2012), así como también por su implicación en el estudio de los trastornos neuropsiquiátricos (Arregi, Azpiroz, Fano, & Garmendia, 2006).

En el presente capítulo presentamos una aproximación a los conceptos, tipologías, modelos animales y mecanismos biológicos implicados en la ansiedad y la agresión.

#### 3.1. Conceptos generales

##### 3.1.1. El concepto de ansiedad en psicología

El concepto de ansiedad, cuyo término proviene de latín “*anxietas*” (ansiedad, angustia), está relacionado en el vocabulario actual con una amplia variedad de términos, tales como angustia, tensión, estrés, intranquilidad, temor, miedo, pánico o frustración, entre otros, que poseen pequeñas variantes y matices. De esta forma, los términos de

*tensión* y *estrés* parecen tener más relación con la activación somática que caracteriza a la ansiedad (Ansorena Cao, Cobo Reinoso, & Romero Cagigal, 1983); mientras que desde un punto de vista etológico, el término *miedo* parece enfatizar aspectos motores y la activación de conductas defensivas o de evitación/huida ante amenazas muy concretas y puntuales (Steimer, 2002). Particularmente el concepto de miedo se ha presentado como un concepto casi indistinguible de la ansiedad; sin embargo, autores como Barlow (2000) argumentan que existen diferencias apreciables, pues aunque ambos constituyan señales de alerta, la ansiedad parece caracterizarse por ser más una respuesta generalizada ante una amenaza desconocida/futura o por un conflicto motivacional interno, mientras que el miedo se caracteriza por la existencia de un peligro objetivo, externo, conocido e inminente (Steimer, 2002). Esta diversidad terminológica, que puede llegar a inducir equívocos, es en parte reflejo de que la ansiedad es una respuesta emocional normal pero compleja y ampliamente aceptada en el lenguaje cotidiano.

Los orígenes del concepto de ansiedad en el campo de la psicología se remontan al siglo XIX, cuando el filósofo existencialista Kierkegaard, considerado padre de la psicología humanista, publica su obra “*El concepto de angustia*” en 1844. Sin embargo, no es hasta principios del siglo XX, que el concepto de ansiedad se incorpora al ámbito de la psicología gracias a la obra de S. Freud “*Inhibición, síntoma y ansiedad*” en 1926; no obstante, desde el enfoque psicodinámico el significado de este término va modificándose con bastante ambigüedad (Ansorena Cao et al., 1983; Endler & Kocovski, 2001).

Desde el ámbito de la Psicología, casi todas las escuelas tanto clínicas como experimentales, han intentado dar una explicación al complejo fenómeno de la ansiedad (Ansorena Cao et al., 1983; Endler & Kocovski, 2001; Tone, 2005). De esta forma, Watson y el conductismo clásico utilizan preferentemente los términos de “*miedo*” y “*temor*”, entendiéndolos como una respuesta conductual y fisiológica del sujeto ante una estimulación externa. En la década de los veinte, desde un *enfoque experimental-conductista* surgen los primeros intentos de explicar la ansiedad como una respuesta condicionada siguiendo los principios del condicionamiento clásico (Watson y Rainer, Paulov, Lidell, Grant y Cook), o bien de procedimientos de condicionamiento instrumental (Massermen, Cain, Maier y Wolpe) (Ansorena Cao et al., 1983).

Por otra parte, Hull desde un *enfoque experimental-motivacional* desarrolla una de las primeras teorías del aprendizaje, influyendo en autores como Mowrer, Dollard y Miller.



Según la teoría motivacional de Hull (1920, 1943, 1952) la ansiedad se explica como el grado de excitación general del sujeto o “drive motivacional” que determina el nivel de ejecución (respuesta) ante una tarea o situación determinada. A partir de esta ebullición experimental, Mowrer (1939, 1950, 1960) unifica y formula su teoría de los dos procesos, ofreciendo una visión más completa de la ansiedad como conducta aprendida por medio de condicionamiento clásico; pero también como motivación para el aprendizaje de conductas por ensayo/error, que también puede reducirse mediante procedimientos instrumentales de evitación basados en el reforzamiento negativo. Por su parte, el trabajo de Dollard y Millner se centra en la intervención terapéutica por medio de las técnicas de reducción del “drive” (Ansorena Cao et al., 1983). En conjunto, el enfoque conductista ha contribuido a delimitar el constructo de ansiedad al considerarla como un estado o una respuesta emocional transitoria, y a operativizarlo en función de sus antecedentes (estímulos) y consecuentes (respuestas), explicando su adquisición y extinción mediante procedimientos de aprendizaje, pero a su vez descuidando elementos cognitivos.

A partir de los años sesenta, se empieza a conformar el *enfoque cognitivo-conductual*. Surge la *teoría internalista de los rasgos de personalidad* y las nuevas técnicas psicométricas de análisis factorial, en las cuales se apoyará una nueva perspectiva del estudio de la ansiedad como rasgo de personalidad. Raimond Cattell y Scheier (1961) realizan el primer intento psicométrico de medir el constructo de ansiedad mediante su cuestionario de personalidad “16-PF” y formularon la primera *teoría de ansiedad estado-rasgo*. Según esta teoría, la *ansiedad-estado*, hace referencia al estado emocional transitorio que manifiesta un individuo ante una situación de estrés determinada que percibe como amenazante; mientras que la *ansiedad-rasgo* es una característica persistente y duradera del individuo que indica una predisposición a percibir situaciones como peligrosas o amenazantes y responder a estas con ansiedad, por lo que se refiere a una forma de interacción con el ambiente (Ansorena Cao et al., 1983).

Posteriormente y en respuesta a esta disyuntiva teórica (internalistas vs. situacionistas), surge la *teoría interaccionista* de la ansiedad “persona x situación” propuesto por Engel y Hunt (1969), según la cual la interacción de la persona con la situación ansiógena explica una mayor parte de la varianza total de la ansiedad que la situación en sí o las diferencias individuales. En la actualidad, es usual la distinción entre los conceptos de ansiedad-estado y ansiedad-rasgo, diversas investigaciones parecen indicar que existen cambios microestructurales morfológicos y neuroquímicos asociados

a la ansiedad rasgo (Baur, Hänggi, & Jäncke, 2012; Baur, Hänggi, Langer, & Jäncke, 2013; Bishop, 2009; Modi et al., 2013; Westlye, Bjørnebekk, Grydeland, Fjell, & Walhovd, 2011). Además, formulaciones teóricas más recientes, como la propuesta por Sandi y Richter-Levin (2009), plantean que un nivel elevado de ansiedad rasgo constituye un factor de vulnerabilidad para desarrollar tanto trastornos de depresión como de ansiedad.

Desde el enfoque cognitivo-conductual, el estudio de la ansiedad (ya sea estado o rasgo) da un giro importante ya que se modifica su concepción unitaria por un modelo tridimensional. Desde que Lang expusiera su obra *Teoría Tridimensional de la ansiedad* (1968), se ha extendido y aceptado la idea de la ansiedad como una respuesta emocional compleja en la que interactúan tres sistemas de respuesta: cognitivo, fisiológico y motor (Ansorena Cao et al., 1983; Cano-Vindel, 2003). Este modelo tridimensional de la ansiedad concibe las medidas psicofisiológicas como una herramienta clave en el proceso y el avance científico, y ha trascendido hasta nuestros días, con importantes repercusiones en la evaluación y tratamiento de los trastornos de la ansiedad.

Por otra parte, como afirmaba Bourin, hablamos de “*trastornos de ansiedad*” cuando el miedo llega a ser más importante que la situación que lo requiere, o bien, cuando aparece en una situación inapropiada o de forma crónica (Bourin, Petit-Demoulière, Nic Dhonnchadha, & Hascöet, 2007). Las personas que sufren un trastorno de ansiedad, tienden a interpretar situaciones ambiguas y situaciones que pueden ser potencialmente peligrosas aunque no necesariamente, como una amenaza. Se considera que la respuesta de ansiedad dejaría de ser adaptativa en la medida en que existe una distorsión o sesgo sistemático en el procesamiento de la información, principalmente descrito como una sobreestimación del estímulo amenazante y una infravaloración de las propias capacidades de enfrentamiento (Sanz, 1993). En contraste con la ansiedad normal o adaptativa, los trastornos de ansiedad afectan al rendimiento de las tareas cotidianas del individuo, lo cual supone un coste elevado para la asistencia sanitaria pública (Campos, Fogaça, Aguiar, & Guimarães, 2013).

Existen dos posturas enfrentadas acerca de la relación entre los conceptos de ansiedad normal y patológica. La patología puede describirse tanto como una variación cuantitativa de un estado normal, como una variación cualitativa. De acuerdo con la primera idea, la ansiedad patológica podría considerarse como un exceso de ansiedad normal (Belzung & Griebel, 2001; Endler & Kocovski, 2001). Resulta atractivo el concepto de una progresión

gradual pero cada vez hay más evidencia de que la ansiedad no sólo varía en tiempo e intensidad, sino también de forma cualitativa desde un punto de vista neurobiológico (Sandford, Argyropoulos, & Nutt, 2000). La preocupación constante y generalizada que presenta un individuo, es diferente de la preocupación anticipada a desafíos concretos no deseados, a su vez distinta de los impredecibles, irracionales e intensos ataques de pánico.

A este respecto, Etkin (2012) señala que en los trastornos de ansiedad hay que hacer una distinción importante entre trastornos del “miedo”, que se caracterizan principalmente por una reactividad exagerada a las señales de miedo concretas (por ejemplo, el trastorno de ansiedad social “SAD”, agorafobia, o las fobias específicas), y los trastornos de “ansiedad/tristeza”, que se caracterizan por una ansiedad anticipatoria amplia que no depende de la reactividad a una señal (p.ej.; el trastorno de ansiedad generalizado “GAD”). El estrés postraumático (PTSD) parece mostrar características de ambos componentes, y trastornos tales como la depresión mayor comparten muchas características del componente ansiedad/tristeza a pesar de expresarse más como una alteración del estado de ánimo. Por su parte, el trastorno obsesivo compulsivo (TOC) ha sido apartado de esta discusión ya que los estudios de neuroimagen han mostrado que los circuitos implicados son distintos de los que afectan a otros trastornos de ansiedad. Las diferencias fenomenológicas indicadas anteriormente, en cierta medida deben estar respaldadas por diferentes cambios fisiológicos, marcadores biológicos y respuestas farmacológicas, por lo que según Tortella (2014), sería deseable que las clasificaciones diagnósticas vigentes, DSM de la Asociación Americana de Psiquiatría (APA) y CIE de la Organización Mundial de Salud (OMS), fundamentadas en la fenomenología (intensidad, duración, calidad e historial) de los síntomas de ansiedad, avancen cada vez más hacia una nosología basada en criterios etiológicos y patofisiológicos (marcadores genéticos, fisiológicos y respuestas farmacológicas). En esta línea, debemos señalar que el uso de diversos modelos animales de ansiedad así como de psicofármacos, está contribuyendo a esclarecer cuáles son los posibles mecanismos biológicos subyacentes tanto de la ansiedad rasgo-estado como de los denominados trastornos de ansiedad.

### 3.1.2. El concepto de la conducta agresiva en psicología

No existe una definición unificada, operativa y global del concepto de agresión, en especial si nos referimos a la conducta agresiva humana. Esto se debe a varios motivos; en primer lugar la agresión se trata de un concepto multidimensional en cuanto a su

origen, motivaciones, funciones y expresiones (Haller & Kruk, 2006; Miczek, Faccidomo, Fish, & Debold, 2007), y puede manifestarse en cada uno de los niveles que integran al individuo (físico, cognitivo, emocional y social) (Ortiz-Carrasco & Calderón-González, 2006). En segundo lugar, precisamente debido a este carácter multidimensional el estudio de la agresión es un tema de interés central para una amplia gama de disciplinas (genética, neurociencia, psicología, etología, sociología y criminología, entre otras) que ofrecen diferentes definiciones y perspectivas de la misma. Además, son varias las descripciones del concepto de agresión que incluyen elementos que no pueden ser fácilmente observados como la intencionalidad dirigida de la conducta agresiva. Por el contrario, se suelen obviar otros elementos tales como las consecuencias aversivas en la víctima que van más allá del daño físico, por ejemplo producidas por amenazas dirigidas a amedrentar e intimidar que aunque no conlleven un daño observable sin duda forman parte del repertorio conductual agresivo humano y de varias especies animales. Por último, ninguno de estos dos aspectos tan frecuentemente señalados (ni la intencionalidad del agresor, ni la consecución de un efecto aversivo sobre la víctima), son indispensables ni resultan por sí mismos definitorios del concepto de agresión. Respecto a esto, Anderson & Bushman (2002) señalan que más que intencionalidad en la realización de la conducta, el agresor debe creer o ser consciente de que está infringiendo un daño, para excluir los casos en los que el sujeto desconoce el efecto de sus acciones. Estos autores además suponen que el receptor del mismo quiera evitarlo para descartar por ejemplo el daño o dolor producido tras una intervención médica. Como puede apreciarse, la definición y tipología de la conducta agresiva humana no es un tema fácil de abordar (Ortiz-Carrasco & Calderón-González, 2006; Ramírez, 2000).

Sin embargo, desde la perspectiva de la investigación animal se ha llegado a una definición de trabajo en general aceptable del concepto de agresión, según la cual la conducta agresiva animal es “cualquier conducta manifiesta que produce aversión, daño o destrucción de otro organismo” como ya describió Moyer (Moyer, 1968; Olivier & Young, 2002; Weinshenker & Siegel, 2002). En esta definición, la “motivación” de la conducta no es un elemento esencial, pero se puede deducir directamente a partir de los estímulos que la provocan. De esta forma, la agresión es una conducta social primaria que se utiliza para defender territorio, asegurarse pareja, encontrar comida y proteger a los miembros más jóvenes.

Por otra parte, es necesario diferenciar entre agresividad y agresión. La primera es un impulso interior que puede ser controlado o liberado, y la segunda es la acción externa que se dirige o/y alcanza a la víctima. La agresividad no solo debe relacionarse con patrones de comportamiento negativos, sino también debe contemplarse como un recurso primario instintivo para afrontar situaciones problemáticas básicas que necesitan de una resolución inmediata y cuya finalidad es la conservación de la especie, como señalaba el etólogo Konrad Lorenz. Por si fuera poco, además existe una serie de términos relacionados como la *ira* (que subraya el aspecto emocional de la agresión), la *hostilidad* (destaca el aspecto cognitivo) o la *violencia* (agresión desadaptativa caracterizada por su intensidad conductual y fines diferentes a los de la supervivencia como la ambición, dominación, placer o venganza), cuyas connotaciones suelen estar intrínsecamente ligadas a la experiencia humana de la agresión (Ortiz-Carrasco & Calderón-González, 2006).

En contraste, en el ámbito de la etología el constructo se suele limitar más al aspecto puramente conductual utilizando el término de *agresión* o el de *conducta agonística*, siendo este último más pertinente en ciertos paradigmas que hacen referencia al comportamiento relacionado con la lucha entre congéneres. Según Scott (1966), la conducta agonística consiste en “adaptaciones a situaciones que implican conflicto físico o competición entre miembros de la misma especie”. Este término resulta de especial relevancia en especies gregarias que establecen relaciones de dominancia-subordinación de forma natural a través de la conducta agonística, siendo adecuado su uso para referirse a la conducta agresiva en determinados modelos de agresión, como el elegido en la presente Tesis Doctoral. Además, hay que considerar que el establecimiento de estatus social y su mantenimiento se ha relacionado no solo con la agresión, sino también con diferentes respuestas de estrés y, a su vez, con el desarrollo de diversas patologías como la depresión, la ansiedad, el estrés postraumático y el abuso de sustancias, siendo interesante tanto el estudio del sujeto dominante como el del subordinado (Arregi et al., 2006).

### 3.1.3. Los modelos animales en investigación

#### ❖ *Concepto*

Los modelos animales constituyen una valiosa herramienta de análisis que tiene por objeto imitar o representar algún aspecto de la sintomatología o etiología (ambiental,

---

genética o farmacológica) de procesos psicológicos/conductuales humanos, tanto normales como patológicos, de tal forma que posibilitan su estudio y la evaluación de posibles tratamientos (Bourin et al., 2007; Escorihuela & Fernández-Teruel, 1998; Treit, Engin, & McEown, 2010).

En la actualidad, existen varios procedimientos de evaluación de determinadas conductas o síntomas (modelos etológicos) o de selección de fármacos (modelos de “screening”), que resultan ser relativamente rápidos, económicos y reproducibles. Un ejemplo de ambos es el laberinto elevado en cruz como modelo de conducta ansiosa y para el “screening” de potenciales fármacos ansiolíticos.

Además, hoy día el concepto de modelo animal se ha ampliado considerablemente al incluir modelos derivados del uso de la tecnología genética y neurogenética. Estos modelos animales se basan en que la presencia de determinados cambios neurobiológicos en el sujeto puede conllevar afectaciones específicas que resultan relevantes para la investigación por su analogía con procesos observados en humanos. En términos genéricos, podrían incluirse entre éstos los modelos de lesión o estimulación (eléctrica o química), así como aquellos derivados de la tecnología neurogenética basados en la producción de ratones mutantes, transgénicos, “knock-out” y “knock-in”. También se ha generado un gran número de modelos animales farmacogenéticos, seleccionados mediante crianza selectiva a lo largo de decenas de generaciones, por su divergencia extrema en determinadas conductas o por su respuesta a sustancias psicoactivas (por ejemplo las líneas de ratas Siracusa de alta y baja evitación (SHA y SLA), las Romanas (RHA y RLA), y las Wistar “high/low anxiety-like behavior” (HAB y LAB)). Otra variedad de modelos son los ratones consanguíneos o “inbred”, cuya caracterización fenotípica (conductual, farmacológica, neuroquímica, etc.) es tan específica que posibilita el uso de técnicas de mapeo genómico y la identificación de genes relacionados con la característica conductual en estudio (Escorihuela & Fernández-Teruel, 1998). Un ejemplo de este último tipo son los modelos animales de ansiedad “rasgo” descritos en cepas de ratones (BALB/c) y ratas (Wistar-Kyoto, Romanas, High anxiety-like behavior “HAB”, Flinders Sensitive line “FSL”) (Belzung & Griebel, 2001; Neumann et al., 2011). De esta forma, el uso de modelos animales mediante manipulación de mecanismos biológicos, ambientales y/o farmacológicos, ha resultado ser de enorme trascendencia para el progreso de la Psicobiología.

Los modelos animales son particularmente útiles en situaciones en las que el impacto del estrés o la manipulación no puede estudiarse en humanos debido a evidentes razones éticas, presentando a su vez otras ventajas, como su coste relativamente bajo, la rapidez y reproducibilidad (Campos et al., 2013). Teniendo en cuenta esto, resulta razonable el uso de modelos de animales con el objetivo de estudiar fenómenos que ocurren en otra especie como la nuestra (Belzung & Griebel, 2001). Sin embargo, no podemos obviar que en el estudio de los trastornos psíquicos humanos, la extrapolación de los resultados obtenidos presenta ciertas dificultades tales como las diferencias del sistema nervioso o la dificultad de determinar comportamientos análogos entre especies. Los problemas citados reflejan la complejidad de las manifestaciones humanas, y las enormes diferencias cognitivas entre humanos y animales de laboratorio (Campos et al., 2013; Kumar, Bhat, & Kumar, 2013). Es decir, a pesar de la idea teórica de que un modelo debería reproducir todas las características del fenómeno de estudio, esto rara vez se consigue. Es por ello que los modelos animales en lugar de intentar replicar todas las características y síntomas de un fenómeno o trastorno, más bien persiguen generar un estado en el animal que pueda relacionarse con diversos aspectos del fenómeno objeto de estudio.

#### ❖ *Validez*

Por otra parte, resulta importante recordar que los datos derivados son valiosos en la medida en que estos modelos animales se ajustan a unos criterios o parámetros de validez, entre otros factores (Hånell & Marklund, 2014). Los criterios de validez que debe cumplir un modelo animal son principalmente tres: la validez aparente (isomorfismo), la validez predictiva (correlación farmacológica) y la validez de constructo (homología y similitud de los mecanismos neurobiológicos subyacentes) (Belzung & Griebel, 2001; Bourin et al., 2007; Kumar et al., 2013).

La *validez aparente* se refiere a la similitud fenomenológica entre aquello que se observa en el modelo y el proceso o trastorno que se intenta simular, es decir, indica si el modelo *parece* medir lo que mide. El que un modelo de ansiedad tenga validez aparente significa que es fenotípicamente similar al trastorno de ansiedad humano, es decir, que es capaz de imitar las respuestas conductuales y fisiológicas observadas en humanos (Bourin et al., 2007). Este tipo de validez tiene ciertas limitaciones, pues el repertorio conductual del ratón es diferente del etograma humano, en el cual por ejemplo se incluyen aspectos verbales ausentes en roedores. Sin embargo, aunque la validez aparente es la más ambigua

o débil de las tres (Guo, 2009; Kumar et al., 2013; Treit et al., 2010), la documentación de los correlatos conductuales y fisiológicos asociados a la ansiedad (como el aumento de la vocalización, de la tigmotaxis, el incremento de corticosteroides o de norepinefrina cerebral) es importante para reforzar y apoyar la validez predictiva de un modelo animal.

La *validez predictiva* se refiere a la capacidad del modelo para predecir el éxito de un tratamiento farmacológico con efecto terapéutico en el ser humano. Un ejemplo son las benzodiacepinas, que se usan en el tratamiento de la ansiedad de pacientes y también reducen las conductas de ansiedad de roedores tanto en el test de la caja luz-oscuridad como en el test EPM. Este tipo de validez implica que el modelo debe discriminar entre sustancias farmacológicas que son clínicamente eficaces y aquellas que no lo son o bien tienen efectos opuestos (p.ej. entre compuestos “ansiolíticos”, “no ansiolíticos” y “ansiogénicos”) (Bourin et al., 2007). En este sentido, cuanto más falsos positivos acumula un supuesto modelo animal, menos validez predictiva o farmacológica tiene, y disminuye su utilidad potencial como prueba para detectar nuevos compuestos terapéuticos. Es por ello, que se debe prestar especial atención a los falsos positivos y negativos de un modelo animal y hacerlos objeto de revisión clínica (Treit et al., 2010). Podría decirse que la validez predictiva es una de las más importantes, pero su principal limitación sería la ausencia de tratamientos eficaces, ya que requiere de la existencia de un tratamiento ya validado clínicamente que pueda ser utilizado como referente en la validación del modelo animal (Hånell & Marklund, 2014).

Por otra parte, la *validez de constructo* responde a la cuestión más básica de todas: “¿El modelo mide realmente o representa lo que está intentando medir o representar?”. Esta pregunta rara vez puede ser contestada sólo por datos experimentales, y debe evaluarse en el contexto de una teoría científica del constructo (Treit et al., 2010). Por lo tanto, la validez de constructo se refiere a la similitud entre los fundamentos teóricos que subyacen al modelo animal y al comportamiento humano, esto a su vez requiere una etiología subyacente similar (Bourin et al., 2007; Kumar et al., 2013).

En el caso que nos ocupa, sería necesaria una teoría que explique la etiología de la ansiedad y sus mecanismos (psicológicos o neurobiológicos) antecedentes e intervinientes, de tal forma que exista una analogía entre el modelo animal y el fenómeno o trastorno humano (Escorihuela & Fernández-Teruel, 1998; Guo, 2009). En opinión de Treit et al. (2010), esto supone una tarea difícil ya que no existe una teoría científica ampliamente aceptada o establecida de la etiología de la ansiedad humana, y aunque ésta



existiera el juicio sobre este tipo de validez implica un proceso dinámico en evolución continua precisamente por su carácter teórico. Por último, y estrechamente relacionada con la anterior, la *validez convergente* o concurrente se refiere al grado con que un determinado modelo se correlaciona con otros que intentan medir o simular el mismo constructo. En cualquier caso se debe tener en cuenta, que los diferentes tipos de validez son hasta cierto punto independientes uno del otro, por ejemplo un modelo animal puede poseer validez predictiva y de constructo sin poseer validez aparente (Kumar et al., 2013).

### 3.2. El estudio de la ansiedad en modelos animales

#### 3.2.1. Clasificación de los modelos animales de ansiedad

Los modelos animales de ansiedad intentan representar algún aspecto de la etiología, sintomatología o tratamiento de la ansiedad humana para facilitar su estudio. El propósito principal de estos modelos es identificar nuevas sustancias ansiolíticas y estudiar los mecanismos biológicos por los cuales ciertos compuestos producen efectos ansiolíticos o ansiogénicos (Treit et al., 2010). Sabemos que la capacidad para responder a una amenaza o peligro es algo universal en el reino animal. En general, los animales reaccionan ante una amenaza potencial con una serie de respuestas autonómicas y conductuales seleccionadas evolutivamente que poseen un gran valor adaptativo y que además resultan ser cuantificables (Campos et al., 2013; Guo, 2009). Los modelos animales de ansiedad han llegado a ser una herramienta inestimable en el estudio de estas respuestas produciendo síntomas homólogos a la ansiedad normal o patológica humana, contribuyendo a profundizar en el conocimiento de las causas biológicas, ambientales o farmacológicas de la ansiedad (Kumar et al., 2013).

La ansiedad ha sido estudiada extensamente mediante más de treinta modelos animales. En la Tabla 3.1 se presenta un compendio de diversos modelos animales de ansiedad “estado” o ansiedad normal, en los que mediante un procedimiento experimental protocolizado se registra la respuesta del animal en presencia de un estímulo ansiogénico (Belzung & Griebel, 2001). Algunos de estos modelos recurren a respuestas condicionadas y otros utilizan respuestas más naturales de la especie por lo que se consideran modelos etológicos o de respuestas no condicionadas (Bourin et al., 2007; Campos et al., 2013; Cárdenas & Navarro, 2002a; 2002b; Escorihuela & Fernández-Teruel, 1998; Guo, 2009; Kumar et al., 2013; Polanco, Vargas-Irwin, & Góngora, 2011).

Recientemente, Kumar y col. (2013), incluye una clasificación menos conocida de los modelos de ansiedad según el estímulo estresor sea exteroceptivo o interoceptivo, la cual también se recoge en la tabla.

### ❖ *Modelos de Respuesta Condicionada*

Los modelos de respuesta condicionada se basan en general en la capacidad de responder ante un estímulo neutro con la respuesta específica a otro estímulo usualmente aversivo, como un choque eléctrico, y de esta forma modelan reacciones a acontecimientos específicos aversivos o a estímulos emparejados con éstos (Polanco et al., 2011). Existen dos tipos dentro del grupo de modelos condicionados, los modelos basados en el condicionamiento pavloviano clásico o asociativo (p.ej. la respuesta emocional condicionada “REC” y el paradigma de la supresión condicionada), y por otra parte, los modelos basados en el condicionamiento operante o instrumental, el cual implica un conflicto aproximación-evitación, denominados modelos de conflicto. El procedimiento pavloviano de condicionamiento del miedo, ha sido una de las aproximaciones experimentales más investigadas y consiste en la asociación de un estímulo condicionado neutral a un estímulo incondicionado aversivo (EC-EI), mediante la cual el EC puede suscitar respuestas condicionadas (RC) defensivas como la inmovilidad, pero también conductas motivadas como la evitación activa instrumental (Acción – Recompensa). La respuesta condicionada es el resultado del aprendizaje de la asociación entre los dos estímulos, del almacenaje de esta asociación y de la posterior recuperación de la memoria en respuesta a la recepción del EC. Además, una vez se ha establecido esta asociación puede reducirse gradualmente mediante extinción, estableciendo una nueva asociación en la que el EC ya no sea percibido como peligroso y se inhiba la RC (Spampanato, Polepalli, & Sah, 2011). Como ya se ha indicado antes, un estímulo condicionado también puede fortalecer una respuesta de evitación activa instrumental en curso, lo que se conoce como Transferencia instrumental de Pavlov (“PIT”). Este procedimiento permite evaluar la capacidad de un EC de modular una acción instrumental que se ha entrenado de forma independiente (Campese et al., 2014).

La etiología de la ansiedad bajo condicionamiento puede ser comparable a la ansiedad patológica en humanos, ya que implica una sobre-reacción a acontecimientos que no suceden en condiciones normales y podrían estar más cerca de ciertos trastornos de

ansiedad como las fobias, en las que existe una estrecha asociación entre un estímulo aversivo y un aprendizaje de evitación (Cárdenas & Navarro, 2002b). En general como ventajas, estos modelos gozan de un marco teórico amplio y consensuado (teorías de condicionamiento clásico como la T<sup>a</sup> bifactorial de Mowrer o la T<sup>a</sup> de Eysenck, y teorías de condicionamiento operante) y, además, posibilitan un elevado control experimental sobre las distintas variables que se analizan, pero también presentan algunas limitaciones. Al exponer a los sujetos a estímulos no habituales, se requiere que los animales sean entrenados previamente. Además, es común tener en cuenta en el diseño experimental varios grupos de sujetos control para descartar los efectos no específicos del tratamiento sobre aspectos como el aprendizaje, la memoria, apetito y las funciones motoras y perceptuales sobre el desarrollo del miedo condicionado (Polanco et al., 2011).

#### ❖ *Modelos de Respuesta Incondicionada*

Los modelos animales de respuesta incondicionada se diseñan para medir conductas innatas de miedo o evitación ante diferentes formas de amenazas externas, simulando lo que ocurre en la naturaleza en condiciones de laboratorio, por ello estos modelos tiene una validez etológica elevada. La premisa básica de la mayoría de estos modelos es que son capaces de generar una situación de conflicto de aproximación-evitación hacia una fuente potencial de peligro, creando en el individuo estados motivacionales opuestos de curiosidad y miedo de forma simultánea, que determinarán el conjunto de respuestas conductuales del animal. En roedores, la exposición al ambiente novedoso del modelo despierta en el animal el impulso exploratorio incondicionado, pero a su vez, éste se opone al impulso de evitación innato hacia los espacios desconocidos, elevados, abiertos y luminosos (Campos et al., 2013).

Estos modelos, en general, poseen ciertas ventajas frente a los modelos condicionados, tales como una alta validez ecológica, la ausencia de largos procedimientos de aprendizaje y de condiciones tan aversivas como descargas eléctricas o la privación de alimento o de agua. (Polanco et al., 2011). Por otra parte, en estos modelos se deben diferenciar dos factores sobre todo cuando se usan como pruebas de *screening*, estos factores son la actividad locomotora y la actividad exploratoria del animal. Existe cierta dificultad en discernir estas actividades pues suelen superponerse, sin embargo es necesario considerar que: 1. La actividad locomotora entendida como desplazamiento es un componente importante pero no imprescindible de la exploración

espacial en roedores; 2. La actividad locomotriz puede verse influida por factores distintos al impulso de exploración, como la posible acción sedante del fármaco que se evalúa (Cárdenas & Navarro, 2002a); y a su vez, 3. La conducta exploratoria puede verse afectada por factores ajenos al “drive” motivacional, tales como la complejidad de la situación, el grado de novedad (el cual varía de mayor a menor a lo largo de la sesión), y el estado basal del animal (Campos et al., 2013).

En la Tabla 3.1 se muestran los modelos de ansiedad incondicionada del ratón, entre los que se incluyen: 1. Modelos basados en la exploración como el Test del laberinto elevado en cruz o el test de la caja luz-oscuridad; 2. Modelos basados en la conducta social como el test de interacción social; 3. Modelos basados en la exposición a un predador como la Batería de test de defensa (MDTB); 4. Modelos basados en estresores físicos como el test de suspensión por la cola o el test de la respuesta de sobresalto acústica. Nos centraremos en el Test del laberinto elevado en cruz, el cual se ha escogido para evaluar la ansiedad en los experimentos que se exponen en capítulos posteriores.

**Tabla 3.1**

*Clasificación de modelos de ansiedad en el ratón, en función del tipo de respuesta (Incondicionada/ Condicionada) y de que el tipo de estímulo estresor sea o no interoceptivo. (Adaptado de Belzung & Griebel, 2001; Campos et al., 2013; Cárdenas & Navarro, 2002a; Cárdenas & Navarro, 2002b; Escorihuela & Fernández-Teruel, 1998; Guo, 2009; Kumar et al., 2013).*

MODELOS DE RESPUESTA INCONDICIONADA	
Basados en exploración	Test Laberinto elevado en cruz o “Elevated plus-maze test” (variantes: Y-maze, T-maze, zero-maze, EPM Inestable, EPM potenciado por estrés)
	Caja de dos compartimentos luz/oscuridad o “Light-dark box test”
	Test Tablero de agujeros u “Hole-board test”
	Test de Supresión de ingesta inducida por la novedad o “Novelty-suppressed feeding”
	Test de campo abierto u “Open field test”
	Test de exploración libre (* <i>ansiedad-rasgo en cepas neofóbicas, y actividad locomotora en cepas no neofóbicas</i> )
	Test del contraste negativo
	Test de la escalera*
	Test de la habitación con espejo
Basados en conducta social	Test de interacción social *
	Test de vocalizaciones ultrasónicas inducido por separación
	Test de conducta sexual en ratones subordinados
Basados en exposición a Depredador (modelo PTSD)	Batería de test de defensa en ratones (MDTB). Conductas agonísticas.
	Test de exposición rata o al olor de gato/ rata.
Basados en estresores físicos	Estrés por inmovilización
	Estrés por variación de temperatura, ritmos circadianos
	Estrés por electroschok en patas.
	Test de respuesta de sobresalto acústica
	Test de suspensión de la cola
MODELOS DE RESPUESTA CONDICIONADA	
Basados en C. Operante	Test de conflicto de Geller-Seifter (variantes: Cook-Davidson)
	Test de conflicto de Vogel
Basados en C. Clásico	Respuesta emocional condicionada (REC)
	Paradigma de Supresión condicionada
	Paradigma de evitación pasiva/activa
	Test de los cuatro discos
	Test de potenciación del reflejo de sobresalto
	Test de extinción del refuerzo parcial
	Test de retirada de señales de seguridad de Thiebot
Enterramiento defensivo condicionado	
MODELOS DE ESTIMULACIÓN INTEROCEPTIVA	
Basado en E. eléctrica	Escape inducido por estimulación eléctrica cerebral (dPAG)
Basados en fármacos	Ansiedad inducida por Anfetamina
	Ansiedad inducida por FG-7142
	Ansiedad inducida por cafeína
	Ansiedad inducida por Yohimbina
	Ansiedad inducida por Flumazenil

*Laberinto elevado en cruz o “Elevated Plus Maze” (EPM)*. Es uno de los modelos de ansiedad más populares actualmente y se encuadra como modelo de ansiedad estado incondicionada (Cárdenas & Navarro, 2002b; Walf & Frye, 2007). La prueba tiene su origen en el trabajo de Montgomery (1955), que diseñó un laberinto en forma de “Y” con calles abiertas y cerradas en el que las ratas mostraban una alta tasa de exploración y/o preferencia por los brazos cerrados, por lo que concluyó que los brazos abiertos del laberinto generaban miedo en estos sujetos. A principios de los años ochenta, el laberinto elevado en cruz “X” diseñado por Handley y Mithani (1984) se consolida como modelo animal para la ansiedad, validándose en ratas (Pellow, Chopin, File, & Briley, 1985), y posteriormente se adapta y valida para ratones (Lister, 1987), llegando a ser usado en multitud de especies como conejillos de indias, ratones salvajes, hamsters y jerbos (Polanco et al., 2011). El laberinto elevado en cruz consta en su diseño de una plataforma central y cuatro brazos situados perpendicularmente, dos de ellos cerrados por paredes y situados uno frente al otro, mientras que los otros dos brazos están abiertos o desprotegidos. El laberinto se eleva sobre el suelo de tal forma que se combinan elementos que resultan poco familiares, los espacios abiertos, la iluminación y la altura. El EPM se basa principalmente en generar un conflicto entre la tendencia del roedor a dirigirse a una zona oscura y protegida del laberinto evitando los espacios abiertos y elevados de los brazos abiertos (evitación) y su curiosidad o tendencia a explorar ambientes nuevos (proximidad) (Walf & Frye, 2007).

En este modelo animal se evalúan dos tipos de medidas, los parámetros clásicos espaciotemporales y los etológicos. De forma tradicional se han empleado parámetros “espaciotemporales” que incluyen las medidas de frecuencia y tiempo de la actividad en los brazos abiertos y cerrados del laberinto; además, se mide el número total de entradas en los brazos como control de la actividad locomotora (Lister, 1987; Pellow et al., 1985). Posteriormente, la evaluación de parámetros etológicos iniciada por Rodgers & Johnson (1992; 1995), ha demostrado ser de gran utilidad mejorando la sensibilidad del test, su fiabilidad y validez (Cárdenas & Navarro, 2002b; Cruz, Frei, & Graeff, 1994; Treit et al., 2010). Los parámetros etológicos incluyen la evaluación de conductas no exploratorias (de aseo e inmovilidad), la latencia de entrada en cualquiera de los brazos, la conducta de “rear” o elevación sobre las patas traseras y un conjunto de conductas que se denominan de forma global “conductas de evaluación del riesgo” que se observan en situaciones de peligro potencial y que son particularmente sensibles a las fármacos que modulan la

ansiedad. Entre las conductas de evaluación del riesgo se incluyen los “*Head-dips*, HD” o movimientos de la cabeza por debajo del nivel del suelo del laberinto, así como la postura de atención extrema o “*Stretch attend posture*, SAP” que consiste en una elongación postural hacia adelante manteniendo las patas traseras fijas, y la conducta de regreso al brazo protegido. Además, teniendo en cuenta la importancia de la tigmotaxis en la exploración de los roedores en el elevado en cruz, tanto las conductas de HD como las SAP se registran teniendo en cuenta la localización física del animal en el aparato en las zonas protegidas (pHD, pSAP) y en las zonas no protegidas o “unprotected” (uHD, uSAP) (Rogers & Johnson, 1995; Treit, Menard, & Royan, 1993). De esta forma, la conducta de atención extrema puede desarrollarse en ambas áreas, indicando miedo y desconfianza en la exploración, siendo éste más pronunciado si se realiza desde el área protegida; por otra parte, el significado etológico de la conducta de head-dips depende de su localización indicando estados muy distintos de miedo/desconfianza si se realizan en el área protegida (pHD) y de cierta tranquilidad en la exploración y curiosidad por el entorno si se realiza en el área desprotegida (uHD) (Cárdenas & Navarro, 2002b; Mascarenhas, Gomes, & Nunes-de-Souza, 2013)

Teniendo en cuenta los parámetros del laberinto elevado en cruz, la *respuesta ansiolítica* en este test se caracteriza por un aumento del tiempo y frecuencia de exploración de los brazos abiertos del laberinto y por un aumento de head-dips no protegido (uHD); mientras que correlacionan de forma negativa o se reducen la entrada en brazo cerrado, las conductas de riesgo protegidas (pHD y pSAP) y la conducta de regreso al brazo protegido (Cárdenas & Navarro, 2002b; Espejo, 1997; Treit et al., 2010). Los parámetros de entrada en brazo abierto, uHD, pHD y pSAP se consideran esenciales para el análisis de la ansiedad en el laberinto elevado en cruz (Espejo, 1997), mientras que otras medidas como la elevación sobre las patas traseras (Cruz et al., 1994; Espejo, 1997) y la frecuencia total de entradas en los brazos (Lister, 1987; Pellow et al., 1985) parecen ser más relevantes para evaluar la actividad motora.

En conjunto, este modelo posee *validez aparente*, ya que la prueba mide lo que parece medir, esto es, la ansiedad o miedo a los espacios abiertos y elevados en roedores (Walf & Frye, 2007), y también tiene una buena *validez externa y ecológica*, dado que emplea estímulos naturales que pueden inducir ansiedad en humanos (Cárdenas & Navarro, 2002b). En este modelo, los roedores muestran de forma natural un patrón de conducta caracterizado por la evitación de los brazos abiertos y elevados del laberinto, limitando la

mayor parte de su actividad a los brazos cerrados. Se cree que estos miedos podrían ser similares a la agorafobia y el vértigo, respectivamente, lo que sugiere un cierto grado de isomorfismo u homología. En los animales la evitación de los espacios abiertos puede haber evolucionado como una defensa contra los mamíferos más grandes y/o aves depredadoras (Treit et al., 2010). Por otra parte, el modelo también presenta una buena *validez predictiva* (Cárdenas & Navarro, 2002b). Las sustancias ansiolíticas, principalmente de tipo benzodiazepínico, tienden a suprimir esta respuesta de evitación de las áreas abiertas, mientras que las sustancias ansiogénicas la potencian (Belzung & Griebel, 2001; Walf & Frye, 2007). Este modelo muestra una sensibilidad elevada a sustancias ansiolíticas que actúan sobre el complejo receptor BZ/GABA y sobre el sistema glutamatérgico, aunque los resultados no son tan consistentes respecto a drogas que modulan la actividad serotoninérgica como la buspirona (agonista parcial 5-HT<sub>1A</sub>), los fármacos ISRS y fármacos ansiolíticos experimentales como los antagonistas del CRF (Carobrez & Bertoglio, 2005; Litvin, Pentkowski, Pobbe, Blanchard, & Blanchard, 2008; Menard & Treit, 1999; Treit et al., 2010). Además, se ha demostrado que el nivel de corticosterona plasmática aumenta con la exposición a los brazos abiertos y que correlaciona de forma positiva con conductas de evaluación del riesgo en el laberinto elevado en cruz (Walf & Frye, 2007), por lo que la incorporación de las medidas etológicas ha permitido incrementar la validez predictiva y de constructo de esta prueba

### 3.2.2. El circuito neuronal del miedo y la ansiedad

La capacidad de detectar el peligro potencial antes de que ocurra es una clave evolutiva para la supervivencia que se encuentra íntimamente ligada a las emociones de miedo y ansiedad (Kim & Gorman, 2005). En apartados anteriores se indicaba que posiblemente el miedo y la ansiedad sean estados emocionales con ciertas características particulares, sin embargo esto no excluye que exista un solapamiento de los mecanismos cerebrales subyacentes y su expresión conductual; de hecho la ansiedad puede que se trate tan solo de una forma elaborada de miedo. Si este es el caso, podemos esperar que parte de los mecanismos que median el miedo desarrollados para proteger al individuo de un peligro inmediato, se hayan podido “reciclar” o evolucionar para protegernos de amenazas más distantes o virtuales (Steimer, 2002).



En las últimas décadas, se han investigado los mecanismos neurales implicados en el miedo y la ansiedad mediante estudios experimentales tanto en humanos, principalmente mediante técnicas de neuroimagen funcional, como en animales mediante lesión local, tratamientos farmacológicos, técnicas inmunohistoquímicas y electrofisiológicas. Se ha llegado a determinar que las estructuras cerebrales subyacentes a las medidas de ansiedad son similares en humanos (Boehme et al., 2014; Yassa, Hazlett, Stark, & Hoehn-Saric, 2012) y roedores (Duvarci, Bauer, & Pare, 2009; Moreira, Masson, Carvalho, & Brandao, 2007). Además, en la misma línea, se ha comprobado que las drogas ansiolíticas clínicamente eficaces en humanos disminuyen la evitación de los espacios abiertos y luminosos en roedores (File & Pellow, 1985; Schmitt & Hiemke, 1998; Walker & Davis, 1997a). Estas similitudes sugieren que el estudio de la ansiedad en roedores puede proporcionar conocimiento del circuito subyacente a la ansiedad humana (Adhikari, 2014).

El reciente desarrollo de las técnicas optogénicas constituye una versátil herramienta que está permitiendo avanzar firmemente en este sentido, al facilitar la manipulación específica de proyecciones y tipos celulares *in vivo*. Brevemente, la optogénica hace posible la activación o inhibición rápida y reversible de neuronas específicas mediante un haz de luz dirigido hacia elementos neurales, que han sido previamente manipulados para expresar opsinas (ChR2) sensibles a la luz (Belzung, Turiault, & Griebel, 2014; Janak & Tye, 2015), por lo que esta tecnología nos permite incrementar nuestra comprensión de la conexión funcional entre las conductas relacionadas con la ansiedad y diversos circuitos cerebrales implicados. De esta forma, se sabe que existe una red muy interconectada de regiones cerebrales corticales y subcorticales del sistema límbico, entre las que destaca particularmente el microcircuito del complejo amigdalino y sus conexiones con regiones más distales (Adhikari, 2014; Belzung et al., 2014).

Este sistema cerebral organizado jerárquicamente incluye áreas implicadas en la *generación* del miedo y/o de la experiencia ansiogénica, tales como la amígdala, el hipocampo ventral, la denominada amígdala extendida o núcleo laminar de la estría terminal (BNST) y septum. Asimismo, incluye áreas que participan en la *expresión* de las respuestas de miedo/ansiedad autónomas, hormonales y conductuales tales como el hipotálamo, pituitaria y estructuras del tronco como la sustancia gris periacueductal (PAG) y el núcleo parabraquial (PB). Por último, señalar que también hay regiones

implicadas en la regulación y modulación de estas respuestas como el córtex cingulado (Modi, Rana, Kaur, Rani, & Khushu, 2014) y el córtex prefrontal medial y orbital (CPFs) (Belzung et al., 2014). Algunas de estas estructuras, tales como el CPFm, amígdala e hipocampo, a su vez se encuentran inervadas por fibras monoaminérgicas de núcleos mesencefálicos tales como el núcleo del rafe (serotonina) o el locus coeruleus (noradrenalina). A continuación, se exponen aquellas estructuras y conexiones que actualmente se consideran implicadas de forma directa en el circuito del miedo y la ansiedad incondicionada o innata en ratones, en la cual según recientes estudios destaca en particular la contribución del microcircuito de la amígdala (Belzung et al., 2014).

### ❖ *La amígdala*

La amígdala o complejo amigdalino es una estructura límbica alojada en el lóbulo temporal que se considera el centro del procesamiento de las emociones del cerebro de los mamíferos. La amígdala desempeña un papel clave e integrador de las reacciones fisiológicas y comportamentales ante objetos y situaciones que tienen una relevancia biológica especial, particularmente en la respuesta a estímulos de contenido negativo. El interés en la amígdala se deriva inicialmente de su papel en el procesamiento del miedo (aprendizaje, almacenamiento y expresión) y de la ansiedad (Canteras, Resstel, Bertoglio, De Pádua Carobrez, & Guimarães, 2010; Canteras & Graeff, 2014; Davis, 1992). Sin embargo, aunque esta estructura participa predominantemente en la respuesta ante estímulos negativos (miedo, ira o asco), también participa en la respuesta ante estímulos positivos tales como la proximidad de alimento o de alguna pareja (Janak & Tye, 2015).

Diversos estudios muestran que la amígdala es esencial en el circuito de la ansiedad tanto en humanos como en animales. Por ejemplo, en humanos el volumen de la amígdala correlaciona con un mayor nivel de ansiedad (Adhikari, 2014; Machado-de-Sousa et al., 2014; Qin et al., 2014) y se ha detectado una mayor actividad de esta estructura en pruebas de ansiedad anticipatoria realizadas en pacientes con trastorno de ansiedad social en comparación con sujetos sanos (Adhikari, 2014; Boehme et al., 2014). Por otra parte, en roedores, los estudios con genes de activación temprana indican que la amígdala se activa tras la exposición a contextos ansiogénicos (Adhikari, 2014; Butler et al., 2012; Silveira, Sandner, & Graeff, 1993), y se ha demostrado que la inactivación farmacológica de la amígdala tiene un efecto ansiolítico en ratones durante la prueba del laberinto elevado en cruz (Adhikari, 2014; Moreira et al., 2007).

El complejo amigdalino comprende más de una decena de núcleos con una morfología y funcionalidad heterogénea así como una compleja interconectividad (Tabla 3.2) (Sah, Faber, Lopez De Armentia, & Power, 2003; Tye et al., 2011). Las regiones de la amígdala que participan de forma más destacada en el circuito neuronal del miedo y la ansiedad son el complejo basolateral o “BLA” (compuesto del *núcleo lateral* “LA”, *basal* “BA” y *basomedial* “BM”), el núcleo central de la amígdala o CeA (compuesto por una *subdivisión lateral* “CeL” y *medial* “CeM”) y el núcleo medial de la amígdala (MeA) (Janak & Tye, 2015). El BLA está compuesto por neuronas principales glutamatérgicas e interneuronas inhibitorias, mientras que las neuronas del CeA son fundamentalmente GABAérgicas, con proyecciones internas desde el CeL hacia el CeM (Tye et al., 2011). Además, un agrupamiento de neuronas GABAérgicas interconectadas, denominado núcleo intercalado, se sitúa entre el BLA y el CeA, proporcionando una fuente de inhibición importante (Janak & Tye, 2015). Las regiones de la amígdala que se han estudiado en mayor profundidad son el complejo basolateral y el núcleo central amigdalino, así como el núcleo laminar de la estría terminal (BNST) como parte de la denominada “amígdala extendida”. A continuación, se expone una versión simplificada del flujo de información de la amígdala en el circuito subyacente a las conductas de miedo y ansiedad (Figura 3.1).

*Complejo basolateral (BLA).* El BLA juega un importante papel en la codificación emocional de los estímulos de miedo condicionado e innato, e integra gran parte de la información visceral (Klarer et al., 2014) y sensorial que recibe la amígdala, desde el tálamo, hipocampo y corteza (Blair, Sotres-Bayon, Moita, & Ledoux, 2005; LeDoux, 2000). De hecho, parece ser que el BLA es capaz de discriminar entre señales que predicen amenaza (Amano, Duvarci, Popa, & Pare, 2011) y aquellas que indican el cese del peligro (Adhikari, 2014; Senn et al., 2014). El complejo basolateral mantiene una gran cantidad de proyecciones recíprocas con regiones corticales, especialmente con el hipocampo ventral (HPCv), la corteza prefrontal medial y orbital (PFCs), así como con áreas sensitivas de asociación; además, en primates estas conexiones recíprocas se extienden hacia áreas sensitivas primarias (Janak & Tye, 2015).

Tabla 3.2

Clasificación anatómica y funcional de los núcleos de la amígdala (Sah et al., 2003)

CLASIFICACIÓN ANATÓMICA	NÚCLEOS DE LA AMÍGDALA		CLASIFICACIÓN FUNCIONAL (Swanson)
N. Basolaterales (BLA) o Complejo Basolateral	N. Lateral (LA)		Sistema Frontotemporal
	N. Basal (BA) o Basolateral (BL)		
Núcleos Corticales	N. Basal accesorio o Basomedial (BM)		Sistema Olfatorio
	N. del Tracto olfatorio lateral (NLOT) N. del Tracto olfatorio accesorio (BAOT) N. Cortical Anterior (CoA) N. Cortical Posterior (CoP) Córtex periamigdalóide (PAC)		
Núcleos Centromediales	AMÍGDALA EXTENDIDA (Heimer)	N. Medial (MeA)	Sistema Autónomo
		N. Central (CeA)	
Otros núcleos	AMÍGDALA EXTENDIDA (Heimer)	Sustancia inominada caudodorsal (Globo pálido ventral) Núcleo trasverso del N. laminar de la estría terminal (BNSTtr)	Sistema Autónomo
		Área amigdalárica anterior (AAA) N. Intercalado (ITC)	

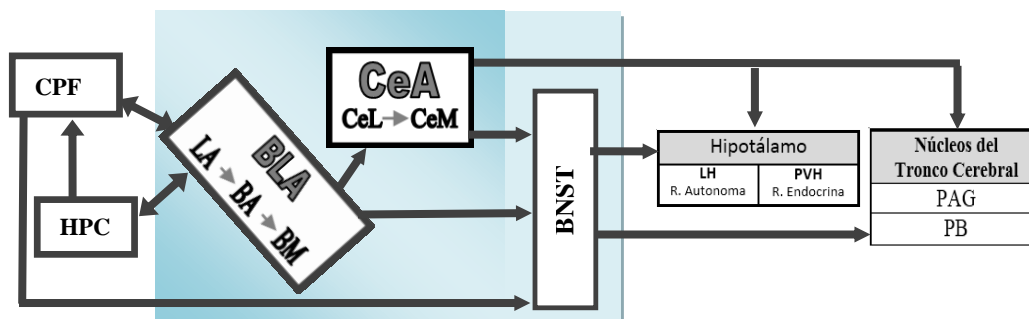


Figura 3.1 Esquema simplificado del circuito neuronal de ansiedad. La información contextual y sensorial procesada en el HPC y la PFCm se integra en el BLA, el cual a su vez activa el CeA y el BNST. El CeA y el BNST proyectan a núcleos del hipotálamo y del tronco cerebral tales como el PV, que modula ciertas características de la ansiedad como la evitación de los espacios abiertos y el control de la respiración, y el PAG implicado en la expresión de respuestas defensivas. Abreviaturas: BA: núcleo basal de la amígdala, BLA: amígdala basolateral, BM: núcleo basomedial de la amígdala, BNST: núcleo laminar de la estría terminal, CeA: amígdala central, CeL: parte lateral de la amígdala central, CeM: parte medial de la amígdala central, HPCv: hipocampo ventral, LA: núcleo lateral de la amígdala, LH: hipotálamo lateral, PAG: sustancia gris periacueductal, PB: núcleo parabraquial. PFCm: córtex prefrontal medial, PVH: hipotálamo paraventricular.

Hallazgos provenientes de estudios electrofisiológicos indican que la sincronización de la actividad de la frecuencia- $\Theta$  (4-12 Hz) entre las estructuras vHPC, mPFC y BLA está estrechamente relacionada con las respuestas de ansiedad registradas en la exploración de contextos ansiogénicos (Adhikari, 2014). Diversos estudios informan de esta sincronización en ratones expuestos tanto a pruebas de ansiedad condicionada, registrándose una sincronización vHPC-BLA (Seidenbecher, Laxmi, Stork, & Pape, 2003), como en el test de ansiedad innata (EPM y campo abierto), con sincronía del vHPC-mPFC (Adhikari, Topiwala, & Gordon, 2011; Schoenfeld et al., 2014) y del mPFC-BLA (Likhtik, Stujenske, Topiwala, Harris, & Gordon, 2014). En la misma línea, un estudio utilizando técnicas optogenéticas indica que la activación de la proyección BLA-vHPC incrementa la ansiedad innata, mientras que su inhibición ejerce un efecto ansiolítico en los test EPM y de campo abierto (Felix-Ortiz et al., 2013). De forma similar, en humanos se ha detectado que la actividad del hipocampo anterior (estructura análoga al vHPC en ratones) correlaciona con la ansiedad rasgo (Satpute, Mumford, Naliboff, & Poldrack, 2012). Estos datos sugieren que las estructuras, y posiblemente las redes neuronales, entre roedores y humanos sean similares, y parece indicar que la información contextual y sensorial proveniente del CPFm y HPCv se integra de forma dinámica en el BLA.

A parte de estas proyecciones recíprocas, el flujo de información del BLA es predominantemente unidireccional hacia el núcleo central de la amígdala, el núcleo laminar de la estría terminal y otras estructuras como núcleo accumbens del estriado (Adhikari, 2014). Se considera que el CeA y BNST son esenciales para mediar la traducción de las señales del BLA en respuestas conductuales de miedo y ansiedad (Janak & Tye, 2015). Sin embargo, parece que existen excepciones pues un estudio reciente pone de relieve la importancia de la conexión entre la amígdala y el estriado ventral, en concreto de las proyecciones entre el núcleo basal de la amígdala (BA) y la corteza del núcleo accumbens (NAccSh), en la expresión de la conducta de evitación activa (Ramirez, Moscarello, LeDoux, & Sears, 2015).

Dentro del complejo basolateral, el núcleo lateral (LA) se considera la entrada principal de información en la amígdala (Adhikari, 2014; Canteras et al., 2010; Janak & Tye, 2015). Este núcleo ha sido el foco de una gran cantidad de estudios de condicionamiento del miedo por su acceso a información sensorial auditiva comúnmente empleada en este paradigma (Janak & Tye, 2015), y se ha llegado a identificar como el principal responsable de que se produzca el aprendizaje asociativo. Esto es debido a su

gran plasticidad neuronal durante el condicionamiento del miedo, ya que la lesión y bloqueo farmacológico del LA previene la adquisición y expresión del miedo (Campeau & Davis, 1995; Canteras et al., 2010; Janak & Tye, 2015; LeDoux, Cicchetti, Xagoraris, & Romanski, 1990; LeDoux, 2000; Muller, Corodimas, Fridel, & LeDoux, 1997; Nader, Majidishad, Amorapanth, & LeDoux, 2001; Spampinato et al., 2011). El núcleo LA proyecta dentro del complejo basolateral (BA y BM), así como a zonas adyacentes del núcleo central y a estructuras que son su principal entrada de información excitatoria (Adhikari, 2014; Janak & Tye, 2015).

❖ *Núcleo Central (CeA)*. En el núcleo central de la amígdala se diferencian dos áreas, una lateral y otra medial, que están interconectadas de tal forma que el núcleo central lateral (CeL) inhibe al núcleo central medial (CeM) (Adhikari, 2014; Jolkkonen & Pitkanen, 1998; Tye et al., 2011). El CeM se ha propuesto como principal eferente de la amígdala hacia el núcleo laminar de la estría terminal (BNST) y otras regiones. Además, tanto el CeA como el BNST proyectan a diversos núcleos del hipotálamo y del tronco cerebral, que son primordiales en la mediación los signos conductuales y autonómicos del miedo (Adhikari, 2014; Canteras et al., 2010; Davis, 1992; Janak & Tye, 2015; LeDoux, Iwata, Cicchetti, & Reis, 1988; LeDoux, 2000; Viviani et al., 2011), principalmente en la expresión de reacciones defensivas ante amenazas de carácter inminente (McCue, LeDoux, & Cain, 2014). En concreto, el CeA proyecta sobre los núcleos hipotalámicos paraventricular (PVH) y lateral (LH) que participan en la respuesta neuroendocrina y las reacciones autonómicas, respectivamente. El CeA también proyecta a núcleos del tronco cerebral, como la sustancia gris periacueductal ventrolateral (PAGvl) que parece estar implicada en la respuesta de inmovilización condicionada o el núcleo parabraquial (PB) que modula características de la respuesta de ansiedad tales como la evitación de los espacios abiertos y el control de la respiración (Adhikari, 2014; Sah et al., 2003). Se ha comprobado que la lesión del núcleo central impide la respuesta de inmovilidad y las reacciones autonómicas propias del miedo condicionado (Blanchard & Blanchard, 1972; Hitchcock & Davis, 1986; Janak & Tye, 2015; Kapp, Frysinger, Gallagher, & Haselton, 1979; LeDoux, 2000).

Además de participar en las conductas de expresión del miedo, el núcleo central de la amígdala también parece estar involucrado en el aprendizaje asociativo condicionado (Ciocchi et al., 2010; Janak & Tye, 2015; Li et al., 2013; Nader et al., 2001). Esto se ha demostrado en situaciones específicas de sobreentrenamiento (Maren, 2011; Rabinak &

Maren, 2008; Zimmerman, Rabinak, McLachlan, & Maren, 2007). En esta misma línea, un estudio optogenético reciente informa que determinadas sinapsis en el CeL (PKC $\delta^-$ /SOM+) experimentan una potenciación dependiente de la experiencia de miedo condicionado, lo que indica que esta región también participa en la adquisición de la asociación entre los estímulos EC-EI, en lugar de ser un simple centro de relevo de información de la LA (Li et al., 2013). Este hallazgo demuestra la plasticidad del núcleo central de la amígdala y no solo del complejo basolateral (Janak & Tye, 2015). Dando un paso más, un estudio reciente de Penzo y cols. (2014), revela que una subpoblación neuronal del CeL proyecta directamente a la sustancia gris pericueductal (PAG) y al núcleo paraventricular del tálamo (PVT), sin pasar por el CeM. Este hallazgo sugiere que el CeL, además de estar implicado en la adquisición del miedo, está conectado de forma directa con estructuras extra amigdalares implicadas en la expresión del miedo, por lo que aparte del CeM existen otras vías eferentes de la amígdala que participan en esta tarea (Janak & Tye, 2015).

❖ *Microcircuito intra-amigdalares BLA-CeA*. El microcircuito amigdalares resulta bastante complejo. En líneas generales, los estudios indican que el núcleo lateral (LA) proyecta al núcleo central directamente hacia su zona lateral (CeL); sin embargo, no proyecta de forma directa hacia la zona medial (CeM) (Janak & Tye, 2015) sino a través del núcleo basal (BA) y de neuronas inhibitoras del núcleo intercalado (Canteras et al., 2010; Duvarci & Pare, 2014; Maren, 2011; Pitkanen, Savander, & LeDoux, 1997). En los últimos años, se ha comenzado a profundizar en este microcircuito intra-amigdalares BLA-CeA, así como en las propias conexiones del CeA, gracias a las técnicas optogenéticas de manipulación específica de proyecciones y tipos celulares.

La técnica optogenética ha resultado clave para identificar dos poblaciones de neuronas inhibitoras en el CeL que son genéticamente y funcionalmente distintas en la expresión del miedo condicionado. Por una parte, una subpoblación de neuronas del CeL se inhibe en presencia del estímulo condicionado y expresan proteinkinasa C (CeL<sub>OFF</sub>: PKC $\delta^+$ ), mientras que otras neuronas se activan (CeL<sub>ON</sub>: PKC $\delta^-$ ) con una latencia de respuesta menor que las primeras (Cicchi et al., 2010; Haubensak et al., 2010). Esto ha llevado a sugerir que la respuesta de miedo se produce tras activación de las neuronas CeL<sub>ON</sub> que inhiben a las neuronas CeL<sub>OFF</sub>, las cuales a su vez inhiben el núcleo central medial (Janak & Tye, 2015), con lo que finalmente la respuesta ansiogénica parece que se induce a través de desinhibición del CeM. Por otra parte, en un estudio optogenético

pionero realizado en ratones expuestos a test conductuales de ansiedad como el EPM y open-field (Tye et al., 2011), se halló que la activación optogenética no específica o completa de la BLA era capaz de producir conductas ansiogénicas en el ratón; mientras que la fotoactivación selectiva de las proyecciones BLA-CeL ejerce un efecto ansiolítico y, por el contrario, su inactivación óptica produce un efecto conductual ansiogénico. Como se ha demostrado mediante manipulación optogenética con este experimento, las proyecciones específicas de una región del cerebro pueden codificar información que no es posible extraer de la activación o inhibición no específica de toda una región cerebral (Adhikari, 2014; Allsop, Vander Weele, Wichmann, & Tye, 2014). En este estudio, estos autores proponen que una proyección glutamatérgica específica del BLA hacia el CeL puede facilitar la ansiólisis. Aunque en el estudio citado se desconoce la identidad de las neuronas CeL activadas por la estimulación óptica de terminales BLA, se ha sugerido que podrían ser del tipo CeL<sub>OFF</sub>: PKC $\delta^+$ , ya que se ha demostrado que la fotoactivación de estas neuronas tiene un efecto ansiolítico en el test del laberinto elevado en cruz registrando un incremento del tiempo en brazo abierto (Cai, 2014; Janak & Tye, 2015). Esto está en consonancia con experimentos anteriormente expuestos realizados en el paradigma del miedo condicionado (Ciocchi et al., 2010; Haubensak et al., 2010), por lo que, en conjunto, el modelo actual parece indicar que diferentes poblaciones del complejo basolateral de la amígdala activan distintas poblaciones de neuronas del núcleo central lateral (CeL), que o bien promueven el miedo o bien reducen la ansiedad (Janak & Tye, 2015).

❖ *Núcleo medial (MeA)*. La detección de un estímulo olfatorio proveniente de un depredador activa un circuito neuronal que es en cierta forma independiente del expuesto anteriormente, y que implica en especial a los núcleos medial y corticales de la amígdala, desencadenando una respuesta de miedo innata particular (Adhikari, 2014; Canteras et al., 2010; Li, Maglinao, & Takahashi, 2004). Cuando el animal detecta el olor del depredador, éste se procesa como una feromona-olor a través del bulbo olfatorio accesorio-principal, respectivamente. La información olfativa en la amígdala se procesa por el núcleo medial (MeA) (Canteras et al., 2010; McGregor, Hargreaves, Apfelbach, & Hunt, 2004), mientras que la información auditiva y visual del depredador se procesa por el núcleo basal accesorio (BA) (Adhikari, 2014; Canteras & Blanchard, 2008). Las proyecciones eferentes del MeA se dirigen de forma directa al hipotálamo medial, principalmente al núcleo ventromedial y también de forma indirecta a través del BNST



(Canteras et al., 2010). Se ha comprobado que la exposición a la señal de un predador activa el llamado “*circuito defensivo hipotalámico medial*”, el cual constituye un circuito formado por el núcleo anterior (AH), la parte dorsomedial del núcleo ventromedial (VMHdm) y el núcleo premamilar dorsal (PMd) (Canteras, 2002; Martinez, Carvalho-Netto, Amaral, Nunes-de-Souza, & Canteras, 2008). A su vez, la sustancia gris periacueductal en su zona dorsomedial y dorsolateral (PAGdm) representa la región principal del tallo cerebral del sistema defensivo hipotalámico medial (Canteras & Goto, 1999; Canteras et al., 2010). Se ha comprobado que esta ruta amigdalohipotalámica se activa ante estímulos depredadores, tanto en ratas expuestas a gatos (Canteras, Ribeiro-Barbosa, & Comoli, 2001), como en ratones expuestos a ratas (Martinez et al., 2008), y también existen evidencias de que la lesión del circuito defensivo hipotalámico medial reduce de forma muy efectiva la respuesta defensiva antipredatoria (Blanchard et al., 2003; Canteras, Chiavegatto, Ribeiro Do Valle, & Swanson, 1997).

#### ❖ *La amígdala extendida: BNST*

El núcleo laminar de la estría terminal (BNST) representa la base del concepto de “amígdala extendida” propuesto por Heimer y Alheid para denominar a un conjunto de estructuras anatómica y funcionalmente relacionadas que incluyen el BNST, la sustancia innominada (SI) y los núcleos centromediales de la amígdala (Alheid & Heimer, 1988). Estos autores confirmaron que existe una continuidad directa entre el BNST y los núcleos amigdalinos central y medial, en los que se observa un perfil similar neuroquímico (Woodhams, Roberts, Polak, & Crow, 1983) y morfológico (McDonald, 1983), y que además se encuentran conectados por unos cordones celulares que forman parte de la sustancia Innominada. El BNST recibe bastantes proyecciones aferentes de la amígdala y, al igual que ésta, proyecta a diversos núcleos hipotalámicos y del tronco encefálico (Adhikari, 2014; De Olmos & Ingram, 1972; Dong, Petrovich, & Swanson, 2001; LeDoux, 2000). La división central de la amígdala extendida (CeA, BNSTl) proyecta principalmente al hipotálamo lateral y diversas zonas del tronco encefálico tales como la PAG, los núcleos parabraquiales, la formación reticular y el núcleo del tracto solitario. La división medial de la amígdala extendida (MeA, BNSTm) proyecta fundamentalmente al hipotálamo medial (Nieuwenhuys, Voogd, & Van Huijzen, 2009).

Como sucede con la amígdala, el BNST se ha relacionado con la respuesta conductual de ansiedad. Los estudios de neuroimagen en humanos sugieren que la actividad del

BNST correlaciona con incremento del nivel de ansiedad (Somerville, Whalen, & Kelley, 2010; Yassa et al., 2012). Sin embargo, los resultados con estudios animales no son conclusivos, ya que se ha registrado con el test del laberinto elevado en cruz tanto una ausencia de efecto conductual tras la lesión (Treit, Aujla, & Menard, 1998) o estimulación (Van Dijk et al., 2013) del BNST, como un efecto ansiogénico (Duvarci et al., 2009); mientras que el bloqueo del BNST con un antagonista glutamatérgico usando el test del paradigma de sobresalto potenciado por luz parece producir un efecto ansiolítico (Walker & Davis, 1997b). Una posible explicación para estos resultados dispares es que diferentes regiones del BNST regulen la ansiedad en sentidos opuestos, o bien, que exista una diferenciación funcional de las neuronas alojadas en un mismo núcleo. Dos recientes estudios optogenéticos parecen apoyar ambas hipótesis. Kim y cols. (2013) demostraron que la inactivación óptica de un subgrupo de neuronas con terminales en el núcleo oval del BNST ejerce un efecto ansiolítico (neuronas BLA/BNSTo), mientras que la inactivación del BNST anterodorsal (BLA/adBNST) parece inducir un efecto ansiogénico (Adhikari, 2014; Janak & Tye, 2015; Kim et al., 2013). Por otro lado, también se ha aportado evidencia de que las células del BNST difieren en su perfil neuroquímico (Adhikari, 2014; Jennings et al., 2013; Walter, Mai, Lanta, & Göracs, 1991). Recientes hallazgos indican que la activación optogenética de las neuronas glutamatérgicas BNST que proyectan al área tegmental ventral (BNSTglu/ATV) induce un efecto ansiogénico y se activan en presencia de un estímulo aversivo, mientras que la fotoactivación de las neuronas GABAérgicas que proyectan al ATV (BNSTgaba/ATV) induce un efecto ansiolítico y gratificante, inhibiéndose en presencia de estímulos aversivos (Jennings et al., 2013). Estos resultados sugieren que en el estudio del BNST, o de cualquier otra estructura que esté implicada en la regulación de la ansiedad, es necesario tener en cuenta tanto núcleos específicos, como la conectividad anatómica y funcionalidad de proyecciones específicas de estos núcleos, ya que de lo contrario se corre el riesgo de simplificar erróneamente la ajustada dinámica de la expresión de las características conductuales de la ansiedad (Janak & Tye, 2015).

### 3.2.3. Neuroquímica de la ansiedad

Los circuitos anatómicos subyacentes a la respuesta de ansiedad se encuentran modulados por diferentes sistemas de neurotransmisión. Se ha identificado la participación de sustancias de naturaleza peptídica tales como el CRF, neuropéptido Y, CCK, opioides, hipocretinas y sustancia P; monoaminas como la serotonina, dopamina y

noradrenalina; y aminoácidos como el glutamato y el GABA. Estos sistemas tienen una función adaptativa al proporcionar al organismo la capacidad de responder ante una situación de peligro, ya que incrementa la activación y la vigilancia, movilizan recursos energéticos, elevan la función cardiovascular e incluso modulan la consolidación de las memorias en curso (Redolar, 2012). Sin embargo, no es posible sacar conclusión sobre su función concreta en la ansiedad, sin considerar su lugar de acción y los subtipos de receptores implicados (Steimer, 2002).

#### ❖ *Noradrenalina*

Las primeras teorías biológicas sobre la ansiedad y los trastornos relacionados, a pesar de considerar posibles anomalías en otros sistemas, se centraban principalmente en la activación noradrenérgica central. El núcleo coeruleus (LC) contiene más del 50% de las neuronas noradrenérgicas del SNC, está situado en la protuberancia y proyecta a estructuras que están muy relacionadas con el sustrato de la ansiedad como la amígdala, el hipocampo y la neocorteza. Este núcleo ha sido objeto de atención en estudios experimentales con modelos animales, en los cuales tras su estimulación eléctrica se observa una marcada respuesta de miedo, mientras que su ablación quirúrgica disminuye la respuesta de miedo frente a la amenaza. También se ha comprobado que la exposición a estímulos que generan ansiedad o provocan estrés incrementan la actividad central noradrenérgica en el LC, en el hipocampo, en la amígdala, en el hipotálamo y en la corteza cerebral (Redolar, 2012; Steimer, 2002; Tanaka, Yoshida, Emoto, & Ishii, 2000).

Los fármacos que aumentan la descarga del LC tienen generalmente propiedades ansiogénicas en animales y humanos, mientras que los que disminuyen la descarga tienen mayormente un efecto ansiolítico. En animales, se ha hallado que la administración de yohimbina (antagonista presináptico  $\alpha_2$ -adrenérgico) produce un incremento de NA con efectos ansiogénicos en ratas (Durant, Christmas, & Nutt, 2010; Steimer, 2002). En ratones, la ansiedad inducida por cocaína se ha relacionado con la activación de receptores  $\beta$  (Durant et al., 2010; Redolar, 2012). Por otra parte, varios síntomas recurrentes de trastornos de ansiedad humanos (tales como los ataques de pánico, insomnio, una elevada respuesta de sobresalto, signos subjetivos de ansiedad y activación crónica periférica simpática) se tratan clínicamente con fármacos que disminuyen el tono simpático (clonidina, propranolol, benzodiazepinas, etc.) (Durant et al., 2010; Redolar, 2012). En esta misma línea, el trastorno de pánico y el PTSD se han relacionado con aumentos de

la sensibilidad de los receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  y con una elevación en suero y orina de noradrenalina y de su metabolito, aunque con resultados no siempre consistentes. Asimismo, se ha observado que la exposición crónica a experiencias estresantes puede aumentar la respuesta de las neuronas del LC ante estímulos ansiogénicos (Arnau & Francisco, 2000).

Sin embargo, resultan interesantes ciertas inconsistencias farmacológicas. Por ejemplo, se ha comprobado que la bupiriona, un agonista parcial serotoninérgico que también eleva el tono simpático en locus coeruleus, tiene efectos ansiolíticos comprobados y usados en la clínica. También, llama la atención que la mirtazapina, un antagonista  $\alpha_2$  que incrementa la actividad en el LC, tenga una eficacia ansiolítica demostrada (Durant et al., 2010). Se ha planteado que esta inconsistencia en los resultados puede deberse a la interacción de estos fármacos con otros receptores monoaminérgicos (Steimer, 2002); sin embargo, fármacos inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) útiles en el tratamiento del trastorno de pánico, no parecen tener efectos sobre el sistema noradrenérgico. En realidad, todas estas evidencias, junto con diversos avances en el conocimiento de las bases psicobiológicas de la ansiedad, indican que el intento de explicar las alteraciones observadas como resultado de la hiper o hipoactividad de un sistema de neurotransmisión es una visión cuanto menos desacertada. Son varios los hallazgos en el estudio de la ansiedad que implican diversos sistemas de neurotransmisión, los cuales además interactúan entre sí de forma compleja.

#### ❖ *Serotonina*

El sistema serotoninérgico participa estrechamente en la patofisiología y el alivio terapéutico de los trastornos relacionados con el estrés, tales como la ansiedad y la depresión. La modulación serotoninérgica de la respuesta aguda al estrés y la adaptación al estrés crónico se encuentran mediadas por una serie de moléculas que controlan el desarrollo de la neurona serotoninérgica (Pet-1), la síntesis de serotonina (triptófano hidroxilasa), empaquetado (transportador vesicular de monoaminas 2), la acción de receptores pre y post sinápticos (5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT2A, 5-HT2C, 5-HT3A, 5-HT4, 5-HT5A, 5-HT6, 5-HT7), la recaptación de serotonina (proteína transportadora SERT) y su degradación (monoamino oxidasa-A). Diferentes evidencias experimentales han sugerido que podría existir una relación funcional entre el sistema de neurotransmisión serotoninérgico y la ansiedad. La exposición a estímulos que son capaces de inducir estrés

agudo altera los niveles de serotonina en la CPFmedial, en el núcleo accumbens, en la amígdala lateral y en el hipotálamo lateral. También se ha podido comprobar que la expresión del gen del receptor postsináptico 5-HT<sub>1A</sub> está regulada de manera inhibitoria por los glucocorticoides, de forma que en la respuesta de estrés a largo plazo se reduce el nivel de ARNm del receptor postsináptico 5-HT<sub>1A</sub> (Redolar, 2012).

Los receptores 5-HT<sub>1</sub> son metabotrópicos Gi/o (con proteína G acoplada negativamente a la encima adenilciclase, y disminuye el AMPc), por lo que su activación produce hiperpolarización de la membrana y disminución de la excitabilidad en la neurona serotoninérgica. Este receptor se expresa en dos poblaciones diferentes de neuronas: como autorreceptor somatodendrítico en neuronas serotoninérgicas del rafe dorsal y como heterorreceptor en neuronas del prosencéfalo (principalmente hipocampo, septum lateral y amígdala central) (Redolar, 2012). En los últimos 25 años se ha investigado el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, sin llegar a tener éxito en el desarrollo de ligandos selectivos con finalidad terapéutica ansiolítica (Olivier, 2015). Aunque es destacable el efecto ansiolítico de la Buspirona (agonista parcial 5-HT<sub>1A</sub> y antagonista D<sub>2</sub>) o de la sustancia spinosina (un flavonoide no selectivo que actúa sobre receptores 5-HT<sub>1A</sub> y GABA-, con efectos ansiolíticos en modelos animales EPM y OF) (Liu et al., 2015), sería interesante también estudiar los efectos de la droga F15599 (agonista 5-HT<sub>1A</sub> postsináptico) para ayudar a delimitar el papel del sistema serotoninérgico en la ansiedad (Olivier, 2015). Actualmente, a pesar de la falta de ansiolíticos que actúen mediante el receptor 5-HT<sub>1A</sub>, existen bastantes estudios que muestran la implicación de este receptor en la ansiedad, tanto preclínicos como clínicos (Akimova, Lanzenberger, & Kasper, 2009; Altieri, Garcia-Garcia, Leonardo, & Andrews, 2013; Garcia-Garcia, Newman-Tancredi, & Leonardo, 2014; Olivier, 2015), lo que parece indicar que la alteración del funcionamiento de este receptor es reflejo de un factor de vulnerabilidad en la psicopatología emocional (Garcia-Garcia et al., 2014). Además, en modelos animales también existen evidencias indirectas de que la acción ansiolítica del 5-HT se produce por mediación del receptor 5-HT<sub>1A</sub>, ya que su genoanulación en ratones produce un perfil ansiogénico no solo a nivel conductual (Gingrich & Hen, 2001; Olivier et al., 2001; Steimer, 2002), sino también a nivel de la respuesta autonómica (Pattij et al., 2002; Steimer, 2002), por lo que parece que existen argumentos sólidos a favor de que la expresión genética del receptor 5-HT<sub>1A</sub> tiene una función relevante en las conductas relacionadas con la ansiedad.

Por el contrario, la expresión del gen del receptor 5-HT<sub>2A</sub> se regula al alza con el estrés crónico o con la administración de glucocorticoides. Los receptores de la familia 5-HT<sub>2</sub> son metabotrópicos Gq/11 (con proteína G acoplada positivamente a la enzima fosfolipasa-C “PLC” que produce liberación intracelular de inositol trifosfato “IP<sub>3</sub>”, ión calcio “Ca<sup>2+</sup>” diacilglicerol “DAG”), por lo que su activación produce despolarización de la membrana y aumento de la excitabilidad neuronal. Aunque se sabe que la serotonina está implicada en la regulación de la ansiedad, en general, los datos no muestran acuerdo respecto a si la potencia o la disminuye, probablemente porque la función de esta amina depende del tipo de receptor serotoninérgico implicado. Así, un agonista del receptor 5-HT<sub>2C</sub> tal como la metaclorofenilpiperacina (mCPP) tiene efectos ansiogénicos en los seres humanos y pueden inducir ataques de pánico, obsesiones, y otros síntomas neuropsiquiátricos, mientras que inhibidores selectivos de la recaptación de 5-HT (ISRS) y fármacos selectivos del receptor 5-HT<sub>1A</sub> o 5-HT<sub>3</sub> pueden tener efectos ansiolíticos en animales (Bagdy, 1998; Steimer, 2002).

Sobre la base de los datos obtenidos de modelos animales, Graeff (1996; 1997) propuso una hipótesis serotoninérgica dual en la regulación del miedo, en la que sugiere que la inervación serotoninérgica de la amígdala y del hipocampo media los efectos ansiogénicos de la estimulación del receptor 5-HT<sub>2A</sub>, mientras que la expresión de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> en el hipocampo y la corteza podría tener un efecto ansiolítico (Redolar, 2012). Este investigador afirmó que la vía serotoninérgica ascendente que procede del núcleo del rafe dorsal inerva la amígdala y la corteza frontal facilitando el miedo condicionado, mientras que la vía del DRN periventricular inerva la sustancia gris periacueductal (PAG) inhibiendo las reacciones innatas de lucha/huida ante un peligro inminente. Además, propuso que la vía que conecta el núcleo rafe medial (MRN) al hipocampo puede provocar resistencia al estrés crónico facilitando la transmisión de 5-HT<sub>1A</sub> hipocampal. Estos resultados demuestran que no es posible sacar conclusiones sobre la función ansiogénica o ansiolítica del 5-HT, sin considerar su lugar de acción en el cerebro y los subtipos de receptores implicados.

### ❖ *Dopamina*

El estrés agudo incrementa la liberación de dopamina en múltiples regiones cerebrales. Las proyecciones dopaminérgicas al córtex prefrontal medial son más sensibles a este efecto en comparación con las proyecciones mesoaccumbicas o las

nigroestriatales. La dopamina tiene un papel importante en el miedo y la ansiedad modulando el freno que la CPFm ejerce sobre la información ansiogénica que proviene de la amígdala. Además, ejerce una influencia importante en el microcircuito entre el núcleo basolateral y el núcleo central de la amígdala. Conductualmente, la administración intramigdalina de agonistas y antagonistas D1 produce efectos ansiogénicos y ansiolíticos, respectivamente, en modelos de miedo condicionado e incondicionado. Esto sugiere que los receptores D1 tiene una función ansiogénica en la amígdala. Sin embargo, el efecto de los fármacos agonistas y antagonistas D2 depende más bien de la naturaleza de la amenaza, por lo que puede ser que esté implicado en la creación de respuestas adaptativas frente a estímulos aversivos. Estos datos sugieren que los receptores dopaminérgicos de la amígdala tienen funciones distintas en la modulación de la ansiedad en animales (De La Mora, Gallegos-Cari, Arizmendi-García, Marcellino, & Fuxe, 2010).

Además, se ha hallado que el sistema dopaminérgico se encuentra inhibido por otros sistemas de neurotransmisión como el del GABA y el 5-HT, lo que puede ser un factor esencial en los trastornos de ansiedad. En este sentido, una reducción de GABA-A, 5-HT<sub>1A</sub> y del transportador de serotonina (SERT) pueden ser que derive en un aumento de la actividad de la vía mesolímbica dopaminérgica y en una sensibilización del receptor D2 del estriado, debido al aumento de dopamina disponible (Nikolaus, Antke, Beu, & Müller, 2010). En consonancia, en pacientes con altos niveles de ansiedad generalizada y con frecuentes ataques de pánico se han encontrado altas concentraciones plasmáticas de HVA (metabolito DA), lo que indica una hiperfuncionalidad de este neurotransmisor en estos trastornos (Redolar, 2012).

#### ❖ GABA

El ácido  $\gamma$ -Aminobutírico (GABA) es el neurotransmisor inhibitor más abundante en el cerebro. El receptor GABA-A es una compleja macromolécula acoplada a un canal de Cl<sup>-</sup> con cinco dominios principales de unión a diferentes sustancias. Uno de estos dominios es el receptor en el que se unen las benzodiazepinas, de tal forma que el receptor GABA-A/BZD es el lugar de acción de diversas drogas ansiolíticas (Olivier, Vinkers, & Olivier, 2013; Steimer, 2002).

Se ha comprobado que la administración de agonistas de este receptor, como el diazepam (Steimer, 2002), en regiones del sistema límbico y del tronco del encéfalo (como amígdala y PAG) reduce los síntomas de ansiedad en modelos animales. En

concreto, el efecto ansiolítico parece estar mediado por la subunidad  $\alpha 2$  del receptor GABA-A, pero no por las subunidades  $\alpha 1$  o  $\alpha 3$  (Redolar, 2012; Wislowska-Stanek et al., 2013).

Por el contrario, los antagonistas del receptor GABA-A provocan ataques de pánico y aumento de la ansiedad anticipatoria en pacientes con trastorno de pánico. También se ha comprobado que la administración de agonistas inversos produce un claro perfil ansiogénico, como ocurre con las  $\beta$ -carbolinas (Steimer, 2002), que incrementan la presión sanguínea, la tasa cardíaca y los niveles de cortisol y de catecolaminas en sangre; o el de la sustancia L-655,708 (Navarro, Burón, & Martín-López, 2002) que reduce la exposición a los espacios abiertos en ratones expuestos al laberinto elevado en cruz. Este efecto ansiogénico podría estar mediado por la subunidad  $\alpha 5$  del receptor GABA-A, presente principalmente en el hipocampo y el bulbo olfatorio, regiones que han sido implicadas en la modulación de la ansiedad (Bailey, Tetzlaff, Cook, He, & Helmstetter, 2002; Navarro et al., 2002). En conjunto, la transmisión del GABA parece tener un papel fundamental en los trastornos relacionados con la ansiedad (Tasan et al., 2011).

#### ❖ *Glutamato*

El glutamato, principal excitador del sistema nervioso, también participa en el procesamiento de la ansiedad y de sus trastornos relacionados (Cortese & Phan, 2005). Parece ser que existe una relación inversa entre el nivel de glutamato presente en el CPFm y el aumento de conductas de riesgo observado en ratas expuestas al EPM (Cortese et al., 2010). Otros estudios, han hallado una concentración elevada de glutamato en el sistema límbico en animales sometidos a un aprendizaje de miedo condicionado (Walker & Davis, 2002) y en ratones con un nivel de ansiedad rasgo elevado (Zhang et al., 2011).

Por otra parte, las sustancias que alteran la transmisión del glutamato tienen efectos sobre las conductas relacionadas con la ansiedad (Cortese & Phan, 2005). En ratas expuestas al laberinto elevado en cruz, se ha encontrado una posible relación inversa entre la ejecución de conductas de riesgo y el nivel de glutamato en la corteza prefrontal medial, mientras que se observa una asociación positiva con el nivel de glutamato en el hipocampo (Cortese et al., 2010). En humanos sanos, se ha observado un incremento de la concentración de glutamato tras la inducción de pánico con colecistoquinina (Zwanzger et al., 2013). Otro estudio reciente, demuestra la relación entre alteraciones del glutamato



en ciertas regiones cerebrales (córtex cingulado anterior e hipocampo) y la respuesta de ansiedad en sujetos sanos (Modi et al., 2014).

#### ❖ *Neuroesteroides neuroactivos (NAS)*

Los neuroesteroides neuroactivos (NAS) son esteroides que, independientemente de su origen, son capaces de modificar o modular la actividad neuronal. Los NAS se unen y modulan a diferentes tipos de receptores, por ejemplo, son esenciales en la modulación alostérica del receptor GABA-A, receptores sigma, así como receptores de la familia del glutamato (NMDA, AMPA, y kainatos), entre otros (Dubrovsky, 2005). Se ha demostrado que regulan el estado de ánimo, interfiriendo en trastornos de depresión, ansiedad, sueño y de memoria (Dubrovsky, 2005; Majewska, 1987). En concreto, los moduladores alostéricos positivos del GABA tales como la progesterona y la alopregnanolona, tienen efectos ansiolíticos en modelos animales. Los neuroesteroides son un importante neuromodulador endógeno en la fisiología y patofisiología de la ansiedad y pueden constituir una línea de tratamiento para estos trastornos (Longone et al., 2011).

#### ❖ *Neuropéptidos*

*Hormona Adrenocorticotropa (CRH)*. En condiciones de estrés agudo, la activación del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal produce un aumento de glucocorticoides en sangre. Estas sustancias suprimen la actividad del eje y reducen la expresión del CRH en el núcleo paraventricular del hipotálamo. Se ha demostrado que la retroalimentación positiva provocada por los glucocorticoides en la actividad extrahipotalámica del CRH, en la amígdala y en el núcleo del lecho de la estría terminal, contribuye a la producción de los síntomas de ansiedad que aparecen en diferentes trastornos, principalmente mediada por la estimulación de los receptores CRH-R1. Además, existe una interacción recíproca entre el eje HPA y la noradrenalina. Por una parte, la secreción de CRH aumenta la actividad neuronal en el LC provocando un aumento de la liberación de NA en distintas regiones corticales y subcorticales. Por otra parte, la liberación de NA estimula la secreción del CRH en el núcleo paraventricular del hipotálamo.

*Colecistoquinina (CCK)*. Es un neuropéptido que se encuentra principalmente en la corteza, el hipocampo, la sustancia negra, los núcleos del rafe, la amígdala y la sustancia gris periacueductal. Se ha comprobado que los antagonistas de los receptores CCK tienen

efectos ansiolíticos, mientras que los agonistas inducen ansiedad (Zwanzger et al., 2013). La CCK puede ser especialmente relevante en el trastorno de estrés postraumático y en el trastorno de pánico.

*Neuropéptido Y.* Se ha propuesto que el Neuropéptido Y es un neuromodulador que se opone funcionalmente al eje HPA, y constituye una forma de compensación ante una respuesta de ansiedad elevada. Se ha hallado que su administración atenúa los síntomas de ansiedad en animales.

### **3.3. El estudio de la agresión en modelos animales**

#### **3.3.1. Clasificación de los modelos animales de agresión**

La conducta agresiva es un comportamiento básico y primario con un amplio rango de conservación filogenético, que pone de relieve la importancia de este tipo de conductas en la supervivencia y bienestar de los animales. Aunque los patrones típicos de la conducta agresiva sean diferentes entre especies, existen diversas concordancias en la neurobiología de la agresión entre roedores, primates y humanos (Barr & Driscoll, 2014; Takahashi & Miczek, 2014). En este sentido, los modelos animales de agresión intentan representar algún aspecto de la etiología, sintomatología o tratamiento de la agresión humana, facilitando tanto la identificación de nuevas sustancias con propiedades antiagresivas, como el estudio de los mecanismos biológicos implicados en la regulación de la agresión. En concreto, desde que se completó el mapeo del genoma del ratón en el 2002 (Waterston et al., 2002), los ratones han sido el foco de la mayoría de los estudios que utilizan modelos de agresión en roedores y su uso resulta bastante habitual debido al extenso control sobre la cría y cada aspecto de su desarrollo temprano (Yoshiki & Moriwaki, 2006).

Por otra parte, aunque la conducta agresiva sea altamente adaptativa y pueda observarse en casi todas las especies animales, ésta no tiene una finalidad ni mucho menos unitaria. La conducta agresiva puede servir para proteger el acceso a los recursos y el territorio de los intrusos, funcionar como defensa contra predadores o ataques de congéneres o también puede ser usada instrumentalmente para obtener lo que se desea. Es decir, se observa en un amplio rango de condiciones naturales y seminaturales que pueden intentar reproducirse en laboratorio mediante el uso de modelos animales (Haller & Kruk, 2006; Kemble, Blanchard, & Blanchard, 1993).

En cuanto se profundiza un poco en la literatura disponible, nos percatamos de que en realidad los autores se refieren a varios tipos de agresión, y que existen diversas clasificaciones en función del criterio que se use, por lo que antes de pasar a describir los modelos de agresión, resulta necesario definir qué entendemos por conducta agresiva animal. En este apartado explicaremos los principales tipos y definiciones de la conducta agresiva animal (Tabla 3.3), y en la segunda parte, se expondrá una clasificación de los modelos de agresión animal más utilizados en investigación (Tabla 3.4), atendiendo al tipo de manipulación que efectuamos sobre éstos, según Miczek & Winslow (1987).

#### ❖ *Tipos de conducta agresiva animal*

En el ámbito de la etología, una de las primeras distinciones que hay que tener en cuenta hace referencia a un adecuado balance del coste-beneficio de la conducta agresiva. Se ha adoptado el término de “conductas agresivas típicas de la especie”, teniendo en cuenta la especificidad estimular y funcional de la conducta agresiva, lo que en definitiva permite una mayor adaptación al medio reportando una serie de beneficios o recursos (comida, agua, territorio, pareja, descendencia, rango social) y la capacidad de conservarlos. Sin embargo, la agresión está determinada por un necesario análisis del coste-beneficio, ya que existe un riesgo de daño asociado que puede llevar a la muerte y en el mejor de los casos a un elevado gasto de energía (Haller, 1995; Smith & Price, 1973). Cuando el balance coste-beneficio se altera y el animal muestra un nivel de agresión exagerado, se habla de una conducta no adaptativa que se denomina agresión patológica o escalada, diferenciándola de este modo de la agresión normal como ya indicó Valzelli (1988). Por tanto, al elegir un modelo de agresión animal, se deben tener en cuenta las diferencias que existen entre el significado ecológico-etológico de la conducta agresiva (agresión típica de la especie) y la violencia desadaptativa (agresión escalada).

#### *Conducta agresiva típica de la especie.*

Desde el punto de vista etológico, el carácter polimorfo de la expresión de la conducta agresiva animal, abarca un rango de patrones característicos de cada especie. En las últimas décadas, se han propuesto diferentes sistemas de clasificación de la agresión, que tienden a solaparse y mostrar diferencias sutiles entre sí. En la Tabla 3.3, se muestra un resumen de las tipologías de la conducta agresiva animal típica de la especie, junto al criterio de clasificación empleado. Uno de los primeros sistemas de clasificación de la conducta agresiva fue el desarrollado por Moyer (1968), basándose en los estímulos que

la suscitan diferenciación entre: agresión entre machos (“*Intermale*”), inducida por miedo, *Irritativa, Territorial, Maternal, Sexual, Instrumental y Predatoria*. Por su parte, Valzelli (1988) estableció una clasificación que era virtualmente idéntica a la tipología de Moyer, sin embargo incluyó el término de “agresión competitiva” y “agresión defensiva” que en cierta forma se corresponden con las categorías de “agresión entre machos” y “agresión inducida por miedo”, e hizo especial énfasis en el tipo de “agresión irritativa” (Weinshenker & Siegel, 2002).

La clasificación de Moyer ha tenido una gran aceptación y resulta práctica para referirnos a las conductas agresivas en función del estímulo y la situación en la que se producen. Posteriormente, el grupo de Reis expuso una versión simplificada distinguiendo entre dos tipos de agresión, la “*afectiva*” y la “*predatoria*” (Reis, 1971; Reis, Doba, & Nathan, 1973). Esta clasificación dicotómica se basa en la observación de que todas las categorías de Moyer se presentan acompañadas de un incremento de la actividad del sistema nervioso autónomo, a excepción de la agresión predatoria que no parece expresar una carga emocional (Eichelman, 1978). Llegados a este punto, resulta preciso aclarar que el tipo de agresión predatoria es cualitativamente distinto del concepto de conducta agonística que citamos inicialmente y que se ha utilizado en varios modelos animales de agresión (Scott, 1966). En este aspecto, desde el ámbito de la etología se ha hecho la observación de que la conducta predatoria parece corresponderse más con las conductas relacionadas con la alimentación que con el resto de conductas agresivas.

A lo largo de la literatura científica en torno al concepto de agresión, tanto animal como humana, resulta bastante común el uso de diversas clasificaciones dicotómicas de la agresión. El fondo conceptual común es tratar de diferenciar la conducta agresiva primaria con una carga emocional incontrolada, y que se produce en reacción a un estímulo provocador o percibido como amenazante, de aquella conducta agresiva controlada y propositiva que no es provocada ni mediada por la emoción y que puede aprenderse. Varios autores han empleado una terminología variada con este propósito, llegando a distinguir entre agresión *afectiva/predatoria* (Ramírez & Andreu, 2006; Reis, 1971; Reis et al., 1973; Vitiello, Behar, Hunt, Stoff, & Ricciuti, 1990), agresión *hostil-impulsiva/instrumental* (Crick & Dodge, 1996; Kingsbury, Lambert, & Hendrickse, 1997), agresión *reactiva/proactiva* (Crick & Dodge, 1996; Dodge & Coie, 1987; Kempes, Matthys, De Vries, & Van Engeland, 2005) y agresión *impulsiva* o “*en*

*caliente*”/ *premeditada* o “en frío” (Barratt & Slaughter, 1998; Houston, Stanford, Villemarette-Pittman, Conklin, & Helfritz, 2003).

Actualmente, cuando se estudia la conducta agonística en modelos roedores, existe bastante consenso para utilizar los términos de “*conducta agonística ofensiva*” y “*conducta agonística defensiva*” teniendo en cuenta para ello las condiciones antecedentes que precipitan la agresión, la topografía de la conducta y sus consecuencias (Adams, 2006; Blanchard & Blanchard, 1989; Brain, 1979; Brain, 1979; Dodge & Coie, 1987; Pulkkinen, 1987). Esta distinción entre agresión defensiva /ofensiva derivada de la etología, destaca por su funcionalidad, universalidad y además parece que se corresponde con una diferenciación a nivel de los mecanismos cerebrales implicados (Olivier & Young, 2002).

Una consideración previa necesaria respecto a la dicotomización de los tipos de agresión es el riesgo de equiparar el concepto de agresión ofensiva con la relación de términos expuestos anteriormente (*instrumental- proactivo- premeditado- en frío*). Respecto a esto, Chichinadze y cols. (2011) indican que los animales dominantes (es decir, que ganan los encuentros agonísticos) presentan una alta actividad del sistema nervioso autónomo, bastante impulsividad conductual en el ataque y signos fisiológicos como la disminución de la testosterona que se relacionan con el estrés, por lo que los animales dominantes en encuentros agonísticos parecen mostrar un perfil que es esencialmente ofensivo, pero también afectivo e impulsivo (Cervantes & Delville, 2007; Chichinadze et al., 2011). Estos autores indican que en el contexto de los enfrentamientos agonísticos, la agresión que manifiestan ambos animales es fundamentalmente afectiva, pero difieren en que el animal subordinado presenta un tipo de agresión predominantemente defensiva inducida por miedo, mientras que el dominante presenta más bien un tipo de agresión ofensiva inducida por ira o frustración.

En particular, la conducta agonística entre ratones machos es en realidad una de las formas de agresión más estudiadas (Takahashi & Miczek, 2014). La “*conducta ofensiva*” entre congéneres machos está bastante ritualizada, se compone de amenazas laterales, persecuciones, tintineo de la cola especialmente en el ratón, posturas defensivas verticales y ataques directos generalmente en forma de mordiscos (Miczek & O'Donnell, 1978). En este caso el ataque se suele dirigir hacia las partes del cuerpo menos vulnerables como el costado o la espalda del oponente (Blanchard & Blanchard, 1977; 1989). Por otra parte, la “*conducta defensiva*” implica ataque en defensa propia, lo cual ocurre en respuesta a

---

una amenaza o a estímulos que inducen miedo, y normalmente se acompaña de la conducta de escape o huida. En roedores macho, las conductas específicas defensivas incluyen la huida, la paralización, posturas defensivas, amenazas y ataques defensivos que suelen dirigirse al hocico del oponente (Blanchard & Blanchard, 2003). Asimismo, también se ha estudiado la conducta agonística en hembras, generalmente en especies como el hámster dorado, en la que ambos géneros muestran un nivel elevado de agresión. En este caso, la mayoría de las conductas agresivas en roedores hembras van ligadas a la competición por la reproducción o a la protección de la prole.

### *Agresión escalada*

La “*agresión escalada*”, patológica o desadaptativa es un tipo de conducta agresiva en la cual se exceden los patrones de agresión típicos de la especie. La agresión escalada sirve de modelo para la conducta violenta en humanos y ha generado una gran actividad investigadora que se centra en la comprensión y control de la agresión patológica tanto en humanos como en animales (Siever, 2008; Volavka & Nolan, 2008). Existen varios modelos animales que se usan en la investigación de la agresión escalada; por ejemplo procedimientos ambientales de instigación y extinción conductual, procedimientos de administración de sustancias como el alcohol o esteroides anabolizantes y procedimientos quirúrgicos como la adrenalectomía, son capaces de producir este tipo de agresión (Antúnez, Martín-López, & Navarro, 2011; Miczek, Takahashi, Gobrogge, Hwa, & De Almeida, 2015).

La agresión escalada se caracteriza cuantitativamente por una latencia de ataque menor y por una mayor frecuencia y duración de los ataques en comparación con una respuesta de agresión normal o adaptativa, es decir, el animal tiene una mayor predisposición para atacar y una vez iniciada la conducta se muestra reacio a finalizarla (De Almeida, Ferrari, Parmigiani, & Miczek, 2005; Miczek et al., 2004). También existen una serie de diferencias cualitativas, entre las cuales destaca una mayor intensidad de los ataques o mordiscos y cambio en el objetivo de los mismos, ya que suelen dirigirse a zonas más vulnerables del cuerpo del oponente como la cabeza, la garganta o el vientre (mientras que las conductas agresivas ofensivas normales se caracterizan por mordiscos dirigidos a la espalda o los costados) (Haller & Kruk, 2006). Otro criterio cualitativo que indica que estamos ante un tipo de agresión escalada es que ésta tenga lugar de forma independiente al contexto, es decir que los ataques se produzcan sin tener en cuenta

---

aspectos tales como: el sexo, edad o naturaleza del oponente, el grado de oposición o responsividad del oponente, las características ambientales (territorio propio o una caja neutral) y una pérdida o ausencia de ritualismo en la conducta agresiva que se torna imprevisible con un aumento de la proporción ataque/amenaza (De Boer, Caramaschi, Natarajan, & Koolhaas, 2009; Haller, Mikics, Halasz, & Toth, 2005; Haller & Kruk, 2006). Estas características han llevado a indicar a diversos autores que el concepto humano de violencia podría referirse y extrapolarse a estos cambios cuantitativos y cualitativos presentes en la agresión escalada o patológica (Miczek, de Boer, & Haller, 2013; Natarajan & Caramaschi, 2010). De esta forma, la investigación sobre la agresión se ha visto influenciada tanto por aspectos filogenéticos y ontogenéticos, como por el significado etológico de la conducta agresiva y su adecuación al contexto.

**Tabla 3.3***Clasificaciones de las conductas agresivas típica de la especie*

Clasificación de la agresión animal según el estímulo elicitor (Moyer, 1968; Valzelli, 1988)	
A. Predatoria	Provocada por la presencia de una presa natural
A. entre machos ( <i>Competitiva, según Valzelli</i> )	Provocada por la presencia de un competidor masculino de la misma especie. Cuando el animal establece jerarquías en una colonia también puede llamarse agresión jerárquica o dominante.
A. inducida por miedo ( <i>Defensiva, según Valzelli</i> )	Provocada por el confinamiento o acorralamiento sin posibilidad de escape o por la presencia de algún agente amenazador
A. Irritativa	Provocada por la presencia de cualquier organismo u objeto atacable, o por estímulos especialmente nocivos o dolorosos (p.ej. “foot-shock”)
A. Territorial	Provocada por la necesidad de defensa de un área frente a los intrusos. Se vincula a las conductas de cortejo y reproducción. En muchas especies es estacional y se encuentra ligado a un fuerte control hormonal.
A. Maternal	Provocada por la proximidad de algún agente amenazador para las crías de la hembra.
A. Sexual	Provocada por estímulos sexuales ligados a la obtención de pareja.
A. Instrumental	Tendencia a comportarse agresivamente cuando en el pasado esta conducta ha sido particularmente reforzada.
Clasificaciones dicotómicas de la agresión animal	
Afectiva vs. Predatoria	(Ramírez & Andreu, 2006; Reis et al., 1973; Vitiello et al., 1990) -A.Afectiva: Agresión que se acompaña de una fuerte descarga simpática, por la presencia de diferentes estímulos que son percibidos como una amenaza. Incluye la agresión agonística tanto ofensiva como defensiva, y todos los tipos de agresión expuestos por Moyer a excepción de la A. predatoria. -A.Predatoria: Es la agresión provocada por la presencia de una presa natural y se caracteriza porque no se acompaña de activación simpática.
Reactiva vs. Proactiva	(Crick & Dodge, 1996; Dodge & Coie, 1987; Kempes et al., 2005) -A.Reactiva: En reacción a una agresión, provocación o amenaza percibida. -A.Proactiva: Iniciado intencionalmente para resolver un conflicto, conseguir un beneficio o recompensa, y que no implican que la motivación sea hacer daño a la víctima.
Hostil-Impulsiva vs. Instrumental	(Crick & Dodge, 1996; Kingsbury et al., 1997) Dependiendo de si la conducta agresiva se realiza porque ha sido reforzada, o por el contrario se trata de una conducta agresiva primaria.
Impulsiva o “en caliente” vs. Premeditada o “en frío”	(Barratt & Slaughter, 1998; Houston et al., 2003) Similar a la anterior enfatizando el componente cognitivo y la baja activación del sistema autónomo de la agresión premeditada o “en frío”.
Defensiva vs. Ofensiva	(Adams, 2006; Blanchard & Blanchard, 1989; Brain, 1979; Dodge & Coie, 1987; Parmigiani & Palanza, 1996; Pulkkinen, 1987; Wall, Blanchard, & Blanchard, 2003) Clasificación dicotómica de la conducta agresiva agonística que se produce en encuentros entre miembros de una misma especie.



---

❖ *Modelos animales de agresión basados en la manipulación ambiental*

*Agresión inducida por aislamiento.* El modelo de agresión inducida por aislamiento tiene una gran relevancia en el estudio de la conducta agonística del ratón macho. Después de un periodo de aislamiento el ratón macho adulto, como muchas otras especies de mamíferos, presentan un aumento de conductas agonísticas ofensivas cuando son confrontados con otro ratón macho (Miczek & Winslow, 1987). En general, se ha apreciado una correlación directa entre la duración del periodo de aislamiento y la proporción de animales que exhiben un aumento de la frecuencia e intensidad de la conducta agresiva (Miczek & Winslow, 1987; Valzelli, 1973). En ratones, este periodo de aislamiento dura varias semanas, aproximadamente un mes en la mayoría de los estudios, y el terreno para el encuentro agonístico suele ser una arena neutral. Por otra parte, es importante enfrentar al animal aislado a un oponente con una conducta estándar para evitar que la reacción de éste constituya una variable extraña en el modelo. Este paradigma ha mostrado una buena validez predictiva y se ha llegado a utilizar bastante en los estudios farmacológicos para el “screening” de compuestos que pueden reducir la agresión (Malick, 1979). Una cuestión que suele plantearse es si este paradigma representa una conducta agresiva anormal, o bien, si refleja un patrón conductual normal típico del ratón territorial que vive aislado de otros machos. Se ha comprobado que cuando se compara la conducta del ratón aislado con la de ratones alojados en grupo en el laboratorio, se observan diferentes perfiles conductuales y fisiológicos; sin embargo, cuando se compara con ratones homólogos fuera del laboratorio las diferencias se diluyen hasta apenas apreciarse (Brain, 1975; Miczek & Winslow, 1987; Scott, 1966). En el caso concreto de esta especie es así porque el ratón tiende a aislarse en la edad adulta en busca de un territorio propio del que pueda a excluir a otros machos en edad de procrear, por lo que el modelo aprovecha este factor de gran territorialidad presente en el repertorio natural del ratón y lo utiliza para incrementar el nivel de agresión de una forma controlada y natural.

*Agresión inducida por paradigma “intruso-residente”.* Un modelo animal en el que se puede observar con fiabilidad la conducta agresiva de tipo territorial es el paradigma intruso-residente (Koolhaas & Bohus, 1991; Thurmond, 1975). En este paradigma se estudia la respuesta de un animal, normalmente una rata o un ratón, cuando en su propio territorio se introduce a un congénere intruso dando lugar a una lucha por el territorio que puede ser muy intensa (Blanchard & Blanchard, 1989). Aunque se pueden usar muchas

especies vertebradas, la mayoría de los estudios utilizan roedores porque se caracterizan por su elevada agresión territorial (Miczek et al., 2007). El término agresión territorial se aplica a la conducta de un macho que controla un territorio exclusivo, en el cual procura atraer a las hembras fértiles y excluir o dominar a los demás machos adultos (Mackintosh, 1970; Miczek et al., 2007). Un aspecto atractivo del paradigma intruso-residente es que permite analizar el repertorio conductual agonístico completo de ambos participantes, siendo lo usual que el residente exhiba una conducta predominantemente ofensiva, mientras que la del intruso suele ser predominantemente defensiva.

*Agresión inducida por paradigma “intruso-colonia”.* Este paradigma, aplicable tanto en ratas como en ratones, es una variación del paradigma intruso-residente en la que se trata de introducir un intruso en un grupo establecido (Litvin, Blanchard, Pentkowski, & Blanchard, 2007; Vandenbergh, 1967). La diferencia fundamental entre ambos paradigmas es que el primero es más típico de ciertas especies, mientras que el segundo es más fácilmente generalizable.

*Agresión maternal.* El paradigma de agresión maternal se basa en la observación de que los roedores hembras con crías o en gestación muestran conductas ofensivas hacia una gran variedad de intrusos. Se ha comprobado que existe un periodo crítico para la agresión que va desde antes de la gestación hasta alcanzar un pico máximo una semana tras el parto durante la primera parte del periodo de lactancia, e incluye tanto conductas defensivas como ofensivas hacia intrusos (Haney, Debold, & Miczek, 1989; Hurst, 1987; Lonstein & Gammie, 2002; Noiro, Goyens, & Buhot, 1975; Sgoifo, Stilli, Musso, Mainardi, & Parmigiani, 1992). El uso de un paradigma de agresión femenina resulta bastante infrecuente pues requiere de una extensa planificación; sin embargo, en ratas hembra ha demostrado tener una validez predictiva comparable a la de paradigmas ofensivos en ratas machos (como el residente-intruso) y ratones machos (agresión inducida por aislamiento) (Olivier & Young, 2002).

*Agresión inducida por dolor.* Este paradigma, normalmente utilizado en ratas y ratones, consiste en suministrar descargas eléctricas controladas en las patas traseras de dichos animales, permitiendo controlar variables como la intensidad, duración del shock y número de exposiciones (Dixon & Kaesermann, 1987). Tras la corriente, pueden darse diversas manifestaciones de conductas defensivas, como por ejemplo gritos, intentos de huida y posturas defensivas. Actualmente, se ha relegado el uso de este paradigma en pruebas de “screening” farmacológicas por el posible enmascaramiento del dolor debido

a efectos analgésicos de las sustancias evaluadas. Otro factor limitante es que el repertorio conductual observado en este paradigma es bastante reducido respecto a otros.

*Agresión predatoria.* La agresión predatoria puede definirse como el tipo de ataque que se evoca mediante la presencia de una presa natural, y se puede observar típicamente en todas las especies carnívoras. El procedimiento experimental para provocar este tipo de conducta suele ser simple; en el caso del ratón éste permanece en su propia jaula y se evalúa la conducta tras introducción de una posible presa. Se ha discutido si el hecho de matar a una presa puede considerarse una forma de agresión (Koolhaas & Bohus, 1991; O'Boyle, 1974). Este tipo de conducta predatoria presenta diversas diferencias respecto a la conducta de lucha entre machos (Koolhaas & Bohus, 1991; Lynds, 1980), por lo que se deben extremar las precauciones con la extrapolación de la conducta predatoria a otras formas de conducta agresiva.

#### ❖ *Modelos animales de agresión basados en manipulación biológica*

*Agresión inducida por estimulación o lesión.* Los primeros modelos animales de agresión patológica se vinculan a la lesión cerebral o a la estimulación de diversas regiones cerebrales (Haller & Kruk, 2006). En animales, se ha registrado un aumento de la agresión defensiva tras la lesión del área prefrontal (De Bruin, Van Oyen, & Van De Poll, 1983), del septum, el accumbens medial y el hipotálamo medial (Albert & Walsh, 1984). Por otra parte, la estimulación del hipotálamo mediolateral puede provocar una forma extrema de ataque no selectiva ya que entre otras cosas parece que afecta a la locomoción (Kruk, 1991). La estimulación de la zona ventral de la sustancia gris induce una agresión silenciosa característica de la predación, mientras que la zona dorsal participa en la ejecución de conductas defensivas. También se ha comprobado que la estimulación del núcleo basomedial de la amígdala y de la estría terminal es capaz de desencadenar reacciones agresivas duraderas pero sin direccionalidad, indicando que se trata más de un centro modulador de la agresión. El objetivo inicial de estos modelos ha sido el de analizar por separado las funciones locales de diferente áreas cerebrales para correlacionar la conexión de estas regiones con el comportamiento agresivo. Sin embargo, este enfoque ha sido criticado porque presenta grandes dificultades al explicar conductas tan complejas como la agresión, en la cual intervienen procesos sensoriales, motores y emocionales que obviamente no están localizados en una sola área cerebral.

Por ello, es más interesante tratar de comprender la organización funcional de los circuitos neurales interrelacionados que participan en la modulación de la agresión.

*Agresión inducida por sustancias.* Las drogas pueden presentar efectos facilitadores o inhibidores de la agresión, dependiendo de su mecanismo de acción y de factores menos obvios como la pureza de la sustancia, la dosis, contexto en el que se suministren (Azpiroz, Garmendia, & Sánchez, 1988; Olivier & Young, 2002). Además, hay que tener en cuenta estos efectos sobre la agresión generalmente no son específicos, es decir, pueden alterar otras conductas del individuo, o bien producir una alteración general del sistema motor que interfiera en la ejecución de la conducta agresiva, por ejemplo el efecto sedante que inducen los neurolépticos. Actualmente, existe un gran interés en estudiar las sustancias con potencial para modular la conducta agresiva. Entre los modelos de agresión inducida por sustancias el uso de alcohol o de esteroides anabolizantes ha demostrado ser un modelo plausible de agresión escalada o patológica.

**Tabla 3.4**

*Modelos animales de agresión según el tipo de manipulación y de agresión evaluada (Miczek et al., 2007; Olivier & Young, 2002; Takahashi, Quadros, De Almeida, & Miczek, 2011)*

<b>Modelos con manipulación ambiental</b>				
<b>Test</b>	<b>Tipo de agresión</b>	<b>Sujetos</b>	<b>Descripción</b>	<b>Referencias</b>
Test de Agresión inducida por aislamiento	“Intermale” o Territorial	Ratones	El macho aislado durante un tiempo normalmente 1 mes (aunque según el estudio varía de 24h-2 meses) se somete a un encuentro en un terreno neutro (“intermale” o competitiva) o a un encuentro intruso-residente (agresión territorial). También hay estudios en ratas, pero se suele realizar en ratones.	(Cairns & Nakelski, 1971; Malick, 1979; Valzelli & Bernasconi, 1979; Wall, Fischer, & Bland, 2012)
Test Intruso-Residente	Territorial	Ratones y hamsters	Requiere un territorio establecido. En laboratorio, la jaula del macho experimental (residente) donde se empareja con una hembra. En la jaula se introduce un animal macho extraño (intruso) que ha estado previamente alojado con otros machos.	(De Almeida, Rowlett, Cook, Yin, & Miczek, 2004; De Boer, Lesourd, Mocaer, & Koolhaas, 1999; Lumley et al., 2000; Miczek & O'Donnell, 1978; Nakamura, Kikusui, Takeuchi, & Mori, 2007)
Test intruso-colonia	Dominante	Primates y ratas	En una colonia estable donde la jerarquía está establecida se introduce un macho extraño (intruso) que ha estado previamente alojado en grupo con otros machos.	(Litvin et al., 2007; Vandenberg, 1967)
Test del tubo (Agresión dominante)	Dominante	Ratones	Dos ratones se colocan en extremos opuestos de un tubo estrecho. Se espera que el macho dominante fuerce al oponente a salir del tubo.	(Wang et al., 2011)
Test de agresión maternal	Maternal	Ratas, ratones y hamsters	En una jaula con hembras con crías lactantes (en un periodo postparto de 1 a 7 días), se introduce un intruso que puede ser macho o hembra.	(Haney et al., 1989; Hurst, 1987; Lonstein & Gammie, 2002; Noiro et al., 1975; Sgoifo et al., 1992)
Test Footshock	Irritativa	Ratas, ratones	El shock eléctrico en patas o en la cola es el estímulo nocivo más utilizado en los modelos irritativos. Se dispone de una jaula con suelo enrejado por el cual se aplica una corriente eléctrica. El sujeto se mueve enérgicamente en el compartimento y pueden adoptar una posición erguida de combate o “boxing”. Este modelo más bien evoca posturas defensivas que ofensivas, por lo que es de interés limitado.	(Berkowitz, 1993; Fard, Bahaeddini, Shomali, & Haghghi, 2014; Kovacsics & Gould, 2010; Roliński & Herbut, 1981)
Test de agresión entre hembras	Sexual	Ratas, Hamsters	En la jaula de la hembra se coloca un macho adulto y se empareja. Después se introduce como intrusa a una hembra sexualmente adulta.	(Bowler, Cushing, & Carter, 2002; Gutzler, Karom, Erwin, & Albers, 2010; Martín-Sánchez et al., 2015; Payne & Swanson, 1972; Stockley, Bottell, & Hurst, 2013)

Tabla 3.4. (Continuación)

Test de agresión inducida por Instigación Social	Agresión Escalada	Ratas, ratones y hamsters	El macho residente es expuesto en su jaula ante otro macho protegido por un cilindro de policarbonato perforado sin posibilidad de interacción directa. Después el macho residente se somete al test intruso-residente con otro macho.	(Centenaro et al., 2008; Fish, Faccidomo, & Miczek, 1999; Martín-López, Infante, Cavas, & Navarro, 2014; Nakamura, Kikusui, Takeuchi, & Mori, 2008)
Test de Agresión inducida por frustración mediante extinción	Agresión Escalada	Ratas, ratones y hamsters	Se entrena a un macho residente para obtener una recompensa. Se omite la recompensa antes de exponerlo al test intruso-residente.	(Berkowitz, 1993; De Almeida & Miczek, 2002)

<b>Modelos con manipulación biológica</b>				
<b>Test</b>	<b>Tipo de agresión</b>	<b>Sujetos</b>	<b>Descripción</b>	<b>Referencias</b>
Agresión inducida por estimulación	Agresión defensiva con ira	Ratas y gatos	Estimulación eléctrica (0.2-0.8mA, 63Hz, 1ms por medio ciclo de duración) en el hipotálamo medial o en la PAG.	(Hess & Akert, 1955; Koolhaas, 1978; Kruk, 1991; Leyhausen & Tonkin, 1979; Roberts & Nagel, 1996; Siegel, Roeling, Gregg, & Kruk, 1999)
Agresión inducida por alcohol	Agresión Escalada	Ratas y ratones	Los animales reciben etanol (1 mg/kg) por vía oral o intraperitoneal antes de exponerlo al test intruso-residente	(Blanchard, Hori, Blanchard, & Hall, 1987; Brain, Miras, & Berry, 1993; De Almeida, Nikulina, Faccidomo, Fish, & Miczek, 2001; Faccidomo, Bannai, & Miczek, 2008; Fish et al., 1999; Heinz, Beck, Meyer-Lindenberg, Sterzer, & Heinz, 2011; Miczek, Weerts, Tornatzky, Debold, & Vatne, 1992; Miczek, Barros, Sakoda, & Weerts, 1998; Quadros, Miguel, Debold, & Miczek, 2009)
Agresión inducida por depleción serotoninérgica	Agresión Escalada		Se reduce la serotonina mediante la dieta o administración de fármacos, antes de exponerlo al test intruso-residente	(Bell, Abrams, & Nutt, 2001; Kantak, Hegstrand, Whitman, & Eichelman, 1980)
Agresión inducida por depleción de glucocorticoides	Agresión Escalada	Ratas	Los animales son adrenalectomizados y se les implanta un dispositivo depot con baja liberación de corticosterona.	(Haller, Van De Schraaf, & Kruk, 2001; Haller, Halasz, Mikics, & Kruk, 2004)
Agresión inducida por administración crónica de esteroides androgénico-anabolizantes (AAS)	Agresión Escalada	Ratas y hamsters	La exposición crónica a AAS por vía subcutánea diaria durante un mes en la pubertad.	(McGinnis, 2004; Melloni, Connor, Hang, Harrison, & Ferris, 1997; Melloni Jr & Ricci, 2010)
Selección de cepas agresivas	Agresión escalada	Ratón	Crianza selectiva de individuos altamente agresivos, en la siguiente generación se vuelven a analizar y seleccionar.	(Cairns, MacCombie, & Hood, 1983; Gammie, Garland Jr, & Stevenson, 2006; Sandnabba, 1996; Van Oortmerssen & Bakker, 1981)

### 3.3.2. Neuroanatomía de la conducta agresiva

Los circuitos cerebrales que se hallan activados en roedores durante los encuentros agresivos implican una serie de estructuras que se han identificado mediante estudios de resonancia magnética funcional y expresión c-Fos. Entre las áreas cerebrales implicadas en la conducta agresiva entre machos destacan: el córtex prefrontal (CPF), el área preóptica medial (MPOA), el septum lateral (LS), algunos núcleos hipotalámicos conocidos en general como el “Área de ataque hipotalámica” (HAA), el núcleo paraventricular del tálamo (PVN), la amígdala central y medial (CeA y MeA), el núcleo laminar de la estría terminal o amígdala extendida (BNST), así como diversas estructuras del tronco cerebral tales como la sustancia gris periacueductal (PAG), el locus coeruleus (LC) y el núcleo dorsal del rafe (DRN) (Takahashi & Miczek, 2014).

Los estudios indican una superposición importante de las áreas relacionadas con la conducta agresiva entre machos y otros tipos de conducta agresiva como la maternal y la agresión escalada. No obstante, también se aprecian algunas diferencias, por ejemplo la activación de la PAG se ha registrado durante la agresión típica de la especie (tanto en la agresión entre machos como en la maternal), mientras que el nivel de activación de esta estructura parece inhibirse durante la agresión patológica o escalada. Es necesario aclarar que la actividad de las áreas cerebrales citadas no es específica de la conducta agresiva, pero en conjunto resultan esenciales para comprender el circuito de la agresión en roedores, así como en primates no humanos y en humanos (Nelson & Trainor, 2007; Takahashi & Miczek, 2014).

#### ❖ *Hipotálamo*

El hipotálamo es una de las regiones cerebrales que se ha estudiado en mayor profundidad en relación con la agresión. El área de ataque hipotalámica (HAA) es una región que contiene diversos núcleos como el núcleo anterior (AH), el ventromedial (VMH) y el lateral (LH). Ya desde principios del siglo XX, los primeros estudios de estimulación del HAA en gatos sugerían que esta área estaba implicada en la conducta de ataque (Hess & Akert, 1955; Leyhausen & Tonkin, 1979). También se ha observado que la estimulación eléctrica de los núcleos VMH y LH induce un tipo de conducta agresiva anormal o patológica en ratas, que se caracteriza por dirigirse a las zonas más vulnerables y por no tener en cuenta características del oponente como el género o incluso si está muerto o anestesiado (Koolhaas, 1978; Kruk, 1991; Roberts & Nagel, 1996; Siegel et al.,

1999). En esta misma línea, el reciente uso de técnicas optogenéticas en el hipotálamo de ratones machos (en particular la estimulación óptica de opsinas ChR2 expresadas de forma artificial en el VMHvl), parece provocar ataques hacia oponentes machos o hembras e incluso a objetos inanimados (Lin et al., 2011). Se ha llegado a sugerir que el VMHvl podría funcionar como un interruptor de la conducta de ataque; sin embargo, esta hipótesis resulta bastante aventurada y requeriría de estudios optogenéticos más exhaustivos sobre subpoblaciones neuronales específicas de esta área. La vasopresina arginina (AVP) es un neuromodulador de la actividad del hipotálamo y se ha demostrado que la activación de los receptores V1aR de esta región aumenta la conducta agresiva en roedores machos, mientras que su bloqueo la reduce (Falkner, Dollar, Perona, Anderson, & Lin, 2014).

#### ❖ *Corteza prefrontal (CPF)*

La corteza prefrontal es una región que está conectada funcionalmente con varias áreas ligadas a la agresión como el hipotálamo, la amígdala y el DRN (Takahashi & Miczek, 2014). Existen evidencias de la relevancia del córtex prefrontal en el control inhibitorio de la agresión en estudios con roedores y primates, incluyendo humanos (Nelson & Trainor, 2007). En concreto, se ha relacionado la actividad de dos subregiones del CPF, la CPF medial y orbitofrontal (CPFm y COF), con la regulación de diversas formas de agresión típica de la especie: agresión entre machos en ratones y ratas (Halasz, Toth, Kallo, Liposits, & Haller, 2006; Haller & Kruk, 2006; Wall et al., 2012), agresión de tipo dominante en test específicos de dominancia social en ratones (Wang et al., 2011) y agresión inducida por aislamiento en ratas (Wall et al., 2012).

En relación con la COF, algunos estudios indican que la lesión bilateral de esta área es capaz de producir un incremento de agresión entre machos en ratas (De Bruin et al., 1983). Por su parte, estudios con técnicas farmacológicas apuntan a que la serotonina y los receptores 5-HT1B desempeñan un papel importante en la modulación de la corteza prefrontal y, por tanto, en la inhibición de la conducta agresiva. Existen evidencias de que la administración de agonistas serotoninérgicos de los receptores 5-HT1B en el COFv es capaz de inhibir la agresión entre machos, además de otros tipos de agresión como la maternal o incluso la agresión inducida por instigación (Centenaro et al., 2008; De Almeida et al., 2006; Veiga, Miczek, Lucion, & Almeida, 2007).



En el CPFm también se ha observado que la activación de los receptores 5-HT<sub>1B</sub> es capaz de disminuir la agresión territorial típica de la especie (Faccidomo, Quadros, Takahashi, Fish, & Miczek, 2012). Sin embargo, cuando la estimulación se realiza bajo los efectos del alcohol, se da lugar a un aumento de la conducta agresiva que no se observa en idénticas condiciones en el área COF (Faccidomo et al., 2008). Mediante técnicas de microdiálisis *in vivo* se ha comprobado que el nivel extracelular de 5-HT en el CPFm se reduce durante y después de encuentros agresivos típicos de la especie en ratas (Van Erp & Miczek, 2000). Estos hallazgos parecen indicar que las neuronas serotoninérgicas del área CPFm están especialmente implicadas en la regulación de la conducta agresiva típica de la especie. Por otra parte, existen evidencias de que los ratones dominantes alojados en grupo presentan una actividad c-Fos mayor en las neuronas glutamatérgicas CPFm, y que la manipulación de receptores AMPA se relaciona directamente con cambios en el rango social (Wang et al., 2011). El uso de la técnica optogenética para modular la actividad de las neuronas excitadoras del PFCm durante los encuentros agresivos en ratones machos parece indicar que la activación del CPFm inhibe la conducta agresiva entre machos específicamente, sin afectar a otras conductas del repertorio agonístico.

#### ❖ *Núcleo Dorsal del Rafe*

El núcleo del rafe es una estructura mesencefálica del sistema nervioso de los mamíferos que se considera clave en la producción del neurotransmisor serotonina. En concreto, el núcleo del rafe dorsal (DRN) contiene la mayor parte de los cuerpos celulares de las neuronas serotoninérgicas, y envía proyecciones eferentes hacia regiones límbicas y el córtex. Desde su descubrimiento, la serotonina se ha considerado un neurotransmisor clave en el neurocircuito que controla la agresión en varias especies animales. Por ejemplo, en ratas se ha detectado un aumento de la actividad c-Fos de neuronas serotoninérgicas del DRN después de encuentros agonísticos (Van Der Veegt et al., 2003). En los primeros estudios clínicos y preclínicos, la mayoría de las hipótesis sobre la conducta agresiva, hostil o violenta, se relacionaban con un déficit serotoninérgico. Estos individuos podían beneficiarse de tratamientos farmacológicos que aumentaban de forma física el nivel extracelular de serotonina mediante inhibición de transportador 5-HT (usando ISRSs), la activación de receptores 5-HT<sub>1A</sub> (buspirona) o el bloqueo de receptores 5-HT<sub>2A</sub> (risperidona). Sin embargo, la naturaleza de esta relación no es simple y aún en la actualidad es patente la dificultad que conlleva desentrañar el papel preciso

de esta amina en la predisposición y ejecución de la conducta agresiva, como veremos en el siguiente apartado (De Boer & Koolhaas, 2005).

En la regulación del DRN también participan otros neurotransmisores como el GABA, el glutamato y neuropéptidos como el CRF (Takahashi et al., 2011). Los neurotransmisores excitadores e inhibidores como el glutamato y el GABA modulan la actividad de las neuronas serotoninérgicas del DRN y, por tanto, tienen un gran impacto en la conducta agresiva. Se ha sugerido que ambos subtipos de receptores GABA (GABA-A y GABA-B) del DRN están implicados en formas de agresión escalada en ratones por mecanismos distintos, en el caso de activación del receptor GABA-A la agresión escalada se produce solo en presencia de alcohol (p.ej. alcohol + muscimol) (Takahashi, Kwa, Debold, & Miczek, 2010; Takahashi, Shimamoto, Boyson, Debold, & Miczek, 2010; Van Der Vegt et al., 2003). Por otra parte, el péptido factor liberador de la corticotropina (CRF) también tiene un efecto modulador importante sobre el DRN y la conducta agresiva. La administración local de antagonistas del receptor CRF2 en el DRN incrementa la conducta agresiva típica entre ratones macho. Por el contrario, la administración local de antagonistas del receptor CRF1 en el DRN tiene efectos antiagresivos, previniendo la agresión escalada inducida por consumo de alcohol sin producir efectos motores secundarios (Quadros et al., 2009).

#### ❖ *Núcleo accumbens*

El núcleo Accumbens, especialmente su corteza (Nac), es una estructura implicada en los procesos de recompensa y motivación aversiva, que recibe aferencias desde el área tegmental ventral (VTA) por la vía dopaminérgica mesocorticolímbica. Se sabe que la conducta agresiva tiene una propiedad recompensante en machos dominantes, y es capaz de reforzar la respuesta condicionada en ratones machos (Fish, De Bold, & Miczek, 2002; Fish, Debold, & Miczek, 2005). En este aspecto, se ha comprobado que la administración en el NAc de antagonistas del receptor D1 o D2 reduce esta respuesta operante, lo que sugiere que la propiedad reforzante de la conducta agresiva está mediada por los receptores dopaminérgicos del núcleo accumbens (Couppis & Kennedy, 2008). Además, congruentemente la microdiálisis *in vivo* muestra que el nivel de DA en el NAC aumenta durante y después un encuentro agonístico entre ratas machos (Ferrari, Van Erp, Tornatzky, & Miczek, 2003; Miczek et al., 2007; Van Erp & Miczek, 2000). Sin embargo, también se ha demostrado que el incremento de dopamina en el NAc no indica

simplemente una señal de recompensa en sí mismo, ya que se produce en ambos individuos dominantes y derrotados (Anstrom, Miczek, & Budygin, 2009; Tidey & Miczek, 1996), que reaccionan ante un encuentro agonístico y anticipan un enfrentamiento programado (Ferrari et al., 2003).

#### ❖ *El sistema olfatorio en la agresión*

En muchas especies animales, el olfato es el sentido más importante en la regulación de las conductas sociales en gran medida estereotipadas (Brennan & Keverne, 2004; Stowers & Logan, 2010). Los animales dominantes realizan un marcado del territorio mediante la orina, que contiene entre otros compuestos una feromona que promueve la agresión, la proteína urinaria mayor o MUPs (Chamero et al., 2007). Los receptores específicos para estas feromonas residen en el órgano vomeronasal (VNO) (Chamero et al., 2011), esta información se procesa luego en el bulbo olfatorio accesorio y mediante el tracto olfatorio lateral se proyecta a la amígdala. Se ha comprobado que la lesión directa y la alteración funcional génica del VNO produce una amplia variedad de déficits en conductas reproductivas y sociales incluyendo las conductas de agresión entre machos y la agresión maternal (Chamero et al., 2007; Leypold et al., 2002; Stowers, Holy, Meister, Dulac, & Koentges, 2002; Takahashi & Miczek, 2014).

### **3.3.3. Neuroquímica de la conducta agresiva**

La conducta agresiva se encuentra regulada por diversas regiones cerebrales y sistemas neuronales que interactúan a diferentes niveles, entre los que se encuentran por ejemplo el glutamato, el GABA, la serotonina o la dopamina. El debate sobre el grado en el que cualquiera de las regiones cerebrales y sistemas de neurotransmisión afecta a la respuesta agresiva, en cierto sentido puede llegar a pecar de reduccionista considerando las propiedades plásticas y adaptivas del sistema nervioso central. Sin embargo en resulta necesario delimitar la investigación para avanzar en el desarrollo y mejora de tratamientos clínicos. A continuación se exponen algunos de los sistemas de neurotransmisión que se han relacionado con la conducta agresiva.

#### ❖ Serotonina

La serotonina (5-HT) es un neurotransmisor que influye sobre la conducta agresiva de numerosas especies. La naturaleza de esta relación, sin embargo, no es simple y se ha demostrado la dificultad que conlleva desentrañar el papel preciso de esta amina en la

predisposición y ejecución de la conducta agresiva. La hipótesis del déficit serotoninérgico en la agresión ha sido predominante tanto en la investigación farmacológica para desarrollar nuevos tratamientos antiagresivos, como en la interpretación mecanicista de sus efectos. Esta hipótesis se basa principalmente en diversos estudios que relacionan el aumento del nivel de serotonina o de la actividad serotoninérgica con la disminución de la conducta agresiva en modelos animales y en seres humanos. Diversos estudios informan de la reducción de la conducta agresiva tras la administración agonistas serotoninérgicos, tales como los fármacos ISRSs que aumentan el nivel de serotonina extracelular mediante el bloqueo de su recaptación (Pinna, Costa, & Guidotti, 2006; Pinna, Costa, & Guidotti, 2009; Sánchez & Hyttel, 1994), fármacos IMAO que elevan el nivel de serotonina inhibiendo su degradación, administración de ligandos agonistas de receptores serotoninérgicos y también los suplementos en la dieta con precursores químicos de la serotonina pueden reducir la conducta agresiva (Kantak et al., 1980). Además, los ISRSs y otros agonistas son capaces de suprimir el efecto de diversas sustancias que promueven la conducta agresiva (esteroides androgénicos, testosterona, cocaína, alcohol, apomorfina) (Morrison & Melloni, 2014).

A su vez, la disminución del nivel de serotonina se ha vinculado con el aumento de la conducta agresiva, mediante evaluación del nivel de su metabolito (5-HIAA) (Brown, Goodwin, Ballenger, Goyer, & Major, 1979; Fairbanks, Melega, Jorgensen, Kaplan, & McGuire, 2001), reducción en la dieta de precursores de la amina (Bell et al., 2001; Kantak et al., 1980) y también mediante estudios de lesión en roedores o de administración de sustancias que inhiben la síntesis de este neurotransmisor (Miczek et al., 2007; Morrison & Melloni, 2014). Todas estas evidencias parecen apoyar la hipótesis de que la serotonina se considere un inhibidor de la mayoría de las formas de agresión, predominantemente las de tipo impulsivo (Coccaro, Fanning, Phan, & Lee, 2015).

No obstante, cuando nos adentramos en estudios de localización con ligandos sobre receptores serotoninérgicos (p.ej.: 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>(2A/2C)</sub>, 5-HT<sub>3</sub>) de regiones cerebrales concretas relacionadas con la agresión (p.ej: *núcleo del rafe, la amígdala, el hipotálamo ventromedial [VMH], el hipocampo, el septum lateral, el núcleo paraventricular, el núcleo laminar de la estría terminal [BNST] o la corteza prefrontal*), se hace evidente que la hipótesis del déficit serotoninérgico es una sobresimplificación del mecanismo que subyace a la conducta agresiva. Aunque a priori los datos parezcan

indicar que la activación de la conducta agresiva está inversamente relacionada con la activación del sistema serotoninérgico, se ha demostrado que, en realidad, los efectos neuromoduladores de la serotonina difieren dependiendo de varios factores como el tipo de neurona, tipo de receptor y localización del receptor, encontrándose incluso diferencias en la expresión de estos receptores ligadas al sexo y factores de predisposición genética (Morrison & Melloni, 2014). Por ejemplo, mediante microdiálisis se ha monitorizado el nivel de serotonina en ratas en distintas regiones y momentos del encuentro agonístico, observándose que el nivel de 5-HT se reduce en el córtex prefrontal durante y después del enfrentamiento, pero no en otras regiones como el núcleo accumbens (Van Erp & Miczek, 2000). Para ilustrar este tema, y por motivos prácticos, acotaremos en principio la exposición al receptor 5-HT<sub>1A</sub>, uno de los que ha recibido mayor investigación en agresión. Es preciso aclarar que este receptor se expresa en dos poblaciones diferentes de neuronas: como autorreceptor en las neuronas serotoninérgicas del núcleo del rafe, y como heterorreceptor en neuronas del prosencéfalo, principalmente hipocampo (AH, LH), amígdala (Mea), septum y corteza prefrontal.

En estudios a *nivel sistémico* se ha hallado que la inhibición de la conducta agresiva parece que esta mediada principalmente por la activación de los receptores de la familia 5-HT<sub>1</sub> (1A y 1B) (Bell & Hobson, 1994; De Almeida et al., 2001; Olivier & Van Oorschot, 2005; Olivier, 2015). La activación del receptor 5-HT<sub>1A</sub> (mediante agonistas específicos totales [8-OH-DPAT], o parciales [ipsapirona y buspirona]), es capaz de inhibir la conducta agresiva en machos produciendo una reducción del ataque y aumento de su latencia. Esta inhibición farmacológica de la agresión se ha observado en ratas machos residentes (pero no en ratas intrusas) bajo el paradigma intruso-residente (De Boer et al., 1999), en ratones bajo el modelo de agresión inducida por aislamiento (Sánchez, Arnt, Hyttel, & Moltzen, 1993; Sánchez & Hyttel, 1994), e incluso en la agresión inducida por sustancias como el alcohol en ratas machos (Miczek, Hussain, & Faccidomo, 1998). Sin embargo, en el rango de dosis en el que son efectivos la mayoría de estos ligandos producen sedación, enlentecimiento motor o incluso movimientos estereotipados que indican un efecto conductual no específico de estas drogas sobre la conducta agresiva (De Boer & Koolhaas, 2005; Miczek et al., 1998; Miczek et al., 2007). En hembras hamsters la aparición de conductas típicas del síndrome serotoninérgico es más evidente que en machos, y en hembras ovariectomizadas no se reduce la conducta agresiva. Esto ha llevado a plantear que la expresión de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> que

---

median la agresión puede tener diferente densidad o localización en función del género (Joppa, Rowe, & Meisel, 1997; Morrison & Melloni, 2014).

A *nivel local*, se sabe que el Núcleo del Rafe es la región con mayor densidad de neuronas serotoninérgicas del SNC, en esta región los receptores 5-HT<sub>1A</sub> se encuentran también en el soma de las neuronas serotoninérgicas como autorreceptores proporcionando un mecanismo regulatorio homeostático del flujo de impulsos de las neuronas serotoninérgicas. Se ha comprobado que la administración de agonistas 5-HT<sub>1</sub> en esta región disminuye la agresión típica de la especie entre machos y la agresión maternal en hembras (De Almeida & Lucion, 1997; Van Der Vegt et al., 2003). Pero, en concreto, la administración de la sustancia S-15535 (agonista específico de autorreceptores 5-HT<sub>1A</sub> y antagonista de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> postsinápticos) ha demostrado una especificidad conductual mayor que otros ligandos. Este compuesto es capaz de inducir un efecto antiagresivo que no se acompaña de inhibición de conductas motoras no-agresivas (como sucede con otros agonistas 5-HT<sub>1A</sub> con preferencia moderada/alta por receptores postsinápticos), ni de aumento de conductas motoras no-agresivas (como sucede con agonistas 5-HT<sub>1B</sub>) (De Boer & Koolhaas, 2005; Takahashi et al., 2011). Además, la administración combinada de agonistas 5-HT<sub>1A</sub> de afinidad presináptica (S-15535 y alnespirona) tiene un efecto antiagresivo aditivo dosis-dependiente que apoya la relevancia del lugar de acción presináptico, es decir, la acción inhibitoria de los autorreceptores 5-HT<sub>1A/1B</sub> en la reducción de la agresión (De Boer et al., 1999; De Boer & Koolhaas, 2005). Otros autores también destacan la importancia del “feedback” que proporcionan la familia de autorreceptores 5-HT<sub>1</sub> en la regulación de la agresión, y proponen que su estimulación puede ser relevante para mejorar el manejo clínico de trastornos relacionados (Takahashi et al., 2011).

Tras estos hallazgos, se ha sugerido que los efectos antiagresivos de los agonistas 5-HT (1A ó 1B) se basan predominantemente en la reducción más que en el aumento de la neurotransmisión de 5-HT en el DRN durante el encuentro agonístico, lo que supone una variación de la explicación mecanicista de los efectos de los fármacos. Según estos autores, la ejecución normal de la conducta ofensiva se relaciona aparentemente con picos breves de actividad serotoninérgica que se autorregulan mediante estos autorreceptores; mientras que probablemente existe una relación inversa entre la actividad tónica 5-HT y formas de agresión escalada o patológica (De Boer & Koolhaas, 2005). Un estudio más reciente apunta en esta dirección cuando señala que las diferencias en la actividad fásica

o tónica de otra familia de receptores serotoninérgicos (5-HT<sub>2</sub>) puede dar lugar a la inhibición de la conducta agresiva normal o bien facilitar la agresión escalada, respectivamente (Takahashi et al., 2011). Por lo que el nivel basal de 5-HT (rasgo) y los cambios fásicos de serotonina (estado) deberían considerarse por separado a la hora de explicar diferentes tipos de conducta agresiva (Takahashi & Miczek, 2014).

Por otra parte, los receptores 5-HT<sub>1A</sub> también se encuentran en neuronas no serotoninérgicas (heterorreceptores 5-HT<sub>1A</sub>) regulando la actividad de las mismas en diversas regiones cerebrales (Morrison & Melloni, 2014). Estudios en roedores indican que en el *Hipotálamo Anterior (AH)*, el heterorreceptor 5-HT<sub>1A</sub> es el principal responsable de la regulación conductual de la agresión, dejando en un segundo plano a los receptores 5-HT<sub>1B</sub> (Ferris, Stolberg, & Delville, 1999; Grimes & Melloni, 2005). En la misma línea, hay evidencias de que la administración de agonistas 5-HT<sub>1A</sub> en la *Amígdala Medial (MeA)* y la *Sustancia Gris Periacueductal (PAG)* disminuye la agresión maternal. Sin embargo, la administración de este ligando en el *Núcleo Septal Medial* induce un incremento de la agresión ofensiva (De Almeida & Lucion, 1997). Por otra parte, un estudio con ratones knockout para la encima MAO-A (que inactiva la 5-HT), muestra que en animales altamente agresivos existe una hipofuncionalidad de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y una alteración de su expresión que depende de su localización, de forma que hay una menor densidad de estos (auto)receptores en el mesencéfalo y una mayor densidad de (hetero)receptores 5-HT<sub>1A</sub> en regiones como la amígdala y el cortex frontal (Popova, Naumenko, & Plyusnina, 2007). Estos hallazgos indican que la estimulación del receptor 5-HT<sub>1A</sub>, puede inhibir o facilitar la agresión dependiendo de su localización, y además apuntan a que los receptores 5-HT<sub>1A</sub> también intervienen en mecanismos de predisposición genética de la conducta agresiva.

Actualmente, resulta evidente que los mecanismos implicados en la reducción de las conductas agresivas van más allá de la elevación de los niveles de serotonina. Se han observado efectos particulares de cada tipo de receptor 5-HT en función de su localización y complejas interacciones entre neuronas que expresan receptores 5-HT modulando otros sistemas de neurotransmisión como el GABA o el glutamato. Por ejemplo, se han hallado receptores 5-HT<sub>3</sub> (únicos receptores excitatorios 5-HT) en neuronas GABAérgicas del hipotálamo anterior (AH) (Morales & Bloom, 1997). Una hipótesis reciente para el mecanismo subyacente a la agresión se relaciona con fenómenos de inhibición presináptica que implicarían la activación de neuronas GABA que expresan el receptor

5-HT<sub>3</sub>, inhibiendo posiblemente a neuronas serotoninérgicas (Melloni Jr & Ricci, 2010; Ricci, Grimes, & Melloni, 2004), por lo que en este ejemplo de modulación presináptica, la presencia de serotonina inhibe en vez de activar la transmisión serotoninérgica de la neurona postsináptica, relacionando directamente la presencia/ausencia de serotonina con el aumento/inhibición de la respuesta agresiva. Este fenómeno explicaría la regulación al alza del receptor 5-HT<sub>3</sub> en la agresión inducida por cocaína (Ricci et al., 2004), y también sería un mecanismo plausible para explicar algunos efectos de la administración crónica de ISRSs como la fluoxetina (Ricci & Melloni, 2012).

El control de la conducta agresiva también parece depender de la interacción entre el sistema serotoninérgico y el sistema vasopresina arginina (AVP). La cantidad de datos conductuales, farmacológicos, neurofisiológico y neuroanatómicos sugieren que la serotonina y las estructuras sensibles a la serotonina son los responsables principales de la conducta agresiva asociada con la actividad del sistema AVP (Morrison & Melloni, 2014). El hipotálamo parece cumplir la función de “hub” para las interacciones AVP/5-HT y constituir el lugar de convergencia más importante en cuanto a anatomía conservada evolutivamente que regula la conducta agresiva.

#### ❖ *GABA*

El ácido gamma – aminobutírico (GABA) es el principal neurotransmisor inhibitorio en el sistema nervioso central, mientras que el glutamato es su principal neurotransmisor excitatorio. Los estudios genéticos y farmacológicos muestran que casi todos los subtipos de los receptores GABA (GABA-A GABA-B) y los receptores de glutamato (NMDA, AMPA, kainato y mgluRs) están implicados en la agresión. Resulta evidente que existe una relación entre el balance de estos neurotransmisores con la regulación de la conducta agresiva típica de la especie (García-García et al., 2009; Herman, Mueller, & Figueiredo, 2004; Miczek et al., 2007; Takahashi & Miczek, 2014). Sin embargo, aún estamos lejos de determinar la naturaleza y dirección de esta relación ya que los estudios no son coincidentes. En este aspecto, la poca variedad de ligandos selectivos disponibles supone una dificultad añadida para abordar de forma sistemática el estudio farmacológico de estos receptores sobre la agresión, máxime teniendo en cuenta que se expresan en la mayoría de las neuronas cerebrales y que además presentan una elevada heterogeneidad. Se estima que la función de cada uno de estos receptores puede variar dependiendo de la composición de sus subunidades, su localización y el tipo de conducta agresiva estudiada.



*Receptores GABA-A.* La implicación de los receptores GABA-A en la conducta agresiva está bastante fundamentada, pero delimitar su efecto es complicado dada la gran heterogeneidad de su composición. El receptor de GABA-A es el receptor gabaérgico que se encuentra más extendido en el sistema nervioso de los mamíferos. Es un receptor ionotrópico complejo con cinco subunidades que conforman un canal de cloro, por lo que su activación induce una hiperpolarización de la membrana. Se han encontrado siete tipos principales de familias de subunidades ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$ ,  $\pi$ ), y algunas familias son además isomorfias ( $\alpha 1-6$ ,  $\beta 1-3$ ,  $\gamma 1-3$ ). Este receptor presenta lugares de reconocimiento para el GABA ( $\alpha$ - $\beta$ ), también para moduladores alostéricos positivos que aumentan la eficiencia del receptor tales como las benzodiazepinas ( $\alpha_{[1,2,3,5]}$ - $\gamma$ ), barbitúricos, neuroesteroides o el etanol, y también para moduladores alostéricos negativos como el flumacénil. Además, se ha observado que la distribución del GABA-A en la membrana neuronal difiere en función de su composición, de forma que los receptores con subunidades  $\alpha_{[1,2,3]}$  presentan una localización sináptica y son responsables de la inhibición fásica cerebral, mientras que los que portan las subunidades  $\alpha_{[4,5,6]}$  están presentes en las zonas extrasinápticas mediando la inhibición tónica GABAérgica (Martín-López & Navarro, 2010). Son diversos los estudios que apoyan la hipótesis de que un déficit del control inhibitorio del GABA en diversas áreas cerebrales puede ser la base del mecanismo subyacente de la conducta agresiva (Takahashi & Miczek, 2014):

- Diversos estudios confirman que en el modelo de agresión inducida por aislamiento (4 semanas) se produce una disminución de la función del GABA-A. Esta hipofuncionalidad parece que viene ligada tanto a una reducción del neuroesteroide alopregnanonlona (modulador alostérico presente en CPF, HPC y amígdala BSL en ratones macho) (Pinna, Dong, Matsumoto, Costa, & Guidotti, 2003), como a una baja sensibilidad de este receptor a diversos moduladores alostéricos tras el aislamiento (Matsumoto et al., 1999; Serra et al., 2000). Además, tras el periodo de aislamiento se ha observado una reducción de la expresión de subunidades GABA-A del hipocampo ( $\alpha 1$ ) y cortex prefrontal ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\gamma 2$ ), y el aumento de otras subunidades en el cortex prefrontal ( $\alpha 4$ ,  $\alpha 5$ ) (Pinna et al., 2006).
- Estudios en animales altamente agresivos han detectado un bajo nivel de GABA y de su enzima sintetizadora, el ácido glutámico descarboxilasa (GAD), en regiones como el bulbo olfatorio, el estriado y la amígdala (Guillot & Chapouthier, 1996; Guillot &

Chapouthier, 1998; Potegal, Perumal, Barkai, Cannova, & Blau, 1982; Simler, Puglisi-Allegra, & Mandel, 1982).

- El receptor GABA-A está implicado en el control hipotalámico de las conductas agresivas. En gatos, se ha demostrado la existencia de neuronas GABA en el hipotálamo medial y lateral que ejercen un control inhibitorio del ataque predatorio u ofensivo (Siegel et al., 1999). En ratas, se ha identificado una densidad importante de neuronas GABAérgicas denominada “área hipotalámica de ataque” (HAA) (Hrabovszky et al., 2005), cuyo bloqueo farmacológico con antagonistas GABA-A es suficiente para generar conductas agresivas de ataque (Adams et al., 1993; Roeling, Kruk, Schuurmans, & Veening, 1993). En humanos, la destrucción quirúrgica del hipotálamo posteromedial produce una eliminación de las conductas violentas (Sano, Yoshioka, Ogashiwa, Ishijima, & Ohye, 1966).
- El receptor GABA-A está implicado en el control de la corteza prefrontal de las conductas agresivas. En ratas con niveles altos de agresión se observa una reducción significativa en la actividad de neuronas GABAérgicas tanto en el área infralímbica y medial orbital (áreas que curiosamente solo están activas en ratas agresivas), como en la ínsula agranular y corteza orbital ventral (Halasz et al., 2006).
- Varios estudios farmacológicos con moduladores alostéricos positivos de baja selectividad por las subunidades  $\alpha$  del receptor GABA-A muestran en general una acción antiagresiva. Entre estas sustancias distinguimos compuestos benzodiazepínicos como clobazam, bentacepam, midazolam (Martín-López & Navarro, 1996; Martín-López & Navarro, 1998; Navarro & López, 1999), o el diacepam y el clordiazepóxido que en el modelo de agresión inducida por aislamiento (Da Vanzo, Daugherty, Ruckart, & Kang, 1966; Krsiak, 1979; Sulcova & Krsiak, 1989) y el modelo intruso-residente (Mitchell & Redfern, 1992), muestran efectos antiagresivos a veces acompañados de efectos motores. Los compuestos no benzodiazepínicos como la zoplicona muestran una acción antiagresiva más específica en modelos de agresión inducida por shock eléctrico (Julou, Bardone, Blanchard, Garret, & Stutzmann, 1983) y conducta muricida en ratas (Ueki, 1987).
- En varios estudios farmacológicos con compuestos de afinidad selectiva se ha observado que el zolpidem (agonista selectivo total  $\alpha 1$ -GABA-A) tiene un efecto antiagresivo en modelos de residente-intruso (De Almeida et al., 2004) y en la

agresión inducida por aislamiento (Martín-López & Navarro, 2002). El compuesto L-655,708 (agonista selectivo parcial inverso  $\alpha 5$ -GABA-A) presenta un perfil más ansiogénico que antiagresivo (a dosis altas reduce la conducta agresiva sin afectación motora, pero también aumenta la evitación/huida y la exploración no social), que se confirma en el test elevado en cruz (Casula et al., 2001; Navarro et al., 2002). Sin embargo, la administración del benzotieno SB-205384 (agonista selectivo total  $\alpha 3$ -GABA-A) no parece tener efectos sobre la conducta agresiva en el modelo de agresión inducida por aislamiento, a pesar de que la distribución de estos receptores abarca diversas áreas cerebrales implicadas en la regulación de la agresión (Navarro, Buron, & Martín-López, 2008).

Por el contrario, también se han descrito *efectos proagresivos* de moduladores alostéricos del GABA-A en ratones y primates no humanos, de forma similar al efecto “paradójico” descrito en humanos (DiMascio, 1973; Gourley, Debold, Yin, Cook, & Miczek, 2005). Estos estudios informan de que si bien las dosis altas de benzodiazepinas inhiben la agresión, las dosis bajas o moderadas pueden aumentar la conducta agresiva entre machos y la agresión maternal en roedores (Miczek et al., 2007). Por último, señalar que el alcohol, modulador alostérico positivo del GABA-A, está ligado a la violencia y agresión en humanos y es capaz de inducir agresión escalada en aproximadamente un 30% de los roedores machos que lo ingieren (Faccidomo et al., 2008; Fish, Faccidomo, Debold, & Miczek, 2001; Heinz et al., 2011; Miczek et al., 1992; Miczek et al., 1998), potenciando su efecto proagresivo en combinación con el agonista muscimol (Takahashi et al., 2010).

*Receptores GABA-B.* Son receptores metabotrópicos acoplados a una proteína G que media las respuestas de inhibición más lentas y prolongadas del GABA (Jacob, Moss, & Jurd, 2008). Aún no ha sido estudiada en profundidad la función de este receptor metabotrópico en la conducta agresiva. Los estudios disponibles indican que la activación de este receptor con baclofen (agonista GABA-B) parecen reducir en ratas la agresión inducida por electro-shock, etanol o apomorfina (File, Zharkovsky, & Gulati, 1991; Rodgers & Depaulis, 1982; Rudissaar, Pruus, Skrebuhhova-Malmros, Allikmets, & Matto, 2000). Por el contrario, otros autores han hallado que la administración sistémica de baclofen tiene un efecto dosis-dependiente sobre la agresión territorial en ratones macho: a dosis bajas-moderada aumenta la agresión, mientras que en dosis elevadas

disminuye la conducta agresiva y se acompaña de incoordinación motora (Takahashi et al., 2012). La administración intracerebral de baclofen en DRN produce un incremento de la conducta agresiva escalada en ratones, que se puede prevenir con antagonistas GABA-B. Parece ser que este efecto proagresivo está mediado por la interacción con el sistema serotoninérgico a nivel del cortex (Takahashi et al., 2010; Takahashi et al., 2012).

#### ❖ *Glutamato*

En roedores, se ha localizado actividad glutamatérgica en diversas regiones cerebrales implicadas en la conducta agresiva incluyendo el hipotálamo, la amígdala medial o el núcleo dorsal del rafe (Navarro, De Castro, & Martín-López, 2010; Takahashi & Miczek, 2014). Por ejemplo, en ratas, la denominada “área de ataque hipotalámica” (ATH) posee una densa actividad glutamatérgica (Hrabovszky et al., 2005), y la infusión del agonista l-glutamato en ratas y en una región homóloga hipotalámica en el gato activa una respuesta agresiva (Brody, DeFeudis, & DeFeudis, 1969; Haller, 2013; Takahashi & Miczek, 2014). También en estudios inmunohistoquímicos en modelos de agresión inducida por esteroides androgénico anabolizantes durante la adolescencia (AAS), se halló una actividad c-Fos elevada en el hipotálamo anterior de hamsters machos (Carrillo, Ricci, & Melloni, 2009; Carrillo, Ricci, & Melloni, 2011; Fischer, Ricci, & Melloni, 2007). Además, estudios de microdiálisis *in vivo* muestran un nivel elevado de glutamato liberado en el DRN en ratones que participan en encuentros agonísticos (Takahashi & Miczek, 2014). La naturaleza excitatoria del sistema glutamatérgico sobre la agresión ha sido ligada a la acción del glutamato en receptores ionotrópicos NMDA, AMPA y kainato, así como a receptores metabotrópicos.

*Receptores NMDA.* Los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) son un tipo de receptor glutamatérgico ionotrópico que controla un canal de  $Ca^{2+}$  mediante dos coagonistas, para los lugares de unión de la glicina y el glutamato. El receptor NMDA tiene forma de tetrámero y hay hasta siete subunidades conocidas (NR1, NR2A-D, NR3A-B). La mayoría de los estudios de glutamato y agresión con fármacos selectivos se han centrado en estos receptores, pero no muestran una relación tan clara como se podría suponer. Los primeros estudios farmacológicos indican que el bloqueo de los receptores NMDA tienen un efecto bifásico dosis-dependiente sobre la agresión. La administración sistémica de dosis altas de antagonistas no competitivos NMDA, como la

fenciclidina (PCP) o dizocilpina (MK-801), suprime la conducta agresiva alterando también la motricidad. Sin embargo, se observa una tendencia proagresiva cuando estas sustancias se administran a dosis bajas (Belozertseva & Bepalov, 1999; Miczek & Haney, 1994; Musty & Consroe, 1982; Tyler & Miczek, 1982). Belozertseva & Bepalov (1999), también corroboraron estos resultados con antagonistas NMDA en el modelo de agresión inducida por aislamiento. Además, se ha descrito que la administración sistémica de antagonistas NMDA (memantina, neramexane) en combinación con la ingesta de alcohol, aumenta de forma específica la agresión territorial en ratones machos (Newman et al., 2012), mientras que reduce o bloquea la agresión inducida por la retirada de morfina en ratones (Navarro et al., 2010; Sukhotina & Bepalov, 2000; Takahashi & Miczek, 2014).

Otras líneas farmacológicas terapéuticas, se centran en la inhibición de la enzima sintetizadora del glutamato (NAALADasa) mediante el antagonista GPI-2232, el cual produce un efecto antiagresivo en el modelo de agresión inducida por aislamiento (Lumley et al., 2004; Navarro et al., 2010). Estudios más recientes señalan que posiblemente distintos modelos de agresión se relacionen con alteraciones del receptor NMDA, que difieren en tipo de subunidad y localización. De esta forma, se ha hallado que en modelos de agresión inducida por aislamiento aumenta la expresión de subunidades NR2A y NR2B en el hipocampo, y se reduce la subunidad NR2A en el PFC (Zhao et al., 2009). En el modelo de agresión inducida por esteroides (AAS), disminuye la subunidad NR2A en el hipocampo e hipotálamo, pero no en el córtex de ratas machos (Le Greves et al., 1997). La agresión inducida en ratones knockout MAO-A por déficit de la monoamino oxidasa-A produce a lo largo del desarrollo un nivel de aminas elevado y una sobreexpresión de subunidades NR2A y NR2B en la corteza prefrontal. Se ha comprobado que en este modelo de agresión knockout MAO-A el bloqueo de receptores NMDA en la corteza prefrontal reduce la agresión (Bortolato et al., 2012).

*Receptores AMPA.* El receptor glutamatérgico AMPA es también de tipo ionotrópico y controla un canal de Na<sup>+</sup>, el cual está formado por cuatro familias de subunidades (GluR1-4). El receptor AMPA ha sido también implicado en la regulación de la conducta agresiva. En concreto, en un primer estudio, Vekovischeva et al. (2004) encontraron una reducción de la conducta agonística en ratones machos que carecían de la subunidad GluR1 de este receptor. La subunidad GluR1 parece jugar un destacado papel en la facilitación de la agresión, habiéndose descrito expresión ARNm para dicha proteína en

regiones hipotalámicas y límbicas, incluyendo los núcleos hipotalámicos anterior, medial y ventrolateral, septum lateral, y núcleos amigdaloides. Asimismo, los receptores que contienen la subunidad GluR1 se localizan en neuronas que expresan el receptor androgénico en el hipotálamo y estructuras límbicas (Diano, Naftolin, & Horvath, 1997).

Diversos fármacos antagonistas AMPA han demostrado efectos antiagresivos, junto con un aumento de la ansiedad en encuentros agonísticos (Vekovischeva, Aitta-aho, Verbitskaya, Sandnabba, & Korpi, 2007). De esta forma en ratones con diferentes niveles de ansiedad innata, los antagonistas competitivos poco selectivos (CNQX y NBQX) disminuyen el componente “morder” de la conducta de ataque, mientras que antagonistas no competitivos y muy selectivos (GYKI 52466) disminuyen todos los componentes de la conducta de ataque. Asimismo, otros fármacos que actúan (al menos parcialmente) modulando la actividad de los receptores AMPA, como el topiramato, han demostrado también efectos antiagresivos en modelos animales (Navarro, Buron, & Martín-López, 2007; Navarro et al., 2010).

*Receptores mglu.* En contraste con los receptores ionotrópicos, el posible papel de los receptores metabotrópicos de glutamato (mGlu) en la modulación de la agresión es menos conocido. Recientemente, se ha comprobado que la administración aguda de antagonistas selectivos de los receptores mglu5 (MPEP; 5-25 mg/kg, ip) y mglu1 (JNJ16259685; 0.125-8 mg/kg) produce una potente reducción de las conductas ofensivas (amenaza y ataque), sin afectar a la motilidad, en un modelo animal de agresión inducida por aislamiento, indicando un papel de dichos receptores en la regulación de la agresión (Navarro, Postigo, Martín, & Buron, 2006; Navarro, De Castro, & Martín-López, 2008). Asimismo, los resultados obtenidos en dos experimentos con ligandos selectivos de los receptores mglu2/3 (LY379268) y mglu7 (AMN082) sugieren que estos receptores podrían estar también implicados en la agresión (Navarro, Luque, & Martín-López, 2009; Navarro, De Castro, & Martín-López, 2009).

## **4. PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL**





#### 4. PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL

MBDB, MDEA y PMA son tres drogas de diseño, estructuralmente similares al MDMA (“éxtasis”), que se han identificado en la composición de pastillas distribuidas como “éxtasis” en entornos recreativos a lo largo de los últimos treinta años. Se ha descrito que estas feniletilaminas sintéticas presentan un perfil psicotrópico de tipo entactógeno, es decir, son compuestos con capacidad para facilitar la proximidad, el contacto y la comunicación empática, generando a su vez en el individuo un singular estado de introspección y bienestar. Acorde a ello, existen evidencias de que estas sustancias son capaces de generar en animales una señal interoceptiva que resulta muy similar a la del MDMA en el modelo de discriminación de drogas, lo que ha llevado a clasificarlas como drogas entactógenas y sustancialmente diferenciadas de los estimulantes, alucinógenos y sedantes.

Los escasos estudios clínicos publicados han advertido de la presencia de estas sustancias en numerosas complicaciones toxicológicas por consumo de “éxtasis”, que no en pocos casos han llegado a ser letales. Más allá de lo expuesto, la información experimental disponible de estos tres compuestos es más bien exigua y se limita a algunos estudios sobre su metabolismo, su posible mecanismo de acción, la evaluación de algunos efectos conductuales (p. ej., relativos a la motricidad) y, en algunos casos, sus posibles propiedades como agentes reforzadores (ver apartados 2.1, 2.2 y 2.3).

En contraste, el MDMA ha sido objeto de un creciente interés científico, generando diversos focos de debate sobre aspectos tales como su potencial neurotóxico y el efecto de su consumo en el desarrollo de trastornos psicopatológicos. Además, el MDMA es, hasta la fecha, la única sustancia con un perfil entactógeno en la que se han investigado sus efectos conductuales en modelos animales de agresión y ansiedad, si bien sus resultados no siempre coinciden (ver apartado 2.4). Aunque existen algunas evidencias de que el MDMA puede tener efectos ansiolíticos cuando se usan dosis elevadas en animales de laboratorio (Lin et al., 1999; Morley & McGregor, 2000), en otros estudios los resultados se han asociado con alteraciones conductuales y correlatos neuroquímicos que sugieren un efecto ansiogénico (Bhattacharya et al., 1998; Gurtman et al., 2002). Así, estudios previos indican que el MDMA (en un rango amplio de dosis) provoca efectos ansiogénicos en ratones machos, utilizando diferentes modelos experimentales de ansiedad tales como el “test del laberinto elevado en cruz” (Navarro & Maldonado, 2002), el “test de luz-oscuridad”(Maldonado & Navarro, 2000) y el “test de interacción social”

(Maldonado, Navarro, Cárdenas, Dávila, & Cavas, 2000), no desarrollándose tolerancia a dicho efecto (Navarro & Maldonado, 2002). Dicha acción ansiogénica parece, además, ir acompañada de un incremento de la actividad c-fos en la amígdala basolateral y central (Navarro et al., 2004). Asimismo, la administración de MDMA a animales de experimentación induce efectos antiagresivos (reducción de las conductas de amenaza y ataque), que se acompañan de un marcado aumento de las conductas de evitación/huida y defensa/sumisión, así como de una reducción de las conductas de investigación social, sugiriendo también la existencia de un perfil ansiogénico en los encuentros agonísticos entre ratones machos (Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 1999). No obstante, el mecanismo de acción de estos efectos no ha sido todavía dilucidado.

Hasta la fecha, no se conocen estudios que examinen los efectos conductuales de las drogas MBDB, MDEA y PMA en modelos animales de ansiedad y agresión. Por tanto, el objetivo general de este trabajo de investigación es estudiar el perfil conductual de MBDB, MDEA y PMA en modelos animales de agresión y ansiedad, empleando distintos parámetros conductuales que nos permitan obtener una descripción más exhaustiva de dicho perfil. Este objetivo general, se desglosa en otros más específicos que se describen a continuación:

1. *Estudio del perfil conductual del MBDB (2, 4 y 8 mg/kg) comparado con MDMA (8 mg/kg); y de las drogas MDEA (5, 10 y 20 mg/kg) y PMA (2, 4, 8 y 12 mg/kg) en ratones machos empleando el modelo de agresión inducida por aislamiento.*

Para ello se evaluarán: a) los parámetros clásicos de tiempo, frecuencia y latencia, de las categorías conductuales analizadas en el modelo de agresión inducida por aislamiento, b) las secuencias de las diadas conductuales y c) la evolución temporal del ataque.

Los antecedentes que disponemos del MDMA nos llevan a plantear las siguientes hipótesis:

- 1.1. La administración de MBDB (2, 4 y 8 mg/kg), MDMA (8 mg/kg), MDEA (5, 10 y 20 mg/kg) y PMA (2, 4, 8 y 12 mg/kg) producirá un efecto antiagresivo, caracterizado por un aumento de la latencia y una reducción significativa de las conductas ofensivas (amenaza y ataque).
- 1.2. La administración de las distintas drogas producirán una alteración de la secuencia que conduce a las conductas agonísticas ofensivas y defensivas.

- 1.3. Las drogas evaluadas producirán una alteración de la distribución de la conducta de ataque a lo largo de la prueba.
  - 1.4. La administración de MBDB, MDMA, MDEA y PMA se asociará a un perfil conductual ansiogénico en la interacción social desarrollada en el modelo de agresión.
2. *Estudio del perfil conductual del MBDB (2, 4 y 8 mg/kg) comparado con MDMA (8 mg/kg); MDEA (5, 10 y 20 mg/kg) y PMA (4, 8 y 12 mg/kg) en el modelo de ansiedad del laberinto elevado en cruz.*

Para ello se evaluarán tanto parámetros conductuales clásicos como parámetros etológicos de la ansiedad.

La evidencia disponible con el MDMA nos lleva a plantear las siguientes hipótesis:

- 2.1. La administración de MBDB (2, 4 y 8 mg/kg), MDMA (8 mg/kg), MDEA (5, 10 y 20 mg/kg) y PMA (4, 8 y 12 mg/kg) provocará un perfil conductual ansiogénico en parámetros clásicos y etológicos analizados en el modelo de ansiedad del laberinto elevado en cruz.

Para poner a prueba las hipótesis anteriores, se diseñaron los siguientes experimentos:

EXPERIMENTO 1: Efectos de la administración de MBDB (2, 4 y 8 mg/kg), sobre la conducta agonística en ratones machos. Comparación con MDMA (8 mg/kg).

EXPERIMENTO 2: Efectos de la administración de MBDB (2, 4 y 8 mg/kg) sobre la ansiedad evaluada en el test del laberinto elevado en cruz en ratones machos. Comparación con MDMA (8 mg/kg).

EXPERIMENTO 3: Efectos de la administración de MDEA (5, 10 y 20 mg/kg) sobre la conducta agonística en ratones machos.

EXPERIMENTO 4: Efectos de la administración de MDEA (5, 10 y 20 mg/kg) sobre la ansiedad evaluada en el test del laberinto elevado en cruz en ratones machos.

EXPERIMENTO 5: Efectos de la administración de PMA (2, 4, 8 y 12 mg/kg) sobre la conducta agonística en ratones machos.

EXPERIMENTO 6: Efectos de la administración de PMA (4, 8 y 12 mg/kg) sobre la ansiedad evaluada en el test del laberinto elevado en cruz en ratones machos



## **5. MATERIAL Y MÉTODO**



## 5. MATERIAL Y MÉTODO

### 5.1. METODOLOGÍA DE LOS EXPERIMENTOS DE AGRESIÓN

En este apartado se describen las características de los animales (cantidad, distribución, condiciones ambientales, etc.), los instrumentos y los procedimientos específicos de aislamiento y anosmia requeridos en el modelo de agresión inducida por aislamiento, también detallaremos el diseño experimental, el procedimiento de administración de las sustancias, la metodología de evaluación y el análisis estadístico. En la *Figura 5.3* se muestra un diagrama del procedimiento general seguido en los experimentos para evaluar la agresión inducida por aislamiento en ratones machos. Las características específicas de la metodología y el diseño experimental de cada uno de los experimentos, se detallará apartados posteriores dentro del propio marco específico de cada uno.

#### 5.1.1. Animales

Para la realización de los tres experimentos de agresión se utilizaron un total de 388 ratones albino machos adultos de la cepa Swiss OF.1, con un rango de peso inicial de entre 25-30g y una edad aproximada de 42 días. Los animales se adquirieron comercialmente en CRIFFÁ (Barcelona, España), de donde fueron enviados progresivamente a medida que se iban realizando los experimentos de la presente tesis doctoral.

A la llegada a nuestro laboratorio todos los animales fueron alojados en grupos de cinco durante una semana para permitir su adaptación a nuestras instalaciones. Las condiciones ambientales se controlaron cuidadosamente, manteniendo un ciclo luz/oscuridad acorde con el horario de experimentación (luz: 20:00-8:00; oscuridad: 8:00-20:00), una temperatura controlada ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), y humedad constante. Tanto el agua como la comida se administraron ad libitum. La limpieza de las jaulas se realizó dos veces por semana en el caso de los animales agrupados, mientras que la de los animales aislados se realizó una vez por semana, siempre el mismo día de la semana y a la misma hora, ocasión que se aprovechaba para el pesaje de los ratones con el fin de observar la evaluación de los pesos a los largo del periodo de aislamiento. Estos experimentos fueron realizados de acuerdo con la guía de principios para el cuidado y uso de animales de laboratorio aprobado por el Consejo Directivo de la Comunidad Europea el 24 de noviembre, 1986 (86/609/EEC).

### 5.1.2. Instrumentos

Los materiales e instrumentos básicos para la realización del experimento fueron los siguientes:

- ✓ Jaulas transparentes con unas dimensiones de 24 x 13,6 x 13 cm (Tecniplast-Letica), serrín y pienso.
- ✓ Balanza digital LETICA para el pesaje de los animales
- ✓ Balanza analítica para pesar fármaco
- ✓ Micropipetas de 1 y 5 ml.
- ✓ Matraces Erlenmeyer (50ml)
- ✓ Jeringas (10ml)
- ✓ Panel con cronograma específico (clave y dosis, así como horas de inyección, acondicionamiento y evaluación para cada animal y día de experimento).
- ✓ Carteles con las claves de cada animal (permiten la evaluación ciega de la grabación por parte del investigador, reduciendo con ello posibles sesgos de éste).
- ✓ Cronómetro
- ✓ Cámara de vídeo JVC hard-disk
- ✓ Lámpara con bombilla roja
- ✓ Monitor de televisión
- ✓ Jaula 50 x 26 x 30 cm con separador removible, para los encuentros agonísticos en territorio neutral. \*(específico para la prueba conductual de los experimentos de agresión).
- ✓ Programa para la realización de análisis etológicos por P.F. Brain

### 5.1.3. Procedimiento de aislamiento de los animales experimentales.

El aislamiento social es un tipo de manipulación ambiental que consigue potenciar las conductas agresivas que se manifiestan cuando un animal territorial como el ratón es enfrentado a otro macho extraño de la misma especie (Krsiak, 1991). El aislamiento social fue uno de los primeros enfoques metodológicos para inducir o potenciar la agresión entre ratones (Brain, 1989), es el método de elección para inducir conductas ofensivas entre ratones machos (Kemble et al., 1993), y es uno de los más empleados en



psicofarmacología de la agresión en ratones (Maldonado & Navarro, 2001b; McMillen, Da Vanzo, Song, Scott, & Rodriguez, 1989; Navarro & Manzaneque, 1997; Navarro & Maldonado, 1999; Navarro et al., 2008; Nelson & Pinna, 2011; Poshivalov, 1981; Rodríguez-Arias, Miñarro, Aguilar, Pinazo, & Simón, 1998; Sánchez & Hyttel, 1994; Toth et al., 2012; Vekovischeva et al., 2007; White, Kucharik, & Moyer, 1991).

El procedimiento de aislamiento ha destacado por su eficacia para incrementar la conducta agresiva en varias especies animales y especialmente en roedores (Arndt et al., 2009; Brain, 1975; Goldsmith, Brain, & Benton, 1978; C. Hunt & Hambly, 2006). Los ratones machos son animales territoriales que cuando alcanzan la edad adulta se separan de forma natural del grupo, por lo que este hecho parece representar más bien un mecanismo necesario para la estabilidad territorial o social de esta especie. Debido a esta característica de dominancia territorial resulta especialmente adecuado estudiar la agresión inducida mediante aislamiento en ratones machos (Brain, 1975).

Además, hay que tener en cuenta la duración del periodo de aislamiento influye en el nivel de agresión de una forma directa. En ratones se suele considerar adecuado un periodo de aislamiento de entre tres semanas y un mes (Kemble et al., 1993). La validez de este modelo para el estudio de algunas formas de agresión humana ha sido objeto de debate pero, de cualquier forma, y aunque no pueda considerarse una analogía directa de la agresión humana, los procesos neuroquímicos y fisiológicos subyacentes a este patrón de agresión inducido pueden proporcionar índices relevantes en el estudio de los efectos de los psicofármacos, tanto en roedores como en sujetos humanos (Martín-López, 1997; Miczek & Winslow, 1987).

Tras la semana de adaptación a las instalaciones y el correspondiente control del peso, se inicia el procedimiento de aislamiento por el cual la mitad de los ratones (194) se alojan individualmente durante un periodo de 30 en jaulas de plástico plástico transparentes (Tecniplast-Letica, Madrid) con unas dimensiones de 24x13.5x13 cm. Estos animales aislados serán empleados como animales experimentales o controles, y se distribuyen aleatoriamente entre las condiciones experimentales. Los ratones restantes son utilizados como oponentes anónimos, y se alojan en grupos de cinco sujetos en jaulas con las mismas características que las anteriores. La limpieza de las jaulas de los animales aislados se realizó una vez por semana, dos veces por semana la de los agrupados, y se aprovechaba para realizar un seguimiento del peso de los animales necesario para la posterior preparación de las dosis de fármaco.

Una vez superado el periodo de aislamiento, se realizan las pruebas conductuales de agresión por parejas (ratón experimental aislado vs. ratón oponente anósmico), cuya duración es de 10 minutos. El animal dominante muestra conductas de amenaza y ataque dirigidas hacia el oponente, mientras que el subordinado no ataca y adopta posturas defensivas. Para la correcta aplicación del modelo, es importante que el ratón experimental encuentre un oponente estándar que no inicie el ataque ni responda de forma agresiva aun cuando sea atacado. En el siguiente apartado expondremos los motivos y el procedimiento más extendido para ofrecer un oponente estándar.

#### 5.1.4. Descripción de la anosmia

Existen abundantes evidencias experimentales de que la información ambiental recogida por el sistema sensorial olfatorio desempeña un papel central en el desencadenamiento de la conducta agresiva en roedores (Guillot & Chapouthier, 1996; Kemble et al., 1993; Ropartz, 1968; Stowers, Cameron, & Keller, 2013), así como en su sistema de organización social (Liebenauer & Slotnick, 1996).

Se ha demostrado que el proceso de anosmia permanente, mediante la extirpación de los bulbos olfatorios, suprime las conductas ofensivas en roedores de forma tan notable que estos animales anósmicos no responden de forma agresiva aún cuando son atacados (Brain, Benton, Childs, & Parmigiani, 1981; Liebenauer & Slotnick, 1996; Ropartz, 1968; Rowe & Edwards, 1971). Un método menos invasivo y más sencillo, consiste en producir una anosmia periférica transitoria mediante instilación de una solución de sulfato de zinc (al 4 ó 5%) por ambas fosas nasales, lo que origina una necrosis reversible del epitelio nasal (Brain et al., 1981; Slotnick, Sanguino, Husband, Marquino, & Silberberg, 2007).

El motivo por el que los ratones anósmicos no luchan con sus oponentes parece deberse a su incapacidad para detectar una feromona presentada en la orina, la proteína urinaria mayor (Mups), que es una señal inductora del ataque en ratones machos adultos con un sentido del olfato intacto (Chamero et al., 2007; Nakamura et al., 2007). La investigación sobre cómo se detectan las señales olfativas especializadas, tales como las feromonas, se ha centrado en la función del órgano vomeronasal (VNO), un subsistema de neuronas receptoras alojadas en la cavidad nasal, que proyecta al bulbo olfatorio accesorio (AOB) y cuyas neuronas inervan el sistema límbico (Stowers & Logan, 2010; Stowers et al., 2013). Se ha sugerido que en los ratones anosmiados la función del VNO se encuentra inhibida y esto dificulta el comportamiento social. Investigaciones recientes

indican que otros subsistemas olfativos como el epitelio olfativo principal (MOE), implicado principalmente en la detección de olores, y el subsistema adicional no-VNO, también son sensibles a las feromonas y parecen mediar la conducta social de forma similar al VNO. (Stowers & Logan, 2010). Aunque actualmente se desconoce en detalle el mecanismo interno por el cual las feromonas activan el sistema olfativo en el roedor, resulta evidente que el procedimiento de anosmia transitoria interrumpe su función de una forma eficaz.

En el contexto experimental, el procedimiento de anosmia busca garantizar un oponente con una conducta uniforme no agresiva, evitando que inicie un enfrentamiento agresivo. La ventaja de presentar un oponente estándar es que podemos asumir que las diferencias observadas en el encuentro son producto de la manipulación experimental (Brain et al., 1981). En los experimentos presentados, la mitad de los animales llegados al laboratorio fueron sometidos a un proceso de anosmia transitoria, los días 3 y 1 previos a la realización de cada prueba conductual. A cada animal anosmiado se le administró 0.025ml de una solución de sulfato de zinc al 4% en cada orificio nasal por medio de una jeringa convenientemente adaptada para tal fin (despuntada), manteniendo la cabeza del animal inmóvil en posición supina. Se tuvo la precaución de evitar la entrada de restos del producto directamente en la boca ya que pueden producir desde problemas de necrosis en el tejido pulmonar hasta la muerte del sujeto.

#### **5.1.5. Diseño experimental**

A continuación, se realiza una descripción del diseño experimental que se ha empleado de forma común a todos los experimentos sobre agresión presentados en esta tesis doctoral. Como ya hemos comentado anteriormente, del total de los animales utilizados en cada experimento, la mitad son empleados como oponentes anósmicos y la otra mitad son aislados y distribuidos aleatoriamente entre los distintos grupos experimentales en función de la dosis de la sustancia administrada en cada caso (D1, D2, D3...) y el grupo control (vehículo) que recibe solución salina. En todos los experimentos la administración de la droga se realizó de forma aguda.

#### **5.1.6. Administración de la droga**

Las sustancias psicoactivas utilizadas en los diferentes experimentos fueron los siguientes: Metilbenzodioxolbutanamina (MBDB), Metileno-dioxi-etil-anfetamina (MDEA), y Parametoxianfetamina (PMA). Además, en el primer experimento también

se utilizó Metilendioximetanfetamina (MDMA) con el objetivo de disponer de un segundo grupo control. Los fármacos fueron adquiridos comercialmente a través de laboratorios TOCRIS (Bristol, U.K) y de laboratorios Sigma-Aldrich-Química (Madrid, España).

Todos ellos se disolvieron en suero salino, siendo las dosis elegidas 2, 4 y 8 mg/kg para la Metilbenzodioxolbutanamina (MBDB); 2, 5 y 10 mg/kg para la Metilendioxietilamfetamina (MDEA); 2, 4, 8 y 12 mg/kg para la Parametoxianfetamina (PMA). A los animales de cada grupo control se les administró suero salino, y en el primer experimento se tuvo en cuenta un grupo control adicional tratado con una dosis de 8 mg/kg de Metilendioximetanfetamina (MDMA). En todos los casos, las dosis fueron administradas por vía intraperitoneal y de forma proporcional al peso del animal con un volumen de 10ml/kg.

#### **5.1.7. Prueba conductual: encuentro agonístico**

Los encuentros se iniciaron en la segunda hora del periodo de oscuridad de los animales y se realizaron treinta minutos después de la administración de la droga, conforme con los datos farmacocinéticos disponibles. Cinco minutos antes del inicio de la prueba, se traslada la jaula con los cinco animales tratados a la sala experimental, para que tengan un periodo de acondicionamiento ambiental previo al test.

Los encuentros agonísticos fueron realizados en un espacio neutral para ambos animales (experimental/control y oponente anónimo), tuvieron una duración de 10 minutos, más 1 minuto previo de adaptación al espacio neutral separados por un muro móvil. Existen evidencias de que la intensidad lumínica en ambientes novedosos es un factor aversivo para los roedores (Becerra-Garcia, Parra-Cardenas, & Morato, 2005; Kemble & Goblirsch, 1997), por ello la prueba se desarrolla bajo una luz tenue de color roja. El espacio neutral consistió en una jaula acristalada con una medidas de 50x26x30cm con el suelo cubierto de serrín, que era sustituido tras cada encuentro para evitar las posibles interferencias generada por el olor de otros animales (Jones & Nowell, 1975; Kemble & Goblirsch, 1997).

Todos los experimentos se graban con una videocámara y se monitorizan, indicando la clave del animal que codifica el grupo de tratamiento. La grabación monitorizada se realiza con una doble finalidad, por un lado permite al investigador observar en tiempo

---

real el transcurso de la prueba, evitando la presencia de interferencias acústicas o visuales, y por otro, permite el posterior análisis etológico con un programa diseñado para tal fin.

#### **5.1.8. Evaluación conductual.**

La evaluación conductual de los encuentros agonísticos grabados se basó en el etograma diseñado por Brain, en el cual se distinguen diez categorías conductuales cada una constituida por un conjunto de elementos y posturas corporales diferentes: cuidado corporal, escarbar, exploración no social, exploración a distancia, investigación social, amenaza, ataque, evitación/huida, defensa/sumisión e inmovilidad (Brain, 1989).

Este procedimiento etoexperimental permite una cuantificación completa de los elementos conductuales que muestra el sujeto durante el encuentro agonístico. Se evaluaron sólo las conductas mostradas por los animales experimentales, desestimándose las exhibidas por los oponentes anónimos. Todas las valoraciones se realizaron por un investigador entrenado y de manera “ciega”, esto es, sin tener conocimiento de la condición experimental a la que pertenecía el animal al que iba a evaluar en cada momento.

#### **5.1.9. Análisis estadístico.**

##### *a) Análisis de los parámetros etológicos.*

Para cada categoría conductual y parámetro (tiempo acumulado, frecuencia y latencia), se pusieron a prueba los criterios paramétricos de homocedasticidad mediante la prueba de Levene y, dado el pequeño tamaño muestral de los grupos, el criterio de normalidad fue evaluado con la prueba de Shapiro-Wilk. Tras comprobar que dichos criterios paramétricos no fueron favorables, se procedió a analizar los datos con las pruebas no paramétricas pertinentes. Se utilizó el test H de Kruskal-Wallis para analizar si existían diferencias en la distribución de rangos entre al menos dos grupos, así como la prueba U de Mann-Whitney, para determinar entre qué pares de grupos existían dichas diferencias significativas. El criterio de significación estadística fue  $p < .05$  para todas las pruebas.

El tamaño del efecto se calculó mediante la prueba “Delta de Cliff”, un test que por su robustez está indicado cuando no se cumplen los criterios paramétricos (Macbeth, Razumiejczyk, & Ledesma, 2011; Romano, Kromrey, Coraggio, Skowronek, & Devine, 2006). El estadístico  $\delta$  de Cliff es estimado a partir de la cantidad de casos en los que los

puntajes de los sujetos disminuyen, aumentan o se mantienen, y representa el grado de superposición entre dos distribuciones no necesariamente normales; mientras que el estadístico “d de Cohen” comúnmente empleado para calcular el tamaño del efecto en pruebas paramétricas representa el grado de superposición entre dos distribuciones normales (Romano et al., 2006). De esta forma, un valor  $\delta$  extremo ( $|\pm 1|$ ) ocurre cuando la intersección entre dos distribuciones es un conjunto vacío asociándose a significación estadística, mientras que un valor delta aproximado a cero indica que ambas distribuciones están superpuestas en gran medida (Macbeth et al., 2011). Se advierte que el tamaño del efecto no paramétrico  $\delta$  de Cliff difiere de la d de Cohen paramétrica en el codominio, ya que la  $\delta$  es un número real que se mueve entre -1 y +1 mientras la d de Cohen es siempre positiva y se comporta como un puntaje Z (Macbeth, 2013), por ello aunque se ha comprobado que existe una alta correlación entre ambas pruebas, no se dispone de un acuerdo que establezca un paralelismo exacto entre la  $\delta$  de Cliff y los valores convencionales (d= 0.20 pequeño, d= 0.50 mediano y d=0.80 grande) para la d de Cohen (1988). En cualquier caso, se ha llegado a establecer como aceptable considerar que  $|\delta| \approx 0.15$  es pequeño,  $|\delta| \approx 0.33-0.35$  es moderado y  $|\delta| \approx 0.47-0.50$  es un tamaño del efecto alto (Macbeth, 2013; Romano et al., 2006). El signo de la  $\delta$  de Cliff es indistinto porque depende de cuál variable se ingrese primero en el algoritmo de cómputo. En el presente estudio se ingresó primero el grupo experimental y en segundo lugar el grupo control, por lo que el cambio de signo se asocia directamente a los cambios de la variable en el grupo experimental (positivo es aumento, negativo indica reducción), respecto al grupo control.

#### *b) Análisis de secuencias conductuales*

La conducta de un animal observada durante un periodo de tiempo puede descomponerse en un conjunto de categorías conductuales mutuamente excluyentes. De esta forma, los datos extraídos de un sujeto consisten en una serie de estados codificados que indican actividades sucesivas, y por lo tanto una secuencia conductual que es posible analizar (Berchtold, 2010). En este apartado nos planteamos la posibilidad de que el fármaco fuera capaz de alterar la estructura de la conducta agonística del roedor. Para valorarlo, cuantificamos la totalidad del repertorio diádico conductual, trazando un mapa que representara el cien por cien de la conducta realizada en cada grupo de tratamiento y permitiera analizar las posibles diferencias.

En el estudio de la secuencia conductual, se denomina *diadas* o *transiciones de primer orden*, al conjunto de dos categorías conductuales consecutivas dentro de una misma secuencia conductual. Para analizar las diadas de una secuencia conductual se crea una tabla de contingencia en la cual se recoge la frecuencia absoluta de las diadas, de tal forma que las filas representan las conductas precedentes y las columnas las conductas consecuentes. A partir de ésta, se puede obtener una matriz de frecuencia relativa, en la

a) Matriz de transición				b) Matriz de frecuencia relativa							
		Conductas Consecuentes					Conductas Consecuentes				
		a	b	c			a	b	c		
Conductas Precedentes	a	-	FAab/Σa	FAac/Σa	Σ=1			-	FAab/N	FAac/N	Σa/N
	b	FAba/Σb	-	FAbc/Σb	Σ=1			FAba/N	-	FAbc/N	Σb/N
	c	FAca/Σc	FAcb/Σc	-	Σ=1			FAca/N	FAcb/N	-	Σc/N
					Σ=1						Σ=1

$$PT \text{ diada } ab = \frac{PO \text{ diada "ab"}}{PO \text{ conducta "a \cdot "}}$$

Figura 5.1 Matrices para el cálculo de la probabilidad de ocurrencia de una diada (matriz de frecuencia relativa) y de la probabilidad de transición de la diada (matriz de transición). Así como la relación entre ambos parámetros.

cual el cociente entre la frecuencia absoluta de una diada y el número total de conductas de la secuencia conductual representa la *Probabilidad de Ocurrencia de una diada (PO diada)*. De forma similar, es posible calcular la *Probabilidad de transición de la diada (PT diada)*, normalizando a uno el total de diadas que parten de una misma categoría conductual (Berchtold, 2010; Espejo, 1997; Moro et al., 1997).

La “POdiada” permite saber cómo de probable es la diada en el repertorio conductual total, mientras que la “PTdiada” informa de cómo de probable es que la conducta A sea seguida por la conducta B, con lo que ambas son interesantes pero la primera proporciona una información que engloba a la segunda (Figura 5.1). La información recogida de la “PTdiada” se suele representar en un diagrama de Markov, adecuado para representar transiciones entre variables dependientes categóricas en un análisis de secuencias (Corter, 1994; Espejo, 1997). Por otra parte, la frecuencia relativa es el parámetro de elección en estudios de análisis multimétricos ya que se considera independiente de otros parámetros y de la duración del test (Vekovischeva, Verbitskaya, Aitta-aho, Sandnabba, & Korpi, 2007). Por lo que en estos experimentos, se analiza estadísticamente la “POdiada” y se representarán ambos parámetros.

El análisis de las POdiadas se realizó mediante pruebas no paramétricas, ya que no se cumplían los criterios de normalidad y homocedasticidad, teniendo en cuenta un criterio de significación estadística de  $p < .05$ . Los resultados se representan en un mapa descriptivo markoviano adaptado, que engloba la totalidad del repertorio conductual en cada grupo. En este mapa se indica la probabilidad de ocurrencia diádica en porcentaje mediante el grosor de las flechas, así como la probabilidad de transición al lado de cada flecha. Para la interpretación de los resultados, se trató de estimar si las diferencias halladas en la estructura conductual eran de tipo cuantitativo o cualitativo respecto al control, valorando esta cuestión según los siguientes criterios:

- Las diferencias son de tipo *Cuantitativo*, si las diadas precedentes o consecuentes relacionadas con una conducta que se trata de valorar son las mismas que en el grupo control y se alteran en el mismo sentido en el que se altera la conducta objetivo (p.ej. Si la conducta de amenaza aumenta, se examina si las diadas relacionadas con esta conducta son las mismas que en el grupo control y además aumentan respecto a éste).

- Las diferencias de tipo *Cualitativo* engloban el resto de casos posibles, en concreto se producen cuando las diadas precedentes o consecuentes relacionadas con una conducta cumple alguno de estos supuestos: a) se alteran en sentido contrario a la conducta objetivo, b) se alteran sin que se produzcan cambios en la conducta objetivo o incluso en ninguna de las conductas que conectan, c) no son las mismas que las representadas en el grupo control, en este caso nos referimos a diadas irrelevantes en el repertorio conductual del grupo control ( $PO < 1\%$ ) que aumentan de forma significativa en el grupo experimental.

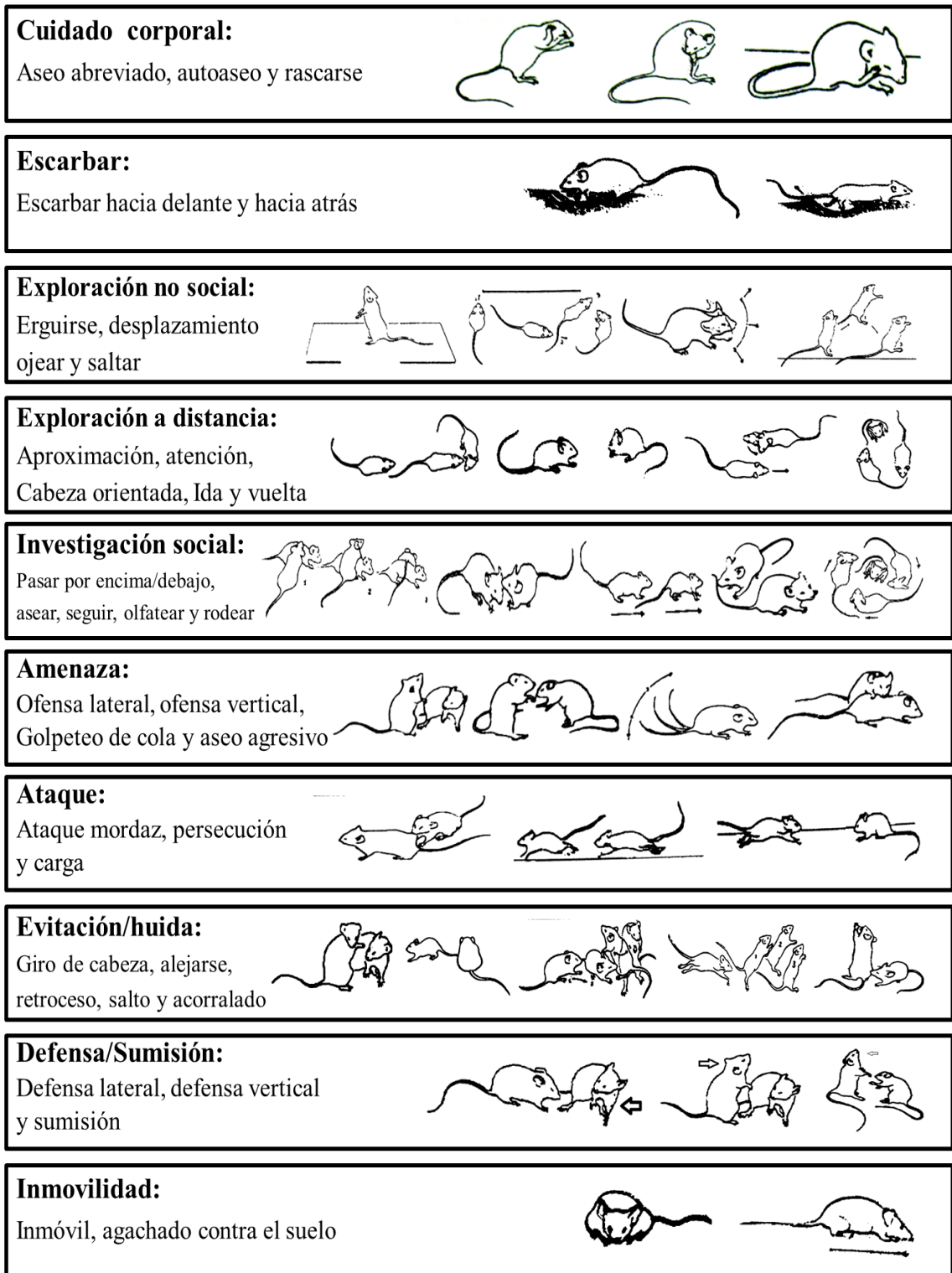
La principal ventaja de esta modalidad de análisis es que permite describir con mayor precisión posibles alteraciones producidas en la totalidad de la estructura conductual tras el tratamiento farmacológico, que no pueden ser observadas mediante el análisis tradicional.

### c) *Análisis de la evolución temporal de los ataques*

Por último se ha realizado un análisis de la evolución temporal de las conductas de ataque mediante la prueba de independencia  $\chi^2$ -cuadrado, con el objetivo de analizar si existe asociación entre el tratamiento y la evolución temporal de la conducta de ataque diferenciando entre la primera y la segunda mitad de la prueba.

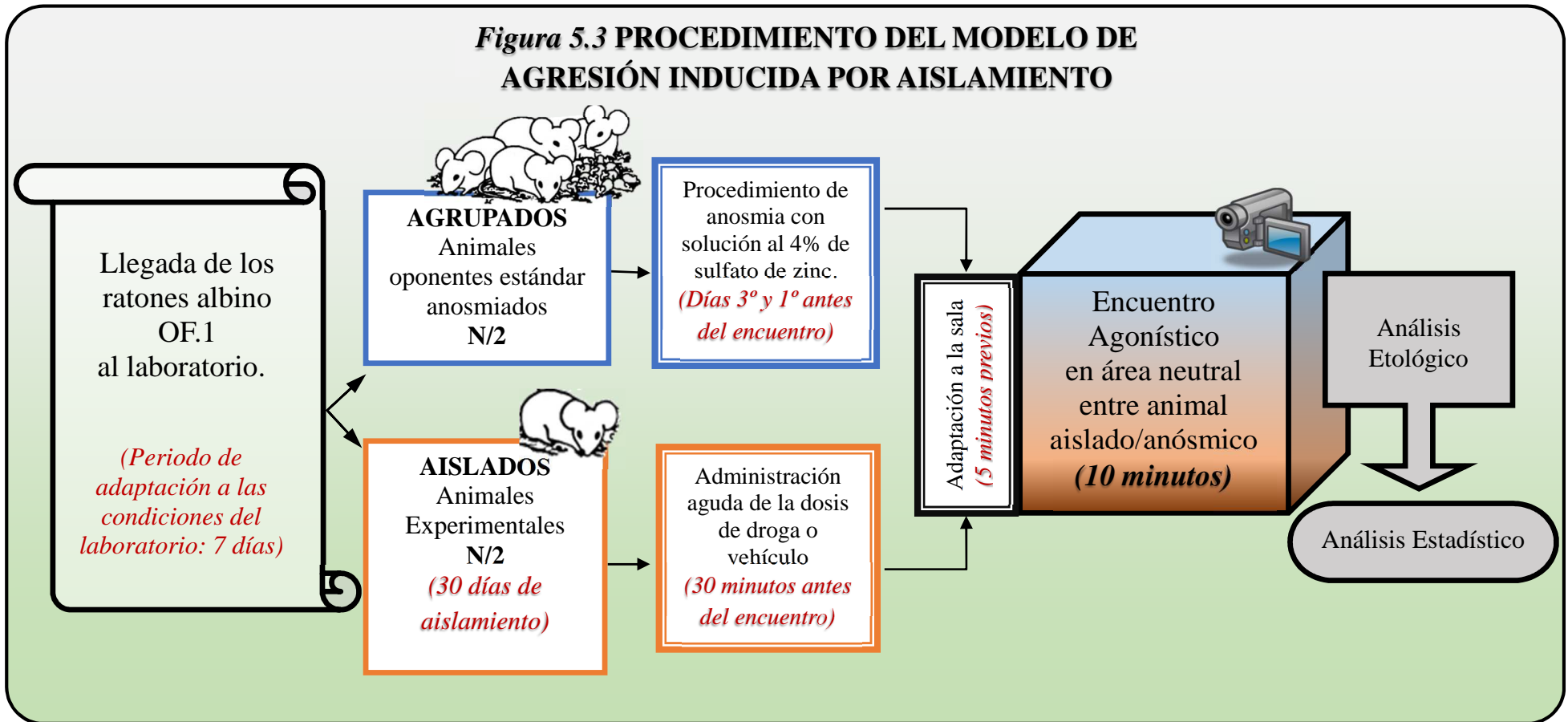


Figura 5.2 Categorías conductuales evaluadas en ratones durante el análisis etológico del modelo de agresión inducida por aislamiento





**Figura 5.3 PROCEDIMIENTO DEL MODELO DE AGRESIÓN INDUCIDA POR AISLAMIENTO**





## 5.2. METODOLOGÍA DE LOS EXPERIMENTOS DE ANSIEDAD

En este apartado describiremos los instrumentos y las características de los animales empleados (cantidad, distribución, condiciones ambientales, etc.), junto con el procedimiento general para la evaluación de la ansiedad, la metodología de evaluación y análisis estadístico. En la *Figura 5.4* se muestra un diagrama del procedimiento seguido en los experimentos de ansiedad en el laberinto elevado en cruz. En epígrafes posteriores, dentro del marco de cada uno de los experimentos, presentaremos la metodología y el diseño experimental específicamente utilizado en cada uno.

### 5.2.1. Animales

Para la realización de los tres experimentos de ansiedad se utilizaron un total de 156 ratones machos adultos de la cepa Swiss OF.1, con un rango de peso inicial de entre 25-30g y una edad aproximada de 42 días. Los animales se adquirieron comercialmente en CRIFFÁ (Barcelona, España), de donde fueron enviados progresivamente a medida que se iban realizando los experimentos de la presente tesis doctoral.

A la llegada a nuestro laboratorio todos los animales fueron alojados en grupos de cinco durante una semana para permitir su adaptación a nuestras instalaciones. Las condiciones ambientales se controlaron cuidadosamente, se mantuvo un ciclo luz/oscuridad acorde con el horario de experimentación (luz: 20:00-8:00; oscuridad: 8:00-20:00), una temperatura controlada ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) y humedad constante. Tanto el agua como la comida se administraron ad libitum. La limpieza de las jaulas se realizó dos veces por semana siempre el mismo día de la semana y a la misma hora, ocasión que se aprovechaba para controlar el peso de los ratones, dato necesario para la posterior preparación de las dosis del fármaco. Estos experimentos fueron realizados de acuerdo con la guía de principios para el cuidado y uso de animales de laboratorio aprobado por el Consejo Directivo de la Comunidad Europea el 24 de noviembre, 1986 (86/609/EEC).

### 5.2.2. Instrumentos

Para la valoración de la ansiedad se utilizó una prueba conductual específica de ansiedad estado, denominada “Laberinto elevado en cruz” (EPM, siglas en inglés de “Elevated Plus-Maze”). El resto de materiales e instrumentos básicos para la realización del experimento fueron esencialmente los mismos que constan en el listado detallado de instrumentos del epígrafe anterior.

El diseño del aparato “laberinto elevado en cruz” para ratones (Lister, 1987; Navarro & Maldonado, 2002), consta de cuatro brazos situados perpendicularmente con unas dimensiones de 30x5cm y provistos de un borde (0.25cm), en la intersección hay una plataforma central (5x5cm). La característica esencial de este laberinto, es que dos de los brazos enfrentados se encuentran cerrados por unas paredes de plástico transparente de 15cm de altura, mientras que los otros dos brazos permanecen abiertos o desprotegidos. La estructura se encuentra elevada a 40cm del suelo mediante patas, las cuales son posicionadas exactamente en el mismo punto de la sala en cada prueba conductual.

### 5.2.3. Diseño experimental

A continuación, se describe el diseño experimental empleado de forma común a todos los experimentos que evalúan ansiedad presentados en esta tesis doctoral. Los animales asignados a los experimentos de ansiedad, son distribuidos aleatoriamente entre los distintos grupos experimentales, según la dosis del compuesto administrado (D1, D2, D3...) y el grupo control (vehículo) que recibe suero fisiológico (*Figura 5.4*).

### 5.2.4. Administración de la droga

Los compuestos utilizados en los diferentes experimentos fueron los siguientes: Metilbenzodioxolbutanamina (MBDB), Metilendioxietilamfetamina (MDEA), y Parametoxianfetamina (PMA). Además, en el primer experimento también se utilizó Metilendioximetamfetamina (MDMA) con el objetivo de disponer de un segundo grupo control. Los fármacos fueron adquiridos comercialmente a través de laboratorios TOCRIS (Bristol, U.K) y de laboratorios Sigma-Aldrich-Química (Madrid, España).

Todos ellos se disolvieron en suero salino, siendo las dosis elegidas 2, 4 y 8 mg/kg para la Metilbenzodioxolbutanamina (MBDB); 2, 5 y 10 mg/kg para la Metilendioxietilamfetamina (MDEA); 2, 4, 8 y 12 mg/kg para la Parametoxianfetamina (PMA). A los animales de cada grupo control se les administró suero fisiológico o salino. Además, en el primer experimento se tuvo en cuenta un grupo control adicional tratado con una dosis de 8 mg/kg de Metilendioximetamfetamina (MDMA). En todos los casos, se realizó una administración aguda de la droga por vía intraperitoneal y de forma proporcional al peso del animal con un volumen de 10ml/kg. Tras la administración, cada animal se marca con un rotulador indeleble en la cola y se devuelve a su jaula de agrupados. Esto permitirá posteriormente identificar al ratón para la prueba conductual.

### **5.2.5. Prueba conductual: laberinto elevado en cruz**

Los encuentros se iniciaron en la segunda hora del periodo de oscuridad de los animales y treinta minutos después de la administración de la droga, conforme a los datos farmacocinéticos disponibles. Cinco minutos antes del inicio de la prueba, se traslada la jaula con los cinco animales tratados a la sala experimental, para que tengan un periodo de acondicionamiento ambiental previo al test.

Todos los experimentos se graban con una videocámara y se monitorizan, justo antes de iniciar cada sesión se presenta delante de la cámara la clave del animal que codifica el grupo de tratamiento. La grabación monitorizada se realiza con una doble finalidad, por un lado permite al investigador observar en tiempo real el transcurso de la prueba, evitando la presencia de interferencias acústicas o visuales, y por otro, permite el posterior análisis etológico con un programa diseñado para tal fin.

El test se inicia colocando al ratón en la plataforma central orientado siempre hacia el mismo brazo abierto y permitiéndole moverse libremente. Cada sesión dura cinco minutos y se desarrolla bajo una luz tenue de color roja, manteniendo las mismas condiciones ambientales que en los experimentos de agresión. Después de cada test, el laberinto se limpia exhaustivamente para eliminar rastros de olores de sujetos previos, dejándolo preparado para la siguiente sesión.

### **5.2.6. Evaluación conductual.**

El test del laberinto elevado en cruz es una prueba conductual ampliamente usada en roedores y con diversas aplicaciones en el estudio de la ansiedad. Esta prueba goza de buena validez etológica, ya que evalúa la conducta incondicionada o espontánea del ratón mediante estímulos naturales que producen ansiedad. Los roedores son proclives a dirigirse hacia la oscuridad y a espacios cerrados que le brindan protección, pero también muestran una motivación natural para explorar ambientes novedosos. En esta prueba se asume que los brazos abiertos del laberinto producen una combinación de miedo o aversión a un espacio abierto, relativamente angosto y alto que resulta aversivo y novedoso para el roedor.

Las conductas que se registran típicamente en el test son medidas espaciotemporales, relativas al tiempo acumulado y frecuencia en los brazos abiertos y cerrados del laberinto. En los últimos años, numerosos estudios incorporan elementos conductuales que complementan los parámetros estándar mencionados. Se ha demostrado que las medidas

etológicas de evaluación del riesgo, tales como “Stretched-attend posture” y “Head-dipping”, son indicadores sensibles del efecto de drogas que afectan a la ansiedad (Brunner, Buhot, Hen, & Hofer, 1999; Cruz et al., 1994; Espejo, 1997; Rodgers & Johnson, 1995).

En este estudio se incluyen las medidas clásicas espaciotemporales y las medidas etológicas, ya que la combinación de ambas permite caracterizar mejor el perfil de la sustancia que se evalúa. El análisis conductual se realizó de forma “ciega”, es decir, conociendo tan sólo la clave codificada del sujeto de forma que se eviten sesgos en función del grupo de tratamiento. Para realizar el análisis conductual se utilizó un programa especial de análisis etológico diseñado por P.F. Brain, con el cual se recogen los parámetros de tiempo acumulado en segundos (T), frecuencia (F) y latencia en segundos (L), para cada una de las medidas espaciotemporales y etológicas que presentamos a continuación.

Entre las *medidas espaciotemporales* se incluyen: (1) tiempo acumulado en brazo abierto o no protegido, (2) tiempo en brazo cerrado o protegido, (3) tiempo en plataforma central, (4) frecuencia de entrada en brazo abierto o no protegido, (5) frecuencia de entrada en brazo cerrado o protegido, (6) frecuencia total de entrada en brazos, (7) porcentaje de entrada en brazo abierto o no protegido, (8) latencia de entrada en brazos, (9) latencia de entrada en brazo abierto o no protegido y (10) latencia de entrada en brazo cerrado o protegido. Para contabilizar un desplazamiento de un área del laberinto a otra, se requiere que el sujeto entre con sus cuatro patas en el área nueva.

Las *medidas etológicas* incluyen el análisis de los parámetros tiempo acumulado, frecuencia y latencia para cada una de las siguientes categorías conductuales: (1) Inclinación de la cabeza o “*Head-Dipping*” en área no protegida (HD no protegido), en la cual el ratón se encuentra en un brazo abierto y mueve la cabeza hacia el exterior y por debajo del nivel del suelo del laberinto; (2) Inclinación de la cabeza en área protegida (HD protegido), es la misma postura pero el ratón la realiza desde un área protegida; (3) Postura de atención extrema o “*Stretched attend postures*” en áreas no protegidas (SAP no protegido), en la cual el ratón se estira hacía adelante para luego retroceder a su posición inicial en un brazo abierto del laberinto; (4) Postura de atención extrema en áreas protegidas (SAP protegido), es la misma postura pero el ratón la realiza en un brazo cerrado o en el centro del laberinto; (5) la exploración vertical (Rears), en la cual el animal se incorpora sobre sus patas traseras y apoya las delanteras sobre la pared del brazo



protegido, esta postura suele realizarse en los brazos protegidos o bien en la plataforma central del laberinto; (6) la conducta de vuelta a brazo protegido, consiste en una salida parcial del brazo protegido con giro sobre sí mismo y posterior regreso a éste, y por último, (7) la conducta no exploratoria que incluye el tiempo en que el animal permanece inmóvil más el cuidado corporal (estos elementos se han incluido en la misma categoría dada su dificultad de análisis por el ángulo de visión de la cámara).

### 5.2.7. Análisis estadístico

Tras el registro de los parámetros espaciotemporales y etológicos, se analizaron los datos obtenidos mediante las pruebas no paramétricas H-Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney, ya que no se cumplían los criterios de normalidad y homocedasticidad. El criterio de significación estadística fue  $p < .05$  para todas las pruebas. El tamaño del efecto resulta relevante para estimar la importancia de las diferencias observadas (Kirk, 2007). En estos experimentos, el tamaño del efecto se calculó mediante la prueba “Delta de Cliff”, un test que por su robustez está indicado cuando no se cumplen los criterios paramétricos (Macbeth et al., 2011; Romano et al., 2006). El estadístico delta de Cliff representa el grado de superposición entre dos distribuciones no necesariamente normales, de tal forma que un valor delta extremo  $|\pm 1|$ , ocurre cuando la intersección entre dos distribuciones es un conjunto vacío. No existe un paralelismo exacto con el estadístico “d de Cohen”, pero por regla general, un delta Cliff con valor absoluto próximo a  $|\delta| = .20$  se considera bajo, próximo a  $|\delta| = .30$  es medio y superior a  $|\delta| = .50$  se considera elevado.

Además, se utilizó de forma excepcional el test de reacciones extremas de Moses, una prueba no paramétrica para muestras independientes que permite analizar las diferencias en el grado de variabilidad o dispersión de dos distribuciones. Aunque heterogeneidad de la varianza es algo poco deseable, lo cierto es que por sí misma puede constituir un resultado experimental relevante. Esto significa que, en ocasiones, el estudio de la variabilidad puede ser un fin en sí misma y no sólo un paso previo en el análisis de los datos. Por ejemplo, si queremos evaluar el efecto de un tratamiento en una determinada conducta, podemos limitarnos a comparar los promedios con el grupo control, por procedimiento paramétricos o no paramétricos según proceda y finalmente constatar, en nuestro ejemplo, que existe un incremento de la conducta objetivo tras el tratamiento. Sin embargo, este procedimiento obvia que se pueden producir dos situaciones diferentes: (1) que el tratamiento incremente de forma generalizada y uniforme la conducta objetivo, o bien que, (2) que el tratamiento consiga aumentar la

conducta objetivo de forma muy marcada en unos sujetos y muy leve en otros (reacciones extremas), es decir, afectando a algunos sujetos en una dirección y a otros en la opuesta. Estas diferencias no quedarían reflejadas en el promedio, pero sí en la variabilidad. El test de Moses es un análisis de contraste de varianzas que está indicado cuando se desea analizar la dispersión de los datos extremos por métodos no paramétricos. Si la probabilidad asociada al estadístico *amplitud recortada* ( $Ar$ ) es inferior al nivel de significancia ( $\alpha=.05$ ), se puede rechazar la hipótesis nula de que ambas muestras provienen de poblaciones con la misma amplitud, y que por lo tanto el tratamiento evaluado produce reacciones extremas.

Figura 5.4 Categoría conductuales evaluadas en ratones durante el análisis etológico del laberinto elevado en cruz

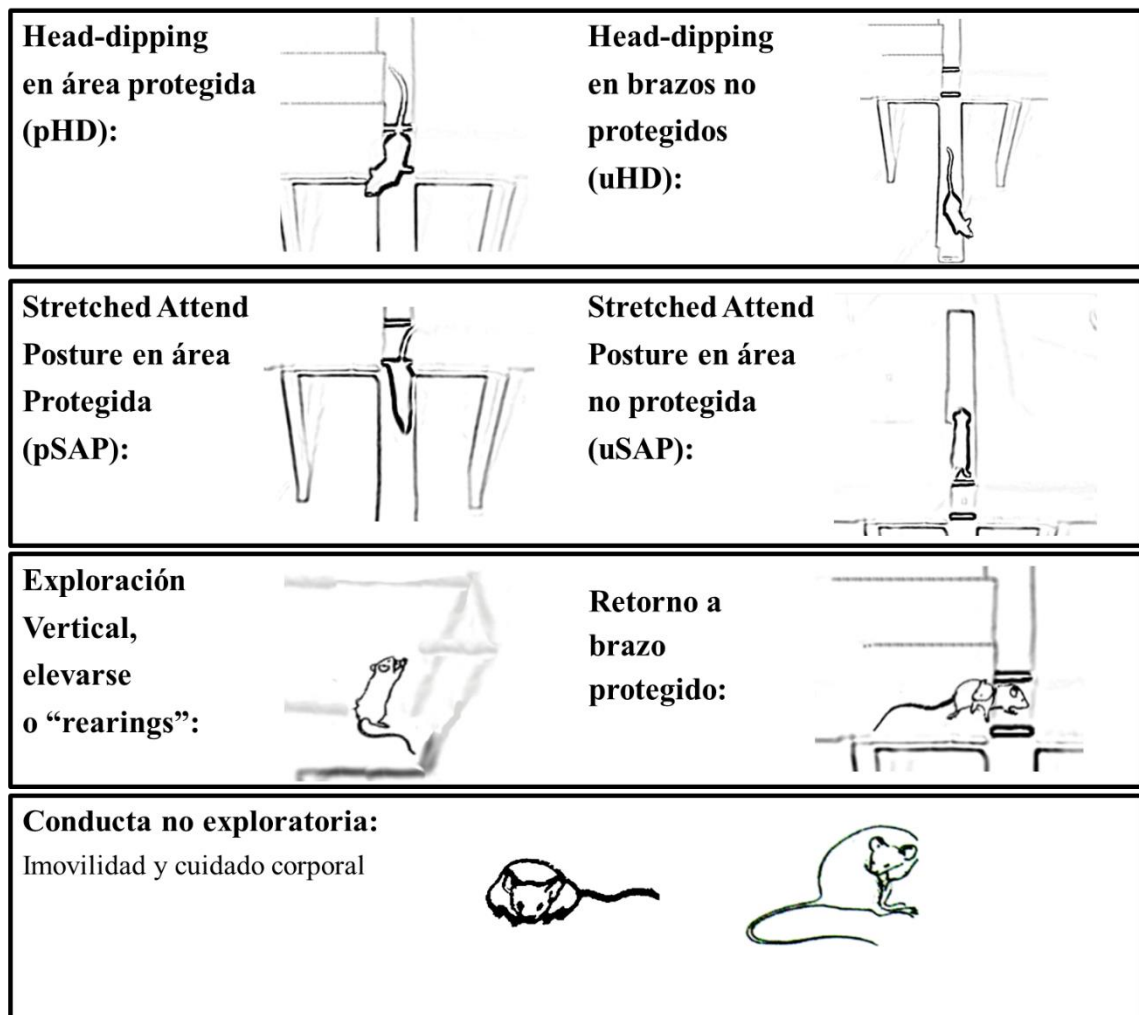


Figura 5.5 PROCEDIMIENTO DEL MODELO DE ANSIEDAD  
LABERINTO ELEVADO EN CRUZ



**ANIMALES  
EXPERIMENTALES  
AGRUPADOS**

Ratones albino OF.1  
N= nº de animales

*(Periodo de adaptación  
a las condiciones del  
laboratorio: 7 días)*

Administración  
aguda de la dosis  
droga o vehículo

*(30 minutos antes  
del encuentro)*

Adaptación a la sala experimental  
*(5 minutos previos)*



**Laberinto elevado en cruz**  
*(5 minutos)*

Análisis  
Espacial y  
Etológico

Análisis Estadístico



## **6. EXPERIMENTO 1: Efectos de la administración de MBDB sobre la conducta agonística en ratones**



## 6. EXPERIMENTO 1: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE MBDB SOBRE LA CONDUCTA AGONÍSTICA EN RATONES

El objetivo de este estudio ha sido analizar los efectos conductuales de la administración aguda de tres dosis de MBDB (2, 4 y 8 mg/kg) y una dosis de MDMA (8 mg/kg) sobre la conducta agonista en ratones machos de la cepa OF.1 en el modelo de agresión inducida por aislamiento, así como comparar el perfil conductual del MBDB con el producido por el MDMA. Este objetivo general se desglosa a su vez en tres específicos: 1) Analizar los parámetros clásicos (tiempo, frecuencia y latencia) de las categorías conductuales descritas en el modelo, 2) Realizar un análisis de secuencias conductuales de ambas sustancias para examinar si existen diferencias en la estructura conductual global, especialmente en los patrones conductuales que conducen a las conductas agonísticas agresivas, y por último, 3) Analizar la evolución temporal de las conductas agonísticas agresivas en función del tratamiento administrado.

### 6.1. Procedimiento

Para evaluar el efecto del MBDB sobre la conducta agonística, se utilizaron en este experimento un total de 144 ratones machos albinos de la cepa SWISS OF.1 (CRIFFA, Barcelona, España), la mitad de los cuales (72) se emplearon como animales experimentales, siendo el resto utilizado como oponentes anónimos. Para este experimento se tuvieron en cuenta tres grupos experimentales con una dosis creciente de MBDB (2, 4, 8 mg/kg), y un grupo control al cual se le administró suero salino. Adicionalmente, se tuvo en cuenta un segundo grupo control al que se le administró una dosis de 8 mg/kg de MDMA. La administración aguda de estas sustancias se realizó vía intraperitoneal (i.p.) y de forma proporcional al peso del animal (volumen constante de 10ml/kg).

### 6.2. Resultados

#### 6.2.1. Análisis de los parámetros etológicos

En la Tabla 6.1 se muestran los valores de mediana con rangos para cada uno de los parámetros clásicos conductuales que se han evaluado en el modelo de agresión inducida por aislamiento. Los datos no cumplían los criterios de normalidad y homocedasticidad,

Tabla 6.1

Valores de mediana con rangos de los parámetros asignados a las categorías conductuales agonísticas evaluadas en ratones machos después de la administración aguda de MBDB (2, 4 y 8 mg/kg), MDMA (8 mg/kg) o salino, en el paradigma de agresión inducida por aislamiento

	2 mg/kg de MBDB			4 mg/kg de MBDB			8 mg/kg de MBDB			8 mg/kg de MDMA			
	Mdn	(Rango)	p*	Mdn	(Rango)	p*	Mdn	(Rango)	p*	Mdn	(Rango)	p*	δ
Cuidado corporal	T ++	11,74 (5,7-36,2)	.031	6,74 * # (0-35)	.031	-0,41	3,77 ** # (0,6-12,7)	<.001	-0,81	0,62 ** (0-27,4)	<.001	-0,76	
	F ++	10 (3-31)	.002	6 ** # (0-18)	.002	-0,6	3 ** # (1-9)	<.001	-0,89	1,5 ** (0-38)	<.001	-0,79	
	L ++	124,39 (4,6-316,7)	.038	220,53 * ## (59,9-600)	.038	0,39	340,18 ** # (102,9-573,3)	<.001	0,78	465,95 ** (105,5-600)	<.001	0,8	
Escarbar	T ++	7,01 (2,5-31,8)	.001	0 ** ## (0-18)	.001	-0,68	0 ** # (0-5,6)	<.001	-0,96	0 ** (0-0)	<.001	-1	
	F ++	5 (2-21)	.001	0 ** ## (0-18)	.001	-0,64	0 ** # (0-5)	<.001	-0,88	0 ** (0-0)	<.001	-1	
	L ++	238,83 (30,8-589,6)	.011	600 * ## (80,5-600)	.011	0,5	600 * ## (38,8-600)	<.001	0,8	600 ** (600-600)	<.001	1	
Exploración no social	T ++	391,09 (260-502,3)		390,17 ## (350,2-463,2)		0,43	448,56 * ## (247,9-505,9)	.024	0,43	492,26 ** (298,9-555,9)	<.001	0,72	
	F +	77 (53-101)		77 (43-94)		-0,57	59,5 ** (40-96)	.003	-0,57	49 * (34-140)	.013	-0,47	
	L	0 (0-0)		0 (0-0)			0 (0-0)			0 (0-0)			
Exploración a distancia	T ++	41,23 (11,2-67,7)		36,58 # (11,4-100,7)		0,62	58,13 ** (35,8-97,3)	.002	0,62	59,17 * (24,1-138,5)	.042	0,38	
	L	5,01 (1,6-42,3)		8,07 (1-34,9)			8,31 (0,7-20,3)			6,85 (1,3-24,2)			
	F	58 (20-103)		47,5 (12-78)			42 (24-64)			38 (21-108)			
Investigación social	T ++	19,74 (0-109,5)	.002	54,33 ** ## (0,5-173,2)	.002	0,6	60,86 ** ## (9,4-160,4)	.001	0,67	43,78 ** ## (10,1-224,7)	.007	0,53	
	F +	29 (0-40)	.007	41 ** ## (1-74)	.007	0,52	35 * # (7-115)	.014	0,48	28,5 # (5-83)			
	L	20,94 (2,6-600)		17,6 (1,2-517,6)			15,01 (3,9-125)			13,28 (1,2-108,6)			



Tabla 6.1. (Continuación)

	Salino			2 mg/kg de MBDB			4 mg/kg de MBDB			8 mg/kg de MBDB			8 mg/kg de MDMA		
		Mdn (Rango)	p* δ	Mdn (Rango)	p* δ	Mdn (Rango)	p* δ	Mdn (Rango)	p* δ	Mdn (Rango)	p* δ	Mdn (Rango)	p* δ	Mdn (Rango)	p* δ
Amenaza	T ++	103,29 (0,4-243,9)	98,59 ## (16,1-238,3)	70,6 ## (0-154,7)		23,07 ** # (0-117,7)	.001	-0,67		1,3 ** (0-146,4)	<.001	-0,77			
	F ++	145 (1-278)	111 ## (27-282)	80 * ## (0-203)	.043	31,5 ** # (0-176)	.001	-0,64		2,5 ** (0-163)	<.001	-0,8			
	L ++	15,81 (1,9-577)	39,3 ## (1,4-350,9)	12,03 # (4,8-600)		151,24 ** (9,9-600)	.001	0,63		278,29 ** (7,6-600)	<.001	0,71			
Ataque	T ++	9,51 (0-36,7)	6,49 ## (0-21,9)	7,3 ## (0-13,8)		0,31 ** # (0-12,3)	.002	-0,6		0 ** (0-5,5)	<.001	-0,87			
	F ++	50 (0-241)	51,5 ## (0-242)	30 * ## (0-111)	.027	2,5 ** # (0-103)	.003	-0,58		0 ** (0-26)	<.001	-0,89			
	L ++	75,84 (2,1-600)	222,42 ## (8,8-600)	162,83 ## (17,1-600)		581,99 ** (15,6-600)	<.001	0,74		600 ** (180,7-600)	<.001	0,87			
Evitación & huida	T	1,54 (0-8,7)	3,58 (0-11,3)	1 (0-8,5)		4,32 * (0-18,5)	.017	0,46		4,94 * (0-13,3)	.04	0,38			
	F	2,5 (0-13)	6 (0-16)	1 (0-15)		7,5 * (0-22)	.032	0,4		7,5 * (0-24)	.039	0,38			
	L	78,67 (4,9-600)	29,95 * (1,9-600)	29,34 * (5,8-600)	.045	55,55 * (5-600)	.038	-0,38		34,09 * (2,9-600)	.027	-0,41			
Defensa & sumisión	T +	0 (0-19,6)	0 # (0-21,2)	0 (0-36,7)		2,21 * (0-64,7)	.011	0,43		0,88 (0-12,7)					
	F +	0 (0-7)	0 (0-11)	0 (0-16)		1 * (0-30)	.012	0,43		0,5 (0-7)					
	L +	600 (38,7-600)	600 (6,7-600)	600 (72-600)		150,72 ** (20,7-600)	.003	-0,52		560,33 * (14,9-600)	.04	-0,33			
Inmovilidad	T	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)		0 (0-3,3)				0 (0-0)					
	F	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)		0 (0-2)				0 (0-0)					
	L	600 (600-600)	600 (600-600)	600 (600-600)		600 (32,9-600)				600 (600-600)					

Parámetros de tiempo (T), frecuencia (F) y latencia (L). Tamaño del efecto Cliff's Delta alto  $|\delta| > 0.50$

Test Kruskal-Wallis: † p<.05; ††p<.01. Test U de Mann-Whitney, diferencias respecto al grupo control salino: \* p<.05; \*\*p<.01. Diferencias respecto al MDMA: # p<.05; ## p<.01

por lo que se han analizado mediante las pruebas no paramétricas H-Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney, con un criterio de significación estadística de  $p < .05$ .

El test de Kruskal-Wallis reveló que existen diferencias significativas en tiempo acumulado (T), frecuencia (F) y latencia (L) de diferentes categorías conductuales, entre al menos dos de los grupos evaluados. En concreto, se muestran diferencias en las categorías conductuales de ataque, amenaza, escarbar y cuidado corporal (T-F-L:  $p < .001$ ); defensa/sumisión (T-F-L:  $p < .05$ ); exploración no social e investigación social (T:  $p < .001$ ; F:  $p < .05$ ) y en exploración a distancia (T:  $p < .01$ ). Por último, no se hallaron diferencias significativas en las conductas de evitación/huida ni en inmovilidad. A continuación se exponen los resultados más relevantes de cada categoría conductual y grupo de tratamiento comparados con el grupo control mediante análisis U de Mann-Whitney, los cuales también están representados gráficamente (*Figura 6.1*).

El grupo que recibió una dosis de 2 mg/kg de MBDB exhibió un aumento significativo de la conducta investigación social con un tamaño del efecto alto (T-F:  $p < .01$ ) (Cliff's Delta,  $|\delta| > 0.50$ ), además se produce una disminución moderada de latencia de las conductas de evitación y huida (L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ). No se observaron alteraciones significativas en los demás parámetros conductuales.

En el grupo tratado con la dosis de 4 mg/kg de MBDB, los resultados indican que las conductas de agonísticas ofensivas de amenaza y ataque reducen su frecuencia con un tamaño del efecto moderado (F:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ), sin que se observen alteraciones en la actividad motora. Además, también disminuyen las conductas de escarbar (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.50$ ) y cuidado corporal (T:  $p < .05$ ; F:  $p < .01$ ; L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ), junto con un aumento concomitante de la latencia. Con esta dosis intermedia de MBDB, se produce de nuevo un aumento de investigación social (T:  $p < .01$ ; F:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ) y se acorta la latencia de las conductas de evitación y huida (L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ), sin que se aprecien cambios en otras conductas exploratorias ni en la actividad motora.

En el grupo tratado con la dosis de 8 mg/kg de MBDB se produce una importante reducción de las conductas agonísticas ofensivas de amenaza y ataque (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ), y especialmente de las conductas de escarbar y cuidado corporal (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.80$ ), mostrando en todos los casos indicados un aumento concomitante de la latencia. Por otra parte, aumentan de forma significativa y moderada

las conductas agonísticas de evitación/huida (T-F:  $p < .05$ ; L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ) y defensa/sumisión (T-F:  $p < .05$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.35$ ), a la vez que se reduce la latencia de las mismas. En relación a las conductas exploratorias del oponente, los resultados indican que aumenta el tiempo acumulado en investigación social y exploración a distancia (T:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ). Por último, también se registra un aumento del tiempo empleado en exploración no social (T:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ) a la vez que disminuye la frecuencia de esta conducta (F:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ). En todas las dosis de MBDB los resultados indicados se produjeron sin afectación de la actividad locomotora.

El análisis del grupo tratado con MDMA (8 mg/kg) también reveló diferencias significativas respecto al grupo control. Los resultados indican que el MDMA reduce de forma muy marcada las conductas agonísticas de amenaza y ataque, cuidado corporal (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ) y especialmente la conducta de escarbar (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| = 1$ ), mostrando en todos los casos indicados un aumento concomitante de la latencia. Por el contrario, se aprecia un incremento moderado de las conductas agonísticas de evitación/huida (T-F:  $p < .05$ ; L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ), junto con una reducción de su latencia y de la latencia de defensa/sumisión (L:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.35$ ). En relación a las conductas exploratorias del oponente, se registra un aumento moderado del tiempo acumulado en exploración a distancia (T:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ), pero esta sustancia no parece alterar de forma significativa los parámetros de investigación social. Por último, el tiempo acumulado en exploración no social aumenta (T:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ), a la vez que disminuye la frecuencia de esta conducta (F:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ). Los resultados indicados para la dosis de MDMA se produjeron sin afectación de la actividad locomotora.

Posteriormente, se analizaron las diferencias en la distribución de rangos entre el grupo tratado con MDMA y aquellos tratados con MBDB. En general, se observó que los animales tratados con MDMA presentaban una disminución de tiempo y frecuencia de las conductas de amenaza y ataque (8 mg/kg de MBDB,  $p < .05$ ; 4 y 2 mg/kg de MBDB,  $p < .01$ ), cuidado corporal (8 y 4 mg/kg de MBDB,  $p < .05$ ; 2 mg/kg de MBDB,  $p < .01$ ), escarbar (4 y 2 mg/kg de MBDB,  $p < .01$ ) e investigación social (8 y 4 mg/kg de MBDB en T:  $p < .01$  y F:  $p < .05$ ; 2 mg/kg de MBDB,  $p < .01$ ). La disminución de estas conductas suele acompañarse de una latencia significativamente mayor (4 y 2 mg/kg de MBDB,  $p < .01$ ), a excepción de investigación social. Por otro lado, el grupo tratado con MDMA muestra un tiempo acumulado significativamente mayor en conductas de exploración no

social (todas las dosis de MBDB,  $p < .01$ ), así como en conductas de exploración a distancia y defensa/sumisión (2 mg/kg de MBDB,  $p < .05$ ) éstas dos últimas sólo respecto a la dosis menor de MBDB. En todas las diferencias señaladas el tamaño del efecto osciló entre moderado y alto, siendo éste mayor conforme se disminuía la dosis de MBDB.

### 6.2.2. Análisis de secuencias conductuales

Se ha analizado el parámetro de probabilidad de ocurrencia de las diadas conductuales, para valorar los posibles cambios en la estructura conductual de los ratones tras la administración de MBDB (2,4 y 8 mg) o MDMA (8 mg/kg) en el test de agresión inducida por aislamiento.

En la Tabla 6.2 se presentan los datos significativos en el test U de Mann-Whitney, correspondientes a la probabilidad de ocurrencia de las diferentes categorías conductuales y sus diadas tras la administración de salina, MBDB o MDMA. En las figuras 6.6- 6.10, se ha representado gráficamente para cada grupo de tratamiento, los resultados de las diadas más relevantes ( $PO > 1\%$ ), indicando la probabilidad de ocurrencia de las conductas (círculos) y de sus diadas mediante el grosor de la flecha ( $PO_D$ : 1-5%, 5-10%, 10-20%). Los incrementos significativos ( $p < .05$ ) se muestran en rojo y las reducciones en azul, mientras que las conductas y diadas con una  $PO < 1\%$  que muestran diferencias significativas se han representado con una línea discontinua. A continuación se expone el patrón hallado en el grupo control, y se describen las diferencias halladas en función del tratamiento.

#### ❖ *Grupo control salina.*

El análisis de secuencias del grupo control revela que en el repertorio conductual predominan las conductas de amenaza (AM 32.18%), exploración no social (ENS 22.05%), ataque (AT 15.87%) y exploración a distancia (EAD 15.2%). Las transiciones más frecuentes presentan una probabilidad de ocurrencia superior al 10% siendo por orden: “AT-AM” (15.86%), “AM-AT” (15.17%) y “ENS-EAD” (10.46%). Seguidas por secuencias con una probabilidad entre 5-10%, tales como “EAD-AM” (8.46%) y “AM-ENS” (7.83%).

Las diadas con mayor probabilidad de ocurrencia parecen mostrar un patrón conductual agresivo muy activo de “amenaza ↔ ataque” ( $PO_C$ : 32.2%,  $PT$ : 0.47 y 1). Es decir, en el grupo control el 32% de las conductas realizadas por el ratón son amenaza y de éstas casi la mitad de las veces conduce a ataque para luego volver a amenazar en la totalidad de los casos. Este patrón tiene conexión con conductas exploratorias (“EAD → AM → ENS”). Según los resultados, en el grupo control el ataque es el

**Tabla 6.2**

*Valores de probabilidad de ocurrencia promedio (PO $\bar{X}$ ) y probabilidad de transición (PT) correspondientes a las diadas de categorías conductuales evaluadas en ratones macho (precedente-consecuente), después de la administración aguda de MBDB (2,4 y 8mg/kg), MDMA (8 mg/kg) o salino*

PRECEDENTE	CONSECUENTE	Salina		2mg/kg de MBDB		4 mg/kg de MBDB		8 mg/kg de MBDB		8 mg/kg de MDMA	
		PO $\bar{X}$	PT	PO $\bar{X}$	PT	PO $\bar{X}$	PT	PO $\bar{X}$	PT	PO $\bar{X}$	PT
Cuidado corporal	Exp. no social	3,41	0,93	2,9	0,91	2,09 *	0,92	1,58 **	0,90	1,77 **	0,97
Cuidado corporal	Exp. a distancia	0,16	0,04	0,14	0,04	0,16	0,07	0,12	0,07	0,02 *	0,01
Total de la categoría	Cuidado corporal	3,65	1,00	3,2	1,00	2,27 *	1,00	1,76 **	1,00	1,82 **	1,00
Escarbar	Exp. no social	2,16	0,93	2,92	0,93	1,07 **	0,96	0,26 **	0,93	0 **	-
Total de la categoría	Escarbar	2,32	1,00	3,15	1,00	1,11 **	1,00	0,28 **	1,00	0 **	-
Exp. no social	Cuidado corporal	3,31	0,15	2,78	0,12	2,15	0,08	1,59 **	0,05	1,77 **	0,04
Exp. no social	Escarbar	2,30	0,10	2,97	0,13	1,06 **	0,04	0,28 **	0,01	0 **	-
Exp. no social	Exp. a distancia	10,46	0,47	9,54	0,42	14,55 *	0,54	21,48 **	0,68	29,31 **	0,74
Exp. no social	Investigación social	1,23	0,06	4,31 *	0,19	4,71 **	0,17	2,95 **	0,09	4,55	0,11
Exp. no social	Amenaza	3,98	0,18	2,63	0,12	3,39	0,13	2,12 *	0,07	1,23 **	0,03
Exp. no social	Evitación/Huída	0,60	0,03	0,54	0,02	0,77	0,03	2,35 **	0,07	2,94 *	0,07
Total de la categoría	Exp. no social	22,05	1,00	22,74	1,00	26,95	1,00	31,36 **	1,00	39,82 **	1,00
Exp. a distancia	Cuidado corporal	0,16	0,01	0,12	0,01	0,03 *	0,00	0,1	0,00	0,02 **	0,00
Exp. a distancia	Exp. no social	4,60	0,30	3,19	0,26	6,43	0,35	12,11 **	0,51	21,01 **	0,67
Exp. a distancia	Investigación social	1,20	0,08	2,56 **	0,21	4,71 **	0,26	6,38 **	0,27	4,6 **	0,15
Exp. a distancia	Amenaza	8,46	0,56	5,99 *	0,49	6,37	0,35	2,98 **	0,13	3,68 **	0,12
Exp. a distancia	Ataque	0,22	0,01	0,09	0,01	0,01 *	0,00	0,01 *	0,00	0,02 *	0,00
Exp. a distancia	Evitación/Huída	0,49	0,03	0,28	0,02	0,34	0,02	1,49 *	0,06	1,47 *	0,05
Exp. a distancia	Defensa/Sumisión	0,09	0,01	0,01	0,00	0,36	0,02	0,47 *	0,02	0,42 *	0,01
Total de la categoría	Exp. a distancia	15,23	1,00	12,26	1,00	18,27	1,00	23,61 **	1,00	31,44 **	1,00

Tabla 6.2. (Continuación)

PRECEDENTE	CONSECUENTE	Salina			2mg/kg de MBDB			4 mg/kg de MBDB			8 mg/kg de MBDB			8 mg/kg de MDMA		
		PO	X	PT	PO	X	PT	PO	X	PT	PO	X	PT	PO	X	PT
Investigación social	Exp. no social	2,41	0,36	0,47	6,28 *	0,46	0,55	8,28 **	7,92 **	0,56	7,86 **	0,71	7,86 **	0,71	0,18	0,18
Investigación social	Amenaza	3,58	0,54	0,46	6,21 *	0,03	0,37	5,53	4,65	0,33	2,02 *	0,01	0,07 **	0,01	0,06	0,06
Investigación social	Ataque	0,38	0,06	0,02	0,42	0,02	0,03	0,46 *	0,76 *	0,03	0,38 *	0,03	0,03	0,03	0,00	0,00
Investigación social	Defensa/Sumisión	-	-	-	0	-	0,02	0,24	0,38 *	0,02	0,03	0,03	0,03	0,03	0,00	0,00
Total de la categoría	Investigación social	6,67	1,00	1,00	13,45 *	1,00	1,00	15,12 **	14,28 **	1,00	11,02	1,00	11,02	1,00	1,00	1,00
Amenaza	Cuidado corporal	0,16	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,05	0 *	0,00	0,03	0,00	0,03	0,00	0,00	0,00
Amenaza	Exp. no social	7,83	0,24	0,22	6,36	0,22	0,28	6,88	4,15 **	0,27	3,51 **	0,44	3,51 **	0,44	0,20	0,20
Amenaza	Exp. a distancia	4,40	0,14	0,08	2,37 *	0,08	0,13	3,2	1,28 **	0,08	1,6 **	0,20	1,6 **	0,20	0,23	0,23
Amenaza	Investigación social	4,23	0,13	0,22	6,33	0,22	0,36	5,34	4,46	0,29	1,83 *	0,06	1,83 *	0,06	0,05	0,05
Amenaza	Ataque	15,17	0,47	0,45	13,31	0,45	0,36	8,65 *	5,29 **	0,34	0,47 **	0,06	0,47 **	0,06	0,05	0,05
Amenaza	Evitación/Huída	0,35	0,01	0,02	0,63 *	0,02	0,01	0,2	0,28	0,02	0,43	0,05	0,43	0,05	0,05	0,05
Total de la categoría	Amenaza	32,18	1,00	1,00	29,26	1,00	1,00	24,36	15,55 **	1,00	7,92 **	1,00	7,92 **	1,00	1,00	1,00
Ataque	Amenaza	15,86	1,00	1,00	13,83	1,00	0,99	8,85 *	5,47 **	0,99	0,53 **	0,97	0,53 **	0,97	1,00	1,00
Total de la categoría	Ataque	15,87	1,00	1,00	13,87	1,00	1,00	8,91 *	5,51 **	1,00	0,55 **	1,00	0,55 **	1,00	1,00	1,00
Evitación/Huída	Exp. no social	1,34	0,82	0,55	1,02	0,55	0,78	1,53	3,77 **	0,72	5,13 *	0,84	5,13 *	0,84	0,02	0,02
Evitación/Huída	Exp. a distancia	0,02	0,01	0,02	0,03	0,02	0,03	0,06	0,27 *	0,05	0,14	0,02	0,14	0,02	0,02	0,02
Total de la categoría	Evitación/Huída	1,63	1,00	1,00	1,86	1,00	1,00	1,95	5,22 **	1,00	6,14 *	1,00	6,14 *	1,00	1,00	1,00
Defensa/Sumisión	Exp. no social	0,29	0,75	0,28	0,06	0,28	0,61	0,65	1,44 **	0,61	0,51	0,40	0,51	0,40	0,40	0,40
Total de la categoría	Defensa/Sumisión	0,39	1,00	1,00	0,21	1,00	1,00	1,06	2,35 **	1,00	1,29 *	1,00	1,29 *	1,00	1,00	1,00
Inmovilidad	Exp. no social	-	-	-	0	-	-	0	0,08	1,00	0	-	0	-	-	-
Total de la categoría	Inmovilidad	-	-	-	0	-	-	0	0,08	1,00	0	-	0	-	-	-

Diferencias con respecto al grupo control salina, Test U-Mann-Whitney: \* p &lt; .05; \*\* p &lt; .01

antecedente principal de la conducta de amenaza, pero la secuencia que inicialmente conduce hacia ésta parece ser “exploración a distancia-amenaza”. Las diadas que implican conductas agonísticas defensivas o de huida, apenas tienen representación en este grupo.

❖ *Grupo tratado con la dosis 2 mg/kg de MBDB.*

En este grupo las conductas que predominan en el repertorio conductual son amenaza (AM 29.26%), exploración no social (ENS 22.74%), ataque (AT 13.87%), investigación social que aumenta significativamente (IS [13.45%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| \approx 0.50$ ) y por último, la exploración a distancia (EAD 12.26%). El análisis diádico, muestra cambios cualitativos en relación a las diadas agonísticas:

- 1) Las conductas precedentes a la amenaza son las mismas que en el grupo control pero varían su proporción sin que se produzcan cambios en la conducta objetivo <sup>(b)</sup>: Disminuye la exploración a distancia como precedente de amenaza (“EAD-AM” [5.99%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.35$ ), mientras que el precedente investigación social aumenta con una probabilidad similar (“IS-AM” [6.21%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.35$ ).
- 2) Entre las conductas que preceden a la evitación/huida, se observan variaciones significativas en diadas que no se contemplan en el diagrama control <sup>(c)</sup>: Los resultados muestran un aumento de la probabilidad hacia conductas de evitación/huida huida (“AM-EH” [0.63%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.35$ ), en detrimento de nuevo de la exploración a distancia (“AM-EAD” [2.37%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.35$ ).

Tras la administración de la dosis de 2 mg/kg de MBDB, sigue existiendo un patrón conductual activo y predominante de “amenaza↔ataque” (PO<sub>C</sub>: 29.3%, PT: 0.45 y 1). Sin embargo, tiende a igualarse la probabilidad de transición desde amenaza a investigación social o a exploración no social.

❖ *Grupo tratado con la dosis de 4 mg/kg de MBDB.*

En el grupo tratado con la dosis intermedia de MBDB, la conducta con mayor frecuencia relativa es la exploración no social (ENS 26.95%) en vez de la amenaza (AM 24.36%), seguido de exploración a distancia (EAD 18.27%), de investigación social que aumenta como en el grupo anterior (IS [15.12%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ) y por la conducta de ataque, que en este grupo se reduce (AT [8.91%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.30$ ). Además, disminuyen otras conductas de menor probabilidad como cuidado corporal (CC [2.27%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.30$ ) y escarbar (ESC [1.11%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ).



Se observan los siguientes cambios en relación a las diadas agonísticas:

- 1) Los resultados indican que la dosis intermedia de MBDB produce cambios cuantitativos en la estructura conductual del ataque, la cual se reduce así como todas sus diadas (“AT-AM” [8.85%], “AM-AT” [8.65%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.30$ ). La probabilidad de amenaza tiende a disminuir pero sin cambios significativos y su estructura se altera de forma cualitativa en la medida en que se reduce el ataque. En general, se puede observar que tras la dosis intermedia de MBDB, pierde relevancia el patrón agresivo “Amenaza↔ataque” (POC: 24.4%, PT: 0.35-0.99), que era característico en el grupo control.
- 2) La conducta de evitación muestra cambios cualitativos: aumenta una diada hacia la conducta de evitación (“IS-EH” [0.46%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.30$ ), que no se contempla en el diagrama control<sup>(c)</sup>.

Por otra parte, en este grupo se observan cambios cualitativos en conductas exploratorias. La diada más probable ya no implica conductas agresivas sino exploratorias (“ENS-EAD” [14.55%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| \approx 0.50$ ), y además aumenta su proporción sin que se produzcan cambios en las conductas que conecta<sup>(b)</sup>.

❖ *Grupo tratado con la dosis de 8 mg/kg de MBDB.*

En este grupo la totalidad de las categorías conductuales representadas muestran diferencias respecto al grupo control. Entre éstas las que predominan son exploración no social y exploración a distancia (ENS [31.36%], EAD [23.61%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ). También aumentan las conductas de investigación social, evitación/huida y defensa/sumisión (IS [14.28%], EH [5.22%], DS [2.35%]:  $p < .01$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ). Por el contrario, disminuyen las categorías de amenaza, ataque, cuidado corporal y especialmente la conducta de escarbar (AM [15.5%], AT [5.5%], CC [1.7%], ESC [0.2%]:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ). La dosis mayor de MBDB produce un profundo cambio en el patrón conductual diádico, observándose las siguientes alteraciones en las diadas agonísticas:

- 1) Los resultados indican que la dosis intermedia de MBDB produce cambios cuantitativos en la estructura conductual del ataque, la cual se reduce así como todas sus diadas (“AM-AT” [5.29%], “AT-AM” [5.47%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ). La amenaza muestra cambios cualitativos, pues a pesar de la importante reducción de esta conducta, no disminuyen todas sus diadas (“IS-AM” [5.65%], “AM-IS” [4.46%], n.s.).

- 2) La estructura de las conductas agonísticas defensivo-evitativas, se encuentra alterada de forma cualitativa, ya que se producen incrementos en diadas que no son representativas en el grupo control<sup>(c)</sup>: precedentes a evitación/huida (ENS [2.35%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ; EAD [1.49%], IS [0.55%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.30$ ), posteriores a evitación/huida (ENS [3.77%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ; EAD [0.27%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.20$ ), precedentes a defensa/sumisión (EAD [0.47%], IS [0.38%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| \approx 0.30$ ) y posteriores a defensa/sumisión (ENS [1.44%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.30$ ).

Tras administración de la dosis mayor de MBDB, pierden relevancia el patrón agresivo característico del grupo control “Amenaza↔ataque” (POC: 15.5%, PT: 0.34-0.99). Además, en relación a las conductas precedentes a la agresión, se produce más investigación social previa a amenaza, que otras conductas tales como EAD o ENS más representativas en el grupo control. Al igual que en el grupo anterior, la diada más probable no implica conductas agresivas sino exploratorias y junto a su inversa acumulan más del 30% del repertorio conductual (“ENS-EAD” [21.48%], “EAD-ENS” [12.11%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 0.70$ ). Ambas conductas exploratorias muestran cambios cualitativos, pues su incremento se produce junto a una reducción general de otras diadas<sup>(a)</sup>, relacionadas con amenaza, cuidado corporal y escarbar.

❖ *Grupo tratado con la dosis de 8 mg/kg de MDMA.*

En el grupo tratado con éxtasis también se observa una profunda alteración de la estructura del comportamiento. Las categorías conductuales que predominan son exploración no social y exploración a distancia (ENS [39.82%], EAD [31.44%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.80$ ), ambas muestran un incremento significativo con un tamaño del efecto alto, sin embargo no se muestran diferencias significativas respecto a la categoría de investigación social. En este grupo, también aumentan las categorías de evitación/huida y defensa/sumisión (EH [6.14%], DS [1.2%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.30$ ). Por el contrario, disminuyen drásticamente las categorías de amenaza y ataque (AM [7.92%], AT [0.55%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.80$ ), escarbar (ESC [0%],  $p < .01$ ;  $|\delta| = 1$ ) y cuidado corporal (CC [1.82%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ). Se observan los siguientes cambios en las diadas agonísticas:

- 1) Se producen cambios cuantitativos en las conductas de ataque y amenaza, pues las respectivas diadas precedentes y consecuentes agresivas son las mismas que las observadas en el grupo control y disminuyen junto a la conducta objetivo: diadas precedentes a la amenaza (EAD [3.68%], ENS [1.23%], ataque [0.53%]:  $p < .01$ ,

$|\delta| \approx 0.50-0.80$ ; IS [2.02%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| \approx 0.40$ ), y las diadas posteriores a la amenaza (ENS [3.51%], EAD [1.60%], ataque [0.47%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50-0.80$ ; IS [1.83%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| \approx 0.40$ ). Entre los precedentes de la amenaza, la EAD es el más probable al igual que en el grupo control, (y a diferencia de lo observado con la misma dosis de MBDB), lo que también parece indicar que aunque la amenaza se reduzca, su patrón secuencial se mantiene.

- 2) El análisis de secuencias muestra que la estructura de las conductas agonísticas defensivo-avoidativas, se encuentra alterada de forma cualitativa, ya que se producen incrementos en diadas que no son representativas en el grupo control<sup>(c)</sup>: precedentes y posteriores a evitación/huida (“ENS-EH” [2.94%], “EAD-EH” [1.47%], “IS-EH” [0.71%], “EH-ENS” [5.13%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > .30$ ), y precedentes a defensa/sumisión (EAD [0.42%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > .30$ ). Tras administración del MDMA, pierden relevancia el patrón agresivo “Amenaza↔ataque” (PO: 7.9%, PT: 0.06-0.97), característico del grupo control.

En este grupo, la diada más probable no implica conductas agresivas sino exploratorias y junto a su inversa acumulan más del 50% del repertorio conductual (“ENS-EAD” [29.31%], “EAD-ENS” [21.01%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 0.90$ ). Como en grupos anteriores, ambas conductas exploratorias muestran cambios cualitativos, pues su incremento se produce junto a una reducción general de otras diadas<sup>(a)</sup>, relacionadas con amenaza, cuidado corporal y escarbar. Además, aunque la conducta de investigación social no muestre alteraciones, sí se observan cambios cualitativos en sus diadas que algunas aumentan con un tamaño del efecto alto (“IS-ENS” [7.86%], “EAD-IS” [4.6%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 0.60-0.80$ ), mientras que las diadas relacionadas con amenaza se reducen.



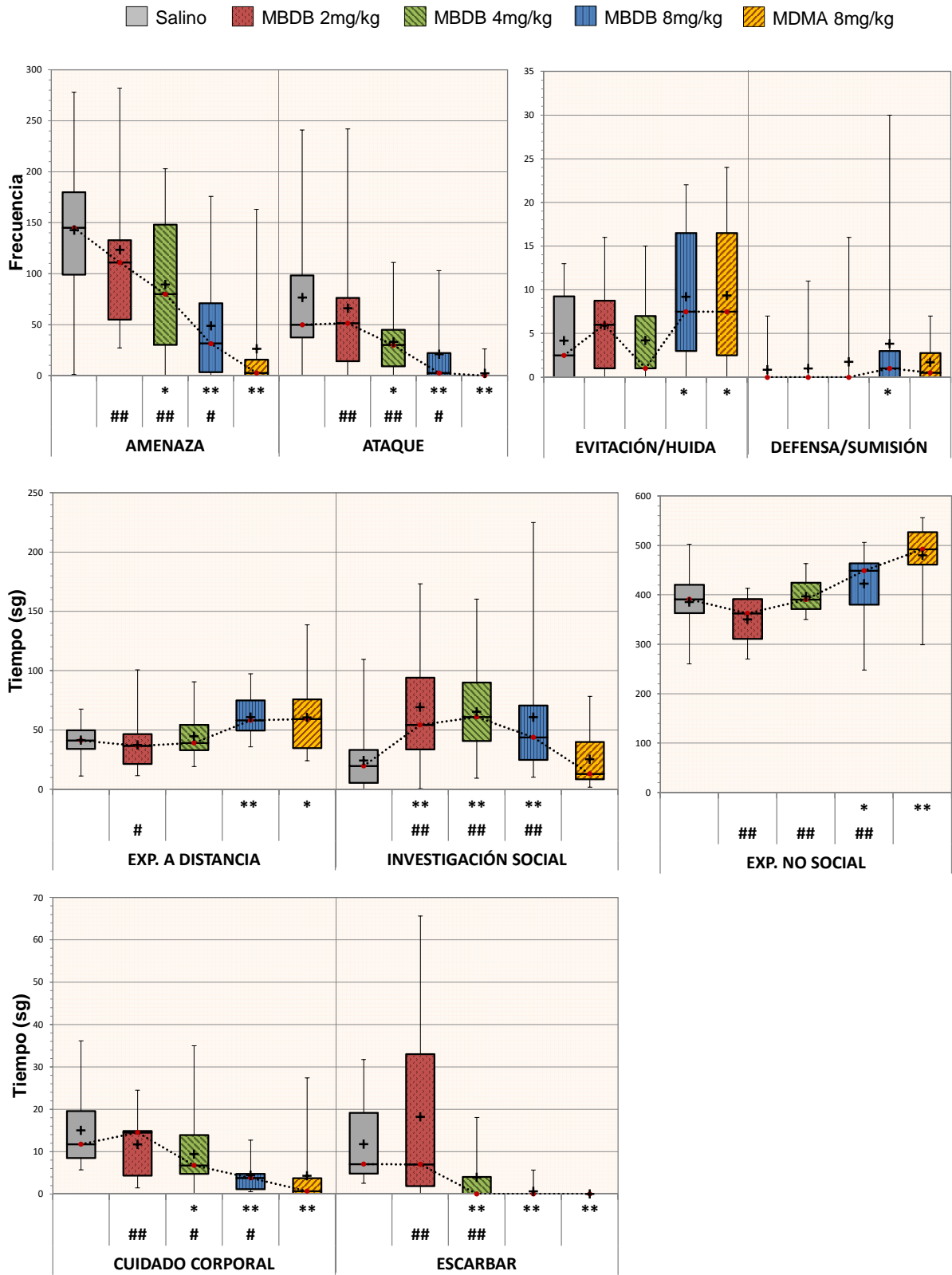
### 6.2.3. Evolución temporal de la conducta ofensiva de ataque

Se ha realizado la prueba de independencia  $\chi^2$ -cuadrado, para analizar la asociación entre el tratamiento y el minuto de la prueba en el que se produce la conducta de ataque, en concreto se diferencia entre la primera parte de la prueba (0-5 minutos) y la segunda parte (5-10 minutos). Los resultados muestran que existen diferencias significativas en la distribución de la conducta de ataque en función del tratamiento [ $\chi^2$  (4, N=2912)=104,108;  $p<.001$ ], por lo que ambas variables están relacionadas. El índice de coeficiente de contingencia (C=0.186;  $p<.001$ ), indica que el grado de asociación entre dichas variables es débil.

El análisis de los residuos tipificados corregidos (RTC) desproporcionados ( $>|2.50|$ , IC 95%, teniendo en cuenta la corrección de alfa para comparaciones múltiples), indica que la proporción de ataques del grupo salino en la primera parte de la prueba es significativamente mayor que en el resto de grupos (49% de ataques en los primeros 5 minutos, RTC: 6.6), a la vez que mantiene una proporción similar de ataques en la primera y segunda mitad de la prueba. Mientras que la proporción de ataques en la segunda mitad de la prueba es significativamente más alta en los grupos tratados con 8 mg/kg de MBDB (80% de ataques en la 2ª mitad de la prueba, RTC: 8) y 8 mg/kg de MDMA (97% de ataques en la 2ª mitad de la prueba, RTC: 4.5). Estos resultados indican, que ambas sustancias no sólo disminuyen las conductas de ataque, sino que además la proporción de ataques en la primera parte se reduce con todos los tratamientos y que las dosis elevadas (8 mg/kg) tienden a acumular los ataques principalmente en la segunda mitad de la prueba (*Figura 6.7*).



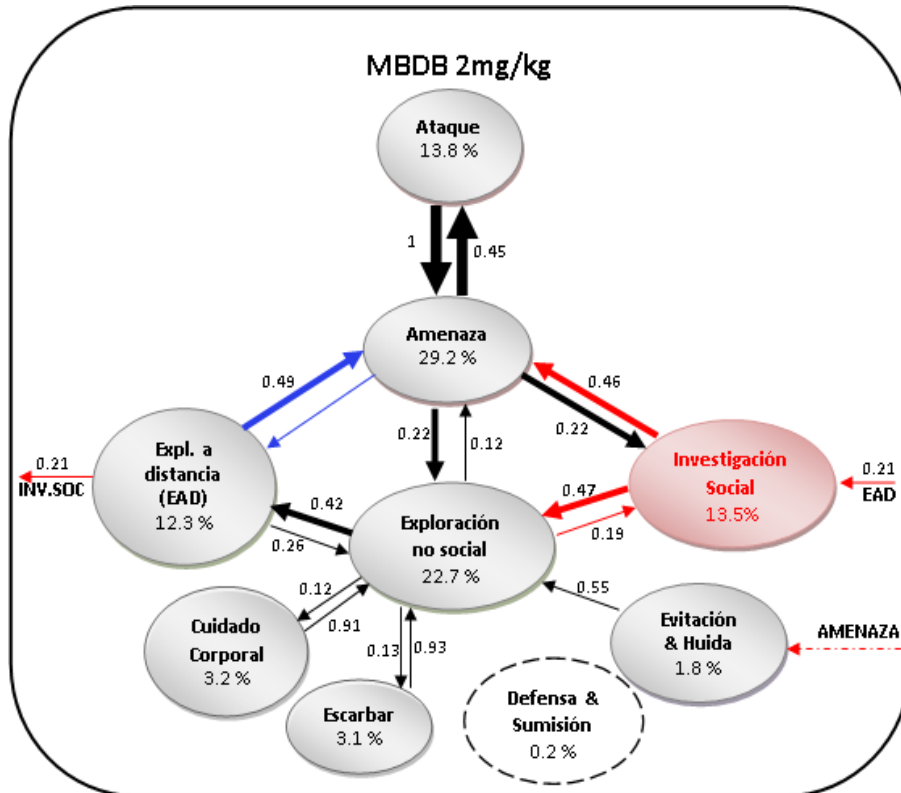
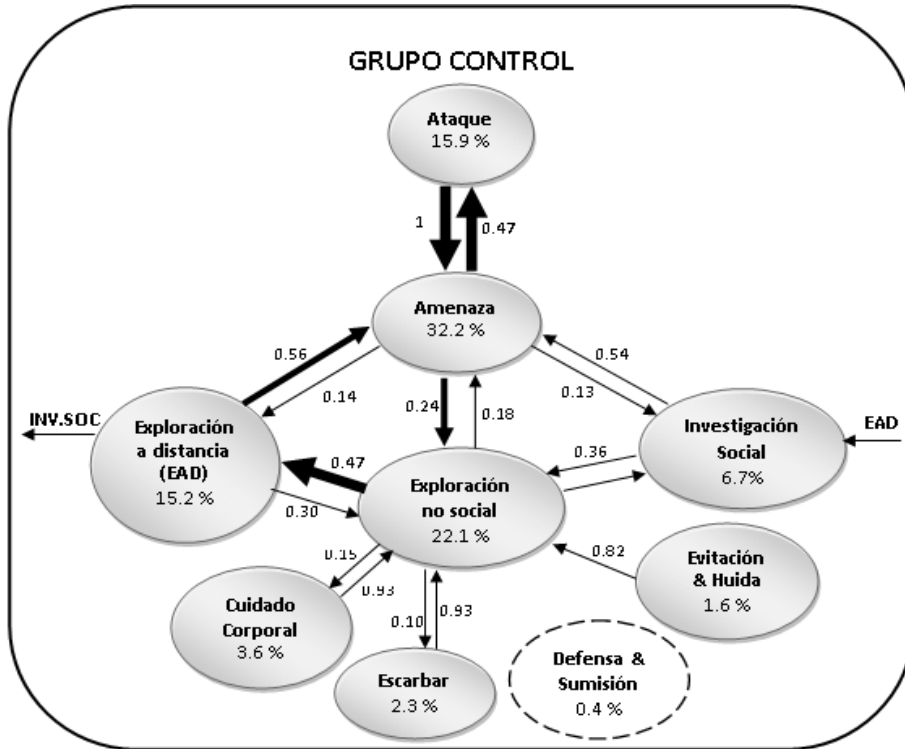
Figura 6.1. Perfil conductual agonístico tras la administración de MBDB.



Diferencias respecto al grupo control salina. Test U de Mann-Whitney: \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$   
 Diferencias respecto al grupo control éxtasis (MDMA). Test U de Mann-Whitney: # $p < 0.05$ ; ## $p < 0.01$

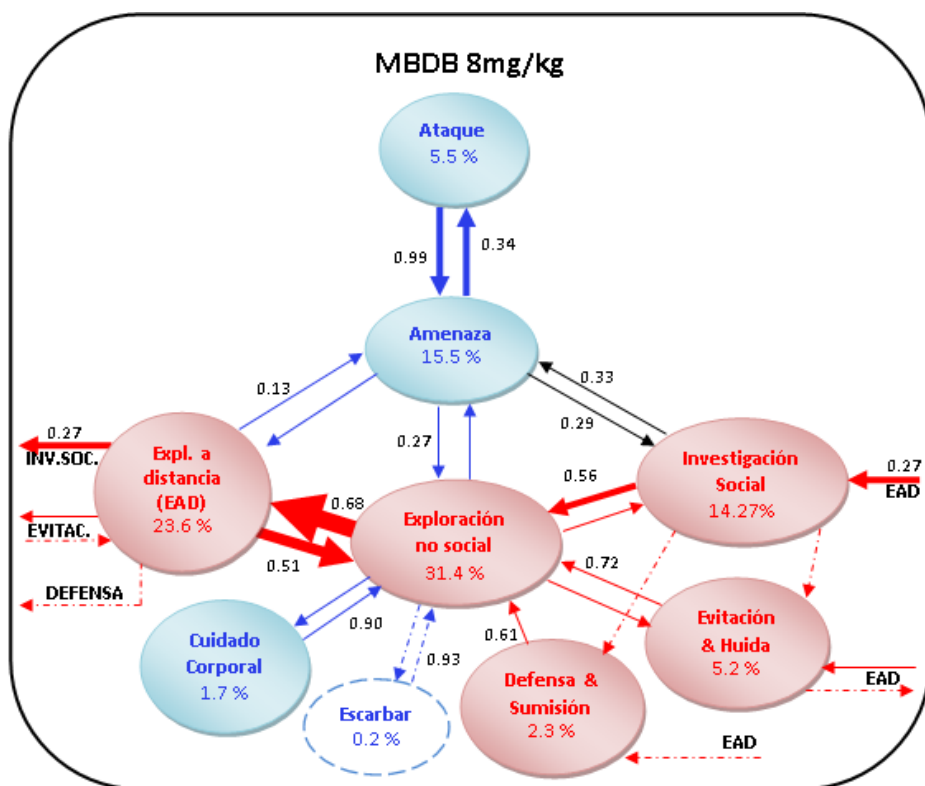
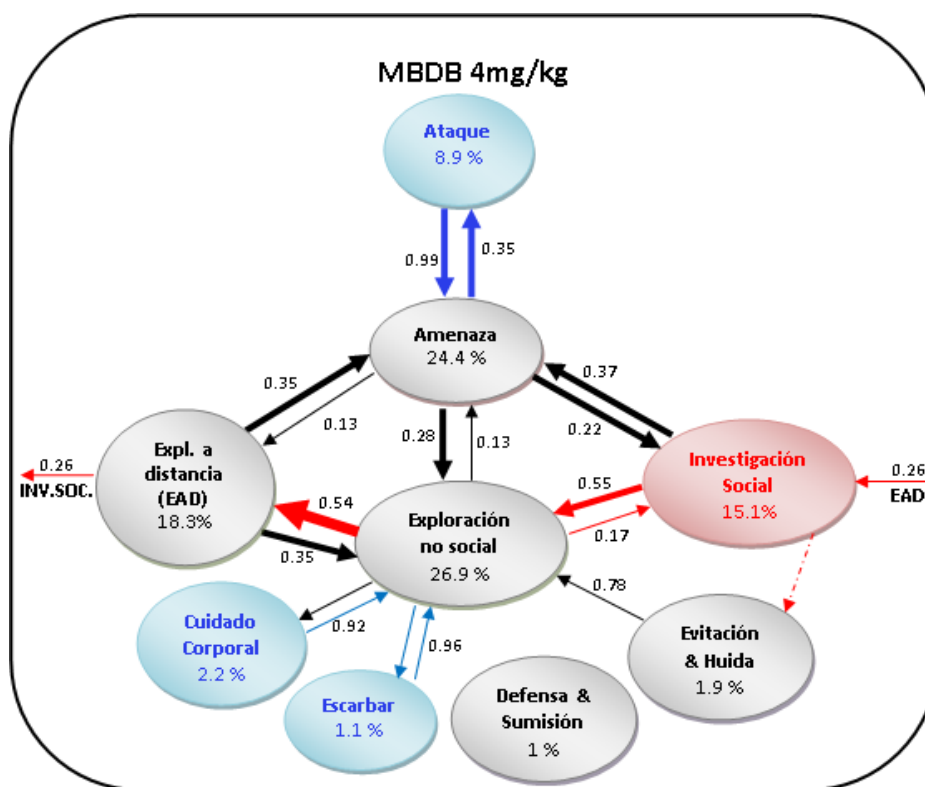






Figuras 6.2 y 6.3. Mapa conductual del grupo control y del grupo tratado con 2 mg/kg de MBDB, donde se indica la frecuencia relativa o probabilidad de ocurrencia de la conducta (interior del globo) y de la diada mediante el grosor de la flecha de línea continua (1-5%, 5-10%, 10-20% y >20%), así como la probabilidad de transición desde la conducta precedente a la consecuente (al lado de la flecha). Los incrementos significativos se indican en rojo y las reducciones en azul.





Figuras 6.4 y 6.5. Mapas conductuales de los grupos tratados con 4 y 8 mg/kg de MBDB, donde se indica la probabilidad de ocurrencia de la conducta (interior del globo) y de la diada mediante el grosor de la flecha de línea continua (1-5%, 5-10%, 10-20% y >20%), así como la probabilidad de transición desde la conducta precedente a la consecuyente (al lado de la flecha). Los incrementos significativos se indican en rojo y las reducciones en azul.



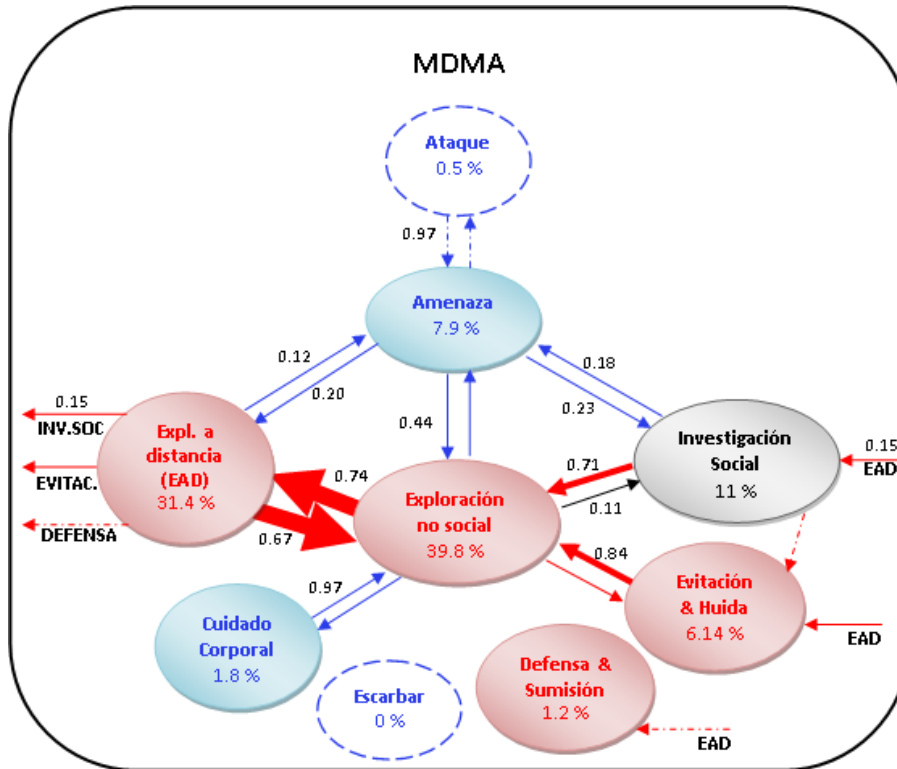


Figura 6.6. Mapa conductual del grupo tratado con 8 mg/kg de MDMA, donde se indica la probabilidad de ocurrencia de la conducta (interior del globo) y de la diada mediante el grosor de la flecha de línea continua (1-5%, 5-10%, 10-20% y >20%), así como la probabilidad de transición desde la conducta precedente a la consecuyente (al lado de la flecha). Los incrementos significativos se indican en rojo y las reducciones en azul.

### Evolución temporal del ataque

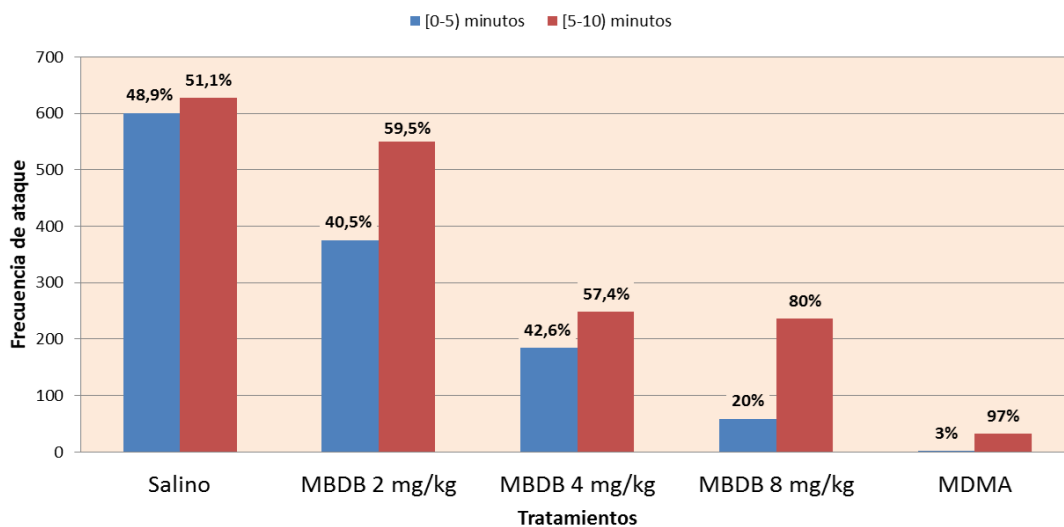


Figura 6.7. Frecuencia y porcentaje de frecuencia de ataques en la primera y segunda parte del test, en cada grupo de tratamiento.



### 6.1. Discusión.

El propósito de este estudio fue evaluar el efecto de la administración aguda de tres dosis de MBDB (2, 4 y 8 mg/kg) y una dosis de MDMA (8 mg/kg), sobre la conducta agonística exhibida por ratones machos en el modelo de agresión inducida por aislamiento, utilizado para ello una cepa apropiada en la investigación psicofarmacológica de la agresión como la SWISS OF.1 (Navarro, 1997). En general, el MBDB se presenta como una sustancia que puede alterar profundamente el comportamiento agonístico del ratón, tanto su componente ofensivo como el defensivo, además de otras conductas menos habituales durante el enfrentamiento del ratón con otro macho de su especie.

Según los resultados, el MBDB produce un efecto antiagresivo dosis-dependiente significativo a partir de la dosis intermedia que se caracteriza por la reducción de la frecuencia de amenaza y ataque, mientras que la dosis más elevada intensifica este efecto alterando los tres parámetros evaluados en ambas conductas. Asimismo, el MDMA reduce el comportamiento ofensivo mostrando a igualdad de dosis un tamaño del efecto mayor, todo ello sin que ningún grupo experimental muestre cambios en la movilidad de los animales. Esta importante pérdida del componente agonístico ofensivo en parámetros clásicos, se refleja a su vez en el análisis secuencial realizado con ambas sustancias. De forma que, si bien en el grupo control salino las diadas entre ambas conductas ofensivas de “amenaza ↔ ataque” tenían un peso importante en el repertorio conductual (>30%); con las dosis de 2, 4, 8 mg/kg de MBDB y 8 mg/kg de MDMA pasan gradualmente a un segundo plano (≈27%, ≈16%, ≈10% y <1%) respecto a otras diadas que incluyen conductas exploratorias.

La dosis más pequeña de MBDB (2 mg/kg) merece una atención especial, ya que aunque no altera de forma significativa los parámetros clásicos ofensivos, los resultados muestran que esta dosis pequeña es capaz de alterar el patrón secuencial que conduce a la conducta ofensiva. En concreto, atendiendo a cambios cualitativos tales como el aumento de la probabilidad de la diada “investigación social – amenaza” (IS-AM), y a la reducción de la diada “exploración a distancia – amenaza” (EAD-AM), se sugiere que el animal tratado con MBDB a dosis muy bajas tiende a amenazar intercalando más conductas de exploración activa del oponente, por lo que en este grupo la amenaza se produce en un contexto más próximo al oponente que en el grupo control. De forma

similar, la dosis mayor de MBDB también muestra cambios cualitativos en la organización de la amenaza, ya que reduce la frecuencia relativa de todas las diadas que implican esta conducta exceptuando aquellas precedidas o seguidas de investigación social que se mantienen sin cambios. En contraste, la misma dosis de MDMA (8 mg/kg) reduce ésta y todas las diadas de amenaza lo que parece indicar que esta conducta se reduce sin cambios en su estructura secuencial.

Los experimentos relativos al análisis secuencial de conductas o transiciones de primer orden son por lo general verdaderamente escasos (Berchtold, 2010; Espejo, 1997; Maldonado, 2000; Moro et al., 1997). En concreto, en un estudio de análisis secuencial de la conducta agonística con MDMA se ha hallado que, de forma similar a lo que hemos observado con la dosis más pequeña de MBDB, la diada “EAD-AM” es la única secuencia precedente a la amenaza que se reduce con una dosis muy baja de MDMA (0.5 mg/kg) en combinación también con una ausencia de efecto en los parámetros clásicos de amenaza (Maldonado, 2000). Sin embargo, al aumentar ligeramente la dosis de MDMA (1.25-2.5 mg/kg) no aprecian una reducción de ésta u otras diadas relacionadas con la amenaza, por lo que no es posible establecer del todo un paralelismo entre ambas sustancias. Por otra parte, no tenemos constancia de estudios que analicen la conducta secuencial agonística del MBDB.

Las propiedades antiagresivas inespecíficas del MBDB (4 y 8 mg/kg) parecen producirse a partir de una dosis similar a la observada con el MDMA (5-20 mg/kg) según trabajos previos con el mismo modelo de agresión (Maldonado, 2000; Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 1999), como también sugieren así los resultados de este experimento. En esta línea, Mickez y Haney (1994) mostraron por primera vez evidencias de un efecto antiagresivo dosis-dependiente con MDMA (3-10 mg/kg) en el test de agresión residente-intruso, y de forma más reciente, se ha indicado que esta sustancia es capaz de disminuir la agresión de ratones machos con un perfil agresivo en el modelo de ansiedad de interacción social usando un rango de dosis muy amplio (2.5-30 mg/kg) (Machalova et al., 2012). Asimismo, la administración de MDMA ha reducido la conducta ofensiva en diversos trabajos realizados tanto en ratones como en ratas (Andó et al., 2006; Kirilly et al., 2006; Kirilly, 2010; Morley & McGregor, 2000), pero de nuevo no tenemos constancia de ninguna publicación al respecto con MBDB.



Al analizar en detalle la conducta ofensiva de ataque, se ha hallado que las dosis de 8 mg/kg de MBDB o MDMA provocan su acumulación en la segunda mitad de la prueba, en contraste con la distribución homogénea de ataques del grupo control en ambos periodos. Estos resultados son congruentes con estudios previos realizados con MDMA (Maldonado, 2000) y coinciden también con algunos estudios realizados con anfetaminas (Miczek et al., 1989; Moro et al., 1997; Paulus & Geyer, 1991). No obstante, como ya se ha indicado el efecto antiagresivo observado tanto con el éxtasis como con el MBDB (4 y 8 mg/kg), se debe considerar claramente inespecífico.

Los resultados muestran que el MBDB y el MDMA no solo alteran la conducta ofensiva, sino también el comportamiento de tipo exploratorio. Por una parte, la administración de cualquier dosis de MBDB produce un incremento de la investigación social (IS) del oponente, a diferencia del MDMA que no parece alterar dicha conducta. En concreto, este aumento en IS es potente y selectivo para la dosis menor de MBDB, asimismo parece decrecer al aumentar su dosis. Por otra parte, la administración de 8 mg/kg de MBDB o MDMA produce un aumento predominante de las conductas exploratorias de exploración a una distancia (EAD) y de exploración no social (ENS), respectivamente. A continuación, se discuten las implicaciones de estas alteraciones conductuales en la exploración.

Comenzando por ésta última, la conducta de *exploración no social* tiene un componente motor importante, por lo que ambas sustancias parecen exhibir ciertas propiedades motoras estimulantes con la dosis de 8 mg/kg, siendo más destacado el efecto del MDMA. Esto resulta congruente con la observación de que ambas sustancias producen activación motora incondicionada en el test “*Behavioral Pattern Monitor*” (BPM), especialmente el MDMA (Callaway & Geyer, 1992; Gold et al., 1989). También se ha descrito que provocan un patrón locomotor en el test BMP, caracterizado por una elevada tigmotaxis y una locomoción continua por la periferia del recinto (Gold et al., 1988; Gold & Koob, 1989; Gold et al., 1989; Paulus & Geyer, 1992; Risbrough et al., 2006). En este aspecto, el patrón locomotor no es una variable comúnmente evaluada en el modelo de agresión que nos ocupa, por lo que solo podemos comentar que de forma cualitativa no se ha apreciado esta característica.

Por otra parte, tanto el MBDB como el MDMA son sustancias con un perfil entactógeno, es decir, tienden a incrementar la sociabilidad y la proximidad, lo que en conducta agonística animal suele reflejarse en un incremento de la *investigación social* en conductas tales como olisquear, seguir, subirse sobre el oponente o tumbarse al lado. En este sentido, los resultados de nuestro estudio parecen ser congruentes con las propiedades “entactogénicas” del MBDB en humanos y animales (Kronstrand, 1996; Nichols, 1986; Nichols, 1987; van Aerts et al., 2000). No obstante, no podemos hacer la misma afirmación respecto al MDMA, pues los estudios animales previos son en este aspecto pocos concluyentes.

Por una parte, hay evidencias de que el MDMA aumenta las conductas de investigación social en ratones tratados con una dosis aguda de 5 mg/kg (Daza-Losada et al., 2009), de forma similar a lo hallado en ratones seleccionados con un perfil de agresión elevado cuando son tratados con 2.5-10 mg/kg de MDMDA (Machalova et al., 2012) y también en ratas (Andó et al., 2006; Morley & McGregor, 2000; Morley et al., 2005; Thompson et al., 2007). Por el contrario, otros estudios indican que el MDMA parece disminuir las conductas de investigación social en ratones adultos cuando se usa un rango de dosis similar o algo mayor como 5-20 mg/kg (Navarro & Maldonado, 1999) y 8-15 mg/kg de MDMA (Maldonado & Navarro, 2001b), así como con una dosis elevada de MDMA (20 mg/kg) en ratones adolescentes (Daza-Losada et al., 2009) y en ratones con un perfil de agresión bajo (2.5-30 mg/kg de MDMA) (Machalova et al., 2012). En esta misma línea, se ha hallado un efecto similar de reducción de la conducta social, tanto en ratas adultas tratadas con 5 mg/kg de MDMA (Clemens et al., 2004), como en ratas adolescentes tras una dosis elevada y/o subcrónica de MDMA (Andó et al., 2006; Bull et al., 2004; Thompson et al., 2008). Por lo que la evidencia disponible es más bien heterogénea en este aspecto conductual del MDMA.

Por otra parte, si bien es cierto que en nuestro estudio el tratamiento con MDMA (8 mg/kg) no parece alterar los parámetros clásicos en investigación social, sí que modifica cualitativamente el patrón secuencial que conduce a este comportamiento. De forma que se debilitan las diadas que relacionan la investigación social con la amenaza, aumentan las diadas precedente “EAD-IS” y consecuente de “IS-ENS” y no altera la diada “ENS-IS”. Estos resultados sugieren que el nivel de ansiedad que produce esta dosis de MDMA posiblemente sea mayor que el inducido por el MBDB, ya que tan sólo aumenta

la investigación social precedida de observación del oponente, y no así la investigación social espontánea cuando se explora el ambiente (ENS-IS) como sí se observa tras el tratamiento con MBDB. Esto no coincide del todo con el estudio de Maldonado (2000), en el que el tratamiento con MDMA en un rango de dosis muy inferior no produjo cambios en la diada “AM-IS” (0.5-2.5 mg/kg), redujo la frecuencia “EAD-IS” (0.5 mg/kg) y para la diada “ENS-IS” se hallaron respectivamente resultados opuestos de aumento y reducción para estas dosis. No obstante, las diferencias observadas entre los estudios podrían deberse a las dosis utilizadas.

Ahora bien, para poner en contexto los resultados obtenidos con la administración de MBDB, debemos tener en cuenta que en un encuentro agonístico en el modelo de agresión inducida por aislamiento, el ratón oponente representa un estímulo aversivo en un medio novedoso, lo que tiende a aumentar el nivel de agresión y suprimir la conducta social en el ratón aislado (File, 1987; Krsiak et al., 1984). De hecho, en nuestro grupo control salino podemos observar la baja actividad en investigación social, en comparación con otras categorías conductuales especialmente las ofensivas. En relación con esto, existen evidencias de que la reducción de interacción social se puede contrarrestar o anular mediante la administración de sustancias con un perfil ansiolítico, aunque para ello es preciso controlar la actividad motora producida por el fármaco con el objetivo de descartar “falsos positivos” (Balada Nicolau, 2012). Por lo que, aunque estemos tratando con un modelo animal de agresión, desde el punto de vista farmacológico y etológico, el efecto estimulante o desinhibitorio de la conducta de investigación social se suele considerar un buen indicador de la actividad ansiolítica de un compuesto evaluado en el modelo de agresión inducida por aislamiento (Brain, Kusumorini, & Benton, 1991; File, 1987; Krsiak et al., 1984; Maldonado & Navarro, 2001b; Martín-López & Navarro, 2002).

Una primera aproximación a la cuestión parece indicar que un mayor acercamiento al oponente denota una disminución del estado de ansiedad del sujeto, sin embargo también hay sustancias con demostrada actividad ansiolítica (como el meprobamato), que no parecen estimular la investigación social en ratones, sino que producen otro tipo de alteraciones como la inhibición de las conductas de defensa y evitación, sin afectar la locomoción. De hecho, actualmente se acepta que la expresión inadecuada de las conductas defensivas es un aspecto de la conducta agonística que se relaciona

estrechamente con diferentes trastornos de estrés y ansiedad (Balada Nicolau, 2012). De forma que, la reducción de la “tendencia de defensa-escape” parece constituir otro indicador importante de la actividad ansiolítica de un fármaco cuando se usa un modelo de agresión (Krsiak et al., 1984).

De acuerdo con lo expuesto, la facilitación de la conducta social que se observa tras la administración de MBDB (todas las dosis), parece indicar que este compuesto posee ciertas propiedades ansiolíticas que contrastan con la leve anticipación de las conductas de evitación y huida en el repertorio conductual, muy especialmente con la dosis mayor de MBDB la cual aumenta además el tiempo y frecuencia empleado en evitación/huida y defensa/sumisión. Por lo que al profundizar en el significado etológico de estos comportamientos, surge la pregunta de cuál es la posible relación entre el aumento de la investigación social observado en todas las dosis de MBDB y el resto de alteraciones que se producen especialmente al incrementar la dosis.

En este sentido, el análisis de secuencias de la dosis menor e intermedia de MBDB revela que aunque no se modifiquen los parámetros conductuales clásicos, el patrón conductual que conduce a la *evitación/huida* se encuentra alterado cualitativamente. En concreto, con la dosis menor se aumenta la diada “*amenaza – evitación/huida*”, mientras que la dosis intermedia incrementa la probabilidad de ocurrencia de la diada “*investigación social – evitación/huida*” (*IS - E/H*). Esto significa que una dosis de 2 mg/kg de MBDB tiene la capacidad de aumentar sensiblemente el conflicto de aproximación/evitación hacia el oponente (sin llegar a disminuir el nivel de agresión), por lo que es probable que el efecto entactógeno descrito con esta dosis se acompañe de un componente ansiogénico leve o incipiente. Además, el aumento de la diada “*IS - E/H*” con la dosis de 4 mg/kg de MBDB sugiere que este componente ansiogénico se intensifica al aumentar la dosis, pues la dicotomía de aproximación social/evitación se produce de forma más directa sin mediación de amenaza. Ésta es una lectura muy diferente de la que seguramente haríamos si solo tuviéramos en cuenta el aumento de conductas de investigación social, pues como ya hemos comentado esta alteración se suele considerar un indicador del posible efecto ansiolítico de una sustancia. Por tanto, es necesario señalar que aunque las conductas no presenten diferencias apreciables en un análisis clásico, sí

que pueden producirse alteraciones en las secuencias que conectan estas conductas revelando aspectos del comportamiento que de otra forma permanecen ocultos a determinadas dosis. Además, al aumentar la dosis de MBDB es más evidente la inespecificidad y pérdida de relevancia de las propiedades entactogénicas de este compuesto.

En animales tratados con 8 mg/kg de MBDB o de MDMA, además de reducir enormemente las conductas ofensivas, parecen encontrarse en un estado de alerta. Este estado se refleja en el aumento del tiempo en conductas de exploración a distancia, en combinación con el aumento y adelanto de conductas de evitación/huida y de defensa/sumisión, pero también por la reducción de comportamientos como escarbar y autocuidado que suelen estar mínimamente presentes en un repertorio conductual equilibrado. En este sentido, el análisis de secuencias muestra que las diadas entre “*exploración no social ↔ exploración a distancia*” son las que ganan más peso en el repertorio agonístico conforme se incrementa la dosis (2, 4, 8 mg/kg de MBDB y 8 mg/kg de MDMA:  $\approx 12\%$ ,  $>20\%$ ,  $>30\%$  y  $>50\%$ , respectivamente), en detrimento de las diadas ofensivas. Este aumento de las diadas exploratorias formando un anillo en el etograma (EAD $\rightarrow$ ENS, ENS $\rightarrow$ IS, IS $\rightarrow$ EAD), también se ha observado con dosis muy bajas de MDMA (0.5 mg/kg), aunque no con dosis algo mayores (Maldonado, 2000).

En general, los resultados obtenidos con la dosis mayor de MDMA son congruentes con estudios previos, en los que utilizando el mismo modelo de agresión en ratones y un rango de dosis amplio de 5-20 mg/kg (Navarro & Maldonado, 1999) y 8-15 mg/kg de MDMA (Maldonado & Navarro, 2001b), se ha informado de un aumento de la exploración a distancia y de las conductas de evitación. No obstante, ambas publicaciones coinciden en un aumento de la conducta de defensa/sumisión y reducción de las conductas de investigación social, mientras que en nuestro experimento el grupo tratado con MDMA muestra tan solo tendencia no significativa en estas conductas. En el test de interacción social, el MDMA aumenta las conductas de exploración a distancia en ratones adolescentes con una dosis similar a la de nuestro experimento (10 mg/kg), pero no con dosis inferiores o mayores (5, 20 mg/kg), así como tampoco muestra alteración significativa de las conductas de evitación (Daza-Losada et al., 2009). Mientras que otro estudio señala un aumento de las conductas de evitación/huida y defensa/sumisión (que agrupan en el factor timidez) con dosis de MDMA elevadas (10, 30 mg/kg),

independientemente del nivel de agresividad rasgo de los ratones (Machalova et al., 2012).

Finalmente, aunque las respuestas conductuales de cuidado corporal y escarbar tengan una presencia limitada en el repertorio conductual del ratón, se consideran una parte importante de éste, ya que son muy sensibles tanto a factores endógenos como exógenos. La evaluación de estas conductas puede resultar útil cuando se desea examinar la reacción del sujeto ante un ambiente novedoso y estresante (Gómez, Carrasco, & Redolat, 2008), e incluso se ha demostrado su contribución como indicadores fiables en modelos para determinadas enfermedades degenerativas (Latham & Mason, 2004). Además, a pesar de que la conducta de escarbar no resulta determinante para la valoración de los resultados del modelo de agresión inducida por aislamiento, su reducción aparece vinculada al efecto de sustancias con un perfil ansiogénico como la MDMA (Maldonado, 2000). Por otro lado, el ratón en cautividad emplea una gran proporción del tiempo en cuidado corporal, conducta que realiza de forma intensa después de comer; sin embargo, durante los periodos activos como el planteado en el experimento, el acicalamiento ocurre de forma esporádica (Latham & Mason, 2004). En general, resulta preciso indicar que el tiempo dedicado a estas dos categorías en el periodo activo de la prueba es relativamente escaso en todos los grupos evaluados, lo cual dificulta la interpretación de un cambio en el estado emocional o tendencia exploratoria del animal.

## **7. EXPERIMENTO 2: Efectos de la administración de MBDB sobre la ansiedad evaluada en el test del laberinto elevado en cruz en ratones**





## 7. EXPERIMENTO 2: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE MBDB SOBRE LA ANSIEDAD EVALUADA EN EL TEST DEL LABERINTO ELEVADO EN CRUZ EN RATONES.

El objetivo de este experimento fue examinar los efectos de la administración aguda de MBDB, homólogo alfa-etil del MDMA, sobre la ansiedad evaluada en ratones machos mediante la prueba conductual del laberinto elevado en cruz.

### 7.1. Procedimiento

Para realizar este experimento se utilizaron un total de 60 ratones machos albinos de la cepa SWISS-OF.1 (CRIFFA, Barcelona, España), con un rango de peso inicial de entre 25-30 g. Tras su llegada fueron alojados en jaulas en grupos de cinco y se mantuvieron unas condiciones ambientales óptimas y controladas (véase apartado metodología). En este estudio se tuvieron en cuenta tres grupos experimentales con una dosis creciente de MBDB (2,4 y 8 mg/kg), y un grupo control al cual se le administró suero salino. Adicionalmente, se tuvo en cuenta un segundo grupo control tratado con una dosis de 8 mg/kg de MDMA. La asignación de los animales a los distintos grupos se realizó de forma aleatoria, de tal forma que cada grupo estaba constituido por doce animales. La administración aguda de estas sustancias se realizó vía intraperitoneal (i.p.) y de forma proporcional al peso del animal con un volumen constante de 10ml/kg.

### 7.2. Resultados

En la Tabla 7.1 se muestran los valores de mediana con rangos para cada una de las medidas espaciotemporales y etológicas del test del laberinto elevado en cruz evaluadas en ratones machos tras la administración aguda de MBDB (2, 4, 8 mg/kg), MDMA (8 mg/kg) o suero salino. Los parámetros que se han evaluado para cada medida han sido tiempo acumulado (T), frecuencia (F) y latencia (L). Además, para la medida espaciotemporal de *brazo abierto* se ha evaluado el porcentaje de entrada en brazo no protegido respecto al total de entradas en brazos. Los datos recogidos no cumplían los criterios de normalidad y homocedasticidad, por lo que se han analizado mediante las pruebas no paramétricas H-Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney, con un criterio de significación estadística de  $p < .05$ . A continuación se exponen los resultados para cada categoría conductual y grupo de tratamiento.

**Tabla 7.1**

Valores de mediana con rangos de los parámetros asignados a las medidas espaciotemporales y etológicas evaluadas en ratones machos, después de la administración aguda de MBDB (2, 4 y 8 mg/kg), MDMA (8 mg/kg) o suero salino, en el test del laberinto elevado en cruz (EPM).

	Salino			2 mg/kg de MBDB			4 mg/kg de MBDB			8 mg/kg de MBDB			8 mg/kg de MDMA		
	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ
<b>Medidas Espaciales</b>															
Brazos Cerrados	T + 125 (58,6-172,4)	150 # (8-270,5)	171 (6,7-285,8)	173,58 ** (25,5-278)	.008	0,59	173,58 ** (25,5-278)	.008	0,59	254,24 ** (0-299,7)	.005	0,64	254,24 ** (0-299,7)	.005	0,64
	F 8 (5-14)	6 (1-14)	10 (2-21)	15,5 * # (2-23)	.018	0,52	15,5 * # (2-23)	.018	0,52	8 (0-20)	.019	-0,52	8 (0-20)	.019	-0,52
	L 23,44 (0,4-194)	47,22 # (0,5-185,3)	11,61 (0,5-161,5)	2,26 (0,4-137,7)			2,26 (0,4-137,7)			0,66 * (0,3-300)			0,66 * (0,3-300)		
Brazos Abiertos	T ++ (0-172,1)	34,88 * ## (0-174,7)	0,8 * (0-127,9)	13,22 * # (0-131)	.015	-0,53	13,22 * # (0-131)	.015	-0,53	0 ** (0-30,5)	<.001	-0,85	0 ** (0-30,5)	<.001	-0,85
	F ++ (0-8)	1,5 * ## (0-5)	0,5 * (0-11)	1,5 # (0-10)	.021	-0,51	1,5 # (0-10)	.021	-0,51	0 ** (0-1)	<.001	-0,86	0 ** (0-1)	<.001	-0,86
	L + (0,7-300)	1,76 # (0,5-300)	216,08 * (0,7-300)	19,89 (0,6-300)	.044	0,42	19,89 (0,6-300)	.044	0,42	300 ** (0,7-300)	.002	0,68	300 ** (0,7-300)	.002	0,68
	%F + (0-54,5)	27,27 (0-66,7)	5,56 * (0-47,8)	6,5 ** (0-38,5)	.023	-0,48	6,5 ** (0-38,5)	.023	-0,48	0 ** (0-50)	.001	-0,74	0 ** (0-50)	.001	-0,74
Plataforma Central	T (36,6-167,4)	88,24 (10,6-288,2)	78,89 (14,2-264,6)	70,05 * (22-274,5)	.04	-0,44	70,05 * (22-274,5)	.04	-0,44	44,5 * (0,3-300)	.02	-0,52	44,5 * (0,3-300)	.02	-0,52
Ambos Brazos	F 12 (7-16)	6,5 * (3-16)	11,5 (3-23)	17 # (2-31)	.039	-0,43	11,5 (3-23)	.039	-0,43	8 (0-21)			8 (0-21)		
	L 1,26 (0,4-16,5)	0,91 (0,5-2)	0,88 (0,5-132,2)	1,35 (0,4-5,1)			1,35 (0,4-5,1)			0,66 (0,3-300)			0,66 (0,3-300)		
<b>Medidas Etológicas</b>															
Unprotected Head-dipping (uHD)	T ++ (0-6)	0,86 # (0-5,8)	0 ** (0-15,4)	0,61 * # (0-4,1)	.007	-0,57	0,61 * # (0-4,1)	.007	-0,57	0 ** (0-3,7)	<.001	-0,8	0 ** (0-3,7)	<.001	-0,8
	F + (0-7)	1 # (0-7)	0 * (0-22)	1 # (0-4)	.012	-0,53	1 # (0-4)	.012	-0,53	0 ** (0-4)	<.001	-0,79	0 ** (0-4)	<.001	-0,79
	L ++ (1,8-300)	47,36 # (4,5-300)	300 ** (2,4-300)	202,18 * # (3,4-300)	.009	0,55	300 ** (2,4-300)	.009	0,55	300 ** (4,5-300)	<.001	0,8	300 ** (4,5-300)	<.001	0,8
Protected Head-dipping (pHD)	T (0-17,3)	2,37 (0-8,8)	4,41 (0-11,2)	1,29 (0-20)			1,29 (0-20)			0 * (0-10,5)	.018	-0,52	0 * (0-10,5)	.018	-0,52
	F (0-11)	2,5 (0-10)	5,5 (0-12)	2 (0-23)			2 (0-23)			0 * (0-13)	.043	-0,43	0 * (0-13)	.043	-0,43
	L 31,19 (0,4-300)	73,65 (29,4-300)	43,14 # (3,5-300)	54,6 (0,9-300)			54,6 (0,9-300)			300 ** (6,6-300)	.009	0,59	300 ** (6,6-300)	.009	0,59

Tabla 7.1. (Continuación)

	Salino			2 mg/kg de MBDB			4 mg/kg de MBDB			8 mg/kg de MBDB			8 mg/kg de MDMA			
	Mdn	(Rango)	p*	δ	Mdn	(Rango)	p*	δ	Mdn	(Rango)	p*	δ	Mdn	(Rango)	p*	δ
<b>Medidas Etológicas</b>																
Protected	29,99	(0-62,7)			24,49	(7-48,6)			27,09	(4,4-55,1)			32,1	(10-43)		
Stretched	9	(0-18)			12,5	(2-24)			10,5	(3-34)			15	(4-26)		
Attend (pSAP)	28,91	(11,6-300)			25,83	(3,4-160,2)			10,55 *	(2,8-143)	.025	-0,48	22,01	(4,7-117,3)		
Unprotected	8,63	(0-67,9)			0 **	(0-15,2)	.002	-0,68	0,61 #	(0-37,8)			0 **	(0-16,4)	<.001	-0,8
Stretched	3	(0-13)			0 **	(0-13)	.005	-0,6	0,5 #	(0-16)			0 **	(0-3)	<.001	-0,83
Attend (uSAP)	34,95	(5,3-300)			82,16 #	(5,1-300)	.006	0,59	272,05 #	(3,8-300)			300 **	(7,1-300)	<.001	0,79
Vuelta a protegido	0,66	(0-11,6)			2,54	(0-20,6)			1,11	(0-7,6)			3,14	(0-7,6)		
F	1	(0-5)			2	(0-6)			1,5	(0-8)			4 *	(0-13)	.032	0,46
L	115,53	(15,7-300)			127,49	(17,7-300)			119,68	(18,2-300)			106,79	(16,1-300)		
Exploración vertical (Rearing)	2,21	(0-12,5)			0	(0-8,5)			0,88	(0-5,5)			0,49	(0-6,3)		
F	1	(0-8)			0	(0-7)			1	(0-7)			1	(0-8)		
L	260,44	(6-300)			204,36	(2,5-300)			184,63	(1,5-300)			70,32	(5,5-300)		
Cond. no exploratoria	1,88	(0-32,6)			3,9	(0-11,3)			1,13	(0-30,7)			7,08	(0-31,7)		
F	2	(0-8)			1,5 #	(0-6)			1 #	(0-7)			5	(0-8)		
L	165,22	(27,8-300)			165,87	(54-300)			189,94 #	(11,2-300)			160,97	(9,7-300)		

Parámetros de tiempo (T), frecuencia (F), porcentaje de frecuencia (%F) y latencia (L). Tamaño del efecto Cliff's Delta alto |δ|>0.50  
 Test Kruskal-Wallis: † p<.05; †† p<.01. Test U de Mann-Whitney, diferencias respecto al grupo control salina: \* p<.05; \*\* p<.01. Diferencias respecto al MDMA: # p<.05; ## p<.01

### 7.2.1. Efectos del MBDB sobre las medidas espaciotemporales evaluadas en el test EPM

En la Tabla 7.1, se muestran los valores de mediana con rangos para cada una de las medidas espaciotemporales evaluadas en el modelo de ansiedad animal “EPM”. El test de Kruskal-Wallis indicó que los grupos evaluados diferían significativamente en todos los parámetros medidos en brazo abierto o no protegido (T-F:  $p < .01$ ; %F-L:  $p < .05$ ), así como en el tiempo acumulado en brazo cerrado o protegido (T:  $p < .05$ ). En la tabla citada, también se recogen las diferencias concretas de cada grupo de tratamiento respecto al grupo control. A continuación, se exponen los resultados más relevantes, los cuales también pueden consultarse gráficamente en la Figura 7.1.

En el grupo tratado con la dosis de 2 mg/kg de MBDB se reduce el tiempo y frecuencia en brazo abierto (T-F:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ). Además, disminuye la frecuencia de total de entrada en ambos brazos (F:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ), sin que se observen alteraciones en otras medidas espaciotemporales respecto al grupo control salina.

En el grupo tratado con la dosis de 4 mg/kg de MBDB se reduce el tiempo acumulado, la frecuencia y el porcentaje de frecuencia en las áreas abiertas del laberinto (T-F-%F:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ), lo que se acompaña de un aumento de la latencia de entrada (L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ). Sin embargo, no se producen alteraciones significativas en otros parámetros.

En relación al grupo tratado con la dosis de 8 mg/kg de MBDB, se produce de nuevo una reducción de tiempo y porcentaje de frecuencia en brazos abiertos (T:  $p < .05$ ; %F:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ); mientras que los parámetros de frecuencia y latencia muestran la misma tendencia que en grupos anteriores pero sin ser significativa. Además, con esta dosis disminuye por primera vez el tiempo acumulado en la plataforma central (T:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ), mientras que aumenta el tiempo y frecuencia en los brazos cerrados del laberinto (T:  $p < .01$ ; F:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.50$ ).

Con la dosis de MDMA (8 mg/kg) se observa un aumento de la latencia de entrada en brazo abierto (L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ), junto a una importante reducción del resto de parámetros que muestran una actividad casi nula en esta área (T-F-%F:  $p < .001$ ;  $|\delta| \approx 0.75$ ). Además, también se reduce el tiempo acumulado en la plataforma central (T:  $p < .05$ ;

$|\delta|>0.50$ ), mientras que aumenta el tiempo en los brazos protegidos y los sujetos se dirigen más rápidamente a esta zona (T:  $p<.01$ , L:  $p<.05$ ;  $|\delta|>0.50$ ).

Los resultados expuestos de ambas sustancias MDMA y MBDB, indican una reducción generalizada de los parámetros evaluados en los brazos abiertos del laberinto y un aumento en los brazos protegidos con las dosis altas de ambas sustancias. Esta reducción en los brazos abiertos parece estar más acentuada en el grupo tratado con MDMA (2 mg/kg de MBDB, T-F-%F:  $p<.01$ ;  $|\delta|>0.50$ ) (8 mg/kg de MBDB, T-F:  $p<.05$ ;  $|\delta|>0.35$ ), así como en el grupo tratado con la dosis intermedia de MBDB (sin diferencias significativas respecto a MDMA). Por otra parte, los resultados indican que la dosis mayor de MBDB induce una mayor frecuencia de entrada en brazo protegido que la dosis de MDMA (8 mg/kg de MBDB, F:  $p<.05$ ;  $|\delta|>0.35$ ), pero no se aprecian diferencias en el resto de parámetros evaluados de esta área.

### 7.2.2. Efectos del MBDB sobre las medidas etológicas evaluadas en el test laberinto elevado en cruz

El test de Kruskal-Wallis reveló diferencias significativas en la distribución de rangos de los grupos en dos parámetros etológicos. Se altera la conducta de riesgo de *Head-dipping* en brazos no protegidos que consiste en la inclinación de la cabeza hacia el exterior por debajo del nivel del suelo del laberinto desde el área abierta (uHD, T:  $p<.01$ ; F:  $p<.05$ ; L:  $p<.01$ ). También hay diferencias entre los grupos, en la conducta de riesgo *Stretched attitude posture* en brazos no protegidos, que consiste en el estiramiento del cuerpo hacia el área abierta manteniendo la posición de las patas traseras, seguido del regreso a la postura original (uSAP, T-F-L:  $p<.01$ ). Otras categorías conductuales tales como el HD o SAP en brazos protegidos, la exploración vertical, la vuelta al brazo protegido y las conductas no exploratorias (cuidado corporal e inmovilidad), no fueron estadísticamente significativas en ninguno de los parámetros evaluados. En la Tabla 7.1, se muestran los valores de mediana con rangos para cada uno de los parámetros y variables evaluados que son significativos tras la prueba de U de Mann-Whitney. A continuación, se exponen los resultados hallados en las medidas etológicas para los diferentes grupos experimentales.

La administración de la dosis menor de MBDB (2 mg/kg) no produjo diferencias significativas en ninguno de los parámetros evaluados de las medidas etológicas respecto

al grupo control salino. Sin embargo, se observa una tendencia no significativa a disminuir conductas en los brazos abiertos del laberinto (uHD, SAP, NP) y a incrementar la frecuencia de conductas de riesgo desde áreas protegidas (pSAP).

El grupo tratado con la dosis intermedia de MBDB (4 mg/kg) muestra una disminución de tiempo y frecuencia con aumento de la latencia de las conductas de head-dipping no protegido (uHD, T:  $p < .01$ , F:  $p < .05$ , L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.50$ ) y Stretched attitude posture no protegido (uSAP, T:  $p < .01$ , F:  $p < .01$ , L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ), todas ellas con un tamaño del efecto elevado.

El grupo que recibió la dosis más alta de MBDB (8 mg/kg) presenta reducción del tiempo acumulado y retraso de la conducta de head-dipping no protegido (uHD, T:  $p < .05$ , L:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ), mientras que no se indican alteraciones de otros parámetros conductuales en brazo abierto. Por otra parte, en este grupo se adelanta la aparición de conductas de atención extrema en protegido también con un tamaño del efecto moderado-alto (pSAP, L:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ). Las diferencias descritas en todos los grupos tratados con MBDB, se producen sin que se aprecie alteración en la frecuencia total de conductas.

El grupo tratado con la dosis de MDMA (8 mg/kg) presenta una profunda alteración del repertorio conductual. Se aprecia una reducción del tiempo y frecuencia con aumento de la latencia en las conductas de head-dipping no protegido (uHD, T:  $p < .01$ , F:  $p < .01$ , L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.80$ ) y stretched attitude posture no protegido (uSAP, T:  $p < .01$ , F:  $p < .01$ , L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.80$ ), ambas con un tamaño del efecto muy alto. Así como también disminuye la conducta de head-dipping protegido (pHD., T:  $p < .05$ , F:  $p < .05$ , L:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ). Además con esta dosis se produce un aumento de la frecuencia de regreso al brazo protegido (F:  $p < .05$ ,  $|\delta| \approx 0.50$ ), con un tamaño del efecto entre moderado y alto, una conducta que se caracteriza por salir del brazo protegido solo con las patas delanteras para poco después retornar al área segura. Todas estas alteraciones conductuales, se producen sin que se observen cambios en la frecuencia total de conductas. Por último, los resultados expuestos indican que ambas sustancias (4 y 8 mg/kg de MBDB, y 8 mg/kg de MDMA) producen una tendencia a retrasar y disminuir el tiempo acumulado en la conducta de riesgo de Head-dipping no protegido. Tras analizar las diferencias, esta reducción parece

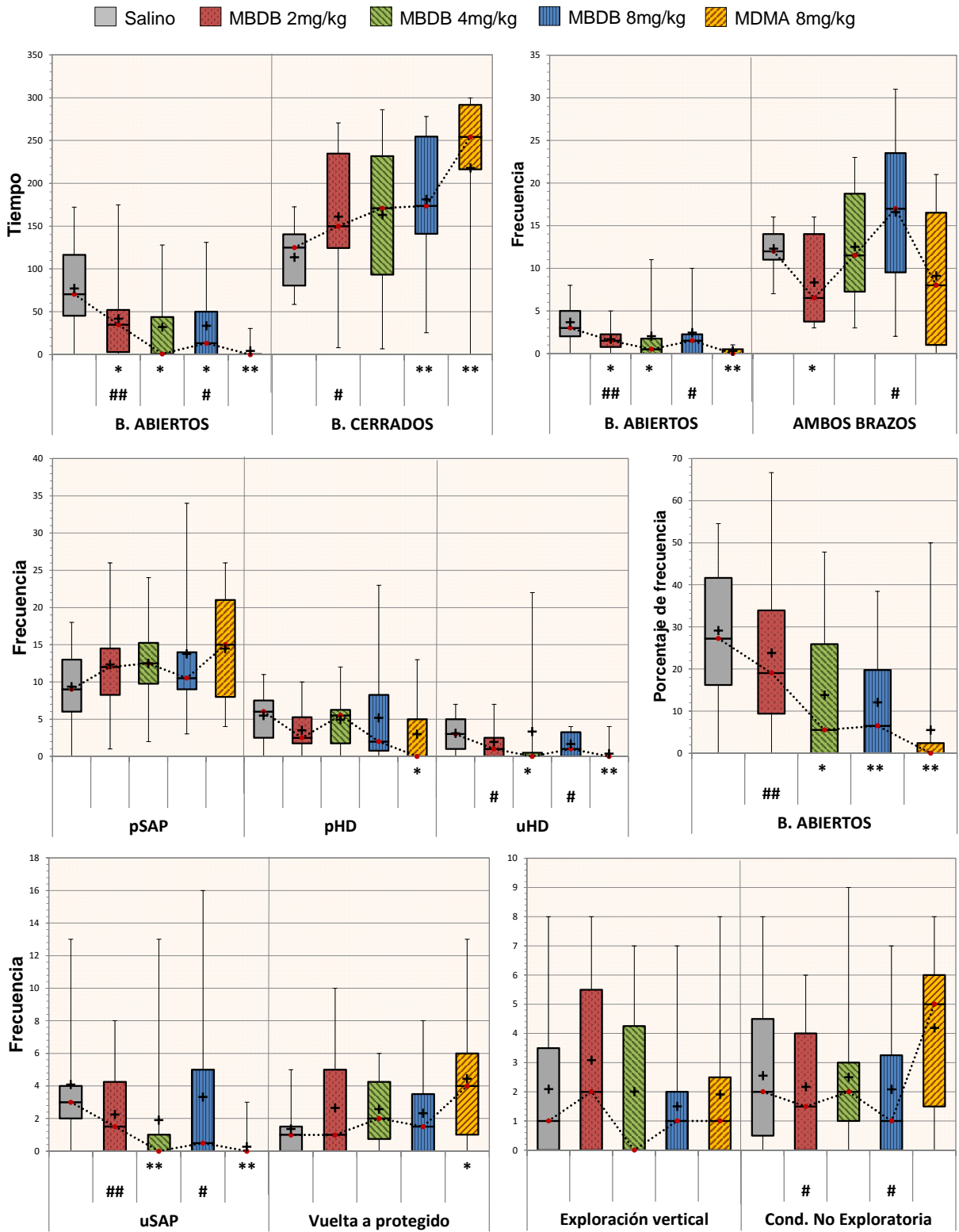
---

ser más acentuada en el tratamiento con MDMA (8 mg/kg de MBDB,  $p < .05$ ,  $|\delta| \approx 0.35$ ), y con la dosis intermedia de MBDB (sin diferencias significativas respecto a MDMA).





**Figura 7.1. Medidas espaciales y etológicas en el test EPM tras la administración de MBDB**



Diferencias respecto al grupo control salina. Test U de Mann-Whitney: \* $p < .05$ ; \*\* $p < .01$   
 Diferencias respecto al grupo control éxtasis (MDMA). Test U de Mann-Whitney: # $p < .05$ ; ## $p < .01$



### 7.3. Discusión.

En este experimento se ha evaluado el efecto de la administración aguda de tres dosis de MBDB (2, 4 y 8 mg/kg) y una dosis de MDMA (8 mg/kg), sobre la conducta de ansiedad exhibida por ratones machos SWISS OF.1, en el modelo de ansiedad del laberinto elevado en cruz, ya que una mejor comprensión del perfil conductual del MBDB en ratones podría ayudar a aclarar las propiedades farmacológicas de esta sustancia. El laberinto elevado en cruz (EPM o x-maze), es un modelo con buena validez en roedores y uno de los más utilizados para evaluar la ansiedad incondicionada del roedor mediante estímulos naturales, por lo que se considera una herramienta eficaz para valorar los posibles efectos ansiogénicos/ansiolíticos de un compuesto (Carobrez & Bertoglio, 2005; Haller & Alicki, 2012; Handley & Mithani, 1984; Hogg, 1996; Holmes, Parmigiani, Ferrari, Palanza, & Rodgers, 2000; Lister, 1987; Pawlak, Karrenbauer, Schneider, & Ho, 2012; Pellow et al., 1985). No obstante, en la actualidad no tenemos constancia de que se hayan realizado estudios conductuales sobre el MBDB en el test EPM, ni en ningún otro modelo animal de ansiedad.

Según los resultados de esta investigación, ambas sustancias evaluadas tienen la capacidad de alterar el estado de ansiedad del ratón, tanto en lo relativo a las medidas clásicas espaciotemporales como las etológicas. Un hallazgo interesante de este estudio fue que, a igualdad de dosis, los ratones se mostraron más sensibles a la administración aguda del MDMA, que a la de MBDB.

En relación a los parámetros clásicos, la administración de MBDB produjo una reducción del tiempo de exploración en los brazos abiertos del laberinto en todas las dosis, junto con una reducción dosis dependiente del porcentaje de frecuencia en esta área (4 y 8 mg/kg de MBDB). Mientras que la administración de MDMA retrasó y redujo robustamente todos los parámetros evaluados en las áreas abiertas del laberinto, incluyendo el porcentaje de entrada en esta área. En este aspecto, el EPM es un modelo que se basa en la aversión natural que los roedores muestran a los espacios abiertos (Filgueiras, Carvalho-Netto, & Estanislau, 2014; Montgomery, 1955; Weiss, Wadsworth, Fletcher, & Dourish, 1998), en el que se asume que la reducción del tiempo o de la proporción de entradas en los brazos abiertos del laberinto refleja un efecto específico sobre el miedo y la ansiedad de tipo ansiogénico (Brunner et al., 1999; Cruz et al., 1994; Pellow et al., 1985; Rodgers & Johnson, 1995; Treit et al., 1993; Walf & Frye, 2007). Por

lo que en conjunto, los resultados del análisis espaciotemporal sugieren que ambas sustancias son capaces de producir un aumento del nivel de ansiedad en ratones machos.

En este aspecto, resulta interesante comprobar la congruencia de los hallazgos expuestos en el primer experimento. En particular, en este modelo es más evidente que la dosis más pequeña de MBDB (2 mg/kg) produce un efecto ansiogénico débil caracterizado por la reducción discreta de tiempo y frecuencia en brazos abiertos sin alterar otros parámetros etológicos. No obstante al incrementar la dosis de MBDB, se alteran otras medidas etológicas sensibles a los efectos ansiogénicos de las drogas en el laberinto elevado en cruz (Campos et al., 2013; Carobrez & Bertoglio, 2005; Holmes et al., 2000; Pawlak et al., 2012; Rodgers, Cao, Dalvi, & Holmes, 1997; Walf & Frye, 2007; Weiss et al., 1998).

El aumento de la ansiedad en el laberinto elevado en cruz, como ya se ha comentado se relaciona con la reducción de parámetros clásicos en los brazos abiertos (tiempo, frecuencia y especialmente porcentaje de frecuencia). De forma similar, el perfil ansiogénico etológico en este modelo se caracteriza por la reducción de conductas de riesgo en áreas abiertas, así como por un aumento de la actividad de riesgo desde el área protegida [uHD (-), pHD (+) y pSAP (+)], según diversos análisis factoriales (Brunner et al., 1999; Carola, D'Olimpio, Brunamonti, Mangia, & Renzi, 2002; Cruz et al., 1994; Espejo, 1997; Rodgers & Johnson, 1995). En concreto, la conducta de riesgo “*Stretched Attend Posture*” (SAP) es una postura exploratoria en la que manteniendo la posición de las patas traseras el ratón se estira hacia delante y luego vuelve a la posición original, mientras que en la conducta de riesgo de “*Head-dipping*” (HD) el ratón explora asomando la cabeza y los hombros por fuera de un lateral del laberinto. Ambas se pueden diferenciar independientemente por su localización en área protegida/cerrada (pSAP, pHD), o en área desprotegida/abierta (uSAP, uHD), mostrando un significado etológico distinto de acuerdo con lo propuesto por Rodgers et al. (1995), que veremos a continuación.

Por ejemplo, el aumento de la conducta pHD sugiere un estado de miedo/desconfianza que difiere del estado tranquilidad requerido para una exploración arriesgada y curiosa desde los brazos abiertos (uHD) (Cárdenas & Navarro, 2002b; Mascarenhas et al., 2013). Por otra parte, el aumento de la conducta pSAP denota un nivel de miedo y desconfianza en la exploración más pronunciado que el aumento en uSAP, lo que ha llevado a relacionar

---

indirectamente el aumento en uSAP con una cierta reducción del nivel de ansiedad (Espejo, 1997), sin embargo la interpretación del parámetro uSAP respecto a la ansiedad no es lineal como veremos más adelante.

Los resultados indican que ninguno de los niveles de tratamiento con MBDB reduce las conductas de pSAP o pHD, lo cual es consistente con la ausencia de un efecto ansiolítico (Carrasco, Vidal, & Redolat, 2013; Espejo, 1997; Redolat, Gómez, Vicens, & Carrasco, 2005; Rodgers & Johnson, 1995; Rodgers et al., 1997; Wall & Messier, 2000). Por otra parte, las dosis más elevadas de MBDB (4 y 8 mg/kg) producen una reducción y retraso de la conducta de head-dipping en los brazos desprotegidos (uHD), lo que se relaciona robustamente con un aumento del nivel de ansiedad (Carola et al., 2002; Espejo, 1997). Por otro lado, tan solo la dosis intermedia de MBDB reduce de forma notable la conducta uSAP, pero como ya se ha indicado la reducción de esta conducta requiere de una valoración algo más compleja teniendo en cuenta otros aspectos.

La conducta de riesgo uSAP suele correlacionar de forma opuesta con la conducta de retorno al brazo protegido (pReturn) en un factor independiente al que se ha denominado “conflicto de aproximación-evitación” (Carola et al., 2002; Espejo, 1997). La presencia de uSAP indica que hay curiosidad por explorar los brazos abiertos pero también bastante desconfianza y miedo a lo desconocido, lo que sugiere que el animal experimenta conflicto en el área desprotegida. Sin embargo, el aumento de la conducta de vuelta a protegido sugiere que la zona que genera conflicto en el sujeto se sitúa en el área protegida, lo que denota un nivel de conflicto mayor e indirectamente un estado de más ansiedad. Es decir, la aversión a salir del brazo protegido sugiere un estado de conflicto y de ansiedad mayor que el hecho de explorar con máxima precaución el brazo abierto, lo que ha llevado a vincular el desplazamiento del conflicto al área abierta (aumento de uSAP) con una cierta reducción del nivel de ansiedad (Espejo, 1997). Sin embargo, la relación de esta variable con la ansiedad no es lineal, ya que si el sujeto no experimenta conflicto alguno, la reducción esperable de uSAP también se relacionaría con el efecto ansiolítico de un fármaco. Esto parece indicar la necesidad de evaluar primero si el sujeto experimenta o no conflicto y en qué áreas, para luego examinar la relación de las alteraciones de estas conductas con otros parámetros que tienen mayor peso en el factor ansiedad.

De esta forma, la dosis intermedia de MBDB produce una notable reducción de la conducta uSAP que podría interpretarse como un cierto efecto ansiogénico (1997). Pues la evidencia de una reducción de la actividad en los brazos abiertos y de la actividad uHD, junto con la reducción en uSAP y la observación de un aumento no significativo en la conducta pReturn, parece sugerir en conjunto que la administración de esta dosis de MBDB no anula el conflicto sino que lo desplaza al área protegida, lo que es indicativo de un incremento del nivel de ansiedad. No obstante, como se indicó anteriormente la dosis mayor de MBDB no produce estos cambios en el factor conflicto, lo que sugiere que la dosis intermedia de MBDB (4 mg/kg) podría tener un efecto ansiogénico mayor.

Para plantear las propiedades ansiogénicas de un compuesto, resulta necesario comprobar que no haya alteración a nivel locomotor, con el objetivo principal de descartar un posible efecto sedante (Weiss et al., 1998). En el EPM, el método general para analizar la ausencia de efecto motor consiste en la evaluación de la preferencia por las áreas abiertas en combinación con la frecuencia total de entradas en ambos brazos (Brunner et al., 1999; Cruz et al., 1994; Espejo, 1997; Lister, 1987; Pellow et al., 1985; Rodgers & Johnson, 1995; Walf & Frye, 2007; Weiss et al., 1998). Sin embargo, el aspecto “motor” se ha relacionado sin demasiado consenso con otras conductas del modelo EPM mediante análisis factorial, entre las que destacan la frecuencia de entrada en los brazos cerrados (Carola et al., 2002; Cruz et al., 1994; Espejo, 1997; Fraser et al., 2010; Rodgers & Johnson, 1995) y la frecuencia de rearings o exploración vertical (Brunner et al., 1999; Carola et al., 2002; Cruz et al., 1994; Espejo, 1997). Indicándose también otras varias como la conducta de olisqueo o sniffing (Espejo, 1997), la distancia recorrida total (Fraser et al., 2010); y de forma negativa con la frecuencia total de SAP y las conductas no exploratorias de autocuidado e inmovilidad (Cruz et al., 1994; Espejo, 1997).

Según los resultados, las dosis más altas de MBDB (4 y 8 mg/kg) producen un nivel elevado de ansiedad sin que se aprecie reducción motora en la frecuencia total de conductas, en la frecuencia de entrada en ambos brazos, ni en los brazos protegidos, ni en la actividad exploratoria vertical; así como tampoco se observa un incremento de la conducta no exploratoria, resultando además destacable que la dosis mayor incluso aumenta la entrada en los brazos protegidos. El problema aparece cuando un tratamiento altera en la misma dirección la preferencia del animal por las áreas abiertas y el número total de entradas (Weiss et al., 1998). La reducción de ambos parámetros se observa

paradójicamente con la dosis menor de MBDB, que es la que parece inducir un estado ansiogénico de menor potencia; por lo que en definitiva el efecto ansiogénico de esta sustancia no parece que esté ligado a un déficit motor que es lo que tratamos de descartar.

En conjunto, la evaluación de las medidas etológicas sugiere que el efecto ansiogénico del MBDB podría describir una curva dosis-dependiente, más que un incremento dosis-dependiente como sugiere el análisis de los parámetros espaciotemporales. En cualquier caso, no disponemos de estudios en modelos animales en los que se haya evaluado la acción del MBDB sobre la ansiedad, por lo que no podemos establecer comparaciones. Tan sólo podemos apuntar que los resultados obtenidos en todas las dosis son congruentes con los aportados en el primer experimento.

La administración de MDMA (8 mg/kg), reduce y retarda de forma aún más contundente la actividad en el área abierta, así como incrementa el tiempo y reduce la latencia de entrada en los brazos protegidos, por lo que los resultados de los parámetros espaciotemporales sugieren un efecto ansiogénico bastante elevado. Estas alteraciones no parece que se deban a un efecto motor, ya que no se observan cambios en la frecuencia total de entrada en los brazos. El efecto ansiogénico descrito también parece ser congruente con la reducción de la actividad de *head-dipping* en la zona abierta (uHD) (Cárdenas & Navarro, 2002b; Carola et al., 2002; Espejo, 1997; Mascarenhas et al., 2013). Además, el aumento de la conducta de vuelta al brazo protegido junto con la reducción potente de la actividad uSAP, sugiere un desplazamiento del área de conflicto a la zona protegida, lo que también resulta acorde con un incremento del nivel de ansiedad (Espejo, 1997).

Sin embargo, el tratamiento de MDMA reduce a su vez la conducta de pHD, una alteración que se suele vincular al efecto ansiolítico de un fármaco (Carrasco et al., 2013; Espejo, 1997; Mascarenhas et al., 2013; Redolat et al., 2005; Rodgers & Johnson, 1995; Rodgers et al., 1997; Wall & Messier, 2000). Una posible explicación, es que al desplazar el área de conflicto desde la zona abierta a la protegida aumentando tanto el tiempo en los brazos protegidos como la renuencia a salir de éstos, se reduce consecuentemente la posibilidad de realizar la conducta de *head-dipping* desde cualquier área. Por lo que como vemos en este caso un elevado nivel de ansiedad y del conflicto de aproximación-

evitación, podría explicar la reducción de la conducta de head-dipping en general. Esta posible explicación pone de relieve que atender estrictamente a los cambios conductuales aislados, puede conducirnos a interpretaciones erróneas que pierden de vista el contexto holístico de la conducta que se pretende evaluar.

Otra posible explicación de esta alteración, proviene de la evidencia recogida en otros modelos de ansiedad a cerca de que el MDMA y también el MBDB, son sustancias con un efecto hipoexploratorio que disminuyen la conducta exploratoria vertical de elevarse sobre las patas traseras “rearings” y la de asomarse a los agujeros del laberinto “holepokes” en ratas. Un efecto hipoexploratorio acompañado de evitación del área central, que según señalan estos autores son característicos de los derivados de feniletilaminas o indolaminas de tipo alucinógeno (Callaway & Geyer, 1992; Gold et al., 1989). En este sentido, la conducta de head-dipping recuerda bastante a la conducta holepokes, por lo que la reducción de head-dipping en ambas áreas del test EPM podría deberse a un efecto hipoexploratorio del MDMA más que a una alteración en el nivel de ansiedad. En este caso, la presencia de este efecto hipoexploratorio junto con la potente reducción de la actividad en los brazos abiertos, sugiere que el MDMA podría exhibir propiedades alucinógenas en ratones, en consonancia con lo descrito anteriormente en ratas. Respecto al MBDB, los estudios citados describen en ratas un efecto similar al del éxtasis; sin embargo en nuestro estudio los ratones tratados con MBDB no muestran una reducción del head-dipping independientemente del área del laberinto elevado, que sí exhiben los tratados con éxtasis. Por otra parte, se ha descrito que el patrón locomotor de los compuestos alucinógenos también se caracteriza por una ausencia de tigmotaxis (Gold et al., 1989), por lo que el aumento en tiempo y frecuencia en el área protegida que se observa tanto con el MDMA como con el MBDB (8 mg/kg), no parece corresponderse con un efecto alucinógeno.

El efecto del MDMA sobre la ansiedad es uno de los temas más controvertidos relacionados con esta sustancia (ver apartado 2.4.2), especialmente cuando analizamos los resultados disponibles con modelos animales de ansiedad incondicionada basados en la exploración. Por una parte, parece que el MDMA puede inducir un aumento de la preferencia por las áreas abiertas cuando se administra de forma aguda en dosis elevadas (10-20 mg/kg) (Ferraz De Paula et al., 2011; Ho et al., 2004; Kindlundh-Högberg et al., 2009; Lin et al., 1999; Navarro & Maldonado, 2002). Sin embargo, existe una gran



mayoría de estudios con modelos animales de ansiedad que informan de que esta sustancia produce un efecto ansiogénico en el roedor, especialmente con dosis bajas o moderadas. En la actualidad se desconoce a qué puede deberse este tipo de resultados conductuales mixtos y aparentemente dependiente de la dosis de MDMA.

En conjunto, nuestros resultados están en consonancia con diversos estudios que evalúan la administración aguda de MDMA sobre la ansiedad en el laberinto elevado en cruz y que hallan un efecto ansiogénico con dosis similares a la de nuestro experimento, tanto en ratones (4 mg/kg; 8 mg/kg) (Lin et al., 1999; Navarro & Maldonado, 2002), como en ratas (5-10 mg/kg; 7.5 mg/kg; 1.25-5 mg/kg; 10 mg/kg) (Bhattacharya et al., 1998; Ho et al., 2004; Morley & McGregor, 2000; Sumnall et al., 2004a). Además, estos resultados se muestran acordes al perfil ansiogénico descrito en roedores tratados con dosis similares de MDMA en otros modelos de ansiedad basados en la exploración, tales como el test del campo abierto u “Open Field test” (Bhattacharya et al., 1998; Kolyaduke & Hughes, 2013), la prueba de preferencia luz/oscuridad o “Dark/light test” (Kolyaduke & Hughes, 2013; Maldonado, 2000), o el test “Hole-Board” (Ferraz De Paula et al., 2011; Piper et al., 2008). Además, en consonancia con nuestros resultados, existen evidencias de que el MDMA parece incrementar la ansiedad de los sujetos en modelos que evalúan la interacción social tanto en ratones (8-15 mg/kg; 5-20 mg/kg y 5 mg/kg) (Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 1999; Navarro et al., 2004), como en ratas (Bhattacharya et al., 1998; Bull et al., 2004; Gurtman et al., 2002; Morley et al., 2001). Asimismo, se ha señalado que el MDMA produce un aumento de la ansiedad ante la amenaza de un predador como sucede en el test de “Evitación del olor aversivo”, y que este perfil ansiogénico se caracteriza por una mayor evitación de la zona aversiva y la reducción de las conductas de riesgo (Ferraz De Paula et al., 2011; Morley & McGregor, 2000). Por último, pero no menos importante, el análisis de diversos correlatos neuronales realizados en estudios conductuales de ansiedad a corto y largo plazo, parecen ser congruentes con la hipótesis de que el MDMA incrementa el nivel de ansiedad de los sujetos (Cunningham et al., 2009; Ferraz De Paula et al., 2011; Gurtman et al., 2002; McGregor et al., 2003; Navarro et al., 2004; Walker et al., 2007). Por lo que en general, de forma congruente con la información previa disponible, los resultados de nuestro estudio parecen indicar que tanto el MBDB (2-8 mg/kg) como el MDMA (8 mg/kg), son

sustancias con la capacidad de inducir un estado ansiogénico destacado en el ratón y estimulan la actividad motora con las dosis elevadas.

## **8. EXPERIMENTO 3. Efectos de la administración de MDEA sobre la conducta agonística en ratones**



## **8. EXPERIMENTO 3: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE MDEA SOBRE LA CONDUCTA AGONÍSTICA EN RATONES MACHOS.**

El objetivo principal de este estudio ha sido analizar los efectos conductuales de la administración aguda de tres dosis de MDEA (5, 10, 20 mg/kg) sobre la conducta agonista en ratones machos de la cepa OF.1 en el modelo de agresión inducida por aislamiento. Este objetivo general se desglosa a su vez en tres específicos: 1) Analizar los parámetros clásicos (tiempo, frecuencia y latencia) de las categorías conductuales descritas en el modelo, 2) Realizar un análisis de secuencias conductuales para examinar si existen diferencias en la estructura conductual global, especialmente en los patrones conductuales que conducen a las conductas agonísticas agresivas, y por último, 3) Analizar la evolución temporal de las conductas agonísticas agresivas en función del tratamiento administrado.

### **8.1. Procedimiento**

Para analizar el efecto del MDEA sobre la conducta agonística, se utilizaron en este experimento un total de 116 ratones machos albinos de la cepa SWISS OF.1 (CRIFFA, Barcelona, España), la mitad de los cuales (58) se emplearon como animales experimentales, siendo el resto utilizado como oponentes anósmicos. Para este experimento se tuvieron en cuenta tres grupos experimentales con una dosis creciente de MDEA (5, 10, 20 mg/kg), y un grupo control al cual se le administró suero salino. La administración aguda de estas sustancias se realizó vía intraperitoneal (i.p.) y de forma proporcional al peso del animal (volumen constante de 10ml/kg).

### **8.2. Resultados**

#### **8.2.1. Análisis de los parámetros etológicos**

Se han evaluado los parámetros clásicos de tiempo acumulado, frecuencia y latencia, para cada una de las categorías conductuales del modelo de agresión inducida por aislamiento. En la Tabla 8.1, se muestran los valores de mediana con rangos para cada uno de los parámetros y variables evaluados mediante las pruebas no paramétricas H-Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney, con un criterio de significación estadística de  $p < .05$  para todas las pruebas.

**Tabla 8.1**

Valores de mediana con rangos de los parámetros asignados a las categorías conductuales agonísticas evaluadas en ratones machos después de la administración aguda de MDEA (5,10,20 mg/kg) o salino, en el paradigma de agresión inducida por aislamiento

	5 mg/kg de MDEA			10 mg/kg de MDEA			20 mg/kg de MDEA		
	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ
Cuidado corporal									
T ++	19,21 (5,9-29,9)	.003	-0.61	1,72 ** (0-10,9)	<.001	-0.94	1,22 ** (0-17,2)	<.001	-0.93
F ++	13 (6-23)	<.001	-0.81	1 ** (0-8)	<.001	-0.92	1 ** (0-6)	<.001	-0.98
L ++	140,18 (69,2-257,3)			367,3 * (49,8-600)	.012	0.5	425,48 ** (85,4-600)	<.001	0.81
Escarbar									
T ++	29,26 (0-46,8)	<.001	-0.89	0 ** (0-3,6)	<.001	-0.91	0 ** (0-0,9)	<.001	-0.91
F ++	13 (0-25)	<.001	-0.89	0 ** (0-3)	<.001	-0.91	0 ** (0-1)	<.001	-0.91
L ++	194,54 (49,8-600)	.001	0.69	600 ** (285,5-600)	<.001	0.92	600 ** (35-600)	<.001	0.77
Exploración no social									
T ++	301,37 (257-439,2)			444,29 ** (299,6-531,7)	<.001	0.82	463,1 ** (302,2-565,6)	<.001	0.88
F	65 (54-91)	.039	-0.4	57 * (37-78)	.039	-0.39	59,5 * (25-119)	.015	-0.48
L	0 (0-2,4)			0 (0-0)			0 (0-0)		
Exploración a distancia									
T	50,74 (5,5-119,8)	.042	0.4	57,29 (30,3-133,8)			58,25 (9-118,7)		
L	8,8 (0,5-66,7)			11,75 (1,1-27,9)			7,46 (3,2-31,1)		
F	48,5 (12-73)			50 (28-68)			47 (17-120)		
Investigación social									
T ++	9,51 (0,4-83,8)	<.001	0.76	36,8 * (6,5-246,7)	.018	0.47	23,1 (0-239,8)		
F +	10 (1-43)	.004	0.58	21 ** (8-65)	.008	0.53	14 (0-43)		
L	21,01 (3,4-305,4)			19,61 (2,8-54,8)			21,69 (3,9-600)		

Tabla 8.1. (Continuación)

	Salino			5 mg/kg de MDEA			10 mg/kg de MDEA			20 mg/kg de MDEA		
	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ
Amenaza												
T ++	138,87 (9,9-194,6)	<.001	-0,74	0 ** (0-144,7)	<.001	-0,98	0 ** (0-54,2)	<.001	-0,98	0 ** (0-2,4)	<.001	-1
F ++	123 (7-180)	<.001	-0,82	0 ** (0-110)	<.001	-0,98	0 ** (0-33)	<.001	-0,98	0 ** (0-4)	<.001	-1
L ++	9,27 (0,6-233,9)	<.001	0,8	600 ** (10,1-600)	<.001	0,99	600 ** (209,2-600)	<.001	0,99	600 ** (126,1-600)	<.001	0,96
Ataque												
T ++	32,2 (1,2-49,9)	<.001	-0,88	0 ** (0-20,7)	<.001	-0,99	0 ** (0-2,8)	<.001	-0,99	0 ** (0-0)	<.001	-1
F ++	75 (2-143)	<.001	-0,84	0 ** (0-72)	<.001	-0,98	0 ** (0-16)	<.001	-0,98	0 ** (0-0)	<.001	-1
L ++	21,54 (3,8-335)	<.001	0,78	600 ** (9,5-600)	<.001	1	600 ** (458,1-600)	<.001	1	600 ** (600-600)	<.001	1
Evitación & huida												
T ++	1,85 (0-5,7)	<.001	0,74	14,73 ** (0-38,1)	<.001	0,89	16,45 ** (1,6-47,9)	<.001	0,89	20,85 ** (0-59,6)	<.001	0,87
F ++	2,5 (0-8)	<.001	0,72	16 ** (0-36)	<.001	0,92	15,5 ** (3-38)	<.001	0,92	24 ** (0-59)	<.001	0,87
L ++	99,07 (19,8-600)	.003	-0,6	20,96 ** (3,7-600)	.003	-0,79	24 ** (4-57,6)	<.001	-0,79	14,99 ** (6,4-600)	<.001	-0,81
Defensa & sumisión												
T +	0 (0-1,7)	.006	0,46	0,78 ** (0-16,2)	.006	0,56	1,28 ** (0-20,3)	.002	0,56	2,49 ** (0-22,8)	.003	0,51
F	0 (0-2)	.015	0,43	2 * (0-13)	.015	0,48	1 ** (0-8)	.007	0,48	2 ** (0-10)	.009	0,46
L	600 (50-600)	.029	-0,37	172,54 * (7,9-600)	.029	-0,36	369,39 * (5,2-600)	.035	-0,36	191,9 * (47,7-600)	.046	-0,34
Inmovilidad												
T	0 (0-8,1)			0 (0-7,3)			0 (0-7,6)			0 (0-15,1)		
F	0 (0-4)			0 (0-4)			0 (0-2)			0 (0-7)		
L	600 (0-600)			600 (29,8-600)			600 (26-600)			600 (96,1-600)		

Parámetros de tiempo (T), frecuencia (F) y latencia (L). Tamaño del efecto Cliff's Delta alto  $|\delta| > 0.50$   
 Test Kruskal-Wallis: † p<.05; ††p<.01. Test U de Mann-Whitney, diferencias respecto al grupo control salino: \* p<.05; \*\*p<.01.

El test de Kruskal-Wallis reveló que existen diferencias significativas en los tres parámetros conductuales de tiempo acumulado (T), frecuencia (F) y latencia (L), entre al menos dos de los grupos evaluados. En concreto, se muestran diferencias en las categorías conductuales de ataque, amenaza, escarbar, cuidado corporal y evitación/huida (T-F-L:  $p < .001$ ), investigación social (T:  $p < .001$ ; F:  $p < .05$ ), exploración no social (T:  $p < .001$ ) y defensa/sumisión (T:  $p < .05$ ). No se hallaron diferencias significativas en las conductas de exploración a distancia ni en inmovilidad. A continuación se exponen los resultados más relevantes de cada categoría conductual y grupo de tratamiento comparados con el grupo control mediante análisis U de Mann-Whitney, los cuales también están representados gráficamente (*Figuras 8.1 - 8.5*).

El análisis U de Mann Whitney muestra diferencias significativas en diversos parámetros conductuales, entre el grupo control salina y cada una de las dosis de fármaco de MDEA. En el grupo tratado con la dosis de 5 mg/kg de MDEA, las conductas que presentan una reducción de tiempo y frecuencia, en algunos casos con aumento de la latencia, son las conductas ofensivas de amenaza y ataque, escarbar (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.75$ ) y cuidado corporal (T-F:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ), en general todas ellas con un tamaño del efecto elevado (Cliff's Delta,  $|\delta|$ ), sin que se observe un efecto depresor de la locomoción. Por otra parte, la dosis inferior de MDEA parece incrementar el tiempo y frecuencia de las conductas agonísticas defensivas, tales como evitación/huida (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ) y defensa/sumisión (T-F:  $p < .01-.05$ , L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.30$ ), las cuales también disminuyen su latencia y presentan en general un tamaño del efecto entre alto y moderado respectivamente. Además, también aumentan algunas conductas exploratorias, tales como la investigación social (T-F:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ) y el tiempo acumulado en exploración a distancia (T:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.30$ ). Por último, la categoría de exploración no social experimenta un leve aumento del tiempo acumulado, que en esta dosis no resulta significativo, y una disminución moderada de su frecuencia (F:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.30$ ).

En el grupo tratado con la dosis de 10 mg/kg de MDEA, las conductas que presentan una reducción de tiempo y frecuencia con aumento de la latencia, son de nuevo las conductas ofensivas de amenaza y ataque, escarbar (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.90$ ) y cuidado corporal (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.90$ ), en general todas ellas con un tamaño del efecto más elevado que con la dosis inferior, sin que se observe un efecto depresor



de la locomoción. La dosis intermedia de MDEA parece incrementar el tiempo y frecuencia de las conductas agonísticas defensivas, tales como evitación/huida (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.75$ ) y defensa/sumisión (T-F:  $p < .01$ , L:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ), las cuales también disminuyen su latencia y presentan en general un tamaño del efecto entre muy alto y moderado-alto respectivamente. Como ya se observaba con la dosis inferior, se aumenta el tiempo y frecuencia empleados en investigación social (T:  $p < .05$ ; F:  $p < .01$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ), sin embargo no se aprecian diferencias significativas en la categoría de exploración a distancia. Por último, la categoría de exploración no social experimenta un aumento importante del tiempo acumulado (T:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.75$ ), junto con una disminución moderada de su frecuencia (F:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.30$ ).

El grupo que recibió la dosis de 20 mg/kg de MDEA muestra al igual que los anteriores, una disminución significativa de la conducta agonística ofensiva de amenaza y ataque con un tamaño del efecto más elevado (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| \approx 1$ ), junto con un aumento concomitante de la latencia y sin que se aprecie un efecto depresor de la locomoción. También se reducen significativamente con un tamaño del efecto muy elevado las conductas de escarbar y cuidado corporal (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| \approx 0.90$ ). Por otra parte, los resultados indican que la dosis mayor de MDEA produce un incremento significativo de las conductas agonísticas defensivas, tales como evitación/huida (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| \approx 0.85$ ) y defensa/sumisión (T-F:  $p < .01$ , L:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ), las cuales también disminuyen su latencia y presentan en general un tamaño del efecto entre muy alto y moderado-alto respectivamente. En relación a las conductas exploratorias, los resultados indican de nuevo que la categoría de exploración no social experimenta un aumento importante en tiempo acumulado (T:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 0.85$ ) y una disminución de su frecuencia (T:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 0.50$ ). Sin embargo, a diferencia de las dosis inferiores, otras conductas exploratorias tales como investigación social y exploración a distancia no muestran diferencias significativas en ninguno de los parámetros evaluados.



### 8.2.2. Análisis de secuencias conductuales

Se ha analizado el parámetro de probabilidad de ocurrencia de las diadas conductuales, para valorar los posibles cambios en la estructura conductual de los ratones tras la administración de MDEA (5, 10 y 20 mg/kg) en el test de agresión inducida por aislamiento.

En la Tabla 8.2 se presentan los datos significativos en el test U de Mann-Whitney, correspondientes a la probabilidad de ocurrencia de las diferentes categorías conductuales y sus diadas tras la administración de salina, MBDB o MDMA. En las Figuras 8.6- 8.9, se ha representado gráficamente para cada grupo de tratamiento, los resultados de las diadas más relevantes ( $PO > 1\%$ ), indicando la probabilidad de ocurrencia de las conductas (círculos) y de sus diadas mediante el grosor de la flecha ( $PO_D$ : 1-5%, 5-10%, 10-20%). Los incrementos significativos ( $p < .05$ ) se muestran en rojo y las reducciones en azul, mientras que las conductas y diadas con una  $PO < 1\%$  que muestran diferencias significativas se han representado con una línea discontinua. A continuación se expone el patrón hallado en el grupo control, y se describen las diferencias halladas en función del tratamiento.

#### ❖ *Grupo control salina.*

El análisis diádico del grupo control revela que en el repertorio conductual predominan las conductas de amenaza (AM 30.35%), exploración no social (ENS 21.67%), ataque (AT 19.21%) y exploración a distancia (EAD 14.36%). En este grupo, las transiciones más frecuentes son: “AT-AM” (18.92%) y “AM-AT” (18.51%), seguidas por “ENS-EAD” (9.75%), “EAD-AM” (7.13%) y “AM-ENS” (5.98%). Dichas transiciones son las más representativas del repertorio conductual de los roedores que formaron parte del grupo control.

Las diadas con mayor probabilidad de ocurrencia parecen mostrar un patrón conductual agresivo muy activo de “amenaza↔ataque” ( $PO_C$ : 30.35%,  $PT$ : 0.61 y 0.99). Es decir, en el grupo control el 30% de las conductas realizadas por el ratón son amenaza y de éstas aproximadamente el 60% conduce a ataque para luego volver a amenazar en la práctica totalidad de los casos. Este patrón tiene conexión con conductas exploratorias (“EAD → AM → ENS”). Según los resultados, en el grupo control el ataque es el antecedente principal de la conducta de amenaza, pero la secuencia que inicialmente

**Tabla 8.2**  
 Valores de probabilidad de ocurrencia promedio (PO $\bar{X}$ ) y probabilidad de transición (PT) correspondientes a las diadas de categorías conductuales evaluadas en ratones machos (precedente-consecuente), después de la administración aguda de MDEA (5, 10 y 20 mg/kg) o salino

PRECEDENTE	CONSECUENTE	Salino		5 mg/kg MDEA		10 mg/kg MDEA		20 mg/kg MDEA	
		PO $\bar{X}$	PT	PO $\bar{X}$	PT	PO $\bar{X}$	PT	PO $\bar{X}$	PT
Cuidado corporal	Escarbar	0,15	0,04	0 *	0,00	0 *	0,00	0 *	0,00
Cuidado corporal	Exp. no social	3,47	0,87	2,00 *	0,85	1,32 **	1,00	1,50 **	0,96
Cuidado corporal	Exp. a distancia	0,22	0,05	0,31	0,13	0 *	0,00	0 *	0,00
Total de la categoría	Cuidado corporal	3,99	1,00	2,35 *	1,00	1,32 **	1,00	1,57 **	1,00
Escarbar	Cuidado corporal	0,16	0,04	0 **	0,00	0 **	0,00	0 **	0,00
Escarbar	Exp. no social	3,57	0,84	0,35 **	1,00	0,20 **	1,00	0,27 **	1,00
Escarbar	Exp. a distancia	0,31	0,07	0 **	0,00	0 **	0,00	0 **	0,00
Total de la categoría	Escarbar	4,23	1,00	0,35 **	1,00	0,20 **	1,00	0,27 **	1,00
Exp. no social	Cuidado corporal	3,16	0,15	2,20	0,07	1,29 **	0,03	1,50 **	0,04
Exp. no social	Escarbar	3,70	0,17	0,35 **	0,01	0,20 **	0,01	0,27 **	0,01
Exp. no social	Exp. a distancia	9,75	0,45	21,12 **	0,68	28,59 **	0,76	26,41 **	0,68
Exp. no social	Investigación social	1,89	0,09	3,53 *	0,11	4,11 **	0,11	3,49	0,09
Exp. no social	Amenaza	2,63	0,12	1,18 *	0,04	0,18 **	0,00	0 **	0,00
Exp. no social	Evitación/Huida	0,11	0,01	2,04 **	0,07	2,39 **	0,06	5,55 **	0,14
Total de la categoría	Exp. no social	21,67	1,00	31,28 **	1,00	37,70 **	1,00	38,75 **	1,00
Exp. a distancia	Cuidado corporal	0,25	0,02	0,09	0,00	0,03 **	0,00	0 **	0,00
Exp. a distancia	Escarbar	0,22	0,02	0 *	0,00	0 *	0,00	0 *	0,00
Exp. a distancia	Exp. no social	4,56	0,32	10,50 **	0,41	17,95 **	0,58	17,21 **	0,58
Exp. a distancia	Investigación social	1,74	0,12	8,54 **	0,33	8,42 **	0,27	6,38 **	0,22
Exp. a distancia	Amenaza	7,13	0,50	2,49 **	0,10	0,25 **	0,01	0,08 **	0,00
Exp. a distancia	Ataque	0,25	0,02	0,07	0,00	0 *	0,00	0 *	0,00
Exp. a distancia	Evitación/Huida	0,21	0,01	3,04 **	0,12	4,23 **	0,14	5,32 **	0,18
Exp. a distancia	Defensa/Sumisión	0	0,00	0,74 **	0,03	0,07	0,00	0,50 *	0,02
Total de la categoría	Exp. a distancia	14,36	1,00	25,68 **	1,00	31,00 **	1,00	29,55 **	1,00

Tabla 8.2. (Continuación)

PRECEDENTE	CONSECUENTE	Salino			5 mg/kg MDEA			10 mg/kg MDEA			20 mg/kg MDEA		
		PO	X	PT	PO	X	PT	PO	X	PT	PO	X	PT
Investigación social	Exp. no social	2,95	0,58	0,58	8,85 **	0,60	0,60	9,52 **	0,62	0,62	5,77	0,52	
Investigación social	Exp. a distancia	0,17	0,03	0,03	1,29 *	0,09	0,09	0,87 **	0,06	0,06	0,72 *	0,07	
Investigación social	Amenaza	1,36	0,27	0,27	1,68	0,11	0,11	0,16 **	0,01	0,01	0,18 **	0,02	
Investigación social	Ataque	0,28	0,05	0,05	0,12	0,01	0,01	0 **	0,00	0,00	0 **	0,00	
Investigación social	Evitación/Huida	0,21	0,04	0,04	2,26 **	0,15	0,15	4,40 **	0,29	0,29	3,90 **	0,35	
Total de la categoría	Investigación social	5,08	1,00	1,00	14,65 **	1,00	1,00	15,31 **	1,00	1,00	11,00 *	1,00	
Amenaza	Cuidado corporal	0,35	0,01	0,01	0 **	0,00	0,00	0 **	0,00	0,00	0 **	0,00	
Amenaza	Exp. no social	5,98	0,20	0,20	2,59 **	0,25	0,25	0,32 **	0,29	0,29	0,18 **	0,59	
Amenaza	Exp. a distancia	3,74	0,12	0,12	1,53 *	0,15	0,15	0,15 **	0,13	0,13	0 **	0,00	
Amenaza	Investigación social	1,19	0,04	0,04	1,04	0,10	0,10	0,13 **	0,12	0,12	0,04 **	0,13	
Amenaza	Ataque	18,51	0,61	0,61	3,98 **	0,39	0,39	0,47 **	0,42	0,42	0 **	0,00	
Amenaza	Evitación/Huida	0,37	0,01	0,01	1,06	0,10	0,10	0,03 *	0,03	0,03	0,08	0,28	
Total de la categoría	Amenaza	30,35	1,00	1,00	10,19 **	1,00	1,00	1,13 **	1,00	1,00	0,30 **	1,00	
Ataque	Exp. no social	0,16	0,01	0,01	0 *	0,00	0,00	0 *	0,00	0,00	0 *	0,00	
Ataque	Amenaza	18,92	0,99	0,99	4,23 **	1,00	1,00	0,47 **	1,00	1,00	0 **	0,00	
Total de la categoría	Ataque	19,21	1,00	1,00	4,23 **	1,00	1,00	0,47 **	1,00	1,00	0 **	0,00	
Evitación/Huida	Exp. no social	0,58	0,63	0,63	5,39 **	0,60	0,60	6,69 **	0,60	0,60	11,07 **	0,71	
Evitación/Huida	Exp. a distancia	0,09	0,10	0,10	1,20 **	0,13	0,13	1,11 **	0,10	0,10	2,20 **	0,14	
Evitación/Huida	Investigación social	0,07	0,08	0,08	1,17 **	0,13	0,13	2,46 **	0,22	0,22	1,04 *	0,07	
Evitación/Huida	Amenaza	0,13	0,14	0,14	0,61	0,07	0,07	0 *	0,00	0,00	0,05	0,00	
Evitación/Huida	Defensa/Sumisión	0	0,00	0,00	0,56	0,06	0,06	0,85 **	0,08	0,08	1,14 **	0,07	
Total de la categoría	Evitación/Huida	0,91	1,00	1,00	8,99 **	1,00	1,00	11,16 **	1,00	1,00	15,59 **	1,00	
Defensa/Sumisión	Exp. no social	0,04	0,34	0,34	0,65 *	0,35	0,35	0,89 *	0,58	0,58	1,21 **	0,58	
Defensa/Sumisión	Investigación social	0,04	0,34	0,34	0,33 *	0,18	0,18	0,19	0,12	0,12	0	0,00	
Defensa/Sumisión	Evitación/Huida	0	0,00	0,00	0,58 **	0,31	0,31	0,12	0,08	0,08	0,74 *	0,35	
Total de la categoría	Defensa/Sumisión	0,11	1,00	1,00	1,85 *	1,00	1,00	1,52 **	1,00	1,00	2,10 *	1,00	

Diferencias con respecto al grupo control salina, Test U-Mann-Whiney: \* p < .05; \*\* p < .01

conduce hacia ésta parece ser “exploración a distancia-amenaza”. Las diadas que implican conductas agonísticas defensivas o de huida, apenas tienen representación en este grupo.

❖ *Grupo tratado con 5 mg/kg de MDEA.*

En el grupo tratado con la dosis más pequeña de MDEA, la probabilidad de ocurrencia de todas las conductas se encuentran alteradas respecto al grupo control. Las categorías que aumentan y predominan en el repertorio conductual son la exploración no social (ENS [31.28%]:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ), la exploración a distancia, investigación social y evitación/huida (EAD [25.68%], IS [14.65%], EH [9%]:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.75$ ). La categoría de defensa/sumisión presenta un aumento de probabilidad moderado (DS [1.85%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.35$ ). Por el contrario, disminuyen la amenaza, el ataque y la conducta de escarbar (AM [10.19%], AT [4.23%], ESC [0.35%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.80$ ), así como cuidado corporal (CC [2.35%]:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ). Las diadas agonísticas muestran las siguientes alteraciones:

- 1) La conducta de ataque cambia de forma cuantitativa, pues las diadas precedentes y consecuentes son las mismas que las observadas en el grupo control y disminuyen al igual que la conducta de ataque (“AT-AM” [4.2%], “AM-AT” [3.9%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ). La amenaza muestra cambios cualitativos, pues a pesar de la importante reducción de esta conducta, no disminuyen todas sus diadas (“IS-AM” [1.68%], “AM-IS” [1.04%]; n.s.).
- 2) La estructura de las conductas agonísticas defensivo-evitativas, se encuentra alterada de forma cualitativa, ya que se producen incrementos en diadas que no son representativas en el grupo control<sup>(c)</sup>: diadas precedentes a la Evitación/huida (EAD [3.04%], IS [2.26%] y ENS [2.04%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.70$ ), diadas posteriores a la Evitación/Huida (ENS [5.39%], EAD [1.20%], IS [1.17%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ), diadas precedentes a la Defensa/sumisión (EAD [0.74%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ), diadas posteriores a la Defensa/sumisión (EH [0.58%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 0.50$ ; ENS [0.65%], IS [0.33%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.30$ ). En general, aunque las secuencias relacionadas con defensa sumisión aumentan, siguen siendo bastante infrecuentes en el repertorio conductual (PO < 1%).

Tras administración de la dosis menor de MDEA, pierde relevancia el patrón agresivo característico del grupo control “amenaza↔ataque” (PO<sub>C</sub>: 10.2%, PT: 0.39-1). En este grupo, la diada más probable no implica conductas agresivas sino exploratorias y junto a

su inversa acumulan más del 30% del repertorio conductual (“ENS-EAD” [21.12%], “EAD-ENS” [10.5%]:  $p < .01$ ), formando un patrón conductual muy activo de “ENS↔EAD” ( $PO_C$ : 31.3%,  $PT$ : 0.68-0.41). Ambas conductas exploratorias muestran cambios cualitativos, pues su incremento se produce junto a una reducción general de otras diadas<sup>(a)</sup>, relacionadas con amenaza, cuidado corporal y escarbar; o bien, en el caso de la investigación social se acompaña de incremento tan sólo en algunas diadas. (“EAD-IS” e “IS-ENS” [ $\approx 8.5\%$ ], que deriva casi de igual forma en conductas de interés opuesto para el sujeto como investigación social y la evitación/huida.

❖ *Grupo tratado con 10 mg/kg de MDEA.*

En este grupo, las categorías conductuales que aumentan y predominan son exploración no social, exploración a distancia, investigación social y evitación/huida (ENS [37.7%], EAD [31%], IS [15.31%], EH [11.16%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.75$ ); seguidas de un aumento de la categoría defensa/sumisión (DS [1.52%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ). Por el contrario, disminuyen de forma drástica la amenaza y el ataque (AM [1.13%], AT [0.47%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ), así como las conductas de cuidado corporal y escarbar (CC [1.32%], ESC [0.20%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.70$ ). Se observan las siguientes alteraciones en las diadas agonísticas:

- 1) Se producen cambios cuantitativos en la estructura conductual de ataque y amenaza. Las respectivas diadas precedentes y consecuentes son las mismas que las observadas en el grupo control y disminuyen junto a la conducta objetivo: diadas precedentes y posteriores a amenaza (ataque, EAD, ENS, IS [ $< 0.50\%$ ]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \geq 0.70-1$ ).
- 2) Se muestran cambios cualitativos en las conductas agonísticas defensivas y de evitación, pues aumentan diadas que no son representativas en el grupo control <sup>(c)</sup>: conductas precedentes de la Evitación/huida (IS [4.4%], EAD [4.2%] y ENS [2.3%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.90$ ), conductas posteriores a la Evitación/Huida (IS[4.4%], EAD[4.2%], ENS[2.3%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.90$ ), conductas precedentes de la Defensa/sumisión (EH [0.85%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ) y conductas posteriores a la Defensa/sumisión (ENS [0.89%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.30$ ). En general, aunque las secuencias relacionadas con defensa y sumisión aumentan, siguen siendo bastante infrecuentes en el repertorio conductual.

Tras administración de la dosis intermedia de MDEA, pierde relevancia el patrón agresivo característico del grupo control “amenaza↔ataque” ( $PO_C$ : 1.1%,  $PT$ : 0.42-1). La

diada más probable implica conductas exploratorias y junto a su inversa acumulan más del más del 40% del repertorio conductual (“ENS-EAD” [28.6%], “EAD-ENS” [17.9%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ), formando un patrón conductual muy activo de “ENS↔EAD” ( $PO_C$ : 37.7%,  $PT$ : 0.76-0.58), que deriva en conductas de investigación social, así como en evitación. Además, todas las conductas exploratorias muestran cambios cualitativos, pues su incremento se produce junto a un aumento diversas diadas, algunas presentes (“IS-ENS” [9.5%], “EAD-IS” [8.4%], “EH-ENS” [6.6%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \geq 0.70-1$ ) y otras que no se contemplan en el grupo control<sup>(c)</sup>; pero también se acompaña por una reducción general de otras secuencias<sup>(a)</sup>, relacionadas con amenaza, cuidado corporal y escarbar.

❖ *Grupo tratado con 20 mg/kg de MDEA.*

En el grupo tratado con la dosis mayor de MDEA, las categorías conductuales que aumentan y predominan son exploración no social, exploración a distancia y evitación/huida (ENS [38.8%], EAD [29.6%], EH [15.6%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.85$ ), así como investigación social y defensa/sumisión (IS [11%], DS [2.1%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| \approx 0.50$ ). Por el contrario, disminuye hasta suprimirse la conducta de ataque y se reducen de forma muy acentuada la amenaza, cuidado corporal y escarbar (AT [0%], AM [0.3%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| = 1$ ; CC [1.6%], ESC [0.3%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.75$ ). Se observan las siguientes alteraciones en las diadas agonísticas:

- 1) Los resultados indican que la dosis mayor de MDEA produce cambios cualitativos y cuantitativos en la estructura conductual de la amenaza, ya que en este grupo la conducta de amenaza no se precede de ataque ni de exploración no social, y además, el resto de secuencias tanto precedentes (IS [0.18%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ; EAD [0.08%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ) como consecuentes (ENS [0.18%], IS [0.04%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.80$ ) se encuentran muy reducidas.
- 2) El análisis parece indicar que la estructura de las conductas agonísticas evitativas y defensivas, se encuentra alterada de forma cualitativa, ya que se producen incrementos en diadas que no son representativas en el grupo control<sup>(c)</sup>: conductas precedentes de la Evitación/huida (ENS [5.5%], EAD [5.3%] y IS [3.9%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 0.90$ ), conductas posteriores a la Evitación/Huida (ENS [11.1%], EAD [2.2%], DS [1.1%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ; IS [1%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.35$ ), conductas precedentes de la



Defensa (EH [1.1%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 0.50$ ; EAD[0.50%]:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.35$ .) y conductas posteriores a la Defensa (ENS [1.21%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ).

En este grupo son inexistentes los patrones observados en el grupo control, en su lugar, la diada más probable implica conductas exploratorias y junto a su inversa acumulan más del más del 40% del repertorio conductual (“ENS-EAD” [26.4%], “EAD-ENS” [17.2%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.85$ ), formando un patrón conductual muy activo “ENS↔EAD” (POC:38.8%, PT:0.68-0.58), que de nuevo puede derivar en dos conductas de interés opuesto como investigación social (EAD-IS”[6.4%]:  $p < .01$ ), y las conductas de evitación, como ya se ha indicado anteriormente.

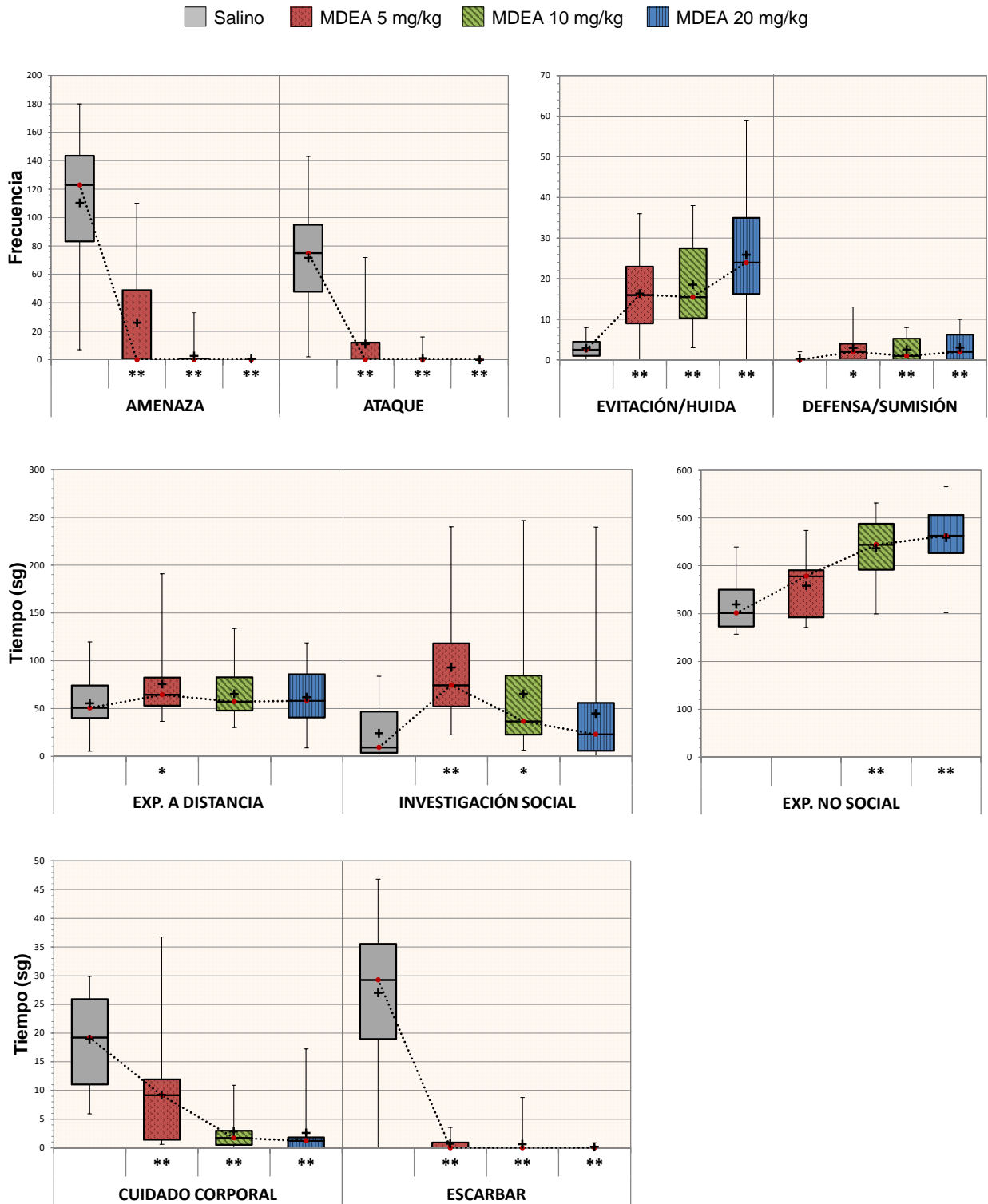
### 8.2.3. Evolución temporal de la conducta ofensiva de ataque

Se ha realizado la prueba de independencia  $\chi^2$ -cuadrado, para analizar la asociación entre el tratamiento y el minuto de la prueba en el que se produce la conducta de ataque, en concreto se diferencia entre la primera y la segunda parte de la prueba conductual (Figura 8.6). En nuestro conjunto de datos, el grupo tratado con la dosis de 20 mg/kg de MDEA presenta una constante cero en el número de ataques realizados, por lo que no puede incluirse en el análisis. Los resultados muestran que existen diferencias significativas en la distribución temporal de la conducta de ataque en función del tratamiento [ $\chi^2$  (2, N=1173)=18.687;  $p < .001$ ], por lo que ambas variables están relacionadas. El coeficiente de contingencia (C=0.125;  $p < .001$ ), indica que el grado de asociación entre dichas variables es bajo.

Tras el análisis de los residuos tipificados corregidos (RTC) desproporcionados ( $> |2.24|$ ; IC 95%, teniendo en cuenta la corrección de alfa para comparaciones múltiples), se observa que la proporción de ataques del grupo tratado con la dosis de 10 mg/kg de MDEA en la segunda parte de la prueba es significativamente mayor que en el resto de grupos (100% de ataques en la 2º mitad de la prueba, RTC: 4.1). Por lo que estos resultados indican que la dosis menor de MDEA reduce pero mantiene una distribución homogénea a lo largo de la prueba, mientras que la dosis intermedia reduce más y tiende a acumular esta conducta en la segunda mitad de la prueba, hasta que la dosis mayor finalmente anula la conducta de ataque por completo.

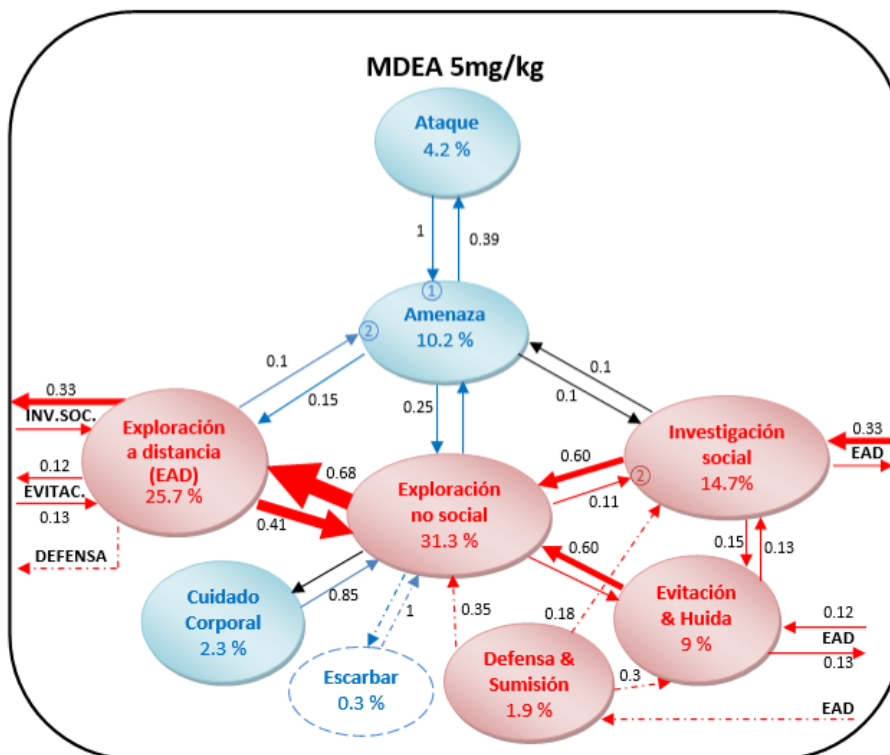
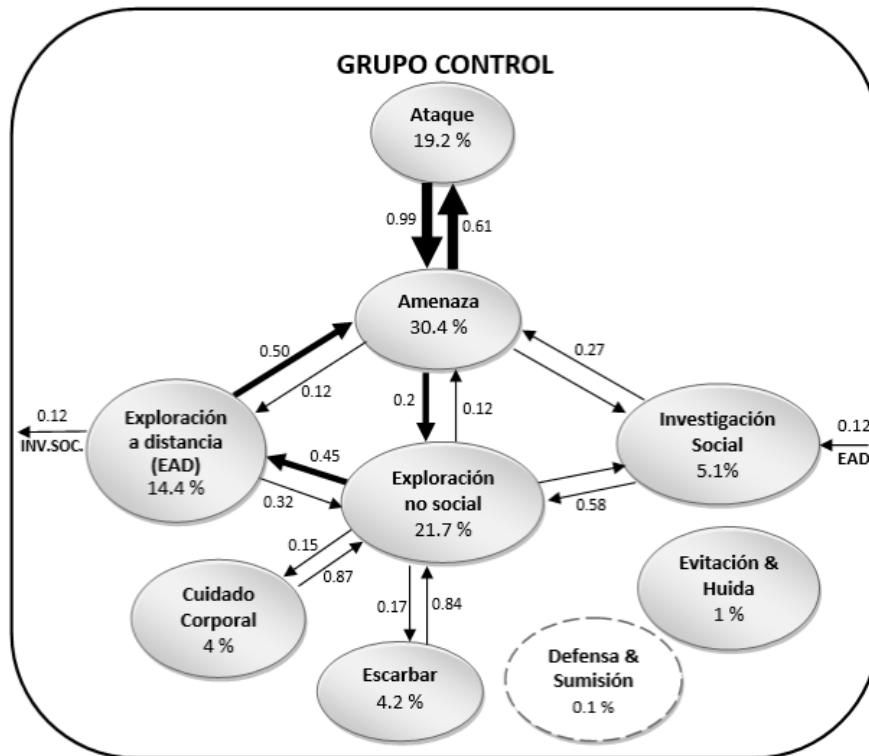


Figura 8.1. Perfil conductual agonístico tras la administración de MDEA



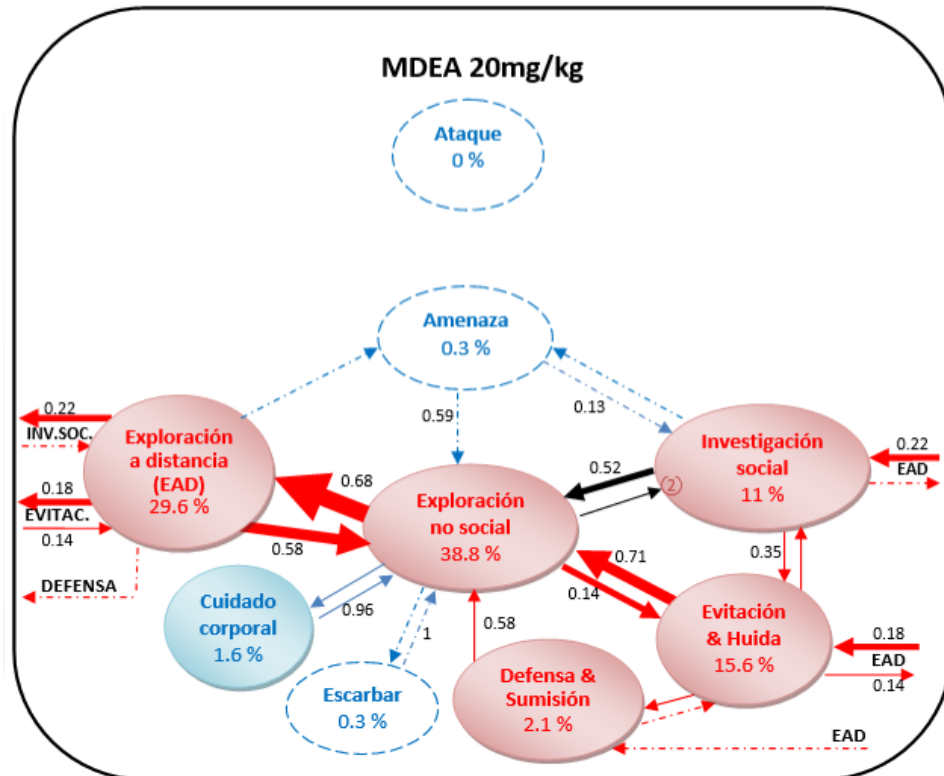
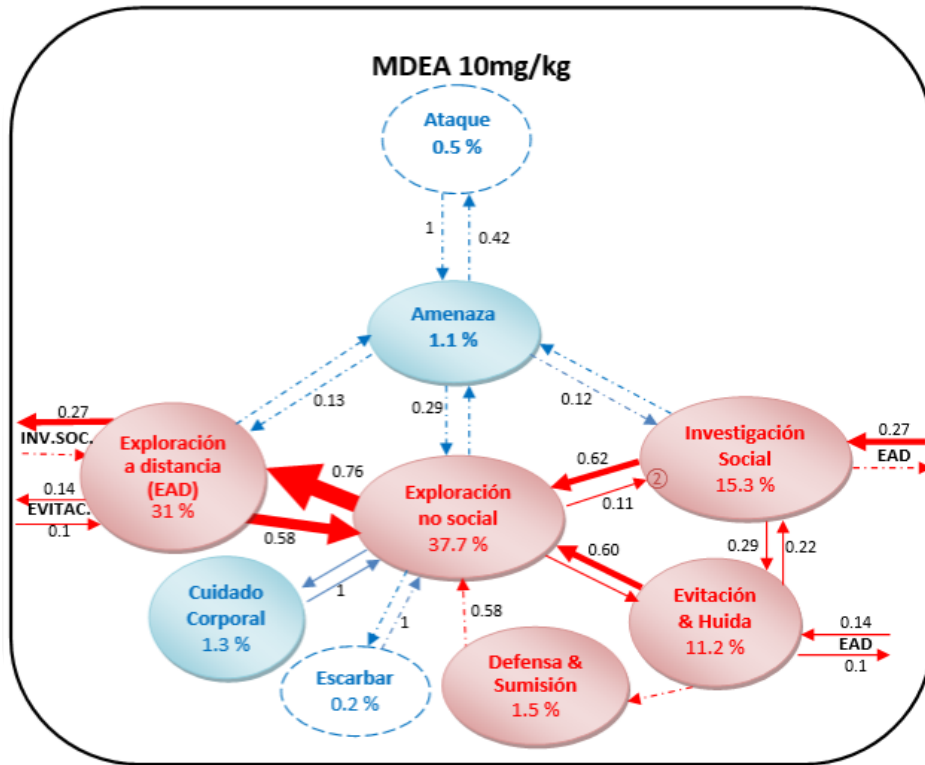
Diferencias respecto al grupo control salina. Test U de Mann-Whitney: \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$





Figuras 8.2 y 8.3. Mapa conductual del grupo control y del grupo tratado con 5 mg/kg de MDEA, donde se indica la frecuencia relativa o probabilidad de ocurrencia de la conducta (interior del globo) y de la diada mediante el grosor de la flecha de línea continua (1-5%, 5-10%, 10-20% y >20%), así como la probabilidad de transición desde la conducta precedente a la consecuente (al lado de la flecha). Los incrementos significativos se indican en rojo y las reducciones en azul.

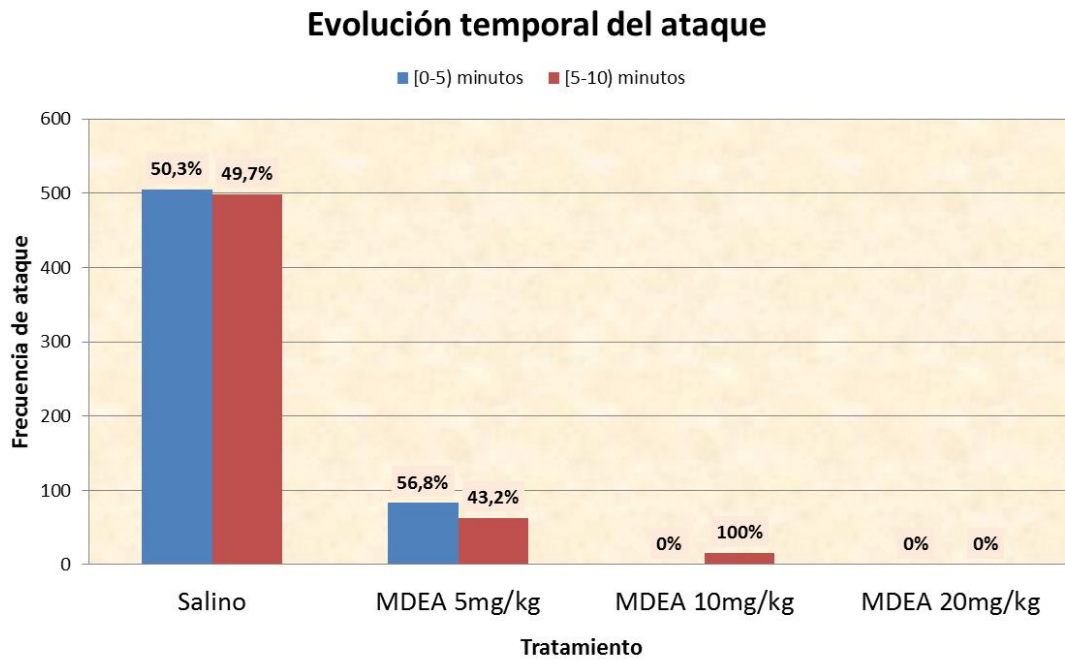




Figuras 8.4 y 8.5. Mapa conductual de los grupos tratados con 10 y 20 mg/kg de MDEA, donde se indica la frecuencia relativa o probabilidad de ocurrencia de la conducta (interior del globo) y de la diada mediante el grosor de la flecha de línea continua (1-5%, 5-10%, 10-20% y >20%), así como la probabilidad de transición desde la conducta precedente a la consecuente (al lado de la flecha). Los incrementos significativos se indican en rojo y las reducciones en azul.







*Figura 8.6.* Frecuencia y porcentaje de frecuencia de ataques en la primera y segunda parte del test, en cada grupo de tratamiento.



### 8.3. Discusión.

En este estudio se ha evaluado el efecto de la administración aguda de tres dosis de Metilendioxietilamfetamina o MDEA (5, 10 y 20 mg/kg), sobre la conducta agonística exhibida por ratones machos SWISS OF.1. Para ello se ha utilizado el modelo de agresión inducida por aislamiento, un modelo animal que permite analizar los componentes ofensivo y defensivo del comportamiento agonístico del ratón, además de otras conductas menos habituales pero también presentes durante el enfrentamiento con otro macho de su especie, con el objetivo de evaluar el perfil conductual agonístico del MDEA en ratones machos.

Los resultados obtenidos muestran que la administración aguda de MDEA produce un efecto antiagresivo potente en todas las dosis evaluadas, de forma que esta sustancia retrasa y reduce tanto las conductas de amenaza como las de ataque, sin que se aprecien alteraciones en inmovilidad. El análisis de la conducta de ataque revela que la dosis intermedia de MDEA además de reducir, facilita la acumulación del ataque al final de la prueba, mientras que la dosis mayor anula el ataque por completo. En la misma línea, se observa una pérdida de la relevancia de la diada de “amenaza ↔ ataque” en todos los grupos de tratamiento de MDEA respecto al grupo control (GC: 37%;  $GE_{MDEA(5.10.20)}$ : ≈8%, <1% y 0%), por lo que los resultados sugieren que el efecto antiagresivo de esta sustancia puede ser dosis dependiente. Además, el análisis secuencial parece indicar que esta importante pérdida del componente agonístico ofensivo es predominantemente cuantitativa en todos los grupos; quizá con la única particularidad de que tras una dosis alta de MDEA (20 mg/kg), la conducta de amenaza no se precede de ataque ni de exploración no social, diferenciándose en este aspecto del grupo control. Estos resultados parecen indicar que el MDEA tiene un claro efecto antiagresivo en un rango de dosis similar al que muestra el MDMA en estudios con el mismo modelo de agresión (Maldonado, 2000; Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 1999). Además, el efecto antiagresivo obtenido en el primer experimento con 8 mg/kg de MDMA, parece tener características intermedias al que se obtiene con las dosis de 5 y 10 mg/kg de MDEA, por lo que es posible que ambas sustancias muestren una potencia muy similar en este aspecto.

Este tipo de análisis del repertorio conductual agonístico completo, resulta especialmente apropiado para evaluar la especificidad de las alteraciones conductuales

que induce un compuesto (Navarro & Luna, 2005). En este sentido, se ha observado que que el efecto antiagresivo del MDEA es inespecífico en todas las dosis evaluadas. Los resultados indican que esta sustancia no solo altera la conducta ofensiva, sino también la conducta exploratoria y la defensiva. En concreto, se observa un aumento de la *investigación social (IS)* con la dosis menor de MDEA (5 mg/kg), algo menos potente con la dosis intermedia (10 mg/kg) y una tendencia no significativa con la dosis mayor. A su vez, la dosis más baja de MDEA produce un aumento discreto pero significativo de tiempo empleado en *explorar a distancia al oponente (EAD)*, mientras que las dosis intermedia y más alta aumentan notablemente la *exploración no social (ENS)*.

Los resultados obtenidos en investigación social sobre todo con la dosis menor de MDEA (5 mg/kg), son coherentes con el efecto entactógeno que se ha descrito de esta sustancia en estudios de discriminación de drogas, distinguiéndolo claramente tanto de las drogas estimulantes como de los compuestos alucinógenos (Boja & Schechter, 1991; Glennon et al., 1988; Schechter, 1991). Sin embargo, el incremento de la conducta social se ha relacionado en diversos estudios con un perfil ansiolítico, mientras que el aumento en la vigilancia a distancia de oponente y de la exploración no social, suelen describirse como alteraciones propias de un perfil ansiogénico (File & Seth, 2003; Gendreau, Petitto, Petrova, Garipey, & Lewis, 2000; Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 2004; Redolat, Oterino, Carrasco, & Brain, 2002).

Asimismo, todos los grupos muestran un aumento muy notable de las conductas agonísticas de defensa/sumisión y de evitación/huida, así como una reducción de las conductas de cuidado corporal y de escarbar. El incremento de las conductas agonísticas de defensa y evitación sugiere la presencia de un efecto ansiogénico en todos los grupos de tratamiento (Brain et al., 1991; Maldonado & Navarro, 2001b). Por otra parte, existen evidencias que vinculan el aumento de la conducta de escarbar en un encuentro agonístico con el perfil de algunas drogas ansiolíticas (Redolat et al., 2005), por lo que la reducción de esta conducta también parece estar en consonancia con un efecto ansiogénico.

Como puede apreciarse, la dosis menor de MDEA (5 mg/kg) parece generar un conflicto de aproximación-evitación al oponente, que recuerda bastante al observado con la dosis de 8 mg/kg MBDB, pero con un mayor nivel de acercamiento al oponente. No obstante, el aumento progresivo de la probabilidad de transición desde investigación

---

social a evitación (PT [IS→EH]: 0.15, 0.29 y 0.35), sugiere que el conflicto que experimenta el sujeto aumenta a medida que aumenta la dosis. Además, en el repertorio conductual las diadas “ENS ↔ EAD” son las que más destacan con la dosis menor e intermedia de MDEA, mientras que al aumentar la dosis también se observa un predominio evidente de las diadas que incluyen evitación/huida “EH ↔ ENS ↔ EAD”.

Por otra parte, la conducta de exploración no social tiene un componente motor importante, por lo que estos resultados podrían indicar que el MDEA (10, 20 mg/kg; y 5 mg/kg n.s.) exhibe propiedades estimulantes motoras de forma similar a lo observado con el MDMA. De acuerdo con estos resultados, existen evidencias de que la administración de MDEA (3 y 10 mg/kg) en ratas produce un efecto hiperlocomotor sostenido de menor potencia que el del MDMA y la d-anfetamina, en el que abundan los patrones lineales y se caracteriza por una elevada tigmotaxis (Gold et al., 1988; 1989; Paulus & Geyer, 1992). No obstante, otros autores señalan que a diferencia del éxtasis, el MDEA no parece alterar la conducta locomotora de la rata en dosis pequeñas (32 µm/kg ≈ 6.6 mg/kg) (Hegadoren et al., 1995); mientras que otros no hallan alteración motora para dosis elevadas de MDEA o MDMA (20 mg/kg) (Bexis & Docherty, 2006).

En conjunto, el MDEA parece tener unas propiedades antiagresivas y ansiogénicas notables incluso en dosis pequeñas, mientras que las posibles propiedades entactógenas de esta sustancia se limitan a las dosis más bajas. Además, se observa un efecto estimulante motor en todas las dosis evaluadas.



## **9. EXPERIMENTO 4: Efectos de la administración de MDEA sobre la ansiedad evaluada en el test del laberinto elevado en cruz en ratones**





## **9. EXPERIMENTO 4: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE MDEA SOBRE LA ANSIEDAD EVALUADA EN EL TEST DEL LABERINTO ELEVADO EN CRUZ EN RATONES MACHOS.**

El objetivo de este experimento fue examinar los efectos de la administración aguda de MDEA sobre la ansiedad evaluada en ratones machos mediante la prueba conductual del “laberinto elevado en cruz”.

### **9.1. Procedimiento**

Para realizar este experimento se utilizaron un total de 48 ratones machos albinos de la cepa SWISS-OF.1 (CRIFFA, Barcelona, España), con un rango de peso inicial de entre 25-30 g. Tras su llegada fueron alojados en jaulas en grupos de cinco y se mantuvieron unas condiciones ambientales óptimas y controladas (véase apartado metodología). En este estudio se tuvieron en cuenta tres grupos experimentales con una dosis creciente de MDEA (5, 10 y 20 mg/kg), y un grupo control al cual se le administró suero salino, la asignación de los animales a los distintos grupos se realizó de forma aleatoria. La administración aguda de estas sustancias se realizó vía intraperitoneal (i.p.) y de forma proporcional al peso del animal con un volumen constante de 10ml/kg.

### **9.2. Resultados**

En la Tabla 9.1 se muestran los valores de mediana con rangos en cada una de las medidas espaciotemporales y etológicas evaluadas en ratones machos que realizaron el test del laberinto elevado en cruz, tras la administración aguda de MDEA (5, 10 y 20 mg/kg) o suero salino. Los parámetros que se han evaluado para cada medida han sido tiempo acumulado (T), frecuencia (F) y latencia (L). Además, para la medida espaciotemporal de brazo abierto se ha evaluado el porcentaje de entrada en brazo no protegido respecto al total de entradas en brazos. Los datos recogidos no cumplían los criterios de normalidad y homocedasticidad, por lo que se han analizado mediante las pruebas no paramétricas H-Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney, con un criterio de significación estadística de  $p < .05$ . A continuación se exponen los resultados para cada categoría conductual y grupo de tratamiento.

**Tabla 9.1**

Valores de mediana con rangos de los parámetros asignados a las medidas espaciotemporales y etológicas evaluadas en ratones machos, después de la administración aguda de MDEA (5, 10 y 20 mg/kg) o suero salino, en el test del laberinto elevado en cruz (EPM).

		Salino			5 mg/kg de MDEA			10 mg/kg de MDEA			20 mg/kg de MDEA		
		Mdn	(Rango)	p*	δ	Mdn	(Rango)	p*	δ	Mdn	(Rango)	p*	δ
<b>Medidas Espaciales</b>													
Brazos	T	119,89	129,62			127,1	102,27			102,27	102,27		
		(68,9-287,4)	(0-207,3)			(0-298,9)	(0-299,5)			(0-299,5)	(0-299,5)		
Cerrados	F	11,5	13,5			3	9			9	9		
		(1-16)	(0-20)			(0-29)	(0-30)			(0-30)	(0-30)		
	L	9,2	56,29			15,19	68,57 *			68,57 *	68,57 *		0,44
		(0,4-66,3)	(0,4-300)			(0,4-300)	(0,4-300)			(0,4-300)	(0,4-300)		0,44
Brazos	T	55,85	70,63			67,81	33,33			33,33	33,33		
		(6,4-110,2)	(0-261,7)			(0-297,7)	(0-289,4)			(0-289,4)	(0-289,4)		
Abiertos	F	5	7,5			2 *	2 *			2 *	2 *		0,05
		(1-11)	(0-16)			(0-13)	(0-20)			(0-20)	(0-20)		-0,39
	L	13,16	2,51			34,91	2,1			2,1	2,1		
		(0,4-152,9)	(0,4-300)			(0,3-300)	(0,7-300)			(0,7-300)	(0,7-300)		
	% F	37,65	41			30,95	13,33			13,33	13,33		
		(6,3-50)	(0-100)			(0-100)	(0-100)			(0-100)	(0-100)		
Plataforma	T	96,03	83,79			84,41	52,12			52,12	52,12		
		(6,2-179)	(24,4-155,9)			(1,2-207,1)	(0,6-287,6)			(0,6-287,6)	(0,6-287,6)		
Central	F	15,5	21,5			9	10			10	10		
		(2-27)	(10-27)			(1-42)	(1-30)			(1-30)	(1-30)		
Brazos	L	0,85	0,63			1,15	0,71			0,71	0,71		
		(0,4-12)	(0,4-5,6)			(0,3-80,4)	(0,4-17,9)			(0,4-17,9)	(0,4-17,9)		
<b>Medidas Etológicas</b>													
Unprotected	T	0,99	4,01			1,21	6,54			6,54	6,54		
		(0-11)	(0-9,2)			(0-11,6)	(0-16,5)			(0-16,5)	(0-16,5)		
Head-dipping	F	1	6			2	4			4	4		
		(0-11)	(0-10)			(0-15)	(0-16)			(0-16)	(0-16)		
(uHD)	L	27,41	18,65			82,85	4,91			4,91	4,91		
		(1,2-300)	(1,5-300)			(2,7-300)	(1-300)			(1-300)	(1-300)		
Protected	T	9,79	8,66			9,02	3,32 **			3,32 **	3,32 **		0,007
		(6,2-34,7)	(0-24,4)			(0-30)	(0-25,5)			(0-25,5)	(0-25,5)		-0,49
Head-dipping	F	10	10			11	4 *			4 *	4 *		0,019
		(4-23)	(0-21)			(0-25)	(0-23)			(0-23)	(0-23)		-0,42
(pHD)	L	24,95	33,22			16,13	65,02 *			65,02 *	65,02 *		0,012
		(0,6-191)	(0,4-300)			(0,5-300)	(0,3-300)			(0,3-300)	(0,3-300)		0,57

Tabla 9.1. (Continuación)

	Salino			5 mg/kg de MDEA			10 mg/kg de MDEA			20 mg/kg de MDEA		
	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ
<b>Medidas Etológicas</b>												
Protected	5,26 (1-18,7)			3,59 (0-20,4)			3,97 (0-21,9)			5,42 (0-21,1)		
Stretched	4			2			4			4		
Attend Posture (pSAP)	(1-8)			(0-12)			(0-9)			(0-17)		
L	26,51 (4,9-158,5)			82,94 (3,2-300)			64,15 * (15,3-300)	.015	0,56	73,34 * (10,4-300)	.011	0,58
Unprotected	2,48 (0-5,3)			0,83 (0-9)			0,55 (0-7,6)			0,05 * (0-2,5)	.025	-0,39
Stretched	2			1			1			1 *	.044	-0,36
Attend Posture (uSAP)	(0-3)			(0-6)			(0-5)			(0-2)		
L	135,25 (18,2-300)			108,05 (2,4-300)			76,98 (9,5-300)			299,95 (10,3-300)		
Vuelta a protegido	0 (0-4,8)			0 (0-8,9)			0,87 (0-11,9)			0 (0-5,9)		
F	0			0			1			0		
L	300 (13,7-300)			300 (46,4-300)			198,79 (14,2-300)			300 (13,4-300)		
Exploración vertical (Rearing)	5,24 (0-28,9)			0,93 * (0-10,3)	.012	-0,48	0 ** (0-1,4)	<.001	-0,66	0 * (0-11,6)	.011	-0,47
F ++	4			1 *	.015	-0,46	0 **	<.001	-0,66	0 *	.015	-0,44
L +	98,82 (4,9-300)			252,88 (9,8-300)			300 ** (4-300)	.004	0,62	300 * (3-300)	.029	0,48
Cond. no exploratoria	8,09 (0-26,4)			4,18 (0-51,7)			1,94 (0-29,7)			0 ** (0-7,9)	.001	-0,6
F	2			2			1			0 **	.005	-0,53
L	185,87 (45,7-300)			252,21 (101,5-300)			184,79 (86,7-300)			300 * (79,1-300)	.015	0,53

Parámetros de tiempo (T), frecuencia (F), porcentaje de frecuencia (%F) y latencia (L). Tamaño del efecto Cliff's Delta alto  $|\delta| > 0.50$   
 Test Kruskal-Wallis: † p<0.05; ††p<0.01. Test U de Mann-Whitney, diferencias respecto al grupo control salina: \* p<0.05; \*\* p<0.01.

### 9.2.1. Efectos del MDEA sobre las medidas espaciotemporales evaluadas en el test laberinto elevado en cruz.

En general, el análisis de Kruskal-Wallis no muestra diferencias significativas en las medidas espaciotemporales evaluadas. No obstante, se realizaron las comparaciones de cada grupo experimental con el control mediante el test U de Mann-Whitney (*Tabla 9.1*).

El grupo tratado con la dosis de 5 mg/kg de MDEA, no muestra diferencias significativas con el grupo control en ninguna de las medidas espaciotemporales evaluadas en el test del laberinto elevado en cruz. Los resultados indican una tendencia no significativa a aumentar el tiempo y la frecuencia en brazos abiertos, mientras que se retrasa la entrada en los brazos protegidos ( $p=0.054$ ) de forma muy cercana a la significación estadística.

El análisis de los grupos tratados con las dosis de 10 y 20 mg/kg de MDEA, indica que se reduce la frecuencia de entrada en los brazos abiertos del laberinto ( $F: p<.05; |\delta|>0.35$ ). Además, la dosis mayor de MDEA incrementa la latencia de entrada en los brazos protegidos del laberinto ( $L: p<.05; |\delta|>0.35$ ).

El análisis de la variabilidad mediante el test de Moses indica un aumento de la dispersión hacia datos extremos, con una amplitud observada y recortada significativa en conductas con un rango promedio no significativo en el test U de Mann-Whitney, tales como el porcentaje de entrada en brazos abiertos ( $p< 0.02$ ; todas las dosis), frecuencia y tiempo en brazos abiertos ( $p<.05-.02$ , dosis 10 y 20 mg/kg de MDEA, respectivamente), así como en frecuencia en brazos cerrados ( $p<.02$ ; dosis 10 y 20 mg/kg de MDEA).

### 9.2.2. Efectos del MDEA sobre las medidas etológicas evaluadas en el test laberinto elevado en cruz

En relación a los parámetros etológicos, el test de Kruskal-Wallis reveló que existen diferencias significativas en la distribución de rangos de los grupos, relativa a los parámetros de conducta exploratoria vertical ( $T: p<.01; F: p<.01; L: p<.05$ ), y tiempo acumulado en conductas no exploratorias tales como cuidado corporal e inmovilidad ( $T: p<.05$ ). En la *Tabla 9.1*, se muestran los valores de mediana con rangos para cada una de los parámetros y variables evaluados indicando su nivel de significación en la prueba U de Mann-Whitney. A continuación, se exponen los resultados más relevantes las medidas etológicas para los diferentes grupos experimentales.

La administración de la dosis menor de MDEA (5 mg/kg) reduce el tiempo y frecuencia empleados en la conducta exploratoria vertical (T-F:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ); sin que se aprecien alteraciones significativas en las conductas de riesgo (head-dipping y Stretched attitude posture) u otros parámetros, como así se muestra en la *Figura 9.1*.

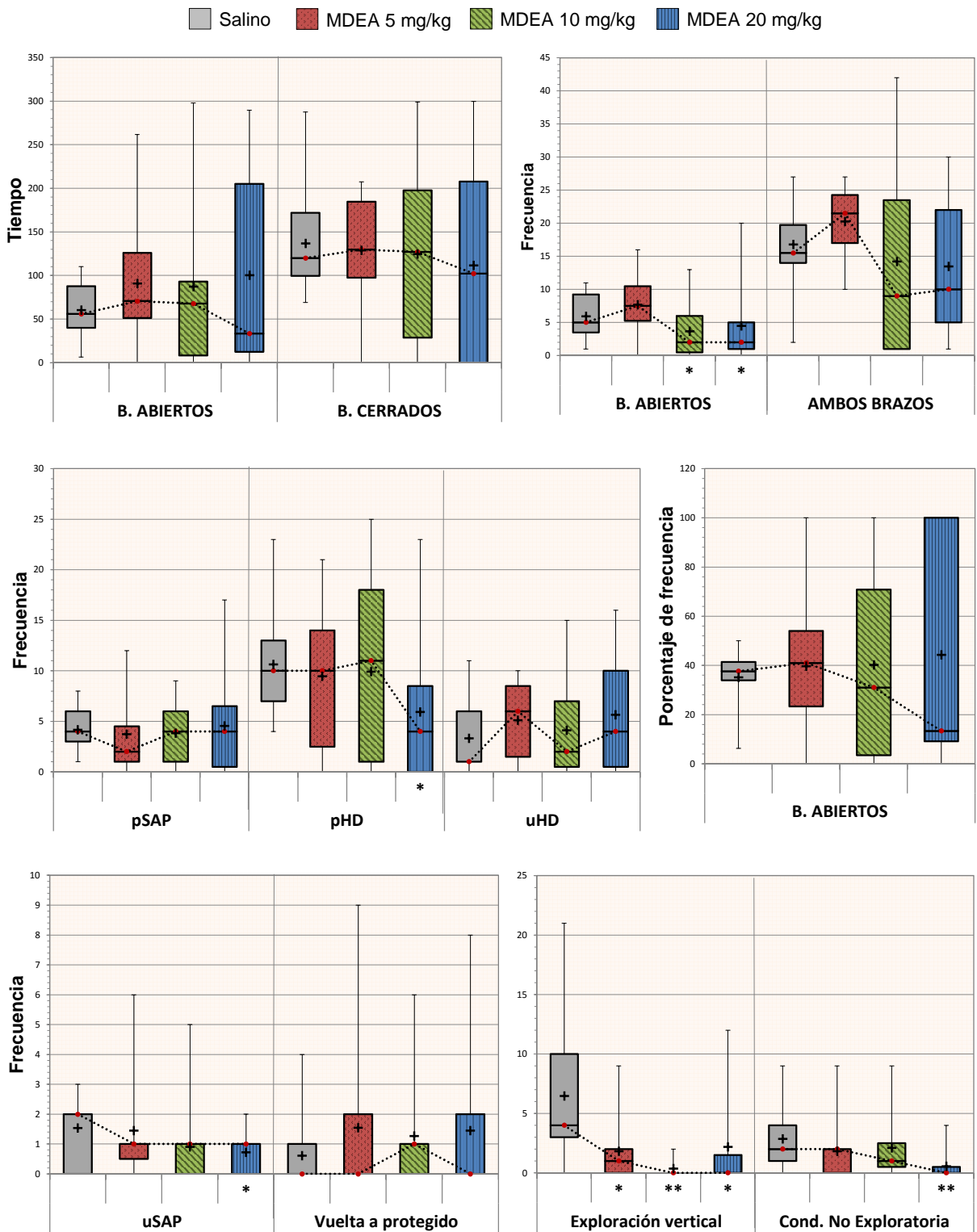
El grupo que recibió la dosis intermedia de MDEA (10 mg/kg) presenta reducción del tiempo acumulado y frecuencia de exploración vertical y un retraso de la latencia de esta conducta (T-F:  $p < .01$ , L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ). También produce un retraso o aumento de la latencia de la conducta de atención extrema o *Stretched attitude posture* en brazo protegido (pSAP; L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.50$ ), una conducta de riesgo que consiste en el estiramiento del cuerpo hacia delante manteniendo la posición de las patas traseras en los brazos protegidos o centro del laberinto, seguido del regreso a la postura original.

El grupo tratado con la dosis de 20 mg/kg de MDEA también presentan una reducción de la exploración vertical (T-F:  $p < .05$ , L:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ) y una retraso de la conducta SAP en brazos protegidos (pSAP; L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.50$ ), pero además se aprecian otros cambios significativos respecto al grupo control. La dosis mayor de MDEA reduce de forma potente la conducta no exploratoria (T-F:  $p < .01$ , L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.50$ ), la conducta SAP en área abierta (uSAP; T-F:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ) y las conductas de head-dipping en brazos protegidos (pHD; T:  $p < .01$ , F:  $p < .05$ , L:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ). La conducta de head-dipping en protegido consiste en la inclinación de la cabeza hacia el exterior por debajo del nivel del suelo del laberinto desde los brazos cerrados o el centro del laberinto.

El análisis de la variabilidad mediante el test de Moses indica un aumento de la dispersión hacia datos extremos con una amplitud observada y recortada significativa en el tiempo y frecuencia de la conducta de retorno a brazos protegidos ( $p < .02$ ; todas las dosis) y en la conducta de tiempo y frecuencia en head-dipping en brazos protegidos (T:  $p < .02$ ; dosis de 20 mg/kg de MDEA; F:  $p < .02$ , dosis de 10 y 20 mg/kg de MDEA).



**Figura 9.1. Medidas espaciales y etológicas en el test EPM tras la administración de MDEA**



Diferencias respecto al grupo control salina. Test U de Mann-Whitney: \* $p < .05$ ; \*\* $p < .01$





### 9.3. Discusión

En este experimento se ha evaluado el efecto de la administración aguda de tres dosis de MDEA (5, 10 y 20 mg/kg), sobre la conducta de ansiedad exhibida por ratones machos SWISS OF.1. Para ello se ha utilizado el modelo de ansiedad del laberinto elevado en cruz, un modelo ampliamente aceptado y que ha demostrado una buena validez para evaluar la ansiedad incondicionada en roedores ante estímulos naturales (Carobrez & Bertoglio, 2005; Haller & Alicki, 2012; Handley & Mithani, 1984; Hogg, 1996; Holmes et al., 2000; Lister, 1987; Pawlak et al., 2012; Pellow et al., 1985). Esta investigación se ha realizado con el objetivo de mejorar la comprensión del perfil conductual del MDEA y aclarar las posibles propiedades farmacológicas de este compuesto sobre la ansiedad, ya que en la actualidad no tenemos constancia de que se hayan realizado estudios conductuales sobre el MDEA en el test EPM, ni en ningún otro modelo animal de ansiedad.

En este modelo, se tienen en cuenta diferentes parámetros espaciales y etológicos que muestran una gran sensibilidad a posibles alteraciones en la ansiedad. Entre ellos, las medidas de tiempo, frecuencia y más aún, el porcentaje de frecuencia en los brazos abiertos del laberinto, así como la actividad de head-dipping en el área desprotegida (uHD), son índices conductuales robustos que correlacionan negativamente con el nivel de ansiedad. Mientras que las medidas conductuales de riesgo en las áreas protegidas (pHD y pSAP) parecen guardar una relación directa con la ansiedad que experimenta el sujeto (Brunner et al., 1999; Carola et al., 2002; Cruz et al., 1994; Espejo, 1997; Rodgers & Johnson, 1995).

Según estas premisas, el efecto del MDEA en la conducta exhibida en el laberinto elevado en cruz resulta bastante ambivalente. Las dosis de 10 y 20 mg/kg de MDEA reducen de forma discreta pero significativa la frecuencia de entrada de los brazos abiertos, indicando que el MDEA en dosis moderadas o altas podría producir un cierto estado ansiogénico (Brunner et al., 1999; Cruz et al., 1994; Espejo, 1997; Rodgers & Johnson, 1995). No obstante, la reducción de esta variable por una parte contrasta con la tendencia ascendente que se observa en el grupo tratado con la dosis menor de MDEA, y por otra parte, no se han hallado alteraciones en otros parámetros espaciales típicamente asociados a un efecto ansiogénico, como el porcentaje de frecuencia y el tiempo en brazos abiertos. Esto puede ser indicativo de que este efecto ansiogénico es relativamente débil,

en comparación con los resultados obtenidos anteriormente en el modelo de agresión. Teniendo en cuenta esto, resulta curioso que la dosis mayor de MDEA reduzca notablemente la conducta de head-dipping (pHD) y retrase ambas conductas de riesgo en los brazos protegidos (pHD y pSAP), alteraciones conductuales que suelen relacionarse con un menor nivel de ansiedad (Carola et al., 2002; Espejo, 1997), lo que sugiere que los resultados en este aspecto parecen ser en realidad poco concluyentes.

Sin embargo, resulta preciso indicar que tanto el tiempo como el porcentaje de entrada en los brazos abiertos, son parámetros que aumentan su variabilidad, de forma que muestran una dispersión significativa de los datos hacia valores muy extremos tanto altos como bajos, enmascarando el significado de las medidas de tendencia central (como la media o la mediana), además de dificultar la interpretación de conductas que dependen de la localización del animal en el laberinto. Por ejemplo, se da la situación de que el grupo tratado con la dosis mayor de MDEA muestra una reducción significativa de la frecuencia de entrada en el área abierta junto con una tendencia no significativa tanto a reducir la permanencia en este brazo, como a aumentar la actividad de head-dipping en el área no protegida (uHD); aspectos no significativos pero que resultan bastante incongruentes entre sí ya que no contemplan que la dispersión de la actividad en el brazo abierto aumenta de forma dosis dependiente.

Teniendo en cuenta esto, resulta de mayor interés señalar que la reducción de la conducta de riesgo “*Unprotected stretched attend posture*” (uSAP) que se aprecia con la dosis de 20 mg/kg de MDEA independientemente de la dispersión de los datos recogidos de permanencia en el área abierta, podría corresponder a dos perfiles conductuales diferenciados. Por una parte, la reducción de uSAP para los sujetos que muestran un tiempo de permanencia elevado en el área abierta parece indicar un cierto efecto ansiolítico, que no sería extensible a aquellos que presentan una reducción extrema del tiempo en los brazos desprotegidos. Es decir, la reducción de uSAP nos conduce a que algunos sujetos experimentan una reducción del nivel de conflicto que genera el modelo a la vez que puntúan alto en la permanencia en área abierta (menos conflicto en área abierta y menos ansiedad), mientras que por el contrario, en otros sujetos la reducción de la conducta uSAP podría deberse a un desplazamiento del conflicto desde las áreas abiertas a las protegidas (menos conflicto en área abierta y mayor ansiedad), lo que conductualmente también se reflejaría en un aumento de la conducta de retorno a

protegido. En este aspecto, el análisis de la conducta de retorno a brazo protegido no muestra signos evidentes de alteración en ninguno de sus parámetros, pero esta variable clave para interpretar el factor “conflicto” muestra una gran dispersión de los datos hacia valores extremos en todas las dosis, como también se observaba con el porcentaje de frecuencia en brazos abiertos a su vez clave en el factor “ansiedad” de este modelo. Por lo que a pesar de los resultados aparentemente no significativos en estas dos variables, la evaluación de ambos factores sugiere congruentemente que se pueden observar dos perfiles conductuales diferenciados tras la administración de la dosis mayor de MDEA. No obstante, la reducción discreta de la frecuencia en el área abierta sugiere que el efecto predominante de esta sustancia en el modelo EPM parece ser ansiogénico, a pesar de la elevada dispersión observada en variables muy sensibles al nivel de ansiedad y de conflicto.

Normalmente, los investigadores en conducta animal intentan evitar la varianza en sus resultados. Las desviaciones de la homogeneidad de los resultados o los valores atípicos (outliers) han sido a menudo evitados, omitidos o en el mejor de los casos tolerados en el informe final (Pawlak et al., 2012). Sin embargo, durante varias décadas el análisis sistemático de la variabilidad ha sido el objetivo de algunos investigadores de la conducta animal, estableciendo metodologías para evaluar los rasgos conductuales en animales y diferenciar entre congéneres de una determinada especie. En este contexto el “rasgo” se define como un patrón de conducta específica, que difiere entre individuos, pero que presenta una constancia relativa en el sujeto a lo largo del tiempo y en distintas situaciones. Por lo que este término se suele utilizar en la investigación conductual de forma equivalente a la “personalidad” en humanos (Pawlak et al., 2012). En relación con esto, y teniendo en cuenta la dispersión gradual que muestra una variable de ansiedad tan robusta como el porcentaje de frecuencia de entrada en el área abierta, podría resultar relevante examinar el efecto del MDEA en modelos genéticos de ratones que exhiban un perfil elevado o bajo de ansiedad rasgo. Ya que una posible explicación para estas diferencias es que el efecto de este fármaco dependa del nivel de ansiedad rasgo del individuo. Otra posible hipótesis de trabajo, sería que el MDEA podría estar alterando otra dimensión distinta a la que estamos evaluando, pero que a su vez interfiere en la conducta relacionada con la ansiedad. En este sentido, dado el incremento en la latencia de entrada en el área protegida así como en las actividades de riesgo en el área protegida,

sería por ejemplo interesante intentar dilucidar cómo influye el MDEA en la impulsividad del ratón. Una dimensión que se ha relacionado estrechamente con la conducta de ansiedad, sin que realmente se haya alcanzado un consenso en la naturaleza de esta relación (Pawlak et al., 2012).

Por otra parte, una alteración que sí resulta consistente en todas las dosis de MDEA, es la reducción de la exploración vertical (rearings). Estos resultados parecen ser congruentes con los pocos estudios disponibles sobre el perfil conductual de esta sustancia, los cuales sugieren un efecto hipoexploratorio debido principalmente a la reducción de la conducta de rearing, tanto con una dosis elevada de MDEA (20 mg/kg) en el test del campo abierto (junto a un aumento de la conducta estereotipada) (O'Loinsigh et al., 2001), como en un rango de MDEA inferior (3 y 10 mg/kg) en la conducta de ratas evaluada en el test BPM (Gold et al., 1989). Este último estudio es especialmente relevante por dos motivos, en primer lugar indica que el efecto hipoexploratorio se observa tanto por la reducción de la exploración vertical, como por la reducción de la conducta “holepokes” (Gold et al., 1989). En cierta forma, la conducta de holepokes es bastante similar a la de head-dipping, por lo que es posible que su reducción responda a un efecto hipoexploratorio más que ansiolítico. En segundo lugar, estos autores indican que el MDEA produce un efecto hipoexploratorio a la vez que aumenta la evitación del área central paradigma de conducta motora “*Behavioral Pattern Monitor*” (BPM), unos efectos conductuales que suelen observarse más comúnmente en drogas de tipo alucinógeno. Por lo que, teniendo en cuenta el efecto hipoexploratorio y la reducción de la conducta de entrada en los brazos abiertos del laberinto elevado en cruz, es posible que esta sustancia exhiba propiedades alucinógenas en ratones.

Otro aspecto importante relacionado con la reducción de la actividad exploratoria vertical, es que se ha descrito que podría constituir un indicio de déficit motor (Brunner et al., 1999; Carola et al., 2002; Cruz et al., 1994; Espejo, 1997). Sin embargo, esta hipótesis resulta poco probable debido a que también se observa una reducción de las conductas no exploratorias o estáticas, especialmente significativa con la dosis mayor de MDEA. Además, no se aprecian alteraciones en variables que se consideran sensibles a cambios motores como la frecuencia de entrada en ambos brazos, o la frecuencia total de conductas.

Este aspecto, los escasos estudios disponibles sobre los efectos locomotores del MDEA son bastante contundentes en la ausencia de un déficit motor, ya que o bien indican una ausencia de alteración motora en el test BPM “Behavioral Pattern Monitor” con dosis elevadas de MDEA (20 mg/kg) (Bexis & Docherty, 2006; Hegadoren et al., 1995); o bien, indican un efecto hiperlocomotor algo menor que el del MDMA en ratas sometidas tanto a un tratamiento agudo (3 y 10 mg/kg de MDEA) (Gold et al., 1988; 1989; Paulus & Geyer, 1992), o bajo un tratamiento subcrónico (8 dosis de 20 mg/kg, i.p., durante 4 días) (O’Loinsigh et al., 2001). Por lo que en conjunto, parece razonable descartar la influencia de un problema motor en la reducción en exploración vertical que se aprecia todos los grupos de tratamiento, y de forma específica en el grupo tratado con la dosis menor de MDEA.

Por lo que en conjunto, podemos concluir que de acuerdo con los estudios conductuales hasta el momento disponibles, el MDEA (5, 10, 20 mg/kg) parece provocar un estado de hipoexploración apreciable en todas las dosis evaluadas y especialmente con la dosis mayor, sin que se aprecien problemas a nivel motor. Los hallazgos obtenidos en este experimento no permiten dilucidar con claridad el efecto del MDEA sobre la conducta del ratón relacionada con la ansiedad; además no disponemos de estudios en modelos animales en los que se haya evaluado la acción del MDEA sobre la ansiedad, por lo que no podemos establecer comparaciones. No obstante, la dispersión hallada en algunos parámetros clave principalmente con dosis elevadas de MDEA, sugiere que podría haber dos perfiles conductuales diferenciados, de los cuales el de tipo ansiogénico parece ser predominante ya que a pesar de la elevada dispersión, se aprecia una reducción significativa de la frecuencia de entrada en los brazos abiertos.



## **10. EXPERIMENTO 5. Efectos de la administración de PMA sobre la conducta agonística en ratones**





## **10. EXPERIMENTO 5: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE PMA SOBRE LA CONDUCTA AGONÍSTICA EN RATONES MACHOS.**

El objetivo de este estudio ha sido analizar los efectos conductuales de la administración aguda de cuatro dosis de PMA (2, 4, 8, 12 mg/kg) sobre la conducta agonista en ratones machos de la cepa OF.1 en el modelo de agresión inducida por aislamiento. Este objetivo se divide a su vez en tres específicos: 1) Analizar los parámetros clásicos (tiempo, frecuencia y latencia) de las categorías conductuales descritas en el modelo, 2) Realizar un análisis de secuencias conductuales para examinar si existen diferencias en la estructura conductual global, especialmente en los patrones conductuales que conducen a las conductas agonísticas agresivas, y por último, 3) Analizar la evolución temporal de las conductas agonísticas agresivas en función del tratamiento administrado.

### **10.1. Procedimiento**

Para analizar el efecto del PMA sobre la conducta agonística, se utilizaron en este experimento un total de 128 ratones machos albinos de la cepa SWISS OF.1 (CRIFFA, Barcelona, España), la mitad de los cuales (64) se emplearon como animales experimentales, siendo el resto utilizado como oponentes anónimos. Para este experimento se tuvieron en cuenta tres grupos experimentales con una dosis creciente de PMA (2, 4, 8, 12 mg/kg), y un grupo control al cual se le administró suero salino. La administración aguda de estas sustancias se realizó vía intraperitoneal (i.p.) y de forma proporcional al peso del animal con un volumen constante de 10ml/kg.

### **10.2. Resultados**

#### **10.2.1. Análisis de los parámetros etológicos**

Se han evaluado los parámetros clásicos de tiempo acumulado, frecuencia y latencia, para cada una de las categorías conductuales del modelo de agresión inducida por aislamiento. En la Tabla 10.1, se muestran los valores de mediana con rangos para cada uno de los parámetros y variables evaluados mediante las pruebas no paramétricas H-Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney, con un criterio de significación estadística de  $p < .05$  para todas las pruebas.

**Tabla 10.1**

Valores de mediana con rangos de los parámetros asignados a las categorías conductuales agonísticas evaluadas en ratones machos después de la administración aguda de PMA (2, 4, 8 y 12 mg/kg) o salino, en el paradigma de agresión inducida por aislamiento

Cuidado corporal	2 mg/kg de PMA			4 mg/kg de PMA			8 mg/kg de PMA			12 mg/kg de PMA		
	Salino	Mdn (Rango)	p* δ	Mdn (Rango)	p* δ	Mdn (Rango)	p* δ	Mdn (Rango)	p* δ	Mdn (Rango)	p* δ	
T ++	8,78 (2,3-37)	11,06 (0-20,7)		14,31 (0-36,9)		3,87 ** (0-13,5)	.004	3,71 ** (0-37,4)	.004	3,71 ** (0-37,4)	.01	-0.54
F ++	6,5 (1-16)	5,5 (0-11)		6 (0-18)		1,5 ** (0-7)	<.001	2 ** (0-28)	<.001	2 ** (0-28)	.006	-0.58
L	203,66 (43,5-305,4)	172,13 (68-600)		212,58 (22,7-600)		346,78 ** (105,4-600)	.007	235,59 (42,1-600)	.007	235,59 (42,1-600)		0.58
Escharbar	16,07 (0-50,8)	1,27 ** (0-26,2)	.009	0 ** (0-8,1)	.002	0 ** (0-4,8)	<.001	0 ** (0-1,7)	<.001	0 ** (0-1,7)	<.001	-0.81
F ++	11 (0-29)	2 * (0-15)	.026	0 ** (0-5)	.001	0 ** (0-5)	.001	0 ** (0-2)	<.001	0 ** (0-2)	<.001	-0.81
L ++	188,24 (69,7-600)	388,24 (14,6-600)		600 ** (117,5-600)	.002	600 ** (95,2-600)	.004	600 ** (230,7-600)	.004	600 ** (230,7-600)	<.001	0.81
Exploración no social	357,43 (324,5-408,1)	438,96 ** (348,1-522,3)	<.001	444,58 ** (342,6-517)	<.001	438,32 ** (347,6-528,9)	<.001	462,4 ** (341,3-540,1)	<.001	462,4 ** (341,3-540,1)	.001	0.68
F +	69 (55-92)	60 * (35-72)	.02	59,5 * (39-71)	.015	53,5 ** (38-75)	.003	63 (37-75)	.003	63 (37-75)		-0.64
L	0 (0-27,4)	0 (0-0)		0 (0-0)		0 (0-1,3)		0 (0-0)		0 (0-0)		
Exploración a distancia	41,48 (8,4-61,1)	31,42 (9,5-71,8)		42,35 (16,2-86,6)		50,39 (22,6-101,3)		42,19 (5,9-113,8)		42,19 (5,9-113,8)		
L	8,31 (0-47,5)	3,91 (0,9-21,8)		7,96 (2,2-40,8)		14,07 (0-87,9)		6,85 (1,7-130)		6,85 (1,7-130)		
F	43,5 (11-66)	33,5 (16-53)		33 (18-49)		31,5 (25-69)		37 (10-60)		37 (10-60)		
Investigación social	40,59 (11,7-75,6)	86,71 ** (20-148,6)	.003	50,81 (11,8-137,5)	.003	26,49 (9,7-128,8)		34,15 (15,7-76,3)		34,15 (15,7-76,3)		
F +	14,5 (5-33)	26 ** (12-41)	.002	19 (5-36)	.002	13,5 (4-29)		20 (10-44)		20 (10-44)		
L	7,31 (2,7-28,8)	6,6 (3,3-19,9)		10,22 * (4-141,1)	.037	11,2 (4,2-236,3)	.046	8,89 (2,6-45)		8,89 (2,6-45)		

Tabla 10.1 (Continuación)

	Salino			2 mg/kg de PMA			4 mg/kg de PMA			8 mg/kg de PMA			12 mg/kg de PMA			
	Mdn	(Rango)	p*	δ	Mdn	(Rango)	p*	δ	Mdn	(Rango)	p*	δ	Mdn	(Rango)	p*	δ
Amenaza	T ++	112,79 (60,5-149,4)	<.001	-0.94	0 ** (0-84)	<.001	-0.97	0 ** (0-2,9)	<.001	-1	0 ** (0-4,7)	<.001	-1	0 ** (0-7)	<.001	-1
	F ++	77,5 (19-201)	<.001	-0.99	0 ** (0-28)	<.001	-0.99	0 ** (0-4)	<.001	-1	0 ** (0-7)	<.001	-1	0 ** (0-7)	<.001	-1
	L ++	59,23 (19-154,4)	<.001	0.79	600 ** (43,3-600)	<.001	1	600 ** (216,8-600)	<.001	1	600 ** (49,1-600)	<.001	1	600 ** (49,1-600)	<.001	0.9
Ataque	T ++	8,45 (0,2-36,3)	.001	-0.83	0 ** (0-48)	.001	-0.83	0 ** (0-0)	<.001	-1	0 ** (0-0)	<.001	-1	0 ** (0-0)	<.001	-1
	F ++	34,5 (1-162)	<.001	-0.97	0 ** (0-9)	<.001	-0.97	0 ** (0-0)	<.001	-1	0 ** (0-0)	<.001	-1	0 ** (0-0)	<.001	-1
	L ++	299,89 (53,2-530,1)	<.001	0.89	600 ** (350,7-600)	<.001	0.94	600 ** (600-600)	<.001	1	600 ** (600-600)	<.001	1	600 ** (600-600)	<.001	1
Evitación & huida	T ++	0,47 (0-4,3)	<.001	0.92	4,88 ** (2,5-21,2)	<.001	0.92	10,37 ** (5,9-24,1)	<.001	1	11,66 ** (2,7-33,4)	<.001	0.99	9,47 ** (3,9-58,7)	<.001	0.99
	F ++	0,5 (0-7)	<.001	0.9	6,5 ** (3-24)	<.001	0.9	12,5 ** (6-26)	<.001	0.99	14 ** (3-34)	<.001	0.94	16 ** (5-44)	<.001	0.98
	L ++	496,9 (3,7-600)	.001	-0.74	15,73 ** (4,7-143,9)	.001	-0.74	15,21 ** (3,2-80,9)	<.001	-0.81	38,89 ** (0,4-87)	<.001	-0.79	9,25 ** (0,8-184)	<.001	-0.73
Defensa & sumisión	T	0 (0-1,2)	0	0	0,25 (0-11,6)	0	0	0 (0-5,8)	0	0	1,55 ** (0-7,4)	.006	0,46			
	F	0 (0-2)	0	0	0,5 (0-7)	0	0	0 (0-6)	0	0	3 * (0-5)	.019	0,46			
	L	600 (4,3-600)	600	600	499,47 (53,6-600)	600	600	600 (51,6-600)	600	600	344,34 (7,7-600)	<.001	0,69			
Inmovilidad	T ++	0 (0-0)	0	0	14,63 ** (0-59,7)	.001	0.67	30,1 ** (0-89,4)	<.001	0.83	14,23 ** (0-103,9)	<.001	0.69			
	F ++	0 (0-0)	0	0	4,5 ** (0-12)	.001	0.67	5,5 ** (0-13)	<.001	0.83	3 ** (0-29)	<.001	0.69			
	L ++	600 (600-600)	600	600	348,36 ** (330,8-600)	.001	-0.67	353,95 ** (48,3-600)	<.001	-0.83	226,68 ** (3-600)	<.001	-0.69			

Parámetros de tiempo (T), frecuencia (F) y latencia (L). Tamaño del efecto Cliff's Delta alto  $|\delta| > 0.50$

Test Kruskal-Wallis: † p<.05; †† p<.01. Test U de Mann-Whitney, diferencias respecto al grupo control salino: \* p<.05; \*\* p<.01.

El test de Kruskal-Wallis indica que los grupos presentan diferencias significativas en los tres parámetros conductuales evaluados (T: tiempo acumulado, F: frecuencia y L: latencia). En concreto, existen diferencias en las categorías de amenaza, ataque, escarbar, evitación/huida e inmovilidad (T-F-L:  $p < .01$ ), cuidado corporal (T:  $p < .01$ ; F:  $p < .01$ ), exploración no social (T:  $p < .01$ ; F:  $p < .05$ ) e investigación social (T:  $p < .05$ ; F:  $p < .05$ ). Otras categorías conductuales tales como exploración a distancia y defensa/sumisión, no muestran diferencias significativas en este test para ninguno de los parámetros evaluados. El análisis U de Mann Whitney muestra diferencias significativas en diversos parámetros conductuales, entre el grupo control salina y cada una de las dosis de fármaco de PMA. En las *Figuras 10.1-10.5*, se pueden consultar las diferencias en los parámetros clásicos relativos a cada categoría conductual y grupo de tratamiento, las cuales se exponen a continuación. La dosis de 2 mg/kg de PMA produjo una reducción de la conducta agonística ofensiva indicada por la disminución del tiempo y frecuencia junto a un aumento de la latencia de las conductas de amenaza y ataque (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ), con un tamaño del efecto muy elevado (Cliff's Delta,  $|\delta| > 0.75$ ) y sin que se aprecie un efecto depresor de la locomoción. Además, la conducta de escarbar se reduce de forma significativa con un tamaño del efecto entre moderado y alto (T:  $p < .01$ , F:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ). Por otra parte, la dosis menor de PMA parece incrementar y adelantar las conductas agonísticas de evitación/huida (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.75$ ), en contraste y tan solo en esta dosis, se produce también un aumento de las conductas de investigación social (T-F:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ). No se aprecian diferencias significativas en las conductas de defensa/sumisión y exploración a distancia. Por último, la categoría de exploración no social experimenta un aumento importante del tiempo acumulado (T:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.75$ ), junto con una disminución moderada de su frecuencia (F:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ).

El grupo tratado con la dosis de 4 mg/kg de PMA muestra también reducción y retraso de la conducta agonística ofensiva de amenaza y ataque (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.75$ ), y de la conducta de escarbar (T-F:  $p < .01$ , L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ). Sin embargo, con esta dosis ya se aprecia un efecto depresor de la locomoción ya que se registra un aumento significativo de la inmovilidad (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ). Estos resultados se acompañan por un importante incremento y adelanto de la conducta agonística evitativa (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| \approx 1$ ), sin que se alteren los parámetros relacionados con la defensa/sumisión. Con esta dosis tampoco se aprecian diferencias en exploración a

distancia, y a diferencia de la dosis anterior, no aumenta la investigación social sino más bien se retrasa de forma moderada (L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.30$ ). Por último, la categoría de exploración no social experimenta un aumento importante del tiempo acumulado (T:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.75$ ), y una disminución de su frecuencia (F:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.50$ ).

Los resultados del tratamiento con la dosis de 8 mg/kg de PMA parecen indicar una reducción casi completa de la conducta agonística ofensiva de amenaza y ataque (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| = 1$ ) Al igual que en dosis inferiores, la conducta de escarbar se reduce de forma destacada (T-F:  $p < .01$ , L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ), y por primera vez la categoría de cuidado corporal disminuye (T-F:  $p < .01$ , L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ), ambas presentan una demora significativa en su aparición. En este grupo, sigue presente el efecto depresor de la locomoción con un tamaño del efecto elevado (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.75$ ). Por otra parte, los resultados indican de nuevo un aumento destacado y adelanto de la conducta de evitación/huida (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| \approx 1$ ). En este grupo de tratamiento, no se aprecian diferencias significativas en las categorías de defensa/sumisión, exploración a distancia ni en investigación social. Finalmente, la categoría de exploración no social experimenta un aumento importante del tiempo acumulado (T:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.75$ ), y una disminución su frecuencia (F:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.50$ ).

La administración de la dosis mayor de PMA (12 mg/kg) produjo resultados muy similares a la dosis anterior. Esta dosis de PMA produce una reducción casi completa de las conductas agonísticas ofensivas de amenaza y ataque (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| = 1$ ), así como también reduce las conductas de escarbar (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.75$ ) y cuidado corporal (T-F:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ). En este grupo, sigue presente el efecto depresor de la locomoción observado en dosis anteriores, pero con un tamaño del efecto menor (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ). También, se produce un aumento y adelanto significativo de las conductas de evitación/huida con un tamaño de efecto muy elevado (T-F:  $p < .01$ ; L:  $p < .01$ ;  $|\delta| \approx 1$ ), y por primera vez se incrementan las conductas de defensa/sumisión (T:  $p < .01$ ; F:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ). En relación a la conducta de exploración no social, ésta experimenta un aumento significativo en tiempo acumulado (T:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ) que es común en todas las dosis administradas de PMA.



### 10.2.2. Análisis de secuencias conductuales

Se ha analizado el parámetro de probabilidad de ocurrencia de las diadas conductuales, para valorar los posibles cambios en la estructura conductual de los ratones tras la administración de PMA (2, 4, 8 Y 12 mg/kg) en el test de agresión inducida por aislamiento.

En la Tabla 10.2 se presentan los datos significativos en el test U de Mann-Whitney, correspondientes a la probabilidad de ocurrencia de las diferentes categorías conductuales y sus diadas tras la administración de salina, MBDB o MDMA. En las Figuras 10.6-10.10), se ha representado gráficamente para cada grupo de tratamiento, los resultados de las diadas más relevantes ( $PO > 1\%$ ), indicando la probabilidad de ocurrencia de las conductas (círculos) y de sus diadas mediante el grosor de la flecha ( $PO_D$ : 1-5%, 5-10%, 10-20%). Los incrementos significativos ( $p < .05$ ) se muestran en rojo y las reducciones en azul, mientras que las conductas y diadas con una  $PO < 1\%$  que muestran diferencias significativas se han representado con una línea discontinua. A continuación se expone el patrón hallado en el grupo control, y se describen las diferencias halladas en función del tratamiento.

❖ *Grupo control tratado con suero salino.*

El análisis diádico del grupo control revela que en el repertorio conductual predominan las conductas de amenaza (AM 28.39%), exploración no social (ENS 26.89%), ataque (AT 14.60%) y exploración a distancia (EAD 13.54%). En este grupo, las transiciones más frecuentes son: “AT-AM” (14.60%) y “AM-AT” (14.54%), seguidas por “ENS-EAD” (13.54%), “AM-ENS” (9.84%) y “EAD-AM” (6.72%).

Las diadas con mayor probabilidad de ocurrencia muestran un patrón conductual agresivo muy activo de “amenaza↔ataque” ( $PO_C$ : 28.39%, PT: 0.51 y 1). Este patrón tiene conexión con conductas exploratorias (“EAD → AM → ENS”), de forma que aunque el antecedente principal de la amenaza sea el ataque, la conducta que inicialmente conduce a la amenaza suele ser la exploración a distancia. Además, las diadas que implican conductas agonísticas defensivas o de huida, apenas tienen representación en este grupo, todo ello de forma similar a lo observado en el grupo control de los experimentos anteriores.

**Tabla 10.2**

Valores de probabilidad de ocurrencia promedio ( $PO\bar{X}$ ) y probabilidad de transición (PT) correspondientes a las diadas de categorías conductuales evaluadas en ratones macho (precedente-consecuente), después de la administración aguda de PMA (2, 4, 8, 12 mg/kg) o salino.

PRECEDENTE	CONSECUENTE	Salino		2 mg/kg de PMA		4 mg/kg de PMA		8 mg/kg de PMA		12 mg/kg de PMA	
		$PO\bar{X}$	PT	$PO\bar{X}$	PT	$PO\bar{X}$	PT	$PO\bar{X}$	PT	$PO\bar{X}$	PT
Cuidado corporal	Exp. no social	2,35	0,85	3,48	0,90	3,76 *	0,82	1,06 *	0,82	2,45	0,88
Cuidado corporal	Amenaza	0,11	0,04	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0	0,00
Total de la categoría	Cuidado corporal	2,76	1,00	3,86	1,00	4,57	1,00	1,3 *	1,00	2,78	1,00
Escarbar	Exp. no social	3,50	0,89	2,31	0,91	0,69 **	0,92	0,31 **	0,87	0,11 **	1,00
Escarbar	Amenaza	0,16	0,04	0 *	0,00	0 *	0,00	0 *	0,00	0 *	0,00
Total de la categoría	Escarbar	3,91	1,00	2,53	1,00	0,74 **	1,00	0,36 **	1,00	0,11 **	1,00
Exp. no social	Cuidado corporal	2,48	0,09	3,32	0,08	4,23 *	0,10	1,21 *	0,03	2,36	0,06
Exp. no social	Escarbar	3,60	0,13	2,37	0,06	0,68 **	0,02	0,36 **	0,01	0,11 **	0,00
Exp. no social	Exp. a distancia	13,54	0,50	21,32 **	0,53	21,06 **	0,51	25,02 **	0,61	22,01 **	0,54
Exp. no social	Investigación social	2,06	0,08	9,74 **	0,24	6,57 *	0,16	5,8 **	0,14	8,26 **	0,20
Exp. no social	Amenaza	4,78	0,18	0,57 **	0,01	0,28 **	0,01	0 **	0,00	0,12 **	0,00
Exp. no social	Evitación/Huída	0,19	0,01	2,06 **	0,05	4,26 **	0,10	3,56 **	0,09	3,82 **	0,09
Exp. no social	Inmovilidad	0,00	0,00	0,18	0,00	3,24 **	0,08	4,32 **	0,11	3,59 **	0,09
Total de la categoría	Exp. no social	26,89	1,00	40,33 **	1,00	40,93 **	1,00	40,95 **	1,00	40,96 **	1,00
Exp. a distancia	Escarbar	0,13	0,01	0,06	0,00	0,06	0,00	0 *	0,00	0 *	0,00
Exp. a distancia	Exp. no social	6,00	0,38	10,98 **	0,47	11,9 **	0,51	16,26 **	0,57	13,45 **	0,54
Exp. a distancia	Investigación social	2,71	0,17	8,02 **	0,34	5,85 **	0,25	5,7 *	0,20	5,77 **	0,23
Exp. a distancia	Amenaza	6,72	0,42	0,92 **	0,04	0,55 **	0,02	0,17 **	0,01	0,2 **	0,01
Exp. a distancia	Evitación/Huída	0,17	0,01	2,82 **	0,12	4,4 **	0,19	5,6 **	0,20	4,56 **	0,18
Exp. a distancia	Defensa/Sumisión	0,03	0,00	0,34 *	0,01	0,45 *	0,02	0,49 *	0,02	0,48 **	0,02
Total de la categoría	Exp. a distancia	15,98	1,00	23,36 *	1,00	23,49 **	1,00	28,4 **	1,00	25,05 **	1,00



Tabla 10.2. (Continuación)

PRECEDENTE	CONSECUENTE	Salino		2 mg/kg de PMA		4 mg/kg de PMA		8 mg/kg de PMA		12 mg/kg de PMA	
		PO $\bar{X}$	PT	PO $\bar{X}$	PT	PO $\bar{X}$	PT	PO $\bar{X}$	PT	PO $\bar{X}$	PT
Investigación social	Exp. no social	4,24	0,64	15,74 **	0,83	11,3 **	0,84	9,31 *	0,77	12,62 **	0,86
Investigación social	Exp. a distancia	0,28	0,04	0,6	0,03	0,24	0,02	0,88 *	0,07	0,2	0,01
Investigación social	Amenaza	1,92	0,29	1,09 *	0,06	0,08 **	0,01	0,05 **	0,00	0,04 **	0,00
Investigación social	Evitación/Huída	0,19	0,03	1,1 **	0,06	1,42 **	0,11	1,55 **	0,13	1,41 **	0,10
Total de la categoría	Investigación social	6,65	1,00	18,95 **	1,00	13,46 **	1,00	12,03 *	1,00	14,75 **	1,00
Amenaza	Escarbar	0,15	0,01	0,05	0,02	0 *	0,00	0 *	0,00	0 *	0,00
Amenaza	Exp. no social	9,84	0,35	1,54 **	0,51	0,61 **	0,48	0,09 **	0,42	0,16 **	0,44
Amenaza	Exp. a distancia	1,86	0,07	0,1 **	0,03	0,2 **	0,16	0 **	0,00	0 **	0,00
Amenaza	Investigación social	1,68	0,06	0,62 **	0,21	0,09 **	0,07	0 **	0,00	0 **	0,00
Amenaza	Ataque	14,54	0,51	0,42 **	0,14	0,28 **	0,22	0 **	0,00	0 **	0,00
Total de la categoría	Amenaza	28,39	1,00	3 **	1,00	1,28 **	1,00	0,21 **	1,00	0,37 **	1,00
Ataque	Amenaza	14,60	1,00	0,42 **	1,00	0,32 **	0,89	0 **	0,00	0 **	0,00
Total de la categoría	Ataque	14,60	1,00	0,42 **	1,00	0,36 **	1,00	0 **	0,00	0 **	0,00
Evitación/Huída	Exp. no social	0,50	0,78	4,95 **	0,76	8,65 **	0,81	9,5 **	0,84	8,15 **	0,77
Evitación/Huída	Exp. a distancia	0,00	0,00	1,11 **	0,17	0,82 **	0,08	1,12 **	0,10	1,62 **	0,15
Evitación/Huída	Investigación social	0,07	0,12	0,3	0,05	0,74 **	0,07	0,36 *	0,03	0,38	0,04
Total de la categoría	Evitación/Huída	0,64	1,00	6,47 **	1,00	10,64 **	1,00	11,25 **	1,00	10,57 **	1,00
Defensa/Sumisión	Exp. no social	0,10	0,58	0,44	0,49	0,76	0,66	0,49	0,52	0,56 *	0,45
Defensa/Sumisión	Evitación/Huída	0,00	0,00	0,35 *	0,39	0,18	0,15	0,23	0,24	0,42 **	0,34
Total de la categoría	Defensa/Sumisión	0,18	1,00	0,89	1,00	1,15	1,00	0,93	1,00	1,24 *	1,00
Inmovilidad	Exp. no social	0,00	0,00	0,18	1,00	2,52 **	0,75	3,17 **	0,70	2,78 **	0,67
Inmovilidad	Exp. a distancia	0,00	0,00	0	0,00	0,52 *	0,16	1 **	0,22	1,01 *	0,24
Total de la categoría	Inmovilidad	0,00	0,00	0,18	1,00	3,38 **	1,00	4,56 **	1,00	4,17 **	1,00

Diferencias con respecto al grupo control salina, Test U-Mann-Whiney: \* p <.05; \*\* p <.01

❖ *Grupo tratado con 2 mg/kg de PMA.*

En el grupo tratado con la dosis menor de PMA las conductas con una probabilidad de ocurrencia mayor son muy distintas a las del grupo control, de forma que se muestra un aumento en las categorías de exploración no social (ENS [40.33%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ), exploración a distancia (EAD [23.36%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.50$ ), investigación social y evitación/huida (IS [18.9%], EH [6.5%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > .90$ ); mientras que se reducen con un tamaño del efecto muy alto ambas conductas agresivas (AM [3%], AT [0.42%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ). Las diadas agonísticas muestran las siguientes alteraciones:

- 1) Las conductas de amenaza y ataque se alteran de forma cuantitativa, pues las respectivas diadas precedentes y consecuentes son las mismas que las observadas en el grupo control y en general disminuyen junto a la conducta objetivo. Se observa reducción de las diadas formadas por conductas que preceden a la amenaza (IS [1.1%]:  $p < .05$ ; EAD [0.9%], ENS [0.6%], ataque [0.4%]:  $p < .01$ ) y diadas con conductas posteriores a la amenaza (ENS [1.5%], IS [0.6%], ataque [0.4%], EAD [0.1%]:  $p < .01$ ).
- 2) La estructura de las conductas agonísticas de evitación y defensivas se encuentra alterada de forma cualitativa, ya que se producen incrementos en diadas que no son representativas en el grupo control<sup>(c)</sup>. Estas diadas implican conductas exploratorias precedentes a la Evitación/huida (EAD [2.8%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| 1$ ; ENS [2.1%] y IS [1.1%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.70$ ), conductas posteriores a la Evitación/Huida (ENS [5%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.90$ , EAD [1.1%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.65$ ), conductas precedentes de la Defensa/sumisión (EAD [0.3%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.25$ ), conductas posteriores a la Defensa/sumisión (Evitación/huida [0.35%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| \approx 0.30$ ).

En este grupo son muy improbables los patrones observados en el grupo control. La diada más probable implica conductas exploratorias y junto a su inversa acumulan más del 30% del repertorio conductual (“ENS-EAD” [21.32%], “EAD-ENS” [10.98%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ), formando un patrón conductual muy activo “ENS↔EAD” (PO<sub>C</sub>: 40.3%, PT: 0.53-0.47), que puede derivar en conductas de interés opuesto como la investigación social (“ENS-IS” [9.7%], EAD-IS” [8%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.75$ ), y en menor medida, la evitación/huida [ $\approx 2\%$ ]. Todas las conductas exploratorias muestran cambios cualitativos, pues su incremento se produce, junto a la reducción de algunas de sus secuencias.

❖ *Grupo tratado con 4 mg/kg de PMA.*

Las categorías conductuales incrementadas respecto al grupo control son: exploración no social (ENS [40.9%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ), exploración a distancia (EAD [23.5%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ), la investigación social (IS [13.5%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > .60$ ), evitación/huida (EH [10.6%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| = 1$ ), y por primera vez la inmovilidad (INM [3.4%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ). Por otra parte, se reducen con un tamaño del efecto muy alto ambas conductas agresivas (AM [1.3%], AT [0.4%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ) y de escarbar (ESC [0.7%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ). Las diadas agonísticas muestran las siguientes alteraciones:

- 1) Se producen cambios cuantitativos en la estructura conductual de la amenaza y el ataque, cuyas diadas relacionadas se vuelven prácticamente inexistentes (<1%): diadas con conducta precedente a la amenaza (EAD[0.5%]:  $p < .05$ ; ataque[0.3%], ENS[0.3%], IS[0.1%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.90$ ) y diadas con conducta posterior a la amenaza (ENS[0.6%], ataque[0.3%], EAD[0.2%], IS[0.1%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.90$ ), así como las precedentes y posteriores a escarbar (ENS[0.7%]:  $p < 0.1$ ,  $|\delta| > 0.60$ ).
- 2) Por otra parte, el análisis muestra que la estructura de las conductas de evitación y defensa, se encuentran alterada de forma cualitativa, ya que se producen incrementos en diadas que no son representativas en el grupo control<sup>(c)</sup>. Estas diadas implican conductas exploratorias precedentes a la Evitación/huida (EAD [4.4%], ENS [4.3%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ; e IS [1.4%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.70$ ), posteriores a la Evitación/Huida (ENS [8.7%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| = 1$ ; EAD [0.8%], IS[0.7%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ) y precedentes a la Defensa/sumisión (EAD [0.4%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.25$ ),

En este grupo la diada más probable implica conductas exploratorias y junto a su inversa acumulan más del 30% (“ENS-EAD”[21.06%, “EAD-ENS”[11.90%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ), formando un patrón conductual muy activo “ENS↔EAD” (PO<sub>c</sub>: 40.9%, PT: 0.51-0.51), que puede derivar a su vez en investigación social (ENS-IS”[6.6%], “EAD-IS”[5.9%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ), pero también en menor medida en evitación/huida [≈4%], como se ha indicado anteriormente. Todas las conductas exploratorias muestran cambios cualitativos, pues su incremento se produce junto a la reducción de algunas de sus secuencias, pero también porque aumentan diadas hasta ahora no registradas relacionadas con la inmovilidad (“ENS-INM” [3.4%], “INM-ENS” [2.52%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ; “INM-EAD” [0.5%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.30$ ).

❖ *Grupo tratado con 8 mg/kg de PMA.*

En este grupo las categorías conductuales incrementadas respecto al grupo control son de nuevo: exploración no social (ENS [41%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ), exploración a distancia (EAD [28.4%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ), investigación social (IS [12%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| \approx 0.50$ ), evitación/huida (EH [11.2%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| = 1$ ) e inmovilidad (INM [4.5%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.80$ ). Por otra parte, se reducen con un tamaño del efecto muy alto ambas conductas agresivas especialmente el ataque que se anula completamente (AM [0.2%], AT [0%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ), la conducta de escarbar (ESC [0.7%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.70$ ) y el cuidado corporal (CC [1.3%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| \approx 0.50$ ). Se aprecian los siguientes cambios en las diadas agonísticas:

- 1) La estructura conductual de la agresión muestra cambios cuantitativos y cualitativos, ya que la amenaza no se precede de ataque, de exploración no social ni de investigación social; y el resto de secuencias precedentes y posteriores a la amenaza se encuentran muy reducidas (“EAD-AM” [0.17%], “AM-ENS” [0.1%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ).
- 2) Las conductas de evitación y defensa, se encuentran alteradas de forma cualitativa, ya que se producen incrementos en diadas que no son representativas en el grupo control<sup>(c)</sup>. Estas diadas implican conductas exploratorias precedentes a la Evitación/huida (EAD [5.6%], ENS [3.5%], IS [1.5%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ), posteriores a la Evitación/Huida (ENS [9.5%], EAD [1.1%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| = 0.60$ ; IS [0.4%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.30$ ) y precedentes a la Defensa/sumisión (EAD [0.4%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.25$ ).

En este grupo, la diada más probable implica conductas exploratorias y con su inversa acumulan más del 40% con un tamaño del efecto muy elevado (“ENS-EAD” [25.02%], “EAD-ENS” [16.26%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.90$ ), formando un patrón conductual muy activo “ENS↔EAD” (PO<sub>C</sub>: 41%, PT: 0.61-0.57), que puede derivar a su vez en investigación social “ENS-IS” [5.8%], “EAD-IS” [5.7%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.50$ ), y con una probabilidad similar en evitación/huida (“EAD-EH” [5.6%], “ENS-EH” [3.5%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ), como ya se ha indicado. Todas las conductas exploratorias muestran cambios cualitativos, pues su incremento se produce junto a la reducción de algunas de sus secuencias, y también porque aumentan diadas hasta ahora no registradas relacionadas con la inmovilidad (“ENS-INM” [4.3%], “INM-ENS” [3.2%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.80$ ; “INM-EAD” [1%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.50$ ).

❖ *Grupo tratado con 12 mg/kg de PMA.*

La dosis mayor de PMA produce cambios en el mismo sentido que dosis inferiores. Se aprecia un aumento de las categorías conductuales de exploración no social (ENS [41%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ), exploración a distancia (EAD [25%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ), investigación social (IS [14.8%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ), evitación/huida (EH [10.6%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| = 1$ ), inmovilidad (INM [4.2%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ) y por primera vez aumenta la probabilidad de ocurrencia de defensa/sumisión (DS [1.2%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| \approx 0.50$ ). Por otra parte, se reducen con un tamaño del efecto muy alto la conducta de escarbar (ESC [0.7%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.70$ ) y ambas conductas agresivas especialmente el ataque (AM [0.3%], AT [0%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ). Las diadas agonísticas presentan las siguientes alteraciones:

- 1) La estructura conductual de la agresión muestra cambios cuantitativos y cualitativos, ya que la amenaza no se precede de ataque, de exploración no social ni de investigación social; y el resto de secuencias precedentes y posteriores a la amenaza se encuentran muy reducidas (“EAD-AM” [0.2%], “AM-ENS” [0.2%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ).
- 2) Las conductas de evitación y defensa, se encuentran alteradas de forma cualitativa, ya que se producen incrementos en diadas que no son representativas en el grupo control<sup>(c)</sup>. Estas diadas implican conductas exploratorias precedentes a la Evitación/huida (“EAD-EH” [4.56%], “ENS-EH” [3.82%], “IS-EH” [1.41%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ), posteriores a Evitación/huida (“EH-ENS” [8.15%], “EH-EAD” [1.62%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ), precedentes a la Defensa/sumisión (EAD [0.5%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.30$ ) y posteriores a ésta (ENS [0.5%], EH [0.4%]:  $p < .05$ -.01 respectivamente,  $|\delta| > 30$ ).

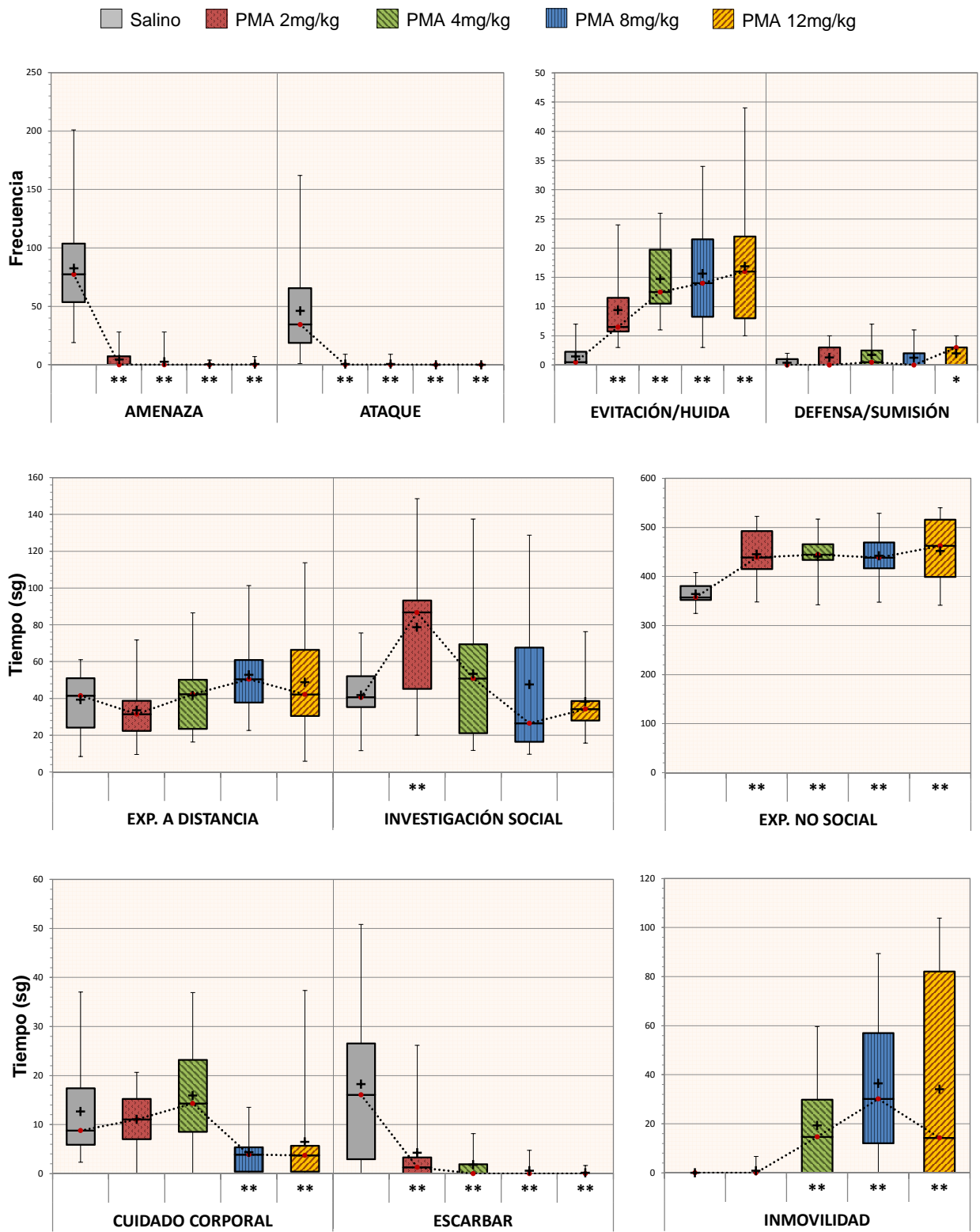
En este grupo, la diada más probable implica conductas exploratorias y con su inversa acumulan más un 35% con un tamaño del efecto elevado (“ENS-EAD” [22%], “EAD-ENS” [13.5%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.70$ ), formando un patrón conductual algo menos activo que con la dosis anterior “ENS↔EAD” (PO<sub>C</sub>: 41%, PT: 0.54-0.54), que puede derivar a su vez en investigación social (“ENS-IS” [8.26%], “EAD-IS” [5.77%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ), y con una probabilidad menor en evitación/huida (“EAD-EH” [4.56%], “ENS-EH” [3.82%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| \approx 1$ ). Todas las conductas exploratorias muestran cambios cualitativos, pues su incremento se produce junto a la reducción de algunas de sus secuencias, y también porque aumentan diadas hasta ahora no registradas relacionadas con la inmovilidad (“ENS-INM” [3.6%], “INM-ENS” [3.2%]:  $p < .01$ ,  $|\delta| > 0.60$ ; “INM-EAD” [1%]:  $p < .05$ ,  $|\delta| > 0.30$ ), con una probabilidad similar al grupo anterior.

### 10.2.3. Evolución temporal de la conducta ofensiva de ataque

Se ha realizado la prueba de independencia  $\chi^2$ -cuadrado, para analizar la asociación entre el tratamiento y el minuto de la prueba en el que se produce la conducta de ataque, en concreto se diferencia entre la primera parte de la prueba (0-5 minutos) y la segunda parte (5-10 minutos). En nuestro conjunto de datos, los grupos tratados con las dosis 8 y 12 mg/kg de PMA presentan una constante cero en el número de ataques realizados, por lo que no pueden incluirse en el análisis. Los resultados parecen indicar que existen diferencias significativas en la distribución temporal de la conducta de ataque en función del tratamiento [ $\chi^2$  (2, N=575)=6.432;  $p=.034$ ], por lo que ambas variables parecen estar relacionadas con un grado de asociación muy débil según el coeficiente de contingencia ( $C=0.105$ ;  $p=.034$ ). Sin embargo, la interpretación de esta prueba no está indicada debido a que más del 20% de las casillas presentan una frecuencia inferior o igual a cinco, por lo que no se cumple el mínimo de frecuencia requerido.

En conjunto, la gran reducción de la conducta de ataque tras la administración de cualquiera de las dosis de PMA (figura 10.7), no permite obtener conclusiones relevantes sobre la distribución de esta conducta. Además, a diferencia de lo observado en los experimentos 1 y 3, la distribución de ataques en el grupo control no es homogénea y se acumula principalmente en la segunda parte de la prueba.

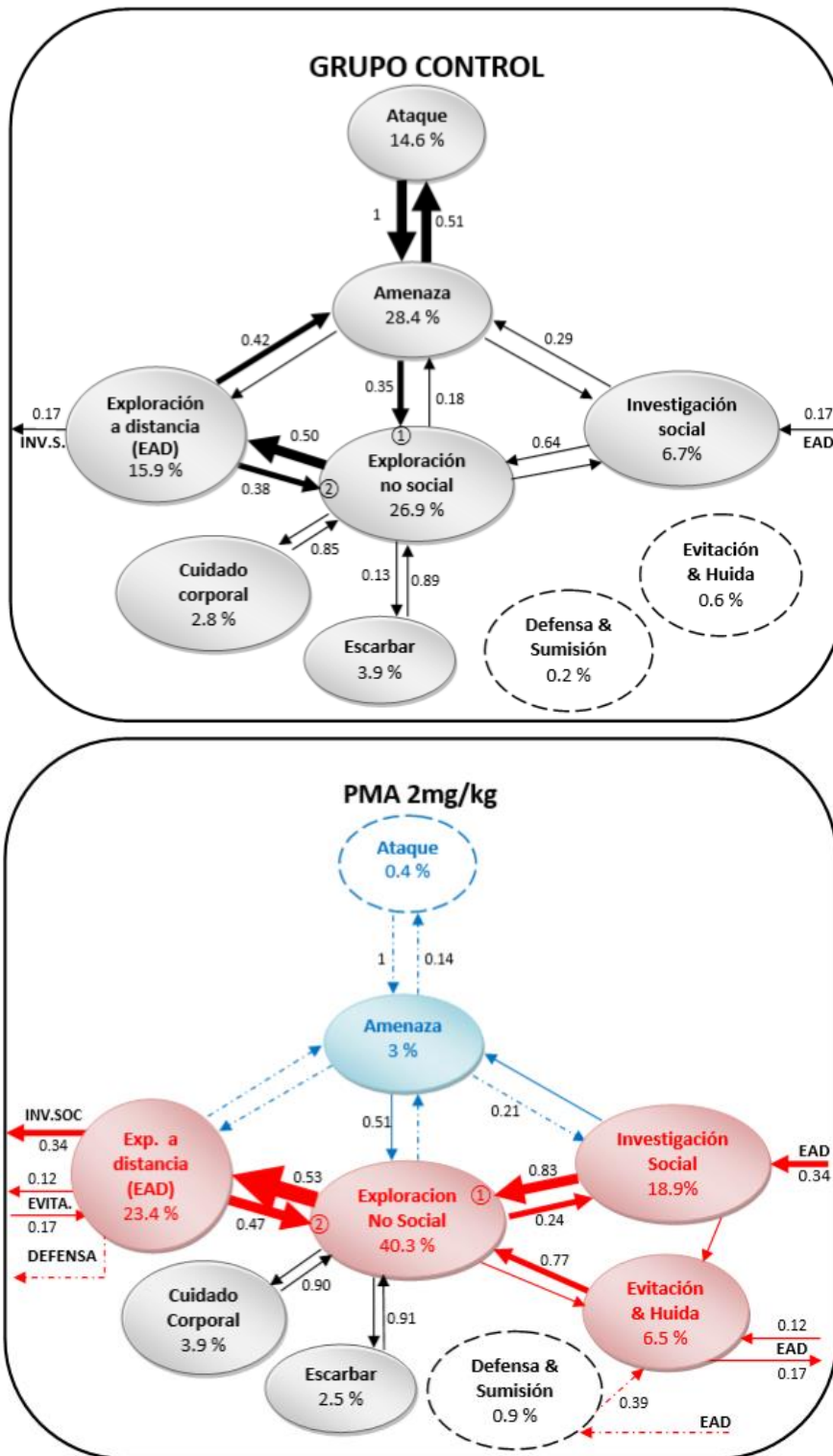
**Figura 10.1. Perfil conductual agonístico tras la administración de PMA.**



Diferencias respecto al grupo control salino. Test U de Mann-Whitney: \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$







Figuras 10.2 y 10.3. Mapa conductual del grupo control y del grupo tratado con la dosis de 2 mg/kg de PMA, donde se indica la probabilidad de ocurrencia de la conducta (interior del globo) y de la diada mediante el grosor de la flecha de línea continua (1-5%, 5-10%, 10-20% y >20%), así como la probabilidad de transición desde la conducta precedente a la consecuente (al lado de la flecha). Los incrementos significativos se indican en rojo y las reducciones en azul.







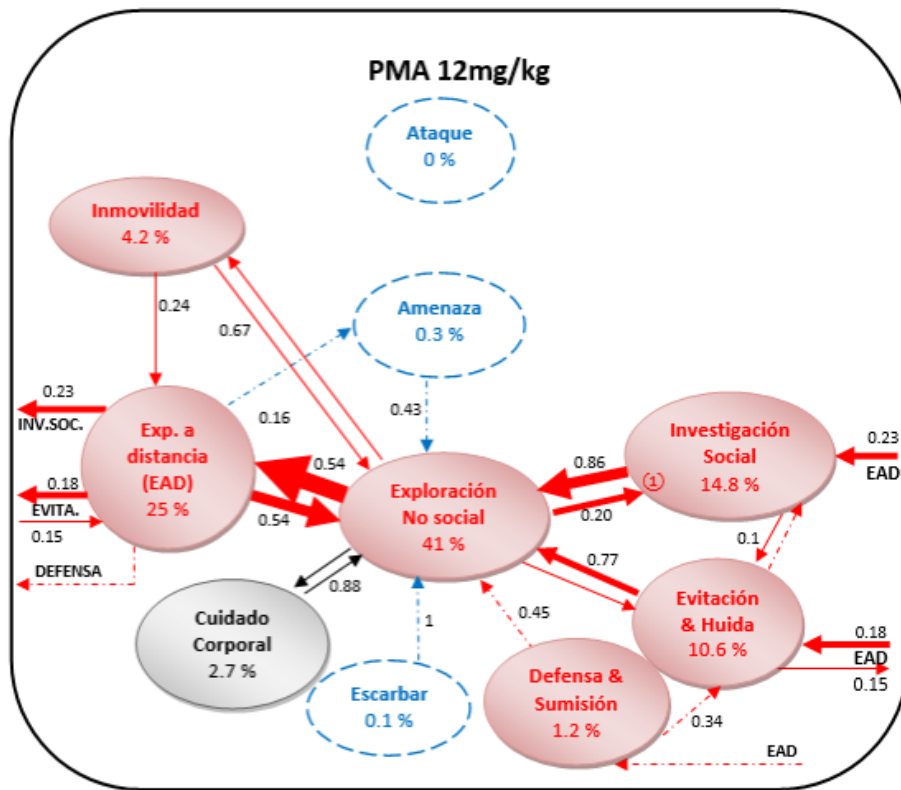


Figura 10.6. Mapa conductual del grupo tratado con la dosis de 12 mg/kg de PMA, donde se indica la probabilidad de ocurrencia de la conducta (interior del globo) y de la diada mediante el grosor de la flecha de línea continua (1-5%, 5-10%, 10-20% y >20%), así como la probabilidad de transición desde la conducta precedente a la consecuente (al lado de la flecha). Los incrementos significativos se indican en rojo y las reducciones en azul.

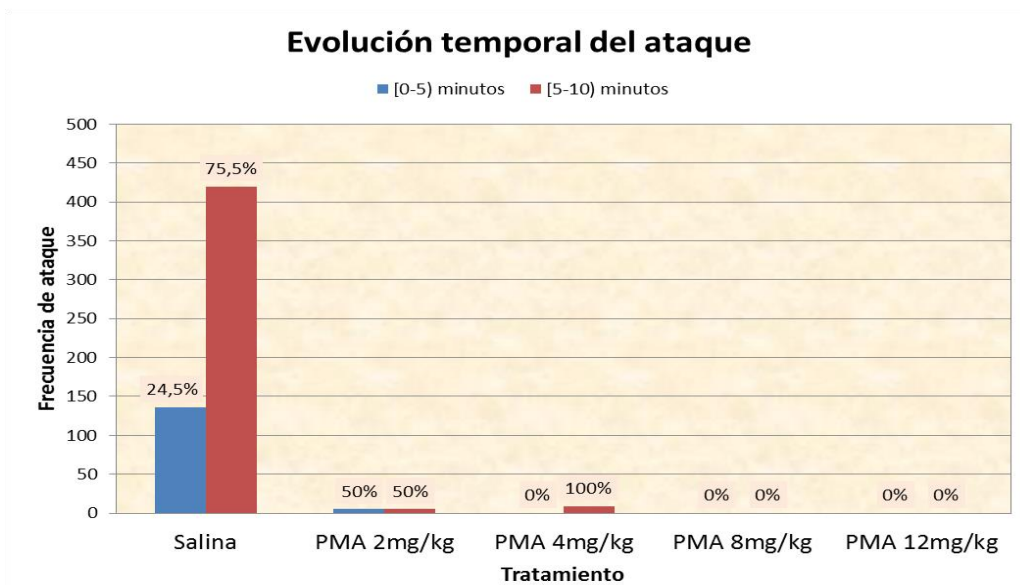


Figura 10.7. Frecuencia y porcentaje de frecuencia de ataques en la primera y segunda parte del test, en cada grupo de tratamiento.



### 10.3. Discusión

En este estudio se ha evaluado el efecto de la administración aguda de cuatro dosis de Parametoxianfetamina o PMA (2, 4, 8, 12 mg/kg), sobre la conducta agonística exhibida por ratones machos SWISS OF.1. Para ello se ha utilizado el modelo de agresión inducida por aislamiento, un modelo animal que permite analizar los componentes ofensivo y defensivo del comportamiento agonístico del ratón, además de otras conductas menos habituales pero también presentes durante el enfrentamiento con otro macho de su especie. Esta investigación evalúa el perfil conductual agonístico del PMA en ratones machos, lo que podría ayudar a aclarar las propiedades farmacológicas de este compuesto escasamente estudiado.

Los resultados indican que la administración aguda de PMA produce un efecto antiagresivo potente, ya que las conductas de amenaza y ataque se reducen abruptamente mostrando una mediana próxima a cero en todas las dosis. La conducta de ataque es realmente escasa con las dosis menores de PMA, tanto en la primera como en la segunda parte de la prueba; mientras que las dosis mayores anulan esta conducta por completo. Congruentemente, el análisis de secuencias muestra que la diada “amenaza ↔ ataque” pierde relevancia, pues estas secuencias pasan de representar conjuntamente alrededor del 30% en el repertorio conductual del grupo control, a menos del 1% en cualquiera de los grupos de tratamiento con PMA. No obstante, la conducta agonística ofensiva no experimenta cambios cualitativos, ya que las dosis moderadas o elevadas de PMA muestran un patrón precedente a la amenaza muy similar al del grupo control.

Aunque no disponemos de estudios previos sobre los efectos del PMA en la conducta agonística ofensiva, estos resultados indican que el PMA presenta una acción antiagresiva que podría ser incluso más potente que el de las otras sustancias RSAs evaluadas en la presente tesis, además de ser inespecífica. El PMA reduce consistentemente la conducta de escarbar, especialmente con las dosis mayores (4, 8 y 12 mg/kg). Asimismo, reduce notablemente la conducta de autocuidado o “grooming” solo con dosis elevadas de PMA (8 y 12 mg/kg), sin embargo, las dosis inferiores parecen mostrar una tendencia a incrementar el tiempo en esta conducta. En este sentido, otros estudios han descrito tanto la reducción de esta conducta con dosis de 8 mg/kg de PMA en rata (Bustamante et al., 2004), como la ausencia de cambios en la conducta de autocuidado con una dosis de PMA algo menor (40µm/kg; equivalente a 6.6 mg/kg); a diferencia de otras sustancias como la

MDMA, la metanfetamina o la cocaína que la reducen (Jaehne et al., 2007). Aunque estos estudios en ratas resulten contradictorios entre sí, ambos podrían guardar cierta coherencia con los resultados que hemos obtenido en ratones, ya que tan solo se observa una reducción de la conducta de grooming a partir de una dosis de 8 mg/kg de PMA.

El comportamiento de autocuidado como lamer la piel y el pelaje son típicos en animales que no pueden sudar (Jaehne et al., 2007), por lo que se ha sugerido que las variaciones en esta conducta podrían reflejar alteraciones en la termorregulación del sujeto. En este sentido, existen evidencias de que el PMA produce una respuesta de hipertermia aguda (Hewton et al., 2007; Menon et al., 1976; Nichols et al., 1975; Stanley et al., 2007). Sin embargo, aunque tanto el PMA como el MDMA elevan la temperatura corporal de forma semejante en un rango de dosis amplio (4-80  $\mu\text{mol/kg}$ ), las ratas tratadas con PMA tienden a permanecer preferentemente en ambientes templados, por lo que se ha sugerido que las conductas básicas de regulación de temperatura que implican desplazamiento, tales como la búsqueda o exploración de lugares frescos podrían encontrarse alteradas (Jaehne et al., 2005; Jaehne et al., 2007; Jaehne, 2010; Stanley et al., 2007). De acuerdo con esto, una posible explicación para los resultados obtenidos es que la conducta de “*grooming*” pueda actuar como mecanismo compensatorio de regulación de la temperatura a dosis bajas de PMA; mientras que una dosis elevada de esta sustancia podría suponer un compromiso más severo de la termorregulación. Además, se ha descrito que la dosis de 8 mg/kg de PMA produce un efecto antinociceptivo en la rata, es decir, inhibe el procesamiento de estímulos potencialmente dañinos (Bustamante et al., 2004), por lo que es posible que el sujeto no ponga en marcha mecanismos conductuales de autorregulación de la temperatura, debido a una baja sensibilidad a estímulos tanto interoceptivos como externos indicadores de un nivel de temperatura aversivo. En este sentido, la alteración de los procesos sensoriales parece ser coherente con los efectos alucinógenos que se han descrito tras la ingesta de PMA en humanos (Shulgin et al., 1969), así como en ratas, perros y monos (Beaton et al., 1968; Davis et al., 1978; Smythies et al., 1967; Winter, 1994).

Por otra parte, nuestros resultados indican que determinadas dosis de PMA (4, 8 y 12 mg/kg) aumentan el nivel de inmovilidad de los ratones, por lo que esta sustancia podría tener un cierto efecto sedante a nivel motor. No obstante, si bien ésta es una explicación posible para la reducción de todas estas conductas citadas anteriormente



(amenaza, ataque, escarbar y autocuidado), hemos podido comprobar en experimentos anteriores que otras feniletilaminas entactógenas producen igualmente una reducción de estas conductas sin que exista un déficit motor, por lo que dichas alteraciones no tendrían por qué guardar una relación causal entre sí. De hecho, la mayoría de los estudios disponibles sobre los efectos motores del PMA, parece indicar que esta sustancia ejerce un efecto hiperlocomotor en ratas más bien modesto en comparación con el “éxtasis” (Daws et al., 2000; Jaehne et al., 2005; Romero et al., 2006); o bien, que no produce alteración motora en ratas (Bustamante et al., 2004; Hegadoren et al., 1995; Martin-Iverson et al., 1991), o en ratones (Glennon et al., 1988; Hitzemann et al., 1971). No obstante, hay constancia de que en ratones albinos ICR tanto agrupados como aislados, el PMA (10 mg/kg) podría provocar déficits considerables en la conducta motora, al contrario que el incremento hallado con MDMA o con d-anfetamina (Hatoum & Davis, 1978).

Sin embargo, aunque en este estudio el tratamiento con PMA (4, 8, 12 mg/kg) aumente la inmovilidad del ratón, el análisis de secuencias indica que esta conducta representa entre un 3.3-4.5%, por lo que no parece muy representativa del comportamiento del sujeto durante la prueba. De hecho, tanto con la dosis menor de PMA (2 mg/kg) como con aquellas que muestran un aumento de la inmovilidad (4, 8 y 12 mg/kg), se observa un incremento significativo de otra serie de conductas del repertorio conductual que requieren de un cierto nivel de activación motora, tales como las conductas exploratorias y las defensivas.

En concreto, la dosis de 2 mg/kg de PMA produce un aumento del tiempo y frecuencia de las conductas de investigación social, que no se mantiene al aumentar la dosis, lo que sugiere que el efecto entactógeno del PMA podría ser apreciable tan solo a dosis muy bajas. En contraste, se aprecia un aumento de las conductas de evitación y huida con todas las dosis de PMA, así como un aumento del tiempo empleado en exploración no social. Estos resultados sugieren que una dosis baja de PMA es capaz de inducir un conflicto de aproximación-evitación social, de forma similar a lo observado con dosis moderadas de MDEA (5-10 mg/kg).

Conforme se incrementa la dosis de PMA (4, 8, 12 mg/kg) ganan relevancia las conductas de exploración no social y de evitación del oponente, mientras que la dosis más

alta de PMA aumenta además las conductas de defensa y sumisión; estas alteraciones conductuales parecen ser indicadores de que el PMA provoca en el ratón un estado predominantemente ansiogénico (Brain et al., 1991; Maldonado & Navarro, 2001b). En el análisis de secuencias del PMA, el aumento de la probabilidad de transición “IS-EH” (PTc: 3%; PT<sub>PMA</sub>: 6%, 11%, 13% y 10 %) no es tan evidente como el nivel de conflicto que produce el fármaco MDEA. Sin embargo, la probabilidad de transición desde exploración a distancia “EAD-EH” (PTc: 1%; PT<sub>PMA</sub>: 12%, 19%, 20% y 18 %) es mayor en todas las dosis. El hecho de que el animal evite cuando mantiene contacto visual supone una evitación anticipada de que se produzca contacto físico, por lo que el estado ansiogénico que produce el PMA podría ser incluso mayor al de otras sustancias evaluadas. Además, estas alteraciones cualitativas del repertorio conductual del ratón, también parecen apuntar a que el conflicto de aproximación-evitación se intensifica con la administración de dosis elevadas de PMA.

En conclusión, el PMA muestra un efecto antiagresivo no específico en ratón, acompañado de una reducción muy notable de la conducta de autocuidado que se observa tan solo a partir de la dosis de 8 mg/kg de PMA, y que podría estar relacionada con las alteraciones de la termorregulación conductual y el efecto hipertérmico que se ha constatado para esta sustancia. El débil efecto sedante a nivel motor, resulta acorde con un estudio realizado también en ratones albinos; sin embargo, no es congruente con la mayoría de los estudios sobre los efectos motores de esta sustancia en ratas y ratones (Bustamante et al., 2004; Daws et al., 2000; Glennon et al., 1988; Hegadoren et al., 1995; Hitzemann et al., 1971; Jaehne et al., 2005; Martin-Iverson et al., 1991; Romero et al., 2006). Además, el PMA parece inducir un aumento de las conductas de investigación social con la dosis menor, un aumento de la evitación y de la exploración no social en todas las dosis, y un aumento de la defensa/sumisión con la dosis mayor. Estas alteraciones parecen indicar un incremento del conflicto de aproximación-evitación y reflejan posiblemente un estado ansiogénico en el ratón.

## **11. EXPERIMENTO 6: Efectos de la administración de PMA sobre la ansiedad evaluada en el test del laberinto elevado en cruz en ratones**



## **11. EXPERIMENTO 6: EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE PMA SOBRE LA ANSIEDAD EVALUADA EN EL TEST DEL LABERINTO ELEVADO EN CRUZ EN RATONES MACHOS.**

El objetivo de este experimento fue examinar los efectos de la administración aguda de MDEA sobre la ansiedad evaluada en ratones machos mediante la prueba conductual del “laberinto elevado en cruz”.

### **11.1. Procedimiento**

Para realizar este experimento se utilizaron un total de 48 ratones machos albinos de la cepa SWISS-OF.1 (CRIFFA, Barcelona, España), con un rango de peso inicial de entre 25-30 g. Tras su llegada fueron alojados en jaulas en grupos de cinco y se mantuvieron unas condiciones ambientales óptimas y controladas (véase apartado metodología). En este estudio se tuvieron en cuenta tres grupos experimentales con una dosis creciente de PMA (4, 8 y 12 mg/kg), y un grupo control al cual se le administró suero salino. La asignación de los animales a los distintos grupos se realizó de forma aleatoria y la administración aguda de estas sustancias se realizó vía intraperitoneal (i.p.) y de forma proporcional al peso del animal con un volumen constante de 10ml/kg.

### **11.2. Resultados**

En la Tabla 11.1, se muestran los valores de mediana con rangos en cada una de las medidas espaciotemporales y etológicas evaluadas en ratones machos que realizaron el test del laberinto elevado en cruz, tras la administración aguda de PMA (4, 8 y 12 mg/kg) o suero salino. Los parámetros que se han evaluado para cada medida han sido tiempo acumulado (T), frecuencia (F) y latencia (L). Además, para la medida espaciotemporal de brazo abierto se ha evaluado el porcentaje de entrada en brazo no protegido respecto al total de entradas en brazos. Los datos recogidos no cumplían los criterios de normalidad y homocedasticidad, por lo que se han analizado mediante las pruebas no paramétricas H-Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney, con un criterio de significación estadística de  $p < .05$ . A continuación se exponen los resultados para cada categoría conductual y grupo de tratamiento.

**Tabla 11.1**

Valores de mediana con rangos de los parámetros asignados a las medidas espaciotemporales y etológicas evaluadas en ratones machos, después de la administración aguda de PMA (4, 8 y 12 mg/kg) o suero salino, en el test del laberinto elevado en cruz (EPN).

	Salino			4 mg/kg de PMA			8 mg/kg de PMA			12 mg/kg de PMA		
	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ	Mdn (Rango)	p*	δ
<b>Medidas Espaciales</b>												
Brazos Cerrados	126,88 (82,4-168,7)			162,32 (0-246,8)			191,46 (42,4-267,2)			150,41 (55,5-296,7)		
T	12			9 *	.032	-0,45	12			6 **	.001	-0,73
F ++	(9-16)			(0-21)			(3-22)			(1-24)		
L	54,35 (0,7-109,7)			2,51 (0,4-300)			32,55 (0,5-80,4)			17,74 (0,4-85,8)		
Brazos Abiertos	33 (18,8-136,1)			23,32 * (0-154,8)	.029	-0,47	13,64 * (0-172,7)	.014	-0,55	29,13 (0-140,8)		
T	4			2 *	.039	-0,43	2			1,5		
F	(1-16)			(0-7)			(0-12)			(0-11)		
L	3,58 (0,3-47,3)			63,03 * (0,8-300)	.025	0,48	4,9 (0,5-300)			39,25 * (0,8-300)	.024	0,48
% F	26,67 (10-55,2)			19,32 (0-100)			14,29 (0-52,2)			15,76 (0-69,2)		
Plataforma Central	124,21 (75,3-160,7)			116,65 (50,4-156,8)			78,46 (23,9-244)			84,12 (3,3-228,8)		
Ambos Brazos	17 (10-29)			10,5 * (4-22)	.04	-0,43	19 (4-28)			10 ** (1-29)	.003	-0,67
T	3,35			1,05			1,38			2,89		
L	(0,3-47,3)			(0,4-20,1)			(0,5-63,1)			(0,4-20,9)		
<b>Medidas Etológicas</b>												
Unprotected	1,21 (0-8,5)			0,55 * (0-4,7)	.037	-0,44	0,55 (0-6)			2,18 (0-16,6)		
T	3			1 *	.029	-0,46	1			3,5		
Head-dipping (uHD)	(0-12)			(0-9)			(0-7)			(0-25)		
L	7,42 (2,2-300)			155,29 * (2,3-300)	.034	0,45	100,16 * (2,6-300)	.05	0,41	94,1 * (2,5-300)	.026	0,48
Protected	6,18 (0,7-14,9)			7,95 (0,6-29,5)			4,96 (0,5-21,2)			6,41 (0-16,8)		
T	9			9,5			7			9		
Head-dipping (pHD)	(1-16)			(1-24)			(1-22)			(0-29)		
L	10,84 (0,4-56)			25,96 (0,6-198,4)			22,19 * (1,2-147,3)	.049	0,42	60,86 * (0,6-300)	.016	0,53

Tabla 11.1 (Continuación)

	Salino			4 mg/kg de PMA			8 mg/kg de PMA			12 mg/kg de PMA		
	Mdn	(Rango)	p*	Mdn	(Rango)	p*	Mdn	(Rango)	p*	Mdn	(Rango)	p*
<b>Medidas Etológicas</b>												
Protected	11,73	(2-26)	.022	27,16 *	(2,9-90,6)		14,64	(5,9-50,3)		9,77	(0,6-46,5)	
Stretched Attend Posture (pSAP)	9	(2-18)		14,5	(3-26)	.036	14 *	(5-35)	0,45	8	(1-27)	
	9,4	(1,2-43,7)		14,52	(2,3-51)		24,04	(1,8-70,5)		9,21	(0,7-128,1)	
Unprotected	5,36	(0-19,5)	.049	1,77 *	(0-21,5)		0,94	(0-20,9)		1,6	(0-18,7)	
Stretched Attend Posture (uSAP)	4	(0-14)		1	(0-16)		1	(0-21)		1,5	(0-19)	
	16,76	(2,8-300)		93,88	(2,3-300)		86,23	(1,5-300)		111,88	(4,2-300)	
Vuelta a protegido	0	(0-2,2)	.042	1,79 *	(0-9,1)		1,6	(0-10,1)		0,91	(0-13,2)	
	0	(0-3)		2,5	(0-12)		2	(0-14)		1,5	(0-21)	
	300	(53-300)		136,96	(11,7-300)		178,1	(21,7-300)		219,13	(17,7-300)	
Exploración vertical (Rearing)	6,48	(0-35,1)	.003	0,88 **	(0-13,6)	.004	0,71 **	(0-12,2)	-0,65	6,13	(0-31,4)	
	6	(0-25)		1 **	(0-12)	.005	1 **	(0-9)	-0,63	8,5	(0-29)	
	112,01	(1-300)		216,81	(7,5-300)		215,47	(11,8-300)		47,97	(4,2-300)	
Cond. no exploratoria	0	(0-30)		2,15	(0-58)		0	(0-9,5)		0	(0-56)	
	0	(0-7)		1	(0-10)		0	(0-2)		0	(0-10)	
	300	(44,9-300)		235,43	(102,3-300)		300	(149,3-300)		300	(39,1-300)	

Parámetros de tiempo (T), frecuencia (F), porcentaje de frecuencia (%F) y latencia (L). Tamaño del efecto Cliff's Delta alto  $|\delta| > 0.50$   
 Test Kruskal-Wallis: † p<.05; ††p<.01. Test U de Mann-Whitney, diferencias respecto al grupo control salina: \* p<.05; \*\*p<.01.

### 11.2.1. Efectos del PMA sobre las medidas espaciotemporales evaluadas en el test laberinto elevado en cruz.

El análisis de las medidas espaciotemporales mediante el test de Kruskal-Wallis indica que entre los grupos existen diferencias significativas en la frecuencia de entrada en los brazos cerrados del laberinto ( $p < .01$ ) y en la frecuencia total de entradas en cualquiera de los brazos ( $p < .05$ ). En la Figura 11.1, se exponen en concreto cuales son las diferencias de cada grupo experimental respecto al grupo control, en cada una de las medidas espaciotemporales evaluadas mediante el test no paramétrico U de Mann-Whitney.

El grupo tratado con la dosis de 4 mg/kg de PMA muestra una reducción del tiempo y frecuencia con aumento de latencia de entrada en brazos abiertos (T-F:  $p < .05$ , L:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ). Además, disminuye la frecuencia de entrada en los brazos protegidos (F:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ), y el número total de entradas en cualquier brazo (F:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ).

Tras el análisis del grupo tratado con la dosis de 8 mg/kg de PMA, se observa en la misma línea que el grupo anterior, una reducción significativa del tiempo acumulado en los brazos abiertos del laberinto (T:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.50$ ), sin embargo no se producen diferencias significativas en otros parámetros conductuales.

Por último, los resultados indican que la dosis de 12 mg/kg de PMA reduce la frecuencia de entrada en brazos abiertos e incrementa de su latencia (F:  $p < .01$ ; L:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx > 0.50$ ), y además reduce del número total de entradas en los brazos del laberinto (F:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ).

En todas las dosis de PMA, los resultados del test de Moses indican un incremento significativo general de la variabilidad de los parámetros de tiempo acumulado en brazos abiertos (4 y 12 mg/kg de PMA, T:  $p < .05$ ; 8 mg/kg de PMA, T:  $p < .01$ ), así como de tiempo y frecuencia en brazos protegidos (todas las dosis de PMA, T-F:  $p < .01$ ), con una dispersión de los datos hacia valores extremos altos y bajos.

Efectos del PMA sobre las medidas etológicas evaluadas en el test laberinto elevado en cruz

El análisis de las medidas etológicas mediante el test de Kruskal-Wallis indica que existen diferencias significativas en el tiempo y frecuencia empleados en exploración vertical (T:  $p < .05$ ; F:  $p < .01$ ). A continuación, se exponen los resultados hallados en las medidas etológicas para los diferentes grupos experimentales.

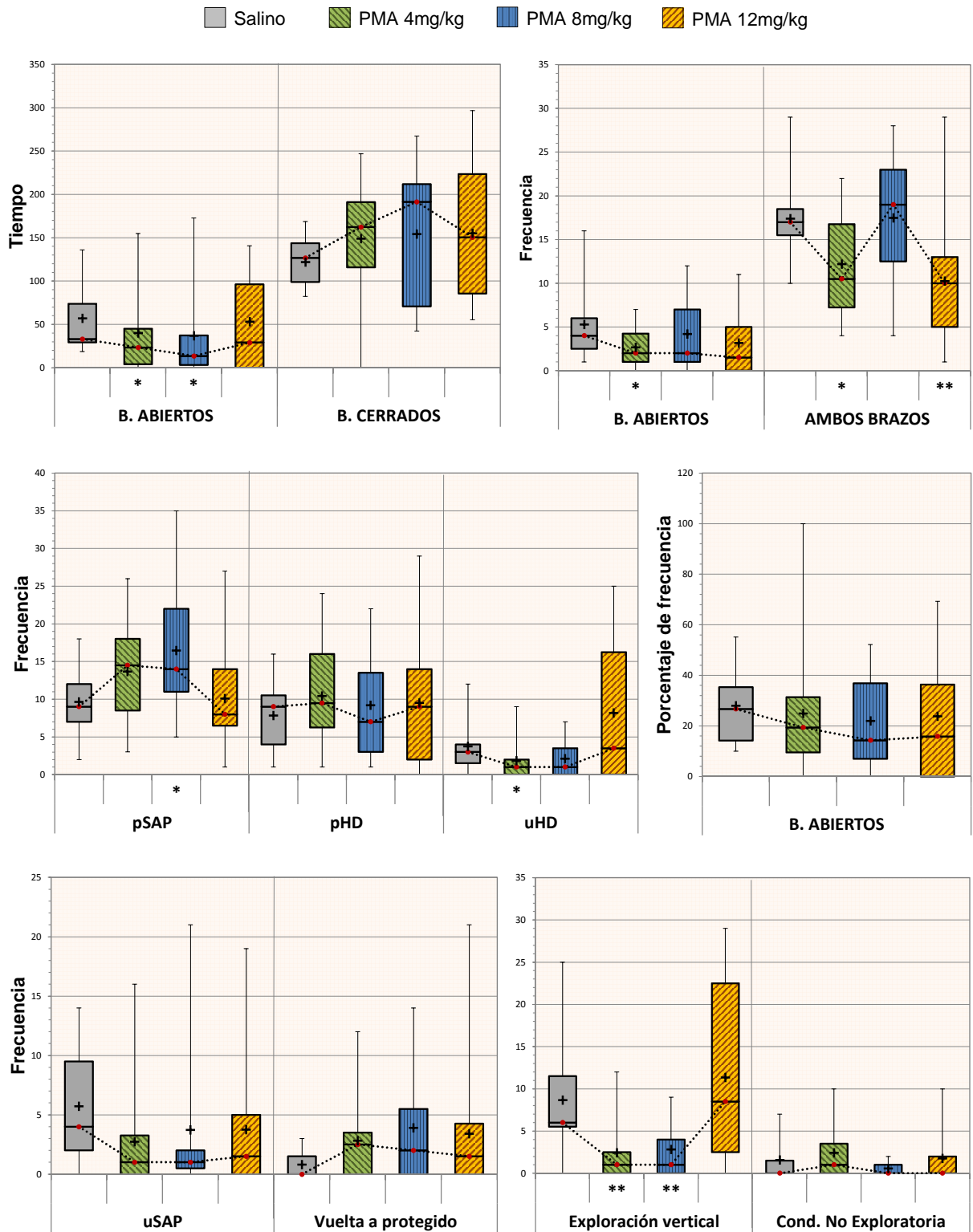


La administración de la dosis menor de PMA (4 mg/kg) produce una reducción de las conductas de riesgo (*Head-dipping* y *Stretched attitude posture*). La conducta de *head-dipping* (HD) consiste en la inclinación de la cabeza hacia el exterior por debajo del nivel del suelo del laberinto, mientras que la conducta *Stretched attitude posture* (SAP) es una conducta de atención extrema que consiste en el estiramiento del cuerpo hacia delante manteniendo la posición de las patas traseras seguido del regreso a la postura original. En concreto, con esta dosis se aprecia una reducción del tiempo y frecuencia con retraso de la latencia en head-dipping en brazos no protegidos (uHD; T-F:  $p < .05$ , L:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ) y del tiempo en conductas de atención extrema indistintamente de la posición del sujeto en el laberinto (uSAP, T:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.50$ ) (pSAP, T:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ). También disminuye el tiempo y frecuencia empleados en la exploración en posición vertical (T-F:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ) y en volver al brazo protegido (T:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.35$ ). En el grupo que recibió la dosis intermedia de PMA (8 mg/kg) destaca la reducción de tiempo y frecuencia empleados en exploración vertical (T-F:  $p < .01$ ;  $|\delta| > 0.50$ ). Además, se reduce la frecuencia de las conductas de atención extrema en brazos protegidos (pSAP, F:  $p < .05$ ;  $|\delta| \approx 0.50$ ) y se retrasa la aparición de la conducta de head-dipping en ambos brazos (pHD y uHD, L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.40$ ).

Mientras que, en el grupo tratado con la dosis de 12 mg/kg de PMA, los resultados indican un retraso de las conductas de head-dipping en ambos brazos del laberinto (pHD y uHD, L:  $p < .05$ ;  $|\delta| > 0.50$ ), pero no se hallan alteraciones significativas en otros parámetros conductuales.



**Figura 11.1. Medidas espaciales y etológicas en el test EPM tras la administración de PMA**



Diferencias respecto al grupo control salina. Test U de Mann-Whitney: \* $p < .05$ ; \*\* $p < .01$



### 11.3. Discusión

En este experimento se ha evaluado el efecto de la administración aguda de tres dosis de PMA (4, 8, 12 mg/kg), sobre la conducta de ansiedad exhibida por ratones machos SWISS OF.1 en el test de ansiedad del laberinto elevado en cruz (EPM), un modelo ampliamente aceptado y que ha demostrado una buena validez (Carobrez & Bertoglio, 2005; Haller & Alicki, 2012; Handley & Mithani, 1984; Hogg, 1996; Holmes et al., 2000; Lister, 1987; Pawlak et al., 2012; Pellow et al., 1985). Esta investigación se ha realizado con el objetivo de examinar el perfil conductual del PMA y esclarecer las posibles propiedades farmacológicas de este compuesto sobre la ansiedad, ya que en la actualidad no tenemos constancia de estudios que hayan evaluado el efecto de este compuesto en modelos animales de ansiedad.

Los resultados indican que el efecto del PMA en la conducta del ratón sometido al test del laberinto elevado en cruz está estrechamente relacionado con la dosis administrada. En este modelo se tienen en cuenta diversos parámetros espaciales y etológicos que muestran una gran sensibilidad a posibles alteraciones en la ansiedad (Walf & Frye, 2007). Entre ellos, las medidas de tiempo, frecuencia y el porcentaje de entrada en los brazos abiertos del laberinto, así como la actividad de *head-dipping* en el área abierta (uHD), son índices conductuales robustos que correlacionan negativamente con el nivel de ansiedad, mientras que otras conductas de riesgo en el área protegida (pHD, pSAP) correlacionan de forma positiva (Carola et al., 2002; Espejo, 1997).

El tratamiento con 4 mg/kg PMA produjo una reducción de la entrada y permanencia en los brazos abiertos del laberinto, así como de la conducta de riesgo uHD, mientras que respecto a las áreas protegidas produjo un aumento del tiempo en la conducta de atención extrema pSAP y la conducta de retorno al brazo protegido. En conjunto, este perfil parece ser indicativo de un nivel de ansiedad elevado (Brunner et al., 1999; Cruz et al., 1994; Espejo, 1997; Rodgers & Johnson, 1995). Sin embargo, la administración de dosis mayores como la de 8 mg/kg de PMA provocó menos alteraciones de estas categorías conductuales (tiempo en brazos abiertos, frecuencia pSAP y latencia HD), y la dosis más alta de PMA (12 mg/kg) solo se asocia a algunas alteraciones en la latencia. Además, una medida típica de ansiedad como es el porcentaje de entrada en los brazos abiertos no se encuentra alterada con ninguna de las dosis de PMA. No obstante, y a diferencia de lo expuesto con el fármaco MDEA, esta ausencia de significación no se debe a que exista

dispersión de los datos hacia valores extremos. Por lo que en conjunto, aunque la dosis de 4 mg/kg de PMA parece inducir un cierto estado ansiogénico, no existen muchas evidencias de que esta sustancia produzca un efecto similar con dosis mayores.

Por otra parte, el aumento de actividad en la conducta de retorno al brazo protegido a la vez que se reduce la conducta de atención extrema en área abierta (uSAP), sugiere que el ratón experimenta conflicto y que el área que lo genera se desplaza de la zona abierta a la zona protegida, lo que parece ser indicativo de un aumento del nivel de ansiedad (Espejo, 1997). Esto se observa en el grupo tratado con la dosis de 4 mg/kg de PMA especialmente el parámetro de tiempo acumulado; y alcanzando casi la significación estadística, también en la frecuencia y tiempo acumulado de las dosis 4 y 8 mg/kg de PMA, respectivamente. Sin embargo, no se hallaron cambios similares con la dosis más alta de esta sustancia.

Hasta el momento, la evaluación de los resultados sugiere que la dosis de 4 mg/kg de PMA es capaz de inducir un cierto estado ansiogénico y de conflicto, que no se observa claramente al incrementar la dosis. No obstante, en todos los grupos de tratamiento se producen alteraciones de diversas conductas que se han relacionado con la función motora y que podrían estar afectando de forma transversal al resto del repertorio conductual (Brunner et al., 1999; Carola et al., 2002; Cruz et al., 1994; Espejo, 1997; Rodgers & Johnson, 1995). Por ejemplo, se muestra una reducción de la entrada total en ambos brazos del laberinto, así como en los brazos protegidos, tanto con la dosis de 4 mg/kg como de forma más evidente con la dosis de 12 mg/kg de PMA, pero no con la dosis intermedia. Asimismo, las dosis de 4 y 8 mg/kg de PMA producen una reducción intensa del tiempo y frecuencia empleados en exploración vertical (rearings), pero no así la dosis mayor de PMA.

Estas alteraciones aunque no sean muy consistentes en tanto que no se muestran en todas las dosis evaluadas, en conjunto parecen ser congruentes con los problemas motores del PMA (4-12 mg/kg) detallados en el experimento quinto bajo un modelo de agresión. A su vez, parecen ser congruentes con un único estudio realizado en ratones albinos, en el que se indica que el PMA (10 mg/kg) reduce la actividad motora tanto en sujetos agrupados como en aislados, al contrario que el aumento observado con sustancias como la d-anfetamina o el MDMA (Hatoum & Davis, 1978).

Sin embargo, la mayoría de los estudios realizados en ratones sobre el efecto motor del PMA, coinciden en que una dosis pequeña de PMA (1, 3, 10 mg/kg) no provoca alteraciones en la actividad motora, mientras que una dosis elevada (30 mg/kg de PMA) parece inducir un aumento de la actividad motora y de la actividad mioclónica (Glennon et al., 1988; Hitzemann et al., 1971; Tseng & Loh, 1974). En ratas, la administración de PMA produce un efecto hiperlocomotor menor que el MDMA (Daws et al., 2000; Jaehne et al., 2005; Romero et al., 2006), cuando no prácticamente ausente (Bustamante et al., 2004; Hegadoren et al., 1995; Martin-Iverson et al., 1991). Además la ausencia de efecto en la conducta exploratoria vertical (Bustamante et al., 2004), también contrasta con los resultados hallados en este experimento. Por lo tanto, aunque nuestros resultados coinciden con un estudio realizado también en ratones albinos agrupados y aislados (Hatoum & Davis, 1978), no podemos afirmar que el efecto general del PMA en otros ratones y/o ratas sea el mismo. En conjunto, los resultados sugieren que el efecto del PMA en dosis bajas es predominantemente ansiogénico con un componente de alteración motora, mientras que al incrementar la dosis el efecto sobre la ansiedad es menor y aumentan las alteraciones conductuales que implican déficit motor.





## **12. DISCUSIÓN GENERAL**



## 12. DISCUSIÓN GENERAL

MBDB, MDEA y PMA son tres drogas de diseño, estructuralmente similares al MDMA (“éxtasis”), que se han identificado en la composición de pastillas distribuidas como “éxtasis” en entornos recreativos a lo largo de los últimos treinta años. Se ha descrito que estas feniletilaminas sintéticas presentan un perfil psicotrópico de tipo entactógeno, es decir, son compuestos con capacidad para facilitar la proximidad, el contacto y la comunicación empática, generando a su vez en el individuo un singular estado de introspección y bienestar. Acorde a ello, existen evidencias de que estas sustancias son capaces de generar en animales una señal interoceptiva que resulta muy similar a la del MDMA en el modelo de discriminación de drogas, lo que ha llevado a clasificarlas como drogas entactógenas y sustancialmente diferenciadas de los estimulantes, alucinógenos y sedantes (Nichols & Oberlender, 1989; Sáez-Briones & Hernández, 2013;).

Los escasos estudios clínicos publicados han advertido de la presencia de estas sustancias en numerosas complicaciones toxicológicas por consumo de “éxtasis”. Más allá de lo expuesto, la información experimental disponible de estos tres compuestos es más bien exigua y se limita al análisis de su proceso de metabolización, su posible mecanismo de acción, la evaluación de algunos efectos conductuales (p. ej., relativos a la motricidad) y, en algunos casos, sus posibles propiedades como agentes reforzadores (ver apartados 2.1, 2.2 y 2.3) (Award et al., 2010; Caldicott et al., 2003; Callaghan, 2005, 2008; Freudmann & Spitzer, 2004; Meyer et al., 2002a,b, 2009; Nakagawa et al. 2009; Thigpen et al, 2008; van Aerts et al., 2000). En contraste, el compuesto MDMA ha sido objeto de estudio en numerosas investigaciones, siendo hasta la fecha la única RSA con un perfil entactógeno cuyos efectos conductuales han sido investigados en modelos animales de agresión y ansiedad, si bien con resultados a veces discrepantes (ver apartado 2.4) (Ferraz De Paula et al., 2011; Ho et al., 2004; Kindlundh-Högberg et al., 2009; Lin et al., 1999; Navarro & Maldonado, 2002). Esto ha llevado a plantear la necesidad de profundizar en el estudio de las denominadas sustancias entactógenas, y examinar de forma más exhaustiva su capacidad para alterar diversos procesos emocionales.

En la presente Tesis Doctoral, se han presentado seis experimentos con el objetivo de establecer el perfil conductual de las sustancias psicoactivas MBDB, MDEA, PMA en modelos experimentales de agresión y ansiedad. Para ello, en los experimentos primero,

Tabla 12.1. Efectos de la administración de las fenetilaminas MDMA (8 mg/kg), MBDB (2-8 mg/kg), MDEA (5-20 mg/kg) y PMA (2-12 mg/kg), en el repertorio conductual de ratones machos evaluados en el modelo de agresión inducida por aislamiento y en el modelo de ansiedad del laberinto elevado en cruz.

CONDUCTAS (M. de Agresión)	MDMA			MBDB			MDEA			PMA											
	8mg/kg	8mg/kg	8mg/kg	2mg/kg	4mg/kg	8mg/kg	5mg/kg	10mg/kg	20mg/kg	2mg/kg	4mg/kg	8mg/kg	12mg/kg	8mg/kg	4mg/kg	2mg/kg	2mg/kg	4mg/kg	8mg/kg	12mg/kg	
Cuidado corporal	↓	↓	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Escarbar	↓	↓	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Exp. No social	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Exp. A una distancia	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Investigación social	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Amenaza	↓	↓	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Ataque	↓	↓	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Evitación/huida	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Defensa/sumisión	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Inmovilidad	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
CONDUCTAS (M. de Ansiedad)	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Brazos Cerrados	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Brazos Abiertos	↓	↓	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Porcentaje B. Abiertos (F)	↓	↓	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Centro (T)/ Brazos (F, L)	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
uHD	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
pHD	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
pSAP	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
uSAP	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Retorno a brazo protegido	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Elevarse	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Conducta no exploratoria	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑

Diferencias significativas respecto al grupo control, en el sentido que indica la flecha: Flecha larga p<.01; Flecha corta p<.05

tercero y quinto, se evaluó el efecto de estas sustancias en la conducta agonística del ratón macho utilizando un modelo de agresión inducida por aislamiento; por otra parte, en los experimentos segundo, cuarto y sexto, se analizó el efecto de las mismas sobre la ansiedad en el modelo del laberinto elevado en cruz. En la Tabla 12.1, se presentan a modo de resumen, los principales resultados obtenidos.

### **MBDB**

❖ En el primer experimento, se analizó el efecto de tres dosis de MBDB (2, 4 y 8 mg/kg) y una dosis de MDMA (8 mg/kg) sobre la conducta del ratón macho adulto en el modelo de agresión inducida por aislamiento. En conjunto, los resultados muestran que el MBDB es un compuesto con un efecto antiagresivo notable, pero de menor potencia que el MDMA, que no parece inducir alteraciones motoras al igual que su homólogo. Las dosis más altas de estas sustancias producen una reducción del componente agonístico ofensivo que también se evidencia en el análisis de secuencias, de forma que la probabilidad de las diadas de “amenaza↔ataque” disminuye progresivamente desde un 30% en el grupo control, hasta alrededor del 10% con la dosis más alta de MBDB (8 mg/kg), y se reduce por debajo del 1% con la misma dosis de MDMA. Además, las dosis mayores de MBDB y MDMA tienden a acumular el ataque en la segunda mitad de la prueba, a diferencia del grupo control que distribuye esta conducta a lo largo de todo el periodo.

En referencia al efecto antiagresivo observado principalmente con la dosis de 8 mg/kg de MBDB, los escasos estudios realizados con esta sustancia indican que su principal mecanismo de acción implica un aumento de la liberación de serotonina con una inhibición de su recaptación en el córtex, y otras estructuras como el hipocampo y el núcleo caudado (Van Aerts et al., 2000;), de forma similar a lo observado con el MDMA, MDEA y PMA (Golembiowska et al., 2015; Freudenmann & Spitzer, 2004). A este aspecto, existen evidencias de que la activación de los receptores serotoninérgicos 5-HT<sub>1B</sub> en la corteza frontal (CPFm y COFv) es capaz de inhibir diversos tipos de agresión (Centenaro et al., 2008; De Almeida et al., 2006; Faccidomo et al., 2012; Veiga et al., 2007). Asimismo, se ha demostrado que la activación optogenética del CPFm inhibe la conducta agresiva entre roedores machos sin alterar otras conductas del repertorio agonístico (Wang et al. 2011). Por lo que los datos disponibles parecen ser

congruentes con el efecto antiagresivo hallado para las sustancias, y sugieren que dicho efecto podría estar regulado por la activación serotoninérgica de la corteza prefrontal. No obstante, esta acción antiagresiva resulta también muy inespecífica.

Por otro lado, el efecto de la dosis menor de MBDB (2 mg/kg) merece ser comentado aparte. Aunque no se observe una reducción de la conducta ofensiva, el análisis de secuencias sugiere que esta dosis es capaz de alterar el patrón conductual de la amenaza, pues dicha conducta tiende a producirse en mayor proximidad social que en el grupo control, a la vez que es seguida de una mayor conducta de evitación. Estos cambios cualitativos en la conducta de amenaza, parecen indicar un aumento del conflicto de “aproximación-evitación” y por tanto que el MBDB podría ser capaz de facilitar la ansiedad incluso a dosis muy bajas. En contraste, el análisis clásico muestra un aumento de la investigación social que es específico y especialmente intenso con esta dosis, el cual también se observa en menor medida y de forma inespecífica con dosis mayores de este compuesto. En conjunto, esto sugiere que el MBDB produce un posible efecto “entactogénico” en el ratón promoviendo la proximidad social, especialmente a dosis bajas. Este resultado es coherente con el perfil entactógeno del MBDB descrito en humanos y en experimentos de discriminación de drogas con animales (Kronstrand, 1996; Nichols, 1986; Nichols, 1987; van Aerts et al., 2000). Sin embargo, según lo expuesto, no es posible relacionar abiertamente este efecto entactógeno específico a dosis bajas de MBDB, con un menor nivel de ansiedad en el sujeto, aspecto que retomaremos en la discusión más adelante.

La administración de MDMA no se acompañó de cambios en la conducta de investigación social, como se ha observado en otros estudios. Así, se ha descrito, por un lado, una reducción de esta conducta en trabajos que emplean el mismo modelo de agresión (Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 1999), observándose también una disminución de la investigación social en ratones con un perfil de agresión bajo (Machalova et al., 2012), en ratones adolescentes (Daza-Losada et al., 2009) y en ratas (Clemens et al., 2004). Y, por otro lado, también se ha descrito un aumento de la investigación social en ratones con un perfil de agresión elevado (Machalova et al., 2012), en ratones adolescentes (Daza-Losada et al., 2009) y en ratas (Andó et al., 2006; Morley & McGregor, 2000; Morley et al., 2005; Thompson et al., 2007). Esta disparidad podría sugerir que el efecto entactógeno del MDMA quizá no sea tan visible en roedores como

en humanos. No obstante, en cualquier caso nuestros resultados sobre la evaluación de una sola dosis de MDMA no nos permite pronunciarnos al respecto.

Como señalábamos anteriormente, el efecto antiagresivo observado para ambas sustancias es inespecífico. La dosis más elevada de MBDB (8 mg/kg) reduce las conductas de escarbar y cuidado corporal, mientras que aumenta otras conductas tales como evitación, defensa, exploración a distancia, exploración no social e investigación social), que en conjunto denotan la presencia de un conflicto de aproximación-evitación y sugieren un nivel de ansiedad elevado en el ratón. En esta misma línea, la reducción de la latencia de evitación-huida en todas las dosis parece indicar de nuevo que incluso la dosis menor de MBDB presenta ciertas propiedades ansiogénicas. Esto concuerda con lo observado en el análisis de secuencias para la dosis menor de MBDB, por lo que este tipo de análisis parece ser útil para desvelar efectos conductuales que se manifiestan en un análisis clásico utilizando dosis mayores. Estos resultados complementan el perfil entactógeno del MBDB, describiendo un efecto ansiogénico dosis-dependiente que no se ha descrito hasta el momento, y que a igualdad de dosis parece ser similar al producido por el MDMA.

A su vez, el efecto ansiogénico hallado con la dosis de MDMA, es coherente con diversos estudios que refieren un aumento de las conductas de exploración a distancia y evitación en el mismo modelo (8-15 mg/kg; 5-20 mg/kg; 5 mg/kg) (Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 1999; Navarro et al., 2004), así como con el aumento de la exploración a distancia en el test de interacción social a determinadas dosis (10 mg/kg, pero n.s. 5 ó 20 mg/kg) (Daza-Losada et al., 2009); o el aumento de las conductas de evitación y sumisión del ratón con dosis elevadas de MDMA (10, 30 mg/kg) (Machalova et al., 2012). Asimismo, la administración aguda de MDMA también produce efectos ansiogénicos en ratas evaluadas con el test de interacción social (Bhattacharya et al., 1998; Bull et al., 2004; Gurtman et al., 2002; Morley et al., 2001). Por otra parte, aunque la conducta de escarbar no resulta determinante para la valoración de los resultados, su reducción se ha vinculado al efecto de sustancias que, como el MDMA, elevan el nivel de ansiedad (Maldonado, 2000), lo que parece reforzar el perfil ansiogénico del MBDB y MDMA obtenido en este experimento.

Es necesario señalar que ambas feniletilaminas (8 mg/kg) exhiben propiedades estimulantes motoras, ya que el aumento de la exploración no social tiene un componente

motor importante. Esto resulta congruente con la observación de que ambas sustancias, especialmente el MDMA, aumentan la activación motora en el test “*Behavioral Pattern Monitor*” (BPM) (Callaway & Geyer, 1992; Gold et al., 1989), con un patrón locomotor caracterizado por una elevada tigmotaxis y una locomoción continua por la periferia del recinto (Gold et al., 1988, 1989; Gold & Koob, 1989; Paulus & Geyer, 1992; Risbrough et al., 2006). No es sorprendente que la administración aguda de estas sustancias aumente la respuesta motora (Green et al., 2003), pues ambas facilitan la liberación de serotonina (Johnson et al., 1986; Johnson et al., 1991; Steele et al., 1987; Van Aerts et al., 2000). En concreto, se ha sugerido que el MBDB produce este efecto hiperlocomotor influyendo indirectamente en el sistema dopaminérgico a través de la activación de receptores serotoninérgicos (5-HT1B, 5-HT2A, 5-HT2C), de forma similar a lo descrito con el MDMA (Paulus & Geyer, 1992; van Aerts et al., 2000). Por otra parte, el análisis visual ha permitido detectar la conducta repetitiva de giro denominada “*circling*” tan solo en algunos sujetos tratados con MDMA. Esta conducta de *circling* es más bien característica de sustancias que producen una liberación moderada o alta de dopamina como la MDMA o la MDA (Lebsanft et al., 2003; Lebsanft et al., 2005). En concreto, se ha relacionado con la activación de receptores dopaminérgicos D2, mientras que la ejecución de patrones lineales por la periferia del recinto y la elevada tigmotaxis se ha vinculado con la activación de receptores D1 (Risbrough et al., 2006). Por lo que esta observación cualitativa parece ser congruente con el perfil neuroquímico de estas sustancias, ya que la liberación de dopamina del MBDB es bastante débil en comparación con la MDMA (Van Aerts et al., 2000).

❖ En el segundo experimento se examinó el efecto del MBDB (2, 4, y 8 mg/kg) y MDMA (8 mg/kg) sobre la conducta de ansiedad en el laberinto elevado en cruz (EPM). Los resultados indican que todas las dosis de MBDB reducen el tiempo y la frecuencia de entrada en los brazos abiertos, lo que sugiere que esta sustancia en general aumenta el nivel de ansiedad del ratón. No obstante, la dosis menor de MBDB (2 mg/kg) muestra un efecto ansiogénico más bien leve, ya que no disminuye el porcentaje de entrada en el área abierta, uno de los parámetros espaciales más sensibles a la ansiedad.

En esta línea, la evaluación de las medidas etológicas muestra que la dosis menor no altera tampoco otros parámetros relacionados con la ansiedad. En este aspecto, la dosis intermedia de MBDB (4 mg/kg) es la más interesante ya que no solo altera todas las



medidas clásicas de actividad en el área abierta, sino que además reduce consistentemente las conductas de riesgo uHD y uSAP, indicando un nivel de ansiedad elevado y un aumento del nivel de conflicto que produce la prueba (Carola et al., 2002; Espejo, 1997). Por su parte, la dosis mayor de MBDB, genera un perfil que podría describirse como ansiogénico en tanto que reduce el porcentaje de entrada en brazos abiertos. No obstante, el hecho de que esto se deba más a un aumento de entrada en el área protegida que a una reducción en el área abierta es congruente con la pequeña reducción de las conductas de riesgo en los brazos abiertos (uHD), pero no con un aumento del nivel de ansiedad tan apreciable como el de la dosis intermedia de MBDB. Por otro lado, podemos descartar que el MBDB induzca algún tipo de efecto sedante sobre la locomoción pues, aunque la dosis menor muestre una reducción leve de la frecuencia de entrada en ambos brazos, los grupos tratados con la dosis de 8 mg/kg de MBDB o MDMA aumentan la actividad en el área protegida sugiriendo un posible efecto estimulante motor, congruente con los resultados hallados en el primer experimento.

El cambio en el perfil conductual de la dosis de 8 mg/kg MDMA es similar, pero más intenso, que el de la dosis intermedia de MBDB, lo que sugiere un efecto ansiogénico más notable. Por otra parte, el tratamiento con MDMA reduce la conducta pHD, una alteración que se ha relacionado con propiedades ansiolíticas (Carrasco et al., 2013; Espejo, 1997; Mascarenhas et al., 2013; Rodgers & Johnson, 1995; Wall & Messier, 2000). Sin embargo, otra posibilidad es que la reducción de las conductas de head-dipping en ambas áreas se deba a un efecto hipoexploratorio. En este sentido, se ha descrito que la combinación de un efecto hipoexploratorio y la evitación de las áreas abiertas es propia de drogas con efectos alucinógenos (Gold et al., 1989). Ambas alteraciones se han observado en el grupo tratado con MDMA, el cual también muestra un aumento de la tigmotaxis o contacto con superficies verticales determinado por el incremento del tiempo en los brazos protegidos. En cualquier caso, la interpretación de la reducción de esta conducta concreta (uHD) resulta bastante confusa en relación al resto de alteraciones conductuales.

En conjunto, el perfil conductual de la dosis de 8 mg/kg de MDMA está en consonancia con estudios previos que hallan un efecto ansiogénico en el modelo del laberinto elevado cruz utilizando dosis similares, tanto en ratones (4-8 mg/kg) (Lin et al., 1999; Navarro & Maldonado, 2002), como en ratas (1.25-10 mg/kg) (Bhattacharya et al.,

1998; Ho et al., 2004; Morley & McGregor, 2000; Sumnall et al., 2004a). Este perfil ansiogénico del MDMA también es congruente con el descrito en otros modelos de ansiedad basados en la exploración, tales como el test del campo abierto, la prueba de luz/oscuridad o el test del tablero de agujeros (Bhattacharya et al., 1998; Ferraz De Paula et al., 2011; Kolyaduke & Hughes, 2013; Maldonado, 2000; Piper et al., 2008).

Sin embargo, el efecto del MDMA sobre la ansiedad es un tema que ha generado controversia, ya que otros estudios indican que esta sustancia puede inducir un aumento de la preferencia por las áreas abiertas cuando se administra en dosis generalmente elevadas (10-20 mg/kg) (Ferraz De Paula et al., 2011; Ho et al., 2004; Kindlundh-Högberg et al., 2009; Lin et al., 1999; Navarro & Maldonado, 2002). En la actualidad se desconoce a qué puede deberse este tipo de resultados conductuales mixtos y aparentemente dependiente de la dosis de MDMA. No obstante, el análisis de diversos correlatos neuronales realizados en estudios conductuales de ansiedad a corto y largo plazo parece ser congruente con la hipótesis de que el MDMA incrementa el nivel de ansiedad de los sujetos. De esta forma, existen evidencias de que la administración de MDMA en roedores adultos, aumenta la actividad c-Fos en la amígdala central y basolateral (Navarro et al., 2004), una región íntimamente ligada al procesamiento del miedo y la ansiedad. En esta misma línea, la depleción serotoninérgica en áreas como la amígdala, hipocampo y estriado tras una administración de MDMA a largo plazo (Cunningham et al., 2009; Gurtman et al., 2002; McGregor et al., 2003; Walker et al., 2007), el aumento de la dopamina estriatal y la elevación del nivel de corticosterona en suero, sugieren igualmente que el MDMA es capaz de inducir un efecto ansiogénico (Ferraz De Paula et al., 2011).

La respuesta neuroquímica serotoninérgica que genera el MBDB es bastante similar a la del MDMA, pero de menor potencia. De esta forma, la administración aguda de MBDB también aumenta la liberación de serotonina e inhibe la recaptación en corteza prefrontal, hipocampo y estriado (Van Aerts et al., 2000). Aunque no tenemos datos disponibles sobre los efectos neuroquímicos de esta sustancia en la amígdala, no es aventurado sugerir que el MBDB podría aumentar la actividad c-Fos de esta estructura de forma similar a lo hallado con el MDMA (Navarro et al., 2004). De hecho, estudios optogenéticos recientes indican que la activación de la proyección entre la BLA y el vHPC incrementa la ansiedad innata en el test del laberinto elevado en cruz (Felix-Ortiz

et al., 2013). Además, también hay evidencias de que la sincronización de la actividad electrofisiológica entre las estructuras vHPC, mPFC y BLA está estrechamente relacionada con las respuestas de ansiedad registradas en la exploración de contextos ansiogénicos (Adhikari, 2014).

En resumen, las medidas espaciales sugieren que el MBDB produce un aumento del nivel de ansiedad dosis-dependiente en el test del laberinto elevado en cruz, que resulta congruente con el efecto ansiogénico descrito en el experimento anterior. Sin embargo, el análisis de las conductas etológicas en el test EPM no permite afirmar con claridad que el efecto ansiogénico sugerido para esta sustancia sea dosis dependiente, siendo en este caso la dosis de 4 mg/kg de MBDB la que presenta un perfil ansiogénico más similar al del grupo tratado con MDMA (8 mg/kg).

### MDEA

❖ En el tercer experimento, la administración aguda de MDEA (5,10 y 20 mg/kg) en ratones machos expuestos al modelo de agresión inducida por aislamiento, produce un efecto antiagresivo potente en todas las dosis evaluadas. De forma que esta sustancia incrementa la latencia y reduce tanto las conductas de amenaza como las de ataque, de que se aprecien alteraciones motoras. Además, se constata una reducción dosis-dependiente de la diada de “amenaza ↔ ataque” (GC: 37%;  $G_{MDEA(5.10.20)}$ :  $\approx 8\%$ ,  $<1\%$  y  $0\%$ ); mientras que la dosis intermedia tiende a acumular la escasa conducta de ataque en la segunda mitad de la prueba. Estos resultados sugieren que el MDEA tiene un claro efecto antiagresivo en un rango de dosis similar al que muestra el MDMA en estudios con el mismo modelo de agresión (Maldonado, 2000; Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 1999). No obstante, los grupos tratados con 5 mg/kg de MDEA y 8 mg/kg de MDMA (1° experimento) muestran una gran similitud en el tamaño del efecto de las conductas ofensivas reducidas, por lo que es posible que el efecto antiagresivo del MDEA sea algo mayor. En cualquier caso, este efecto es parece ser inespecífico para ambas sustancias.

El aumento de investigación social con las dosis de 5 y 10 mg/kg de MDEA, sugiere que este compuesto tiene propiedades entactógenas coherentes con el perfil descrito en otros estudios (Boja & Schechter, 1991; Glennon et al., 1988; Schechter, 1991). Este efecto facilitador de la proximidad social parece ser más potente cuanto menor es la dosis,

como también ocurre con el MBDB en el primer experimento. Sin embargo, a diferencia de éste, todas las dosis de MDEA alteran el perfil conductual agonístico en profundidad.

Todos los grupos tratados con MDEA muestran de forma transversal una reducción de las conductas de cuidado corporal y de escarbar, así como un aumento muy notable de las conductas agonísticas defensivas y de evitación. Además, la dosis menor de MDEA (5 mg/kg) incrementa el tiempo en exploración a distancia del oponente de forma que se asemeja especialmente al perfil de la dosis mayor de MBDB (8 mg/kg); esta similitud entre ambos grupos también se evidencia en el análisis de secuencias. Asimismo, todos los grupos tratados con MDEA exhiben un aumento y predominio de las diadas relacionadas con exploración a distancia y exploración no social, mientras que la dosis mayor aumenta además las diadas relacionadas con la evitación y huida.

En conjunto, estos resultados sugieren un aumento del conflicto de aproximación-evitación, propio de sustancias que aumentan la ansiedad (Brain et al., 1991; File & Seth, 2003; Gendreau et al., 2000; Maldonado & Navarro, 2001b; Maldonado & Navarro, 2001b; Navarro & Maldonado, 2004; Redolat et al., 2002). Por lo que, más que un efecto entactógeno, el MDEA (5, 10 y 20 mg/kg) parece inducir un estado ansiogénico, especialmente con la dosis más elevada. A su vez, el aumento en exploración no social parece indicar que las dosis elevadas de MDEA se asocian a propiedades estimulantes motoras, de forma congruente con algunos estudios (Gold et al., 1988; 1989; Paulus & Geyer, 1992), aunque no con otros en los que no se observan diferencias (Bexis & Docherty, 2006; Hegadoren et al., 1995). Teniendo en cuenta estos resultados tan inespecíficos, sería interesante evaluar si una dosis menor de este fármaco tendría mayor especificidad sobre la conducta agonística, como se observado con otros compuestos análogos, tales como el efecto entactógeno descrito para el MBDB (2 mg/kg) en el primer experimento, o el efecto antiagresivo descrito con una dosis de 1.25 de MDMA (Navarro & Maldonado, 2004).

❖ En el cuarto experimento, se examinó el efecto conductual del MDEA (5, 10 y 20 mg/kg) en ratones expuestos al modelo de ansiedad del laberinto elevado en cruz, obteniéndose resultados bastante ambivalentes en relación con la ansiedad. Por el contrario, la alteración conductual más destacable en todos los grupos fue la reducción del tiempo y frecuencia en exploración vertical, especialmente con la dosis intermedia.

La reducción de la conducta de exploración vertical es congruente con el efecto hipoexploratorio descrito en estudios previos, en los que se indica que el MDEA reduce la actividad exploratoria vertical tanto de zonas elevadas o “rearings” (Gold et al., 1989; O’Loinsigh et al., 2001), como de agujeros o “holepokes” (Gold et al., 1989). En cierta forma, la conducta de head-dipping es bastante similar a la de “holepokes”, y su reducción podría indicar un efecto hipoexploratorio, como ya se sugirió en el grupo tratado con MDMA. Sin embargo este caso es distinto, pues la dosis mayor de MDEA (20 mg/kg) no reduce toda la conducta de head-dipping, como se discutirá más adelante.

Otro aspecto relevante es que la reducción de la actividad exploratoria vertical se ha propuesto como indicio de déficit motor (Brunner et al., 1999; Carola et al., 2002; Cruz et al., 1994; Espejo, 1997). Sin embargo, esta hipótesis resulta poco probable debido a que también se reducen las conductas no exploratorias o estáticas, especialmente con la dosis mayor de MDEA. Además, otra variable sensible a cambios motores, como la frecuencia de entrada en ambos brazos, no se encuentra alterada en ninguna de las dosis. En esta misma línea, los escasos estudios sobre la actividad locomotora del MDEA son bastante convergentes, en tanto que en ningún caso advierten de déficit motor, pues o bien señalan que esta sustancia no altera la locomoción (Bexis & Docherty, 2006; Hegadoren et al., 1995), o bien indican un efecto hiperlocomotor algo menor que el del MDMA en ratas bajo tratamiento agudo (Gold et al., 1988; 1989; Paulus & Geyer, 1992), o subcrónico (O’Loinsigh et al., 2001). Asimismo, la reducción de la conducta no exploratoria o estática es coherente con el efecto hiperlocomotor sugerido en el modelo de agresión.

Sin embargo, más allá de este notable efecto hipoexploratorio sin déficit motor, los hallazgos obtenidos en este experimento no permiten establecer claramente un efecto del MDEA sobre la ansiedad, lo que contrasta con el perfil conductual hallado en el modelo de agresión. Por una parte, las dosis de 10 y 20 mg/kg de MDEA reducen de forma discreta pero significativa la frecuencia de entrada en los brazos abiertos, indicando que este compuesto en dosis moderadas o altas podría inducir un cierto estado ansiogénico (Brunner et al., 1999; Cruz et al., 1994; Espejo, 1997; Rodgers & Johnson, 1995). No obstante, no se han hallado alteraciones en otros parámetros espaciales típicamente asociados, como el porcentaje de frecuencia y el tiempo en brazos abiertos. En relación a los parámetros etológicos, tan solo la dosis más elevada de MDEA reduce la conducta de

riesgo en área abierta uSAP. Esto, en conjunto sugiere que el MDEA podría provocar en el ratón un efecto ansiogénico relativamente débil, en comparación con los resultados obtenidos en el modelo de agresión.

Por otra parte, se ha indicado anteriormente que la dosis mayor de MDEA (20 mg/kg) reduce la conducta de head-dipping dependiendo del área. La reducción notable en pHD, junto con el aumento no significativo en uHD, parece sugerir un débil efecto ansiolítico en el ratón (Carrasco et al., 2013; Carola et al., 2002; Espejo, 1997; Mascarenhas et al., 2013; Rodgers & Johnson, 1995; Wall & Messier, 2000), lo cual contrasta con el aumento de la ansiedad descrito para esta dosis y con el efecto hipoexploratorio descrito en todos los grupos. En conjunto, estos sugieren que el efecto del MDEA sobre la conducta relacionada con la ansiedad parece ser en realidad poco concluyente.

En este punto, el análisis de la variabilidad de los parámetros fue bastante revelador. Se comprobó que variables muy sensibles del factor “ansiedad” y “conflicto” de este modelo (porcentaje de frecuencia en área abierta y conducta de retorno al brazo protegido, respectivamente) (Espejo, 1997; Rodgers & Johnson, 1995), presentan un nivel elevado de dispersión hacia valores extremos en todas las dosis. De esta forma, la ambivalencia de los resultados descritos con dosis mayor de MDEA podría deberse a la presencia de dos perfiles conductuales extremos.

Una posible explicación para la diferencia de resultados del MDEA respecto al modelo de agresión, es la influencia del tipo de alojamiento previo a la prueba, ya que se ha sugerido que el aislamiento o el alojamiento en grupo puede influir en el nivel de ansiedad (Manzanaque, Brain, & Navarro, 2002; Navarro & Luna, 2005). No obstante tratándose de animales territoriales como el ratón, es posible que la presencia de un oponente en el test pueda influir en el tipo o el grado de ansiedad que suscitan estos modelos, de forma que la exposición previa al aislamiento y la presencia de un oponente durante la prueba, pueden ser factores externos que faciliten la manifestación conductual del conflicto aproximación-evitación en el modelo de agresión inducida por aislamiento, y que no están presentes en el modelo de ansiedad EPM. Por otro lado, la posibilidad de que estos hallazgos respondan a diferencias individuales en el nivel de ansiedad rasgo de los sujetos, es una hipótesis bastante tentadora. Sin embargo, también es posible que el MDEA esté produciendo algún tipo de alteración sensorial en roedores que distorsione la

conducta relacionada con la ansiedad. En este aspecto, se ha indicado que la hipoexploración combinada con un bajo nivel de actividad en áreas abiertas es un perfil muy común en compuestos alucinógenos, que también muestra el MDEA en el paradigma de conducta motora (BPM) (Gold et al., 1989), y es coherente con lo hallado en este experimento. En cualquier caso, a tenor de estos resultados poco concluyentes, sería necesario ampliar el rango de dosis utilizado y emplear otros modelos animales de ansiedad junto con parámetros fisiológicos de estrés (Ferraz De Paula et al., 2011), para clarificar el efecto de esta sustancia sobre la ansiedad.

### PMA

❖ En el quinto experimento, se analizó el efecto de cuatro dosis de PMA (2, 4, 8 y 12 mg/kg) sobre la conducta agonística de ratones machos. Los resultados indican que la administración aguda de PMA produce un efecto antiagresivo muy potente, ya que las conductas de amenaza y ataque se reducen abruptamente mostrando una mediana próxima a cero en todas las dosis y un tamaño del efecto próximo a uno ( $|\delta| \approx 1$ ). En especial, la conducta de ataque se anula por completo con las dosis mayores (8 y 12 mg/kg). En el análisis de secuencias, las diadas “amenaza↔ataque” pasan de representar el 30% del repertorio del grupo control, a menos del 1% en cualquiera de los grupos de tratamiento); sin embargo, las dosis moderadas o elevadas de PMA muestran un patrón de amenaza similar al del grupo control, (manteniendo las conductas EAD y ENS, como principal precedente y consecuente de amenaza). Estos resultados sugieren que el PMA posee un efecto antiagresivo en un amplio rango de dosis, más potente que el exhibido por sustancias como el MDEA o MBDB, pero sin alterar el patrón de la conducta de amenaza.

Por otra parte, el PMA produce además un aumento significativo de la inmovilidad en un amplio rango de dosis (4-12 mg/kg de PMA), un aspecto que también diferencia el perfil conductual de esta sustancia del de las otras RSAs evaluadas. A pesar de esto, la conducta de inmovilidad no parece ser muy representativa del repertorio conductual del ratón ( $\approx 3.5\%$ ) y no se acompaña de deterioro en otras conductas que requieren movilidad (ENS, IS, EH). Este efecto discreto sobre la conducta de inmovilidad no es congruente con estudios previos que, o bien indican un aumento discreto de la conducta motora de la rata (Daws et al., 2000; Jaehne et al., 2005; Menon et al., 1976; Romero et al., 2006;

Tseng et al., 1978); o bien señalan que el PMA no altera la locomoción en ratas (Bustamante et al., 2004; Hegadoren et al., 1995; Martin-Iverson et al., 1991) y en ratones (Glennon et al., 1988; Hitzemann et al., 1971). Tan solo en un estudio con ratones albinos, se informa de que esta sustancia puede inducir inmovilidad (Hatoum & Davis, 1978), por lo que es posible que la selección de la cepa de ratón sea un factor que influya en los efectos del PMA sobre la locomoción.

Los escasos estudios neuroquímicos realizados con PMA sugieren que su principal mecanismo de acción es la liberación e inhibición de la recaptación de serotonina en el córtex, y en menor medida de dopamina, de forma similar pero con menor intensidad que el MDMA (entre 1.5 y 2 veces menor) (Golembioswka et al., 2015). Como indicábamos al inicio, la activación de receptores 5-HT<sub>1B</sub> de la corteza frontal (CPFm y COFv) se ha relacionado con la inhibición de diversos tipos de agresión (Centenaro et al., 2008; De Almeida et al., 2006; Faccidomo et al., 2012; Veiga et al., 2007); y especialmente la activación del CPFm parece estar implicada en la inhibición de la conducta agresiva entre machos (Wang et al. 2011), por lo que aunque aún no hay estudios al respecto, es posible que este potente efecto antiagresivo del PMA se encuentre regulado por la activación serotoninérgica del CPFm. En el estriado, el PMA también libera DA alrededor de 1.5 veces menos que el MDMA, mientras que multiplica por tres la liberación estriatal de serotonina respecto al MDMA (Golembioswka et al., 2015); por lo que es posible que la desregulación 5-HT/DA en esta área medie los efectos motores de esta sustancia, siendo necesarios más estudios al respecto.

En cualquier caso, el efecto del PMA sobre la conducta agresiva y la locomoción es notablemente inespecífico. Todos los grupos de tratamiento muestran un aumento muy destacado de las conductas de evitación-huida ( $|\delta| \approx 1$ ) y del tiempo en exploración no social ( $|\delta| \approx 0.80$ ), lo que sugiere que el PMA eleva la ansiedad en el ratón. Además, el aumento de la conducta de defensa/sumisión con la dosis mayor de PMA (12 mg/kg) indica que este efecto ansiogénico puede ser mayor con dosis elevadas de este compuesto. Por otra parte, la dosis menor de PMA (2 mg/kg) aumentó notablemente la investigación social, pero este posible efecto entactógeno parece diluirse al aumentar la dosis, de forma similar a lo observado con el MBDB y MDEA. En relación con esto, el análisis de secuencias muestra que las diadas predominantes son las que conectan “exploración no social ↔ exploración a distancia”, así como las que conectan éstas con investigación social



(2 mg/kg PMA), o con investigación social y evitación/huida (4, 8 y 12 mg/kg de PMA). Esto pone de relieve que existe un aumento del conflicto aproximación-evitación en un amplio rango de dosis de PMA y también sugiere que este fármaco induce un estado ansiogénico en el ratón.

En relación al nivel de conflicto y en comparación con otras RSAs evaluadas, el PMA tiende a aumentar la probabilidad de transición de la diada “EAD-evitación”, mientras que el MDEA muestra un aumento más notable y progresivo de la probabilidad de transición de la diada “IS-evitación”, y el MBDB aumenta de forma leve y similar ambas diadas. Estos resultados sugieren que el estado ansiogénico que produce el PMA podría ser incluso mayor que el de otras sustancias evaluadas, pues aumenta la probabilidad de que el sujeto evite al oponente con tan solo establecer contacto visual.

Por otra parte, el PMA reduce otras conductas del repertorio agonístico del ratón, como la conducta de escarbar en todos los grupos de dosis y la de autocuidado con dosis elevadas (8 y 12 mg/kg). En contraste, las dosis inferiores muestran una tendencia no significativa a aumentar el tiempo dedicado al autocuidado. Los estudios previos tampoco se muestran muy acordes respecto al efecto del PMA en el “grooming” (Bustamante et al., 2004; Jaehne et al., 2007). Sin embargo, es posible que las variaciones de esta conducta, respondan a los efectos en la termorregulación (Jaehne et al., 2005; Jaehne et al., 2007; Jaehne, 2010; Stanley et al., 2007) y la nocicepción (Bustamante et al., 2004), que se han descrito para esta sustancia.

En conjunto, el PMA (2-12 mg/kg) exhibe unas propiedades antiagresivas bastante notables pero inespecíficas, mientras que el posible efecto entactógeno de esta sustancia parece limitarse a dosis muy bajas (2 mg/kg). Además, el PMA parece inducir un nivel de ansiedad elevado en todas las dosis que viene determinado por el aumento general y notable de las conductas agonísticas de evitación, así como de las defensivas con la dosis mayor. En este aspecto, se ha comprobado que aumenta la aproximación al oponente seguida de evitación (como el MDEA), pero produce un aumento incluso más notable de la vigilancia a distancia seguida de evitación, lo que sugiere un estado ansiogénico muy elevado. Por otra parte, esta sustancia altera la conducta motora aumentando la inmovilidad en ratones albinos, mientras que en otras especies de ratón o de ratas no hay evidencias de que produzca alteración motora alguna, e incluso se ha señalado un leve

efecto hiperlocomotor, por lo que sería necesario delimitar mejor el efecto motor de este fármaco.

❖ En el sexto experimento se evaluó el efecto de la administración aguda de PMA (4, 8 y 12 mg/kg) sobre la conducta de ansiedad en el test del laberinto elevado en cruz. Los resultados sugieren que las dosis bajas de PMA (4 y 8 mg/kg) tienen un efecto ansiogénico discreto y reducen la exploración. En concreto, la reducción de la frecuencia de entrada en los brazos que produce la dosis menor y de la conducta de exploración vertical con ambas dosis, sugiere que el PMA podría tener un efecto hipoexploratorio en el ratón.

Además del efecto hipoexploratorio, se observa un aumento del nivel de ansiedad principalmente con la dosis más pequeña (4 mg/kg), la cual reduce las medidas espaciales de actividad en los brazos abiertos y la conducta de riesgo uHD, además de incrementar levemente la conducta pSAP; mientras que la dosis intermedia de PMA (8 mg/kg) tan solo altera de forma discreta el tiempo en los brazos abiertos y la frecuencia pSAP. En relación con ambos efectos, se ha descrito que la hipoexploración junto con la evitación de las áreas abiertas son alteraciones conductuales comunes en drogas con propiedades alucinógenas (Gold et al., 1989). En este aspecto, los efectos del PMA se asemejan a los del MDEA examinados anteriormente en el modelo del elevado en cruz. En esta misma línea, la reducción de la conducta de riesgo en brazos abiertos uSAP, junto con el aumento del retorno al brazo protegido, sugiere que la dosis más baja de PMA (y en menor medida la dosis intermedia sin alcanzar significación estadística), es capaz de desplazar la zona de conflicto del área abierta a la protegida, lo que también sugiere que el PMA eleva la ansiedad.

No obstante, este efecto ansiogénico en general parece basarse en alteraciones conductuales más bien moderadas, y no llega a alterar índices conductuales típicos de la ansiedad como el porcentaje de entrada en los brazos abiertos (como tampoco produce dispersión de esta variable u otras hacia valores extremos, a diferencia del MDEA). Además, en contraste con lo sugerido en el modelo de agresión, las dosis más pequeñas de PMA son las que parecen mostrar una alteración mayor en las conductas relacionadas con la ansiedad en el test EPM.

En este modelo, la dosis mayor de PMA (12 mg/kg) no altera los parámetros conductuales de la ansiedad. En lugar de ello, su efecto parece restringirse a una reducción notable de la frecuencia de entrada en cualquiera de los brazos, principalmente en los brazos cerrados, que también puede observarse con la dosis menor. Esto sugiere que el PMA es capaz de producir alteración motora en un rango de dosis amplio (4-12 mg/kg), de forma similar a lo observado en el modelo de agresión. En contraste, los estudios previos indican que una dosis elevada de PMA (30 mg/kg) puede inducir un aumento de la actividad motora y de la actividad mioclónica, mientras que a dosis menores (1, 3, 10 mg/kg) esta sustancia no altera la locomoción (Glennon et al., 1988; Hitzemann et al., 1971; Tseng & Loh, 1974). Por otro lado, es preciso comentar que quizá no sea adecuada la práctica habitual en el test EPM de agrupar la conducta de inmovilidad y de autocuidado en una única variable de “conducta no exploratoria”, pues dado que ambas conductas presentan cambios en sentidos opuestos en el modelo de agresión es muy posible que de esta forma estemos restando significado etológico y utilidad a la evaluación de la categoría de conducta no exploratoria.

Por último, hemos de indicar que a nivel cualitativo advertimos la presencia de conductas motoras extrañas en algunos animales tratados con PMA, tales como rotaciones corporales consecutivas (*circling*) en el área protegida, así como de sacudida de cabeza (*head-twitch*) prevalentemente en el área abierta que resultaron bastante llamativas. En este aspecto, hay evidencias de que el PMA (2, 10 mg/kg) es capaz de inducir un aumento de la conducta rotacional de rata, en menor medida que otras sustancias como la d-anfetamina o el MDMA (Romero et al., 2006). Es posible que este aumento de la conducta rotacional de la rata tras la administración de PMA pueda estar relacionado con la liberación desproporcionada de 5-HT y DA en los ganglios basales (2000% y 300% de la línea base, respectivamente), en comparación con el aumento de la liberación más equilibrado que produce el MDMA (600% y 500%) (Golembiowska et al., 2015).



## **13. CONCLUSIONES GENERALES**



### 13. CONCLUSIONES GENERALES

1. MBDB, MDEA y PMA comparten un perfil antiagresivo inespecífico en el modelo de agresión inducido por aislamiento, exhibiendo el MBDB (8 mg/kg) un patrón antiagresivo similar al MDMA (8 mg/kg). La falta de especificidad se debe, en unos casos, al aumento de las conductas de inmovilidad producido por PMA (4-12 mg/kg), que podría estar interfiriendo en el repertorio conductual de estos animales. Y, por otra parte, a las propiedades ansiogénicas mostradas durante la interacción social desarrollada en este modelo, que se aprecia particularmente en el rango de dosis más altas de MDEA (5-20 mg/kg) y PMA (2-12 mg/kg). Las dosis más bajas parecen sugerir un posible efecto entactógeno de estas sustancias.
2. Además, estas drogas parecen alterar el patrón conductual agonístico ofensivo (MBDB y MDEA) y defensivo (MBDB, MDEA y PMA), produciendo cambios diádicos que resultan coherentes con un aumento del nivel de conflicto y de ansiedad. Este tipo de análisis secuencial ha demostrado ser especialmente útil para definir el perfil conductual de estas sustancias, permitiendo detectar sus propiedades psicoactivas con dosis más bajas de las requeridas para observar cambios en los parámetros clásicos conductuales.
3. El estudio de la ansiedad con el modelo animal del laberinto elevado en cruz indica que el MBDB (4-8 mg/kg) produce un aumento de la ansiedad, aunque menor que el observado con MDMA (8 mg/kg), en consonancia con lo observado durante la interacción social en el modelo de agresión. Sin embargo, MDEA (5-20 mg/kg) y PMA (4-8 mg/kg) parecen generar un estado de hipoexploración, y tan solo la dosis mayor de MDEA (20 mg/kg) y la menor de PMA (4 mg/kg) muestran alteraciones discretas en ciertos parámetros conductuales aislados que sugieren un efecto ansiogénico débil, exhibiendo en estos casos un perfil conductual diferente al observado en el modelo de agresión. Además, este perfil de hipoexploración y evitación de áreas abiertas podría guardar cierta similitud con las alteraciones conductuales que producen los compuestos alucinógenos.

4. El perfil antiagresivo y ansiogénico observado en la interacción social durante el encuentro agresivo concuerda solo parcialmente con el patrón conductual que MDEA y PMA han mostrado en el modelo de ansiedad del laberinto elevado en cruz. Sería necesario evaluar la ansiedad en otros modelos experimentales para comprobar si el efecto ansiogénico tiene relación directa con la presencia de un oponente en la prueba, así como examinar el efecto de dosis más bajas de las empleadas en este estudio sobre la agresión.



## 14. REFERENCIAS



## 14. REFERENCIAS

- Adams, D. B. (2006). Brain mechanisms of aggressive behavior: An updated review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 30(3), 304-318.
- Adams, D. B., Boudreau, W., Cowan, C. W., Kokonowski, C., Oberteuffer, K., & Yohay, K. (1993). Offense produced by chemical stimulation of the anterior hypothalamus of the rat. *Physiology & Behavior*, 53(6), 1127-1132.
- Adhikari, A. (2014). Distributed circuits underlying anxiety. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8(112), 1-6.
- Adhikari, A., Topiwala, M., & Gordon, J. (2011). Single units in the medial prefrontal cortex with anxiety-related firing patterns are preferentially influenced by ventral hippocampal activity. *Neuron*, 71(5), 898-910.
- Akimova, E., Lanzenberger, R., & Kasper, S. (2009). The Serotonin-1A Receptor in Anxiety Disorders. *Biological psychiatry*, 66(7), 627-635.
- Albert, D. J., & Walsh, M. L. (1984). Neural systems and the inhibitory modulation of agonistic behavior: A comparison of mammalian species. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 8(1), 5-24.
- Alheid, G. F., & Heimer, L. (1988). New perspectives in basal forebrain organization of special relevance for neuropsychiatric disorders: The striatopallidal, amygdaloid, and corticopetal components of substantia innominata. *Neuroscience*, 27(1), 1-39.
- Allsop, S. A., Vander Weele, C. M., Wichmann, R., & Tye, K. M. (2014). Optogenetic insights on the relationship between anxiety-related behaviors and social deficits. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8(241), 1-14.
- Altieri, S. C., Garcia-Garcia, A. L., Leonardo, E. D., & Andrews, A. M. (2013). Rethinking 5-HT1A receptors: Emerging modes of inhibitory feedback of relevance to emotion-related behavior. *ACS Chemical Neuroscience*, 4(1), 72-83.
- Amano, T., Duvarci, S., Popa, D., & Pare, D. (2011). The fear circuit revisited contributions of the basal amygdala nuclei to conditioned fear. *The Journal of neuroscience*, 31(43), 15481-15489.
- Andén, N., Corrodi, H., Fuxe, K., & Meek, J. L. (1974). Hallucinogenic phenylethylamines: Interactions with serotonin turnover and receptors. *European Journal of Pharmacology*, 25(2), 176-184.
- Anderson, C. A., & Bushman, B. J. (2002). Human aggression. *Psychology*, 53(1), 27.
- Andó, R. D., Ádori, C., Kirilly, E., Molnár, E., Kovács, G. G., Ferrington, L., . . . Bagdy, G. (2010). Acute SSRI-induced anxiogenic and brain metabolic effects are attenuated 6 months after initial MDMA-induced depletion. *Behavioural Brain Research*, 207(2), 280-289.
- Andó, R. D., Benko, A., Ferrington, L., Kirilly, E., Kelly, P. A. T., & Bagdy, G. (2006). Partial lesion of the serotonergic system by a single dose of MDMA results in behavioural disinhibition and enhances acute MDMA-induced social behaviour on the social interaction test. *Neuropharmacology*, 50(7), 884-896.
- Angrist, B. M., Schweitzer, J. W., Friedhoff, A. J., & Gershon, S. (1970). Investigation of p-methoxyamphetamine excretion in amphetamine induced psychosis. *Nature*, 225(5233), 651-652.

- Ansorena Cao, A., Cobo Reinoso, J., & Romero Cagigal, I. (1983). Constructo de ansiedad en psicología: una revisión. *Estudios de Psicología*, 4(16), 30-45.
- Anstrom, K. K., Miczek, K. A., & Budygin, E. A. (2009). Increased phasic dopamine signaling in the mesolimbic pathway during social defeat in rats. *Neuroscience*, 161(1), 3-12.
- Antúnez, J. M., Martín-López, M., & Navarro, J. F. (2011). Modelos animales de agresión patológica. *Psiquiatría.com*, 15, 56.
- Arnau, P., & Francisco, A. (2000). Neurotransmisión y pánico.
- Arndt, S. S., Laarakker, M. C., Van Lith, H. A., Van Der Staay, F. J., Gieling, E., Salomons, A. R., . . . Ohl, F. (2009). Individual housing of mice — Impact on behaviour and stress responses. *Physiology & Behavior*, 97(3-4), 385-393.
- Arregi, A., Azpiroz, A., Fano, E., & Garmendia, L. (2006). Aggressive behavior: Implications of dominance and subordination for the study of mental disorders. *Aggression and Violent Behavior*, 11(4), 394-413.
- Awad, T., Belal, T., Maher, H. M., DeRuiter, J., & Clark, C. R. (2010). GC-MS studies on side chain regioisomers related to substituted methylenedioxyphenethylamines: MDEA, MDMA, and MBDB. *Journal of Chromatographic Science*, 48(9), 726-732.
- Azpiroz, A., Garmendia, L., & Sánchez, J. R. (1988). Psicofarmacología de la agresión: Antidepresivos, neurolépticos y benzodiacepinas. *Revista de Psicología General y Aplicada*, 42, 23-34.
- Bach, M. V., Coutts, R. T., & Baker, G. B. (1999). Involvement of CYP2D6 in the in vitro metabolism of amphetamine, two N-alkylamphetamines and their 4-methoxylated derivatives. *Xenobiotica*, 29(7), 719-732.
- Bagdy, G. (1998). *Serotonin, anxiety, and stress hormones. Focus on 5-HT receptor subtypes, species and gender differences*. Annals of the New York Academy of Sciences, 851(1), 357-363.
- Bailey, D. J., Tetzlaff, J. E., Cook, J. M., He, X., & Helmstetter, F. J. (2002). Effects of hippocampal injections of a novel ligand selective for the  $\alpha 5\beta 2\gamma 2$  subunits of the GABA/benzodiazepine receptor on Pavlovian conditioning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 78(1), 1-10.
- Balada Nicolau, F. (2012). Farmacología y endocrinología del comportamiento. Barcelona: Editorial UOC.
- Bankson, M. G., & Cunningham, K. A. (2002). Pharmacological studies of the acute effects of (+)-3,4-methylenedioxymethamphetamine on locomotor activity: role of 5-HT(1B/1D) and 5-HT(2) receptors. *Neuropsychopharmacology*, 26(1), 40-52.
- Barbosa, D. J., Capela, J. P., Oliveira, J. M., Silva, R., Ferreira, L. M., Siopa, F., . . . Carvalho, F. (2012). Pro-oxidant effects of Ecstasy and its metabolites in mouse brain synaptosomes. *British Journal of Pharmacology*, 165(4b), 1017-1033.
- Barlow, D. H. (2000). Unraveling the mysteries of anxiety and its disorders from the perspective of emotion theory. *American Psychologist*, 55(11), 1247.
- Barr, C. S., & Driscoll, C. (2014). Neurogenetics of aggressive behavior: studies in primates. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 17, 45-71.
- Barratt, E. S., & Slaughter, L. (1998). Defining, measuring, and predicting impulsive aggression: A heuristic model. *Behavioral Sciences and the Law*, 16(3), 285-302.

- Battaglia, G., Brooks, B. P., Kulsakdinun, C., & De Souza, E. B. (1988). Pharmacologic profile of MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine) at various brain recognition sites. *European Journal of Pharmacology*, 149(1-2), 159-163.
- Battaglia, G., & De Souza, E. B. (1989). Pharmacologic profile of amphetamine derivatives at various brain recognition sites: selective effects on serotonergic systems. *NIDA Research Monograph*, 94, 240-258.
- Baumann, M. H., & Rothman, R. B. (2009). Neural and Cardiac Toxicities Associated With 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *International Review of Neurobiology*, 88, 257-296.
- Baur, V., Hänggi, J., & Jäncke, L. (2012). Volumetric associations between uncinate fasciculus, amygdala, and trait anxiety. *BMC Neuroscience*, 13(4), 1-14.
- Baur, V., Hänggi, J., Langer, N., & Jäncke, L. (2013). Resting-state functional and structural connectivity within an insula-amygdala route specifically index state and trait anxiety. *Biological Psychiatry*, 73(1), 85-92.
- Beaton, J. M., Smythies, J. R., Benington, F., Morin, R. D., & Clark Jr., L. C. (1968). Behavioural effects of some 4-Substituted amphetamines. *Nature*, 220(5169), 800-801.
- Becerra-Garcia, A. M., Parra-Cardenas, F., & Morato, S. (2005). Effect of different illumination levels on rat behavior in the elevated plus-maze. *Physiology & Behavior*, 85(3), 265-270.
- Becker, J., Neis, P., Röhrich, J., & Zörntlein, S. (2003). A fatal paramethoxymethamphetamine intoxication. *Legal medicine*, 5(SUPPL. 1), S138-S141.
- Bell, C., Abrams, J., & Nutt, D. (2001). Tryptophan depletion and its implications for psychiatry. *The British Journal of Psychiatry*, 178, 399-405.
- Bell, R., & Hobson, H. (1994). 5-HT<sub>1A</sub> receptor influences on rodent social and agonistic behavior: a review and empirical study. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 18(3), 325-338.
- Belozertseva, I. V., & Bepalov, A. Y. (1999). Effects of NMDA receptor channel blockade on aggression in isolated male mice. *Aggressive Behavior*, 25(5), 381-396.
- Belzung, C., & Griebel, G. (2001). Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: A review. *Behavioural brain research*, 125(1), 141-149.
- Belzung, C., Turiault, M., & Griebel, G. (2014). Optogenetics to study the circuits of fear- and depression-like behaviors: A critical analysis. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 122(0), 144-157.
- Berchtold, A. (2010). Sequence Analysis and Transition Models. En M. D. B. Moore (Ed.), *Encyclopedia of Animal Behavior* (pp. 139-145). Oxford: Academic Press.
- Berger, U. V., Gu, X. F., & Azmitia, E. C. (1992). The substituted amphetamines 3,4-methylenedioxymethamphetamine, methamphetamine, p-chloroamphetamine and fenfluramine induce 5-hydroxytryptamine release via a common mechanism blocked by fluoxetine and cocaine. *European Journal of Pharmacology*, 215(2-3), 153-160.
- Berkowitz, L. (1993). Pain and aggression: Some findings and implications. *Motivation and Emotion*, 17(3), 277-293.
- Bexis, S., & Docherty, J. R. (2006). Effects of MDMA, MDA and MDEA on blood pressure, heart rate, locomotor activity and body temperature in the rat involve  $\alpha$ -adrenoceptors. *British Journal of Pharmacology*, 147(8), 926-934.

- Bexis, S., Phillis, B. D., Ong, J., White, J. M., & Irvine, R. J. (2004). Baclofen prevents MDMA-induced rise in core body temperature in rats. *Drug and Alcohol Dependence*, 74(1), 89-96.
- Bhattacharya, S. K., Bhattacharya, A., & Ghosal, S. (1998). Anxiogenic activity of methylenedioxymethamphetamine (Ecstasy): An experimental study. *Biogenic Amines*, 14(3), 217-237.
- Bilsky, E. J., Hubbell, C. L., Delconte, J. D., & Reid, L. D. (1991). MDMA produces a conditioned place preference and elicits ejaculation in male rats: a modulatory role for the endogenous opioids. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 40(2), 443-447.
- Bishop, S. J. (2009). Trait anxiety and impoverished prefrontal control of attention. *Nature neuroscience*, 12(1), 92-98.
- Blair, H. T., Sotres-Bayon, F., Moita, M. A. P., & Ledoux, J. E. (2005). The lateral amygdala processes the value of conditioned and unconditioned aversive stimuli. *Neuroscience*, 133(2), 561-569.
- Blanchard, D. C., & Blanchard, R. J. (1972). Innate and conditioned reactions to threat in rats with amygdaloid lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 81(2), 281-290.
- Blanchard, D. C., & Blanchard, R. J. (2003). What can animal aggression research tell us about human aggression? *Hormones and behavior*, 44(3), 171-177.
- Blanchard, D. C., Li, C. I., Hubbard, D. T., Markham, C. M., Yang, M., Takahashi, L. K., & Blanchard, R. J. (2003). Dorsal premammillary nucleus differentially modulates defensive behaviors induced by different threat stimuli in rats. *Neuroscience Letters*, 345(3), 145-148.
- Blanchard, R. J., & Blanchard, D. C. (1977). Aggressive behavior in the rat. *Behavioral Biology*, 21(2), 197-224.
- Blanchard, R. J., & Blanchard, D. C. (1989). Attack and defense in rodents as ethoexperimental models for the study of emotion. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 13(SUPPL. 1), S3-S14.
- Blanchard, R. J., Hori, K., Blanchard, D. C., & Hall, J. (1987). Ethanol effects on aggression of rats selected for different levels of aggressiveness. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 27(4), 641-644.
- Bobes, J., Saiz, P. A., Gonzalez, M. P., Bousoño, M., & Herrero, S. (1994). Medical and legal aspects of ecstasy. *Adicciones*, 6(4), 423-435.
- Boehme, S., Ritter, V., Tefikow, S., Stangier, U., Strauss, B., Miltner, W. H., & Straube, T. (2014). Brain activation during anticipatory anxiety in social anxiety disorder. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 9(9), 1413-1418.
- Boja, J. W., & Schechter, M. D. (1987). Behavioral effects of N-ethyl-3,4-methylenedioxyamphetamine (MDE; "EVE"). *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 28(2), 153-156.
- Boja, J. W., & Schechter, M. D. (1991). Possible serotonergic and dopaminergic mediation of the N-ethyl-3,4-methylenedioxyamphetamine discriminative stimulus. *European Journal of Pharmacology*, 202(3), 347-353.

- Bortolato, M., Godar, S. C., Melis, M., Soggiu, A., Roncada, P., Casu, A., . . . Shih, J. C. (2012). NMDARs mediate the role of monoamine oxidase A in pathological aggression. *The Journal of Neuroscience*, *32*(25), 8574-8582.
- Bourin, M., Petit-Demoulière, B., Nic Dhonnchadha, B., & Hascöet, M. (2007). Animal models of anxiety in mice. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, *21*(6), 567-574.
- Bouso, J. C., Doblin, R., Farré, M., Alcázar, M. Á, & Gómez-Jarabo, G. (2008). MDMA-assisted psychotherapy using low doses in a small sample of women with chronic posttraumatic stress disorder. *Journal of Psychoactive Drugs*, *40*(3), 225-236.
- Bowler, C. M., Cushing, B. S., & Carter, C. S. (2002). Social factors regulate female-female aggression and affiliation in prairie voles. *Physiology & Behavior*, *76*(4), 559-566.
- Brain, P. F. (1975). What does individual housing mean to a mouse? *Life Sciences*, *16*(2), 187-200.
- Brain, P. F. (1979). Differentiating types of attack and defense in rodents. En P. F. Brain, & D. Benton (Eds.), *Multidisciplinary approaches to aggression research* (pp. 53-78). Amsterdam: Elsevier.
- Brain, P. F. (1989). The adaptiveness of house mouse aggression. En Brain P. F., Mainardi D. and Parmigiani S. (Eds.), *In house mouse aggression* (pp. 1-22). Switzerland: Harwood Academic Publishers.
- Brain, P. F., Benton, D., Childs, G., & Parmigiani, S. (1981). The effect of the type of opponent in tests of murine aggression. *Behavioural Processes*, *6*(4), 319-327.
- Brain, P. F., Kusumorini, N., & Benton, D. (1991). 'Anxiety' in laboratory rodents: A brief review of some recent behavioural developments. *Behavioural Processes*, *25*(2-3), 71-80.
- Brain, P. F., Miras, R. L., & Berry, M. S. (1993). Diversity of animal models of aggression: Their impact on the putative alcohol/aggression link. *Journal of Studies on Alcohol*, *54*(SUPPL. 11), 140-145.
- Braun, U., Shulgin, A. T., & Braun, G. (1980). Centrally Active N-Substituted Analogs of 3,4-Methylenedioxyphenylisopropylamine (3,4-mehylenedioxyamphetamine). *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *69*, 192-195.
- Brennan, P. A., & Keverne, E. B. (2004). Something in the air? New insights into mammalian pheromones. *Current Biology*, *14*(2), R81-9.
- Broadbear, J. H., Tunstall, B., & Beringer, K. (2011). Examining the role of oxytocin in the interoceptive effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, 'ecstasy') using a drug discrimination paradigm in the rat. *Addiction Biology*, *16*(2), 202-214.
- Brody, J., DeFeudis, P., & DeFeudis, F. (1969). Effects of microinjections of L-glutamate into the hypothalamus on attack and flight behaviour in cats. *Nature*, *224*, 1330.
- Bronson, M. E., Jiang, W., DeRuiter, J., & Clark, C. R. (1995). Structure-activity relationships of BDB and its monomethyl and dimethyl derivatives. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *51*(2-3), 477-479.
- Brown, G. L., Goodwin, F. K., Ballenger, J. C., Goyer, P. F., & Major, L. F. (1979). Aggression in humans correlates with cerebrospinal fluid amine metabolites. *Psychiatry Research*, *1*(2), 131-139.

- Brunnenberg, M., & Kovar, K. A. (2001). Stereospecific analysis of ecstasy-like N-ethyl-3,4-methylenedioxyamphetamine and its metabolites in humans. *Journal of Chromatography. B.*, 751(1), 9-18.
- Brunnenberg, M., Lindenblatt, H., Gouzoulis-Mayfrank, E., & Kovar, K. A. (1998). Quantitation of N-ethyl-3,4-methylenedioxyamphetamine and its major metabolites in human plasma by high-performance liquid chromatography and fluorescence detection. *Journal of Chromatography. B.*, 719(1-2), 79-85.
- Brunner, D., Buhot, M. C., Hen, R., & Hofer, M. (1999). Anxiety, motor activation, and maternal-infant interactions in 5-HT1B knockout mice. *Behavioral Neuroscience*, 113(3), 587-601.
- Buechler, J., Schwab, M., Mikus, G., Fischer, B., Hermle, L., Marx, C., . . . Kovar, K. (2003). Enantioselective quantitation of the ecstasy compound (R)- and (S)-N-ethyl-3,4-methylenedioxyamphetamine and its major metabolites in human plasma and urine. *Journal of Chromatography B*, 793(2), 207-222.
- Bull, E. J., Hutson, P. H., & Fone, K. C. F. (2004). Decreased social behaviour following 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) is accompanied by changes in 5-HT2A receptor responsivity. *Neuropharmacology*, 46(2), 202-210.
- Bustamante, D., Díaz-Véliz, G., Paeile, C., Zapata-Torres, G., & Cassels, B. K. (2004). Analgesic and behavioral effects of amphetamine enantiomers, p-methoxyamphetamine and n-alkyl-p-methoxyamphetamine derivatives. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 79(2), 199-212.
- Butler, R. K., White, L. C., Frederick-Duus, D., Kaigler, K. F., Fadel, J. R., & Wilson, M. A. (2012). Comparison of the activation of somatostatin- and neuropeptide Y-containing neuronal populations of the rat amygdala following two different anxiogenic stressors. *Experimental Neurology*, 238(1), 52-63.
- Byard, R. W., James, R. A., Gilbert, J. D., & Felgate, P. D. (1999). Another PMA-related fatality in Adelaide. *The Medical Journal of Australia*, 170(3), 139-140.
- Byard, R. W., Rodgers, N. G., James, R. A., Kostakis, C., & Camilleri, A. M. (2002). Death and paramethoxyamphetamine - An evolving problem. *Medical Journal of Australia*, 176(10), 496.
- Cai, H. (2014). Central amygdala PKC-d(+) neurons mediate the influence of multiple anorexigenic signals. *Nature Neuroscience*, 17(9), 1240-1248.
- Cairns, R. B., MacCombie, D. J., & Hood, K. E. (1983). A developmental-genetic analysis of aggressive behavior in mice: I. Behavioral outcomes. *Journal of Comparative Psychology*, 97(1), 69.
- Cairns, R. B., & Nakelski, J. S. (1971). On fighting in mice: Ontogenetic and experiential determinants. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 74(3), 354.
- Caldicott, D. G. E., Edwards, N. A., Kruys, A., Kirkbride, K. P., Sims, D. N., Byard, R. W., . . . Irvine, R. J. (2003). Dancing with "death": P-methoxyamphetamine overdose and its acute management. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology*, 41(2), 143-154.
- Callaghan, P. D. (2008). *Comparative neuropharmacology of the substituted amphetamines, p-methoxyamphetamine (PMA) & 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA)*. Tesis Doctoral. University of Adelaide.



- Callaghan, P. D., Farrand, K., Salem, A., Hughes, P., Daws, L. C., & Irvine, R. J. (2006). Repeated administration of the substituted amphetamine p-methoxyamphetamine produces reductions in cortical 5-HT transporter binding but not 5-HT content, unlike 3,4-methylenedioxyamphetamine. *European Journal of Pharmacology*, *546*(1-3), 74-81.
- Callaghan, P. D., Irvine, R. J., & Daws, L. C. (2005). Differences in the in vivo dynamics of neurotransmitter release and serotonin uptake after acute para-methoxyamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine revealed by chronoamperometry. *Neurochemistry International*, *47*(5), 350-361.
- Callaghan, P. D., Owens, W. A., Javors, M. A., Sanchez, T. A., Jones, D. J., Irvine, R. J., & Daws, L. C. (2007). In vivo analysis of serotonin clearance in rat hippocampus reveals that repeated administration of p-methoxyamphetamine (PMA), but not 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA), leads to long-lasting deficits in serotonin transporter function. *Journal of Neurochemistry*, *100*(3), 617-627.
- Callahan, P. M., & Appel, J. B. (1988). Differences in the stimulus properties of 3,4-methylenedioxyamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine in animals trained to discriminate hallucinogens from saline. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *246*(3), 866-870.
- Callaway, C. W., & Geyer, M. A. (1992). Stimulant effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in the nucleus accumbens of rat. *European Journal of Pharmacology*, *214*(1), 45-51.
- Callaway, C. W., Johnson, M. P., Gold, L. H., Nichols, D. E., & Geyer, M. A. (1991). Amphetamine derivatives induce locomotor hyperactivity by acting as indirect serotonin agonists. *Psychopharmacology*, *104*(3), 293-301.
- Callaway, C. W., Wing, L. L., & Geyer, M. A. (1990). Serotonin release contributes to the locomotor stimulant effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *254*(2), 456-464.
- Campeau, S., & Davis, M. (1995). Involvement of the central nucleus and basolateral complex of the amygdala in fear conditioning measured with fear-potentiated startle in rats trained concurrently with auditory and visual conditioned stimuli. *Journal of Neuroscience*, *15*(3 II), 2301-2311.
- Campese, V. D., Kim, J., Lázaro-Muñoz, G., Pena, L., LeDoux, J. E., & Cain, C. K. (2014). Lesions of lateral or central amygdala abolish aversive Pavlovian-to-instrumental transfer in rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *8*(161), 1-7.
- Campos, A. C., Fogaça, M. V., Aguiar, D. C., & Guimarães, F. S. (2013). Animal models of anxiety disorders and stress. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, *35*(SUPPL.2), S101-S111.
- Cano-Vindel, A. (2003). Desarrollos actuales en el estudio del control emocional. *Ansiedad y Estrés*, *9*(2-3), 203-229.
- Canteras, N. S. (2002). The medial hypothalamic defensive system: Hodological organization and functional implications. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *71*(3), 481-491.
- Canteras, N. S., & Blanchard, D. C. (2008). A behavioral and neural systems comparison of unconditioned and conditioned defensive behavior. En *Handbook of Behavioral Neuroscience* (pp. 141-153). Elsevier.

- Canteras, N. S., Chiavegatto, S., Ribeiro Do Valle, L. E., & Swanson, L. W. (1997). Severe reduction of rat defensive behavior to a predator by discrete hypothalamic chemical lesions. *Brain Research Bulletin*, 44(3), 297-305.
- Canteras, N. S., & Goto, M. (1999). Fos-like immunoreactivity in the periaqueductal gray of rats exposed to a natural predator. *Neuroreport*, 10(2), 413-418.
- Canteras, N. S., & Graeff, F. G. (2014). Executive and modulatory neural circuits of defensive reactions: Implications for panic disorder. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 46(P3), 352-364.
- Canteras, N. S., Resstel, L. B., Bertoglio, L. J., De Pádua Carobrez, A., & Guimarães, F. S. (2010). *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 2, 77-96.
- Canteras, N. S., Ribeiro-Barbosa, E. R., & Comoli, E. (2001). Tracing from the dorsal premammillary nucleus prosencephalic systems involved in the organization of innate fear responses. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25(7-8), 661-668.
- Capela, J. P., Carmo, H., Remião, F., Bastos, M. L., Meisel, A., & Carvalho, F. (2009). Molecular and cellular mechanisms of ecstasy-induced neurotoxicity: An overview. *Molecular Neurobiology*, 39(3), 210-271.
- Cárdenas, J., & Navarro, J. F. (2002a). Modelos animales de ansiedad incondicionada (I). *Psiquiatría Biológica*, 9(1), 18-31.
- Cárdenas, J., & Navarro, J. F. (2002b). Modelos animales de ansiedad incondicionada (II). *Psiquiatría Biológica*, 9(2), 68-76.
- Carobrez, A. P., & Bertoglio, L. J. (2005). Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: The elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(8), 1193-1205.
- Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., & Renzi, P. (2002). Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural Brain Research*, 134(1-2), 49-57.
- Carrasco, M. C., Vidal, J., & Redolat, R. (2013). Bupropion induced changes in exploratory and anxiety-like behaviour in NMRI male mice depends on the age. *Behavioural Processes*, 98, 117-124.
- Carrillo, M., Ricci, L. A., & Melloni, R. H. (2009). Adolescent anabolic androgenic steroids reorganize the glutamatergic neural circuitry in the hypothalamus. *Brain Research*, 1249, 118-127.
- Carrillo, M., Ricci, L. A., & Melloni, R. H. (2011). Glutamate and the aggression neural circuit in adolescent anabolic steroid-treated Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Behavioral Neuroscience*, 125(5), 753.
- Carter, N., Ruttly, G. N., Milroy, C. M., & Forrest, A. R. W. (2000). Deaths associated with MBDB misuse. *International Journal of Legal Medicine*, 113(3), 168-170.
- Carvalho, F. (2011). Molecular and cellular mechanisms of ecstasy-induced neurotoxicity. *Toxicology Letters*, 205, Supplement (0), S26.
- Carvalho, M., Carmo, H., Costa, V. M., Capela, J. P., Pontes, H., Remião, F., . . . De Lourdes Bastos, M. (2012). Toxicity of amphetamines: An update. *Archives of Toxicology*, 86(8), 1167-1231.
- Carvalho, M., Carvalho, F., Remiao, F., de Lourdes Pereira, M., Pires-das-Neves, R., & de Lourdes Bastos, M. (2002). Effect of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy")

- on body temperature and liver antioxidant status in mice: influence of ambient temperature. *Archives of Toxicology*, 76(3), 166-172.
- Cassel, J. C., Riegert, C., Rutz, S., Koenig, J., Rothmaier, K., Cosquer, B., . . . Jackisch, R. (2005). Ethanol, 3,4-methylenedioxyamphetamine (ecstasy) and their combination: long-term behavioral, neurochemical and neuropharmacological effects in the rat. *Neuropsychopharmacology*, 30(10), 1870-1882.
- Casula, M. A., Bromidge, F. A., Pillai, G. V., Wingrove, P. B., Martin, K., Maubach, K., . . . Hadingham, K. L. (2001). Identification of amino acid residues responsible for the alpha5 subunit binding selectivity of L-655,708, a benzodiazepine binding site ligand at the GABA(A) receptor. *Journal of Neurochemistry*, 77(2), 445-451.
- Cattell, R. B., & Scheier, I. H. (1961). *The meaning and measurement of neuroticism and anxiety*. Ronald, Oxford.
- Caudevilla Gálligo, F., González Tardón, P., & Fenoll Brotons, C. (2009). Drogas de síntesis: novedades. *FMC - Formación Médica Continuada en Atención Primaria*, 16(7), 383-392.
- Centenaro, L. A., Vieira, K., Zimmermann, N., Miczek, K. A., Lucion, A. B., & De Almeida, R. M. (2008). Social instigation and aggressive behavior in mice: role of 5-HT1A and 5-HT1B receptors in the prefrontal cortex. *Psychopharmacology*, 201(2), 237-248.
- Cervantes, M. C., & Delville, Y. (2007). Individual differences in offensive aggression in golden hamsters: A model of reactive and impulsive aggression? *Neuroscience*, 150(3), 511-521.
- Chamero, P., Katsoulidou, V., Hendrix, P., Bufe, B., Roberts, R., Matsunami, H., . . . Leinders-Zufall, T. (2011). G protein G(alpha)o is essential for vomeronasal function and aggressive behavior in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(31), 12898-12903.
- Chamero, P., Marton, T. F., Logan, D. W., Flanagan, K., Cruz, J. R., Saghatelian, A., . . . Stowers, L. (2007). Identification of protein pheromones that promote aggressive behaviour. *Nature*, 450(7171), 899-902.
- Che, S., Johnson, M., Hanson, G. R., & Gibb, J. W. (1995). Body temperature effect on methylenedioxyamphetamine-induced acute decrease in tryptophan hydroxylase activity. *European Journal of Pharmacology*, 293(4), 447-453.
- Check, E. (2004). The ups and downs of ecstasy. *Nature*, 429(6988), 126-128.
- Cheng, H. C., Long, J. P., Nichols, D. E., & Barfknecht, C. F. (1974). Effects of para methoxyamphetamine (PMA) on the cardiovascular system of the dog. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, 212(1), 83-88.
- Chèze, M., Deveaux, M., Martin, C., Lhermitte, M., & Pépin, G. (2007). Simultaneous analysis of six amphetamines and analogues in hair, blood and urine by LC-ESI-MS/MS: application to the determination of MDMA after low Ecstasy intake. *Forensic Science International*, 170(2), 100-104.
- Chichinadze, K., Chichinadze, N., & Lazarashvili, A. (2011). Hormonal and neurochemical mechanisms of aggression and a new classification of aggressive behavior. *Aggression and Violent Behavior*, 16(6), 461-471.
- Chodorowski, Z., Wierowski, M., & Sein Anand, J. (2002). Fatal intoxication with paramethoxyamphetamine. *Przegląd Lekarski*, 59(4-5), 379-380.

- Cimbura, G. (1974). PMA deaths in Ontario. *Canadian Medical Association Journal*, *110*(11), 1263-1267.
- Ciocchi, S., Herry, C., Grenier, F., Wolff, S. B. E., Letzkus, J. J., Vlachos, I., . . . Lüthi, A. (2010). Encoding of conditioned fear in central amygdala inhibitory circuits. *Nature*, *468*(7321), 277-282.
- Clauwaert, K. M., Van Bocxlaer, J. F., De Letter, E. A., Van Calenbergh, S., Lambert, W. E., & De Leenheer, A. P. (2000). Determination of the designer drugs 3, 4-methylenedioxymethamphetamine, 3,4-methylenedioxyethylamphetamine, and 3,4-methylenedioxyamphetamine with HPLC and fluorescence detection in whole blood, serum, vitreous humor, and urine. *Clinical Chemistry*, *46*(12), 1968-1977.
- Clemens, K. J., Van Nieuwenhuyzen, P. S., Li, K. M., Cornish, J. L., Hunt, G. E., & McGregor, I. S. (2004). MDMA ("ecstasy"), methamphetamine and their combination: Long-term changes in social interaction and neurochemistry in the rat. *Psychopharmacology*, *173*(3-4), 318-325.
- Clineschmidt, B. V., & McGuffin, J. C. (1978). Pharmacological differentiation of the central 5-hydroxytryptamine-like actions of MK-212 (6-chloro-2-[1-piperazinyl]-pyrazine), p-methoxyamphetamine and fenfluramine in an in vivo model system. *European Journal of Pharmacology*, *50*(4), 369-375.
- Coccaro, E. F., Fanning, J. R., Phan, K. L., & Lee, R. (2015). Serotonin and impulsive aggression. *CNS Spectrums*, *20*(3), 295-302.
- Colado, M. I., Granados, R., O'Shea, E., Esteban, B., & Green, A. R. (1999). The acute effect in rats of 3,4-methylenedioxyethylamphetamine (MDEA, 'eve') on body temperature and long term degeneration of 5-HT neurones in brain: A comparison with MDMA ('ecstasy'). *Pharmacology and Toxicology*, *84*(6), 261-266.
- Compan, V., Scarce-Levie, K., Crosson, C., Daszuta, A., & Hen, R. (2003). Enkephalin contributes to the locomotor stimulating effects of 3,4-methylenedioxy-N-methylamphetamine. *European Journal of Neuroscience*, *18*(2), 383-390.
- Concheiro, M., Simões, S. M. d. S. S., Quintela, O., De Castro, A., Dias, M. J. R., Cruz, A., & López-Rivadulla, M. (2007). Fast LC-MS/MS method for the determination of amphetamine, methamphetamine, MDA, MDMA, MDEA, MBDB and PMA in urine. *Forensic Science International*, *171*(1), 44-51.
- Concheiro, M., Castro, A. d., Quintela, Ó, López-Rivadulla, M., & Cruz, A. (2006). Determination of drugs of abuse and their metabolites in human plasma by liquid chromatography–mass spectrometry: An application to 156 road fatalities. *Journal of Chromatography B*, *832*(1), 81-89.
- Cornish, J. L., Shahrawaz, Z., Thompson, M. R., Wong, S., Morley, K. C., Hunt, G. E., & McGregor, I. S. (2003). Heat increases 3,4-methylenedioxymethamphetamine self-administration and social effects in rats. *European Journal of Pharmacology*, *482*(1-3), 339-341.
- Corrigall, W. A., Robertson, J. M., Coen, K. M., & Lodge, B. A. (1992). The reinforcing and discriminative stimulus properties of para-ethoxy- and para-methoxyamphetamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *41*(1), 165-169.

- Corter, J. E. (1994). Review of Sequential analysis: A guide for behavioral researchers: by J. M. Gottman and A. K. Roy. New York: Cambridge University Press, 1990. *New Ideas in Psychology*, 12(1), 95-97.
- Cortese, B. M., Mitchell, T. R., Galloway, M. P., Prevost, K. E., Fang, J., Moore, G. J., & Uhde, T. W. (2010). Region-specific alteration in brain glutamate: Possible relationship to risk-taking behavior. *Physiology and Behavior*, 99(4), 445-450.
- Cortese, B. M., & Phan, K. L. (2005). The role of glutamate in anxiety and related disorders. *CNS Spectrums*, 10(10), 820-830.
- Couppis, M. H., & Kennedy, C. H. (2008). The rewarding effect of aggression is reduced by nucleus accumbens dopamine receptor antagonism in mice. *Psychopharmacology*, 197(3), 449-456.
- Crick, N. R., & Dodge, K. A. (1996). Social Information-Processing Mechanisms in Reactive and Proactive Aggression. *Child development*, 67(3), 993-1002.
- Cruz, A. P. M., Frei, F., & Graeff, F. G. (1994). Ethopharmacological analysis of rat behavior on the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 49(1), 171-176.
- Cunningham, J. I., Raudensky, J., Tonkiss, J., & Yamamoto, B. K. (2009). MDMA pretreatment leads to mild chronic unpredictable stress-induced impairments in spatial learning. *Behavioral Neuroscience*, 123(5), 1076-1084.
- Da Costa, J. L., & da Matta Chasin, A. A. (2004). Determination of MDMA, MDEA and MDA in urine by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of chromatography.B*, 811(1), 41-45.
- Da Vanzo, J. P., Daugherty, M., Ruckart, R., & Kang, L. (1966). Pharmacological and biochemical studies in isolation-induced fighting mice. *Psychopharmacologia*, 9(3), 210-219.
- Dafters, R. I. (1994). Effect of ambient temperature on hyperthermia and hyperkinesis induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA or 'ecstasy') in rats. *Psychopharmacology*, 114(3), 505-508.
- Dams, R., De Letter, E. A., Mortier, K. A., Cordonnier, J. A., Lambert, W. E., Piette, M. H., . . . De Leenheer, A. P. (2003). Fatality due to combined use of the designer drugs MDMA and PMA: a distribution study. *Journal of Analytical Toxicology*, 27(5), 318-322.
- Davis, M. (1992). The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annual Review of Neuroscience*, 15, 353-375.
- Davis, W. M., Bedford, J. A., Buelke, J. L., Guinn, M. M., Hatoum, H. T., Waters, I. W., . . . Braude, M. C. (1978). Acute toxicity and gross behavioral effects of amphetamine, four methoxyamphetamines, and mescaline in rodents, dogs, and monkeys. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 45(1), 49-62.
- Daws, L. C., Irvine, R. J., Callaghan, P. D., Toop, N. P., White, J. M., & Bochner, F. (2000). Differential behavioural and neurochemical effects of para-methoxyamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine in the rat. *Progress in NeuroPsychopharmacology and Biological Psychiatry*, 24(6), 955-977.
- Daza-Losada, M., Ribeiro Do Couto, B., Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Rodriguez-Arias, M., & Minarro, J. (2007). Rewarding effects and reinstatement of MDMA-induced CPP in adolescent mice. *Neuropsychopharmacology*, 32(8), 1750-1759.

- Daza-Losada, M., Rodríguez-Arias, M., Maldonado, C., Aguilar, M. A., & Minarro, J. (2008). Behavioural and neurotoxic long-lasting effects of MDMA plus cocaine in adolescent mice. *European Journal of Pharmacology*, *590*(1-3), 204-211.
- Daza-Losada, M., Rodríguez-Arias, M., Aguilar, M. A., & Miñarro López, J. (2010). Potencial adictivo del éxtasis: una visión desde los modelos animales. *Trastornos Adictivos*, *12*(1), 7-12.
- Daza-Losada, M., Rodríguez-Arias, M., Maldonado, C., Aguilar, M. A., Guerri, C., & Minarro, J. (2009). Acute behavioural and neurotoxic effects of MDMA plus cocaine in adolescent mice. *Neurotoxicology and Teratology*, *31*(1), 49-59.
- De Almeida, R. M., Ferrari, P. F., Parmigiani, S., & Miczek, K. A. (2005). Escalated aggressive behavior: Dopamine, serotonin and GABA. *European Journal of Pharmacology*, *526*(1-3), 51-64.
- De Almeida, R. M., & Lucion, A. B. (1997). 8-OH-DPAT in the median raphe, dorsal periaqueductal gray and corticomедial amygdala nucleus decreases, but in the medial septal area it can increase maternal aggressive behavior in rats. *Psychopharmacology*, *134*(4), 392-400.
- De Almeida, R. M., & Miczek, K. A. (2002). Aggression escalated by social instigation or by discontinuation of reinforcement ("frustration") in mice: inhibition by anpirtoline: a 5-HT1B receptor agonist. *Neuropsychopharmacology*, *27*(2), 171-181.
- De Almeida, R. M., Nikulina, E. M., Faccidomo, S., Fish, E. W., & Miczek, K. A. (2001). Zolmitriptan--a 5-HT1B/D agonist, alcohol, and aggression in mice. *Psychopharmacology*, *157*(2), 131-141.
- De Almeida, R. M., Rosa, M. M., Santos, D. M., Saft, D. M., Benini, Q., & Miczek, K. A. (2006). 5-HT1B receptors, ventral orbitofrontal cortex, and aggressive behavior in mice. *Psychopharmacology*, *185*(4), 441-450.
- De Almeida, R. M., Rowlett, J. K., Cook, J. M., Yin, W., & Miczek, K. A. (2004). GABA-A/alpha1 receptor agonists and antagonists: effects on species-typical and heightened aggressive behavior after alcohol self-administration in mice. *Psychopharmacology*, *172*(3), 255-263.
- De Boer, S. F., Caramaschi, D., Natarajan, D., & Koolhaas, J. M. (2009). The vicious cycle towards violence: focus on the negative feedback mechanisms of brain serotonin neurotransmission. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *3*(52), 1-6.
- De Boer, S. F., & Koolhaas, J. M. (2005). 5-HT1A and 5-HT1B receptor agonists and aggression: A pharmacological challenge of the serotonin deficiency hypothesis. *European Journal of Pharmacology*, *526*(1-3), 125-139.
- De Boer, S. F., Lesourd, M., Mocaer, E., & Koolhaas, J. M. (1999). Selective antiaggressive effects of alnespirone in resident-intruder test are mediated via 5-hydroxytryptamine1A receptors: A comparative pharmacological study with 8-hydroxy-2-dipropylaminotetralin, ipsapirone, buspirone, eltoprazine, and WAY-100635. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *288*(3), 1125-1133.
- De Bruin, J. P., Van Oyen, H. G., & Van De Poll, N. (1983). Behavioural changes following lesions of the orbital prefrontal cortex in male rats. *Behavioural Brain Research*, *10*(2), 209-232.

- De La Mora, M. P., Gallegos-Cari, A., Arizmendi-García, Y., Marcellino, D., & Fuxe, K. (2010). Role of dopamine receptor mechanisms in the amygdaloid modulation of fear and anxiety: Structural and functional analysis. *Progress in Neurobiology*, *90*(2), 198-216.
- De La Torre, R., Farré, M., Navarro, M., Pacifici, R., Zuccaro, P., & Pichini, S. (2004). Clinical Pharmacokinetics of Amphetamine and Related Substances: Monitoring in Conventional and Non-Conventional Matrices. *Clinical Pharmacokinetics*, *43*(3), 157-185.
- De Olmos, J. S., & Ingram, W. R. (1972). The projection field of the stria terminalis in the rat brain. An experimental study. *Journal of Comparative Neurology*, *146*(3), 303-334.
- Diano, S., Naftolin, F., & Horvath, T. L. (1997). Gonadal steroids target AMPA glutamate receptor-containing neurons in the rat hypothalamus, septum and amygdala: a morphological and biochemical study. *Endocrinology*, *138*(2), 778-789.
- DiMascio, A. (1973). The effects of benzodiazepines on aggression: reduced or increased? *Psychopharmacologia*, *30*(2), 95-102.
- Dimpfel, W., Spuler, M., & Nichols, D. E. (1989). Hallucinogenic and stimulatory amphetamine derivatives: Fingerprinting DOM, DOI, DOB, MDMA, and MBDB by spectral analysis of brain field potentials in the freely moving rat (tele-stereo-EEG). *Psychopharmacology*, *98*(3), 297-303.
- Dixon, A. K., & Kaesermann, H. P. (1987). Ethopharmacology of flight behaviour. *Ethopharmacology of agonistic behaviour in animals and humans* (pp. 46-79) Springer.
- Doblin, R. (2002). A clinical plan for MDMA (Ecstasy) in the treatment of Posttraumatic Stress Disorder (PTSD): Partnering with the FDA. *Journal of Psychoactive Drugs*, *34*(2), 185-194.
- Dodge, K. A., & Coie, J. D. (1987). Social-Information-Processing Factors in Reactive and Proactive Aggression in Children's Peer Groups. *Journal of Personality and Social Psychology*, *53*(6), 1146-1158.
- Dong, H. -, Petrovich, G. D., & Swanson, L. W. (2001). Topography of projections from amygdala to bed nuclei of the stria terminalis. *Brain Research Reviews*, *38*(1-2), 192-246.
- Dowling, G. P., McDonough, E. T., 3rd, & Bost, R. O. (1987). 'Eve' and 'Ecstasy'. A report of five deaths associated with the use of MDEA and MDMA. *Jama*, *257*(12), 1615-1617.
- Dubrovsky, B. (2005). Potential use of neurosteroids and neuroactive steroids as modulators of symptoms of depression, anxiety, and psychotic disorders. *Drug Development Research*, *65*(4), 318-334.
- Dukat, M., Young, R., & Glennon, R. A. (2002). Effect of PMA optical isomers and 4-MTA in PMMA-trained rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *72*(1-2), 299-305.
- Dulawa, S. C., Hen, R., Scarse-Levie, K., & Geyer, M. A. (1998). 5-HT(1B) receptor modulation of prepulse inhibition: Recent findings in wild-type and 5-HT(1B) knockout mice. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *861*(1), 79-84.
- Dulawa, S. C., Scarse-Levie, K., Hen, R., & Geyer, M. A. (2000). Serotonin releasers increase prepulse inhibition in serotonin 1B knockout mice. *Psychopharmacology*, *149*(3), 306-312.
- Durant, C., Christmas, D., & Nutt, D. (2010). The pharmacology of anxiety. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, *2*, 303-330.

- Duvarci, S., Bauer, E. P., & Pare, D. (2009). The bed nucleus of the stria terminalis mediates inter-individual variations in anxiety and fear. *Journal of neuroscience*, 29(33), 10357-10361.
- Duvarci, S., & Pare, D. (2014). Amygdala microcircuits controlling learned fear. *Neuron*, 82(5), 966-980.
- Eichelman, B. (1978). Animal models: Their role in the study of aggressive behavior in humans. *Progress in Neuro-Psychopharmacology*, 2(5-6), 633-643.
- EMCDDA. (2012). *Informe anual 2012: el problema de la drogodependencia en Europa*. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. Luxemburgo: Oficina de Publicaciones de la Unión Europea.
- EMCDDA. (2015a). *Informe europeo sobre drogas 2015: Tendencias y novedades*. european monitoring centre for drugs and drug addiction. Luxemburgo: Oficina de Publicaciones de la Unión Europea.
- EMCDDA. (2015b). *Table SZR-14. Quantities of ecstasy seized, 1995-2011. Statistical bulletin 2013 on the drug situation in Europe*. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction.
- Endler, N. S., & Kocovski, N. L. (2001). State and trait anxiety revisited. *Journal of Anxiety Disorders*, 15(3), 231-245.
- Ensslin, H. K., Kovar, K., & Maurer, H. H. (1996). Toxicological detection of the designer drug 3,4-methylenedioxyethylamphetamine (MDE, "Eve") and its metabolites in urine by gas chromatography — mass spectrometry and fluorescence polarization immunoassay. *Journal of Chromatography B*, 683(2), 189-197.
- EROWID. (2015). *Paramethoxyamphetamine (PMA)*. Recuperado de [http://www.erowid.org/chemicals/pma/pma\\_dose.shtml](http://www.erowid.org/chemicals/pma/pma_dose.shtml)
- Escorihuela, R. M., & Fernández-Teruel, A. (1998). Modelos animales en psicopatología y psicofarmacología: del análisis experimental de la conducta a la neurogenética. *Psicología Conductual*, 6(1), 165-191.
- Espejo, E. F. (1997). Structure of the mouse behaviour on the elevated plus-maze test of anxiety. *Behavioural Brain Research*, 86(1), 105-112.
- Etkin, A. (2010). Functional Neuroanatomy of Anxiety. A neural circuit perspective. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 2, 251-277.
- Etkin, A. (2012). Neurobiology of anxiety: From neural circuits to novel solutions? *Depression and Anxiety*, 29(5), 355-358.
- Eurosurveillance editorial team. (2012). EMCDDA publishes 2012 report on the state of the drugs problem in Europe. *Euro surveillance: bulletin européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 17(46)
- Faccidomo, S., Bannai, M., & Miczek, K. A. (2008). Escalated aggression after alcohol drinking in male mice: dorsal raphe and prefrontal cortex serotonin and 5-HT(1B) receptors. *Neuropsychopharmacology*, 33(12), 2888-2899.
- Faccidomo, S., Quadros, I. M., Takahashi, A., Fish, E. W., & Miczek, K. A. (2012). Infralimbic and dorsal raphe microinjection of the 5-HT(1B) receptor agonist CP-93,129: attenuation of aggressive behavior in CFW male mice. *Psychopharmacology*, 222(1), 117-128.



- Fairbanks, L. A., Melega, W. P., Jorgensen, M. J., Kaplan, J. R., & McGuire, M. T. (2001). Social impulsivity inversely associated with CSF 5-HIAA and fluoxetine exposure in vervet monkeys. *Neuropsychopharmacology*, *24*(4), 370-378.
- Falkner, A. L., Dollar, P., Perona, P., Anderson, D. J., & Lin, D. (2014). Decoding ventromedial hypothalamic neural activity during male mouse aggression. *Journal of Neuroscience*, *34*(17), 5971-5984.
- Fallon, J. K., Kicman, A. T., Henry, J. A., Milligan, P. J., Cowan, D. A., & Hutt, A. J. (1999). Stereospecific analysis and enantiomeric disposition of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) in humans. *Clinical Chemistry*, *45*(7), 1058-1069.
- Fantegrossi, W. E. (2007). Reinforcing effects of methylenedioxy amphetamine congeners in rhesus monkeys: Are intravenous self-administration experiments relevant to MDMA neurotoxicity? *Psychopharmacology*, *189*(4), 471-482.
- Fard, M. T., Bahaeddini, A., Shomali, T., & Haghighi, S. K. (2014). Effect of Extremely Low Frequency Electromagnetic Field and/or GABAB Receptors on Foot Shock-induced Aggression in Rats. *Basic and Clinical Neuroscience*, *5*(2), 169.
- Faria, R., Magalhaes, A., Monteiro, P. R., Gomes-Da-Silva, J., Amelia Tavares, M., & Summavielle, T. (2006). MDMA in adolescent male rats: decreased serotonin in the amygdala and behavioral effects in the elevated plus-maze test. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1074*, 643-649.
- Feduccia, A. A., & Duvauchelle, C. L. (2008). Auditory stimuli enhance MDMA-conditioned reward and MDMA-induced nucleus accumbens dopamine, serotonin and locomotor responses. *Brain Research Bulletin*, *77*(4), 189-196.
- Felgate, H. E., Felgate, P. D., James, R. A., Sims, D. N., & Vozzo, D. C. (1998). Recent paramethoxyamphetamine deaths. *Journal of Analytical Toxicology*, *22*(2), 169-172.
- Felix-Ortiz, A., Beyeler, A., Seo, C., Leppla, C., Wildes, C. P., & Tye, K. (2013). BLA to vHPC Inputs Modulate Anxiety-Related Behaviors. *Neuron*, *79*(4), 658-664.
- Ferrari, P. F., Van Erp, A. M., Tornatzky, W., & Miczek, K. A. (2003). Accumbal dopamine and serotonin in anticipation of the next aggressive episode in rats. *European Journal of Neuroscience*, *17*(2), 371-378.
- Ferraz De Paula, V., Stankevicius, D., Ribeiro, A., Pinheiro, M. L., Rodrigues-Costa, E. C., Florio, J. C., . . . Palermo-Neto, J. (2011). Differential behavioral outcomes of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA-ecstasy) in anxiety-like responses in mice. *Brazilian journal of medical and biological research*, *44*(5), 428-437.
- Ferris, C. F., Stolberg, T., & Delville, Y. (1999). Serotonin regulation of aggressive behavior in male golden hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Behavioral neuroscience*, *113*(4), 804-815.
- File, S. E. (1987). The contribution of behavioural studies to the neuropharmacology of anxiety. *Neuropharmacology*, *26*(7, Part 2), 877-886.
- File, S. E., & Pellow, S. (1985). The effects of triazolobenzodiazepines in two animal tests of anxiety and in the holeboard. *British Journal of Pharmacology*, *86*(3), 729-735.
- File, S. E., & Seth, P. (2003). A review of 25 years of the social interaction test. *European Journal of Pharmacology*, *463*(1-3), 35-53.

- File, S. E., Zharkovsky, A., & Gulati, K. (1991). Effects of baclofen and nitrendipine on ethanol withdrawal responses in the rat. *Neuropharmacology*, *30*(2), 183-190.
- Filgueiras, G. B., Carvalho-Netto, E. F., & Estanislau, C. (2014). Aversion in the elevated plus-maze: Role of visual and tactile cues. *Behavioural Processes*, *107*(0), 106-111.
- Fineschi, V., Centini, F., Mazzeo, E., & Turillazzi, E. (1999). Adam (MDMA) and Eve (MDEA) misuse: an immunohistochemical study on three fatal cases. *Forensic Science International*, *104*(1), 65-74.
- Fischer, S. G., Ricci, L. A., & Melloni, R. H. (2007). Repeated anabolic/androgenic steroid exposure during adolescence alters phosphate-activated glutaminase and glutamate receptor 1 (GluR1) subunit immunoreactivity in Hamster brain: correlation with offensive aggression. *Behavioural Brain Research*, *180*(1), 77-85.
- Fish, E. W., Faccidomo, S., & Miczek, K. A. (1999). Aggression heightened by alcohol or social instigation in mice: reduction by the 5-HT<sub>1B</sub> receptor agonist CP-94,253. *Psychopharmacology*, *146*(4), 391-399.
- Fish, E. W., De Bold, J. F., & Miczek, K. A. (2002). Aggressive behavior as a reinforcer in mice: activation by allopregnanolone. *Psychopharmacology*, *163*(3-4), 459-466.
- Fish, E. W., Debold, J. F., & Miczek, K. A. (2005). Escalated aggression as a reward: corticosterone and GABA(A) receptor positive modulators in mice. *Psychopharmacology*, *182*(1), 116-127.
- Fish, E. W., Faccidomo, S., Debold, J. F., & Miczek, K. A. (2001). Alcohol, allopregnanolone and aggression in mice. *Psychopharmacology*, *153*(4), 473-483.
- Fitzgerald, R. L., Blanke, R. V., Rosecrans, J. A., & Glennon, R. A. (1989). Stereochemistry of the metabolism of MDMA to MDA. *Life Sciences*, *45*(4), 295-301.
- Fitzgerald, J. L., & Reid, J. J. (1994). Sympathomimetic actions of methylenedioxymethamphetamine in rat and rabbit isolated cardiovascular tissues. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *46*(10), 826-832.
- Foster, B. C., Litster, D. L., & Lodge, B. A. (1991). Biotransformation of 2-, 3-, and 4-methoxy-amphetamines by *Cunninghamella echinulata*. *Xenobiotica*, *21*(10), 1337-1346.
- Fraser, L. M., Brown, R. E., Hussin, A., Fontana, M., Whittaker, A., O'Leary, T. P., . . . Ramos, A. (2010). Measuring anxiety- and locomotion-related behaviours in mice: a new way of using old tests. *Psychopharmacology*, *211*(1), 99-112.
- Freezer, A., Salem, A., & Irvine, R. J. (2005). Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, 'Ecstasy') and para-methoxyamphetamine on striatal 5-HT when co-administered with moclobemide. *Brain Research*, *1041*(1), 48-55.
- Freudenmann, R. W., & Spitzer, M. (2004). The neuropsychopharmacology and toxicology of 3,4-methylenedioxy-N-ethyl- amphetamine (MDEA). *CNS Drug Reviews*, *10*(2), 89-116.
- Furnari, C., Ottaviano, V., Rosati, F., & Tondi, V. (1998). Identification of 3,4-methylenedioxyamphetamine analogs encountered in clandestine tablets. *Forensic Science International*, *92*(1), 49-58.
- Galloway, J. H., & Forrest, A. R. W. (2002). Caveat Emptor: death involving the use of 4-methoxyamphetamine. *Journal of Clinical Forensic Medicine*, *9*(3), 160.

- Gammie, S. C., Garland Jr, T., & Stevenson, S. A. (2006). Artificial selection for increased maternal defense behavior in mice. *Behavior Genetics*, *36*(5), 713-722.
- Garcia-Garcia, A. L., Elizalde, N., Matrov, D., Harro, J., Wojcik, S. M., Venzala, E., . . . Tordera, R. M. (2009). Increased vulnerability to depressive-like behavior of mice with decreased expression of VGLUT1. *Biological Psychiatry*, *66*(3), 275-282.
- Garcia-Garcia, A. L., Newman-Tancredi, A., & Leonardo, E. D. (2014). P5-HT1A receptors in mood and anxiety: Recent insights into autoreceptor versus heteroreceptor function. *Psychopharmacology*, *231*(4), 623-636.
- Garofano, L., Santoro, M., Patri, P., Guidugli, F., Bollani, T., Favretto, D., & Traldi, P. (1998). Ion trap mass spectrometry for the characterization of N-methyl-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-butanamine and N-ethyl-3,4- methylenedioxyamphetamine, two widely distributed street drugs. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, *12*(12), 779-782.
- Garrick, N. A., & Murphy, D. L. (1982). Monoamine oxidase type A: Differences in selectivity towards l-norepinephrine compared to serotonin. *Biochemical Pharmacology*, *31*(24), 4061-4066.
- Gendreau, P. L., Petitto, J. M., Petrova, A., Garipey, J., & Lewis, M. H. (2000). D(3) and D(2) dopamine receptor agonists differentially modulate isolation-induced social-emotional reactivity in mice. *Behavioural Brain Research*, *114*(1-2), 107-117.
- Gerra, G., Zaimovic, A., Giucastro, G., Maestri, D., Monica, C., Sartori, R., . . . Delsignore, R. (1998). Serotonergic function after ( $\pm$ )3,4-methylene-dioxymethamphetamine ('Ecstasy') in humans. *International Clinical Psychopharmacology*, *13*(1), 1-9.
- Gingrich, J. A., & Hen, R. (2001). Dissecting the role of the serotonin system in neuropsychiatric disorders using knockout mice. *Psychopharmacology*, *155*(1), 1-10.
- Glennon, R. A., Ismaiel, A. E. -. M., Martin, B., Poff, D., & Sutton, M. (1988). A preliminary behavioral investigation of PMMA, the 4-methoxy analog of methamphetamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *31*(1), 9-13.
- Glennon, R. A., & Misenheimer, B. R. (1989). Stimulus effects of N-monoethyl-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-aminopropane (MDE) and N-hydroxy-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-aminopropane (N-OH MDA) in rats trained to discriminate MDMA from saline. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *33*(4), 909-912.
- Glennon, R. A., & Young, R. (2002). Effect of 1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-aminopropane and its optical isomers in PMMA-trained rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *72*(1-2), 307-311.
- Glennon, R. A., Young, R., Dukat, M., & Cheng, Y. (1997). Initial characterization of PMMA as a discriminative stimulus. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *57*(1-2), 151-158.
- Glennon, R. A., Young, R., & Hauck, A. E. (1985). Structure-activity studies on methoxy-substituted phenylisopropylamines using drug discrimination methodology. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *22*(5), 723-729.
- Glennon, R. A., Yousif, M., & Patrick, G. (1988). Stimulus properties of 1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-aminopropane (MDA) analogs. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *29*(3), 443-449.

- Gold, L. H., Geyer, M. A., & Koob, G. F. (1989). Neurochemical mechanisms involved in behavioral effects of amphetamines and related designer drugs. *NIDA Research Monograph*, 94, 101-126.
- Gold, L. H., & Koob, G. F. (1988). Methysergide potentiates the hyperactivity produced by MDMA in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 29(3), 645-648.
- Gold, L. H., & Koob, G. F. (1989). MDMA produces stimulant-like conditioned locomotor activity. *Psychopharmacology*, 99(3), 352-356.
- Gold, L. H., Koob, G. F., & Geyer, M. A. (1988). Stimulant and hallucinogenic behavioral profiles of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and N-ethyl-3,4-methylenedioxyamphetamine in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 247(2), 547-555.
- Goldsmith, J. F., Brain, P. F., & Benton, D. (1978). Effects of the duration of individual or group housing on behavioural and adrenocortical reactivity in male mice. *Physiology & Behavior*, 21(5), 757-760.
- Golembiowska, K., Jurczak, A., Kaminska, K., Noworyta-Sokolowska, K., & Górska, A. (2015). Effect of some psychoactive drugs used as 'Legal highs' on brain neurotransmitters. *Neurotoxicity Research*, 1-14. Recuperado de <http://link.springer.com/article/10.1007/s12640-015-9569-1>.
- Gómez, M. C., Carrasco, M. C., & Redolat, R. (2008). Differential sensitivity to the effects of nicotine and bupropion in adolescent and adult male of1 mice during social interaction tests. *Aggressive Behavior*, 34(4), 369-379.
- González-Maeso, J., & Sealton, S. C. (2009). Psychedelics and schizophrenia. *Trends in Neurosciences*, 32(4), 225-232.
- Goodwin, G. M., & Green, A. R. (1985). A behavioural and biochemical study in mice and rats of putative selective agonists and antagonists for 5-HT1 and 5-HT2 receptors. *British Journal of Pharmacology*, 84(3), 743-753.
- Gordon, C. J., Watkinson, W. P., O'Callaghan, J. P., & Miller, D. B. (1991). Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine on autonomic thermoregulatory responses of the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38(2), 339-344.
- Gough, B., Imam, S. Z., Blough, B., Slikker Jr., W., & Ali, S. F. (2002). Comparative effects of substituted amphetamines (PMA, MDMA, and METH) on monoamines in rat caudate: A microdialysis study. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 965, 410-420.
- Gourley, S. L., Debold, J. F., Yin, W., Cook, J., & Miczek, K. A. (2005). Benzodiazepines and heightened aggressive behavior in rats: reduction by GABA-A/alpha(1) receptor antagonists. *Psychopharmacology*, 178(2-3), 232-240.
- Gouzoulis-Mayfrank, E., Hermle, L., Kovar, K. A., & Sass, H. (1996). The entactogens: Ecstasy (MDMA), eve (MDE) and other ring-substituted methamphetamine derivatives. [Die Entaktogene "Ecstasy" (MDMA), "Eve" (MDE) und andere ring-substituierte Methamphetaminderivate.] *Der Nervenarzt*, 67(5), 369-380.
- Gouzoulis-Mayfrank, E., & Hermle, L. (1998). Are The "Entactogens" a Distinct Psychoactive Substance Class? The Contribution of Human Experimental Studies to the Classification of MDMA and Other Chemically Related Methylenedioxyamphetamine Derivatives. *The Heffter Review of Psychedelic Research*, 1, 46-51.

- Gouzoulis-Mayfrank, E., Steiger, A., Ensslin, M., & Kovar, A. (1992). Sleep EEG effects of 3,4-methylenedioxyethylamphetamine (MDE; "eve") in healthy volunteers. *Biological Psychiatry*, 32(12), 1108-1117.
- Gouzoulis-Mayfrank, E., Thelen, B., Habermeyer, E., Kunert, H. J., Kovar, K. A., Lindenblatt, H., . . . Sass, H. (1999). Psychopathological, neuroendocrine and autonomic effects of 3,4-methylenedioxyethylamphetamine (MDE), psilocybin and d-methamphetamine in healthy volunteers. *Psychopharmacology*, 142(1), 41-50.
- Gouzoulis-Mayfrank, E., Von Bardeleben, U., Rupp, A., & Kovar, K. (1993). Neuroendocrine and cardiovascular effects of MDE in healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology*, 8(3), 187-193.
- Graeff, F. G., Guimarões, F. S., De Andrade, T. G. C. S., & Deakin, J. F. W. (1996). Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 54(1), 129-141.
- Graeff, F. G., Viana, M. B., & Mora, P. O. (1997). Dual role of 5-HT in defense and anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 21(6), 791-799.
- Grahame-Smith, D. G. (1971a). Inhibitory effect of chlorpromazine on the syndrome of hyperactivity produced by L-tryptophan or 5-methoxy-N,N-dimethyltryptamine in rats treated with a monoamine oxidase inhibitor. *British Journal of Pharmacology*, 43(4), 856-864.
- Grahame-Smith, D. G. (1971b). Studies in vivo on the relationship between brain tryptophan, brain 5-HT synthesis and hyperactivity in rats treated with a monoamine oxidase inhibitor and L-tryptophan. *Journal of Neurochemistry*, 18(6), 1053-1066.
- Green, A., & HAIT, M. A. E. (1980). p-Methoxyamphetamine, a potent reversible inhibitor of type-A monoamine oxidase in vitro and in vivo. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 32(1), 262-266.
- Green, A. R., & Grahame-Smith, D. G. (1976). Effects of drugs on the processes regulating the functional activity of brain 5-hydroxytryptamine. *Nature*, 260(5551), 487-491.
- Green, A. R., & Kelly, P. H. (1976). Evidence concerning the involvement of 5-hydroxytryptamine in the locomotor activity produced by amphetamine or tranlycypromine plus L-DOPA. *British Journal of Pharmacology*, 57(1), 141-147.
- Green, A. R., Mechan, A. O., Elliott, J. M., O'Shea, E., & Colado, M. I. (2003). The pharmacology and clinical pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy"). *Pharmacological Reviews*, 55(3), 463-508.
- Grimes, J. M., & Melloni, R. H., Jr. (2005). Serotonin-1B receptor activity and expression modulate the aggression-stimulating effects of adolescent anabolic steroid exposure in hamsters. *Behavioral Neuroscience*, 119(5), 1184-1194.
- Grob, C. S., Poland, R. E., Chang, L., & Ernst, T. (1995). Psychobiologic effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in humans: methodological considerations and preliminary observations. *Behavioural Brain Research*, 73(1-2), 103-107.
- Gudelsky, G. A., & Yamamoto, B. K. (2008). Actions of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on cerebral dopaminergic, serotonergic and cholinergic neurons. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 90(2), 198-207.
- Guillot, C. R., & Berman, M. E. (2007). MDMA (ecstasy) use and psychiatric problems. *Psychopharmacology*, 189(4), 575-576.

- Guillot, P. V., & Chapouthier, G. (1996). Olfaction, GABAergic neurotransmission in the olfactory bulb, and intermale aggression in mice: Modulation by steroids. *Behavior Genetics*, 26(5), 497-504.
- Guillot, P. V., & Chapouthier, G. (1998). Intermale aggression, GAD activity in the olfactory bulbs and Y chromosome effect in seven inbred mouse strains. *Behavioural Brain Research*, 90(2), 203-206.
- Guo, S. (2009). Animal models for anxiety disorders. En Turck, C. (Eds), *Biomarkers for Psychiatric Disorders* (pp. 203-216). Springer.
- Gurtman, C. G., Morley, K. C., Li, K. M., Hunt, G. E., & McGregor, I. S. (2002). Increased anxiety in rats after 3,4-methylenedioxymethamphetamine: Association with serotonin depletion. *European Journal of Pharmacology*, 446(1-3), 89-96.
- Gutzler, S. J., Karom, M., Erwin, W., & Albers, H. (2010). Arginine-vasopressin and the regulation of aggression in female Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *European Journal of Neuroscience*, 31(9), 1655-1663.
- Halasz, J., Toth, M., Kallo, I., Liposits, Z., & Haller, J. (2006). The activation of prefrontal cortical neurons in aggression--a double labeling study. *Behavioural Brain Research*, 175(1), 166-175.
- Halberstadt, A. L., & Nichols, D. E. (2010). Serotonin and Serotonin Receptors in Hallucinogen Action. En *Handbook of Behavioral Neuroscience* (pp. 621-636). Elsevier.
- Haller, J. (1995). Biochemical background for an analysis of cost-benefit interrelations in aggression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 19(4), 599-604.
- Haller, J. (2013). The neurobiology of abnormal manifestations of aggression—A review of hypothalamic mechanisms in cats, rodents, and humans. *Brain Research Bulletin*, 93(0), 97-109.
- Haller, J., & Alicki, M. (2012). Current animal models of anxiety, anxiety disorders, and anxiolytic drugs. *Current Opinion in Psychiatry*, 25(1), 59-64.
- Haller, J., Halasz, J., Mikics, E., & Kruk, M. R. (2004). Chronic Glucocorticoid Deficiency-Induced Abnormal Aggression, Autonomic Hypoarousal, and Social Deficit in Rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 16(6), 550-557.
- Haller, J., & Kruk, M. R. (2006). Normal and abnormal aggression: human disorders and novel laboratory models. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 30(3), 292-303.
- Haller, J., Mikics, E., Halasz, J., & Toth, M. (2005). Mechanisms differentiating normal from abnormal aggression: glucocorticoids and serotonin. *European Journal of Pharmacology*, 526(1-3), 89-100.
- Haller, J., Van De Schraaf, J., & Kruk, M. R. (2001). Deviant forms of aggression in glucocorticoid hyporeactive rats: a model for 'pathological' aggression? *Journal of Neuroendocrinology*, 13(1), 102-107.
- Halpin, L. E., Collins, S. A., & Yamamoto, B. K. (2014). Neurotoxicity of methamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *Life Sciences*, 97(1), 37-44.
- Hamida, S. B., Bach, S., Plute, E., Jones, B. C., Kelche, C., & Cassel, J. C. (2006). Ethanol-ecstasy (MDMA) interactions in rats: preserved attenuation of hyperthermia and potentiation of hyperactivity by ethanol despite prior ethanol treatment. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 84(1), 162-168.

- Handley, S. L., & Mithani, S. (1984). Effects of alpha-2 adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of fear-motivated behaviour. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 327(1), 1-5.
- Hånell, A., & Marklund, N. (2014). Structured evaluation of rodent behavioral tests used in drug discovery research. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8(252), 1-13.
- Haney, M., Debold, J. F., & Miczek, K. A. (1989). Maternal aggression in mice and rats towards male and female conspecifics. *Aggressive Behavior*, 15(6), 443-453.
- Hatoum, H. T., & Davis, W. M. (1978). Motility effects of amphetamine and 4-methoxyamphetamine (PMA): Interaction with agents altering central neuromediators. *Research Communications in Psychology, Psychiatry and Behavior*, 3(4), 325-334.
- Haubensak, W., Kunwar, P. S., Cai, H., Ciochi, S., Wall, N. R., Ponnusamy, R., . . . Anderson, D. J. (2010). Genetic dissection of an amygdala microcircuit that gates conditioned fear. *Nature*, 468(7321), 270-276.
- Hawrylak, B., Palepu, R., & Tremaine, P. R. (2006). Thermodynamics of aqueous methyldiethanolamine (MDEA) and methyldiethanolammonium chloride (MDEAH+Cl<sup>-</sup>) over a wide range of temperature and pressure: Apparent molar volumes, heat capacities, and isothermal compressibilities. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 38(8), 988-1007.
- Hegadoren, K. M., Baker, G. B., & Bourin, M. (1999). 3,4-methylenedioxy analogues of amphetamine: Defining the risks to humans. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 23(4), 539-553.
- Hegadoren, K. M., Baker, G. B., & Coutts, R. T. (1995). Analysis of the enantiomers of 3,4-methylenedioxy-N-ethylamphetamine (MDE, 'eve') and its metabolite 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA) in rat brain. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 34(2), 117-123.
- Hegadoren, K. M., Greenshaw, A. J., Baker, G. B., Martin-Iverson, M. T., Lodge, B. A., & Soin, S. (1994). 4-Ethoxyamphetamine: Effects on intracranial self-stimulation and in vitro uptake and release of 3H-dopamine and 3H-serotonin in the brains of rats. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 19(1), 57-62.
- Hegadoren, K. M., Martin-Iverson, M. T., & Baker, G. B. (1995). Comparative behavioural and neurochemical studies with a psychomotor stimulant, an hallucinogen and 3,4-methylenedioxy analogues of amphetamine. *Psychopharmacology*, 118(3), 295-304.
- Heinz, A. J., Beck, A., Meyer-Lindenberg, A., Sterzer, P., & Heinz, A. (2011). Cognitive and neurobiological mechanisms of alcohol-related aggression. *Nature Reviews. Neuroscience*, 12(7), 400-413.
- Henry, J. A., Fallon, J. K., Kicman, A. T., Hutt, A. J., Cowan, D. A., & Forsling, M. (1998). Low-dose MDMA ("ecstasy") induces vasopressin secretion. *The Lancet*, 351(9118), 1784-1784.
- Herman, J. P., Mueller, N. K., & Figueiredo, H. (2004). Role of GABA and glutamate circuitry in hypothalamo-pituitary-adrenocortical stress integration. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1018, 35-45.
- Hess, W. R., & Akert, K. (1955). Experimental data on role of hypothalamus in mechanism of emotional behavior. *A.M.A. Archives of Neurology and Psychiatry*, 73(2), 127-129.

- Hewton, R., Salem, A., & Irvine, R. J. (2007). Potentiation of 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced 5-HT release in the rat substantia nigra by clorgyline, a monoamine oxidase a inhibitor. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *34*(10), 1051-1057.
- Hillebrand, J., Olszewski, D., & Sedefov, R. (2010). Legal highs on the internet. *Substance Use & Misuse*, *45*(3), 330-340.
- Hitchcock, J., & Davis, M. (1986). Lesions of the amygdala, but not of the cerebellum or red nucleus, block conditioned fear as measured with the potentiated startle paradigm. *Behavioral Neuroscience*, *100*(1), 11-22.
- Hitzemann, R. J., Loh, H. H., & Domino, E. F. (1971). Effect of para-methoxyamphetamine on catecholamine metabolism in the mouse brain. *Life Sciences*, *10*(19, Part 1), 1087-1095.
- Ho, Y., Pawlak, C. R., Guo, L., & Schwarting, R. K. W. (2004). Acute and long-term consequences of single MDMA administration in relation to individual anxiety levels in the rat. *Behavioural Brain Research*, *149*(2), 135-144.
- Hogg, S. (1996). A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *54*(1), 21-30.
- Holmes, A., Parmigiani, S., Ferrari, P. F., Palanza, P., & Rodgers, R. J. (2000). Behavioral profile of wild mice in the elevated plus-maze test for anxiety. *Physiology and Behavior*, *71*(5), 509-516.
- Homberg, J. R., Schiepers, O. J., Schoffeleers, A. N., Cuppen, E., & Vanderschuren, L. J. (2007). Acute and constitutive increases in central serotonin levels reduce social play behaviour in peri-adolescent rats. *Psychopharmacology*, *195*(2), 175-182.
- Houston, R. J., Stanford, M. S., Villemarette-Pittman, N. R., Conklin, S. M., & Helfritz, L. E. (2003). Neurobiological correlates and clinical implications of aggressive subtypes. *Journal of Forensic Neuropsychology*, *3*(4), 67-87.
- Hrabovszky, E., Halasz, J., Meelis, W., Kruk, M. R., Liposits, Z., & Haller, J. (2005). Neurochemical characterization of hypothalamic neurons involved in attack behavior: glutamatergic dominance and co-expression of thyrotropin-releasing hormone in a subset of glutamatergic neurons. *Neuroscience*, *133*(3), 657-666.
- Huang, J. -, & Ho, B. T. (1974). Discriminative stimulus properties of d-amphetamine and related compounds in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *2*(5), 669-673.
- Hubner, C. B., Bird, M., Rassnick, S., & Kornetsky, C. (1988). The threshold lowering effects of MDMA (ecstasy) on brain-stimulation reward. *Psychopharmacology*, *95*(1), 49-51.
- Hunt, C., & Hambly, C. (2006). Faecal corticosterone concentrations indicate that separately housed male mice are not more stressed than group housed males. *Physiology & Behavior*, *87*(3), 519-526.
- Hunt, G. E., McGregor, I. S., Cornish, J. L., & Callaghan, P. D. (2011). MDMA-induced c-Fos expression in oxytocin-containing neurons is blocked by pretreatment with the 5-HT-1A receptor antagonist WAY 100635. *Brain Research Bulletin*, *86*(1-2), 65-73.
- Hurst, J. L. (1987). Behavioural variation in wild house mice *Mus domesticus* Ruddy: a quantitative assessment of female social organization. *Animal Behaviour*, *35*(6), 1846-1857.



- Hysek, C. M., Vollenweider, F. X., & Liechti, M. E. (2010). Effects of a  $\beta$ -blocker on the cardiovascular response to MDMA (Ecstasy). *Emergency Medicine Journal*, 27(8), 586-589.
- Irvine, R. J., Toop, N. P., Phillis, B. D., & Lewanowitsch, T. (2001). The acute cardiovascular effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and p-methoxyamphetamine (PMA). *Addiction Biology*, 6(1), 45-54.
- Iwersen, S., & Schmoldt, A. (1996). Two Very Different Fatal Cases Associated with the Use of Methylenedioxyethylamphet-amine (MDEA): Eve as Deadly as Adam. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 34(2), 241-244.
- Jacob, T. C., Moss, S. J., & Jurd, R. (2008). GABA-A receptor trafficking and its role in the dynamic modulation of neuronal inhibition. *Nature Reviews. Neuroscience*, 9(5), 331-343.
- Jaehne, E. J. (2010). *Thermoregulatory, behavioural and neurochemical effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and related stimulant drugs*. Tesis Doctoral. University of Adelaide. Recuperado de <http://hdl.handle.net/2440/62480>.
- Jaehne, E. J., Salem, A., & Irvine, R. J. (2005). Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and related amphetamines on autonomic and behavioral thermoregulation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 81(3), 485-496.
- Jaehne, E. J., Salem, A., & Irvine, R. J. (2007). Pharmacological and behavioral determinants of cocaine, methamphetamine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine, and para-methoxyamphetamine-induced hyperthermia. *Psychopharmacology*, 194(1), 41-52.
- Jahanshahi, M., Nikmahzar, E. G., Babakordi, F., Khosravi, M., & Seid-Hosseini, F. (2013). Ecstasy, anxiety and rat hippocampal astrocytes. *European Journal of Anatomy*, 17(1), 23-28.
- James, R. A., & Dinan, A. (1998). Hyperpyrexia Associated with Fatal Paramethoxyamphetamine (PMA) Abuse. *Medicine, Science and the Law*, 38(1), 83-85.
- Janak, P. H., & Tye, K. M. (2015). From circuits to behaviour in the amygdala. *Nature*, 517(7534), 284-292.
- Jennings, J. H., Sparta, D. R., Stamatakis, A. M., Ung, R. L., Pleil, K. E., Kash, T. L., & Stuber, G. D. (2013). Distinct extended amygdala circuits for divergent motivational states. *Nature*, 496(7444), 224-228.
- Johansen, P. O., & Krebs, T. S. (2009). How could MDMA (ecstasy) help anxiety disorders? A neurobiological rationale. *Journal of Psychopharmacology*, 23(4), 389-391.
- Johansen, S. S., Hansen, A. C., Müller, I. B., Lundemose, J. B., & Franzmann, M. -. (2003). Three fatal cases of PMA and PMMA poisoning in Denmark. *Journal of Analytical Toxicology*, 27(4), 253-256.
- Johnson, M. P., Conarty, P. F., & Nichols, D. E. (1991). [3H]monoamine releasing and uptake inhibition properties of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and p-chloroamphetamine analogues. *European Journal of Pharmacology*, 200(1), 9-16.
- Johnson, M. P., Hoffman, A. J., & Nichols, D. E. (1986). Effects of the enantiomers of MDA, MDMA and related analogues on [3H]serotonin and [3H]dopamine release from superfused rat brain slices. *European Journal of Pharmacology*, 132(2-3), 269-276.

- Johnson, M. P., & Nichols, D. E. (1989). Neurotoxic effects of the alpha-ethyl homologue of MDMA following subacute administration. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *33*(1), 105-108.
- Johnson, M., Hanson, G. R., & Gibb, J. W. (1987). Effects of N-ethyl-3,4-methylenedioxyamphetamine (MDE) on central serotonergic and dopaminergic systems of the rat. *Biochemical Pharmacology*, *36*(23), 4085-4093.
- Johnson, M., Hanson, G. R., & Gibb, J. W. (1989). Characterization of acute N-ethyl-3,4-methylenedioxyamphetamine (MDE) action on the central serotonergic system. *Biochemical Pharmacology*, *38*(23), 4333-4338.
- Jolkkonen, E., & Pitkanen, A. (1998). Intrinsic connections of the rat amygdaloid complex: Projections originating in the central nucleus. *Journal of Comparative Neurology*, *395*(1), 53-72.
- Jones, R. B., & Nowell, N. W. (1975). Effects of clean and soiled sawdust substrates and of different urine types upon aggressive behavior in male mice. *Aggressive Behavior*, *1*(2), 111-121.
- Joppa, M. A., Rowe, R. K., & Meisel, R. L. (1997). Effects of serotonin 1A or 1B receptor agonists on social aggression in male and female Syrian hamsters. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *58*(2), 349-353.
- Julou, L., Bardone, M. C., Blanchard, J. C., Garret, C., & Stutzmann, J. M. (1983). Pharmacological studies on zopiclone. *Pharmacology*, *27 Suppl 2*, 46-58.
- Kalant, H. (2001). The pharmacology and toxicology of "ecstasy" (MDMA) and related drugs. *CMAJ*, *165*(7), 917-928.
- Kamilar-Britt, P., & Bedi, G. (2015). The prosocial effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA): Controlled studies in humans and laboratory animals. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *57*, 433-446.
- Kaminskas, L. M., Irvine, R. J., Callaghan, P. D., White, J. M., & Kirkbride, P. (2002). The contribution of the metabolite p-hydroxyamphetamine to the central actions of p-methoxyamphetamine. *Psychopharmacology*, *160*(2), 155-160.
- Kantak, K. M., Hegstrand, L. R., Whitman, J., & Eichelman, B. (1980). Effects of dietary supplements and a tryptophan-free diet on aggressive behavior in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *12*(2), 173-179.
- Kapp, B. S., Frysinger, R. C., Gallagher, M., & Haselton, J. R. (1979). Amygdala central nucleus lesions: Effect on heart rate conditioning in the rabbit. *Physiology and Behavior*, *23*(6), 1109-1117.
- Karuppagounder, S. S., Bhattacharya, D., Ahuja, M., Suppiramaniam, V., DeRuiter, J., Clark, R., & Dhanasekaran, M. (2014). Elucidating the neurotoxic effects of MDMA and its analogs. *Life Sciences*, *101*(1-2), 37-42.
- Kehne, J. H., Ketteler, H. J., McCloskey, T. C., Sullivan, C. K., Dudley, M. W., & Schmidt, C. J. (1996). Effects of the selective 5-HT<sub>2A</sub> receptor antagonist MDL 100,907 on MDMA-induced locomotor stimulation in rats. *Neuropsychopharmacology*, *15*(2), 116-124.
- Kemble, E. D., Blanchard, D. C., & Blanchard, R. J. (1993). Methods in behavioral pharmacology: measurement of aggression. *Techniques in the Behavioral and Neural Sciences*, *10*(5), 539-559.

- Kemble, E. D., & Goblirsch, M. J. (1997). Effect of illumination condition on risk assessment behaviors of mice. *Psychological Record*, 47(1), 167-174.
- Kempes, M., Matthys, W., De Vries, H., & Van Engeland, H. (2005). Reactive and proactive aggression in children. A review of theory, findings and the relevance for child and adolescent psychiatry. *European Child and Adolescent Psychiatry*, 14(1), 11-19.
- Ketabi-Kiyanvash, N., Weiss, J., Haefeli, W. E., & Mikus, G. (2003). P-glycoprotein modulation by the designer drugs methylenedioxymethamphetamine, methylenedioxyethylamphetamine and paramethoxyamphetamine. *Addiction Biology*, 8(4), 413-418.
- Kikura, R., Nakahara, Y., Mieczkowski, T., & Tagliaro, F. (1997). Hair analysis for drug abuse. XV. Disposition of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and its related compounds into rat hair and application to hair analysis for MDMA abuse. *Forensic Science International*, 84(1-3), 165-177.
- Kikura-Hanajiri, R., Kawamura, M., Saisho, K., Kodama, Y., & Goda, Y. (2007). The disposition into hair of new designer drugs; methylone, MBDB and methcathinone. *Journal of Chromatography B*, 855(2 SPEC. ISS.), 121-126.
- Kim, J. Y., Cheong, J. C., Ko, B. J., Lee, S. K., Yoo, H. H., Jin, C., & In, M. K. (2008). Simultaneous determination of methamphetamine, 3,4-methylenedioxy-N-methylamphetamine, 3,4-methylenedioxy-N-ethylamphetamine, N,N-dimethylamphetamine, and their metabolites in urine by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Archives of Pharmacal Research*, 31(12), 1644-1651.
- Kim, J., & Gorman, J. (2005). The psychobiology of anxiety. *Clinical Neuroscience Research*, 4(5-6), 335-347.
- Kim, S. Y., Adhikari, A., Lee, S. Y., Marshel, J. H., Kim, C. K., Mallory, C. S., . . . Deisseroth, K. (2013). Diverging neural pathways assemble a behavioural state from separable features in anxiety. *Nature*, 496(7444), 219-223.
- Kindlundh-Högberg, A. M. S., Schiöth, H. B., & Svenningsson, P. (2007). Repeated intermittent MDMA binges reduce DAT density in mice and SERT density in rats in reward regions of the adolescent brain. *Neurotoxicology*, 28(6), 1158-1169.
- Kindlundh-Högberg, A. M. S., Zhang, X., & Svenningsson, P. (2009). S100B overexpressing mutant mice exhibit prolonged behavioural and biochemical responses towards repeated intermittent binge treatments with MDMA. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 12(2), 201-215.
- King, L. A. (2014). New phenethylamines in Europe. *Drug Testing and Analysis*, 6(7-8), 808-818.
- Kingsbury, S. J., Lambert, M. T., & Hendrickse, W. (1997). A two-factor model of aggression. *Psychiatry*, 60(3), 224-232.
- Kirilly, E. (2010). Long-term neuronal damage and recovery after a single dose of MDMA: expression and distribution of serotonin transporter in the rat brain. *Neuropsychopharmacologia Hungarica*, 12(3), 413-423.
- Kirilly, E., Benko, A., Ferrington, L., Andó, R. D., Kelly, P. A. T., & Bagdy, G. (2006). Acute and long-term effects of a single dose of MDMA on aggression in dark agouti rats. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 9(1), 63-76.

- Kirk, R. E. (2007). Effect magnitude: A different focus. *Journal of Statistical Planning and Inference*, 137(5), 1634-1646.
- Kitchen, I., Tremblay, J., & Andre, J. (1979). Interindividual and interspecies variation in the metabolism of the hallucinogen 4-methoxyamphetamine. *Xenobiotica*, 9(7), 397-404.
- Klarer, M., Arnold, M., Gunther, L., Winter, C., Langhans, W., & Meyer, U. (2014). Gut vagal afferents differentially modulate innate anxiety and learned fear. *Journal of neuroscience*, 34(21), 7067-7076.
- Kolyaduke, O. V., & Hughes, R. N. (2013). Increased anxiety-related behavior in male and female adult rats following early and late adolescent exposure to 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 103(4), 742-749.
- Koolhaas, J., & Bohus, B. (1991). Animal models of human aggression. *Animal models in Psychiatry, II* (pp. 249-271) Springer.
- Koolhaas, J. M. (1978). Hypothalamically induced intraspecific aggressive behaviour in the rat. *Experimental Brain Research*, 32(3), 365-375.
- Kovacsics, C. E., & Gould, T. D. (2010). Shock-induced aggression in mice is modified by lithium. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 94(3), 380-386.
- Kraemer, T., & Maurer, H. H. (2002). Toxicokinetics of amphetamines: Metabolism and toxicokinetic data of designer drugs, amphetamine, methamphetamine, and their N-alkyl derivatives. *Therapeutic Drug Monitoring*, 24(2), 277-289.
- Kraner, J. C., McCoy, D. J., Evans, M. A., Evans, L. E., & Sweeney, B. J. (2001). Fatalities caused by the MDMA-related drug paramethoxyamphetamine (PMA). *Journal of Analytical Toxicology*, 25(7), 645-648.
- Krebs-Thomson, K., Ruiz, E. M., Masten, V., Buell, M., & Geyer, M. A. (2006). The roles of 5-HT1A and 5-HT2 receptors in the effects of 5-MeO-DMT on locomotor activity and prepulse inhibition in rats. *Psychopharmacology*, 189(3), 319-329.
- Kronstrand, R. (1996). Identification of N-methyl-1-(3,4-methylenedioxyphenyl)-2-butanamine (MBDB) in urine from drug users. *Journal of Analytical Toxicology*, 20(6), 512-516.
- Krsiak, M. (1979). Effects of drugs on behaviour of aggressive mice. *British Journal of Pharmacology*, 65(3), 525-533.
- Krsiak, M. (1991). Ethopharmacology: A historical perspective. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 15(4), 439-445.
- Krsiak, M., Sulcova, A., Donat, P., Tomasikova, Z., Dlohozkova, N., Kosar, E., & Masek, K. (1984). Can social and agonistic interactions be used to detect anxiolytic activity of drugs? *Progress in Clinical and Biological Research*, 167, 93-114.
- Kruk, M. R. (1991). Ethology and pharmacology of hypothalamic aggression in the rat. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 15(4), 527-538.
- Kumar, V., Bhat, Z. A., & Kumar, D. (2013). Animal models of anxiety: A comprehensive review. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 68(2), 175-183.
- Latham, N., & Mason, G. (2004). From house mouse to mouse house: The behavioural biology of free-living *Mus musculus* and its implications in the laboratory. *Applied Animal Behaviour Science*, 86(3-4), 261-289.
- Le Greves, P., Huang, W., Johansson, P., Thornwall, M., Zhou, Q., & Nyberg, F. (1997). Effects of an anabolic-androgenic steroid on the regulation of the NMDA receptor NR1, NR2A

- and NR2B subunit mRNAs in brain regions of the male rat. *Neuroscience Letters*, 226(1), 61-64.
- Lebsanft, H. B., Kovar, K., & Schmidt, W. J. (2005). 3, 4-Methylenedioxymethamphetamine and naloxone in rat rotational behaviour and open field. *European Journal of Pharmacology*, 516(1), 34-39.
- Lebsanft, H. B., Mayerhofer, A., Kovar, K. -, & Schmidt, W. J. (2003). Is the ecstasy-induced ipsilateral rotation in 6-hydroxydopamine unilaterally lesioned rats dopamine independent? *Journal of Neural Transmission*, 110(7), 707-718.
- LeDoux, J. E. (2000). Emotion circuits in the brain. *Annual Review of Neuroscience*, 23, 155-184.
- LeDoux, J. E., Cicchetti, P., Xagoraris, A., & Romanski, L. M. (1990). The lateral amygdaloid nucleus: sensory interface of the amygdala in fear conditioning. *Journal of neuroscience*, 10(4), 1062-1069.
- LeDoux, J. E., Iwata, J., Cicchetti, P., & Reis, D. J. (1988). Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate autonomic and behavioral correlates of conditioned fear. *Journal of Neuroscience*, 8(7), 2517-2529.
- Leonardi, E. T. K., & Azmitia, E. C. (1994). MDMA (ecstasy) inhibition of MAO type A and type B: Comparisons with fenfluramine and fluoxetine (prozac). *Neuropsychopharmacology*, 10(4), 231-238.
- Leung, H. -, & Ballantyne, B. (1998). Developmental toxicity evaluation of N-methyl-diethanolamine (MDEA) applied cutaneously to CD@174 rats. *Toxicology letters*, 95(Supplement 1), 212-213.
- Leyhausen, P., & Tonkin, B. A. (1979). *Cat behaviour. The predatory and social behaviour of domestic and wild cats*. Garland STPM Press.
- Leypold, B. G., Yu, C. R., Leinders-Zufall, T., Kim, M. M., Zufall, F., & Axel, R. (2002). Altered sexual and social behaviors in trp2 mutant mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(9), 6376-6381.
- Li, C. I., Maglinao, T. L., & Takahashi, L. K. (2004). Medial Amygdala Modulation of Predator Odor-Induced Unconditioned Fear in the Rat. *Behavioral Neuroscience*, 118(2), 324-332.
- Li, H., Penzo, M. A., Taniguchi, H., Kopec, C. D., Huang, Z. J., & Li, B. (2013). Experience-dependent modification of a central amygdala fear circuit. *Nature Neuroscience*, 16(3), 332-339.
- Li, Q., Murakami, I., Stall, S., Levy, A. D., Brownfield, M. S., Nichols, D. E., & Van De Kar, L. D. (1996). Neuroendocrine pharmacology of three serotonin releasers: 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(methylamino)butane (MBDB), 5-methoxy-6-methyl-2-aminoindan (MMAI) and p-methylthioamphetamine (MTA). *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 279(3), 1261-1267.
- Liebenauer, L. L., & Slotnick, B. M. (1996). Social organization and aggression in a group of olfactory bulbectomized male mice. *Physiology & Behavior*, 60(2), 403-409.
- Liechti, M. E. (2015). Novel psychoactive substances (designer drugs): Overview and pharmacology of modulators of monoamine signaling. *Swiss Medical Weekly*, 145, w14043.

- Liechti, M. E., Baumann, C., Gamma, A., & Vollenweider, F. X. (2000). Acute psychological effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, 'Ecstasy') are attenuated by the serotonin uptake inhibitor citalopram. *Neuropsychopharmacology*, 22(5), 513-521.
- Liechti, M. E., Saur, M.R., Gamma, A., Hell, D., Vollenweider, F.X. (2000) Psychological and physiological effects of MDMA ("ecstasy") after pre-treatment with the 5-HT2 antagonist ketanserin in healthy humans. *Neuropsychopharmacology*, 23:396-404
- Liechti, M. E., & Vollenweider, F. X. (2000). Acute psychological and physiological effects of MDMA ("ecstasy") after haloperidol pretreatment in healthy humans. *European Neuropsychopharmacology*, 10(4), 289-295.
- Likhtik, E., Stujenske, J. M., Topiwala, M. A., Harris, A. Z., & Gordon, J. A. (2014). Prefrontal entrainment of amygdala activity signals safety in learned fear and innate anxiety. *Nature Neuroscience*, 17(1), 106-113.
- Lim, H. K., Zeng, S., Chei, D. M., & Foltz, R. L. (1992). Comparative investigation of disposition of 3,4-(methylenedioxy)methamphetamine (MDMA) in the rat and the mouse by a capillary gas chromatography—mass spectrometry assay based on perfluorotributylamine-enhanced ammonia positive ion chemical ionization. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 10(9), 657-665.
- Lin, D., Boyle, M. P., Dollar, P., Lee, H., Lein, E. S., Perona, P., & Anderson, D. J. (2011). Functional identification of an aggression locus in the mouse hypothalamus. *Nature*, 470(7333), 221-227.
- Lin, D. L., Liu, H. C., & Yin, H. L. (2007). Recent paramethoxymethamphetamine (PMMA) deaths in Taiwan. *Journal of Analytical Toxicology*, 31(2), 109-113.
- Lin, H. Q., Burden, P. M., Christie, M. J., & Johnston, G. A. R. (1999). The anxiogenic-like and anxiolytic-like effects of MDMA on mice in the elevated plus-maze: A comparison with amphetamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 62(3), 403-408.
- Lin, M. T., Tsay, H. J., Su, W. H., & Chueh, F. Y. (1998). Changes in extracellular serotonin in rat hypothalamus affect thermoregulatory function. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 274(5 43-5), R1260-R1267.
- Ling, L. H., Marchant, C., Buckley, N. A., Prior, M., & Irvine, R. J. (2001). Poisoning with the recreational drug paramethoxyamphetamine ("death"). *Medical Journal of Australia*, 174(9), 453-455.
- Lister, R. G. (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*, 92(2), 180-185.
- Litvin, Y., Blanchard, D. C., Pentkowski, N. S., & Blanchard, R. J. (2007). A pinch or a lesion: a reconceptualization of biting consequences in mice. *Aggressive Behavior*, 33(6), 545-551.
- Litvin, Y., Pentkowski, N. S., Pobbe, R. L., Blanchard, D. C., & Blanchard, R. J. (2008). Unconditioned models of fear and anxiety. En *Handbook of Behavioral Neuroscience*, 17, (pp. 81-99). Elsevier.
- Liu, J., Zhai, W. -, Yang, Y. -, Shi, J. -, Liu, Q. -, Liu, G. -, . . . Guo, J. -. (2015). GABA and 5-HT systems are implicated in the anxiolytic-like effect of spinosin in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 128, 41-49.

- Longone, P., di Michele, F., D'Agati, E., Romeo, E., Pasini, A., & Rupprecht, R. (2011). Neurosteroids as neuromodulators in the treatment of anxiety disorders. *Frontiers in Endocrinology*, 2(OCT)
- Lonstein, J. S., & Gammie, S. C. (2002). Sensory, hormonal, and neural control of maternal aggression in laboratory rodents. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 26(8), 869-888.
- Lora-Tamayo, C., Tena, T., & Rodríguez, A. (1997). Amphetamine derivative related deaths. *Forensic Science International*, 85(2), 149-157.
- Ludwig, V., Mihov, Y., & Schwarting, R. K. (2008). Behavioral and neurochemical consequences of multiple MDMA administrations in the rat: role of individual differences in anxiety-related behavior. *Behavioural Brain Research*, 189(1), 52-64.
- Lumley, L. A., Robison, C. L., Slusher, B. S., Wozniak, K., Dawood, M., & Meyerhoff, J. L. (2004). Reduced isolation-induced aggressiveness in mice following NAALADase inhibition. *Psychopharmacology*, 171(4), 375-381.
- Lumley, L. A., Charles, R. F., Charles, R. C., Hebert, M. A., Morton, D. M., & Meyerhoff, J. L. (2000). Effects of social defeat and of diazepam on behavior in a resident-intruder test in male DBA/2 mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 67(3), 433-447.
- Lurie, Y., Gopher, A., Lavon, O., Almog, S., Sulimani, L., & Bentur, Y. (2012). Severe paramethoxymethamphetamine (PMMA) and paramethoxyamphetamine (PMA) outbreak in Israel. *Clinical Toxicology*, 50(1), 39-43.
- Lynds, P. (1980). Intermale fighting and predatory behavior in house mice: An analysis of behavioral content. *Aggressive Behavior*, 6(2), 139-147.
- Macbeth, G. E. (2013). Modulación completa de la calibración mediante. El anclaje en tareas de razonamiento abstracto. *Boletín de Psicología*, 108, 25-36.
- Macbeth, G. E., Razumiejczyk, E., & Ledesma, R. D. (2011). Cliff's delta calculator: A non-parametric effect size program for two groups of observations. *Universitas Psychologica*, 10(2), 545-555.
- Machado-de-Sousa, J. P., Osorio Fde, L., Jackowski, A. P., Bressan, R. A., Chagas, M. H., Torro-Alves, N., . . . Hallak, J. E. (2014). Increased amygdalar and hippocampal volumes in young adults with social anxiety. *PloS one*, 9(2), e88523.
- Machalova, A., Slais, K., Vrskova, D., & Sulcova, A. (2012). Differential effects of modafinil, methamphetamine, and MDMA on agonistic behavior in male mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 102(2), 215-223.
- Mackintosh, J. (1970). Territory formation by laboratory mice. *Animal Behaviour*, 18, 177-183.
- Majewska, M. D. (1987). Steroids and brain activity. Essential dialogue between body and mind. *Biochemical Pharmacology*, 36(22), 3781-3788.
- Majumder, I., White, J. M., & Irvine, R. J. (2012). Antidepressant-like effects of ecstasy in subjects with a predisposition to depression. *Addictive Behaviors*, 37(10), 1189-1192.
- Malberg, J. E., Sabol, K. E., & Seiden, L. S. (1996). Co-administration of MDMA with drugs that protect against MDMA neurotoxicity produces different effects on body temperature in the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 278(1), 258-267.
- Malberg, J. E., & Seiden, L. S. (1998). Small changes in ambient temperature cause large changes in 3,4- methylenedioxymethamphetamine (MDMA)-induced serotonin

- neurotoxicity and core body temperature in the rat. *Journal of Neuroscience*, 18(13), 5086-5094.
- Maldonado, E. (2000). *Perfil conductual del MDMA (éxtasis) en modelos animales de agresión y ansiedad*. Tesis doctoral. Universidad de Málaga.
- Maldonado, E., & Navarro, J. F. (2000). Effects of 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) on anxiety in mice tested in the light/dark box. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 24(3), 463-472.
- Maldonado, E., & Navarro, J. F. (2001a). Efectos conductuales del MDMA ("éxtasis") en animales de experimentación. *Psiquiatría Biológica*, 8(3), 100-112.
- Maldonado, E., & Navarro, J. F. (2001b). MDMA ('ecstasy') exhibits an anxiogenic-like activity in social encounters between male mice. *Pharmacological Research*, 44(1), 27-31.
- Maldonado, E., Navarro, J. F., Cárdenas, J., Dávila, G., & Cavas, M. (2000). Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy") on anxiety in the "social interaction test" in male mice (P3.018). *European Neuropsychopharmacology*, 10, Supplement 3(0), 341.
- Malick, J. B. (1979). The pharmacology of isolation-induced aggressive behavior in mice. *Current Developments in Psychopharmacology*, 5, 1-27.
- Malpass, A., White, J. M., Irvine, R. J., Somogyi, A. A., & Bochner, F. (1999). Acute toxicity of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in sprague-dawley and dark agouti rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 64(1), 29-34.
- Manzaneque, J. M., Brain, P. F., & Navarro, J. F. (2002). Effect of low doses of clozapine on behaviour of isolated and group-housed male mice in the elevated plus-maze test. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 26(2), 349-355.
- Maren, S. (2011). Seeking a Spotless Mind: Extinction, Deconsolidation, and Erasure of Fear Memory. *Neuron*, 70(5), 830-845.
- Marona-Lewicka, D., & Nichols, D. E. (1994). Behavioral effects of the highly selective serotonin releasing agent 5-methoxy-6-methyl-2-aminoindan. *European Journal of Pharmacology*, 258(1-2), 1-13.
- Marona-Lewicka, D., & Nichols, D. E. (1998). Drug discrimination studies of the interoceptive cues produced by selective serotonin uptake inhibitors and selective serotonin releasing agents. *Psychopharmacology*, 138(1), 67-75.
- Marona-Lewicka, D., Rhee, G. -, Sprague, J. E., & Nichols, D. E. (1995). Psychostimulant-like effects of p-fluoroamphetamine in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 287(2), 105-113.
- Marona-Lewicka, D., Rhee, G. -, Sprague, J. E., & Nichols, D. E. (1996). Reinforcing effects of certain serotonin-releasing amphetamine derivatives. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 53(1), 99-105.
- Martin, T. L. (2001). Three cases of fatal paramethoxyamphetamine overdose. *Journal of Analytical Toxicology*, 25(7), 649-651.
- Martinez, R. C. R., Carvalho-Netto, E. F., Amaral, V. C. S., Nunes-de-Souza, R. L., & Canteras, N. S. (2008). Investigation of the hypothalamic defensive system in the mouse. *Behavioural Brain Research*, 192(2), 185-190.



- Martin-Iverson, M. T., Yamada, N., By, A. W., & Lodge, B. A. (1991). "Designer" amphetamines: effects on behavior and monoamines with or without reserpine and/or alpha-methyl-para-tyrosine pretreatment. *Journal of Psychiatry & Neuroscience: JPN*, 16(5), 253-261.
- Martín-López, M. (1997). *Efectos de la administración de agonistas de los receptores omega sobre la conducta agresiva en ratones machos*. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga.
- Martín-López, M., Infante, S., Cavas, M., & Navarro, J. F. (2014). Study of the Social Instigation in a Model of Isolation-Induced Aggression: Effects of JNJ16259685 Administration, an mglu1 Receptor Antagonist. *Universitas Psychologica*, 13(3), 1027-1036.
- Martín-López, M., & Navarro, J. F. (1996). Behavioral profile of clobazam in agonistic encounters between male mice. *Medical Science Research*, 24, 89-91.
- Martín-López, M., & Navarro, J. F. (1998). Behavioral profile of bentazepam, an anxiolytic benzodiazepine, in agonistic encounters between male mice. *Medical Science Research*, 25, 335-337.
- Martín-López, M., & Navarro, J. F. (2002). Antiaggressive Effects of Zolpidem and Zopiclone in Agonistic Encounters between Male Mice. *Aggressive Behavior*, 28(5), 416-425.
- Martín-López, M., & Navarro, J. F. (2009). Papel de las subunidades alfa del receptor GABA-A en la regulación de la conducta agresiva. *Psiquiatría biológica*, vol. 16(4), 167-174.
- Martín-Sánchez, A., McLean, L., Beynon, R. J., Hurst, J. L., Ayala, G., Lanuza, E., & Martínez-García, F. (2015). From sexual attraction to maternal aggression: when pheromones change their behavioural significance. *Hormones and Behavior*, 68, 65-76.
- Mas, M., Farré, M., De la Torre, R., Roset, P. N., Ortuño, J., Segura, J., & Camí, J. (1999). Cardiovascular and neuroendocrine effects and pharmacokinetics of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in humans. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 290(1), 136-145.
- Mascarenhas, D. C., Gomes, K. S., & Nunes-de-Souza, R. L. (2013). Anxiogenic-like effect induced by TRPV1 receptor activation within the dorsal periaqueductal gray matter in mice. *Behavioural Brain Research*, 250(0), 308-315.
- Matsumoto, K., Uzunova, V., Pinna, G., Taki, K., Uzunov, D. P., Watanabe, H., . . . Costa, E. (1999). Permissive role of brain allopregnanolone content in the regulation of pentobarbital-induced righting reflex loss. *Neuropharmacology*, 38(7), 955-963.
- Matsumoto, T., Maeno, Y., Kato, H., Seko-Nakamura, Y., Monma-Ohtaki, J., Ishiba, A., . . . Aoki, Y. (2014). 5-hydroxytryptamine- and dopamine-releasing effects of ring-substituted amphetamines on rat brain: A comparative study using in vivo microdialysis. *European Neuropsychopharmacology*, 24(8), 1362-1370.
- Matsushima, K., Nagai, T., & Kamiyama, S. (1998). Optical isomer analysis of 3,4-methylenedioxyamphetamine analogues and their stereoselective disposition in rats. *Journal of Analytical Toxicology*, 22(1), 33-39.
- Maurer, H. H. (1996). On the metabolism and the toxicological analysis of methylenedioxyphenylalkylamine designer drugs by gas chromatography-mass spectrometry. *Therapeutic Drug Monitoring*, 18(4), 465-470.

- Maurer, H. H., Bickeboeller-Friedrich, J., Kraemer, T., & Peters, F. T. (2000). Toxicokinetics and analytical toxicology of amphetamine-derived designer drugs ('Ecstasy'). *Toxicology Letters*, 112-113, 133-142.
- Mayerhofer, A., Kovar, K. A., & Schmidt, W. J. (2001). Changes in serotonin, dopamine and noradrenaline levels in striatum and nucleus accumbens after repeated administration of the abused drug MDMA in rats. *Neuroscience Letters*, 308(2), 99-102.
- McCreary, A. C., Bankson, M. G., & Cunningham, K. A. (1999). Pharmacological studies of the acute and chronic effects of (+)-3,4- methylenedioxyamphetamine on locomotor activity: Role of 5- hydroxytryptaminela and 5-hydroxytryptamine(1B/1D) receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 290(3), 965-973.
- McCue, M. G., LeDoux, J. E., & Cain, C. K. (2014). Medial Amygdala Lesions Selectively Block Aversive Pavlovian–Instrumental Transfer in Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 329, 1-14.
- McDevitt, R. A., & Neumaier, J. F. (2011). Regulation of dorsal raphe nucleus function by serotonin autoreceptors: A behavioral perspective. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 41(4), 234-246.
- McDonald, A. J. (1983). Neurons of the bed nucleus of the stria terminalis: A golgi study in the rat. *Brain Research Bulletin*, 10(1), 111-120.
- McGinnis, M. Y. (2004). *Anabolic androgenic steroids and aggression: Studies using animal models*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1036, 399-415.
- McGregor, I. S., Clemens, K. J., Van Der Plasse, G., Li, K. M., Hunt, G. E., Chen, F., & Lawrence, A. J. (2003). Increased anxiety 3 months after brief exposure to MDMA ("ecstasy") in rats: Association with altered 5-HT transporter and receptor density. *Neuropsychopharmacology*, 28(8), 1472-1484.
- McGregor, I. S., Hargreaves, G. A., Apfelbach, R., & Hunt, G. E. (2004). Neural Correlates of Cat Odor-Induced Anxiety in Rats: Region-Specific Effects of the Benzodiazepine Midazolam. *Journal of Neuroscience*, 24(17), 4134-4144.
- McKenna, D. J., Guan, X., & Shulgin, A. T. (1991). 3, 4-Methylenedioxyamphetamine (MDA) analogues exhibit differential effects on synaptosomal release of 3 H-dopamine and 3 H-5-hydroxytryptamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38(3), 505-512.
- McMillen, B. A., Da Vanzo, E. A., Song, A. H., Scott, S. M., & Rodriguez, M. E. (1989). Effects of classical and atypical antipsychotic drugs on isolation-induced aggression in male mice. *European Journal of Pharmacology*, 160(1), 149-153.
- Mechan, A. O., Esteban, B., O'Shea, E., Elliott, J. M., Colado, M. I., & Green, A. R. (2002a). The pharmacology of the acute hyperthermic response that follows administration of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA, 'ecstasy') to rats. *British Journal of Pharmacology*, 135(1), 170-180.
- Mechan, A. O., Moran, P. M., Elliot, J. M., Young, A. M. J., Joseph, M. H., & Green, A. R. (2002b). A study of the effect of a single neurotoxic dose of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA; "ecstasy") on the subsequent long-term behaviour of rats in the plus maze and open field. *Psychopharmacology*, 159(2), 167-175.

- Melloni, R. H., Connor, D. F., Hang, P. T. X., Harrison, R. J., & Ferris, C. F. (1997). Anabolic-androgenic steroid exposure during adolescence and aggressive behavior in golden hamsters. *Physiology & Behavior*, *61*(3), 359-364.
- Melloni, R. H., Jr, & Ricci, L. A. (2010). Adolescent exposure to anabolic/androgenic steroids and the neurobiology of offensive aggression: a hypothalamic neural model based on findings in pubertal Syrian hamsters. *Hormones and behavior*, *58*(1), 177-191.
- Menard, J., & Treit, D. (1999). Effects of centrally administered anxiolytic compounds in animal models of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *23*(4), 591-613.
- Menon, M. K., Tseng, L. F., & Loh, H. H. (1976). Pharmacological evidence for the central serotonergic effects of monomethoxyamphetamines. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *197*(2), 272-279.
- Meyer, A., Mayerhofer, A., Kovar, K. A., & Schmidt, W. J. (2002a). Enantioselective metabolism of the designer drugs 3, 4-methylenedioxyamphetamine ('ecstasy') and 3, 4-methylenedioxyethylamphetamine ('eve') isomers in rat brain and blood. *Neuroscience Letters*, *330*(2), 193-197.
- Meyer, A., Mayerhofer, A., Kovar, K. -, & Schmidt, W. J. (2002b). Rewarding effects of the optical isomers of 3,4-methylenedioxy-methylamphetamine ('Ecstasy') and 3,4-methylenedioxy-ethylamphetamine ('Eve') measured by conditioned place preference in rats. *Neuroscience Letters*, *330*(3), 280-284.
- Meyer, M. R., & Maurer, H. H. (2009). Enantioselectivity in the methylation of the catecholic phase I metabolites of methylenedioxy designer drugs and their capability to inhibit catechol-o-methyltransferase-catalyzed dopamine 3-methylation. *Chemical Research in Toxicology*, *22*(6), 1205-1211.
- Meyer, M. R., Peters, F. T., & Maurer, H. H. (2009). Stereoselective differences in the cytochrome P450-dependent dealkylation and demethylenation of N-methylbenzodioxolyl-butanamine (MBDB, eden) enantiomers. *Biochemical Pharmacology*, *77*(11), 1725-1734.
- Miczek, K. A., Barros, H. M., Sakoda, L., & Weerts, E. M. (1998). Alcohol and heightened aggression in individual mice. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *22*(8), 1698-1705.
- Miczek, K. A., de Boer, S. F., & Haller, J. (2013). Excessive aggression as model of violence: a critical evaluation of current preclinical methods. *Psychopharmacology*, *226*(3), 445-458.
- Miczek, K. A., Faccidomo, S., De Almeida, R. M., Bannai, M., Fish, E. W., & Debold, J. F. (2004). Escalated aggressive behavior: new pharmacotherapeutic approaches and opportunities. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1036*, 336-355.
- Miczek, K. A., Faccidomo, S. P., Fish, E. W., & Debold, J. F. (2007). Neurochemistry and molecular neurobiology of aggressive behavior. En *Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology* (pp. 285-336). Springer US.
- Miczek, K. A., & Haney, M. (1994). Psychomotor stimulant effects of d-amphetamine, MDMA and PCP: Aggressive and schedule-controlled behavior in mice. *Psychopharmacology*, *115*(3), 358-365.

- Miczek, K. A., Haney, M., Tidey, J., Vatne, T., Weerts, E., & DeBold, J. F. (1989). Temporal and sequential patterns of agonistic behavior: effects of alcohol, anxiolytics and psychomotor stimulants. *Psychopharmacology*, *97*(2), 149-151.
- Miczek, K. A., Hussain, S., & Faccidomo, S. (1998). Alcohol-heightened aggression in mice: attenuation by 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists. *Psychopharmacology*, *139*(1-2), 160-168.
- Miczek, K. A., & O'Donnell, J. M. (1978). Intruder-evoked aggression in isolated and nonisolated mice: effects of psychomotor stimulants and L-dopa. *Psychopharmacology*, *57*(1), 47-55.
- Miczek, K. A., Takahashi, A., Gobrogge, K. L., Hwa, L. S., & De Almeida, R. M. (2015). Escalated aggression in animal models: Shedding new light on mesocorticolimbic circuits. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, *3*, 90-95.
- Miczek, K. A., Weerts, E. M., Tornatzky, W., Debold, J. F., & Vatne, T. M. (1992). Alcohol and "bursts" of aggressive behavior: ethological analysis of individual differences in rats. *Psychopharmacology*, *107*(4), 551-563.
- Miczek, K. A., & Winslow, J. T. (1987). Psychopharmacological research on aggressive behavior. *Experimental Psychopharmacology* (pp. 27-113) Springer.
- Miki, A., Katagi, M., Shima, N., & Tsuchihashi, H. (2004). Application of ORAL.screen saliva drug test for the screening of methamphetamine, MDMA, and MDEA incorporated in hair. *Journal of Analytical Toxicology*, *28*(2), 132-134.
- Miller, R. T., Lau, S. S., & Monks, T. J. (1996). Effects of intracerebroventricular administration of 5-(glutathion-S-yl)-alpha-methyldopamine on brain dopamine, serotonin, and norepinephrine concentrations in male Sprague-Dawley rats. *Chemical Research in Toxicology*, *9*(2), 457-465.
- Ministerio de Sanidad y Política social España. (2011). *Drogas emergentes. Informes de la comisión clínica. Plan Nacional Sobre Drogas (PNSD)*.
- Mitchell, P. J., & Redfern, P. H. (1992). Acute and chronic antidepressant drug treatments induce opposite effects in the social behaviour of rats. *Journal of Psychopharmacology*, *6*(2), 241-257.
- Mitrevski, B., & Zdravkovski, Z. (2005). Rapid and simple method for direct determination of several amphetamines in seized tablets by GC--FID. *Forensic Science International*, *152*(2-3), 199-203.
- Moawad, M., Khoo, C. S., Lee, S., & Hennell, J. R. (2010). Simultaneous determination of eight sympathomimetic amines in urine by gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, *93*(1), 116-122.
- Modi, S., Rana, P., Kaur, P., Rani, N., & Khushu, S. (2014). Glutamate level in anterior cingulate predicts anxiety in healthy humans: A magnetic resonance spectroscopy study. *Psychiatry Research: Neuroimaging*, *224*(1), 34-41.
- Modi, S., Trivedi, R., Singh, K., Kumar, P., Rathore, R. K. S., Tripathi, R. P., & Khushu, S. (2013). Individual differences in trait anxiety are associated with white matter tract integrity in fornix and uncinate fasciculus: Preliminary evidence from a DTI based tractography study. *Behavioural Brain Research*, *238*(1), 188-192.
- Montagud-Romero, S., Daza-Losada, M., Vidal-Infer, A., Maldonado, C., Aguilar, M. A., Minarro, J., & Rodríguez-Arias, M. (2014). The novelty-seeking phenotype modulates

- the long-lasting effects of intermittent ethanol administration during adolescence. *PloS one*, 9(3), e92576.
- Monte, A. P., Marona-Lewicka, D., Cozzi, N. V., & Nichols, D. E. (1993). Synthesis and pharmacological examination of benzofuran, indan, and tetralin analogues of 3,4-(methylenedioxy)amphetamine. *Journal of Medicinal Chemistry*, 36(23), 3700-3706.
- Montgomery, K. C. (1955). The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behaviour. [ ] *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 48(4), 254-260.
- Morales, M., & Bloom, F. E. (1997). The 5-HT<sub>3</sub> receptor is present in different subpopulations of GABAergic neurons in the rat telencephalon. *Journal of Neuroscience*, 17(9), 3157-3167.
- Moreira, C. M., Masson, S., Carvalho, M., & Brandao, M. L. (2007). Exploratory behaviour of rats in the elevated plus-maze is differentially sensitive to inactivation of the basolateral and central amygdaloid nuclei. *Brain Research Bulletin*, 71(5), 466-474.
- Morley, K. C., Arnold, J. C., & McGregor, I. S. (2005). Serotonin (1A) receptor involvement in acute 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) facilitation of social interaction in the rat. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 29(5), 648-657.
- Morley, K. C., Gallate, J. E., Hunt, G. E., Mallet, P. E., & McGregor, I. S. (2001). Increased anxiety and impaired memory in rats 3 months after administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy"). *European Journal of Pharmacology*, 433(1), 91-99.
- Morley, K. C., & McGregor, I. S. (2000). (±)-3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, 'ecstasy') increases social interaction in rats. *European Journal of Pharmacology*, 408(1), 41-49.
- Moro, M., Salvador, A., & Simon, V. M. (1997). Changes in the structure of the agonistic behavior of mice produced by D-amphetamine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 56(1), 47-54.
- Morrison, T. R., & Melloni, R. H., Jr. (2014). The role of serotonin, vasopressin, and serotonin/vasopressin interactions in aggressive behavior. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 17, 189-228.
- Moyer, K. E. (1968). Kinds of aggression and their physiological basis. *Communications in Behavioral Biology*, 2(2), 65-87.
- Mueller, M., Maldonado-Adrian, C., Yuan, J., McCann, U. D., & Ricaurte, G. A. (2013). Studies of (±)-3,4-methylenedioxymethamphetamine (mdma) metabolism and disposition in rats and mice: Relationship to neuroprotection and neurotoxicity profile. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 344(2), 479-488.
- Muller, J., Corodimas, K. P., Fridel, Z., & LeDoux, J. E. (1997). Functional inactivation of the lateral and basal nuclei of the amygdala by muscimol infusion prevents fear conditioning to an explicit conditioned stimulus and to contextual stimuli. *Behavioral Neuroscience*, 111(4), 683-682.
- Musty, R. E., & Consroe, P. F. (1982). Phencyclidine produces aggressive behavior in rapid eye movement sleep-deprived rats. *Life Sciences*, 30(20), 1733-1738.

- Nader, K., Majidishad, P., Amorapanth, P., & LeDoux, J. E. (2001). Damage to the lateral and central, but not other, amygdaloid nuclei prevents the acquisition of auditory fear conditioning. *Learning & memory*, 8(3), 156-163.
- Nagai, T., Matsushima, K., Suzuki, A., Saotome, A., Kurosu, A., Nihei, H., . . . Tokudome, S. (2002). Enantiomer analysis of a new street drug, 3,4-methylenedioxy-N-methylbutanamine, in rat urine. *Journal of Analytical Toxicology*, 26(2), 104-109.
- Nakagawa, Y., Suzuki, T., Tayama, S., Ishii, H., & Ogata, A. (2009). Cytotoxic effects of 3,4-methylenedioxy-N-alkylamphetamines, MDMA and its analogues, on isolated rat hepatocytes. *Archives of Toxicology*, 83(1), 69-80.
- Nakamura, K., Kikusui, T., Takeuchi, Y., & Mori, Y. (2008). Changes in social instigation-and food restriction-induced aggressive behaviors and hippocampal 5-HT1B mRNA receptor expression in male mice from early weaning. *Behavioural Brain Research*, 187(2), 442-448.
- Nakamura, K., Kikusui, T., Takeuchi, Y., & Mori, Y. (2007). The critical role of familiar urine odor in diminishing territorial aggression toward a castrated intruder in mice. *Physiology & Behavior*, 90(2-3), 512-517.
- Nash, J. F., & Nichols, D. E. (1991). Microdialysis studies on 3,4-methylenedioxyamphetamine and structurally related analogues. *European Journal of Pharmacology*, 200(1), 53-58.
- Natarajan, D., & Caramaschi, D. (2010). Animal violence demystified. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 4, 9, 1-16.
- Navailles, S., Moison, D., Cunningham, K. A., & Spampinato, U. (2008). Differential regulation of the mesoaccumbens dopamine circuit by serotonin-2C receptors in the ventral tegmental area and the nucleus accumbens: an in vivo microdialysis study with cocaine. *Neuropsychopharmacology*, 33(2), 237-246.
- Navarro, J. F. (1997). An ethoexperimental analysis of the agonistic interactions in isolated male mice: Comparison between OF.1 and NMRI strains. *Psicothema*, 9(2), 333-336.
- Navarro, J. F., Buron, E., & Martín-López, M. (2007). Antiaggressive effects of topiramate in agonistic encounters between male mice. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 29(3), 195-198.
- Navarro, J. F., Buron, E., & Martín-López, M. (2008). Effects of SB-205384, a positive modulator of alpha3-subunit-containing GABA-A receptors, on isolation-induced aggression in male mice. *Psicothema*, 20(1), 144-147.
- Navarro, J. F., Burón, E., & Martín-López, M. (2002). Anxiogenic-like activity of L-655,708, a selective ligand for the benzodiazepine site of GABA-A receptors which contain the alpha-5 subunit, in the elevated plus-maze test. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 26(7-8), 1389-1392.
- Navarro, J. F., De Castro, V., & Martín-López, M. (2008). JNJ16259685, a selective mglu1 antagonist, suppresses isolation-induced aggression in male mice. *European Journal of Pharmacology*, 586(1-3), 217-220.
- Navarro, J. F., De Castro, V., & Martín-López, M. (2009). Behavioural profile of selective ligands for mglu7 and mglu8 glutamate receptors in agonistic encounters between mice. *Psicothema*, 21(3), 475-479.
- Navarro, J. F., De Castro, V., & Martín-López, M. (2010). Papel del glutamato en la regulación de la conducta agresiva en modelos animales. *Psiquiatría Biológica*, 17(1), 32-36.

- Navarro, J. F., & López, M. M. (1999). Efectos de la administración de midazolam sobre la conducta agonística en ratones machos. *Psicothema*, *11*(2), 367-374.
- Navarro, J. F., & Luna, G. (2005). An ethopharmacological assessment of agmatine's effects on agonistic encounters between male mice. *Aggressive Behavior*, *31*(4), 374-380.
- Navarro, J. F., Luque, M. J., & Martín-López, M. (2009). Effects of LY379268, a selective agonist of mglu2/3 receptors, on isolation-induced aggression in male mice. *The Open Pharmacology Journal*, *3*, 17-20.
- Navarro, J. F., & Maldonado, E. (1999). Behavioral profile of 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) in agonistic encounters between male mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *23*(2), 327-334.
- Navarro, J. F., & Maldonado, E. (2002). Acute and subchronic effects of MDMA ("ecstasy") on anxiety in male mice tested in the elevated plus-maze. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *26*(6), 1151-1154.
- Navarro, J. F., & Maldonado, E. (2004). Effects of acute, subchronic and intermittent MDMA ('ECSTASY') administration on agonistic interactions between male mice. *Aggressive Behavior*, *30*(1), 71-83.
- Navarro, J. F., & Manzaneque, J. M. (1997). Acute and Subchronic Effects of Tiapride on Isolation-Induced Aggression in Male Mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *58*(1), 255-259.
- Navarro, J. F., Postigo, D., Martín, M., & Buron, E. (2006). Antiaggressive effects of MPEP, a selective antagonist of mglu5 receptors, in agonistic interactions between male mice. *European Journal of Pharmacology*, *551*(1-3), 67-70.
- Navarro, J. F., Rivera, A., Maldonado, E., Cavas, M., & De La Calle, A. (2004). Anxiogenic-like activity of 3,4-methylenedioxy-methamphetamine ("ecstasy") in the social interaction test is accompanied by an increase of c-fos expression in mice amygdala. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *28*(2), 249-254.
- Nelson, M., & Pinna, G. (2011). S-norfluoxetine microinfused into the basolateral amygdala increases allopregnanolone levels and reduces aggression in socially isolated mice. *Neuropharmacology*, *60*(7-8), 1154-1159.
- Nelson, R. J., & Trainor, B. C. (2007). Neural mechanisms of aggression. *Nature Reviews Neuroscience* *8*, 536-546.
- Neumann, I. D., Wegener, G., Homberg, J. R., Cohen, H., Slattery, D. A., Zohar, J., . . . Mathé, A. A. (2011). Animal models of depression and anxiety: What do they tell us about human condition? *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *35*(6), 1357-1375.
- Newman, E. L., Chu, A., Bahamon, B., Takahashi, A., Debold, J. F., & Miczek, K. A. (2012). NMDA receptor antagonism: escalation of aggressive behavior in alcohol-drinking mice. *Psychopharmacology*, *224*(1), 167-177.
- Nichols, D. E. (1986). Differences between the mechanism of action of MDMA, MBDB, and the classic hallucinogens. identification of a new therapeutic class: Entactogens. *Journal of Psychoactive Drugs*, *18*(4), 305-313.
- Nichols, D. E. (1987). *What is known about MBDB?*. Recuperado de [http://www.erowid.org/chemicals/mbdb/mbdb\\_info1.shtml](http://www.erowid.org/chemicals/mbdb/mbdb_info1.shtml)

- Nichols, D. E., Ilhan, M., & Long, J. P. (1975). Comparison of cardiovascular, hyperthermic, and toxic effects of para-methoxyamphetamine (PMA) and 3, 4-methylenedioxyamphetamine (MDA). *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, 214, 133-140.
- Nichols, D. E., Lloyd, D. H., Hoffman, A. J., Nichols, M. B., & Yim, G. K. W. (1982). Effects of certain hallucinogenic amphetamine analogues on the release of [3H]serotonin from rat brain synaptosomes. *Journal of Medicinal Chemistry*, 25(5), 530-535.
- Nichols, D. E., & Oberlender, R. (1989). Structure-Activity relationships of MDMA-like substances. *NIDA Research Monograph Series*, (94), 1-29.
- Nieuwenhuys, R., Voogd, J., & Van Huijzen, C. (2009). *El sistema nervioso central humano. Tomo 2.* (4ª ed.). Madrid, España: Editorial Médica Panamericana.
- Nikolaus, S., Antke, C., Beu, M., & Müller, H. W. (2010). Cortical GABA, striatal dopamine and midbrain serotonin as the key players in compulsive and anxiety disorders--results from in vivo imaging studies. *Reviews in the Neurosciences*, 21(2), 119-139.
- Noiro, E., Goyens, J., & Buhot, M. (1975). Aggressive behavior of pregnant mice toward males. *Hormones and behavior*, 6(1), 9-17.
- Oberlender, R., & Nichols, D. E. (1988). Drug discrimination studies with MDMA and amphetamine. *Psychopharmacology*, 95(1), 71-76.
- Oberlender, R., & Nichols, D. E. (1990). (+)-N-methyl-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-butanamine as a discriminative stimulus in studies of 3,4-methylenedioxymethamphetamine-like behavioral activity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 255(3), 1098-1106.
- O'Boyle, M. (1974). Rats and mice together: The predatory nature of the rat's mouse-killing response. *Psychological Bulletin*, 81(4), 261.
- Ochoa Mangado, E. (2002). Drogas de diseño. *Medicina Clínica*, 119(10), 375-376.
- Olivier, B. (2015). Serotonin: A never-ending story. *European Journal of Pharmacology*, 753(0), 2-18.
- Olivier, B., Pattij, T., Wood, S. J., Oosting, R., Sarnyai, Z., & Toth, M. (2001). The 5-HT1A receptor knockout mouse and anxiety. *Behavioural pharmacology*, 12(6-7), 439-450.
- Olivier, B., & Van Oorschot, R. (2005). 5-HT1B receptors and aggression: A review. *European Journal of Pharmacology*, 526(1-3), 207-217.
- Olivier, B., & Young, L. J. (2002). Animal models of aggression. *Neuropsychopharmacology: The fifth generation of progress*, 118, 1699-1708.
- Olivier, J. D. A., Vinkers, C. H., & Olivier, B. (2013). The role of the serotonergic and GABA system in translational approaches in drug discovery for anxiety disorders. *Frontiers in Pharmacology*, 4 JUN
- O'Loinsigh, E. D., Boland, G., Kelly, J. P., & O'Boyle, K. M. (2001). Behavioural, hyperthermic and neurotoxic effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine analogues in the wistar rat. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 25(3), 621-638.
- Ortiz-Carrasco, M. Á., & Calderón-González, M. J. (2006). Aspectos conceptuales de la agresión: definición y modelos explicativos/ Theoretical issues on aggression: concept and models. *Acción Psicológica*, 4(2), 7-38



- Ouagazzal, A., Grottick, A. J., Moreau, J., & Higgins, G. A. (2001). Effect of LSD on prepulse inhibition and spontaneous behavior in the rat. A pharmacological analysis and comparison between two rat strains. *Neuropsychopharmacology*, *25*(4), 565-575.
- Padich, R. A., McCloskey, T. C., & Kehne, J. H. (1996). 5-HT modulation of auditory and visual sensorimotor gating: II. Effects of the 5-HT<sub>2A</sub> antagonist MDL 100,907 on disruption of sound and light prepulse inhibition produced by 5-HT agonists in Wistar rats. *Psychopharmacology*, *124*(1-2), 107-116.
- Palenicek, T., Votava, M., Bubenikova, V., & Horacek, J. (2005). Increased sensitivity to the acute effects of MDMA ("ecstasy") in female rats. *Physiology & Behavior*, *86*(4), 546-553.
- Palfreyman, M. G., Schmidt, C. J., Sorensen, S. M., Dudley, M. W., Kehne, J. H., Moser, P., . . . Carr, A. A. (1993). Electrophysiological, biochemical and behavioral evidence for 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>3</sub> mediated control of dopaminergic function. *Psychopharmacology*, *112*(1 Suppl), S60-7.
- Papaseit, E., Farré, M., Schifano, F., & Torrens, M. (2014). Emerging drugs in europe. *Current Opinion in Psychiatry*, *27*(4), 243-250.
- Parmigiani, S., & Palanza, P. (1996). Genetic differences in offensive and defensive forms of male and female aggression and their effects on social structure in wild and laboratory mice. *Proceedings of the XII ISRA Meeting in Strasbourg*, 51.
- Parrott, A. C. (2007). The psychotherapeutic potential of MDMA (3,4-methylenedioxy-methamphetamine): An evidence-based review. *Psychopharmacology*, *191*(2), 181-193.
- Parrott, A. C. (2012). MDMA and temperature: A review of the thermal effects of 'Ecstasy' in humans. *Drug and Alcohol Dependence*, *121*(1-2), 1-9.
- Parrott, A. C., Rodgers, J., Buchanan, T., Ling, J., Heffernan, T., & Scholey, A. B. (2006). Dancing hot on ecstasy: Physical activity and thermal comfort ratings are associated with the memory and other psychobiological problems reported by recreational MDMA users. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, *21*(5), 285-298.
- Paton, D. M., Bell, J. I., Yee, R., & Cook, D. A. (1975). Pharmacology and toxicity of 3,4-methylenedioxyamphetamine, para-methoxyamphetamine and related dimethoxyamphetamines. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, *18*, 229-231.
- Pattij, T., Groenink, L., Hijzen, T. H., Oosting, R. S., Maes, R. A. A., Van Der Gugten, J., & Olivier, B. (2002). Autonomic changes associated with enhanced anxiety in 5-HT<sub>1A</sub> receptor knockout mice. *Neuropsychopharmacology*, *27*(3), 380-390.
- Paulus, M. P., & Geyer, M. A. (1991). A temporal and spatial scaling hypothesis for the behavioral effects of psychostimulants. *Psychopharmacology*, *104*(1), 6-16.
- Paulus, M. P., & Geyer, M. A. (1992). The effects of MDMA and other methylenedioxy-substituted phenylalkylamines on the structure of rat locomotor activity. *Neuropsychopharmacology*, *7*(1), 15-31.
- Paulus, M. P., & Geyer, M. A. (1997). Environment and unconditioned motor behavior: Influences of drugs and environmental geometry on behavioral organization in rats. *Psychobiology*, *25*(4), 327-337.

- Pawlak, C. R., Karrenbauer, B. D., Schneider, P., & Ho, Y. (2012). The elevated plus-maze test: Differential psychopharmacology of anxiety-related behavior. *Emotion Review*, *4*(1), 98-115.
- Payne, A. P., & Swanson, H. (1972). The effect of sex hormones on the aggressive behaviour of the female golden hamster (*Mesocricetus auratus* Waterhouse). *Animal Behaviour*, *20*(4), 782-787.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience methods*, *14*(3), 149-167.
- Penzo, M. A., Robert, V., & Li, B. (2014). Fear conditioning potentiates synaptic transmission onto long-range projection neurons in the lateral subdivision of central amygdala. *Journal of Neuroscience*, *34*(7), 2432-2437.
- Peters, F. T., Samyn, N., Wahl, M., Kraemer, T., De Boeck, G., & Maurer, H. H. (2003). Concentrations and ratios of amphetamine, methamphetamine, MDA, MDMA, and MDEA enantiomers determined in plasma samples from clinical toxicology and driving under the influence of drugs cases by GC-NICI-MS. *Journal of Analytical Toxicology*, *27*(8), 552-559.
- Pinna, G., Agis-Balboa, R. C., Zhubi, A., Matsumoto, K., Grayson, D. R., Costa, E., & Guidotti, A. (2006). Imidazenil and diazepam increase locomotor activity in mice exposed to protracted social isolation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(11), 4275-4280.
- Pinna, G., Costa, E., & Guidotti, A. (2006). Fluoxetine and norfluoxetine stereospecifically and selectively increase brain neurosteroid content at doses that are inactive on 5-HT reuptake. *Psychopharmacology*, *186*(3), 362-372.
- Pinna, G., Costa, E., & Guidotti, A. (2009). SSRIs act as selective brain steroidogenic stimulants (SBSSs) at low doses that are inactive on 5-HT reuptake. *Current Opinion in Pharmacology*, *9*(1), 24-30.
- Pinna, G., Dong, E., Matsumoto, K., Costa, E., & Guidotti, A. (2003). In socially isolated mice, the reversal of brain allopregnanolone down-regulation mediates the anti-aggressive action of fluoxetine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *100*(4), 2035-2040.
- Piper, B. J., Fraiman, J. B., & Meyer, J. S. (2005). Repeated MDMA ("Ecstasy") exposure in adolescent male rats alters temperature regulation, spontaneous motor activity, attention, and serotonin transporter binding. *Developmental Psychobiology*, *47*(2), 145-157.
- Piper, B. J., Fraiman, J. B., Owens, C. B., Ali, S. F., & Meyer, J. S. (2008). Dissociation of the neurochemical and behavioral toxicology of MDMA ('Ecstasy') by citalopram. *Neuropsychopharmacology*, *33*(5), 1192-1205.
- Piper, B. J., & Meyer, J. S. (2004). Memory deficit and reduced anxiety in young adult rats given repeated intermittent MDMA treatment during the periadolescent period. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *79*(4), 723-731.
- Pirnay, S. O., Abraham, T. T., & Huestis, M. A. (2006). Sensitive gas chromatography-mass spectrometry method for simultaneous measurement of MDEA, MDMA, and

- metabolites HMA, MDA, and HMMA in human urine. *Clinical Chemistry*, 52(9), 1728-1734.
- Pitkanen, A., Savander, V., & LeDoux, J. E. (1997). Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends in Neurosciences*, 20(11), 517-523.
- Polanco, L. A., Vargas-Irwin, C., & Góngora, M. E. (2011). Modelos animales: una revisión desde tres pruebas utilizadas en ansiedad. *Suma Psicológica*, 18(2), 141-148.
- Poland, R. E., Lutchmansingh, P., McCracken, J. T., Zhao, J. -, Brammer, G. L., Grob, C. S., . . . Pechnick, R. N. (1997). Abnormal ACTH and prolactin responses to fenfluramine in rats exposed to single and multiple doses of MDMA. *Psychopharmacology*, 131(4), 411-419.
- Popova, N. K., Naumenko, V. S., & Plyusnina, I. Z. (2007). Involvement of brain serotonin 5-HT1A receptors in genetic predisposition to aggressive behavior. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 37(6), 631-635.
- Porras, G., Di Matteo, V., Fracasso, C., Lucas, G., De Deurwaerdere, P., Caccia, S., . . . Spampinato, U. (2002). 5-HT2A and 5-HT2C/2B receptor subtypes modulate dopamine release induced in vivo by amphetamine and morphine in both the rat nucleus accumbens and striatum. *Neuropsychopharmacology*, 26(3), 311-324.
- Poshivalov, V. P. (1981). Pharmacological analysis of social behaviour of isolated mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 14(SUPPL. 1), 53-59.
- Potegal, M., Perumal, A. S., Barkai, A. I., Cannova, G. E., & Blau, A. D. (1982). GABA binding in the brains of aggressive and non-aggressive female hamsters. *Brain Research*, 247(2), 315-324.
- Pulkkinen, L. (1987). Offensive and defensive aggression in humans: A longitudinal perspective. *Aggressive Behavior*, 13, 197-212.
- Qin, S., Young, C. B., Duan, X., Chen, T., Supekar, K., & Menon, V. (2014). Amygdala subregional structure and intrinsic functional connectivity predicts individual differences in anxiety during early childhood. *Biological Psychiatry*, 75(11), 892-900.
- Quadros, I. M., Miguel, T., Debold, J. F., & Miczek, K. A. (2009). Opposing action of CRF1 vs. CRF2 receptors in the dorsal raphe: modulation of alcohol-heightened aggression. Paper presented at the 2009 Neuroscience Meeting Planner. *Society for Neuroscience, Chicago, Program*, (445.5/T8) 132.
- Rabinak, C. A., & Maren, S. (2008). Associative Structure of Fear Memory After Basolateral Amygdala Lesions in Rats. *Behavioral Neuroscience*, 122(6), 1284-1294.
- Ramirez, F., Moscarello, J. M., LeDoux, J. E., & Sears, R. M. (2015). Active avoidance requires a serial basal amygdala to nucleus accumbens shell circuit. *Journal of Neuroscience*, 35(8), 3470-3477.
- Ramírez, J. M. (2000). Animal models in the research of human aggression. *Aggression and Violent Behavior*, 5(3), 281-290.
- Ramírez, J. M., & Andreu, J. M. (2006). Aggression, and some related psychological constructs (anger, hostility, and impulsivity) Some comments from a research project. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 30(3), 276-291.
- Ramos, L., Hicks, C., Kevin, R., Caminer, A., Narlawar, R., Kassiou, M., & McGregor, I. S. (2013). Acute prosocial effects of oxytocin and vasopressin when given alone or in

- combination with 3,4-methylenedioxymethamphetamine in rats: involvement of the V1A receptor. *Neuropsychopharmacology*, 38(11), 2249-2259.
- Rangisetty, J. B., Bondarev, M. L., Chang-Fong, J., Young, R., & Glennon, R. A. (2001). PMMA-stimulus generalization to the optical isomers of MBDB and 3,4-DMA. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 69(1-2), 261-267.
- Redolar, D. (2012). Tratamiento psicofarmacológico de los trastornos de ansiedad. *Farmacología y endocrinología del comportamiento* (pp. 247) Editorial UOC.
- Redolat, R., Gómez, M. C., Vicens, P., & Carrasco, M. C. (2005). Bupropion effects on aggressiveness and anxiety in OF1 male mice. *Psychopharmacology*, 177(4), 418-27.
- Redolat, R., Oterino, M. C., Carrasco, M. C., & Brain, P. F. (2002). A specific anti-aggressive effect of repeatedly administered lobeline. *Addiction Biology*, 7(3), 301-306.
- Refstad, S. (2003). Paramethoxyamphetamine (PMA) poisoning; a 'party drug' with lethal effects. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 47(10), 1298-1299.
- Reid, M. J., Derry, L., & Thomas, K. V. (2014). Analysis of new classes of recreational drugs in sewage: Synthetic cannabinoids and amphetamine-like substances. *Drug Testing and Analysis*, 6(1-2), 72-79.
- Reid, L. D., Hubbell, C. L., Tsai, J., Fishkin, M. D., & Amendola, C. A. (1996). Naltrindole, a delta-opioid antagonist, blocks MDMA's ability to enhance pressing for rewarding brain stimulation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 53(2), 477-480.
- Reis, D. J. (1971). Brain monoamines in aggression and sleep. *Clinical Neurosurgery*, 18, 471-502.
- Reis, D. J., Doba, N., & Nathan, M. A. (1973). Predatory attack, grooming, and consummatory behaviors evoked by electrical stimulation of cat cerebellar nuclei. *Science*, 182(4114), 845-847.
- Ribeiro Do Couto, B., Daza-Losada, M., Rodriguez-Arias, M., Nadal, R., Guerri, C., Summavielle, T., . . . Aguilar, M. A. (2012). Adolescent pre-exposure to ethanol and 3,4-methylenedioxymethylamphetamine (MDMA) increases conditioned rewarding effects of MDMA and drug-induced reinstatement. *Addiction Biology*, 17(3), 588-600.
- Ricaurte, G. A., Finnegan, K. F., Nichols, D. E., DeLanney, L. E., Irwin, I., & Langston, J. W. (1987). 3,4-methylenedioxyethylamphetamine (MDE), a novel analogue of MDMA, produces long-lasting depletion of serotonin in the rat brain. *European Journal of Pharmacology*, 137(2-3), 265-268.
- Ricaurte, G. A., Yuan, J., & McCann, U. D. (2000). (+or-)3,4-methylenedioxy-methamphetamine ('ecstasy')-induced serotonin neurotoxicity: Studies in animals. *Neuropsychobiology*, 42(1), 5-10.
- Ricci, L. A., Grimes, J. M., & Melloni, R. H., Jr. (2004). Serotonin type 3 receptors modulate the aggression-stimulating effects of adolescent cocaine exposure in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Behavioral Neuroscience*, 118(5), 1097-1110.
- Ricci, L. A., & Melloni, R. H., Jr. (2012). Repeated fluoxetine administration during adolescence stimulates aggressive behavior and alters serotonin and vasopressin neural development in hamsters. *Behavioral Neuroscience*, 126(5), 640-653.
- Riedlinger, J. E. (1985). The scheduling of MDMA: A pharmacist's perspective. *Journal of Psychoactive Drugs*, 17(3), 167-171.

- Riedlinger, T. J., & Riedlinger, J. E. (1994). Psychedelic and entactogenic drugs in the treatment of depression. *Journal of Psychoactive Drugs*, 26(1), 41-55.
- Risbrough, V. B., Masten, V. L., Caldwell, S., Paulus, M. P., Low, M. J., & Geyer, M. A. (2006). Differential contributions of dopamine D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, and D<sub>3</sub> receptors to MDMA-induced effects on locomotor behavior patterns in mice. *Neuropsychopharmacology*, 31(11), 2349-2358.
- Roberts, W. W., & Nagel, J. (1996). First-order projections activated by stimulation of hypothalamic sites eliciting attack and flight in rats. *Behavioral Neuroscience*, 110(3), 509-527.
- Rodgers, R. J., Cao, B., Dalvi, A., & Holmes, A. (1997). Animal models of anxiety: An ethological perspective. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30(3), 289-304.
- Rodgers, R. J., Cole, J. C., Cobain, M. R., Daly, P., Doran, P. J., Eells, J. R., & Wallis, P. (1992). Anxiogenic-like effects of fluprazine and eltoprazine in the mouse elevated plus-maze: Profile comparisons with 8-OH-DPAT, CGS 12066B, TFMPP and mCPP. *Behavioural Pharmacology*, 3(6), 621-634.
- Rodgers, R. J., & Depaulis, A. (1982). GABAergic influences on defensive fighting in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 17(3), 451-456.
- Rodgers, R. J., & Johnson, N. J. T. (1995). Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 52(2), 297-303.
- Rodríguez-Alarcón, G., Canales, J. J., & Salvador, A. (2007). Rewarding effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("Ecstasy") in dominant and subordinate OF-1 mice in the place preference conditioning paradigm. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 31(1), 191-199.
- Rodríguez-Arias, M., Maldonado, C., Vidal-Infer, A., Guerri, C., Aguilar, M. A., & Minarro, J. (2011). Intermittent ethanol exposure increases long-lasting behavioral and neurochemical effects of MDMA in adolescent mice. *Psychopharmacology*, 218(2), 429-442.
- Rodríguez-Arias, M., Vaccaro, S., Arenas, M. C., Aguilar, M. A., & Miñarro, J. (2015). The novelty-seeking phenotype modulates the long-lasting effects of adolescent MDMA exposure. *Physiology and Behavior*, 141, 190-198.
- Rodríguez-Arias, M., Valverde, O., Daza-Losada, M., Blanco-Gandía, M. C., Aguilar, M. A., & Miñarro, J. (2013). Assessment of the abuse potential of MDMA in the conditioned place preference paradigm: Role of CB1 receptors. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 47, 77-84.
- Rodríguez-Arias, M., Miñarro, J., Aguilar, M. A., Pinazo, J., & Simón, V. M. (1998). Effects of risperidone and SCH 23390 on isolation-induced aggression in male mice. *European Neuropsychopharmacology*, 8(2), 95-103.
- Roeling, T. A., Kruk, M. R., Schuurmans, R., & Veening, J. G. (1993). Behavioural responses of bicuculline methiodide injections into the ventral hypothalamus of freely moving, socially interacting rats. *Brain research*, 615(1), 121-127.

- Roger-Sanchez, C., Rodriguez-Arias, M., Minarro, J., & Aguilar, M. A. (2013). Effects of risperidone on the acquisition and reinstatement of the conditioned place preference induced by MDMA. *Brain Research Bulletin*, 98, 36-43.
- Roger-Sánchez, C., Rodríguez-Arias, M., Miñarro, J., & Aguilar, M. A. (2013). Involvement of 5-hydroxytryptamine 5-HT<sub>3</sub> serotonergic receptors in the acquisition and reinstatement of the conditioned place preference induced by MDMA. *European Journal of Pharmacology*, 714(1-3), 132-141.
- Rohanová, M., & Balikova, M. (2009). Studies on distribution and metabolism of para-methoxymethamphetamine (PMMA) in rats after subcutaneous administration. *Toxicology*, 259(1-2), 61-68.
- Rojek, S., Klys, M., Strona, M., Maciow, M., & Kula, K. (2012). "Legal highs"--toxicity in the clinical and medico-legal aspect as exemplified by suicide with bk-MBDB administration. *Forensic Science International*, 222(1-3), e1-6.
- Roliński, Z., & Herbut, M. (1981). The role of the serotonergic system in foot shock-induced behavior in mice. *Psychopharmacology*, 73(3), 246-251.
- Romano, J., Kromrey, J. D., Coraggio, J., Skowronek, J., & Devine, L. (2006, 14-17 october). *Exploring methods for evaluating group differences on the NSSI and other surveys: Are the t-test and Cohen's d indices the most appropriate choices?* Comunicación presentada en Annual meeting of the Southern Association for Institutional Research. Arglington, Virginia.
- Romero, C. A., Bustamante, D. A., Zapata-Torres, G., Goiny, M., Cassels, B., & Herrera-Marschitz, M. (2006). Neurochemical and behavioural characterisation of alkoxyamphetamine derivatives in rats. *Neurotoxicity Research*, 10(1), 11-22.
- Ropartz, P. (1968). The relation between olfactory stimulation and aggressive behaviour in mice. *Animal Behaviour*, 16(1), 97-100.
- Rothe, M., Pragst, F., Spiegel, K., Harrach, T., Fischer, K., & Kunkel, J. (1997). Hair concentrations and self-reported abuse history of 20 amphetamine and ecstasy users. *Forensic Science International*, 89(1-2), 111-128.
- Rowe, F. A., & Edwards, D. A. (1971). Olfactory bulb removal: Influences on the aggressive behaviors of male mice. *Physiology & Behavior*, 7(6), 889-892.
- Rudissaar, R., Pruus, K., Skrebuhhova-Malmros, T., Allikmets, L., & Matto, V. (2000). Involvement of GABAergic neurotransmission in the neurobiology of the apomorphine-induced aggressive behavior paradigm, a model of psychotic behavior in rats. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 22(8), 637-640.
- Rugani, F., Bacciardi, S., Rovai, L., Pacini, M., Maremmanni, A. G., Deltito, J., . . . Maremmanni, I. (2012). Symptomatological features of patients with and without ecstasy use during their first psychotic episode. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9(7), 2283-2292.
- Saadat, K. S., Elliott, J. M., Colado, M. I., & Gree, A. R. (2006). The acute and long-term neurotoxic effects of MDMA on marble burying behaviour in mice. *Journal of Psychopharmacology*, 20(2), 264-271.
- Sadananda, M., Natusch, C., Karrenbauer, B., & Schwarting, R. K. (2012). 50-kHz calls in rats: effects of MDMA and the 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonist 8-OH-DPAT. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 101(2), 258-264.

- Sáez-Briones, P., & Hernández, A. (2013). MDMA (3,4-methylenedioxyamphetamine) analogues as tools to characterize MDMA-like effects: An approach to understand entactogen pharmacology. *Current Neuropharmacology*, *11*(5), 521-534.
- Sah, P., Faber, E. S., Lopez De Armentia, M., & Power, J. (2003). The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiological Reviews*, *83*, 803-834.
- Sánchez, C., Arnt, J., Hyttel, J., & Moltzen, E. K. (1993). The role of serotonergic mechanisms in inhibition of isolation-induced aggression in male mice. *Psychopharmacology*, *110*(1-2), 53-59.
- Sánchez, C., & Hyttel, J. (1994). Isolation-induced aggression in mice: effects of 5-hydroxytryptamine uptake inhibitors and involvement of postsynaptic 5-HT<sub>1A</sub> receptors. *European Journal of Pharmacology*, *264*(3), 241-247.
- Sandford, J. J., Argyropoulos, S. V., & Nutt, D. J. (2000). The psychobiology of anxiolytic drugs: Part 1: Basic neurobiology. *Pharmacology & Therapeutics*, *88*(3), 197-212.
- Sandi, C., & Richter-Levin, G. (2009). From high anxiety trait to depression: a neurocognitive hypothesis. *Trends in Neurosciences*, *32*(6), 312-320.
- Sandnabba, N. K. (1996). Selective breeding for isolation-induced intermale aggression in mice: associated responses and environmental influences. *Behavior Genetics*, *26*(5), 477-488.
- Sannerud, C. A., Kaminski, B. J., & Griffiths, R. R. (1996). Intravenous self-injection of four novel phenethylamines in baboons. *Behavioural Pharmacology*, *7*(4), 315-323.
- Sano, K., Yoshioka, M., Ogashiwa, M., Ishijima, B., & Ohye, C. (1966). Postero-medial hypothalamotomy in the treatment of aggressive behaviors. *Confinia Neurologica*, *27*(1), 164-167.
- Sanz, J. (1993). Distinguiendo ansiedad y depresión: Revisión de la hipótesis de la especificidad de contenido de Beck. *Anales de Psicología*, *9*(2), 133-139.
- Satpute, A. B., Mumford, J. A., Naliboff, B. D., & Poldrack, R. A. (2012). Human anterior and posterior hippocampus respond distinctly to state and trait anxiety. *Emotion (Washington, D.C.)*, *12*(1), 58-68.
- Sauer, O., & Weilemann, L. S. (1997). Psychogenic amphetamines ('ecstasy'). [Psychogene Amphetamine ('Ecstasy')] *Intensivmedizin und Notfallmedizin*, *34*(1), 5-13.
- Scearce-Levie, K., Viswanathan, S. S., & Hen, R. (1999). Locomotor response to MDMA is attenuated in knockout mice lacking the 5-HT<sub>1B</sub> receptor. *Psychopharmacology*, *141*(2), 154-161.
- Schechter, M. D. (1988). Serotonergic-dopaminergic mediation of 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA, "ecstasy"). *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *31*(4), 817-824.
- Schechter, M. D. (1991). Effect of serotonin depletion by p-chlorophenylalanine upon discriminative behaviours. *General Pharmacology*, *22*(5), 889-893.
- Schechter, M. D. (1998). MDMA-like stimulus effects of hallucinogens in male Fawn-Hooded rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, *59*(2), 265-270.
- Schifano, F. (2004). A bitter pill. Overview of ecstasy (MDMA, MDA) related fatalities. *Psychopharmacology*, *173*(3-4), 242-248.

- Schifano, F., Corkery, J., Deluca, P., Oyefeso, A., & Ghodse, A. H. (2006). Ecstasy (MDMA, MDA, MDEA, MBDB) consumption, seizures, related offences, prices, dosage levels and deaths in the UK (1994-2003). *Journal of Psychopharmacology*, *20*(3), 456-463.
- Schifano, F., Orsolini, L., Duccio Papanti, G., & Corkery, J. M. (2015). Novel psychoactive substances of interest for psychiatry. *World Psychiatry*, *14*(1), 15-26.
- Schmidt, C. J. (1987). Acute administration of methylenedioxyamphetamine: comparison with the neurochemical effects of its N-desmethyl and N-ethyl analogs. *European Journal of Pharmacology*, *136*(1), 81-88.
- Schmidt, C. J., Abbate, G. M., Black, C. K., & Taylor, V. L. (1990). Selective 5-hydroxytryptamine<sub>2</sub> receptor antagonists protect against the neurotoxicity of methylenedioxyamphetamine in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *255*(2), 478-483.
- Schmidt, C. J., Black, C. K., Abbate, G. M., & Taylor, V. L. (1990). Methylenedioxyamphetamine-induced hyperthermia and neurotoxicity are independently mediated by 5-HT<sub>2</sub> receptors. *Brain Research*, *529*(1-2), 85-90.
- Schmidt, C. J., Black, C. K., Taylor, V. L., Fadayel, G. M., Humphreys, T. M., Nieduzak, T. R., & Sorensen, S. M. (1992). The 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonist, MDL 28,133A, disrupts the serotonergic-dopaminergic interaction mediating the neurochemical effects of 3,4-methylenedioxyamphetamine. *European Journal of Pharmacology*, *220*(2-3), 151-159.
- Schmidt, C. J., Fadayel, G. M., Sullivan, C. K., & Taylor, V. L. (1992). 5-HT<sub>2</sub> receptors exert a state-dependent regulation of dopaminergic function: studies with MDL 100,907 and the amphetamine analogue, 3,4-methylenedioxyamphetamine. *European Journal of Pharmacology*, *223*(1), 65-74.
- Schmidt, C. J., Sullivan, C. K., & Fadayel, G. M. (1994). Blockade of striatal 5-hydroxytryptamine<sub>2</sub> receptors reduces the increase in extracellular concentrations of dopamine produced by the amphetamine analogue 3,4-methylenedioxyamphetamine. *Journal of Neurochemistry*, *62*(4), 1382-1389.
- Schmidt, C. J., & Taylor, V. L. (1988). Direct central effects of acute methylenedioxyamphetamine on serotonergic neurons. *European Journal of Pharmacology*, *156*(1), 121-131.
- Schmidt, C. J., & Taylor, V. L. (1987). Depression of rat brain tryptophan hydroxylase activity following the acute administration of methylenedioxyamphetamine. *Biochemical pharmacology*, *36*(23), 4095-4102.
- Schmitt, U., & Hiemke, C. (1998). Combination of open field and elevated plus-maze: a suitable test battery to assess strain as well as treatment differences in rat behavior. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *22*(7), 1197-1215.
- Schoenfeld, T. J., Kloth, A. D., Hsueh, B., Runkle, M. B., Kane, G. A., Wang, S. S., & Gould, E. (2014). Gap junctions in the ventral hippocampal-medial prefrontal pathway are involved in anxiety regulation. *Journal of Neuroscience*, *34*(47), 15679-15688.
- Schwaninger, A. E., Meyer, M. R., Zapp, J., & Maurer, H. H. (2012). Investigations on the stereoselectivity of the phase II metabolism of the 3,4-methylenedioxyethylamphetamine (MDEA) metabolites 3,4-dihydroxyethylamphetamine



- (DHEA) and 4-hydroxy-3-methoxyethylamphetamine (HMEA). *Toxicology Letters*, 212(1), 38-47.
- Schweitzer, J., Friedhoff, A., Angrist, B., & Gershon, S. (1971). Excretion of p-methoxyamphetamine administered to humans. *Nature*, 229, 133-134.
- Scott, J. P. (1966). Agonistic behavior of mice and rats: A review. *Integrative and Comparative Biology*, 6(4), 683-701.
- Seidenbecher, T., Laxmi, T. R., Stork, O., & Pape, H. -. (2003). Amygdalar and hippocampal theta rhythm synchronization during fear memory retrieval. *Science*, 301(5634), 846-850.
- Senn, V., Wolff, S. B., Herry, C., Grenier, F., Ehrlich, I., Grundemann, J., . . . Luthi, A. (2014). Long-range connectivity defines behavioral specificity of amygdala neurons. *Neuron*, 81(2), 428-437.
- Series, H. G., & Molliver, M. E. (1994). Immunocytochemical evidence for serotonergic neurotoxicity of N-ethyl-methylenedioxyamphetamine (MDE). *Experimental Neurology*, 128(1), 50-58.
- Serra, M., Pisu, M. G., Littera, M., Papi, G., Sanna, E., Tuveri, F., . . . Biggio, G. (2000). Social isolation-induced decreases in both the abundance of neuroactive steroids and GABA(A) receptor function in rat brain. *Journal of Neurochemistry*, 75(2), 732-740.
- Sessa, B. (2007). Is there a case for MDMA-assisted psychotherapy in the UK? *Journal of Psychopharmacology*, 21(2), 220-224.
- Sgoifo, A., Stilli, D., Musso, E., Mainardi, D., & Parmigiani, S. (1992). Offensive and defensive bite-target topographies in attacks by lactating rats. *Aggressive Behavior*, 18(1), 47-52.
- Shulgin, A. (1973). Stereospecific requirements for hallucinogenesis. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 25(3), 271-272.
- Shulgin, A. T. (1978). Psychotomimetic drugs: Structure-activity relationships. *Stimulants* (pp. 243-333) Springer.
- Shulgin, A. T. (1991). *PiKHAL. A chemical love story*. Berkeley, CA: Transform Press.
- Shulgin, A. T., Sargent, T., & Naranjo, C. (1969). Structure-Activity relationships of one-ring Psychotomimetics. *Nature*, 221(5180), 537-541.
- Siegel, A., Roeling, T. A., Gregg, T. R., & Kruk, M. R. (1999). Neuropharmacology of brain-stimulation-evoked aggression. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 23(3), 359-389.
- Siever, L. J. (2008). Neurobiology of aggression and violence. *American Journal of Psychiatry*, 165(4), 429-442.
- Silveira, M. C., Sandner, G., & Graeff, F. G. (1993). Induction of Fos immunoreactivity in the brain by exposure to the elevated plus-maze. *Behavioural Brain Research*, 56(1), 115-118.
- Simler, S., Puglisi-Allegra, S., & Mandel, P. (1982). Gamma-Aminobutyric acid in brain areas of isolated aggressive or non-aggressive inbred strains of mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 16(1), 57-61.
- Simola, N., Fenu, S., Costa, G., Pinna, A., Plumitallo, A., & Morelli, M. (2012). Pharmacological characterization of 50-kHz ultrasonic vocalizations in rats:

- comparison of the effects of different psychoactive drugs and relevance in drug-induced reward. *Neuropharmacology*, 63(2), 224-234.
- Simola, N., Frau, L., Plumitallo, A., & Morelli, M. (2014). Direct and long-lasting effects elicited by repeated drug administration on 50-kHz ultrasonic vocalizations are regulated differently: implications for the study of the affective properties of drugs of abuse. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 17(3), 429-441.
- Slotnick, B., Sanguino, A., Husband, S., Marquino, G., & Silberberg, A. (2007). Olfaction and olfactory epithelium in mice treated with zinc gluconate. *Laryngoscope*, 117(4), 743-749.
- Smith, J. M., & Price, G. R. (1973). The logic of animal conflict. *Nature*, 246(5427), 15-18.
- Smythies, J. R., Johnston, V. S., Bradley, R. J., Benington, F., Morin, R. D., & Clark Jr., L. C. (1967). Some New Behaviour-disrupting Amphetamines and their Significance. *Nature*, 216(5111), 128-129.
- Solbach, M., Gundisch, D., Wullner, U., Stahlschmidt, A., Kovar, K.A. & Machulla, H. (1997). N-[C-11]methyl-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-butanamine (MBDB): Synthesis, quality control and biodistribution. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 224(1-2), 109.
- Somerville, L. H., Whalen, P. J., & Kelley, W. M. (2010). Human bed nucleus of the stria terminalis indexes hypervigilant threat monitoring. *Biological Psychiatry*, 68(5), 416-424.
- Spampanato, J., Polepalli, J., & Sah, P. (2011). Interneurons in the basolateral amygdala. *Neuropharmacology*, 60(5), 765-773.
- Spanos, L. J., & Yamamoto, B. K. (1989). Acute and subchronic effects of methylenedioxymethamphetamine [(+/-)MDMA] on locomotion and serotonin syndrome behavior in the rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 32(4), 835-840.
- Spitzer, M., Franke, B., Walter, H., Buechler, J., Wunderlich, A. P., Schwab, M., . . . Gron, G. (2001). Enantio-selective cognitive and brain activation effects of N-ethyl-3,4-methylenedioxyamphetamine in humans. *Neuropharmacology*, 41(2), 263-271.
- Stanley, N., Salem, A., & Irvine, R. J. (2007). The effects of co-administration of 3,4-methylenedioxyamphetamine ("ecstasy") or para-methoxyamphetamine and moclobemide at elevated ambient temperatures on striatal 5-HT, body temperature and behavior in rats. *Neuroscience*, 146(1), 321-329.
- Steele, T. D., Nichols, D. E., & Yim, G. K. W. (1987). Stereochemical effects of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA) and related amphetamine derivatives on inhibition of uptake of [3H]monoamines into synaptosomes from different regions of rat brain. *Biochemical Pharmacology*, 36(14), 2297-2303.
- Steimer, T. (2002). The biology of fear- and anxiety-related behaviors. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 4(3), 231-249.
- Stockley, P., Bottell, L., & Hurst, J. L. (2013). Wake up and smell the conflict: odour signals in female competition. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 368(1631), 20130082.

- Stone, D. M., Hanson, G. R., & Gibb, J. W. (1987). Differences in the central serotonergic effects of methylenedioxyamphetamine (MDMA) in mice and rats. *Neuropharmacology*, 26(11), 1657-1661.
- Stone, D. M., Johnson, M., Hanson, G. R., & Gibb, J. W. (1987). A comparison of the neurotoxic potential of methylenedioxyamphetamine (MDA) and its N-methylated and N-ethylated derivatives. *European Journal of Pharmacology*, 134(2), 245-248.
- Stone, D. M., Merchant, K. M., Hanson, G. R., & Gibb, J. W. (1987). Immediate and long-term effects of 3,4-methylenedioxyamphetamine on serotonin pathways in brain of rat. *Neuropharmacology*, 26(12), 1677-1683.
- Stout, P. R., Bynum, N. D., Lewallen, C. M., Mitchell, J. M., Baylor, M. R., & Roper-Miller, J. D. (2010). A comparison of the validity of gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of urine samples II: amphetamine, methamphetamine, (+/-)-3,4-methylenedioxyamphetamine, (+/-)-3,4-methylenedioxyamphetamine, (+/-)-3,4-methylenedioxyethylamphetamine, phencyclidine, and (+/-)-11-nor-9-carboxy-Delta(9)-tetrahydrocannabinol. *Journal of Analytical Toxicology*, 34(8), 430-443.
- Stout, P. R., Horn, C. K., & Klette, K. L. (2002). Rapid simultaneous determination of amphetamine, methamphetamine, 3,4-methylenedioxyamphetamine, 3,4-methylenedioxyamphetamine, and 3,4-methylenedioxyethylamphetamine in urine by solid-phase extraction and GC-MS: a method optimized for high-volume laboratories. *Journal of Analytical Toxicology*, 26(5), 253-261.
- Stowers, L., Cameron, P., & Keller, J. A. (2013). Ominous odors: Olfactory control of instinctive fear and aggression in mice. *Current Opinion in Neurobiology*, 23(3), 339-345.
- Stowers, L., Holy, T. E., Meister, M., Dulac, C., & Koentges, G. (2002). Loss of sex discrimination and male-male aggression in mice deficient for TRP2. *Science*, 295(5559), 1493-1500.
- Stowers, L., & Logan, D. W. (2010). Olfactory mechanisms of stereotyped behavior: on the scent of specialized circuits. *Current Opinion in Neurobiology*, 20(3), 274-280.
- Strano Rossi, S., Odoardi, S., Gregori, A., Peluso, G., Ripani, L., Ortari, G., . . . Romolo, F. S. (2014). An analytical approach to the forensic identification of different classes of new psychoactive substances (NPSs) in seized materials. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 28(17), 1904-1916.
- Sukhotina, I. A., & Bespalov, A. Y. (2000). Effects of the NMDA receptor channel blockers memantine and MRZ 2/579 on morphine withdrawal-facilitated aggression in mice. *Psychopharmacology*, 149(4), 345-350.
- Sulcova, A., & Kršiak, M. (1989). Differences among nine 1,4-benzodiazepines: an ethopharmacological evaluation in mice. *Psychopharmacology*, 97(2), 157-159.
- Sumnall, H. R., O'Shea, E., Marsden, C. A., & Cole, J. C. (2004a). The effects of MDMA pretreatment on the behavioural effects of other drugs of abuse in the rat elevated plus-maze test. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 77(4), 805-814.
- Sumnall, H. R., O'Shea, E., Marsden, C. A., & Cole, J. C. (2004b). The effects of MDMA pretreatment on the behavioural effects of other drugs of abuse in the rat elevated plus-maze test. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 77(4), 805-814.

- Takahashi, A., Kwa, C., Debold, J. F., & Miczek, K. A. (2010). GABA(A) receptors in the dorsal raphe nucleus of mice: escalation of aggression after alcohol consumption. *Psychopharmacology*, *211*(4), 467-477.
- Takahashi, A., & Miczek, K. A. (2014). Neurogenetics of aggressive behavior: studies in rodents. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, *17*, 3-44.
- Takahashi, A., Quadros, I. M., De Almeida, R. M., & Miczek, K. A. (2011). Brain serotonin receptors and transporters: Initiation vs. termination of escalated aggression. *Psychopharmacology*, *213*(2-3), 183-212.
- Takahashi, A., Schilit, A. N., Kim, J., Debold, J. F., Koide, T., & Miczek, K. A. (2012). Behavioral characterization of escalated aggression induced by GABA(B) receptor activation in the dorsal raphe nucleus. *Psychopharmacology*, *224*(1), 155-166.
- Takahashi, A., Shimamoto, A., Boyson, C. O., Debold, J. F., & Miczek, K. A. (2010). GABA(B) receptor modulation of serotonin neurons in the dorsal raphe nucleus and escalation of aggression in mice. *Journal of neuroscience*, *30*(35), 11771-11780.
- Tanaka, M., Yoshida, M., Emoto, H., & Ishii, H. (2000). Noradrenaline systems in the hypothalamus, amygdala and locus coeruleus are involved in the provocation of anxiety: basic studies. *European Journal of Pharmacology*, *405*(1), 397-406.
- Tanner-Smith, E. E. (2006). Pharmacological content of tablets sold as "ecstasy": Results from an online testing service. *Drug and alcohol dependence*, *83*(3), 247-254.
- Tasan, R. O., Bukovac, A., Peterschmitt, Y. N., Sartori, S. B., Landgraf, R., Singewald, N., & Sperk, G. (2011). Altered GABA transmission in a mouse model of increased trait anxiety. *Neuroscience*, *183*, 71-80.
- Thigpen, A. L., Awad, T., DeRuiter, J., & Clark, C. R. (2008). GC-MS studies on the regioisomeric methoxy-methyl-phenethylamines related to MDEA, MDMMA, and MBDB. *Journal of Chromatographic Science*, *46*(10), 900-906.
- Thompson, M. R., Callaghan, P. D., Hunt, G. E., Cornish, J. L., & McGregor, I. S. (2007). A role for oxytocin and 5-HT(1A) receptors in the prosocial effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy"). *Neuroscience*, *146*(2), 509-514.
- Thompson, M. R., Hunt, G. E., & McGregor, I. S. (2009). Neural correlates of MDMA ("Ecstasy")-induced social interaction in rats. *Social neuroscience*, *4*(1), 60-72.
- Thompson, M. R., Callaghan, P. D., Hunt, G. E., & McGregor, I. S. (2008). Reduced sensitivity to MDMA-induced facilitation of social behaviour in MDMA pre-exposed rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *32*(4), 1013-1021.
- Thurmond, J. B. (1975). Technique for producing and measuring territorial aggression using laboratory mice. *Physiology & Behavior*, *14*(6), 879-881.
- Tidey, J. W., & Miczek, K. A. (1996). Social defeat stress selectively alters mesocorticolimbic dopamine release: an in vivo microdialysis study. *Brain research*, *721*(1-2), 140-149.
- Tone, A. (2005). Listening to the past: History, psychiatry, and anxiety. *Canadian Journal of Psychiatry*, *50*(7), 373-380.
- Tortella Fellú, M. (2014). Los trastornos de ansiedad en el DSM-5. *Cuadernos de medicina psicosomática y psiquiatría de enlace*, *110*, 62-65.
- Toth, M., Tulogdi, A., Biro, L., Soros, P., Mikics, E., & Haller, J. (2012). The neural background of hyper-emotional aggression induced by post-weaning social isolation. *Behavioural Brain Research*, *233*(1), 120-129.

- Treit, D., Aujla, H., & Menard, J. (1998). Does the bed nucleus of the stria terminalis mediate fear behaviors? *Behavioral Neuroscience*, *112*(2), 379-386.
- Treit, D., Engin, E., & McEown, K. (2010). Animal models of anxiety and anxiolytic drug action. *Current Topics in Behavioral Neuroscience*, *2*, 121-160.
- Treit, D., Menard, J., & Royan, C. (1993). Anxiogenic stimuli in the elevated plus-maze. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *44*(2), 463-469.
- Tsatsakis, A. M., Michalodimitrakis, M. N., Angelo, J. D., & Patsalis, N. (1997). MDEA related death in crete: A case report and literature review. *Veterinary and Human Toxicology*, *39*(4), 241-244.
- Tseng, L. F. (1978). Effects of para-methoxyamphetamine and 2,5-dimethoxyamphetamine on serotonergic mechanisms. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, *304*(2), 101-105.
- Tseng, L. F. (1979). 5-Hydroxytryptamine uptake inhibitors block para-methoxyamphetamine-induced 5-HT release. *British Journal of Pharmacology*, *66*(2), 185-190.
- Tseng, L. F., Harris, R. A., & Loh, H. H. (1978). Blockade of para methoxyamphetamine induced serotonergic effects by chlorimipramine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *204*(1), 27-38.
- Tseng, L. F., Hitzemann, R. J., & Loh, H. H. (1974). Comparative effects of dl-p-methoxyamphetamine and d-amphetamine on catecholamine release and reuptake in vitro. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *189*(3), 708-716. Recuperado de <http://jpet.aspetjournals.org/content/189/3/708.abstract>
- Tseng, L. F., & Loh, H. H. (1974). Significance of dopamine receptor activity in dl-p-methoxyamphetamine- and d-amphetamine-induced locomotor activity. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *189*(3), 717-724.
- Tseng, L. F., Menon, M. K., & Loh, H. H. (1976). Comparative actions of monomethoxy amphetamines on the release and uptake of biogenic amines in brain tissue. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *197*(2), 263-271.
- Tye, K. M., Prakash, R., Kim, S. Y., Fenno, L. E., Grosenick, L., Zarabi, H., . . . Deisseroth, K. (2011). Amygdala circuitry mediating reversible and bidirectional control of anxiety. *Nature*, *471*(7338), 358-362.
- Tyler, C. B., & Miczek, K. A. (1982). Effects of phencyclidine on aggressive behavior in mice. *Pharmacology Biochemistry, and Behavior*, *17*(3), 503-510.
- Uchiyama, N., Kikura-Hanajiri, R., Kawahara, N., & Goda, Y. (2008). Analysis of designer drugs detected in the products purchased in fiscal year 2006. *Yakugaku zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, *128*(10), 1499-1505.
- Ueki, S. (1987). Behavioral pharmacology of zopiclone. *Sleep*, *10 Suppl 1*, 1-6.
- UNODC (2014). *United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). Early Warning Advisory (EWA) on New Psychoactive Substances (NPS)*. Recuperado de <https://www.unodc.org/LSS/Home/NPS>
- Vaiva, G., Boss, V., Bailly, D., Thomas, P., Lestavel, P., & Goudemand, M. (2001). An "accidental" acute psychosis with ecstasy use. *Journal of Psychoactive Drugs*, *33*(1), 95-98.
- Valzelli, L., & Bernasconi, S. (1979). Aggressiveness by isolation and brain serotonin turnover changes in different strains of mice. *Neuropsychobiology*, *5*(3), 129-135.

- Valzelli, L. (1973). The 'isolation syndrome' in mice. *Psychopharmacologia*, 31(4), 305-320.
- Valzelli, L. (1988). Notes on psychopharmacology of aggression. *Nordic Journal of Psychiatry*, 42(6), 465-470.
- Van Aerts, L. A., Mallaret, M., & Rigter, H. (2000). N-methyl-1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-butanamine (MBDB): Its properties and possible risks. *Addiction Biology*, 5(3), 269-282.
- Van Der Vegt, B. J., Lieuwes, N., Van De Wall, E. H., Kato, K., Moya-Albiol, L., Martinez-Sanchis, S., . . . Koolhaas, J. M. (2003). Activation of serotonergic neurotransmission during the performance of aggressive behavior in rats. *Behavioral Neuroscience*, 117(4), 667-674.
- Van Dijk, A., Klanker, M., Van Oorschot, N., Post, R., Hamelink, R., Feenstra, M. G. P., & Denys, D. (2013). Deep brain stimulation affects conditioned and unconditioned anxiety in different brain areas. *Translational Psychiatry*, 3, 1-7.
- Van Erp, A. M., & Miczek, K. A. (2000). Aggressive behavior, increased accumbal dopamine, and decreased cortical serotonin in rats. *Journal of neuroscience*, 20(24), 9320-9325.
- Van Oortmerssen, G., & Bakker, T. C. (1981). Artificial selection for short and long attack latencies in wild *Mus musculus domesticus*. *Behavior Genetics*, 11(2), 115-126.
- Vandenbergh, J. G. (1967). The development of social structure in free-ranging rhesus monkeys. *Behaviour*, 29(2), 179-193.
- Vaupel, D. B., & Martin, W. R. (1977). A comparison of the effects of 4-bromo-2,5-dimethoxyamphetamine (DOB), 3,4,5-trimethoxyamphetamine (TMA), paramethoxyamphetamine (PMA), D-amphetamine (A) and LSD in nontolerant and LSD tolerant chronic spinal dogs. *Pharmacologist*, 19(2), 230. Recuperado de [https://www.erowid.org/references/refs\\_view.php?ID=3451](https://www.erowid.org/references/refs_view.php?ID=3451)
- Veiga, C. P., Miczek, K. A., Lucion, A. B., & Almeida, R. M. (2007). Effect of 5-HT1B receptor agonists injected into the prefrontal cortex on maternal aggression in rats. *Brazilian journal of medical and biological research*, 40(6), 825-830.
- Vekovischeva, O. Y., Aitta-Aho, T., Echenko, O., Kankaanpaa, A., Seppala, T., Honkanen, A., . . . Korpi, E. R. (2004). Reduced aggression in AMPA-type glutamate receptor GluR-A subunit-deficient mice. *Genes, brain, and behavior*, 3(5), 253-265.
- Vekovischeva, O. Y., Aitta-aho, T., Verbitskaya, E., Sandnabba, K., & Korpi, E. R. (2007). Acute effects of AMPA-type glutamate receptor antagonists on intermale social behavior in two-mouse lines bidirectionally selected for offensive aggression. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 87(2), 241-249.
- Vekovischeva, O. Y., Verbitskaya, E. V., Aitta-aho, T., Sandnabba, K., & Korpi, E. R. (2007). Multivariate statistical analysis of behavior in mice selected for high and low levels of isolation-induced male aggression. *Behavioural Processes*, 75(1), 23-32.
- Velea, D., Hautefeuille, M., Vazeille, G., & Lantran-Davoux, C. (1999). New empathogenes synthesis drugs. [Nouvelles drogues synthetiques empathogenes] *Encephale*, 25(5), 508-514.
- Vidal, P., Perez-Padilla, A., & Pellon, R. (2013). Rapid development of semistarvation-induced hyperactivity in Dark Agouti rats. Excessive wheel running and effect of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *Appetite*, 61(1), 30-35.

- Vidal-Infer, A., Roger-Sanchez, C., Daza-Losada, M., Aguilar, M. A., Minarro, J., & Rodriguez-Arias, M. (2012). Role of the dopaminergic system in the acquisition, expression and reinstatement of MDMA-induced conditioned place preference in adolescent mice. *PLoS one*, 7(8), e43107.
- Vitiello, B., Behar, D., Hunt, J., Stoff, D., & Ricciuti, A. (1990). Subtyping aggression in children and adolescents. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 2(2), 189-192.
- Viviani, D., Charlet, A., Van Den Burg, E., Robinet, C., Hurni, N., Abatis, M., . . . Stoop, R. (2011). Oxytocin selectively gates fear responses through distinct outputs from the central amygdala. *Science*, 333(6038), 104-107.
- Vogels, N., Brunt, T. M., Rigter, S., Van Dijk, P., Vervaeke, H., & Niesink, R. J. M. (2009). Content of ecstasy in the Netherlands: 1993-2008. *Addiction*, 104(12), 2057-2066.
- Volavka, J., & Nolan, K. A. (2008). Methodological structure for aggression research. *The Psychiatric Quarterly*, 79(4), 293-300.
- Vollenweider, F. X., Gamma, A., Liechti, M. E., & Huber, T. (1998). Psychological and cardiovascular effects and short-term sequelae of MDMA ('Ecstasy') in MDMA-naive healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology*, 19(4), 241-251.
- Vollenweider, F. X., Liechti, M. E., Gamma, A., Greer, G., & Geyer, M. (2002). Acute psychological and neurophysiological effects of MDMA in humans. *Journal of Psychoactive Drugs*, 34(2), 171-184.
- Von Ameln, N., & von Ameln-Mayerhofer, A. (2010). Atypical development of behavioural sensitization to 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, 'Ecstasy') in adolescent rats and its expression in adulthood: role of the MDMA chirality. *Addiction Biology*, 15(1), 35-44.
- Voorspoels, S., Coucke, V., Covaci, A., Maervoet, J., Schepens, P., De Meyere, C., & Jacobs, W. (2002). Resurgence of a lethal drug: Paramethoxyamphetamine deaths in Belgium [3]. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology*, 40(2), 203-204.
- Walf, A. A., & Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*, 2(2), 322-328.
- Walker, D. L., & Davis, M. (1997a). Anxiogenic effects of high illumination levels assessed with the acoustic startle response in rats. *Biological Psychiatry*, 42(6), 461-471.
- Walker, D. L., & Davis, M. (1997b). Double dissociation between the involvement of the bed nucleus of the stria terminalis and the central nucleus of the amygdala in startle increases produced by conditioned versus unconditioned fear. *Journal of Neuroscience*, 17(23), 9375-9383.
- Walker, D. L., & Davis, M. (2002). The role of amygdala glutamate receptors in fear learning, fear-potentiated startle, and extinction. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71(3), 379-392.
- Walker, Q. D., Williams, C. N., Jotwani, R. P., Waller, S. T., Francis, R., & Kuhn, C. M. (2007). Sex differences in the neurochemical and functional effects of MDMA in Sprague-Dawley rats. *Psychopharmacology*, 189(4), 435-445.
- Wall, P. M., Blanchard, D. C., & Blanchard, R. J. (2003). Behavioral and neuropharmacological differentiation of offensive and defensive aggression in experimental and

- seminaturalistic models. En Mattson M.P (Eds), *Neurobiology of Aggression. Serie Contemporary Neuroscience*. (pp. 73-91). Springer.
- Wall, P. M., & Messier, C. (2000). Ethological confirmatory factor analysis of anxiety-like behaviour in the murine elevated plus-maze. *Behavioural Brain Research*, *114*(1-2), 199-212.
- Wall, V. L., Fischer, E. K., & Bland, S. T. (2012). Isolation rearing attenuates social interaction-induced expression of immediate early gene protein products in the medial prefrontal cortex of male and female rats. *Physiology & Behavior*, *107*(3), 440-450.
- Wallinga, A. E., de Boer, S. F., Granneman, R. A., Koolhaas, J. M., & Buwalda, B. (2009). Long-term neurobiological consequences of ecstasy: a role for pre-existing trait-like differences in brain monoaminergic functioning? *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *94*(2), 227-233.
- Wallinga, A. E., ten Voorde, A. M., de Boer, S. F., Koolhaas, J. M., & Buwalda, B. (2009). MDMA-induced serotonergic neurotoxicity enhances aggressiveness in low- but not high-aggressive rats. *European Journal of Pharmacology*, *618*(1-3), 22-27.
- Walter, A., Mai, J. K., Lanta, L., & Görös, T. (1991). Differential distribution of immunohistochemical markers in the bed nucleus of the stria terminalis in the human brain. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, *4*(4), 281-298.
- Wang, F., Zhu, J., Zhu, H., Zhang, Q., Lin, Z., & Hu, H. (2011). Bidirectional control of social hierarchy by synaptic efficacy in medial prefrontal cortex. *Science*, *334*(6056), 693-697.
- Waterston, R. H., Lindblad-Toh, K., Birney, E., Rogers, J., Abril, J. F., Agarwal, P., . . . Lander, E. S. (2002). Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*, *420*(6915), 520-562.
- Weinshenker, N. J., & Siegel, A. (2002). Bimodal classification of aggression: Affective defense and predatory attack. *Aggression and Violent Behavior*, *7*(3), 237-250.
- Weiss, S. M., Wadsworth, G., Fletcher, A., & Dourish, C. T. (1998). Utility of ethological analysis to overcome locomotor confounds in elevated maze models of anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *23*(2), 265-271.
- Westlye, L. T., Bjørnebekk, A., Grydeland, H. K., Fjell, A. M., & Walhovd, K. B. (2011). Linking an anxiety-related personality trait to brain white matter microstructure: Diffusion tensor imaging and harm avoidance. *Archives of General Psychiatry*, *68*(4), 369-377.
- White, S. M., Kucharik, R. F., & Moyer, J. A. (1991). Effects of serotonergic agents on isolation-induced aggression. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *39*(3), 729-736.
- Winslow, J. T., & Insel, T. R. (1990). Serotonergic modulation of rat pup ultrasonic vocal development: Studies with 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *254*(1), 212-220.
- Winter, J. C. (1984). The stimulus properties of para-methoxyamphetamine: A nonessential serotonergic component. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *20*(2), 201-203.
- Winter, J. C. (1994). The stimulus effects of serotonergic hallucinogens in animals. *NIDA Research Monograph Series*, (146), 157-182.
- Wisłowska-Stanek, A., Lehner, M., Skórzewska, A., Krzascik, P., Maciejak, P., Szyndler, J., . . . Plaznik, A. (2013). Changes in the brain expression of alpha-2 subunits of the GABA-A



- receptor after chronic restraint stress in low- and high-anxiety rats. *Behavioural Brain Research*, 253, 337-345.
- Woodhams, P. L., Roberts, G. W., Polak, J. M., & Crow, T. J. (1983). Distribution of neuropeptides in the limbic system of the rat: The bed nucleus of the stria terminalis, septum and preoptic area. *Neuroscience*, 8(4), 677-703.
- Woolverton, W. L., & English, J. A. (1997). Effects of some phenylethylamines in rhesus monkeys trained to discriminate (+)-amphetamine from saline. *Drug and Alcohol Dependence*, 44(2-3), 79-85.
- World Health Organization. (2000). WHO Expert Committee on Drug Dependence. Thirty-second report. *World Health Organization technical report series*, 903, i-v, 1-26. Recuperado de [http://www.who.int/substance\\_abuse/right\\_committee/en/](http://www.who.int/substance_abuse/right_committee/en/)
- Yassa, M. A., Hazlett, R. L., Stark, C. E. L., & Hoehn-Saric, R. (2012). Functional MRI of the amygdala and bed nucleus of the stria terminalis during conditions of uncertainty in generalized anxiety disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 46(8), 1045-1052.
- Yoshiki, A., & Moriwaki, K. (2006). Mouse phenome research: Implications of genetic background. *ILAR Journal*, 47(2), 94-102.
- Young, R., & Glennon, R. A. (1986). Discriminative stimulus properties of amphetamine and structurally related phenalkylamines. *Medicinal Research Reviews*, 6(1), 99-130.
- Zhang, Y., Filiou, M. D., Reckow, S., Gormanns, P., Maccarrone, G., Kessler, M. S., . . . Turck, C. W. (2011). Proteomic and metabolomic profiling of a trait anxiety mouse model implicate affected pathways. *Molecular & cellular proteomics*, 10(12) 1-11.
- Zhao, X., Sun, L., Jia, H., Meng, Q., Wu, S., Li, N., & He, S. (2009). Isolation rearing induces social and emotional function abnormalities and alters glutamate and neurodevelopment-related gene expression in rats. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 33(7), 1173-1177.
- Zhou, W., Cunningham, K. A., & Thomas, M. L. (2003). Estrogen effects on the hyperactivity induced by (+)-MDMA and cocaine in female rats. *Behavioral Neuroscience*, 117(1), 84-94.
- Zimmerman, J. M., Rabinak, C. A., McLachlan, I. G., & Maren, S. (2007). The central nucleus of the amygdala is essential for acquiring and expressing conditional fear after overtraining. *Learning & Memory*, 14(9), 634-644.
- Zwanzger, P., Zavorotnyy, M., Gencheva, E., Diemer, J., Kugel, H., Heindel, W., . . . Pfeleiderer, B. (2013). Acute shift in glutamate concentrations following experimentally induced panic with cholecystinin tetrapeptide-a 3T-MRS study in healthy subjects. *Neuropsychopharmacology*, 38(9), 1648-1654.





UNIVERSIDAD  
DE MÁLAGA

