

**TRABAJO DE FINAL DE GRADO EN
MEDICINA**

**PAPEL DEL CALCIO CELULAR EN LAS
CONDUCTAS INDUCIDAS POR EL ETANOL**



AUTORA: ANDREA MASCARÓS MARTÍNEZ

TUTOR: PABLO BALIÑO REMIRO.

**UNIDAD PREDEPARTAMENTAL DE MEDICINA- ÀREA DE
FISIOLOGÍA**

CURSO 2017-2018

HOJA DE AUTORIZACIÓN DEL TRABAJO



TRABAJO DE FIN DE GRADO (TFG) - MEDICINA

EL/LA PROFESOR/A TUTOR/A hace constar su AUTORIZACIÓN para la Defensa Pública del Trabajo de Fin de Grado y CERTIFICA que el/la estudiante lo ha desarrollado a lo largo de 6 créditos ECTS (150 horas)

TÍTULO del TFG: PAPEL DEL CALCIO CELULAR EN LAS CONDUCTAS INDUCIDAS POR EL ETANOL.

ALUMNO/A: Andrea Mascarós Martínez

DNI: 44534554E

PROFESOR/A TUTOR/A: Pablo Balaño Remiro

Fdo (Tutor/a):

COTUTOR/A INTERNO/A (Sólo en casos en que el/la Tutor/a no sea profesor/a de la Titulación de Medicina):

Fdo (CoTutor/a interno):

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIACIONES.....	1
RESUMEN.....	2
ABSTRACT	3
EXTENDED SUMMARY.....	4
INTRODUCCIÓN.....	6
MÉTODO	10
Criterios de selección de los estudios	10
Estrategia de búsqueda.....	10
Selección de estudios	12
Extracción de datos.....	13
Evaluación de la calidad metodológica y síntesis de la evidencia científica	14
Análisis y síntesis	14
RESULTADOS EN MODULACIÓN DE LA CONDUCTA.....	15
Actividad locomotora.....	15
Aprendizaje.....	18
Ansiedad.....	18
Ingesta de etanol	18
Conducta depresiva	20
Preferencia de lugar condicionada.....	20
Síndrome de retirada	21
Pérdida del reflejo de enderezamiento.....	21
DISCUSIÓN	23
CONCLUSIONES.....	27
REFERENCIAS	28
ANEXOS.....	35

LISTA DE ABREVIACIONES

- 5HT: 5- hidroxitriptamina (Serotonina)
- AC: Adenilil ciclasas
- ATP: Adenosin trifosfato
- AVAD: Años de vida ajustados en función de la discapacidad
- BK: Big potassium
- Ca²⁺: Calcio
- CaM: Calmodulina
- cAMP: Adenosin monofosfato cíclico
- CREB: cAMP response element binding
- DAG: Diacilglicerol
- ERK: Quinasa regulada por señales extracelulares
- GABA: ácido gamma-aminobutírico
- InsP₃R: Inositol-1,4,5 trifosfato
- Mg²⁺: Magnesio
- NAADP: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
- nAChR: Receptor nicotínico de acetilcolina
- Ng: Neurogranina
- NMDA: N-metil-D-aspartato
- NMDAR: Receptor de N-metil-D-aspartato
- PDE4: Fosfodiesterasa 4
- PEth: Fosfatidiletanol
- PKA: Proteína quinasa dependiente de cAMP
- PKC: Proteína quinasa C
- PLD: Fosfolipasa D
- PMCA: Bomba de calcio de membrana plasmática
- RE: Retículo endoplásmico
- RyR: Receptor de rianodina
- SERCA: ATP-asa de calcio del retículo sarcoplásmico
- VIH: Virus de inmunodeficiencia humana

RESUMEN

Introducción: El etanol es actualmente la droga más consumida en el mundo. Su consumo produce cambios conductuales tanto de manera crónica como aguda y gran parte de estos cambios están modulados por el Ca^{2+} . **Objetivo:** La finalidad de esta revisión de investigación básica es plasmar los mecanismos mediante los que el etanol interacciona con el Ca^{2+} en el organismo y modula de esta forma la conducta. **Método:** En esta revisión se incluyen 29 artículos de los últimos 10 años extraídos de una búsqueda en las bases de datos de Pubmed, Scopus y Epistemonikos, utilizando combinaciones de las siguientes palabras: "Calcium", "Ethanol", "Addiction", "Behavior", "PKA", "PKC", "Mitochondria", "Endoplasmic Reticulum", "Calcium pathway", "Acidic Stores", "Adenylyl Cyclase", "Calcium channels", "Central nervous system" y "NMDA receptors". Los estudios elegidos han sido realizados en modelo animal. **Resultados:** El etanol produce cambios conductuales que incluyen una estimulación en la actividad locomotora y un aumento de la pérdida del reflejo de enderezamiento. Además, su consumo produce ansiedad y conductas depresivas y estimula la preferencia de lugar condicionada. Todos estos parámetros se ven modificados cuando se modula el Ca^{2+} antes de la ingesta de etanol. **Conclusiones:** El Ca^{2+} modula la conducta mediante diversos mecanismos que incluyen los canales dependientes de Ca^{2+} , en especial los tipo L, la CaM, diversas AC y la PKA. El Ca^{2+} intracelular es el más involucrado en la modulación de la conducta.

Palabras clave: Calcio, Etanol, Conducta.

ABSTRACT

Introduction: Ethanol is the most consumed drug worldwide. It produces behavioral changes in a chronic manner and when acute administered. It has been shown that some of these changes are modulated by cellular Ca^{2+} through different intracellular pathways.

Objective: The purpose of this review is to study the role of Ca^{2+} dependent molecular mechanisms in the behavioral effects produced by ethanol. **Methodology:** In this review, 29 articles were included from the last 10 years. A search was made in three databases: Pubmed, Scopus and Epistemonikos. The combination of terms used was: "Calcium", "Ethanol", "Addiction", "Behavior", "PKA", "PKC", "Mitochondria", "Endoplasmic Reticulum", "Calcium pathway", "Acidic Stores", "Adenylyl Cyclase", "Calcium channels", "Central nervous system" and "NMDA receptors". The studies selected are based in the animal models. **Results:** Ethanol is able to elicit different behavioral changes that include locomotor activity stimulation, loss of righting reflex, anxiety related behavior, place preference and ethanol intake. All of this ethanol-induced behavior can be modulated by different Ca^{2+} manipulations. **Conclusions:** Manipulation of cellular Ca^{2+} induces behavioral changes through a variety of mechanisms including Ca^{2+} -dependent channels, especially L-type, CaM, some AC and PKA. It is important to remark that intracellular Ca^{2+} plays a more significant role in the behavioral changes elicited by ethanol.

Key words: Calcium, Ethanol, Behavior

EXTENDED SUMMARY

Introduction:

Ethanol is the most consumed drug worldwide and its impact economically and socially is large. The World Health Organization estimates that each year 3.3 million deaths are caused by ethanol abuse. Ethanol has also been identified as a cause of mental illness, trauma and it is related with infectious diseases such as tuberculosis and HIV/AIDS. Ethanol exerts a wide variety of effects through its interaction with many neurotransmitters and neuromodulators in the central nervous system, and studies have failed to find a defined and unique receptor for ethanol. Ethanol interacts with intracellular polypeptides and ion channels:

- Intracellular polypeptides:
 - PKC (PKC γ and PKC ϵ), PLD, AC (AC1 and AC8), PKA and CREB.
- Ion channels
 - Ligand-gated ion channels: NMDA, GABA, nAChR and 5-HT $_3$.
 - Voltage dependent ion channels: Potassium channels (BK channels), sodium channels and Ca $^{2+}$ channels (L-type).

Ca $^{2+}$ is an ubiquitous intracellular molecule and mediates many cellular processes. It interacts with receptors, cascades and channels. Ca $^{2+}$ can be mobilized from out the cell (through channels) or from the inside of the cell:

- Endoplasmic reticulum, mitochondria and acidic stores.

Ethanol exposure increases intracellular Ca $^{2+}$ concentrations in a dose dependent manner. This increase seems to be carried out by intracellular Ca $^{2+}$ stores.

The purpose of this review is to show the mechanisms by which ethanol interacts with Ca $^{2+}$ at the behavioral level.

Methodology:

Regarding the methodology used in the present study, a research in three databases was carried out. Thus, Pubmed, Scopus and Epistemonikos were used. The terms used for the research were those most relevant to the Ca $^{2+}$ -ethanol interaction at the behavioral level. In order to select the articles, inclusion and exclusion criteria were established. 29 articles were finally included in this review. Afterwards, a summary chart was made to synthesize the data.

The different sections of the chart are the following: Article title, authors-year of publication, objective of the study, material and methods and results in behavior.

Results:

Different behavioral paradigms were studied: locomotor activity, learning, anxiety, ethanol intake, depressive behavior, place preference, abstinence syndrome and loss of righting reflex. These parameters were studied depending on the acute or chronic ethanol effects. Moreover, L-type Ca^{2+} channels, BK channel subunits, intracellular Ca^{2+} chelation, SERCA density, RyR inhibition, CaM modulation, ERK, NMDA receptor, PDE4, AC1 and 8 were studied. It is important to highlight that there might be some discrepancies within the parameters of the study due to methodological considerations and protocols applied.

Discussion and conclusions:

Extracellular Ca^{2+} modulates ethanol behavior:

L-type Ca^{2+} channels play a significant role in ethanol locomotor stimulation at low doses, specifically Cav1.2 subunit. BK channels seem to be related to prolonged administration of ethanol. NMDA receptor, specifically NR2B subunit, plays an important role in behavior at high doses of ethanol.

Intracellular Ca^{2+} also modulates ethanol behavior:

Endoplasmic reticulum plays a remarkable role in behavior modulation since it has been proved that modulation of SERCA, InsP_3R and RyR induces changes in ethanol behavior. Some authors propose that the sedative-hypnotic effect of ethanol is mostly mediated by intracellular Ca^{2+} and not so much by extracellular.

CaM modulates PKA, which is dependent on intracellular Ca^{2+} release. Since PKA is also modulated by extracellular Ca^{2+} from L-type Ca^{2+} channels, it is suggested that its effects may be due to the PKA activation.

AC5 has been studied and it seems to modulate the loss of righting reflex, but further studies need to be done in this respect to approach conclusions.

In conclusion, behavioral changes after ethanol intake seem to be more related to intracellular Ca^{2+} .

Further investigation should be focused on describing the role of intracellular Ca^{2+} and its differences with extracellular Ca^{2+} .

INTRODUCCIÓN

El etanol es una de las sustancias de abuso más consumidas en el mundo y tiene un gran impacto económico y social. La Organización Mundial de la Salud estima que cada año se producen 3,3 millones de muertes en el mundo debido al consumo nocivo de etanol y además es causa de más de 200 enfermedades y trastornos. En términos generales, el 5,1% de la carga mundial de morbilidad y lesiones se puede atribuir al consumo de etanol, calculado en términos de AVAD (Años de vida ajustados en función de la discapacidad). La sociedad, actualmente tiende a comenzar el consumo de etanol a edades tempranas y en el grupo de edades comprendidas entre 20-39 años, un 25% de las defunciones son atribuibles al consumo de éste (1).

Por otra parte, el consumo de etanol se ha identificado como causa de trastornos mentales y comportamentales, además de traumatismos y está relacionado también con enfermedades infecciosas tales como la tuberculosis y el VIH/sida (1).

El etanol ejerce una gran variedad de efectos a través de su interacción con varios neurotransmisores y neuromoduladores en el sistema nervioso central (2), aunque actualmente no se ha reconocido un receptor concreto y único para esta sustancia. Una de las posibles razones por las que ha ocurrido esto es que el etanol tiene una baja afinidad por las proteínas, siendo una sustancia hidrosoluble que se distribuye de manera que su concentración en los distintos órganos es igual a la concentración en sangre. A concentraciones elevadas (>0.5 M) esta sustancia interacciona con proteínas desnaturalizándolas (3), mientras que a concentraciones bajas (< 80 mM) modifica canales iónicos (4), receptores de neurotransmisores (5), enzimas (6) y moléculas de adhesión (7).

Como ya se ha comentado anteriormente, el etanol no tiene un receptor único, sino que interacciona con polipéptidos intracelulares o segundos mensajeros y con canales iónicos.

- Polipéptidos intracelulares o segundos mensajeros
 - PKC (Proteína quinasa C): Son quinasas dependientes de fosfolípidos que, según los segundos mensajeros a los que activan, se clasifican en convencionales (PKC α , β , γ - activadas por Ca^{2+} y DAG), nuevas (PKC δ , ϵ , ζ , θ – activadas por DAG) y atípicas (PKC ζ , ι , λ – activadas por ácido araquidónico y fosfatídico). La PKC γ ha sido ampliamente estudiada y se ha visto que ratones que carecen de ella muestran una sensibilidad disminuida a los efectos ansiolíticos e hipnóticos producidos por el etanol (8) y una preferencia e impulsividad aumentadas (9). Se ha comprobado que en los ratones que carecen de PKC ϵ se alteran los efectos conductuales producidos

por el etanol (10). Los estudios sugieren que el etanol produce un aumento de la síntesis de PKC β o una disminución de su degradación en el córtex (11).

- PLD (Fosfolipasa D): En presencia de etanol las PLD forman PEth (Fosfatidiletanol) que incrementa la tolerancia de la membrana celular a los efectos de fluidización producidos por el etanol y esto parece tener relación con el desarrollo de tolerancia a los efectos de la intoxicación por etanol (12).
 - AC (Adenilil ciclasas): Son enzimas que sintetizan cAMP a partir de ATP siendo las AC1 y AC8 dependientes de Ca^{2+} -CaM (Calcio-Calmodulina) y críticas para los cambios en la conducta producidos por el etanol. Se ha visto que ratones que no tienen AC1 y 8 muestran respuestas alteradas al etanol (13).
 - PKA (Proteína quinasa dependiente de cAMP): Es el punto final de una cascada dependiente de cAMP que se ha demostrado que es una diana para el etanol. Una de sus principales acciones es fosforilar CREB (cAMP response element binding) (14). Modula efectos psicofarmacológicos del etanol. Ratones con una baja actividad de PKA son más sensibles a los efectos sedativos del etanol y tienen menos preferencia hacia éste comparado con animales control (15). Al contrario, también se ha visto que ratones con una alta actividad de PKA tienen mayor preferencia e ingesta de etanol y son menos sensibles a los efectos sedativos de éste (16). Se ha propuesto que la PKA regula los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje mediante un mecanismo AC/ Ca^{2+} -CaM dependiente. (17)
 - CREB: Es un mecanismo que juega un papel muy importante en la plasticidad neuronal inducida por drogas y se ha visto que CREB fosforilado modula distintas conductas inducidas por el etanol (18).
- Canales iónicos:
- Operados por ligando:
 - NMDA (N-metil-D-aspartato): NMDAR son receptores de glutamato y median la mayor parte de la transmisión sináptica excitatoria. Son muy permeables al Ca^{2+} y son bloqueados por Mg^{2+} (19). Los canales NMDA juegan un papel muy importante en la plasticidad sináptica, el aprendizaje, la memoria, la expresión génica y el desarrollo de redes neuronales durante el desarrollo (20). Además, a nivel conductual, se ha visto que estos canales median varios aspectos relacionados con la tolerancia o la retirada del etanol (21,22).

- GABA (Ácido gamma-aminobutírico): Es un neurotransmisor sintetizado a partir de glutamato. Se ha demostrado que el etanol aumenta la función GABAérgica mediando conductas como la ingesta de etanol (23,24), tolerancia (25), efectos hipnóticos, anticonvulsivos y ansiolíticos (26).
- nAChR (Receptor nicotínico de acetilcolina): Se ha demostrado que manipulaciones farmacológicas de las subunidades de este receptor reducen la ingesta voluntaria de etanol en un modelo de roedor (27,28).
- 5-HT (Serotonina): Los receptores de 5-HT en el cerebro están involucrados en la modulación del comportamiento, la actividad neuronal y la liberación de neurotransmisor (29). En concreto, los 5-HT₃ están implicados en la ingesta de etanol (30) y en los distintos procesos que regulan el efecto sedativo de éste (31,32).
- Dependientes de voltaje:
 - Canales de potasio: Dentro de estos canales, hay que destacar los canales BK “big potassium” (Ca²⁺ dependientes) que se han caracterizado por mediar el consumo de etanol y la tolerancia aguda a éste (33).
 - Canales de sodio: El etanol produce un efecto inhibitorio sobre estos canales (34).
 - Canales de Ca²⁺: Existen varios tipos (L, P/Q, N, R y T). Los más abundantes en el SNC son los tipo L (larga duración) que han sido estudiados en profundidad y se han caracterizado como intermediarios en la respuesta neurobiológica a diferentes drogas de abuso (35). A nivel conductual, se ha demostrado que antagonistas de los canales tipo L reducen el consumo voluntario de etanol (36), modulan la discriminación al etanol (37) y reducen las manifestaciones del síndrome de abstinencia (38).

El Ca²⁺ es una de las moléculas biológicas más ubicuas, además de un segundo mensajero que media muchos procesos celulares y se encuentra muy regulado debido a su alta toxicidad a niveles elevados (39,40). Interacciona en el organismo mediante numerosos receptores, cascadas y canales. El Ca²⁺ se puede movilizar en el organismo desde el exterior de la célula, es decir, mediante canales (explicados anteriormente) o desde almacenes internos:

- Retículo endoplásmico: InsP₃R (Inositol-1,4,5 trifosfato) y RyR (Receptor de rianodina) regulan el Ca²⁺ de este compartimento llevando Ca²⁺ al citoplasma. SERCA (ATP-asa de calcio del retículo sarcoplásmico) mueve el Ca²⁺ desde el

citoplasma contra gradiente, llevándolo de vuelta al RE y PMCA (Bomba de calcio de membrana plasmática) saca el Ca^{2+} de la célula (41). El Ca^{2+} proveniente de canales operados por ligando o por voltaje son el desencadenante que estimula la liberación de Ca^{2+} desde los compartimentos internos celulares (41).

- Mitocondria: Presenta un canal de Ca^{2+} muy selectivo dependiente de ligando que bombea Ca^{2+} al interior de la mitocondria. Por esto, sirve de amortiguador del Ca^{2+} liberado por el RE (42).
- Compartimentos ácidos: Incluyen vacuolas, lisosomas y endosomas. La movilización del Ca^{2+} se produce por ATPasas e intercambios entre $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$ utilizando como cofactor NAADP (Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) (43).

Existen estudios que demuestran que concentraciones biológicamente relevantes de etanol (<80 mM) aumenta los niveles intracelulares de Ca^{2+} (44) y otros que demuestran que la administración de etanol en cultivos de células modifica los niveles de Ca^{2+} intracelular a partir de reservas intracelulares de esta molécula (45,46).

A pesar de no conocer el mecanismo exacto mediante el cual el etanol actúa en el organismo, sabemos que produce cambios en el comportamiento, tanto de forma aguda como crónica.

El **objetivo** de esta revisión sistemática es estudiar el papel del calcio celular (intracelular y extracelular) en las conductas inducidas por el etanol.

Justificación de la revisión

El etanol no tiene un mecanismo de acción inequívoco, al contrario que otras drogas de abuso que tienen un mecanismo de acción conocido y concreto. La investigación sobre nuevos modelos o mecanismos que puedan explicar los efectos del etanol a nivel central se ha hecho crítica dada la importancia social subyacente al consumo de etanol y su prevalencia como droga de abuso. De acuerdo a esto, en los últimos años se han llevado a cabo diversos estudios que muestran una evidencia del papel del calcio intracelular en la modulación de la conducta producida por el consumo de etanol. En esta revisión, se unificará la información recogida durante los últimos años respecto a los mecanismos de interacción entre el Ca^{2+} y el etanol.

MÉTODO

Criterios de selección de los estudios

Los criterios de inclusión y exclusión de los artículos se plasman en la tabla 1:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
Artículos en Castellano e Inglés	Artículos en idiomas distintos al Castellano e Inglés.
Artículos de tipo Revisiones sistemáticas y Estudios de investigación	Artículos de tipo económicos
Estudios en ratones y en seres humanos	Estudios en levaduras, parásitos y plantas
Efectos en la conducta	Exposición prenatal o del cerebro en desarrollo
Efectos en el SNC o en cultivos de células del SNC	Efectos sobre patologías orgánicas, en células distintas a las del SNC, neoplásica o embrionarias.

Tabla 1 Criterios de inclusión y exclusión

Estrategia de búsqueda

Previo a la búsqueda bibliográfica del trabajo, se realizó un estudio piloto con el fin de identificar los elementos de interés que relacionan el Ca^{2+} celular con los efectos centrales del etanol. Ésta, se realizó durante los meses de noviembre y diciembre de 2017 y enero de 2018 en tres bases de datos distintas: Pubmed, Scopus y Epistemonikos. Se utilizó en todas ellas la misma combinación de palabras y el operador booleano AND con un límite de antigüedad de 10 años. (Ver Tablas 2,3 y 4).

En cuanto a la búsqueda bibliográfica en Pubmed, puesto que la aplicación de términos MeSH no era atingente al presente trabajo dado el papel universal del calcio, se realizó con las combinaciones de términos que se presentan en la tabla 2 en todas las bases de datos de Pubmed.

TÉRMINOS UTILIZADOS	NÚMERO DE RESULTADOS	ARTÍCULOS SELECCIONADOS
Calcium AND Ethanol AND Behavior	151	10
Mitochondria AND Calcium AND Ethanol	30	1
Endoplasmic Reticulum AND Calcium AND Ethanol	39	2
Calcium pathway AND Ethanol	96	2
Acidic Stores AND Ethanol	5	0
Adenylyl Cyclase AND Calcium AND Ethanol	10	2
Calcium channels AND central nervous system AND Ethanol	85	18
NMDA Receptor AND Calcium AND Ethanol	30	2
PKC AND Calcium AND Ethanol	15	4
PKA AND Calcium AND Ethanol	21	3

Tabla 2: Búsqueda bibliográfica en Pubmed

TÉRMINOS UTILIZADOS	NÚMERO DE RESULTADOS	ARTÍCULOS SELECCIONADOS
Calcium AND Ethanol AND Behavior	283	9
Mitochondria AND Calcium AND Ethanol	49	2
Endoplasmic Reticulum AND Calcium AND Ethanol	40	1
Calcium pathway AND Ethanol	203	5
Acidic Stores AND Ethanol	2	0
Adenylyl Cyclase AND Calcium AND Ethanol	8	0
Calcium channels AND central nervous system AND Ethanol	76	8
NMDA Receptor AND Calcium AND Ethanol	44	3
PKC and Calcium AND Ethanol	21	3
PKA AND Calcium AND Ethanol	20	1

Tabla 3: Búsqueda bibliográfica en Scopus

TÉRMINOS UTILIZADOS	NÚMERO DE RESULTADOS	ARTÍCULOS SELECCIONADOS
Calcium AND Ethanol AND Behavior	0	
Mitochondria AND Calcium AND Ethanol	0	
Endoplasmic Reticulum AND Calcium AND Ethanol	0	
Calcium pathway AND Ethanol	5	0
Acidic Stores AND Ethanol	1	0
Adenylyl Cyclase AND Calcium AND Ethanol	0	
Calcium channels AND central nervous system AND Ethanol	0	
NMDA Receptor AND Calcium AND Ethanol	1	0
PKC AND Calcium AND Ethanol	8	0
PKA AND Calcium AND Ethanol	0	

Tabla 4 Búsqueda bibliográfica en Epistemonikos

Selección de estudios

Tras la búsqueda en las tres bases de datos, se obtuvieron 1.242 artículos relacionados con el tema, de los cuáles, al aplicar los criterios de inclusión y exclusión se redujeron a 232 y, al excluir los duplicados, a 74. Tras esto, se excluyeron otros 45 artículos tras leer sus resúmenes por no tener contenido relevante a aspectos de la conducta, quedando finalmente seleccionados 29 artículos (Figura 1).

Respecto a la selección de estudios, es necesario destacar que en la base de datos Epistemonikos no se encontraron resultados relevantes. Esta base de datos se basa en artículos de revisiones sistemáticas para buscar evidencia en intervenciones en salud. Los estudios incluidos en esta revisión están todos basados en el modelo animal.

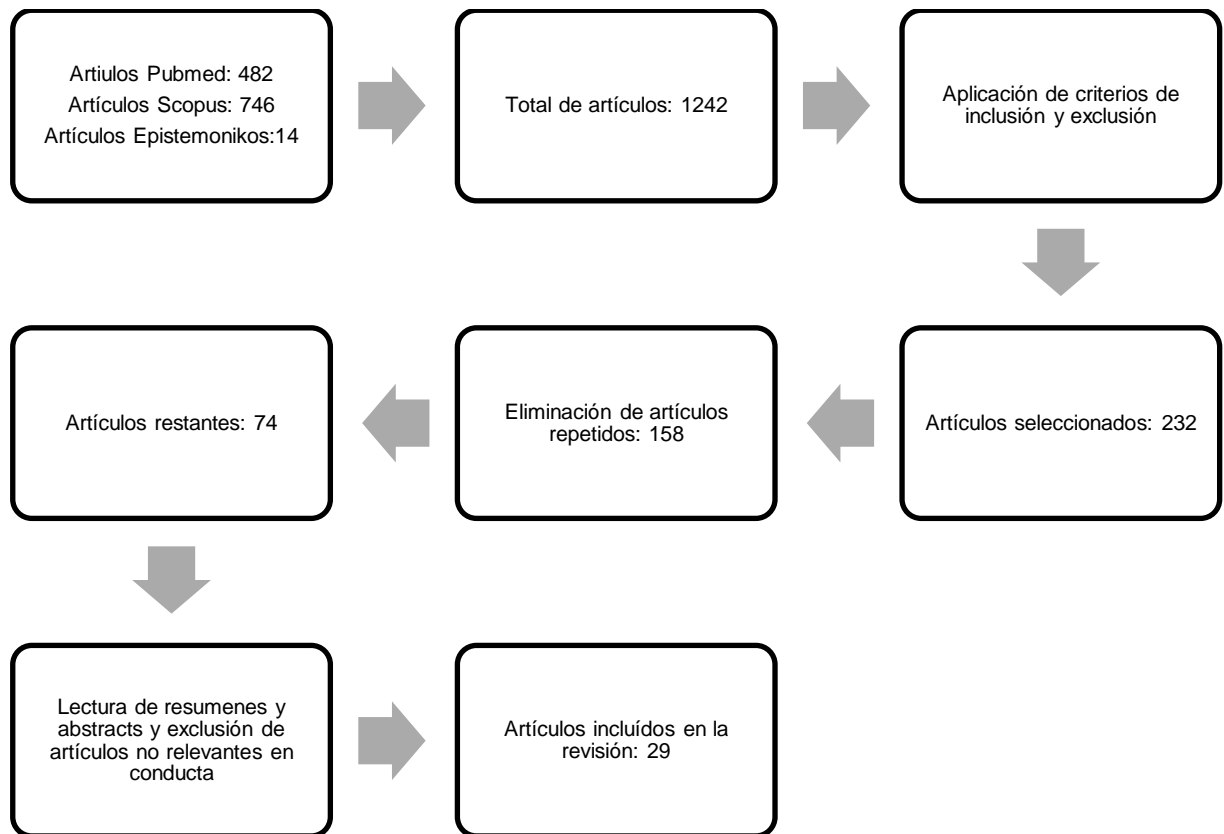


Figura 1: Estrategia de selección de estudios

Extracción de datos

Dentro de los 29 artículos, se extrajeron los resultados relevantes al estudio de los siguientes parámetros: actividad locomotora, aprendizaje, ansiedad, ingesta de etanol, conducta depresiva, preferencia de lugar condicionada, síndrome de abstinencia y pérdida del reflejo de enderezamiento. Estos estudios se agruparon en una tabla (ver tabla 5) que consta de los siguientes apartados:

- Título del artículo
- Autores-año de publicación
- Objetivo del estudio
- Material y Métodos: Se divide en fármacos utilizados en el estudio, procedimiento mediante el que se realizaron los experimentos, y parámetros de conducta estudiados en cada uno de ellos
- Resultados en conducta: Plasma los resultados en conducta de cada uno de los artículos.

Evaluación de la calidad metodológica y síntesis de la evidencia científica

Dada la inaplicabilidad de escalas SIGN y el sistema GRADE a la revisión de investigación básica, la inclusión de artículos en esta revisión se hizo acorde a aquellas revistas científicas indexadas y del primer cuartil. Además, se aplicó un componente metodológico temporal, de manera que los datos expuestos en esta revisión son recientes, de los últimos 10 años.

Análisis y síntesis

Para la síntesis y el análisis de la información de los distintos artículos, se procedió a la extracción de datos relevantes a la modulación de la conducta: actividad locomotora, aprendizaje, ansiedad, ingesta de etanol, conducta depresiva, preferencia de lugar condicionada, síndrome de abstinencia y pérdida del reflejo de enderezamiento. Cada uno de estos parámetros es estudiado de diferente manera en cada uno de los estudios (ver tabla 5).

RESULTADOS EN MODULACIÓN DE LA CONDUCTA

Los resultados de los 29 artículos seleccionados se exponen a continuación atendiendo a unos parámetros de estudio de la conducta concretos.

Actividad locomotora (Estimulación locomotora a bajas-moderadas dosis de etanol)

Efectos agudos:

Baliño et al, 2010 (47) estudiaron los efectos estimulantes locomotores producidos por el etanol utilizando 2 bloqueantes de los canales de Ca^{2+} tipo L (Diltiazem y Verapamilo) y como resultado, se observó que al administrar cualquiera de los dos se producía una disminución de la actividad locomotora en comparación con la administración de etanol-salino, sin modificar la incoordinación motora producida por el etanol. Además, la administración de bloqueante de los canales de Ca^{2+} fue efectiva cuando se administró 30 minutos antes del etanol. A partir de los 60-90 minutos, dejó de ser efectiva. **Broadbent et al, 2013** (48) analizaron el papel de tres bloqueantes de los canales de Ca^{2+} tipo L (Diltiazem, Verapamil y Nifedipino) y determinaron que todos ellos disminuían la actividad locomotora en comparación con el grupo control. Nifedipino fue el único capaz de bloquear la estimulación locomotora producida por el etanol. **Bhutada et al, 2012** (49) estudiaron el papel de Cilnidipine (bloqueante de los canales de Ca^{2+} tipo L y N) en la estimulación locomotora producida por el etanol y observaron que al administrar Cilnidipine la actividad locomotora disminuía en comparación con el grupo control.

Kreifeldt et al, 2016 (50) valoraron el papel de las subunidades $\beta 1$ y $\beta 4$ del canal BK y apreciaron que en ratones $\beta 1-$ y $\beta 4-$, tras la administración de etanol, no se modificó la coordinación motora en comparación con los ratones $\beta 1+$ y $\beta 4+$.

Baliño et al, 2012 (51) estudiaron los efectos de un quelante del Ca^{2+} intracelular (BAPTA-AM) en la actividad locomotora. Se observó que los efectos estimulantes locomotores producidos por la administración de etanol se vieron disminuidos cuando se administró BAPTA-AM 30-60 minutos antes del etanol. Por otra parte no se vio ningún efecto en la incoordinación locomotora producida por el etanol.

Cassidy et al, 2013 (52) analizaron el efecto del etanol en la coordinación motora y observaron que los ratones tratados con etanol mostraban incoordinación locomotora tras la ingesta de éste, siendo la incoordinación más pronunciada cuanto más larga era la exposición a etanol. Apreciaron que la densidad de SERCA 2b en las células de Purkinje disminuyó tras la administración de etanol. **Tarragon et al, 2012** (53) estudiaron el efecto de Dantrolene (antagonista del receptor de rianodina) administrado 5-15 o 30 minutos antes del

etanol y observaron que al administrar Dantrolene disminuía la estimulación de la actividad locomotora en comparación con grupo control.

Mijkowska et al, 2015 (54) investigaron el efecto de la α CaMKII no fosforilada. Compararon ratones salvajes con ratones con la α CaMKII no fosforilada tras la administración aguda de etanol y apreciaron que, al inhibir la fosforilación de ésta, los ratones no presentaban un aumento de la actividad locomotora.

Baliño et al, 2013 (55) analizaron el efecto de la inhibición de la CaM 15-30 minutos antes de la administración de etanol y observaron que se redujo la actividad locomotora en comparación con los ratones control.

Badanich et al, 2011 (56) estudiaron a ratones que carecían de la subunidad NR2B del receptor NMDA tras la administración de etanol y de vehículo y constataron que los ratones NR2B- presentaban mayor actividad locomotora que los ratones NR2B+ tras la administración de bajas dosis etanol y de vehículo.

Baliño et al, 2015 (57) valoraron el efecto de la inhibición de la PDE4 (Fosfodiesterasa 4) con un inhibidor de ésta, Ro 20-1724, previa a la administración de etanol y observaron un aumento de la actividad locomotora producida por dosis de etanol de hasta 2.5 g/kg, en comparación con la administración de salino-inhibidor.

Bosse et al, 2017 (58) investigaron el papel de la AC1 en la actividad locomotora tras la administración aguda de etanol y determinaron que en ratones sin AC1 no se produjo ninguna modificación en la actividad locomotora respecto al grupo control.

Efectos crónicos:

Shimizu et al, 2015 (59) estudiaron la actividad locomotora comparando un grupo expuesto a etanol de forma aguda con un grupo expuesto de forma crónica. Observaron que dosis altas de etanol producen una sensibilización locomotora tras una larga exposición, mostrando los ratones expuestos a etanol de forma crónica, una disminución de la actividad locomotora en comparación con los expuestos de forma aguda.

Li et al, 2008 (60) compararon la actividad locomotora en ratones a los 7 y 28 días de administración de etanol. Apreciaron que a los 28 días disminuía la actividad locomotora y el instinto exploratorio comparado con los registros a los 7 días y con los ratones control. Se producía, por tanto, una sensibilización locomotora con la administración de etanol a largo plazo. En el núcleo accumbens de los ratones que habían consumido etanol se observó la disminución de CaMKII.

Zhao et al, 2015 (61) analizaron la actividad locomotora en un grupo de ratones abstinentes a etanol y otro grupo re-expuesto a etanol tras un periodo de abstinencia y observaron que ambos mostraban un aumento de la actividad locomotora en comparación con el grupo no expuesto a etanol. Además se observó que, tras la administración crónica de etanol y en la re-exposición, disminuyó la fosforilación de NMDAR1, CaMKII y ERK en el núcleo accumbens mientras que durante la abstinencia a etanol la fosforilación de estas sustancias aumentó.

Wang et al, 2012 (62) compararon a ratones tras la administración aguda de etanol, en periodo de abstinencia, en re-exposición a etanol y control. Se observó una disminución en la actividad locomotora en los ratones a los 28 días, comparado con la actividad locomotora a los 7 días, observándose sensibilización locomotora. Los ratones re-expuestos a etanol tras un tiempo de abstinencia mostraban una actividad locomotora aumentada en comparación con ratones control. En el hipocampo se observó una disminución de la fosforilación de ERK 1/2 y de CaMKII tras el consumo prolongado de etanol. Esta fosforilación aumentó tras 24 horas de abstinencia y volvió a disminuir con la re-exposición a etanol.

Li et al, 2017 (63) estudiaron analizaron el efecto de la inhibición de AMPA y de CaMKII en la habénula lateral con DQNX y KN-62 tras varios días de exposición a etanol y determinaron que los ratones abstinentes mostraban menor actividad locomotora que los no abstinentes y que la actividad locomotora no se veía modificada con la inhibición de AMPA ni la de CaMKII.

Vengeliene et al, 2016 (64) valoraron el efecto de la inhibición de las calpainas (enzimas dependientes de calcio que se encargan de la proteólisis) al administrar un inhibidor de éstas (A-705253) tras un periodo de exposición a etanol de 7 semanas y una reagudización del consumo. Observaron que, al administrarlo, se produjo una disminución de la actividad locomotora dosis dependiente en comparación con el grupo control.

Reker et al, 2017 (65) estudiaron el efecto del inhibidor de mGluR5 tras administrarlo en ratones Ng- (la Ng (Neurogranina es un substrato específico del cerebro para la PKC que se une a la CaM y está implicado en la regulación de la señalización por Ca^{2+}) y apreciaron que mostraban incoordinación motora más rápidamente que los que no se les administraba mGluR5.

Bosse et al, 2017 (58) analizaron el papel de la AC1 en la sensibilización locomotora tras la administración crónica de etanol y determinaron que en ratones sin AC1 (por genética o tras administración de NB001 (inhibidor de AC1)) se produjo una inhibición de la sensibilización

locomotora en comparación con la administración aguda, ya que no se observaron diferencias entre la actividad locomotora tras la administración aguda y crónica de etanol en este grupo. La administración crónica de etanol produjo un aumento de la fosforilación del receptor GluN2B (subtipo de NMDA) en el estriado dorsal medial.

Aprendizaje

Natividad et al, 2016 (66) investigaron el efecto del consumo crónico de etanol en el aprendizaje de una tarea determinada comparando ratones antes y después del consumo de etanol. Los ratones tras 10 días de abstinencia mostraban un aumento del comportamiento perseverante, lo que indica menor flexibilidad cognitiva y por lo tanto pérdida de la capacidad de aprendizaje. Además, se constató un aumento de la fosforilación de CaMKII en la corteza prefrontal durante la abstinencia.

Mijkowska et al, 2015 (54) sometieron a un test de miedo a ratones sin α CaMKII fosforilada y apreciaron que no mostraban tanta rigidez (miedo a nuevo shock) como los ratones control tras varias pruebas del test. (*Ver tabla 4 para más información sobre test de miedo*).

Ansiedad

Efectos agudos:

Zhao et al, 2015 (61) probaron el efecto del etanol en la ansiedad y percibieron que el grupo de ratones que consumía etanol mostró una disminución de la ansiedad (mayor tiempo en un lugar) tras el consumo, al igual que el grupo que llevaba abstinentes 24 horas.

Efectos crónicos:

Wang et al, 2012 (62) constataron que los ratones que presentaban síndrome de abstinencia permanecían menos tiempo en un lugar concreto, mostrando así mayor ansiedad, mientras que el grupo re-expuesto a etanol mostró una disminución de la ansiedad.

Ingesta de etanol

Efectos agudos:

Salling et al, 2017 (67) compararon el consumo de etanol tras la administración aguda de etanol, durante la abstinencia y la re-exposición. El resultado fue que los ratones expuestos

a etanol durante varios días aumentaban gradualmente su consumo hasta el día 10, a partir del cual se mantenía estable.

Baliño et al, 2012 (51) administraron BAPTA-AM y esto se tradujo en una disminución de la ingesta de etanol de manera dosis-dependiente en comparación con la ingesta de agua o de sacarina.

Tarragon et al, 2012 (53) observaron que Dantrolene disminuía la ingesta de etanol en comparación con vehículo.

Baliño et al, 2013 (55) determinaron que al inhibir la CaM con W7, también se redujo la ingesta de etanol en comparación con vehículo.

Reker et al, 2017 (65) investigaron el papel de la Ng en el núcleo accumbens comparando ratones Ng- con ratones Ng+. Los Ng- mostraron una búsqueda de consumo de etanol más elevada tras un periodo de habituación al consumo de esta sustancia.

Cannady et al, 2016 (68) examinaron el papel del Aniracetam (inhibidor de receptor AMPA) y de m-AIP (inhibidor de CaMKII) en el consumo de etanol y comprobaron que los ratones con AMPA inhibido mostraban un consumo de etanol mayor, al igual que aquellos con CaMKII inhibida. La administración de etanol aumentó la fosforilación del receptor GluA1 S831 AMPA en la amígdala.

Efectos crónicos:

Wang et al, 2012 (62) constataron que el grupo de ratones re-expuesto a etanol mostraba una mayor ingesta de este tras la retirada, comparado con la primera exposición.

Zhao et al, 2015 (61) comprobaron que tanto la exposición aguda a etanol como la re-exposición tras un periodo de abstinencia producen un aumento en el consumo de etanol.

Mijakowska et al, 2015 (54) observaron que los ratones con la α CaMKII no fosforilada no muestran una búsqueda de consumo de etanol mayor tras varios días de consumo continuo.

Salling et al, 2017 (67) demostraron que durante la abstinencia a etanol y al comienzo de la recaída, los ratones mostraban una búsqueda de consumo mayor que al principio del estudio. Además, en los ratones re-expuestos se produjo un aumento de la fosforilación de CaMKII-T286 (α CaMKII) en la amígdala.

Li et al, 2017 (63) inhibieron AMPA o CaMKII con DQNX y KN-62 en la habénula lateral, lo que significó una disminución en la ingesta de etanol en comparación con vehículo tras una habituación previa escalonada al consumo de etanol.

Oka et al (69) analizaron el efecto de Acamprosato (estimulante de GABA y antagonista de glutamato) en el consumo de etanol en ratones con alta preferencia a etanol tras un periodo de habituación al consumo de este. Se observó que al administrar Acamprosato disminuía el consumo de etanol tras un periodo de abstinencia.

Li et al, 2008 (60) administraron Naloxona (antagonista de los receptores opioides) a ratones expuestos a etanol y éstos consumieron menos etanol en comparación con aquellos a los que se les administró vehículo.

Vengeliene et al, 2016 (64) observaron que A-705253 (inhibidor de las calpainas) disminuía el consumo de etanol en comparación con la administración de vehículo.

Uhrig et al, 2017 (70) investigaron el efecto de Verapamilo (bloqueante de los canales de Ca²⁺ tipo L) en la búsqueda de etanol tras un periodo de abstinencia. En la re-exposición a etanol tras la administración de Verapamilo se previno la búsqueda de consumo en ratones dependientes. Asimismo, en ratones sin Cav1.2 no hubo búsqueda de etanol.

Conducta depresiva

Li et al, 2017 (63) comprobaron que los ratones con síndrome de abstinencia presentaban conductas depresivas que disminuían cuando se inhibía el receptor AMPA o la CaMKII con DQNX y KN-62 respectivamente en la habénula lateral.

Preferencia de lugar condicionada:

Ver tabla 4 para más información sobre los distintos modos de estudiar la preferencia de lugar condicionada.

Efectos crónicos:

Kurokawa et al, 2014 (71) analizaron el papel de IP₃Rs-1 al administrar un inhibidor de éste, 2-APB. El etanol indujo preferencia de lugar a partir del tercer día de retirada del consumo, disminuyéndose ésta con un inhibidor de IP₃Rs-1 de manera dosis dependiente. Estudiaron también el papel de la calcineurina (enzima que cataliza la reacción de defosforilación de una fosfoproteína) administrando un inhibidor de ésta, FK506, y comprobaron que disminuía también la preferencia de lugar de manera dosis dependiente. IP₃Rs-1 se vio aumentado en el núcleo accumbens tras 4 días de tratamiento con etanol y disminuyó los niveles tras 3 días de abstinencia.

Shimizu et al, 2015 (59) observaron que dosis altas de etanol inducen mayor preferencia de lugar en una habitación oscura (influencia de la iluminación) en comparación con una blanca

en ratones a las 2 semanas, disminuyendo el efecto a las 4 y 8 semanas. Al administrar Acamprosato disminuyó la preferencia de lugar cuando el etanol se administró a altas dosis.

Síndrome de retirada (Convulsiones y otros)

Kreifeldt et al, 2016 (50) constataron que a nivel crónico, durante la retirada de etanol, los ratones $\beta 1$ - y $\beta 4$ - mostraban un aumento de las convulsiones en comparación con control. En los ratones $\beta 1$ - se aceleraba la aparición de éstas y en los que $\beta 4$ - se alargaba el tiempo durante el que presentaban las convulsiones.

N'Gouemo, 2015 (72) estudió el papel de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje del colículo inferior en las convulsiones producidas por la abstinencia utilizando la administración de bloqueantes de los canales de Ca^{2+} (Nifedipino y Nimodipino) y confirmó que se producía una elevada incidencia de convulsiones, sobre todo a las 24 horas de abstinencia. Al administrar cualquiera de los dos bloqueantes se redujeron las convulsiones por abstinencia a partir de las 2 horas y Nimodipino consiguió eliminarlas por completo.

N'Gouemo et al, 2015 (73) examinaron el papel de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje en las convulsiones producidas por la abstinencia a etanol. Se produjeron convulsiones a las 24 horas de abstinencia. Se constató que la abstinencia modula los canales de Cav1 a nivel proteico y de RNAm en el colículo inferior.

Kurokawa et al, 2013 (74) estudiaron el papel de RyR utilizando Dantrolene tras 9 días de tratamiento con etanol. Los ratones presentaron convulsiones a las 12 y 15 horas de abstinencia y, tras la administración de Dantrolene, los signos de abstinencia se vieron atenuados. Los niveles de RyR1 y RyR2 se aumentaron durante la exposición a etanol mientras que los de RyR3 se mantuvieron estables. Por último, al inhibir la Dopamina con SCH23390 (antagonista D2DR) y Sulpiride (antagonista D1), los signos de abstinencia se vieron aumentados.

Pérdida del reflejo de enderezamiento (Efecto hipnótico a altas dosis de etanol)

Efectos agudos:

Baliño et al, 2012 (51) comprobaron que, al administrar BAPTA-AM, el reflejo de enderezamiento se recuperaba más rápidamente que si no era administrado. **Tarragon et al, 2012** (53) constataron también una disminución de la duración de la pérdida del reflejo de enderezamiento al administrar Dantrolene. **Baliño et al, 2015** (57) probaron que la pérdida del reflejo fue más duradera al administrar Ro 20-1724 (inhibidor de la PDE-4). **Badanich et al, 2011** (56) determinaron que, a altas dosis de etanol, los ratones que carecían de la

subunidad NR2B del receptor NMDA presentaban mayor duración del tiempo de la pérdida del reflejo en comparación con ratones con subunidad NR2B, sin afectarse la latencia de la pérdida del reflejo. **Mijakowska et al, 2015** (54) constataron que los ratones sin la α CaMKII fosforilada perdieron el reflejo de enderezamiento más rápidamente que los que tenían α CaMKII fosforilada.

Kim et al, 2012 (75) analizaron el papel de la AC5 del estriado dorsal en la pérdida del reflejo de enderezamiento comparando ratones AC5+ y AC5- con CaMKII α y BDNF inhibidas. Determinaron que, al inhibir éstas, en los 2 grupos de ratones se producía un aumento de la pérdida del reflejo de enderezamiento. Además los ratones AC5- mostraron un tiempo de pérdida del reflejo de enderezamiento menor.

Kreifeldt et al, 2016 (50) constataron que β 1 y β 4 no modificaban la pérdida del reflejo a nivel agudo, pero tras una administración prolongada a etanol, la pérdida del reflejo se veía aumentada en ratones β 1-.

DISCUSIÓN

La modulación de la conducta producida por el etanol ha sido objeto de estudio desde hace varios años en el modelo animal. El objetivo principal de esta revisión ha sido evaluar los distintos mecanismos mediante los cuales el Ca^{2+} celular, tanto intracelular como extracelular, modula la conducta inducida por el etanol.

En cuanto al Ca^{2+} extracelular, se ha podido constatar que los canales iónicos dependientes de Ca^{2+} modulan la conducta producida por el etanol.

A dosis bajas de etanol, se produce un efecto estimulante de la actividad locomotora. Se ha apreciado que la presencia de Ca^{2+} aumenta esta actividad locomotora. En el caso de los canales de Ca^{2+} tipo L, cuando estos se bloquean, la actividad locomotora se ve disminuida, (47,49). En este sentido, algunos autores alegan que los canales de Ca^{2+} tipo L no juegan un papel tan importante en la modulación de la actividad locomotora, ya que no todos los bloqueantes son capaces de inhibir la estimulación locomotora, sólo de atenuarla. El único bloqueante estudiado capaz de inhibir la estimulación locomotora ha sido el Nifedipino y se propone que esta diferencia es debida a que el Nifedipino disminuye los niveles de etanol en sangre (48). Atendiendo a estos datos, cabe destacar que no en todos los estudios se han visto los niveles de etanol en sangre disminuidos, lo cual llevaría a pensar que estos disminuyen según la dosis de bloqueante administrada. Además, se ha constatado que los canales de Ca^{2+} tipo L en el colículo inferior juegan un importante papel en el síndrome de abstinencia, ya que al bloquearlos se reducen los síntomas producidos por la abstinencia a etanol (72). Son varios los estudios recientes que involucran la subunidad Cav1 de los canales tipo L como moduladores de la dependencia a etanol (70,73). En concreto, un estudio reciente propone que la subunidad Cav1.2 juega un papel importante en la búsqueda de consumo de etanol en ratones abstinentes, proponiendo esta subunidad como clave en la dependencia al etanol (70).

A dosis altas de etanol, se produce un efecto hipnótico que se evalúa mediante la pérdida del reflejo de enderezamiento. Sabemos que la liberación de Ca^{2+} intracelular juega un papel relevante en esta conducta. De esta manera, la disminución de la concentración intracelular de Ca^{2+} ya sea por el bloqueo de su liberación como por su depleción mediante el uso de quelantes, son capaces de revertir estos efectos narcóticos inducidos por el etanol (51,53).

Otro tipo de canales estudiados estos últimos años han sido los canales de calcio BK que son Ca^{2+} dependientes. Aun así, sus subunidades $\beta 1$ y $\beta 4$ no parecen tener un papel importante en la modulación de la actividad locomotora ni de la pérdida del reflejo de enderezamiento a nivel agudo (50). En cambio, parece ser que ante la abstinencia a etanol,

estas subunidades sí juegan un papel importante, ya que al carecer de ellas, los síntomas de abstinencia se ven potenciados, además del efecto hipnótico (50).

Estos datos llevan a pensar que los canales de Ca^{2+} tipo L siguen siendo el subtipo más involucrado en la modulación de la conducta producida por el etanol a dosis bajas en concreto, la subunidad Cav1.2. En cuanto a los canales BK, es posible que tengan efecto únicamente ante la administración prolongada de etanol.

En cuanto al receptor NMDA, altamente permeable a Ca^{2+} , se ha observado un aumento de la fosforilación de la subunidad GluN2B en el estriado dorsal medial (58). Además, ante la carencia de la subunidad NR2B se da una mayor duración de la pérdida de reflejo de enderezamiento sin verse afectada la actividad locomotora (56).

De esta forma, podemos observar como el NMDA, en concreto la subunidad NR2B, tiene un importante papel en la conducta producida por dosis altas de etanol.

En cuanto al Ca^{2+} intracelular, también se ha determinado que juega un importante papel en la modulación de la conducta.

Al quelar el Ca^{2+} intracelular, los efectos estimulantes locomotores producidos a bajas dosis de etanol se ven disminuidos, al igual que la ingesta de etanol y la duración de la pérdida del reflejo de enderezamiento (51).

Es probable que el RE esté ampliamente involucrado en la conducta modulada por el Ca^{2+} , ya que se ha visto que la densidad de SERCA 2b en las células de Purkinje se ve disminuida tras la administración de etanol (52) y que al inhibir el RyR del RE disminuye tanto la estimulación locomotora producida por el etanol, como la ingesta de etanol y la duración de la pérdida del reflejo de enderezamiento (53). Además, las subunidades RyR1 y 2 parecen estar relacionadas con la modulación de la conducta producida por el etanol, ya que sus niveles se ven aumentados tras su consumo (74). Por otra parte, parece que la Dopamina juega un importante papel en la modulación de RyR y la abstinencia, ya que antagonistas dopaminérgicos son capaces de bloquear los síntomas de abstinencia, proponiendo que los RyR están altamente regulados por dopamina (74).

Por otra parte, se ha visto que al inhibir $\text{IP}_3\text{Rs-1}$ disminuye la preferencia de lugar condicionada que se produce tras la administración prolongada de etanol y que los niveles de $\text{IP}_3\text{Rs-1}$ aumentan en el núcleo accumbens tras la administración de etanol y disminuyen al cesar el consumo (71).

Estos hallazgos proponen un importante papel del Ca^{2+} intracelular, en especial del RE en la modulación de la conducta producida por el etanol. Algunos autores proponen que el efecto hipnótico está relacionado más con el calcio intracelular y no tanto con el extracelular.

Una proteína ampliamente estudiada y relacionada con el metabolismo del Ca^{2+} es la CaM. En este sentido, en los últimos años se han presentado numerosos estudios que la caracterizan aún más como moduladora de la conducta inducida por el etanol.

Se ha observado que al inhibir la CaM, la actividad locomotora y el consumo de etanol se reducen de forma aguda (55). Esta CaM activa la PKA, con lo que ambas se relacionan con la modulación del etanol. La PKA se activa con la administración de etanol y se ha visto relacionada con el flujo de Ca^{2+} de RyR, aunque no está claro si se relaciona también con los canales de Ca^{2+} (47,51). Los niveles de CaM quinasa IV en el núcleo accumbens se ven disminuidos tras la administración de etanol (60).

La inhibición farmacológica de CaMKII parece reducir la sensibilización locomotora tras la administración prolongada de etanol, aunque produce una disminución de la ingesta de etanol en ratones habituados y de las conductas depresivas relacionadas con el consumo crónico de esta sustancia (63). El consumo de etanol, en cambio, se vio aumentado de forma aguda con la inhibición farmacológica de CaMKII (68).

Por otra parte, se ha observado que, tras una administración prolongada a etanol y en la re-exposición a esta droga, en el núcleo accumbens disminuye la fosforilación de NMDAR1 y CaMKII, mientras que durante la abstinencia, aumenta la fosforilación de ambos, viéndose la fosforilación de CaMKII incrementada también en la corteza prefrontal durante la abstinencia (61).

En concreto, la α CaMKII, cuando no se encuentra fosforilada, inhibe la estimulación de la actividad locomotora producida por bajas dosis de etanol, pero potencia la pérdida del reflejo de enderezamiento de forma aguda y reduce el consumo de etanol tras una exposición prolongada (54).

Por otra parte, en la re-exposición a etanol, los niveles de α CaMKII en la amígdala, núcleo accumbens, septo lateral, tálamo medio-dorsal y córtex piriforme se ven aumentados (67), mientras que disminuyen en el hipocampo (62). Durante la administración prolongada se produce una disminución de la fosforilación de α CaMKII en el hipocampo que aumentó tras 24 horas de abstinencia (62).

La CaMKII parece actuar en la conducta producida por la administración de etanol a largo plazo, además de en la administración aguda.

Se propone que la α CaMKII está relacionada con la capacidad de aprendizaje. Además, atendiendo a estos resultados, parece modular la conducta potenciando los efectos del etanol a dosis bajas, pero atenuándolos a dosis altas. Además, podemos ver un aumento de la fosforilación de α CaMKII tras la re-exposición en una gran parte de las estructuras cerebrales.

Otras enzimas muy relacionadas con la modulación de la conducta producida por el etanol y que están moduladas por el Ca^{2+} son las AC. Se ha constatado que la exposición a etanol de forma crónica en ausencia de AC1 inhibe la sensibilización locomotora, mientras que a nivel agudo no produce modificaciones (58). Otro estudio reciente, propone un papel importante de la AC5, ya que en ratones AC5- se redujo la duración de la pérdida de enderezamiento (75).

De esta manera, se puede relacionar las AC1 con la administración crónica de bajas dosis de etanol y la AC5 con la administración de altas dosis de etanol.

Las calpainas son unas enzimas dependientes de Ca^{2+} que se han visto involucradas en la regulación del etanol ya que al inhibirlas, la estimulación locomotora producida por el etanol se ve atenuada, así como el consumo (64). Se ha propuesto que el mecanismo de actuación de las calpainas está mediado por el calcio del RE y que aquellos sujetos con una alta actividad de las calpainas tienen mayor preferencia al etanol. Además, el tratamiento crónico con inhibidores de las calpainas podría modificar la conducta hacia el etanol.

Por último, cabría destacar el reciente estudio del papel de la Ng en el núcleo accumbens. La Ng es un sustrato específico de la PKC dependiente de CaM que está implicado en la señalización del Ca^{2+} . Los ratones que carecen de este sustrato, muestran un consumo de etanol mayor (65). La Ng podría estar relacionada con la dependencia a esta sustancia.

CONCLUSIONES

Se ha podido observar que, así como el etanol no tiene un receptor concreto, el Ca^{2+} actúa por diversas vías para modular la conducta.

En particular, los canales de Ca^{2+} tipo L parecen ser el subtipo más relevante en la modulación de la conducta a dosis bajas de etanol. A dosis altas, el efecto hipnótico producido por la administración aguda de etanol, parece estar modulado prominentemente por la liberación de calcio de los depósitos celulares internos.

La CaMKII actúa de manera aguda y de manera crónica en la modulación de la conducta. En concreto, el subtipo α CaMKII parece estar modulado por etanol en distintas partes del cerebro y parece tener un efecto potenciador a dosis bajas y atenuador a dosis altas de etanol.

La PKA se activa en relación a flujos intracelulares de Ca^{2+} . Además, el papel de los canales de Ca^{2+} tipo L podría deberse a la subsecuente activación de la PKA, estando el Ca^{2+} intracelular más relacionado en la modulación de la conducta que el extracelular. Futuras líneas apuntan en la dirección de un nuevo mecanismo de acción dependiente de la AC5 y relacionado con la activación de la PKA.

Hay que tener en cuenta que los posibles resultados dispares observados en el siguiente trabajo pueden ser debidos a diferencias metodológicas a la hora de estudiar la conducta ya que es un fenómeno muy heterogéneo resultado del sumatorio de distintos factores y, por tanto, su estudio lleva implícitas ciertas limitaciones. Aun así, vistos estos resultados, se puede concluir que las manipulaciones del Ca^{2+} celular son determinantes en la modulación de ciertas conductas inducidas por el etanol. En concreto, parece que el Ca^{2+} intracelular juega un papel especialmente relevante en dichas conductas, ya que interviene en la activación de numerosas rutas de segundos mensajeros.

Se ha observado diferencias entre el Ca^{2+} intra y extracelular en la modulación de la conducta producida por el etanol, por lo que futuras investigaciones deberían estar encaminadas a elucidar estas diferencias.

REFERENCIAS

1. World Health Organization, Management of Substance Abuse Unit. Global status report on alcohol and health, 2014. Geneva: World Health Organization; 2014. 7p.
2. Baliño P, Ledesma JC, Aragón C. In vivo study of Ethanol-Activated Brain Protein Kinase A: Manipulations of Ca²⁺ Distribution and Flux. *Alcoholism Clin Exp Res.* 2014;38(3):629-640.
3. Dwyer DS, Bradley RJ. Chemical properties of alcohol and their protein binding sites. *Cell Mol Life Sci.* 2000;57:265-275.
4. Messing RO, Carpenter CL, Diamond I, Greenberg DA. Ethanol regulates calcium channels in clonal neural cells. *Proc. Natl. Acad. Sci USA,* 1986;83:6213-6215.
5. Bradley RJ, Peper K, Sterz R. Postsynaptic effects of ethanol at the frog neuromuscular junction. *Nature.* 1980;284:60-62.
6. Chen QM, LaBella FS. Inhibition of nitric oxide synthase by straight chain and cyclic alcohols- *Eur J Pharmacol.* 1997;321:355-360.
7. Charness ME, Safran RM, Perides G. Ethanol inhibits neural cell-cell adhesion. *J Biol Chem.* 1994;269:9304-9309.
8. Bowes BJ, Elliott KJ, Wehner JM. Differential sensitivity to the anxiolytic effects of ethanol and flunitrazepam in PKC γ null mutant mice. *Pharmacol Biochem Behav.* 2001;69:99-110.
9. Bowers BJ, Wehner JM. Ethanol consumption and behavioural impulsivity are increased in protein kinase C γ null mutant mice. *J Neurosci.* 2001;21.
10. Hodge CW, Mehmert KK, Kelley SP, McMahon T, Haywood A, Olive MF et al. Supersensitivity to allosteric GABA(A) receptors modulators and alcohol in mice lacking PKC ϵ . *Nat Neurosci.* 1999;2:997-1002.
11. Kumar S, Lane BM, Morrow AL. Differential effects of systemic ethanol administration on protein kinase C ϵ , γ and β isoform expression, membrane translocation and target phosphorylation: reversal by chronic ethanol exposure. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;319:1366-1375.

12. Rottenberg H, Bittman R, Li HL. Resistance to ethanol disordering of membranes from ethanol-fed rats is conferred by all phospholipid classes. *Biochem Biophys Acta*. 1992;1123:282-290.
13. Maas JW Jr, Vogt SK, Chan GC, Pineda VV, Storm DR, Muglia LJ. Calcium-stimulated adenylyl cyclases are critical modulators of neuronal ethanol sensitivity. *J Neurosci*. 2005;25:4118-4126.
14. Brandon EP, Idzerda RL, McKnight GS. PKA isoforms, neural pathways, and behaviour: making the connection. *Curr Opin Neurobiol*. 1997;7:397-403.
15. Wand G, Levine M, Zweifel L, Schwindinger W, Abel T. The cAMP protein kinase A signal transduction pathway modulates ethanol consumption and sedative effects of ethanol. *J Neurosci*. 2001;21:5297-5303.
16. Kumar S, Ren Q, Beckley JH, O'Buckley TK, Gigante ED, Santerre JL, Werner DF, Morrow AL. Ethanol Activation of Protein Kinase A Regulates GABA(A) Receptor Subunit Expression in the Cerebral Cortex and Contributes to Ethanol-Induced Hypnosis. *Front Neurosci*. 2012;6:44.
17. Yan X, Gao S, Tang M, Xi J, Gao L, Zhu M, Luo H et al. Adenylyl cyclase/cAMP-PKA-mediated phosphorylation of basal L-type Ca²⁺ channels in mouse embryonic ventricular myocytes. *Cell Calcium*. 2011;50:433-443.
18. Newton PM, Messing RO. Intracellular signaling pathways that regulate behavioural responses to ethanol. *Pharmacol Ther*. 2006;109:227-237.
19. Ascher P, Nowak L. The role of divalent cations in the N-methyl-D-aspartate responses of mouse central neurones in culture. *J Physiol*. 1988;399:247-266.
20. Volianskis A, Bannister N, Collet VJ, Irvine MW, Monaghan DT, Fitzjohn SM, Jensen MS, Jane DE, Collingridge GL. Different NMDA receptor subtypes mediate induction of long-term potentiation and two forms of short-term potentiation and two forms of short-term potentiation at CA1 synapses in rat hippocampus in vitro. *J Physiol*. 2013;591:955-972.
21. Chandrasekar R. Alcohol and NMDA receptor: current research and future direction. *Front Mol Neurosci*. 2013;6:14.

22. Lovinger DM. Developmental decrease in ethanol inhibition of N-methyl-D-aspartate receptors in rat neocortical neurons: relation to the actions of ifenprodil. *J Pharmacol Exp Ther.* 1995;274:164-172.
23. Nie H, Rewasl M, Gill TM, Ron D, Janak PH. Extrasynaptic delta-containing GABAA receptors in the nucleus accumbens dorsomedial shell contribute to alcohol intake. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108:4459-4464.
24. Rewal M, Donahue R, Gill TM, Nie H, Ron D, Janak PH. Alpha 4 subunit-containing GABAA receptors in the accumbens shell contribute to the reinforcing effects of alcohol. *Addict. Biol.* 2012;17:309-321.
25. Liang J, Suryanarayanan A, Abriam A, Snyder B, Olsen RW, Spigelman I. Mechanisms of reversible GABAA receptor plasticity after ethanol intoxication. *J Neurosci.* 2007;27:12367-12377.
26. Kumar S, Porcu P, Werner DF, Matthews DB, Diaz-Granados JL, Helfand RS, Morrow AL. The role of GABA(A) receptors in the acute and chronic effects of ethanol: a decade of progress. *Psychopharmacology (Berl).* 2009;205:529-564.
27. Larsson A, Engel JA. Neurochemical and behavioural studies on ethanol and nicotine interactions. *Neurosci Biobehav Rev.* 2004;27:713-720.
28. Jerlhag E, Grøtli M, Luthman K, Svensson L, Engel JA. Role of the subunit composition of central nicotinic acetylcholine receptors for the stimulatory and dopamine-enhancing effects of ethanol. *Alcohol Alcohol.* 2006;41:496-493.
29. Hoyer D, Hannon JP, Martin GR. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav.* 2002;71:533-554.
30. Sari Y, Johnson VR, Weedman JM. Role of serotonergic system in alcohol dependence: from animal models to clinics. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2011;98:401-443.
31. Lovinger DM. Serotonin's role in alcohol's effects on the brain. *Alcohol Health Res World.* 1997;21:114-120.
32. Vengeliene V, Bilbao A, Molander A, Spanagel R. Neuropharmacology of alcohol addiction. *Br J Pharmacol.* 2008;154:299-315.
33. Treistman SN, Martin GE. BK channels: mediators and models for alcohol tolerance. *Trends Neurosci.* 2009;32:629-637.

34. Xiao Z, Lu Z, Liu W, Li L, Yin S, Yu S, Dong H, Zhu F. Ethanol inhibits voltage-gated sodium channels in cultured superior cervical ganglion neurons. *Neuroreport*. 2008;19:1773-1776.
35. White JM, Smith AM. Modification of the behavioural effects of ethanol by nifedipine. *Alcohol Alcohol* 1992;27:137-141.
36. De Beun R, Schneider R, Klein A, Lohmann A, De Vry J. Effects of nimodipine and other calcium channel antagonists in alcohol-preferring AA rats. *Alcohol* 1996;13:263-271.
37. Colombo G, Agabio R, Lobina C, Reali R, Fadda F, Gessa GL. Blockade of ethanol discrimination by isradipine. *Eur J Pharmacol* 1994;265:167-170.
38. Littleton JM, Little HJ, Whittington MA. Effects of dihydropyridine calcium channel antagonists in ethanol withdrawal, doses required stereospecificity and actions of Bay K 8644. *Psychopharmacology (Berl)* 1990;100:387-392.
39. Berridge MJ. Elementary and global aspects of calcium signaling. *J Physiol*. 1997;499:291-306.
40. Clapham DE. Calcium signaling. *Cell* 1995;80:259-268.
41. Berridge MJ. Neuronal calcium signaling. *Neuron*. 1998;21:13-26.
42. Rizzuto R, Pozzan T. Microdomains of intracellular Ca^{2+} : molecular determinants and functional consequences. *Physiol Rev*. 2006;86:369-408.
43. Morgan AJ. Ca^{2+} dialogue between acidic vesicles and ER. *Biochem Soc Trans*. 2016;44(2):546-53.
44. Daniell LC, Harris RA. Ethanol and inositol 1,4,5-triphosphate release calcium from separate stores of brain microsomes. *J Pharmacol Exp Ther*. 1989;250:875-881.
45. González A, Pariente JA, Salido GM. Ethanol stimulates ROS generation by mitochondria through Ca^{2+} mobilization and increases GFAP content in rat hippocampal astrocytes. *Brain Res*. 2007;1178:28-37.
46. Salazar M, Pariente JA, Salido GM, González A. Ethanol induces glutamate secretion by Ca^{2+} mobilization and ROS generation in rat hippocampal astrocytes. *Neurochem Int*. 2008;52:1061-1067.

47. Baliño P, Pastor R, Aragon CMG. Participation of L-type calcium channels in ethanol-induced behavioral stimulation and motor incoordination: Effects of diltiazem and verapamil. *Behavioural Brain Research*. 2010;209(2):196-204.
48. Broadbent J. The role of L-type calcium channels in the development and expression of behavioral sensitization to ethanol. *Neuroscience Letters*. 2013;553:196-200.
49. Bhutada P, Mundhada Y, Patil J, Rahigude A, Zambare K, Deshmukh P, et al. Cilnidipine, an L/N-type calcium channel blocker prevents acquisition and expression of ethanol-induced locomotor sensitization in mice. *Neurosci. Letters*. 2012;514(1):91-95.
50. Kreifeldt M, Cates-Gatto C, Roberts AJ, Contet C. BK channel $\beta 1$ subunit contributes to behavioral adaptations elicited by chronic intermittent ethanol exposure. *Alcohol Clin Exp Res*. 2015;39(12):2394–2402.
51. Baliño P, Monferrer L, Pastor R, Aragon CMG. Intracellular calcium chelation with BAPTA-AM modulates ethanol-induced behavioral effects in mice. *Exper. Neuro*. 2012;234(2):446-453.
52. Cassidy LL, Dlugos FF, Dlugos CA. Time course of SERCA 2b and calreticulin expression in Purkinje neurons of ethanol-fed rats with behavioral correlates. *Alcohol and Alcoholism*. 2013;48(6):667-678.
53. Tarragon E, Baliño P, Aragon CMG. Dantrolene blockade of ryanodine receptor impairs ethanol-induced behavioral stimulation, ethanol intake and loss of righting reflex. *Behavioural Brain Research*. 2012;233(2):554-562.
54. Mijakowska Z, Łukasiewicz K, Ziółkowska M, Lipiński M, Trąbczyńska A, Matuszek Ż, et al. Autophosphorylation of alpha isoform of calcium/calmodulin-dependent kinase II regulates alcohol addiction-related behaviors: α CaMKII and alcohol addiction. *Addiction Biology*. 2017;22(2):331-341.
55. Baliño P, Ledesma JC, Aragon CMG. Role of Ca^{2+} /calmodulin on ethanol neurobehavioral effects. *Psychopharmacology*. 2014;231:4611-4621.
56. Badanich KA, Doremus-Fitzwater TL, Mulholland PJ, Randall PK, Delpire E, Becker HC. NR2B-deficient mice are more sensitive to the locomotor stimulant and depressant effects of ethanol. *Genes, Brain and Behavior*. 2011;10:805–816.
57. Baliño P, Ledesma JC, Aragon CMG. Role of phosphodiesterase-4 on ethanol elicited locomotion and narcosis. *Neuropharmacology*. 2016;101:271-278.

58. Bosse KE, Oginsky MF, Susick LL, Ramalingam S, Ferrario CR, Conti AC. Adenylyl Cyclase 1 Is Required for Ethanol-Induced Locomotor Sensitization and Associated Increases in NMDA Receptor Phosphorylation and Function in the Dorsal Medial Striatum. *J Pharmacol Exp Ther*. 2017;363:148–155
59. Shimizu C, Oki Y, Mitani Y, Nakamura T, Nabeshima T. Factors affecting ethanol-induced conditioned place preference and locomotor sensitization in mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2015;38(12):1935–1945.
60. Li J, Bian W, Xie G, Cui S, Wu M, Li Y et al. Chronic ethanol intake-induced changes in open-field behavior and calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV expression in nucleus accumbens of rats: naloxone reversal. *Acta Pharmacol Sin*. 2008:646–652.
61. Zhao B, Wang Y, Li Y, Qiao X, Yan P, Zhu Y, et al. Differential phosphorylation of NMDAR1–CaMKII–MAPKs in the rat nucleus accumbens following chronic ethanol exposure. *Neuroscience Letters*. 2015;597:60-65.
62. Wang Y, Cui H, Wang W, Zhao B, Lai J. The region-specific activation of Ca²⁺/calmodulin dependent protein kinase II and extracellular signal-regulated kinases in hippocampus following chronic alcohol exposure. *Brain Research Bulletin*. 2012;89:191– 196.
63. Li J, Kang S, Fu R, Wu L, Wu W, Liu H et al. Inhibition of AMPA receptor and CaMKII activity in the lateral habenula reduces depressive-like behavior and alcohol intake in rats. *Neuropharmacology*. 2017;126:108-120.
64. Vengeliene V, Moeller A, Meinhardt MW, Beardsley PM, Sommer WH, Spanagel R et al. The Calpain Inhibitor A-705253 Attenuates Alcohol-Seeking and Relapse with Low Side-Effect Profile. *Neuropsychopharmacology*. 2016;41:979–988.
65. Reker AN, Oliveros A, Sullivan JM, Nahar L, Hinton DJ, Kim T, et al. Neurogranin in the nucleus accumbens regulates NMDA receptor tolerance and motivation for ethanol seeking. *Neuropharmacology*. 2018;131:58-67.
66. Natividad LA, Steinman MQ, Laredo SA, Irimia C, Polis IY, Lintz R, et al. Phosphorylation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in the rat dorsal medial prefrontal cortex is associated with alcohol-induced cognitive inflexibility: CaMKII α and EtOH inflexibility. *Addiction Biology* [Internet]. 22 de septiembre de 2017 [citado 17 de mayo de 2018]; Disponible en: <http://doi.wiley.com/10.1111/adb.12568>.

67. Salling MC, Hodge CJ, Psilos KE, Eastman VR, Faccidomo SP, Hodge CW. Cue-induced reinstatement of alcohol-seeking behavior is associated with increased CaMKII T286 phosphorylation in the reward pathway of mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2017;163:20-29.
68. Cannady R, Fisher KR, Graham C, Crayle J, Besheer J, Hodge CW. Potentiation of amygdala AMPA receptor activity selectively promotes escalated alcohol self-administration in a CaMKII-dependent manner: Alcohol self-administration. *Addiction Biology*. 2017;22(3):652-664.
69. Oka M, Hirouchi M, Tamura M, Sugahara S, Oyama T. Acamprosate {monocalcium bis(3-acetamidopropane-1-sulfonate)} reduces ethanol-drinking behavior in rats and glutamate-induced toxicity in ethanol-exposed primary rat cortical neuronal cultures. *European Journal of Pharmacology*. 2013;718:323–331.
70. Uhrig S, Vandael D, Marcantoni A, Dedic N, Bilbao A, Vogt MA, et al. Differential Roles for L-Type Calcium Channel Subtypes in Alcohol Dependence, *Neuropsychopharmacology* accepted article preview 1 Diciembre 2016; doi: 10.1038/npp.2016.266.
71. Kurokawa K, Mizuno K, Ohkuma S. Sensitization of ethanol-induced place preference as a result of up-regulation of type 1 inositol 1,4,5-triphosphate receptors in mouse nucleus accumbens. *J. Neurochem*. 2014;131:836-847.
72. N’Gouemo P. Altered voltage-gated calcium channels in rat inferior colliculus neurons contribute to alcohol withdrawal seizures. *European Neuropsychopharmacology*. 2015;25(8):1342-1352.
73. N’Gouemo P, Akinfiresoye LR, Allard JS, Lovinger DM. Alcohol Withdrawal-Induced Seizure Susceptibility is Associated with an Upregulation of CaV1.3 Channels in the Rat Inferior Colliculus. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2015;18(7):123.
74. Kurokawa K, Mizuno K, Ohkuma S. Dopamine D1 Receptor Signaling System Regulates Ryanodine Receptor Expression in Ethanol Physical Dependence. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 2013;37(5):771-783.
75. Kim K-S, Kim H, Park S-K, Han P-L. The dorsal striatum expressing adenylyl cyclase-5 controls behavioral sensitivity of the righting reflex to high-dose ethanol. *Brain Research*. diciembre de 2012;1489:27-36.

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES-AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
Participation of L-type calcium channels in ethanol-induced behavioral stimulation and motor incoordination: Effects of diltiazem and verapamil.	Baliño et al. 2010	Investigar el papel de los canales de calcio tipo L en los efectos psicomotores producidos por el etanol utilizando dos bloqueantes de los canales.	<u>Fármacos:</u> Etanol, vehículo, Diltiazem, Verapamilo. <u>Procedimiento:</u> Se administró vehículo, Diltiazem o Verapamilo antes del etanol. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo. <u>Conductas estudiadas:</u> Actividad locomotora: Distancia horizontal recorrida en cilindros durante 20 minutos. Coordinación motora: Se midió los segundos que tardaban en caerse los ratones desde una barra de 3cm.	Tanto el Diltiazem como el Verapamilo reducen la estimulación locomotora producida por el etanol. No se vio ningún efecto en la incoordinación motora. Los niveles de etanol en sangre no se vieron modificados.
Intracellular calcium chelation with BAPTA-AM modulates ethanol-induced behavioural effects in mice.	Baliño et al. 2012	Conocer el efecto del quelante de calcio intracelular BAPTA-AM en la actividad locomotora y sedación inducidas por el etanol.	<u>Fármacos:</u> Etanol, vehículo y BAPTA-AM. <u>Procedimiento:</u> Se administró BAPTA-AM o vehículo antes del etanol. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo. <u>Conductas estudiadas:</u> Actividad locomotora: Se mide la distancia horizontal recorrida en 20 minutos. La motricidad se estudió usando un rodillo giratorio. Consumo de etanol: Drinking in the dark (DID) Pérdida del reflejo de enderezamiento: Se evaluó la capacidad del ratón de levantarse estando en decúbito supino en un canal en forma de V.	El tratamiento con BAPTA-AM antes de la administración de etanol disminuye la estimulación locomotora sin alterar la incoordinación, disminuye la duración de la pérdida del reflejo de enderezamiento producida por el etanol y reduce el consumo de etanol de manera dosis-dependiente. Los niveles de etanol en sangre no se vieron modificados.
Time Course of SERCA 2b and Calreticulin Expression in Purkinje Neurons of Ethanol-Fed Rats with Behavioral Correlates.	Cassidy et al. 2013	Estudiar las modificaciones de la densidad de la calreticulina (chaperona del calcio) y de SERCA 2b en células de Purkinje en relación con la coordinación motora de manera crónica.	<u>Fármacos:</u> Etanol. <u>Procedimiento:</u> Se dividieron los ratones en 3 grupos y se les administró etanol durante 10,20 o 40 semanas. <u>Conductas estudiadas:</u> Coordinación: Se colocó a los ratones en una plataforma cuadrada y después en una redonda a 40 cm del suelo. Se midió el tiempo que permanecían en las plataformas antes de caer.	Disminuyó la coordinación en los ratones tratados con etanol en ambas plataformas, de manera que a mayor duración de tratamiento con etanol, menor duración en las plataformas. La densidad de la calreticulina no se modificó y la densidad de SERCA 2b disminuyó.

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES-AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
Dantrolene blockade of ryanodine receptor impairs ethanol-induced behavioural stimulation, ethanol intake and loss of righting reflex.	Tarragon et al. 2012	Conocer el efecto de Dantroleno (antagonista de los receptores de rianodina) en la actividad locomotora, pérdida del reflejo de enderezamiento y consumo de etanol.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol, sacarina, vehículo y Dantroleno.</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se adminisitra Dantroleno o vehículo antes del etanol. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Actividad locomotora: Se pusieron los ratones en un cilindro para medir la distancia horizontal recorrida durante 20 minutos.</p> <p>Pérdida del reflejo de enderezamiento: Se evaluó la capacidad del ratón de levantarse estando en decúbito supino en un canal en forma de V.</p> <p>Consumo de etanol: DID</p>	<p>Dantrolene reduce la actividad locomotora producida por el etanol así como la pérdida del reflejo de enderezamiento y el consumo de etanol.</p> <p>Los niveles de etanol en sangre no se vieron modificados.</p>
Role of Ca ²⁺ /calmodulin on ethanol neurobehavioral effects.	Baliño et al. 2013	Conocer el papel del inhibidor de la CaM, W7, en la estimulación, consumo y activación de la PKA producidas por el etanol.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol, sacarina, vehículo y W7.</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se administra W7 o vehículo antes del etanol. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Actividad locomotora: Se midió la distancia horizontal recorrida durante 20 minutos.</p> <p>Consumo de etanol: Se habitó a los ratones a consumir etanol escalonadamente. Luego se comparó el consumo de etanol con y sin W7.</p>	<p>La administración de W7 redujo de manera dosis-dependiente la actividad locomotora, el consumo de etanol y la activación de la PKA.</p> <p>Los niveles de etanol en sangre no se vieron modificados</p>

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES-AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
Role of phosphodiesterase-4 on ethanol elicited locomotion and narcosis.	Baliño et al. 2015	Conocer los efectos de la PDE4 en la neuroconducta producida por el etanol administrando un inhibidor de la PDE4 (Ro 20-1724).	<p><u>Fármacos:</u> Etanol, vehículo y Ro 20-1724</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se administró vehículo o Ro 20-1724 antes del etanol. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Actividad locomotora: Se midió la distancia horizontal recorrida durante 20 minutos. Se probaron distintas dosis de etanol.</p> <p>Pérdida del reflejo de enderezamiento: Se administró Ro 20-1724 y una dosis concreta de etanol que produce la pérdida durante 30-120 minutos. Se evaluó la habilidad de levantarse 3 veces en 60 segundos.</p>	Ro 20-1724 (2 h antes) aumenta la actividad locomotora producida por el etanol (hasta 2.5 g/kg de etanol), a más de esta dosis no había efecto. En cuanto a la pérdida del reflejo de enderezamiento, era más duradero con Ro 20-1724. La actividad de la PKA se vio aumentada. No se modificó la concentración sanguínea de etanol.
Adenylyl Cyclase 1 is required for ethanol-induced locomotor sensitization and associated increases in NMDA receptor phosphorylation and function in the dorsal medial striatum.	Bosse et al. 2017	Demostrar que la pérdida de actividad de la AC1 previene la sensibilización locomotora producida por el etanol, así como las adaptaciones del receptor NMDA en el estriado.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol, suero salino, NB001 (inhibidor de AC1)</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se compararon ratones que no tenían AC1 y ratones salvajes. Se administró salino o etanol. A un subgrupo de ratones salvajes se le administró NB001 antes de salino o etanol. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Actividad locomotora: Se midieron las desviaciones que hacían los ratones en un camino horizontal en intervalos de 1 minuto.</p>	La inhibición de AC1 no produjo ningún cambio en la actividad locomotora de forma aguda. De forma crónica se consiguió la inhibición de la sensibilización locomotora en los grupos que no tenían AC1 y en los que se les había administrado NB001.

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES-AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
Sensitization of ethanol-induced place preference as a result of up-regulation of type 1 inositol 1,4,5-triphosphate receptors in mouse nucleus accumbens.	Kurokawa et al. 2014	Estudiar cómo influye el IP ₃ Rs-1 en la preferencia de lugar y el síndrome de abstinencia en ratones.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol, Pirazol (inhibidor ADH), 2-APB (inhibidor de IP₃Rs-1) y FK506 (inhibidor de la calcineurina).</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se administró a los ratones etanol y pirazol y después se les expuso a vapor de etanol durante 4 días. Se esperó unos días para que los ratones mostraran abstinencia. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo o intraventricular.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Síndrome de abstinencia: Se midieron las convulsiones.</p> <p>Preferencia de lugar condicionada: Tras una fase de acondicionamiento, se valoró si tras un periodo de abstinencia los ratones mostraban preferencia hacia un lugar donde se les administraba etanol anteriormente.</p>	<p>El etanol indujo preferencia de lugar después de 3 días de síndrome de abstinencia de vapor inhalado, siendo ésta inhibida por 2-APB y FK506 de manera dosis dependiente.</p> <p>El IP₃Rs-1 se vio aumentado en el núcleo accumbens tras 4 días de tratamiento con etanol y disminuyó a los niveles control a los 3 días de abstinencia.</p>

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES-AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
Inhibition of AMPA receptor and CaMKII activity in the lateral habenula reduces depressive-like behavior and alcohol intake in rats.	Li et al. 2017	Comprobar que la abstinencia del etanol conlleva un aumento de actividad de los receptores AMPA de la habenula lateral y de CaMKII y su inhibición disminuye comportamientos depresivos y de consumo de etanol.	<p>Fármacos: Etanol, vehículo, AMPA, DNQX (antagonista de AMPAR) y KN-62 (inhibidor CaMKII)</p> <p>Procedimiento: Tras varios días de exposición a etanol se dividieron los ratones en subgrupos a los que se les administró AMPA, DNQX, KN-62 o vehículo. Las sustancias se inyectaron dentro de la habénula. Se dejó un tiempo para que los ratones presentaran abstinencia.</p> <p>Conductas estudiadas:</p> <p>Actividad locomotora: Se midieron los movimientos durante 60 minutos.</p> <p>Conducta depresiva: Se evaluó mediante un test de nado la distancia recorrida además de la capacidad para flotar (inmovilidad) y escalar. También se utilizó un test de preferencia de sacarosa.</p> <p>Consumo de etanol: Se habituó a los ratones a consumir etanol escalonadamente. Luego se comparó este consumo tras la administración de los distintos fármacos.</p>	<p>Los ratones con síndrome de retirada mostraron más tiempo de inmovilidad y menor tiempo hasta llegar a ella que los no tratados con etanol, así como menor preferencia de sacarosa.</p> <p>Cuando se utilizó DNQX o KN-62 disminuyó el comportamiento depresivo (redujo la inmovilidad y prolongó la latencia), el consumo de etanol y su búsqueda sin afectar el consumo de sacarosa ni la actividad locomotora.</p>
Acamprosate (monocalciumbis(3-acetamidopropane-1-sulfonate)) reduces ethanol-drinking behavior in rats and glutamate-induced toxicity in ethanol-exposed primary rat cortical neuronal cultures.	Oka et al. 2013	Determinar el efecto del Acamprosato en la ingesta de etanol y el efecto de privación de etanol.	<p>Fármacos: Etanol, vehículo y Acamprosato</p> <p>Procedimiento: Se administró etanol durante varias semanas hasta que desarrollaran preferencia por esta sustancia. Tras esto se dividieron en 2 grupos.</p> <p>Conductas estudiadas:</p> <p>Consumo de etanol: En un grupo de ratones con alta preferencia a etanol se comparó el consumo tras administrar vehículo o Acamprosato de forma aguda y tras un periodo de abstinencia.</p>	Acamprosato disminuyó el consumo de etanol de forma aguda y tras la abstinencia en comparación con el grupo tratado con vehículo en el caso de ratas con alta preferencia por el etanol pero no en ratas con baja preferencia.

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES-AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
NR2B-deficient mice are more sensitive to the locomotor stimulant and depressant effects of ethanol.	Badanich et al. 2011	Demostrar si la manipulación de la subunidad NR2B del receptor NMDA modula la conducta producida por la administración de etanol.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol y vehículo.</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se compararon ratones sin NR2B con ratones salvajes tras altas y bajas dosis de etanol, así como de vehículo. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Actividad locomotora: Se midió la distancia recorrida durante sesiones de 15 minutos.</p> <p>Pérdida del reflejo de enderezamiento: Se midió la capacidad del ratón de levantarse desde una posición de decúbito supino.</p>	Los ratones sin NR2B mostraron más actividad locomotora (a dosis bajas de etanol y sin etanol). . En cuanto a la pérdida del reflejo de enderezamiento, fue más duradera después de la dosis alta de etanol en comparación con los ratones control sin efecto en la latencia.
The region-specific activation of Ca ²⁺ /calmodulin dependent protein kinase II and extracellular signal-regulated kinases in hippocampus following chronic alcohol exposure.	Wang et al. 2012	Conocer los mecanismos mediante los cuales la interacción entre CaMKII y ERK ½ modula la exposición al etanol, la abstinencia y la recaída.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol y vehículo.</p> <p><u>Procedimiento:</u> Los ratones se dividieron en 4 grupos: (1) Exposición larga a etanol, (2) Síndrome de abstinencia, (3) Re-exposición a etanol y (4) Control con vehículo. Las sustancias se administraron vía oral.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Actividad locomotora: Distancia total recorrida</p> <p>Ansiedad: Se midió el tiempo que los ratones permanecían en un lugar concreto.</p> <p>Consumo de etanol: Se comparó el consumo de los distintos grupos.</p>	<p>En el grupo (1) se mostró un incremento en la distancia recorrida de forma aguda en comparación con el control pero de forma crónica. Tras el consumo crónico se ve una disminución de la fosforilación de ERK 1/2 y de CaMKII.</p> <p>En el grupo (2) se mostró una disminución en la distancia recorrida y tiempo en la zona central en comparación con el grupo control. A las 24 horas de abstinencia se ve un aumento de la fosforilación de ERK y de CaMKII.</p> <p>En el grupo (3) se mostró un incremento en la distancia total recorrida y en la ingesta de etanol en comparación con la ingesta antes de la retirada. Tras la re-exposición se ve una disminución de la fosforilación de ERK y de CaMKII.</p>

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES-AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
Chronic ethanol intake-induced changes in open-field behavior and calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV expression in nucleus accumbens of rats: naloxone reversal.	Li et al. 2008	Investigar los efectos del consumo crónico de etanol en la actividad locomotora y los niveles de CAM kinase IV en el núcleo accumbens de los ratones, así como los efectos de Naloxona.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol, vehículo y Naloxona</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se comparó un grupo que consumió etanol durante 28 días con otro control. Al grupo expuesto a etanol se le administró después Naloxona o vehículo. Las sustancias se administraron vía oral o intraperitoneal.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Actividad locomotora: Se midió la distancia recorrida en 5 minutos a los 7, 14, 21 y 28 días.</p> <p>Consumo de etanol: Se comparó el consumo del grupo tratado con etanol y el control.</p>	<p>En las ratas que consumieron etanol, la deambulación disminuyó así como el instinto exploratorio a los 7 y 14 días pero no a los 28 (adaptación). Estos cambios en el instinto exploratorio producidos por el etanol, están mediados al menos en cierta medida por cambios en la CaM kinasa IV, ya que ésta se vio disminuida en el núcleo accumbens de los ratones que habían consumido etanol.</p> <p>Al administrar Naloxona, el consumo de etanol disminuyó.</p>
The Calpain Inhibitor A-705253 Attenuates Alcohol-Seeking and Relapse with Low Side-Effect Profile	Vengeliene et al. 2016	Estudiar si la inhibición de las calpainas por A-705253 produce un efecto parecido al que producen los antagonistas de NMDAR.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol, sacarosa, vehículo y A-705253 (inhibidor de las calpainas)</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se acostumbró a los ratones al consumo de etanol mediante estímulos que incitaban al animal a consumir etanol en vez de sacarosa mediante un sistema de activación de palancas. Después se dividieron en grupo control y grupo etanol, siendo estos expuestos a vapor de etanol durante 7 semanas. Después se esperó un tiempo a que los ratones desarrollaran abstinencia y al grupo etanol se le administró A-705253 o vehículo. Las sustancias se administraron vía oral o intraperitoneal.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Actividad locomotora: Se midieron los movimientos en los distintos grupos durante 2 horas.</p> <p>Consumo de etanol: Se valoró la búsqueda de etanol en los distintos grupos.</p>	<p>La administración de A-705253 causó una reducción en la búsqueda del consumo de etanol de manera dosis dependiente. El consumo de sacarosa no se vio modificado. A-705253 produce una disminución de la actividad locomotora.</p> <p>Las calpainas tienen relación con la conducta modulada por etanol sin ser ésta la misma que la de los antagonistas de los NMDAR.</p>

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES-AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
Phosphorylation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in the rat dorsal medial prefrontal cortex is associated with alcohol-induced cognitive inflexibility.	Natividad et al. 2016	Estudiar si la abstinencia por exposición crónica al etanol desregula la actividad de CaMKII en la parte medial de la corteza prefrontal y esto se asocia a cambios cognitivos.	<u>Fármacos:</u> Etanol <u>Procedimiento:</u> Se acostumbró a 2 razas distintas de ratones a realizar una tarea mediante estímulos visuales en un sistema de activación de palancas. Tras esto se comparó la realización de la tarea en ratones abstinentes a etanol y control. El etanol se administró mediante inhalación. <u>Conductas estudiadas:</u> Síndrome de abstinencia: Se estudiaron las diferencias en la realización de la tarea entre los ratones abstinentes y los ratones control.	Los ratones tras 10 días de abstinencia mostraron un aumento de los errores y por lo tanto del comportamiento perseverante, lo que indica menor flexibilidad cognitiva y empeoramiento del aprendizaje. Esto se relaciona con niveles de CaMKII fosforilada aumentados en la corteza prefrontal durante la abstinencia al etanol.
Cue-induced reinstatement of alcohol-seeking behavior is associated with increased CaMKII T286 phosphorylation in the reward pathway of mice.	Salling et al. 2017	Determinar si la búsqueda de etanol tras abstinencia está relacionada con una activación de CaMKII-T286	<u>Fármacos:</u> Etanol, sacarosa. <u>Procedimiento:</u> Se acostumbró a los ratones al consumo de etanol mediante estímulos sonoros y luminosos que incitaban al animal a consumir esta sustancia en un sistema de palancas. Se estudió el número de palancas estimuladas y la cantidad de etanol consumida. Se esperó un tiempo a que los ratones presentaran abstinencia y luego se les volvió a administrar etanol. El etanol se administró vía oral. <u>Conductas estudiadas:</u> Consumo de etanol: Se compararon los resultados de forma aguda, en periodo de abstinencia y en la recaída.	De forma aguda el consumo de etanol se vio aumentado hasta un momento que se estabilizó. Tras esto, los ratones mostraron una búsqueda de consumo de etanol mayor durante la abstinencia al igual que el grupo recaída. La recaída se asoció con un aumento de la fosforilación de la CaMKII-T286.

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES- AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
Neurogranin in the nucleus accumbens regulates NMDA receptor tolerance and motivation for ethanol seeking.	Reker et al. 2017	Estudiar el papel de la neurogranina (Ng) en los trastornos por consumo de etanol.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol, sacarosa, CGP37849 (antagonista NMDA), MPEP (antagonista de mGluR5)</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se compararon ratones Ng+ y Ng- y con CGP37849. A los Ng+ y Ng- se les administró MPEP. Las sustancias se administraron vía oral e intraperitoneal.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Actividad locomotora: Se estudió la ataxia (incoordinación) tras la administración de MPEP.</p> <p>Consumo de etanol: Se comparó entre los distintos grupos mediante el test de PIT (se les enseña a los ratones que una señal conlleva una recompensa y después se alargan los tiempos entre la señal y la recompensa para valorar la búsqueda de consumo).</p>	<p>Los ratones Ng- mostraron una búsqueda de consumo de etanol más elevada (reacción más rápida en PIT) Tras administrar el inhibidor de mGluR5, los ratones mostraban incoordinación motora más rápidamente.</p> <p>Con Ng- o inhibida los receptores NMDA tardan más tiempo en inhibirse y se da mayor toxicidad al etanol (sensibilidad aumentada al etanol y disminuida a NMDAR)</p>
Potentiation of amygdala AMPA receptor activity selectively promotes escalated alcohol self-administration in a CaMKII-dependent manner.	Cannady et al. 2016	Estudiar si la activación del receptor AMPA facilita la autoadministración de etanol.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol, Aniracetam (agonista AMPA), m-AIP (inhibidor CaMKII)</p> <p><u>Procedimiento:</u> A un subgrupo se le administró Aniracetam antes del etanol. Más adelante se administró m-AIP para probar que la actividad AMPA es dependiente de CaMKII. Las sustancias se administraron en la amígdala y el núcleo accumbens.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Consumo de etanol: Se comparó entre los distintos grupos.</p>	<p>Los ratones que habían recibido Aniracetam en la amígdala mostraron un consumo de etanol mayor. También se demostró que la actividad de AMPA es dependiente de CaMKII, ya que al dar m-AIP disminuyó el consumo de etanol.</p> <p>El etanol incrementa la fosforilación del receptor GluA1 S831 AMPA.</p>

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES-AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
Differential phosphorylation of NMDAR1–CaMKII–MAPKs in the rat nucleus accumbens following chronic ethanol exposure.	Zhao et al. 2015	Estudiar cómo actúan NMDAR1, CaMKII y ERK en la dependencia y recaída de etanol en la cápsula del núcleo accumbens y su zona central.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol y vehículo.</p> <p><u>Procedimiento:</u> Los ratones se dividieron en 4 grupos: (1) Exposición a etanol, (2) Síndrome de abstinencia, (3) Re-exposición a etanol y (4) Grupo control. Las sustancias se administraron vía oral.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Actividad locomotora: Distancia total recorrida.</p> <p>Ansiedad: Se midió el tiempo que los ratones permanecían en un lugar concreto.</p> <p>Consumo de etanol: Se comparó el consumo entre los distintos grupos.</p>	<p>El consumo de etanol se vio aumentado en el grupo (1) y (3). La actividad locomotora en el grupo (2) se vio aumentada así como la ansiedad (menos tiempo en el lugar) en comparación con el grupo 4. En el (3) se vio un aumento en la distancia total.</p> <p>Tras la administración crónica de etanol y durante la re-exposición, la fosforilación de NMDAR1, CaMKII y ERK disminuyó, mientras que aumentó durante la abstinencia.</p>
Autophosphorylation of alpha isoform of calcium/calmodulin-dependent kinase II regulates alcohol addiction-related behaviors.	Mijakowska et al. 2015	Estudiar si la autofosforilación de α CaMKII desregula la transmisión glutamatérgica regulando de esta manera los comportamientos relacionados con la adicción al etanol.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol y vehículo.</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se compararon ratones sin fosforilación de αCaMKII (T286A) con ratones control. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Actividad locomotora: Se midió el tiempo que tardaba en caerse el ratón de una rueda.</p> <p>Pérdida del reflejo de enderezamiento: Se mide el tiempo que tarda el ratón en levantarse.</p> <p>Aprendizaje: Test de miedo: Se les inyectó a los dos grupos solamente etanol, se les dio un shock en el pie, y tras unas horas se les devolvió a la habitación donde habían recibido el shock para ver su reacción (quedarse rígido=aprendizaje).</p>	<p>Tras la administración crónica de etanol, los ratones salvajes permanecieron más tiempo sin caerse y tardaron más tiempo en perder el reflejo de enderezamiento. En cuanto al test de amnesia, los ratones sin fosforilación de αCaMKII mostraron menos rigidez.</p>

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES-AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
Factors Affecting Ethanol-Induced Conditioned Place Preference and Locomotor Sensitization in Mice.	Shimizu et al. 2015	Evaluar los factores que afectan la recompensa producida por bajas dosis de etanol y los factores de riesgo para aumentar estas dosis	<p><u>Fármacos:</u> Etanol, vehículo, Acamprosato</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se dividieron los ratones en 4 grupos: (1) Grupo control, (2) Dosis bajas de etanol, (3) Dosis moderadas de etanol/exposición larga y (4) Dosis altas/exposición corta. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Preferencia de lugar condicionada: Tras una fase de acondicionamiento, se valoró si tras un periodo de abstinencia los distintos grupos de ratones mostraban preferencia hacia un lugar donde se les administraba etanol anteriormente a las 2,4 y 8 semanas. También se estudió el papel del Acamprosato en la preferencia de lugar.</p> <p>Sensibilización locomotora</p>	Dosis altas de etanol inducen mayor preferencia de lugar en ratones a las 2 semanas, disminuyendo el efecto a las 4 y 8 semanas. Acamprosato disminuyó la preferencia cuando el etanol se da a altas dosis. Dosis altas de etanol producen sensibilización locomotora tras una larga exposición.
The dorsal striatum expressing adenylyl cyclase-5 controls behavioral sensitivity of the righting reflex to high-dose ethanol	Kim et al. 2012	Estudiar el mecanismo mediante el que se altera el LORR en ratones sin AC5	<p><u>Fármacos:</u> Etanol, KN62 (inhibidor de la CaMKII)</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se compararon ratones AC5+ y AC5- tras la ingesta de etanol y ratones con CaMKII y BDNF inhibidos. En un subgrupo de ambos (AC5 + y -) se administró KN62. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Pérdida del reflejo de enderezamiento: Se evaluó la capacidad del ratón de levantarse estando en decúbito supino en un canal en forma de V.</p>	Los ratones AC5- mostraron una reducción de la pérdida del reflejo de enderezamiento, además mostraron más fosforilación de CaMKII, CREB y BDNF en el estriado. Los ratones con CaMKII α y BDNF inhibida AC5+ y AC5- mostraron mayor pérdida del reflejo de enderezamiento. Se considera el estriado dorsal como una zona que regula la duración del reflejo de enderezamiento.

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES-AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
Differential Roles for L-Type Calcium Channel Subtypes in Alcohol Dependence.	Uhrig et al. 2017	Determinar la contribución de los subtipos de canales de calcio Cav1.2 y Cav1.3 y medir el consumo de etanol y su búsqueda.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol, vehículo, Verapamilo.</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se compararon ratones control con ratones a los que se les había administrado Verapamilo y otros con Cav1.2 inhibida. Las sustancias se inyectaron intraventricular. Los ratones a los que se les administró Verapamilo fueron estudiados tras un periodo de abstinencia.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Consumo de etanol: Se valoró la búsqueda de etanol en los distintos grupos.</p>	Verapamilo previno la búsqueda de consumo de etanol en ratones abstinentes. En ratones sin Cav1.2 no se vio búsqueda de etanol por lo que este subtipo está muy relacionado con la dependencia a etanol. No se vieron cambios en Cav1.3.
BK channel β 1 subunit contributes to behavioral adaptations elicited by chronic intermittent ethanol exposure.	Kreifeldt et al. 2016	Estudiar la influencia de las subunidades β 1 y β 4 de los canales BK tras la administración aguda de etanol.	<p><u>Fármacos:</u> Etanol.</p> <p><u>Procedimiento:</u> Se compararon ratones sin BK β1 y sin β4, heterocigotos y salvajes tras la administración aguda y crónica de etanol. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo.</p> <p><u>Conductas estudiadas:</u></p> <p>Actividad locomotora (aguda): Se valoró la ataxia (coordinación).</p> <p>Pérdida del reflejo de enderezamiento (aguda y crónica): Se evaluó la capacidad del ratón de levantarse estando en decúbito supino.</p> <p>Síndrome de retirada (crónica): Se evaluaron las convulsiones.</p>	<p>β1 y β4 no influyen en el metabolismo del etanol ni producen cambios en la actividad locomotora (ataxia-coordinación). En cuanto a la pérdida del reflejo de enderezamiento, de forma aguda, no se influyó la duración, mientras que de forma crónica, la duración se vio incrementada.</p> <p>Los ratones sin β1 y sin β4 mostraron aumento de las convulsiones. β1 acelera la aparición de éstas y β4 se alarga la resolución.</p> <p>En ninguno de los casos las concentraciones de etanol en sangre de los distintos genotipos fueron diferentes.</p>

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES-AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
The Role of L-Type Calcium Channels in the Development and Expression of Behavioral Sensitization to Ethanol.	Broadbent. 2013	Determinar si la estimulación por etanol sigue el mismo mecanismo que la de opioides y drogas estimulantes: mediante canales de calcio tipo L.	<u>Fármacos:</u> Etanol, vehículo, Diltiazem, Verapamilo y Nifedipino. <u>Procedimiento:</u> Se compararon ratones a los que se les administró 1 de los 3 bloqueantes antes del etanol con ratones a los que se les administró vehículo en vez de etanol. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo. <u>Conductas estudiadas:</u> Actividad locomotora: Sensibilización locomotora. Se midió la distancia recorrida.	Nifedipino: Disminuye la actividad locomotora en el grupo etanol y control. Los niveles de etanol en sangre se vieron disminuidos. Nifedipino puede bloquear la adquisición de estimulación. Diltiazem y Verapamilo: A altas dosis disminuye la actividad locomotora en grupo etanol y en control. Verapamilo disminuye los niveles de etanol en sangre.
Cilnidipine, an L/N-type calcium channel blocker prevents acquisition and expression of ethanol-induced locomotor sensitization in mice.	Bhutada et al. 2012	Evaluar la influencia de Cilnidipine (bloqueante de los canales de calcio L y N) en la sensibilidad locomotora producida por el etanol.	<u>Fármacos:</u> Etanol, vehículo y Cilnidipine. <u>Procedimiento:</u> Se compararon ratones a los que se les administró Cilnidipine + etanol o Cilnidipine + vehículo. Las sustancias se inyectaron intraperitoneo e intraventricular. <u>Conductas estudiadas:</u> Actividad locomotora: Sensibilización locomotora. Se midió la distancia recorrida.	Cilnidipine disminuye la estimulación locomotora producida por el etanol. En cuanto a la coordinación no se vieron diferencias.
Altered voltage-gated calcium channels in rat inferior colliculus neurons contribute to alcohol withdrawal seizures	N'Gouemo. 2015	Informar sobre el posible papel de las corrientes del canal CaV en las neuronas del colículo inferior relacionado con las convulsiones producidas por la abstinencia.	<u>Fármacos:</u> Etanol, vehículo, Nifedipino y Nimodipino (bloqueantes canales tipo L) y ω -agatoxin TK (bloqueante canales tipo P) <u>Procedimiento:</u> Se compararon el grupo control y el grupo etanol en distintos momentos de abstinencia. Las sustancias se inyectaron intragástricas e intraventricular. <u>Conductas estudiadas:</u> Síndrome de abstinencia: Se midieron las convulsiones mediante estímulos auditivos.	A las 24 horas de abstinencia se produjo una elevada incidencia de convulsiones. No hubo convulsiones en el grupo control. Los niveles de etanol en sangre fueron disminuyendo con el tiempo. Al administrar Nifedipino y Nimodipino se reducen las convulsiones por abstinencia a las 2 horas. Nimodipino consiguió eliminarlas por completo.

ANEXOS

TÍTULO	AUTORES-AÑO	OBJETIVO	MATERIAL Y MÉTODOS	RESULTADOS EN CONDUCTA
Alcohol Withdrawal-Induced Seizure Susceptibility is Associated with an Upregulation of CaV1.3 Channels in the Rat Inferior Colliculus	N'Gouemo et al. 2015	Conocer la implicación molecular de los canales de calcio dependientes de voltaje en las convulsiones por abstinencia.	<u>Fármacos:</u> Etanol. <u>Procedimiento:</u> Se compararon el grupo control y el grupo etanol en distintos momentos de abstinencia. Las sustancias se inyectaron intragástricas. <u>Conductas estudiadas:</u> Síndrome de abstinencia: Se midieron las convulsiones mediante estímulos auditivos.	Se observaron convulsiones a las 24 horas de abstinencia. No hubo convulsiones en el grupo control. Los niveles de etanol en sangre fueron disminuyendo con el tiempo. La abstinencia a etanol modula los canales Cav1 a nivel proteico y del mRNA (aumentan).
Dopamine D1 Receptor Signaling System Regulates Ryanodine Receptor Expression in Ethanol Physical Dependence.	Kurokawa et al. 2013	Investigar el papel y la regulación de la expresión de RyR bajo una exposición continua a vapor de etanol durante 9 días.	<u>Fármacos:</u> Etanol, Dantrolene, SCH23390 (antagonista de los receptores de dopamina D1), Sulpiride (antagonista D2DR). <u>Procedimiento:</u> Se expusieron los ratones a vapor de etanol y se evaluó el comportamiento abstinentes tras vapor y al administrar los otros compuestos. Las sustancias se inyectaron intraventricular. <u>Conductas estudiadas:</u> Síndrome de abstinencia: Se midieron las convulsiones	Tras los 9 días de tratamiento con etanol los ratones presentaban convulsiones tras 12 y 15 horas de abstinencia. Dantrolene disminuyó los signos de abstinencia. Los niveles de RyR1 y RyR2 aumentaron durante la exposición a etanol, los de RyR3 se mantuvieron estables. Al administrar SCH23390 y Sulpiride los signos de abstinencia se vieron aumentados mientras que los niveles de RyR1 y RyR2 sólo se vieron incrementados con la administración de SCH23390.

Tabla 5 Resultados en conducta de los 29 artículos

2-APB: 2-aminophenoxyethane-borate; AMPA: Ácido α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic ; BAPTA-AM:1,2-bis (2-Aminophenoxy) ethane-N,N,N',N' tetraacetic acidtetrakis (acetoxymethyl) ester; BDNF: Brain-derived neurotrophic factor; DID: Drinking in the dark. Es un protocolo de ingesta de etanol que consigue niveles de etanol en el cerebro que son farmacológicamente relevantes; DIDS: 4,40-diisothiocyano-2,20-stilbenedisulfonic acid; DNQX: 6, 7-dinitroquinoxaline-2, 3-dione; FFA: flufenamic acid; mGluR5: Receptor de glutamato; NFA: niflumic acid; NPPB: 5-nitro-2-(3-phenylpropylamino) benzoic acid; Ro 20-1724: 4-(3-Butoxy-4-methoxybenzyl) imidazolidin-2-one; W7: N-(6-Aminohexyl)-5-chloro-1-naphthalenesulfonamide hydrochloride.