

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 586 433**

51 Int. Cl.:

A01N 43/04	(2006.01) A61K 31/485	(2006.01)
A61K 31/70	(2006.01) A61K 31/519	(2006.01)
A61K 31/00	(2006.01) A61P 25/34	(2006.01)
A61K 31/138	(2006.01) A61P 25/36	(2006.01)
A61K 31/195	(2006.01)	
A61K 31/35	(2006.01)	
A61K 31/4015	(2006.01)	
A61K 31/4178	(2006.01)	
A61K 31/4439	(2006.01)	
A61K 31/445	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.04.2008** **E 13001436 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.06.2016** **EP 2612553**

54 Título: **Composiciones y métodos para la profilaxis y el tratamiento de adicciones**

30 Prioridad:

11.04.2007 US 911201 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.10.2016

73 Titular/es:

OMEROS CORPORATION (100.0%)
201 Elliott Avenue West
Seattle, WA 98119, US

72 Inventor/es:

CICCOCIOPPO, ROBERTO

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

ES 2 586 433 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones y métodos para la profilaxis y el tratamiento de adicciones

Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere en general al tratamiento o a la prevención de adicciones al alcohol o agonistas opioides usando agonistas de PPAR γ , solos o en combinación con otros agentes terapéuticos.

Descripción de la técnica relacionada

- 10 La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la adicción a una sustancia como el uso de una sustancia repetidamente, a pesar de conocer y experimentar efectos perjudiciales. La adicción a una sustancia es una enfermedad crónica, recurrente caracterizada por una pérdida del control sobre el uso de un fármaco, búsqueda compulsiva de fármacos-drogas y ansia por una sustancia, uso que persiste a pesar de las consecuencias negativas, y la dependencia física y/o psicológica de la sustancia. La adicción a una sustancia sigue normalmente un ciclo de tolerancia, abstinencia, comportamiento de toma compulsiva del fármaco-droga, comportamiento de búsqueda del fármaco-droga y recaída. El abuso de y la adicción a una sustancia son problemas de salud pública con un impacto social y económico significativo sobre tanto el adicto como la sociedad al desempeñar un papel importante en crímenes violentos y la propagación de enfermedades infecciosas. Las sustancias adictivas incluyen alcohol, cafeína, nicotina, cannabis (marihuana) y derivados del cannabis, opiáceos y otros agonistas opioides similares a la morfina tales como heroína, fenilciclidina y compuestos similares a fenilciclidina, hipnóticos sedantes tales como benzodiazepinas y barbitúricos y psicoestimulantes tales como cocaína, anfetaminas y fármacos-drogas relacionados con anfetaminas tales como dextroanfetamina y metilamfetamina.

- 20 El alcohol es una de las sustancias de las que se abusa más comúnmente a nivel global. Adicionalmente, el alcoholismo conduce a una enfermedad hepática y cardiovascular grave y genera dependencia dando como resultado trastornos mentales graves, problemas sociales y consecuencias adversas incluyendo la división de familias, accidentes trágicos y la reducción del rendimiento laboral. Según la OMS, el consumo de alcohol es responsable del 20-30% de los cánceres esofágicos y hepáticos, las cirrosis hepáticas, los homicidios, la epilepsia y los accidentes de vehículos a motor en todo el mundo. Globalmente, el alcoholismo conduce a aproximadamente 1,8 millones de muertes al año. El comportamiento compulsivo hacia el consumo de alcohol es un síntoma central del trastorno. En los últimos años, se han investigado varios enfoques para ayudar a los pacientes alcohólicos no sólo a controlar la ingesta de alcohol sino también el ansia de alcohol y la recaída (Monti *et al.*, 1993; Volpicelli *et al.* 1992; O'Brien *et al.* 1997).
- 30 Medicamentos tales como naltrexona, acamprosato, ondansetrón, disulfiram, gamma-hidroxibutirato (GHB) y topiramato sometidos a prueba para determinar su posible efecto terapéutico sobre el alcoholismo pertenecen a varias clases (Volpicelli *et al.* 1992; O'Brien *et al.* 1997). Pocos de estos productos farmacéuticos, tales como naltrexona, acamprosato y disulfiram han demostrado ser de cierta utilidad y se aprobaron para el tratamiento del alcoholismo. Entre estos medicamentos, el antagonista de opioides no selectivo naltrexona se considera actualmente el método de referencia farmacológico. Sin embargo, a pesar de algunos resultados prometedores, ninguno de estos medicamentos, incluyendo naltrexona, es de eficacia suficiente en el alcoholismo y el pronóstico sigue siendo malo.

- 40 La nicotina es una de las drogas adictivas más ampliamente usadas, y el abuso de nicotina es la forma más común de drogadicción. La OMS estima que hay 1250 millones de fumadores en todo el mundo, lo que representa un tercio de la población global por encima de 15 años de edad. La OMS estima además que se producen 5 millones de muertes cada año como resultado directo del uso de tabaco, lo que hace que la nicotina sea la causa de muerte prevenible individual más grande en todo el mundo. En los países industrializados, el 70-90% de los casos de cáncer de pulmón, el 56-80% de los de enfermedad respiratoria crónica y el 22% de los de enfermedad cardiovascular se atribuyen a la adicción a la nicotina. Fumar cigarrillos está asociado con 430.000 muertes al año en los EE.UU. solo y se estima que cuesta a la nación 80000 millones de dólares en costes de cuidados sanitarios. El uso de tabaco es el responsable de un tercio de todos los cánceres, incluyendo cáncer del pulmón, la boca, la faringe, la laringe, el esófago, el cuello uterino, el riñón, el uréter y la vejiga. Las tasas globales de muerte por cáncer son dos veces más altas entre fumadores que entre no fumadores. Fumar también provoca enfermedades pulmonares tales como bronquitis crónica y enfisema; agrava los síntomas del asma; y aumenta el riesgo de cardiopatía, incluyendo accidente cerebrovascular, ataque al corazón, enfermedad vascular y aneurisma. Una estimación del 20% de las muertes por cardiopatía pueden atribuirse al tabaquismo. Las mujeres embarazadas que fuman corren un mayor riesgo que las no fumadoras de parto prematuro, aborto espontáneo y lactantes con peso al nacer disminuido.

- 55 El uso de nicotina da como resultado niveles aumentados del neurotransmisor dopamina, que activa las rutas de recompensa regulando sensaciones de placer y mediando en el deseo de consumir nicotina. Los síntomas asociados con la abstinencia de nicotina incluyen ansia, irritabilidad, enfado, hostilidad, agresión, fatiga, depresión y alteración cognitiva, lo que puede conducir al consumidor a buscar más nicotina. Factores de condicionamiento medioambientales y exposición a estrés psicológico representan factores adicionales que motivan el uso de nicotina en fumadores. El uso de nicotina repetido da como resultado el desarrollo de tolerancia, requiriendo dosis superiores

de nicotina para producir la misma estimulación inicial.

La mayoría de las terapias desarrolladas para la adicción a la nicotina han mostrado sólo un éxito moderado en la prevención de la recaída, conduciendo a una alta tasa de fracaso en los intentos de dejar de fumar. Los tratamientos incluyen el uso de productos de reemplazo de la nicotina, antidepresivos, antihipertensivos y terapia de comportamiento.

El Instituto Nacional de Drogadicción ("*National Institute on Drug Abuse*") estima que 72 millones de estadounidenses, aproximadamente un tercio de la población, han probado la marihuana. Los efectos agudos del uso de marihuana incluyen problemas de memoria y aprendizaje, percepción alterada, dificultad para solucionar problemas, pérdida de coordinación y aumento de la frecuencia cardíaca. El abuso a largo plazo puede provocar los mismos problemas respiratorios observados en fumadores de tabaco, tales como tos diaria, producción de flemas, aumento del riesgo de infecciones pulmonares y un aumento de la probabilidad de desarrollar cáncer de la cabeza, el cuello y los pulmones. Se han asociado depresión, ansiedad y problemas relacionados con el trabajo con el uso de marihuana. El uso de marihuana a largo plazo puede dar como resultado adicción con uso compulsivo que interfiere con las actividades diarias. El ansia y los síntomas de abstinencia, tales como irritabilidad, aumento de la agresividad, insomnio y ansiedad hacen difícil que los adictos dejen de usar marihuana. No hay ningún tratamiento farmacéutico disponible para tratar la adicción a la marihuana y la recaída.

Según la OMS, una estimación de 13 millones de personas que abusan de opiáceos en todo el mundo, incluyendo 9 millones de adictos a la heroína. Más del 25% de las personas que abusan de opiáceos mueren por suicidio, homicidio o una enfermedad infecciosa, tal como VIH y hepatitis, en el plazo de 10-20 años de convertirse en adictos. La tolerancia y la dependencia física pueden desarrollarse en el plazo de dos a tres días.

Los objetivos para el tratamiento de la adicción a opiáceos, como con otros tipos de adicciones a sustancias, son interrumpir el uso del opiáceo al mismo tiempo que se minimizan los síntomas de abstinencia dolorosos y se previene la recaída. Los tratamientos actuales implican el reemplazo del fármaco adictivo por una sustitución de un agonista de receptores de opioides o agonista/antagonista mixto. Un enfoque alternativo consiste en el uso de un antagonista de receptores de opioides para bloquear el efecto del agonista. Los antagonistas no proporcionan alivio del dolor u otros síntomas de abstinencia; más bien pueden precipitar la abstinencia, y su uso terapéutico se asoció con un aumento de las sobredosis por agonistas opioides accidentales y un aumento de la mortalidad. El uso de agonistas con una afinidad inferior por los receptores da como resultado los síntomas de abstinencia menos graves, pero puede conducir a dependencia del opiáceo sustituto. Además, muchas terapias de sustitución tardan 3-6 meses, lo que deja tiempo para que los adictos detengan el tratamiento a mitad de camino.

Los psicoestimulantes, tales como la cocaína y las anfetaminas, provocan euforia, aumento del estado de alerta y aumento de la capacidad física en seres humanos. Estas sustancias aumentan en primer lugar la transmisión de dopamina, pero el uso de las drogas a largo plazo da como resultado una reducción de la actividad de la dopamina, conduciendo a desregulación del sistema de recompensa del cerebro y disforia. La OMS estima que 33 millones de personas en todo el mundo abusan de anfetaminas.

Maeda *et al.* (Neuropharmacology, vol. 32, 1133-1140, 2007) estudian el efecto de los agonistas de PPAR gamma sobre la expresión de la sensibilización conductual con respecto a la metanfetamina en ratones.

El abuso de cocaína crónico puede dar como resultado hiperestimulación, taquicardia, hipertensión, midriasis, espasmos musculares, insomnio, nerviosismo extremo, alucinaciones, paranoia, comportamiento agresivo y depresión. La sobredosis de cocaína puede conducir a temblores, convulsiones, delirio y muerte que resulta de arritmias cardíacas e insuficiencia cardiovascular. Se ha mostrado que la desipramina, amantadina y bromocriptina disminuyen los síntomas de abstinencia de cocaína.

Los síntomas de abstinencia de anfetaminas incluyen cambios en el EEG, fatiga y depresión mental. Se desarrolla tolerancia a lo largo del tiempo y puede estar asociada con taquicardia, alucinaciones auditivas y visuales, delirios, reacciones de ansiedad, psicosis paranoide, agotamiento, confusión, pérdida de memoria y depresión prolongada con tendencias suicidas. Los tratamientos actuales para la adicción a anfetaminas incluyen fenotiazinas, haloperidol y clorpromazina para las alucinaciones, pero los posibles efectos secundarios de estos fármacos incluyen hipotensión postural y trastornos motores extrapiramidales graves.

En el pasado, el tratamiento para las adicciones a sustancias se centraba en terapia de comportamiento, pero la dependencia de muchas de estas sustancias altamente adictivas es difícil de romper. En particular, las adicciones al alcohol, la cocaína y la heroína se consideran trastornos crónicos, recurrentes. Además, es común el abuso simultáneo de múltiples sustancias, tales como nicotina, heroína, cocaína y alcohol.

La naturaleza crónica, de larga duración de muchas adicciones y las altas tasas de recaída suponen un desafío considerable para el tratamiento de la adicción a drogas y alcohol, de manera que la comprensión de la base neurobiológica de la recaída ha surgido como un problema central en la investigación de las adicciones. Se enumeraron factores emocionales y medioambientales (estímulos de condicionamiento) entre las principales causas de recaída. Por ejemplo, se sabe que condiciones de estrés específicas tales como pérdida del trabajo y dificultades económicas, o estímulos predictivos de la presencia de alcohol previamente asociados con su uso tales como una

botella del vino preferido y un entorno similar a un bar, puede facilitar enormemente la recaída en alcohólicos anteriormente desintoxicados.

Existen dos posiciones teóricas principales para explicar la persistencia del comportamiento adictivo y la vulnerabilidad a la recaída asociadas con la adicción a drogas y alcohol, las hipótesis homeostáticas y las hipótesis de condicionamiento.

Las hipótesis homeostáticas relacionan el riesgo de recaída con cambios neuroadaptativos y la alteración de la homeostasis neuroendocrina que se piensa que subyacen a la ansiedad, la desregulación del estado de ánimo y los síntomas somáticos que acompañan a la abstinencia aguda, y que pueden persistir durante periodos de tiempo considerables durante lo que se ha denominado la fase de "abstinencia prolongada". Esta visión, por tanto, implica el alivio de las molestias y los efectos negativos como la base motivacional para la recaída.

Las hipótesis de condicionamiento se basan en observaciones de que la recaída está asociada a menudo con la exposición a estímulos medioambientales relacionados con las drogas. Esta visión sostiene que estímulos medioambientales específicos que se han asociado con las acciones de recompensa de una droga por medio de condicionamiento clásico pueden provocar estados subjetivos que desencadenan la reanudación del uso de drogas. Las hipótesis homeostática y de condicionamiento no son mutuamente excluyentes. De hecho, es probable que factores homeostáticos y de condicionamiento ejerzan efectos aditivos porque la exposición a estímulos medioambientales relacionados con las drogas puede aumentar la vulnerabilidad a la recaída transmitida por alteraciones homeostáticas.

Claramente existe una necesidad en la técnica de nuevos métodos para tratar y prevenir la adicción y la recaída en el uso de agentes adictivos.

Breve resumen

La presente invención proporciona un agonista del receptor gamma activado por proliferador de peroxisomas (PPAR γ) para su uso en el tratamiento o la prevención de una adicción a un agente adictivo seleccionado del grupo que consiste en alcohol y un agonista opioide.

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica según la reivindicación 6 adjunta, una forma farmacéutica unitaria según la reivindicación 7 adjunta y un kit según la reivindicación 9 adjunta.

La presente invención se refiere además al uso de un agonista de un agonista del receptor gamma activado por proliferador de peroxisomas para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una adicción a un agente adictivo seleccionado del grupo que consiste en alcohol o un agonista opioide.

Se exponen realizaciones preferidas de la invención en las reivindicaciones dependientes.

Breve descripción de las diversas vistas de los dibujos

La figura 1 es un gráfico que representa el efecto de la administración aguda de 10,0 ó 30,0 mg/kg de pioglitazona (Pio 10 y Pio 30, respectivamente) sobre la ingesta de alcohol en ratas con preferencia por el alcohol Marchigian Sardinian (msP). Los controles se trataron sólo con vehículo (Veh). Los valores representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol. Se indica la diferencia significativa de los controles: * $p < 0,05$.

La figura 2 es un gráfico que representa el efecto de la administración aguda de 0,25 mg/kg de naltrexona (Ntx) sola o en combinación con 10,0 ó 30,0 mg/kg de pioglitazona (Pio 10 y Pio 30, respectivamente) sobre la ingesta de alcohol en ratas msP. Los controles se trataron con vehículos de fármacos (Veh+Veh). Los valores representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol. Se indica la diferencia significativa de los controles: ** $p < 0,01$ y * $p < 0,05$.

Las figuras 3A-3D son gráficos que demuestran el efecto de la administración subcrónica de 10,0 ó 30,0 mg/kg de pioglitazona (Pio 10 y Pio 30, respectivamente) sobre la ingesta de alcohol en ratas msP. Los controles se trataron con vehículo de fármaco (Veh). Los valores mostrados en las figuras 3A-3C representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol diaria medida a: 2 horas (figura 3A); 8 horas (figura 3B); y 24 horas (figura 3C) desde el comienzo de la fase de oscuridad del ciclo de luz/oscuridad diario. La figura 3D muestra la ingesta de comida diaria medida a intervalos de 24 h. Se indica la diferencia significativa de los controles: * $p < 0,05$.

Las figuras 4A-4D son gráficos que demuestran el efecto de la administración subcrónica de 0,25 mg/kg de naltrexona (Ntx) sola o en combinación con 10,0 ó 30,0 mg/kg de pioglitazona (Pio 10 y Pio 30, respectivamente) sobre la ingesta de alcohol en ratas msP. Los controles se trataron con vehículo de fármaco (Veh + Veh). Los valores mostrados en las figuras 4A-4C representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol diaria medida a: 2 horas (figura 4A); 8 horas (figura 4B); y 24 horas (figura 4C) desde el comienzo de la fase de oscuridad del ciclo de luz/oscuridad diario. La figura 4D muestra la ingesta de comida diaria medida a intervalos de 24 h. Se indica la diferencia significativa de los controles: * $p < 0,05$.

La figura 5 es un gráfico de barras que representa el efecto de la pioglitazona sobre el restablecimiento inducido por yohimbina del comportamiento de búsqueda de etanol. En comparación con la extinción (Ext), la yohimbina provocó

un restablecimiento significativo de la respuesta que se redujo notablemente mediante el tratamiento previo con 10,0 y 30,0 mg/kg de pioglitazona (Pio 10 y 30, respectivamente). Los valores representan el número medio ($\pm$ EEM) de respuestas en la palanca activa. Se indica la diferencia significativa de los controles (vehículo de pioglitazona; Veh): ** $P < 0,05$.

- 5 La figura 6 es un gráfico de barras que representa la falta de efecto de la pioglitazona sobre el restablecimiento inducido por señales de aviso del comportamiento de búsqueda de etanol. Los valores mostrados representan el número medio ($\pm$ EEM) de respuestas en las palancas activa o inactiva. *Condicionamiento*: respuestas de la última sesión de alcohol al 10% (círculo negro) y agua (círculo blanco) de la fase de diferenciación. *Extinción (EXT)*: respuestas durante el último día de esta fase. *Restablecimiento*: respuestas en ratas expuestas a estímulos predictivos de la disponibilidad de alcohol (S^+/CS^+) o agua (S^-/CS^-). Se indica la diferencia significativa de Ext: ** $P < 0,01$.

- 10 La figura 7 es un gráfico que representa el efecto del tratamiento con ciglitazona 5,0 (Cig 5) o 20,0 mg/kg (Cig 20) o su vehículo (Veh) sobre la autoadministración de etanol FR1 en ratas Wistar. Cada respuesta de palanca dio como resultado el suministro de 0,1 ml de etanol al 10%. Se indica la diferencia significativa de los controles (Veh): * $P < 0,05$.

- 15 La figura 8 es un gráfico del efecto de la administración de 7,5 ó 15,0 mg/kg de rosiglitazona (Ros) sobre la ingesta de alcohol en ratas msP. Los controles se trataron con el vehículo de fármaco (Veh). Los valores representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol (g/kg) a los puntos de tiempo indicados. Se indica la diferencia significativa de los controles: ** $p < 0,01$ y * $p < 0,05$.

- 20 Las figuras 9A y 9B son gráficos que representan el efecto del tratamiento previo con el antagonista de PPAR γ GW9662 sobre la reducción inducida por pioglitazona del consumo de etanol. La figura 9A representa el efecto de GW9662 (GW) administrado solo (1,0 y 5,0 mg/kg) sobre la ingesta de etanol en ratas msP. La figura 9B describe el efecto del tratamiento previo con GW9662 sobre animales a los que se les inyectó pioglitazona 30 mg/kg (Pio) o su vehículo. El grupo control recibió vehículos de ambos fármacos (Veh+Veh). Los valores representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol (g/kg). Se indica la diferencia significativa de los controles: ** $p < 0,01$.

- 25 La figura 10 es un gráfico que representa el efecto del tratamiento previo con el antagonista de PPAR γ GW9662 administrado por vía i.c.v. sobre la reducción inducida por pioglitazona de la ingesta de etanol. Las ratas msP recibieron 5,0 μ g/rata de GW9662 (GW) solo, 30 mg/kg de pioglitazona (Pio) sola o su combinación. El grupo control recibió vehículos de ambos fármacos (Veh+Veh). Los valores representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol (g/kg). Se indica la diferencia significativa de los controles: * $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$.

- 30 La figura 11 es un gráfico que representa el efecto de naltrexona (Ntx) sobre el restablecimiento inducido por yohimbina de la búsqueda de alcohol. En comparación con la extinción (Ext), la yohimbina provocó un restablecimiento significativo de la respuesta que no se modificó mediante el tratamiento previo con 0,25 y 1,0 mg/kg de naltrexona. Los valores representan el número medio ($\pm$ EEM) de respuestas en la palanca activa. La diferencia de los controles (0,0) no era significativa.

- 35 La figura 12 es un gráfico que representa el efecto de naltrexona (Ntx) sobre el restablecimiento inducido por señales de aviso de la búsqueda de alcohol. Los valores representan el número medio ($\pm$ EEM) de respuestas en la palanca activa. *Condicionamiento*: respuestas de la última sesión de alcohol al 10% (círculo negro) y agua (círculo blanco) de la fase de diferenciación. *Extinción (Ext)*: respuestas durante el último día de esta fase. *Restablecimiento*: respuestas en ratas expuestas a estímulos predictivos de la disponibilidad de alcohol (S^+/CS^+) o agua (S^-/CS^-). El tratamiento con 0,25 y 1,0 mg/kg de naltrexona redujo significativamente el restablecimiento inducido por señales de aviso de la búsqueda de alcohol; ** $p < 0,01$.

- 40 Las figuras 13A y 13B son gráficos que representan el efecto de la combinación de naltrexona (ntx) más pioglitazona (Pio) sobre: el restablecimiento inducido por yohimbina de la búsqueda de alcohol (figura 13A) o el restablecimiento inducido por señales de aviso de la búsqueda de alcohol (figura 13B). En comparación con la extinción (Ext), la yohimbina provocó un restablecimiento significativo de la respuesta. La combinación de naltrexona (1,0 mg/kg) más pioglitazona (10 y 30 mg/kg) inhibió significativamente el restablecimiento inducido por yohimbina de la búsqueda de alcohol (figura 13A). El tratamiento con 1,0 mg/kg de naltrexona en combinación con pioglitazona (10,0 y 30,0 mg/kg) también redujo significativamente el restablecimiento inducido por señales de aviso de la búsqueda de alcohol. *Condicionamiento*: respuestas de la última sesión de alcohol al 10% (círculo negro) y agua (círculo blanco) de la fase de diferenciación. *Extinción (Ext)*: respuestas durante el último día de esta fase. *Restablecimiento*: respuestas en ratas expuestas a estímulos predictivos de la disponibilidad de alcohol (S^+/CS^+) o agua (S^-/CS^-). Los valores representan el número medio ($\pm$ EEM) de respuestas en la palanca activa. Se indica la diferencia significativa de Ext: * $P < 0,05$, ** $p < 0,01$.

- 45 La figura 14 es un gráfico que representa el efecto de la administración de 10 mg/kg de pioglitazona (Pio) sola o 3 mg/kg de fluoxetina sola o su combinación sobre la ingesta de alcohol en ratas msP. Los controles se trataron con los vehículos de fármaco (Veh+Veh). Los valores representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol (g/kg). Se indica la diferencia significativa de los controles: * $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$.

La figura 15 es un gráfico que representa el efecto de la administración de 10 mg/kg de pioglitazona (Pio) sola o 5 mg/kg de mirtazapina sola o su combinación sobre la ingesta de alcohol en ratas msP. Los controles se trataron con los vehículos de fármaco (Veh+Veh). Los valores representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol (g/kg). Se indica la diferencia significativa de los controles: * $p < 0,05$.

- 5 La figura 16 es un gráfico que representa el efecto de la administración de 10 mg/kg de pioglitazona (Pio) sola o 30 mg/kg de topiramato solo o su combinación sobre la ingesta de alcohol en ratas msP. Los controles se trataron con los vehículos de fármaco (Veh+Veh). Los valores representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol (g/kg). Se indica la diferencia significativa de los controles: * $p < 0,05$.

- 10 La figura 17 es un gráfico que representa el efecto de la administración de 10 mg/kg de pioglitazona (Pio) sola o 100 mg/kg de levetiracetam (Leve) solo o su combinación sobre la ingesta de alcohol en ratas msP. Los controles se trataron con vehículos solos (Veh+Veh). Los valores representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol (g/kg). Se indica la diferencia significativa de los controles: * $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$.

- 15 La figura 18 es un gráfico que representa el efecto de la administración de 10 mg/kg de pioglitazona (Pio) sola o 30 mg/kg de gabapentina sola o su combinación sobre la ingesta de alcohol en ratas msP. Los controles se trataron con vehículos (Veh+Veh). Los valores representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol (g/kg). Se indica la diferencia significativa de los controles: ** $p < 0,01$ y * $p < 0,05$.

- 20 La figura 19 es un gráfico que representa el efecto de la administración de 10 mg/kg de pioglitazona (Pio) sola o 1,0 mg/kg de ondansetrón solo o su combinación sobre la ingesta de alcohol en ratas msP. Los controles se trataron con los vehículos de fármaco (Veh+Veh). Los valores representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol (g/kg). Se indica la diferencia significativa de los controles: ** $p < 0,01$ y * $p < 0,05$.

La figura 20 es un gráfico que representa el efecto de la administración de 10 mg/kg de pioglitazona (Pio) sola o 15 mg/kg de antalarmina sola o su combinación sobre la ingesta de alcohol en ratas msP. Los controles se trataron con vehículos (Veh+Veh). Los valores representan la media $\pm$ eem de la ingesta de alcohol (g/kg). Se indica la diferencia significativa de los controles: * $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$.

- 25 La figura 21 es un gráfico que representa el efecto de la administración de 10 y 30 mg/kg de pioglitazona (Pio) sobre una puntuación de abstinencia de alcohol en ratas Wistar. Los controles recibieron la administración oral de vehículo de alcohol. Los valores representan la media $\pm$ eem de la puntuación de abstinencia total. Se indica la diferencia significativa de los controles: ** $p < 0,01$.

- 30 Las figuras 22A y 22B son gráficos que representan el efecto del tratamiento con 10,0 ó 30,0 mg/kg de pioglitazona (10 ó 30, respectivamente) o su vehículo (veh) sobre la autoadministración de cocaína FR5 en ratas Wistar. La figura 22A muestra el número de recompensas en la palanca activa, dando como resultado cada cinco respuestas de palanca el suministro de una recompensa (0,25 mg/0,1 ml de cocaína). La figura 22B muestra el número de respuestas en la palanca inactiva izquierda. Se indica la diferencia significativa de los controles (Veh): ** $p < 0,01$.

- 35 Las figuras 23A y 23B son gráficos que representan el efecto del tratamiento con pioglitazona (30,0 mg/kg) o su vehículo (veh) sobre la autoadministración de nicotina FR5 en ratas Wistar. La figura 23A muestra el número de recompensas en la palanca activa, dando como resultado cada cinco respuestas de palanca el suministro de 0,25 mg/0,03 ml de nicotina. La figura 23B muestra el número de respuestas en la palanca inactiva izquierda. Se indica la diferencia significativa de los controles (Veh): * $p < 0,05$.

Descripción detallada

- 40 La presente invención se basa, en gran parte, en el descubrimiento descrito en el presente documento de que los agonistas de receptores gamma activados por proliferador de peroxisomas (PPAR γ) son útiles en el tratamiento y la prevención de una adicción a un agente adictivo seleccionado del grupo que consiste en alcohol y un agonista opiode.

- 45 Tal como se demuestra en los ejemplos adjuntos, se mostró que una variedad de diferentes tiazolidindionas (TZD) reducían la ingesta de un agente adictivo en diversos modelos de adicción. Por ejemplo, cada una de las TZD, pioglitazona, ciglitazona y rosiglitazona, redujeron significativamente el consumo de etanol en modelos de rata de adicción al alcohol (ejemplos 1, 3, 7 y 8). El efecto era evidente para la administración tanto aguda como subcrónica de una TZD (ejemplos 1 y 2). Además, se mostró que las TZD reducían el uso de cocaína en un modelo de rata de adicción a la cocaína (ejemplo 23) y un modelo de rata de adicción a la nicotina (ejemplo 24). Se mostró que este efecto de los agonistas de PPAR γ estaba mediado por la activación de receptores de PPAR γ usando dos agonistas de PPAR γ diferentes (ejemplos 9 y 10). Además, un estudio observacional de pacientes humanos que usaban pioglitazona para el tratamiento de la diabetes confirmó que este agonista de PPAR γ era eficaz en la reducción del alcoholismo (ejemplo 22). Estos datos establecen que los agonistas de PPAR γ pueden usarse para tratar y prevenir la adicción a una variedad de diferentes agentes adictivos.

- 55 Además, los ejemplos adjuntos demuestran que los agonistas de PPAR γ usados en combinación con una variedad de diferentes agentes terapéuticos redujeron sustancialmente la ingesta de un agente adictivo. Por ejemplo, se

muestra que el tratamiento agudo o subcrónico con la TZD, pioglitazona, potenció la acción inhibitoria del antagonista de opioides, naltrexona, sobre la ingesta de etanol (ejemplos 2 y 4). Estos datos demuestran que el uso de un agonista de PPAR γ en combinación con un antagonista de opioides tendrá una eficacia aumentada, por ejemplo, aditiva o sinérgica, en el tratamiento o la prevención de la adicción.

Además de reducir el uso de un agente adictivo, los agonistas de PPAR γ también podían reducir o prevenir la recaída en el uso, o el restablecimiento, de agentes adictivos. Tal como se describe en el ejemplo 5, el tratamiento con pioglitazona redujo significativamente el restablecimiento inducido por estrés del uso de alcohol. Sin embargo, de manera interesante, no redujo significativamente el restablecimiento inducido por señales de aviso del uso de alcohol (ejemplo 6). Por el contrario, el antagonista de opioides, naltrexona, redujo el restablecimiento inducido por señales de aviso del uso de alcohol, pero no el restablecimiento inducido por estrés del uso de alcohol (ejemplos 12 y 11). Los datos apoyan el concepto de que la combinación de un agonista de PPAR γ y un antagonista de opioides tendría una capacidad potenciada de prevenir la recaída en el uso de un agente adictivo, puesto que una combinación de este tipo prevendría la recaída en el uso tanto inducida por estrés como inducida por señales de aviso. De hecho, el tratamiento con la combinación del agonista de PPAR γ , pioglitazona, y el antagonista de opioides, naltrexona, dio como resultado una reducción significativa del restablecimiento del uso de alcohol tanto inducido por estrés como inducido por señales de aviso (ejemplo 13).

Los agonistas de PPAR γ también funcionaban sinérgicamente con otras clases de agentes terapéuticos en la reducción o la prevención de la adicción y la recaída en el uso. Por ejemplo, la TZD, pioglitazona, usada en combinación con una variedad de diferentes clases de antidepresivos, incluyendo fluoxetina y mirtazapina, funcionaba sinérgicamente en la reducción del consumo de etanol en un modelo animal de adicción al etanol (ejemplos 14 y 15). Antiepilepticos, incluyendo topiramato, levetiracetam y gabapentina, mostraron sinergia en combinación con una TZD en la reducción de la ingesta de etanol (ejemplos 16-18), y antieméticos, incluyendo el antagonista selectivo del receptor de serotonina-3 (5-HT $_3$), ondansetrón, y el antagonista selectivo del receptor del factor 1 de liberación de corticotropina, antalarmina, también mostraban sinergia en combinación con una TZD en la reducción del consumo de alcohol (ejemplos 19 y 20).

De manera interesante, los experimentos descritos en los ejemplos adjuntos también mostraron que los agonistas de PPAR γ reducían significativamente los síntomas de abstinencia en animales adictos al alcohol (ejemplo 21).

Los agonistas de PPAR γ también mostraron eficacia en combinación con antagonistas de opioides; la administración conjunta de los dos fármacos dio como resultado aditividad con respecto al efecto sobre la ingesta de etanol y expandió la eficacia del antagonista de opioides sobre el restablecimiento inducido por estrés. En un régimen de administración conjunta, es particularmente significativo señalar el efecto anticonvulsivo neuroprotector y de reducción de la abstinencia de TDZ, especialmente durante la fase de tratamiento temprana. De hecho, los antagonistas de opioides no dan como resultado ninguna mejora de los síntomas de abstinencia y esto, en general, puede contribuir al abandono temprano del tratamiento y el bajo cumplimiento notificados a menudo con estos fármacos.

La capacidad de TDZ para normalizar la función hepática también puede tener consecuencias positivas en la explotación de un enfoque de tratamiento combinado. De hecho, el estado clínico de pacientes alcohólicos, en general, está comprometido, especialmente durante la fase de desintoxicación temprana. Por tanto, una rápida recuperación y mejora desde un estado patológico podrían mejorar el mantenimiento del tratamiento.

Tal como se usa en el presente documento, a menos que el contexto deje claro lo contrario, “tratar” y palabras similares tales como “tratamiento”, “que trata”, es un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados, incluyendo y preferiblemente resultados clínicos. El tratamiento puede implicar opcionalmente o bien la reducción o bien la mejora de una enfermedad o estado, (por ejemplo, adicción, recaída en el uso, abstinencia), o el retraso de la progresión de la enfermedad o el estado (por ejemplo, adicción, recaída en el uso, abstinencia).

Tal como se usa en el presente documento, a menos que el contexto deje claro lo contrario, “prevenir” y palabras similares tales como “prevención”, “que previene”, es un enfoque para prevenir la aparición o recurrencia de una enfermedad o estado, (por ejemplo, adicción, recaída en el uso, abstinencia) o prevenir la aparición o recurrencia de los síntomas de una enfermedad o estado, u opcionalmente un enfoque para retrasar la aparición o recurrencia de una enfermedad o estado o retrasar la aparición o recurrencia de los síntomas de una enfermedad o estado.

Generalmente, a un sujeto se le proporciona una cantidad eficaz de un agonista de PPAR γ . Tal como se usa en el presente documento, una “cantidad eficaz” o una “cantidad terapéuticamente eficaz” de una sustancia, por ejemplo, un agonista de PPAR γ , es la cantidad suficiente para efectuar un efecto biológico o psicológico deseado, tal como resultados beneficiosos, incluyendo resultados clínicos. Por ejemplo, en el contexto de tratamiento de la adicción, una cantidad eficaz de un agonista de PPAR γ es la cantidad suficiente para provocar que el sujeto reduzca o interrumpa el uso de un agente adictivo.

Según determinadas realizaciones de la presente invención, a un sujeto se le proporciona un agonista de PPAR γ solo, mientras que en otras realizaciones, a un sujeto se le proporciona un agonista de PPAR γ en combinación con un agente terapéutico adicional. Se entiende que la cantidad eficaz de cualquiera o ambos de un agonista de PPAR γ

y un agente terapéutico adicional puede ser diferente cuando se proporciona cualquiera solo que cuando se proporcionan en combinación. Por ejemplo, cuando el agonista de PPAR γ y el agente terapéutico adicional actúan sinérgicamente, entonces puede requerirse una cantidad inferior del agonista de PPAR γ , una cantidad inferior del agente terapéutico adicional o cantidades inferiores de tanto el agonista de PPAR γ como del agente terapéutico adicional para lograr el mismo efecto terapéutico que se proporcionaría mediante o bien el agonista de PPAR γ o bien el agente terapéutico adicional solos. En otras realizaciones, se usa la misma cantidad del agonista de PPAR γ y el agente terapéutico adicional para proporcionar un efecto terapéutico potenciado en relación con el efecto terapéutico proporcionado por o bien el agonista de PPAR γ o bien el agente terapéutico adicional solos. Como otro ejemplo, los datos en los ejemplos a continuación indican que pacientes adictos al alcohol y tratados con el agonista de PPAR γ pioglitazona presentan una disminución de la depresión, y el tratamiento de pacientes adictos con una combinación de un agonista de PPAR γ y un agente antidepresivo según la presente invención puede proporcionar un efecto terapéutico antidepresivo potenciado como parte del tratamiento del trastorno adictivo.

El sujeto puede ser cualquier animal, incluyendo un mamífero y, particularmente, un ser humano.

En un aspecto, en primer lugar se determina o se diagnostica que el sujeto tiene una adicción, o corre el riesgo de desarrollar una adicción, mediante pruebas de diagnóstico, observación o análisis por parte de un profesional sanitario. Una cantidad eficaz de un agonista de PPAR γ , o una cantidad eficaz de un agonista de PPAR γ y un agente terapéutico adicional, se proporcionan entonces al sujeto para el tratamiento o la prevención de la adicción. En otro aspecto, en primer lugar se determina o se diagnostica que el sujeto tiene una adicción, o corre el riesgo de desarrollar una adicción, mediante pruebas de diagnóstico, observación o análisis por parte de un profesional sanitario, pero no se ha diagnosticado o determinado que el sujeto tiene diabetes u otro trastorno de insulina. Una cantidad eficaz de un agonista de PPAR γ , o una cantidad eficaz de un agonista de PPAR γ y un agente terapéutico adicional, se proporcionan entonces al sujeto para el tratamiento o la prevención de la adicción. La dosificación del agonista de PPAR γ , o el agonista de PPAR γ y el agente terapéutico adicional, puede determinarse específicamente por el médico para el tratamiento o la prevención de la adicción en vez de para cualquier otro trastorno o enfermedad.

En aspectos particulares, se le proporciona al sujeto un agonista de PPAR γ , solo o en combinación con un agente terapéutico adicional con el fin principal de tratar o prevenir una adicción. En aspectos relacionados, no se le ha proporcionado previamente al sujeto un agonista de PPAR γ para el tratamiento o la prevención de cualquier enfermedad o trastorno distinto de una adicción. En particular, al sujeto no se le ha proporcionado previamente un agonista de PPAR γ para el tratamiento de la resistencia a la insulina o diabetes. En aspectos relacionados adicionales, al sujeto no se le ha diagnosticado resistencia a la insulina o diabetes.

En diversas realizaciones de la presente invención, al sujeto se le puede proporcionar cualquier agonista de PPAR γ , incluyendo cualquier de los agonistas de PPAR γ específicos descritos a continuación. En realizaciones particulares, el agonista de PPAR γ es una TZD, incluyendo cualquier de las TZD descritas a continuación. En determinadas realizaciones, la TZD es pioglitazona, ciglitazona, rosiglitazona o troglitazona.

En diversas realizaciones, al sujeto se le proporciona el agonista de PPAR γ al mismo tiempo que el sujeto está usando un agente adictivo, después de que el sujeto haya interrumpido el uso de un agente adictivo o antes de que el sujeto comience a usar un agente adictivo.

1. Agentes adictivos

El término adicción se usa para describir una compulsión recurrente de un individuo a entregarse a alguna actividad específica, a pesar de las consecuencias perjudiciales para la salud, el estado mental o la vida social del individuo. El término se reserva a menudo para adicciones a drogas, pero a veces se aplica a otras compulsiones, tales como problemas con el juego y sobrealimentación compulsiva. Los factores que se han sugerido como causas de adicción incluyen factores genéticos, biológicos/farmacológicos y sociales.

Actualmente, la comunidad médica hace una distinción teórica cuidadosa entre dependencia física o fisiológica (caracterizada por síntomas de abstinencia) y dependencia psicológica (en ocasiones denominada simplemente adicción). Actualmente la adicción se define de manera restringida como "uso descontrolado, compulsivo". Si no se padece ningún daño por, o se está haciendo daño, al paciente o a otra parte, entonces clínicamente puede considerarse compulsiva, pero según la definición de algunos no se clasifica como "adicción". En la práctica, los dos tipos de adicción (dependencia fisiológica y dependencia psicológica) no son siempre fáciles de distinguir. Las adicciones a menudo tienen componentes tanto físicos como psicológicos.

La dependencia física (o dependencia de drogas-fármacos) se refiere a un estado que resulta del uso habitual de un fármaco-droga, en el que resultan síntomas de abstinencia física negativos de la interrupción súbita. Los ejemplos de agentes adictivos para los que un usuario puede desarrollar una dependencia física incluyen nicotina, opioides, barbitúricos, benzodiazepinas, alcohol, es decir, alcohol etílico, GHB y metacualona.

No se cree que los estimulantes de los que se abusa comúnmente tales como drogas de la clase de cocaína o

anfetamina provoquen dependencia física significativa. Sin embargo, su potencial para provocar adicción fisiológica extrema puede obligar al usuario a consumir cantidades que se vuelven físicamente dañinas, pero no se han observado efectos de abstinencia potencialmente mortales.

Los agentes adictivos incluyen drogas de uso recreativo adictivas, así como medicamentos adictivos. Los ejemplos de agentes adictivos incluyen alcohol, por ejemplo, alcohol etílico, gamma-hidroxibutirato (GHB), cafeína, nicotina, cannabis (marihuana) y derivados del cannabis, opiáceos y otros agonistas opioides similares a la morfina tales como heroína, fenilciclídina y compuestos similares a fenilciclídina, hipnóticos sedantes tales como benzodiacepinas, metacualona, meclocualona, etacualona y barbitúricos y psicoestimulantes tales como cocaína, anfetaminas y fármacos-drogas relacionados con anfetaminas tales como dextroanfetamina y metilanfetamina. Otros ejemplos incluyen LSD, psilocibina, éxtasis y otros alucinógenos. Los ejemplos de medicamentos adictivos incluyen, por ejemplo, benzodiacepinas, barbitúricos y medicamentos contra el dolor incluyendo alfentanilo, alilprodina, alfaprodina, anileridina, bencilmorfina, becitramida, buprenorfina, butorfanol, clonitaceno, codeína, ciclazocina, desomorfina, dextromoramide, dezocina, diampromida, dihidrocodeína, dihidromorfina, dimenoxadol, dimefeptanol, dimetiltiambuteno, butirato de dioxafetil, dipipanona, eptazocina, etoheptacina, etilmetiltiambuteno, etilmorfina, etonitaceno, fentanilo, heroína, hidrocodona, hidromorfona, hidroxipetidina, isometadona, cetobemidona, levorfanol, levorfanol, levofenacilmorfano, lofentanilo, meperidina, meptacina, metazocina, metadona, metopón, morfina, mirofina, nalbufina, narceína, nicomorfina, norlevorfanol, normetadona, nalorfina, normorfina, norpipanona, opio, oxicodona, OXYCONTIN®, oximorfona, papaveretum, pentazocina, fenadoxona, fenomorfano, fenazocina, fenoperidina, piminodina, piritramida, proheptacina, promedol, properidina, propiram, propoxifeno, sufentanilo, tramadol, tilidina, sales de los mismos, mezclas de cualquier de los anteriores, μ -agonistas/antagonistas mixtos, y similares.

En determinadas realizaciones, un sujeto es adicto a un agonista opioide. Los términos “agonista opioide”, “opioide” y “opiáceo” se usan de manera intercambiable en el presente documento y se usan para designar un grupo de fármacos-drogas que tiene, en grados variables, propiedades similares al opio o a la morfina. Su uso principal es para aliviar el dolor. Estos agentes funcionan uniéndose a los receptores de opioides, que se encuentran generalmente en el sistema nervioso central y el tracto gastrointestinal. Los opiáceos también son agentes adictivos. Los opiáceos incluyen alfentanilo, alilprodina, alfaprodina, anileridina, apomorfina, bencilmorfina, beta-hidroxi-3-metilfentanilo, becitramida, carfentanilo, clonitaceno, codeína, desomorfina, dextromoramide, diacetilmorfina (heroína), diampromida, dihidrocodeína, dihidroetorfina, dihidromorfina, dimenoxadol, dimefeptanol, dimetiltiambuteno, butirato de dioxafetil, dipipanona, eptazocina, etoheptacina, etilmetiltiambuteno, etilmorfina, etonitaceno, etorfina, fentanilo, hidrocodona, hidromorfona, hidroxipetidina, isometadona, cetobemidona, LMM, levorfanol, levofenacilmorfano, lofentanilo, meperidina, metapón, metazocina, metadona, acetato de metadilo, metopón, morfina, mirofina, narceína, nicomorfina, norlevorfanol, normetadona, normorfina, norpipanona, opio, oxicodona, oximorfona, papaverina, fenadoxona, fenomorfano, fenoperidina, piminodina, piritramida, proheptacina, promedol, properidina, propoxifeno, remifentanilo, sufentanilo, tebaína, tilidina y tramadol.

Los opiáceos que se producen de manera natural incluyen codeína, morfina, noscapina, papaverina y tebaína. Los opioides semisintéticos incluyen diacetilmorfina, hidrocodona, hidromorfona, levorfanol, metapón, nalorfina, naloxona, naltrexona, oxicodona, oximorfona y tramadol. Los opioides sintéticos incluyen etoheptacina, fentanilo, levorfanol, mepedidina, metadona, fenazocina, propoxifeno y sufentanilo.

Tres clasificaciones amplias de los opiáceos son fenantrenos, fenilheptilaminas y fenilpiperidinas. Los ejemplos de fenantrenos incluyen codeína, etorfina, hidrocodona, hidromorfona, morfina, oxicodona y oximorfona. Los ejemplos de fenilheptilaminas incluyen dimeheptanol, dimenoxadol, dipipanona, isometadona, metadona, acetato de metadilo y propoxifeno. Los ejemplos de fenilpiperidinas incluyen alfentanilo, alfaprodina, beta-promedol, carfentanilo, fentanilo, lofentanilo, meperidina, properidina y sufentanilo.

2. Agonistas de PPAR γ

Los receptores activados por proliferador de peroxisomas (PPAR) son factores de transcripción activados por ligando de la superfamilia de receptores de hormonas nucleares. Actualmente se han identificado tres isoformas de PPAR distintas, concretamente PPAR α , PPAR β/δ y PPAR γ (Breider *et al.*, 2002; Feinstein *et al.* 2003). La isoforma de receptor PPAR α se expresa altamente en el hígado y el riñón y regula el catabolismo de ácidos grasos; la PPAR β/δ se expresa de manera ubicua y está implicada en la regulación de diferentes procesos celulares incluyendo la diferenciación de adipocitos, queratinocitos y oligodendrocitos. Finalmente, los receptores PPAR γ se expresan predominantemente en el tejido adiposo y los macrófagos, donde están implicados en la diferenciación de adipocitos, la regulación de la homeostasis de azúcares y lípidos y el control de respuestas inflamatorias (Heneka *et al.* 1999; Landreth y Heneka 2001; Harris y Phipps 2002).

Los ligandos endógenos de receptores PPAR pertenecen a diversas clases de compuestos de ácidos grasos insaturados que incluyen leucotrienos, metabolitos del ácido retinoico y prostaglandinas. Por ejemplo, el receptor PPAR γ se ubica principalmente en la fracción citoplasmática y se activa por la 15-desoxi- Δ^{12-14} -prostaglandina J₂ (Burstin 2005; Cernuda-Morollon, *et al.*, 2002).

Estudios recientes también han mostrado que, además de los diversos tejidos periféricos, los receptores PPAR β/δ y

PPAR γ se expresan en neuronas y oligodendrocitos (pero no en astrocitos) del sistema nervioso central (SNC). El papel exacto de estos receptores en el cerebro aún no se entiende bien (Kainu *et al.* 1994).

Se sabe que la activación de PPAR γ media en respuestas neuroprotectoras frente a procesos exitotóxicos y daños inflamatorios (Butcher *et al.* 2002). La activación de estos receptores también está asociada con la mejora del rendimiento cognitivo y tiene potencial protector frente a ataques epilépticos (Yu *et al.* 2008).

En 1997 se desarrolló una nueva clase de fármacos, las tiazolidindionas (TZD), en Japón, originalmente como antioxidantes. Algunos de estos compuestos se aprobaron entonces para el tratamiento clínico de la resistencia a la insulina y diabetes tipo 2.

A nivel molecular, las TDZ se unen con alta afinidad y activan receptores PPAR γ ; se ha propuesto que este es el mecanismo principal a través del cual estas moléculas ejercen sus efectos terapéuticos. Actualmente, dos compuestos de TDZ se usan clínicamente para tratar seres humanos, pioglitazona (Actos®) y rosiglitazona (Avandia®). Se describen adicionalmente pioglitazona y métodos para sintetizar y formular pioglitazona y composiciones de pioglitazona en las patentes estadounidenses 4.687.777, 5.965.584 y 6.150.383. Otros compuestos (es decir, ciglitazona, troglitazona, aleglitazar, muraglitazar, tesaglitazar y ragaglitazar, etc.) están en desarrollo. Los agonistas de PPAR γ adecuados para su uso en la presente invención incluyen agonistas de PPAR γ selectivos tales como ciglitazona, troglitazona, pioglitazona, rosiglitazona, englitazona, rivoiglitazona y darglitazona.

Una clase adicional de agonistas de PPAR γ son agonistas de PPAR de acción doble. Los agonistas de PPAR de doble acción son un grupo novedoso de compuestos que activan factores de transcripción nucleares. Mediante la activación de receptores tanto PPAR α como PPAR γ , reducen simultáneamente triglicérido aterogénicos, elevan los niveles de HDL cardioprotector y mejoran la resistencia a la insulina. Los ejemplos de agonistas de PPAR de doble acción que pueden ser adecuados para su uso en la presente invención incluyen tesaglitazar, aleglitazar, muraglitazar y ragaglitazar.

Los agonistas de PPAR γ adicionales que pueden usarse según la presente invención incluyen, pero no se limitan a, los descritos en las siguientes patentes y solicitudes de patentes: patentes estadounidenses n.^{os} 6.294.580, 7.067.530, 6.582.738, 6.794.154, 4.812.570, 4.775.687, 4.725.610, 4.582.839 y 4.572.912; y las publicaciones de solicitud de patente estadounidense n.^{os} US2002/006942, US2007/0299047, US2004/0077525 y US2008/0045580. Los ejemplos de agonistas de PPAR γ dobles que pueden usarse según la presente invención incluyen, por ejemplo, los descritos en las solicitudes de patente estadounidense n.^{os} 2007/037882, US2006/0270722, US2006/0211749, US2006/0167045 y US2005/0014833.

Tal como se demuestra en los ejemplos adjuntos, los agonistas de PPAR γ pueden usarse eficazmente en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para tratar o prevenir la adicción a uno o más de los agentes adictivos descritos más adelante. Por consiguiente, la presente invención se refiere al tratamiento o la prevención de una adicción, que comprende proporcionar a un sujeto adicto a un agente adictivo uno o más agonistas de PPAR γ y uno o más agentes terapéuticos adicionales, en los que cada uno de los agonistas de PPAR γ y el/los agente(s) terapéutico(s) adicionales contribuyen al tratamiento o la prevención eficaz de la adicción. En una realización, a un sujeto se le proporciona o se le administra un agonista de PPAR γ y un agente terapéutico adicional. Como se demuestra mediante los ejemplos más adelante, la combinación de un agonista de PPAR γ y otro agente terapéutico puede tener una eficacia aditiva o sinérgica ventajosa en el tratamiento o la prevención de una adicción o la recaída en el uso de un agente adictivo. En algunas realizaciones, el agente adicional es otro agente antiadicción.

El agonista de PPAR γ y el agente terapéutico adicional pueden administrarse al mismo tiempo (es decir, simultáneamente), o bien pueden administrarse uno antes del otro (es decir, secuencialmente). En general, tanto el agonista de PPAR γ como el agente terapéutico adicional están presentes en el sujeto al mismo tiempo durante un periodo de tiempo y a niveles suficientes para proporcionar un beneficio terapéutico al sujeto, es decir, en el tratamiento o la prevención de una adicción o la prevención de una recaída en el uso (o restablecimiento) de un agente adictivo. El agonista de PPAR γ y el agente terapéutico adicional pueden administrarse por la misma o por diferentes vías de administración. Normalmente, el agonista de PPAR γ y el agente terapéutico adicional se proporcionan cada uno a un sujeto según una vía de administración convencional de una composición farmacéutica disponible comercialmente u otra.

El agente terapéutico adicional proporcionado en combinación con un agonista de PPAR γ puede ser cualquier agente terapéutico que contribuye a un aspecto del tratamiento o la prevención eficaz de la adicción. Por ejemplo, el agente terapéutico adicional puede ser un fármaco usado para tratar una adicción o un fármaco usado para aliviar efectos secundarios asociados con la abstinencia fisiológica de un agente adictivo. Además, el agente terapéutico adicional puede ser cualquier fármaco que afecta a la neurotransmisión de serotonina en el cerebro, tal como inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) e inhibidores de la recaptación de serotonina y norepinefrina tricíclicos y tetracíclicos (IRSN) tal como se describe más adelante, y agonistas de serotonina tales como sumatriptán, ergonovina, dihidroergotamina y buspirona. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un antagonista de opioides, incluyendo agonista parcial/antagonistas de opioides mixtos, un antidepresivo, un antiepiléptico, un antiemético, un antagonista del receptor de factor de liberación de corticotropina

1 (CRF-1), un antagonista selectivo de serotonina-3 (5-HT₃), un antagonista de 5-HT_{2A/2C} tales como mianserina, mirtazapina y cetanserina, o un antagonista de receptor cannabinoide-1 (CB1), incluyendo pero sin limitarse a aquellos agentes terapéuticos descritos de manera específica anteriormente.

5 En una realización, el agente adictivo es alcohol y el agente terapéutico adicional es un antagonista de opioide o un antagonista/agonista parcial opioide mixto. En una realización particular, el antagonista de opioide es naltrexona. En otra realización, el agonista parcial/antagonista de opioide mixto es buprenorfina.

En una realización, el agente adictivo es alcohol, y el agente terapéutico adicional es topiramato o levetiracetam.

10 En realizaciones particulares, a un sujeto se le proporciona una combinación de: pioglitazona y naltrexona; ciglitazona y naltrexona; rosiglitazona y naltrexona; englitazona y naltrexona; rivoglitazona y naltrexona; darglidazona y naltrexona; pioglitazona y fluoxetina; ciglitazona y fluoxetina; rosiglitazona y fluoxetina; englitazona y fluoxetina; rivoglitazona y fluoxetina; darglidazona y fluoxetina; pioglitazona y mirtazapina; ciglitazona y mirtazapina; rosiglitazona y mirtazapina; englitazona y mirtazapina; rivoglitazona y mirtazapina; darglidazona y mirtazapina; pioglitazona y topiramato; ciglitazona y topiramato; rosiglitazona y topiramato; englitazona y topiramato; rivoglitazona y topiramato; darglidazona y topiramato; pioglitazona y levetiracetam; ciglitazona y levetiracetam; rosiglitazona y levetiracetam; darglidazona y levetiracetam; pioglitazona y gabapentina; ciglitazona y gabapentina; rosiglitazona y gabapentina; englitazona y gabapentina; rivoglitazona y gabapentina; darglidazona y gabapentina; pioglitazona y ondansetrón; ciglitazona y ondansetrón; rosiglitazona y ondansetrón; englitazona y ondansetrón; rivoglitazona y ondansetrón; darglidazona y ondansetrón; pioglitazona y antalarmina; ciglitazona y antalarmina; rosiglitazona y antalarmina; englitazona y antalarmina; rivoglitazona y antalarmina; darglidazona y antalarmina.

Para el tratamiento de la adicción al alcohol, las combinaciones que van a administrarse según la presente invención incluyen un agonista de PPAR γ y un agonista opioide o un antagonista/agonista parcial de opioides mixto, un agonista de PPAR γ y antidepresivo, un agonista de PPAR γ y un antagonista/agonista inverso del receptor CB1, un agonista de PPAR γ y vareniciclina, un agonista de PPAR γ y acamprosato, y un agonista de PPAR γ y disulfiram.

25 La cantidad eficaz de cualquiera o ambos de un agonista de PPAR γ y un agente terapéutico adicional puede reducirse cuando se administran en combinación que cuando se proporcionan solos. Por ejemplo, cuando el agonista de PPAR γ y el agente terapéutico adicional actúan de manera aditiva o sinérgica, entonces puede requerirse una cantidad inferior del agonista de PPAR γ , una cantidad inferior del agente terapéutico adicional o cantidades inferiores de tanto el agonista de PPAR γ como el agente terapéutico adicional para lograr el mismo efecto terapéutico que se proporcionaría mediante o bien el agonista de PPAR γ o bien el agente terapéutico adicional solos.

a. Antagonistas de opioides

35 Un antagonista de opioides actúa sobre uno o más receptores de opioides. Se han notificado al menos tres tipos de receptores de opioides, los receptores de opioides μ , kappa y delta, y los antagonistas de opioides se clasifican generalmente por sus efectos sobre los receptores de opioides. Los antagonistas de opioides pueden antagonizar receptores centrales, receptores periféricos o ambos. Naloxona y naltrexona son fármacos antagonistas de opioides comúnmente usados que son competitivos que se unen a los receptores de opioides con afinidad superior que los agonistas, pero que no activan los receptores. Esto bloquea eficazmente el receptor, impidiendo que el organismo responda a opiáceos y endorfinas.

40 Muchos antagonistas de opioides no son antagonistas puros si no que también producen algunos efectos agonistas parciales opioides débiles, y pueden producir efectos analgésicos cuando se administran en dosis altas a individuos que reciben opioides por primera vez. Los ejemplos de tales compuestos incluyen nalorfina y levalorfan. Sin embargo, los efectos analgésicos de estos fármacos son limitados y tienden a estar acompañados por disforia, lo más probablemente debido a la acción en el receptor de opioides kappa. Puesto que inducen efectos de abstinencia de opioides en personas que están tomando, o que han usado previamente agonistas totales de opioides, estos fármacos se considera que son antagonistas.

La naloxona es un ejemplo de un antagonista de opioides que no tiene efectos agonistas parciales. Por el contrario, es un agonista inverso débil en los receptores de opioides μ y se usa para tratar la sobredosis de opioides.

50 Los ejemplos específicos de antagonistas de opioides que pueden usarse según la invención incluyen alvimopán, binaltorfimina, buprenorfina, ciclazocina, ciclorfano, cipridima, dinicotinato, beta-funaltrexamina, levalorfan, metilnaltrexona, nalbufina, nalida, nalmefero, nalmexona, nalorfina, nalorfina dinicotinato, naloxona, naloxonazina, naltrendol, naltrexona, naltrindol, oxilorfano y pentazocina.

b. Antidepresivos

55 Los antidepresivos son fármacos usados para tratar la depresión. Los tres neurotransmisores que se cree que están implicados en la depresión son serotonina, dopamina y norepinefrina. Determinado tipos de antidepresivos aumentan los niveles de uno o más de estos neurotransmisores en el cerebro bloqueando su reabsorción.

Se han identificado diferentes clases de antidepresivos, incluyendo inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), inhibidores de la recaptación de serotonina y norepinefrina tricíclicos y tetracíclicos (IRSN), inhibidores de la recaptación de norepinefrina (IRN), inhibidores de la recaptación de norepinefrina y dopamina (IRND), azaspironas, inhibidores de monoaminooxidasa (IMAO) y antidepresivos atípicos.

5 Los ISRS incluyen, por ejemplo, cericlamina, citalopram, clomipramina, cianodotiepina, dapoxetina, duloxetina, escitalopram, femoxetina, fluoxetina, fluvoxamina, ifoxetina, imipramina, indalpine, indeloxazina, litoxetina, lofepramina, mianserina, milnaciprán, mirtazapina, nefazadona, nortriptilina, paroxetina, sertralina, sibutramina, tomoxetina, trazodona, venlafaxina y zimeldina.

10 Amitriptilina, amoxapina, butriptilina, clomipramina, demexiptilina, desipramina, dibenzepina, dimetacrina, dotiepina, doxepina, imipramina, iprindol, lofepramina, maprotilina, melitraceno, metapramina, mianserina, mirtazapina, nortriptilina, propizetina, protriptilina, quinupramina, setiptilina, tianeptina y trimipramina son todos antidepresivos tricíclicos y tetracíclicos.

Los IRSN incluyen, por ejemplo, amoxapina, atomoxetina, bicifadina, desipramina, desvenlafaxina, duloxetina, maprotilina, milnaciprán, nefazodona, reboxetina, sibutramina y venlafaxina.

15 Nisoxetina, nortriptilina, reboxetina, talsupram y tomoxetina son todos ejemplos de IRN.

Los IRND incluyen, por ejemplo, bupropión, hidroxibupropión y tesofensina.

Las azaspironas incluyen, por ejemplo, buspirona, gepirona, ipsapirona, tandospirona y tiaspirona. La buspirona es un ansiolítico (agonista parcial en autorreceptores 5-HT₁) que puede proporcionarse con un antidepresivo tal como un ISRS.

20 Los IMAO específicos incluyen, por ejemplo, amiflamina, brofaromina, clorgilina, alfa-etiltriptamina, iproclozida, iproniazida, isocarboxazida, mebanazina, moclobemida, nialamida, pargilina, fenelzina, feniprazina, pirlindol, safrazina, selegilina, toloxatona y tranilcipromina.

25 Los antidepresivos atípicos incluyen, por ejemplo, amesergida, amineptina, benactizina, bupropión, clozapina, fezolamina, levoprotitilina, litio, medifoxamina, mianserina, minaprina, olanzapina, oxaflorano, oxitriptano, rolipram, teniloxazina, tofenacina, trazodona, triptófano y viloxazina.

c. Antiepilépticos

30 Los anticonvulsivos, también denominados fármacos antiepilépticos (FAE) son un grupo diverso de fármacos usados en la prevención de la aparición de crisis epilépticas y trastornos bipolares. Los FAE suprimen el intercambio rápido y excesivo de neuronas que inicia una crisis epiléptica y/o previene la propagación de la crisis epiléptica dentro del cerebro y ofrecen protección frente a posibles efectos excitotóxicos que pueden dar como resultado un daño cerebral. Muchos anticonvulsivos bloquean los canales de sodio, los canales de calcio, los receptores de AMPA o receptores de NMDA.

Los agentes antiepilépticos incluyen, pero no se limitan a, benzodiacepinas, barbitúricos, valproatos, agentes GABA, iminoestilbenos, hidantoínas, antagonistas de NMDA, bloqueadores de los canales de sodio y succinamidas.

35 Las benzodiacepinas incluyen, por ejemplo, alprazolam, clordiazepóxido, clorazepato, clobazam, clonazepam, diazepam, halazepam, lorazepam, oxazepam y prazepam.

Los barbitúricos usados como antiepilépticos incluyen, por ejemplo, amobarbital, mepobarbital, metilfenobarbital, pentobarbital, fenobarbital y primidona.

40 Los valproatos usados como antiepilépticos incluyen, por ejemplo, valporato, ácido valproico, valproato semisódico y valpromida.

Los agentes GABA antiepilépticos incluyen, por ejemplo, gabapentina, losigamona, pregabalina, retigabina, rufinamida y vigabatrina.

La carbamacepina y oxcarbacepina son ejemplos de iminoestilbenos.

Las hidantoínas incluyen, por ejemplo, fosfenitoína sódica, mefenitoína y fenitoína sódica.

45 Antagonistas de NMDA tales como harkoseramida se usan como antiepilépticos.

Los bloqueadores de los canales de sodio tales como lamotrigina también son agentes antiepilépticos.

Las succinimidas incluyen, por ejemplo, etosuximida, metsuximida y fensuximida.

Otros fármacos antiepilépticos incluyen acetazolamida, briveracetam, derivado de cannabis CBD, edisilato de clomtiazo, divalproex sódico, felbamato, isovaleramida, lacosamida, lamotrigina, levetiracetam, metanosulfonamida,

talampanel, tiagabina, topiramato, safinamida, seletracetam, soretolida, estiripentol, sultiam, valroceida y zonisamida.

d. Antieméticos

5 Los antieméticos son fármacos eficaces contra los vómitos y las náuseas. Los antieméticos se usan normalmente para tratar la cinetosis y los efectos secundarios de los analgésicos opioides, los anestésicos generales y la quimioterapia.

10 Las clasificaciones de antieméticos incluyen, por ejemplo, antagonistas del receptor de 5-hidroxitriptamina 3 (5-HT₃), antagonistas del receptor de histamina, antagonistas del receptor de dopamina, antagonistas del receptor muscarínico, antagonistas del receptor de acetilcolina, antagonistas del receptor cannabinoide, inhibidores del sistema límbico, antagonistas del receptor de NK-1, corticosteroides, antagonistas de taquicardina, agonistas de GABA, cannabinoides, benzodiacepinas, anticolinérgicos e inhibidores de la sustancia P.

Los antagonistas del receptor de 5-HT₃ incluyen, por ejemplo, alosetrón, azasetrón, bemesetrón, cilansetrón, dolasetrón, granisetrón, itasetrón, ondansetrón, palonosetrón, propisetrón, ramosetrón, renzaprida, tropisetrón y zatosetrón.

15 Los antieméticos corticosteroides incluyen dexametasona y metilprednisolona.

Los inhibidores del sistema límbico incluyen alprazolam, lorazepam y midazolam.

Los antagonistas del receptor de dopamina incluyen difenhidramina, dronabinol, haloperidol, metoclopramida y proclorperazina.

20 Los antagonistas del receptor de NK-1 usados como antiemético incluyen aprepitant y morfina, y un ejemplo de un agonista de GABA es propofol.

La trietilperazina es un tipo de antagonista del receptor de histamina.

Los antagonistas del receptor cannabinoide usados como antieméticos incluyen dronabinol, nabilona, rimonabant, taranabant y tetrahidrocannabinol.

25 Los ejemplos de otros antieméticos incluyen acetil-leucina, monoetanolamina, alizaprida, benzoquinamida, bietanautina, bromoprida, buclizina, clorpromazina, cleboprida, ciclizina, dimenhidrinato, difenidol, domperidona, dransetrón, meclizina, metaltal, metopimazina, oxipendilo, pipamazina, piprinhidrinato, escopolamina, tioproperazina y trometobenzamida.

e. Antagonistas de receptores cannabinoides

30 Los receptores cannabinoides son una clase de la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G. Sus ligandos se conocen como cannabinoides. Actualmente existen dos subtipos, CB₁ que se expresa principalmente en el cerebro, pero también en los pulmones, hígado y riñón, y CB₂, que se expresa principalmente en el sistema inmunitario y en células hematopoyéticas. También se cree que existen receptores cannabinoides novedosos, es decir, ni CB₁ ni CB₂, que se expresan en células endoteliales y en el SNC. Los antagonistas de receptores cannabinoides pueden ser selectivos para el receptor o bien CB₁ o bien CB₂. La presente invención contempla el uso de cualquier de los o ambos antagonistas del receptor CB₁ y CB₂.

40 Los agentes adictivos (por ejemplo, alcohol, opiáceos, delta(9)-tetrahidrocannabinol (delta(9)-THC) y psicoestimulantes, incluyendo la nicotina) provocan una variedad de trastornos de recaída crónicos interaccionando con rutas neurales endógenas en el cerebro. En particular, comparten la propiedad común de activar los sistemas de recompensa cerebrales de dopamina mesolímbicos, y prácticamente todas las drogas de las que se abusa elevan los niveles de dopamina en el núcleo accumbens. Los receptores cannabinoides-1 (CB₁) se expresan en este circuito de recompensa del cerebro y modulan los efectos de la liberación de dopamina de delta(9)-THC y nicotina.

45 Rimonabant (SR141716), un antagonista del receptor CB₁, bloquea los efectos de tanto liberación de dopamina como los diferenciadores y de recompensa de delta(9)-THC en animales. Aunque el bloqueo del receptor CB₁ generalmente es ineficaz en la reducción de la autoadministración de cocaína en roedores y primates, reduce el restablecimiento del comportamiento de búsqueda de cocaína extinguido producido por estímulos condicionados asociados con la cocaína e inyecciones de sensibilización a cocaína. De manera similar, el bloqueo del receptor CB₁ es eficaz en la reducción del comportamiento de búsqueda de nicotina inducido por la reexposición a estímulos asociados con la nicotina. En ensayos clínicos en seres humanos, se mostró que rimonabant bloqueaba los efectos subjetivos de delta(9)-THC en seres humanos y prevenía la recaída en el tabaquismo en ex-fumadores.

50 Otros ejemplos de antagonistas del receptor cannabinoide CB₁ incluyen SR141716A (rimonabant), rosanabant, taranabant y CP-945598.

La recaída en el uso, o el restablecimiento, se refiere al proceso de volver al uso de alcohol u otro agente adictivo

tras un periodo de abstinencia de, o uso limitado o reducido de, un agente adictivo. En determinadas situaciones, la recaída en el uso de un agente adictivo se refiere a la vuelta al uso de un agente adictivo por un sujeto que ha experimentado abstinencia física del agente adictivo. Normalmente, el sujeto habrá experimentado abstinencia física del agente adictivo durante un periodo sin uso o de uso limitado o reducido del agente adictivo. En una realización, la recaída en el uso se produce en un sujeto que se ha sometido previamente a un régimen de tratamiento con una cantidad eficaz de un agente antiadicción para reducir o eliminar el uso de un agente adictivo, pero que ya no usa una cantidad eficaz de un agente antiadicción. Los agentes antiadicción incluyen cualquier de y todos los agentes usados para tratar o prevenir una adicción o síntomas de abstinencia.

El alcoholismo, como muchas otras adicciones, es un trastorno de recaída crónico caracterizado por tasas de recurrencia altas. Dos factores principales que desencadenan el comportamiento de recaída son el estrés y experiencias de condicionamiento ambientales (O'Brien *et al.* 1997; Monti *et al.* 1993; Shaham *et al.* 1995), que probablemente facilitan la recaída en la búsqueda de alcohol por medio de distintos mecanismos cerebrales. Por ejemplo, la activación del sistema de dopamina mesolímbico por medio de un mecanismo dependiente de opioides (o por medio de alteraciones directas en la transmisión de dopamina en el núcleo basolateral amigdalino) parece mediar en el efecto de señales de aviso asociadas con drogas (Liu y Wiess 2002; Ciccocioppo *et al.* 2001), y es probable que CRF extrahipotalámico dentro del núcleo basal de la estría terminal y el núcleo del rafe medio medien en el restablecimiento inducido por estrés del comportamiento de búsqueda de drogas (Erb *et al.* 1998; Shaham *et al.* 1995; Lê *et al.* 2000).

Diversos conjuntos de pruebas sugieren que los mecanismos moleculares que subyacen a la recaída en la adicción son comunes para diferentes clases de drogas de abuso. El ansia por las drogas y la pérdida de control sobre el comportamiento de ingesta de drogas asociadas con la recaída están bajo la influencia directa de estrés y estímulos de condicionamiento ambientales; los dos factores principales que afectan a la reanudación del uso de drogas.

La toxicomanía crónica produce cambios neuroadaptativos no solo dentro de los sistemas implicados en los efectos de refuerzo agudos de etanol, sino también dentro de otros sistemas motivacionales, notablemente mecanismos reguladores del estrés cerebrales. El estrés tiene un papel establecido en la iniciación y el mantenimiento de la toxicomanía y es un determinante principal de la recaída en individuos abstinentes (Brown *et al.* 1995; Marlatt *et al.* 1985; McKay *et al.* 1995; Wallace 1989). La importancia del estrés en el comportamiento de búsqueda de drogas también se ha documentado ampliamente en la bibliografía sobre animales. El estrés físico, social y emocional puede facilitar la adquisición o aumentar la autoadministración de cocaína (Goeders *et al.* 1995; Haney *et al.* 1995; Ramsey y VanRee 1993; Ahmed y Koob 1997), heroína, (Shaham y Stewart 2004) y etanol (Nash *et al.* 1998; Mollenauer *et al.* 1993; Blanchard *et al.* 1987; Higley *et al.* 1991)) en roedores y primates no humanos. También se ha mostrado que estímulos estresantes provocan el restablecimiento del comportamiento de búsqueda de cocaína, heroína y etanol en animales sin drogas tras la extinción (Ahmed y Koob 1997; Shaham 1993; Shaham y Stewart 1995; Le *et al.* 1998) y estos descubrimientos proporcionan apoyo experimental para un papel del estrés en la recaída.

Tradicionalmente, se ha pensado que el comportamiento de búsqueda de drogas relacionado con el estrés estaba mediado por medio de la activación del eje hipotálamo-hipófisis-glándula suprarrenal (HPA). Sin embargo, pruebas crecientes sugieren que el sistema de factor de liberación de corticotropina (CRF) no neuroendocrino en el núcleo central del núcleo amigdalino (CeA) puede desempeñar un papel independiente significativo en la regulación del comportamiento adictivo asociado con el estrés. El CeA es rico en cuerpos celulares, terminales y receptores inmunorreactivos con CRF, y este sistema de CRF neuronal se ha implicado en la mediación de respuestas de comportamiento y emocionales a estímulos estresantes (Dunn y Berridge 1990; Koob *et al.* 1994). Por ejemplo, el estrés por inmovilización eleva los niveles de CRF extracelulares en el CeA (Merlo Pich *et al.* 1995; Merali *et al.* 1998) mientras que la inyección intra-CeA del antagonista del receptor de CRF, CRF9-41 α -helicoidal, reduce los signos de comportamiento de ansiedad producidos por estresantes sociales y ambientales (Heinrichs *et al.* 1992; Swiergiel *et al.* 1993). Los síntomas de ansiedad y similares al estrés son centrales en los síndromes de abstinencia de drogas y alcohol. Considerando la prueba de un papel de las neuronas de CRF en el CeA en la regulación de los efectos emocionales y ansiogénicos de estrés, es probable que las consecuencias ansiogénicas y similares al estrés de la abstinencia de drogas de abuso también pueden estar mediadas por el sistema de CRF en el CeA.

Los cambios en la regulación de la actividad del sistema de CRF en el CeA pueden representar un mecanismo neuroadaptativo crítico responsable del desarrollo de dependencia y comportamiento de búsqueda de drogas compulsivo.

Los datos comentados anteriormente identifican cambios neuroadaptativos en circuitos cerebrales y perturbaciones en sistemas de estrés como un elemento importante en el comportamiento de búsqueda de drogas compulsivo y la dependencia. Otro factor importante en el potencial adictivo de larga duración de drogas de abuso es el condicionamiento de sus acciones de recompensa con estímulos ambientales específicos. Señales de aviso ambientales asociadas repetidamente con los efectos subjetivos de drogas de abuso, incluyendo alcohol, pueden evocar ansia por las drogas (Childress *et al.* 1988; Ehrman *et al.* 1992; Monti *et al.* 1993; Pomerleau *et al.* 1983; Stormark *et al.* 1995) o provocar respuestas de comportamiento automáticas (Miller y Gold 1994; Tiffany y Carter 1998) que en última instancia pueden conducir a la recaída. Por tanto, las respuestas aprendidas a los estímulos relacionados con drogas pueden contribuir de manera crítica a las altas tasas de recaída asociadas con la adicción a

cocaína y otras drogas.

Los datos de modelos de respuesta-restablecimiento operantes desarrollados para investigar el comportamiento de búsqueda de drogas asociado con la exposición a señales de aviso ambientales relacionadas con drogas en ratas indican que la disponibilidad de estímulos diferenciadores predictivos de cocaína (Weiss *et al.* 2000), etanol (Katner *et al.* 1999; Katner y Weiss 1999) o heroína (Gracy *et al.* 2000) provocaban de manera fiable una fuerte recuperación del comportamiento de búsqueda de drogas extinguido en ausencia de disponibilidad de drogas adicional. Los efectos de la reinstauración de la respuesta de estos estímulos muestran una resistencia notable a la extinción con exposición repetida y, en el caso de la cocaína, todavía pueden observarse tras varios meses de abstinencia forzada. Adicionalmente, en el caso del etanol, se encontró que el comportamiento de búsqueda de drogas inducido por estímulos diferenciadores predictivos de etanol estaba potenciado en ratas P con preferencia por el alcohol genéticamente en comparación con ratas Wistar sin preferencia por el alcohol (NP) y no seleccionadas (Weiss y Ciccocioppo 1999). Esta observación demuestra que la predisposición genética hacia un aumento de la ingesta de etanol también se refleja mediante una mayor susceptibilidad a los efectos motivadores de las señales de aviso de etanol (es decir, búsqueda de drogas potenciada en condiciones en las que el comportamiento no se refuerza directamente por el propio etanol). Conjuntamente, estos hallazgos apoyan fuertemente la hipótesis de que las respuestas aprendidas a los estímulos relacionados con drogas son un factor significativo en la vulnerabilidad de larga duración a la recaída.

En seres humanos, el riesgo de recaída implica múltiples determinantes que es probable que interaccionen. Por ejemplo, la exposición a señales de aviso de drogas puede aumentar la vulnerabilidad a la recaída conferida por síntomas de abstinencia prolongados que resultan de cambios neuroadaptativos en individuos dependientes. También pueden existir efectos interactivos que agravan el riesgo de recaída entre los efectos motivadores del estrés y señales de aviso relacionadas con drogas. Un trabajo reciente que aborda estos temas ha confirmado que interacciones aditivas entre los efectos de reinstauración de la respuesta de señales de aviso asociadas con etanol y el estrés pueden demostrarse de hecho, y que estos efectos están potenciados en ratas con una historia de dependencia de etanol (Liu y Weiss 2000).

En laboratorios experimentales, el restablecimiento de la búsqueda de drogas se obtiene con la administración del antagonista del receptor adrenérgico α -2 yohimbina, que, aumentando el intercambio y la liberación celular de noradrenalina en el cerebro, actúa como un estresante farmacológico. El restablecimiento inducido tanto por estrés de descarga en la pata como por yohimbina del comportamiento de búsqueda de drogas representan modelos experimentales válidos para investigar la recaída en el alcohol inducida por estrés (Lee *et al.* 2004; Lê *et al.* 2000).

Tal como se muestra en los ejemplos adjuntos, los agonistas de PPAR γ reducen significativamente la recaída en el uso inducida por estrés de un agente adictivo (ejemplo 5). Además, en pacientes humanos, la pioglitazona, una TZD, redujo de manera constante la puntuación de OCDS (ejemplo 22). La obsesión por el alcohol y el deseo de beber (que se miden mediante la escala OCDS) son los factores de pronóstico principales de la recaída. Estos datos indican, por tanto, que la pioglitazona tiene propiedades anti-recaída.

De manera interesante, los resultados mostraron que la pioglitazona no prevenía significativamente la recaída provocada por factores de condicionamiento. De manera interesante, diversos informes han mostrado que el antagonista del receptor de opiáceos no selectivo naltrexona reduce el deseo de beber provocado por la presentación de señales de aviso de alcohol en alcohólicos humanos (Monti *et al.* 1993) y disminuye la eficacia de una señal de aviso de alcohol para reinstaurar la respuesta extinguida en una palanca emparejada con drogas previamente en ratas (Katner *et al.* 1999). Sin embargo, la naltrexona no reduce el comportamiento de recaída provocado por el estrés ((Le A.D. Psychopharmacology 1998).

Estos hallazgos sugieren que el uso de una combinación de pioglitazona y naltrexona debe dar como resultado una acción sinérgica para reducir el comportamiento de recaída provocado tanto por estrés como por factores de condicionamiento.

La abstinencia, también conocida como síndrome de abandono/abstinencia, se refiere a los signos y síntomas característicos que aparecen cuando una droga-fármaco o agente adictivo que provoca dependencia física se usa regularmente durante mucho tiempo y entonces se interrumpe repentinamente o se disminuye su dosificación. Los síntomas de abstinencia pueden variar significativamente entre los individuos, pero existen algunas similitudes. La disfunción cerebral asociado con la abstinencia se caracteriza a menudo por depresión, ansiedad y ansia y, si es extrema, puede conducir al individuo a seguir tomando la droga-fármaco a pesar del daño significativo (la definición de adicción) o incluso al suicidio.

El aumento de la frecuencia cardíaca y/o la tensión arterial, la sudoración y los temblores son signos comunes de abstinencia. Síntomas más graves tales como confusión, crisis epilépticas y alucinaciones visuales indican una urgencia grave y la necesidad de cuidados médicos inmediatos. El alcohol, los opiáceos, las benzodiazepinas y los barbitúricos son las únicas sustancias de las que se abusa comúnmente que pueden ser mortales en la abstinencia. La abstinencia repentina de otras drogas-fármacos, tales como nicotina o psicoestimulantes, pueden exagerar efectos secundarios neurotóxicos de leves a moderados debido a hipertermia y generación de radicales libres, pero las complicaciones potencialmente mortales son muy raras.

Tal como se demuestra en los ejemplos adjuntos, los agonistas de PPAR γ reducen los síntomas de abstinencia (ejemplo 21). Además, disminuyeron la ansiedad y la depresión, que también están asociadas con la abstinencia (ejemplo 22). Estos datos demuestran que los agonistas de PPAR γ pueden usarse satisfactoriamente para reducir los síntomas de abstinencia, incluyendo depresión y ansiedad, facilitando así la abstinencia para los sujetos y alentándolos a completar el proceso de abstinencia.

Composiciones farmacéuticas, vías de administración, formas farmacéuticas unitarias, kits.

La presente invención ha establecido la eficacia de usar combinaciones de un agonista de PPAR γ , por ejemplo una TZD tal como pioglitazona, en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, tales como antagonistas de opioides, antidepresivos, antiepilépticos, antieméticos y antagonistas del receptor CB1. Por tanto, la presente invención incluye además composiciones que comprenden uno o más agonistas de PPAR γ y uno o más agentes terapéuticos adicionales, tales como antagonistas de opioides, antagonistas/agonista parcial opioides mixtos, antidepresivos, antiepilépticos, antiemético, antagonistas del receptor CRF1 y antagonistas del receptor CB1.

En realizaciones particulares, la composición comprende un agonista de PPAR γ y un agente terapéutico adicional. En una realización particular, una composición comprende una TZD y un agente terapéutico adicional. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un antagonista de opioides o un antagonista/agonista parcial opioide mixto. En una realización, el antagonista de opioides es naltrexona. En otra realización, el agonista parcial/antagonista de opioides mixto es buprenorfina. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un antidepresivo. En una realización particular, el antidepresivo es bupropión. En determinadas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un antiepiléptico, un antiemético, o un antagonista de opioides o una agonista parcial/antagonista de opioides mixto.

En diversas realizaciones, la composición comprende: pioglitazona y naltrexona; ciglitazona y naltrexona; rosiglitazona y naltrexona; englitazona y naltrexona; rivoglitazona y naltrexona; darglidazona y naltrexona; pioglitazona y fluoxetina; ciglitazona y fluoxetina; rosiglitazona y fluoxetina; englitazona y fluoxetina; rivoglitazona y fluoxetina; darglidazona y fluoxetina; pioglitazona y mirtazapina; ciglitazona y mirtazapina; rosiglitazona y mirtazapina; englitazona y mirtazapina; rivoglitazona y mirtazapina; darglidazona y mirtazapina; pioglitazona y topiramato; ciglitazona y topiramato; rosiglitazona y topiramato; englitazona y topiramato; rivoglitazona y topiramato; darglidazona y topiramato; pioglitazona y levetiracetam; ciglitazona y levetiracetam; rosiglitazona y levetiracetam; englitazona y levetiracetam; rivoglitazona y levetiracetam; darglidazona y levetiracetam; pioglitazona y gabapentina; ciglitazona y gabapentina; rosiglitazona y gabapentina; englitazona y gabapentina; rivoglitazona y gabapentina; darglidazona y gabapentina; pioglitazona y ondansetrón; ciglitazona y ondansetrón; rosiglitazona y ondansetrón; englitazona y ondansetrón; rivoglitazona y ondansetrón; darglidazona y ondansetrón; pioglitazona y antalarmina; ciglitazona y antalarmina; rosiglitazona y antalarmina; englitazona y antalarmina; rivoglitazona y antalarmina; darglidazona y antalarmina.

Las composiciones de la presente invención pueden administrarse a un sujeto como una composición o formulación farmacéutica. En realizaciones particulares, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar en cualquier forma que permita que la composición se administre a un sujeto. Por ejemplo, la composición puede estar en forma de un sólido, líquido o gas (aerosol). Las vías de administración típicas incluyen, sin limitación, oral, tópica, parenteral, sublingual, rectal, vaginal e intranasal. El término parenteral, tal como se use en el presente documento incluye inyecciones subcutáneas, intravenosas, intramusculares, epidurales, inyección intraesternal o técnicas de infusión.

Las composiciones farmacéuticas usadas según la presente invención comprenden un agonista de PPAR γ , otro agente terapéutico y un diluyente, excipiente o portador farmacéuticamente aceptable. En la técnica farmacéutica se conocen bien "portadores farmacéuticamente aceptables" para su uso terapéutico, y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A.R. Gennaro edit. 1985). Por ejemplo, puede usarse solución salina estéril y solución salina tamponada con fosfato a pH fisiológico. Pueden proporcionarse conservantes, estabilizadores, colorantes e incluso agentes saborizantes en la composición farmacéutica. Por ejemplo, pueden añadirse benzoato de sodio, ácido sórbico y ésteres de ácido *p*-hidroxibenzoico como conservantes. Id. en 1449. Además, pueden usarse antioxidantes y agentes de suspensión. Id.

Las composiciones farmacéuticas se formulan generalmente de modo que permitan que los principios activos contenidos en las mismas estén biodisponibles tras la administración de la composición a un sujeto. Las composiciones que se administrarán a un sujeto pueden tomar la forma de una o más unidades de dosificación, en las que por ejemplo, un comprimido, una cápsula o un cachet puede ser una unidad de dosificación individual, y un envase que comprende una combinación de agentes en forma de aerosol puede contener una pluralidad de unidades de dosificación.

En realizaciones particulares, la composición que comprende un agonista de PPAR γ y otro agente terapéutico se administra en una o más dosis de una formulación de comprimido, normalmente para administración oral. La formulación de comprimido puede ser, por ejemplo, una formulación de liberación inmediata, una formulación de liberación controlada o una formulación de liberación prolongada. En una realización, una formulación de comprimido comprende una cantidad eficaz de una composición que comprende un agonista de PPAR γ y otro

agente terapéutico. En realizaciones particulares, un comprimido comprende aproximadamente 1, 5, 10, 20, 30, 50, 100, 150, 200, 250 ó 300 mg de un agonista de PPAR γ , tal como pioglitazona, y aproximadamente 1, 5, 10, 20, 30, 50, 100, 150, 200, 250 ó 300 mg de otro agente terapéutico.

La presente invención incluye además formas farmacéuticas unitarias de composiciones farmacéuticas que comprenden un agonista de PPAR γ y otro agente terapéutico. Cada forma farmacéutica unitaria comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica, cuando se usa en la cantidad recomendada. Por ejemplo, una forma farmacéutica unitaria puede incluir una cantidad terapéuticamente eficaz en un único comprimido, o una forma farmacéutica unitaria puede incluir una cantidad terapéuticamente eficaz en dos o más comprimidos, de manera que la cantidad prescrita comprende una cantidad terapéuticamente eficaz.

Varios agonistas de PPAR γ y otros agentes terapéuticos descritos en el presente documento están aprobados para su uso en seres humanos a dosificaciones particulares. La presente invención contempla el uso de estos agentes a sus dosificaciones aprobadas o a otras dosificaciones eficaces. Puesto que se ha demostrado que la combinación de un agonista de PPAR γ y otro agente terapéutico tiene eficacia sinérgica, se entiende que las cantidades eficaces de uno o ambos agentes pueden reducirse cuando se proporcionan juntos, en comparación con la cantidad eficaz de cada uno cuando se proporcionan solos. En realizaciones particulares, se proporciona un agonista de PPAR γ a un sujeto en una cantidad en el intervalo de 0,1-1000 mg/día, 1-1000 mg/día, 10-100 mg/día o 25-50 mg/día. En una realización, se proporciona pioglitazona a un paciente a aproximadamente 30 mg/día.

La tabla 1 enumera agentes representativos usados en la presente invención y proporciona las dosificaciones diarias a las que estos agentes se administran de manera conveniente a adultos para otras indicaciones, dosificaciones que se cree que son útiles para la administración en el tratamiento o la prevención de la adicción y recaída en el uso o práctica. Las dosificaciones enumeradas son orales a menos que se indique lo contrario. Se cree que las dosificaciones de estos agentes pueden reducirse cuando se administran en combinaciones de un agonista de PPAR γ y un agente terapéutico adicional. Estas reducciones pueden ser de hasta el 10% de las dosificaciones convencionales, o de hasta el 20% de las dosificaciones convencionales, o de hasta un tercio de las dosificaciones convencionales, o de hasta la mitad de las dosificaciones convencionales o de hasta dos tercios de las dosificaciones convencionales. Por ejemplo, la pioglitazona se dosifica lo más comúnmente a 30 mg al día para el tratamiento de diabetes, dosificación que se encontró que era eficaz para el tratamiento de alcoholismo (ejemplo 22). Cuando se combina con naltrexona 50 mg/día para el tratamiento de una adicción, se cree que puede observarse efecto terapéutico a 10-15 mg al día de pioglitazona.

Tabla 1

Agente terapéutico	Dosificación a modo de ejemplo como agente individual
pioglitazona	15-45 mg
rosiglitazona	2-8 mg
trogliatazona	200-600 mg
rimonabant	10-20 mg
buprenorfina	0,3 mg (i.v. o i.m.) 12-16 mg (sublingual)
naltrexona	25-50 mg
fluoxetina	20-80 mg
mirtazapina	15-45 mg
topiramato	400 mg
levetiracetam	1.000-6.000 mg
gabapentina	900-1.800 mg
ondansetrón	8-24 mg
bupropión	200-400 mg

En una realización particular, una forma farmacéutica unitaria de una composición farmacéutica comprende aproximadamente 30 mg de pioglitazona y aproximadamente 50 mg de naltrexona. Esta forma farmacéutica unitaria puede consistir en uno o más comprimidos.

Determinadas combinaciones de agonistas de PPAR γ y otros agentes terapéuticos pueden no ser fácilmente adaptables para la formulación conjunta. Por ejemplo, uno de los agentes puede ser más adecuado para administración intravenosa, mientras que otro de los agentes puede ser más adecuado para administración oral. O, la semivida en suero de los dos agentes puede ser tal que uno debe administrarse más frecuentemente que el otro. Por consiguiente, la presente invención contempla kits que comprenden una o más formas farmacéuticas unitarias de un agonista de PPAR γ y una o más formas farmacéuticas unitarias de otro agente terapéutico, de manera que las dos formas farmacéuticas unitarias puedan proporcionarse a un sujeto de manera terapéuticamente eficaz. En realizaciones particulares, un kit comprende formas farmacéuticas unitarias de pioglitazona y naltrexona; ciglitazona y naltrexona; rosiglitazona y naltrexona; englitazona y naltrexona; rivoglitazona y naltrexona; darglidazona y naltrexona; pioglitazona y fluoxetina; ciglitazona y fluoxetina; rosiglitazona y fluoxetina; englitazona y fluoxetina; rivoglitazona y fluoxetina; darglidazona y fluoxetina; pioglitazona y mirtazapina; ciglitazona y mirtazapina;

rosiglitazona y mirtazapina; englitazona y mirtazapina; rivoglitazona y mirtazapina; darglidazona y mirtazapina; pioglitazona y topiramato; ciglitazona y topiramato; rosiglitazona y topiramato; englitazona y topiramato; rivoglitazona y topiramato; darglidazona y topiramato; pioglitazona y levetiracetam; ciglitazona y levetiracetam; rosiglitazona y levetiracetam; englitazona y levetiracetam; rivoglitazona y levetiracetam; darglidazona y levetiracetam; pioglitazona y gabapentina; ciglitazona y gabapentina; rosiglitazona y gabapentina; englitazona y gabapentina; rivoglitazona y gabapentina; darglidazona y gabapentina; pioglitazona y ondansetrón; ciglitazona y ondansetrón; rosiglitazona y ondansetrón; englitazona y ondansetrón; rivoglitazona y ondansetrón; darglidazona y ondansetrón; pioglitazona y antalarmina; ciglitazona y antalarmina; rosiglitazona y antalarmina; englitazona y antalarmina; rivoglitazona y antalarmina; darglidazona y antalarmina.

- 10 En una realización, la presente invención incluye un kit que comprende formas farmacéuticas unitarias de un agonista de PPAR γ y formas farmacéuticas unitarias de nicotina. Las formas farmacéuticas unitarias de nicotina pueden estar presentes, por ejemplo, en forma de un parche cutáneo, una goma o una pastilla para chupar.

Ejemplos

- 15 Los siguientes ejemplos describen varios estudios realizados para demostrar el efecto de diversos agonistas de PPAR γ para tratar la adicción y prevenir la recaída para una variedad de agentes adictivos. Determinados ejemplos describen estudios que demuestran el efecto de agonistas de PPAR γ usados en combinación con otros agentes terapéuticos para tratar la adicción al alcohol. Se realizaron estos estudios usando modelos de animales de laboratorio bien validados para alcoholismo y abuso de cocaína.

- 20 La mayoría de los estudios descritos en los ejemplos 1-21 se realizaron usando ratas que prefieren alcohol seleccionadas genéticamente, macho, denominadas ratas con preferencia por el alcohol marquesanas sardas (msP). Se criaron estos animales en el Departamento de Ciencias Farmacológicas y Medicina Experimental de la Universidad de Camerino (Marche, Italia) durante 60 generaciones a partir de ratas con preferencia por el alcohol sardas de la 13^a generación, proporcionadas por el Departamento de Neurociencias de la Universidad de Cagliari, Italia. En el momento de los experimentos, su peso corporal oscilaba entre 300 y 350 g. Se alojaron en una sala con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas inverso (las luces se encienden a las 9:00 a.m.), una temperatura de 20-22°C y una humedad del 45-55%. Se les ofreció a las ratas libre acceso a agua corriente y gránulos de alimento (4RF18, Mucedola, Settimo Milanese, Italia). En los experimentos de autoadministración operantes, se usaron ratas Wistar heterogéneas macho (Charles River, Alemania).

- 30 Se realizaron los experimentos a las 9:30 a.m., que es el comienzo de la fase de oscuridad del ciclo de luz/oscuridad. Se usaron grupos separados de animales en cada experimento. Se realizaron todos los procedimientos en observancia de la Directiva del Consejo de la Comunidad Europea para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (*"European Community Council Directive for Care and Use of Laboratory Animals"*) y la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de los Institutos Nacionales de Salud (*"National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals"*).

- 35 Se adquirieron pioglitazona, rosiglitazona, fluoxetina, mirtazapina, topiramato, gabapentina, ondansetrón y levetiracetam de fuentes comerciales. Se adquirieron yohimbina y ciglitazona SIGMA SRL (Mi, Italia). Se obtuvieron naltrexona y GW9662 de TOCRIS (R.U.).

- 40 Antes de la administración, se suspendió la pioglitazona en agua destilada, y se mantuvo la suspensión resultante bajo agitación constante hasta su administración. Se administró el fármaco por vía oral (v.o.) mediante un procedimiento de sonda nasogástrica en un volumen de 1,0 ml/kg. Se disolvió la yohimbina en agua destilada y se administró por vía intraperitoneal (i.p.) en un volumen de 1,0 ml/kg. Se disolvió el clorhidrato de naltrexona en agua destilada y se administró por vía i.p. en un volumen de 1,0 ml/kg. Se suspendieron rosiglitazona, fluoxetina, mirtazapina, topiramato, gabapentina y levetiracetam en agua destilada, y se mantuvieron las suspensiones resultantes bajo agitación constante hasta su administración. Se administraron estos fármacos por vía oral (v.o.) mediante un procedimiento de sonda nasogástrica en un volumen de 1,0 ml/kg. Se disolvió la yohimbina en agua destilada y se administró por vía intraperitoneal (IP) en un volumen de 1,0 ml/kg. Se preparó GW9662 en DMSO al 5% y TWIN 80 al 5% y se administró o bien por vía i.p. (1 ml/kg) o bien por vía intacerebroventricular (i.c.v., 1 μ l/rata). Se preparó la antalarmina en TWIN 80 al 10% y se administró por vía i.p. (1 ml/kg). Se preparó el ondansetrón en disolución acuosa y se administró por vía i.p. (1 ml/kg).

- 50 Al comienzo de los experimentos, se les permitió a las ratas msP elección libre entre agua y alcohol al 10% (v/v) 24 h/día durante al menos 15 días. Se ofrecieron los fluidos en tubos de bebida graduados equipados con surtidores de bebida metálicos. Se cambió diariamente la posición (a la izquierda o la derecha) de los tubos de bebida de alcohol y agua para evitar el desarrollo de preferencia de lado. El agua y el alimento estaban disponibles a voluntad, mientras que el acceso al alcohol se restringió a 2 horas/día (ejemplos 1 y 2) o estaba disponible 24 horas/día (ejemplos 3 y 4). Se midieron las ingestas de alcohol, agua y alimento.

Se realizaron el entrenamiento y las pruebas en cámaras operantes convencionales (Med Associate) ubicadas en cubículos con ambiente ventilado, con atenuación de sonidos. Cada cámara estaba equipada con un depósito de bebida (capacidad en volumen: 0,30 ml) colocado 4 cm por encima del suelo de rejilla en el centro del panel frontal

de la cámara, y dos palancas retráctiles ubicadas 3 cm a la derecha o a la izquierda del receptáculo de bebida. Se presentaron estímulos auditivos y visuales mediante un altavoz y una luz ubicados en el panel frontal. Un microordenador controlaba el suministro de fluidos, la presentación de estímulos auditivos y visuales y el registro de los datos de comportamiento.

5 Se entrenaron a las ratas para que se autoadministrasen alcohol al 10% (v/v) en sesiones diarias de 30 min. en un programa de razón fijada 1 de refuerzo, en el que cada respuesta daba como resultado el suministro de 0,1 ml de fluido tal como se describió anteriormente (Economidou *et al.* 2006). Durante los primeros 3 días, se permitió a las ratas que presionaran la palanca para obtener una disolución de sacarina al 0,2% (p/v), y entonces se entrenaron para que se autoadministrasen alcohol al 10% reduciendo poco a poco la sacarina (Weiss *et al.* 1993). Durante los
10 primeros 6 días de entrenamiento, se permitió a las ratas que presionaran la palanca para obtener una disolución de alcohol al 5,0% (v/v) que contenía sacarina al 0,2% (p/v). Empezando en el día 7, se aumentó gradualmente la concentración de alcohol desde el 5,0% hasta el 8,0% y finalmente hasta el 10,0% (p/v), mientras que la concentración de sacarina se disminuyó correspondientemente hasta el 0%.

15 Los procedimientos experimentales de restablecimiento inducido por señales de aviso del comportamiento de búsqueda de alcohol consistía en tres fases: (1) fase de condicionamiento; (2) fase de extinción; y (3) fase de restablecimiento, tal como se describe a continuación.

Para la fase de condicionamiento, al final del procedimiento de reducción gradual (véase anteriormente), en sesiones diarias de 30 min., se entrenaron los animales para que diferenciases entre alcohol al 10% y agua. Comenzando con el entrenamiento de autoadministración a la concentración de alcohol del 10%, se presentaron
20 estímulos diferenciadores (SD) predictivos de disponibilidad de alcohol frente a agua durante las sesiones de autoadministración de alcohol y agua, respectivamente. El estímulo diferenciador para el alcohol consistía en el olor de un extracto de naranja (S^+) mientras que la disponibilidad de agua (es decir, sin recompensa) se señalizó mediante un extracto de anís (S^-). Se generaron los estímulos olfativos depositando de seis a ocho gotas del extracto respectivo en el lecho de la cámara operante. Además, se emparejó cada pulsación de la palanca que daba como resultado el suministro de alcohol con la iluminación del foco de la cámara durante 5 s (CS^+). La señal de
25 aviso correspondiente durante las sesiones de agua era un tono de 5 segundos (70 dB) (CS^-). Simultáneamente con la presentación de estos estímulos, estaba vigente un periodo de tiempo de descanso de 5 s, durante el que se registraron las respuestas pero no se reforzaron. Se introdujeron los estímulos olfativos que servían como S^+ o S^- para la disponibilidad de alcohol un minuto antes de la extensión de las palancas y permanecieron presentes a lo largo de las sesiones de 30 min. Se cambió el lecho de la cámara y se limpiaron las bandejas de lecho entre
30 sesiones. Durante los primeros tres días de la fase de condicionamiento, se les administraron a las ratas sesiones de alcohol sólo. Posteriormente, se realizaron sesiones de alcohol y agua en orden aleatorio a lo largo de los días de entrenamiento, con la restricción de que todas las ratas recibieran un total de 10 sesiones de alcohol y 10 de agua.

35 Para la fase de extinción, después del último día de condicionamiento, se sometieron las ratas a sesiones de extinción de 30 min. durante 15 días consecutivos. Durante esta fase, las sesiones comenzaban con la extensión de las palancas sin presentación de los SD. Las respuestas en la palanca activaban el mecanismo de suministro pero no daban como resultado el suministro de líquidos o la presentación de las señales de aviso supeditadas a respuestas (foco o tono).

40 La fase de prueba de restablecimiento comenzó el día después de la última sesión de extinción. Esta prueba duró 30 min. en condiciones idénticas a aquéllas durante la fase de condicionamiento, excepto que no estaban disponibles alcohol ni agua. Se iniciaron las sesiones con la extensión de ambas palancas y la presentación de los estímulos apareados de o bien alcohol S^+ o bien agua S^- . Los respectivos SD permanecieron presentes durante toda la sesión y se siguieron las respuestas en la palanca previamente activa mediante la activación del mecanismo de suministro y una presentación de 5 s de CS^+ en la condición S^+ o el CS^- (tono) en la condición S^- . Se sometieron a prueba las
45 ratas en la condición S^-/CS^- en el día 1 y en la condición S^+/CS^+ en el día 2.

El restablecimiento inducido por estrés de procedimientos experimentales de búsqueda de alcohol consistía en tres fases: (1) fase de entrenamiento; (2) fase de extinción; y (3) fase de restablecimiento, tal como se describe a continuación.

50 Para la fase de entrenamiento, tras la finalización del procedimiento de reducción gradual, se entrenaron ratas msP para que se autoadministrasen alcohol al 10% (v/v) durante 15 días en sesiones diarias de 30 min. bajo un programa FR1 de refuerzo. Durante la infusión, se encendió un foco de estímulo durante 5 s (tiempo de descanso; TO). Se contaron las pulsaciones de la palanca durante el periodo de TO, pero no condujeron a infusiones adicionales.

Para la fase de extinción, después de la última sesión de autoadministración de alcohol, se sometieron los animales a sesiones de extinción de 30 min. durante 15 días consecutivos. Las respuestas en la palanca activaban el
55 mecanismo de suministro pero no daban como resultado el suministro de alcohol.

Para la fase de restablecimiento, el día después de la sesión de extinción, se les inyectó a las ratas yohimbina (1,25 mg/kg) y tras 30 minutos se colocaron en la cámara operante y se monitorizaron las pulsaciones de la palanca durante 30 min. Se sabe que la administración del antagonista del receptor adrenérgico α -2 yohimbina, que aumenta

la liberación e intercambio celular de noradrenalina en el cerebro, actúa como estresante farmacológico y facilita la recaída en la búsqueda de alcohol (Le *et al.* 2005).

Se usaron datos de análisis de la varianza (ANOVA) para evaluar los resultados. Cuando era apropiado, al ANOVA le siguieron pruebas a posteriori. En particular, se evaluó el efecto de la administración aguda de pioglitazona, naltrexona o su combinación sobre la ingesta de alcohol (ejemplos 1 y 2) por medio de un ANOVA de dos vías con dos factores dentro de los sujetos (tiempo y tratamiento). Se evaluó el efecto de la administración crónica de pioglitazona, naltrexona o su combinación sobre la ingesta de alcohol (ejemplos 3 y 4) por medio de un ANOVA de tres vías con un factor entre los sujetos (tratamiento) y dos factores entre los sujetos (días y horas). Se evaluó el efecto de la pioglitazona sobre el restablecimiento de la búsqueda de alcohol (ejemplos 5 y 6) por medio de un ANOVA de una vía con medidas repetidas usando la dosis de fármaco como factor dentro de los sujetos. Se estudió la autoadministración de alcohol (ejemplo 7) en ratas Wistar mediante ANOVA de una vía con un factor dentro de los sujetos (dosis). Se llevó a cabo el análisis a posteriori usando la prueba de Newman-Keuls.

EJEMPLO 1

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE PIOGLITAZONA SOBRE LA INGESTA VOLUNTARIA DE ETANOL

Se demostró el efecto de la administración aguda de pioglitazona sobre la ingesta voluntaria de etanol entrenando en primer lugar a las ratas para que bebiesen alcohol al 10% (p/v) durante 24 horas al día (libre elección entre agua y etanol). Tras la adquisición de un nivel inicial estable de ingesta de etanol (6-8 g/kg de peso corporal; diariamente), se restringió el acceso al alcohol a 2 horas al día al comienzo de la fase de oscuridad. Estaban libremente disponibles agua y alimento.

Una vez que se alcanzó un nivel inicial estable de ingesta de etanol (también en condiciones de acceso limitado), se sometieron a prueba las ratas (n=7) para determinar el efecto de la pioglitazona (0,0, 10,0, 30,0 mg/kg) usando un diseño de cuadrados latinos compensado dentro de los sujetos en el que cada animal recibió todas las dosis de fármaco. Antes de empezar el tratamiento, se entrenaron las ratas para procedimientos de administración mediante sonda nasogástrica durante tres días, durante los cuales recibieron vehículo (agua destilada).

Se llevaron a cabo los tratamientos a intervalos de al menos tres días. Antes de cada experimento de ingesta de etanol, las ratas msP recibieron dos dosis de pioglitazona o vehículo a las 12 horas y a 1 hora antes del acceso al etanol. Se realizaron los experimentos de ingesta justo al comienzo del ciclo de oscuridad. Se monitorizaron las ingestas de alcohol, agua y alimento a los 30, 60, 90 y 120 minutos después de que estuviese disponible el etanol.

El análisis de la varianza reveló la ausencia de un efecto significativo del tratamiento sobre la ingesta de etanol [$F(2,6) = 1,22$ NS]. Sin embargo, se detectó una interacción del tiempo de tratamiento significativa [$F(6,18) = 6,87$ $p < 0,01$]. Tal como se muestra en la figura 1, las pruebas a posteriori revelaron que el tratamiento agudo con 30 mg/kg de pioglitazona redujo significativamente el consumo de etanol a las 2 horas pero no a los 30, 60 ó 90 minutos. Se demostró el efecto de selectividad por la falta de efectos significativos sobre el consumo de agua y alimento (datos no mostrados).

EJEMPLO 2

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE PIOGLITAZONA MÁS NALTREXONA SOBRE LA INGESTA VOLUNTARIA DE ETANOL

En este experimento, se examinó el efecto de la administración conjunta de pioglitazona y naltrexona sobre el consumo de alcohol para demostrar que los agonistas de PPAR γ podían potenciar la acción inhibitoria de antagonistas de opioides sobre la ingesta de etanol. Se mostró previamente que la dosis de naltrexona usada en estos estudios (0,25 mg/kg) era ligeramente eficaz en la reducción de la ingesta de etanol en ratas msP en las mismas condiciones experimentales (Ciccocioppo *et al.* 2007).

Se prepararon las ratas msP (n=8) para el estudio tal como se describe en el ejemplo 1. Tras la adquisición de un nivel inicial estable de ingesta de etanol, se restringió el acceso al alcohol a 2 horas al día al comienzo de la fase de oscuridad. Estaban libremente disponibles agua y alimento. Se sometieron a prueba los animales para determinar el efecto de la combinación entre pioglitazona (0,0, 10,0, 30,0 mg/kg) administrada a las 12 horas y a 1 hora antes del acceso a etanol y naltrexona (0,0 y 0,25 mg/kg) inyectada 2 minutos después de la segunda administración de pioglitazona. Se realizó el experimento usando un diseño de cuadrados latinos compensado dentro de los sujetos en el que cada animal recibió todas las dosis de fármaco.

Se realizaron estos experimentos al comienzo del ciclo de oscuridad y se monitorizaron las ingestas de alcohol y agua y alimento a los 30, 60, 90 y 120 minutos después de que estuviese disponible el etanol. Las ingestas de agua y alimento no se modificaron significativamente por los diversos tratamientos.

El análisis de la varianza reveló un efecto global significativo del tratamiento [$F(3,7) = 5,95$ $p < 0,01$] sobre la ingesta de alcohol. Tal como se muestra en la figura 2, las pruebas a posteriori demostraron que tanto naltrexona sola como naltrexona + pioglitazona redujeron significativamente la ingesta de etanol a los 30, 60 y 90 minutos. A los 120

minutos, los tratamientos con naltrexona sola y naltrexona + pioglitazona (10 mg/kg) no mostraron efectos significativos. En cambio, en comparación con los controles, la administración conjunta de naltrexona + pioglitazona (30 mg/kg) mostró un efecto significativo también a los 120 minutos ($p < 0,05$). Estos datos sugieren que la administración conjunta de los dos fármacos da como resultado una potenciación de sus efectos, o pudo dar como resultado un aumento de la duración del efecto de la naltrexona.

EJEMPLO 3

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN SUBCRÓNICA DE PIOGLITAZONA SOBRE LA INGESTA VOLUNTARIA DE ETANOL

Se demostró el efecto de la administración subcrónica de pioglitazona usando ratas entrenadas para beber alcohol al 10% (v/v) durante 24 horas al día (libre elección entre agua y etanol) hasta que se alcanzó un nivel inicial estable de ingesta de etanol. En ese momento, se sometieron a prueba ratas msP (N=9/grupo) para determinar el efecto de pioglitazona (0,0; 10,0 o 30,0 mg/kg) sobre la ingesta de etanol usando un diseño entre sujetos, en el que cada grupo de animales recibió una dosis de fármaco diferente. Antes de empezar el tratamiento, se entrenaron las ratas para procedimientos de administración mediante sonda nasogástrica durante tres días, durante los cuales recibieron vehículo (agua destilada).

Se continuó el tratamiento con pioglitazona durante siete días consecutivos, y se administró fármaco (o vehículo) dos veces al día a las 12 horas y a 1 hora antes del comienzo del periodo de oscuridad del ciclo de luz/oscuridad. Se monitorizaron las ingestas de alcohol, agua y alimento a las 2, 8 y 24 horas. Se monitorizaron las ingestas de fluidos y alimento durante tres días adicionales tras el final del periodo de tratamiento con fármaco.

La administración subcrónica (7 días) de pioglitazona redujo significativamente la ingesta voluntaria de etanol en ratas msP. El análisis de la varianza reveló un efecto global significativo del tratamiento [$F(2,33) = 9,51$; $p < 0,01$]. Tal como se muestra mediante pruebas a posteriori, el efecto aparecía desde el primer día de tratamiento a la dosis de fármaco más alta (figuras 3A, 3B y 3C). El efecto aumentó progresivamente durante el tratamiento, y empezando desde el 4º día de tratamiento, ambas dosis de fármaco (10 y 30 mg/kg) redujeron significativamente la ingesta de etanol.

Durante el tratamiento, el consumo de agua era bastante bajo y no se vio afectado significativamente por el tratamiento con fármaco. A la inversa, aumentó significativamente la ingesta de alimento (figura 3D) mediante la pioglitazona [$F(2,33) = 7,34$ $p < 0,01$]. El efecto era superior tras la administración de la dosis más baja (10 mg/kg) de fármaco. Al final del tratamiento, las ratas se recuperaron gradualmente del efecto del fármaco y la ingesta de etanol y regresaron progresivamente a los niveles antes del tratamiento (datos no mostrados).

EJEMPLO 4

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN SUBCRÓNICA DE PIOGLITAZONA MÁS NALTREXONA SOBRE LA INGESTA VOLUNTARIA DE ETANOL

Se estudió el efecto de la administración conjunta crónica de pioglitazona y naltrexona sobre el consumo de alcohol para evaluar si los agonistas de PPAR γ podían potenciar también la acción inhibitoria de antagonistas de opioides sobre la ingesta de etanol tras tratamientos repetidos. Como en los estudios descritos en el ejemplo 2, se usó una dosis de naltrexona (0,25 mg/kg) que se mostró previamente que era ligeramente eficaz en la reducción de la ingesta de etanol en ratas msP (Ciccocioppo *et al.* 2007). Según un diseño entre sujetos, se prepararon cuatro grupos de ratas msP (N=9/grupo) tal como se describe en el ejemplo 3. Específicamente, una vez que se alcanzó un nivel inicial estable de consumo de etanol diario, se sometieron a prueba diferentes grupos de ratas msP para determinar el efecto de pioglitazona en combinación con naltrexona. Durante siete días consecutivos, ratas msP recibieron tratamientos con pioglitazona (0,0, 10,0 o 30,0 mg/kg) a las 12 horas y a 1 hora antes del comienzo de la oscuridad del ciclo de luz/oscuridad, mientras que se inyectó naltrexona (0,0 y 0,25 mg/kg) 2 minutos después de la segunda administración de pioglitazona. Se monitorizaron las ingestas de alcohol, agua y alimento a las 2, 8 y 24 horas. Se monitorizaron las ingestas de fluidos y alimento durante tres días adicionales tras el final del periodo de tratamiento con fármaco.

La administración subcrónica (7 días) de naltrexona o naltrexona + pioglitazona redujo significativamente la ingesta voluntaria de etanol en ratas msP. El análisis de la varianza reveló un efecto global significativo del tratamiento [$F(3,32) = 9,59$ $p < 0,01$]. Tal como se muestra mediante pruebas a posteriori (figuras 4A, 4B y 4C), la naltrexona redujo significativamente la ingesta de etanol a las 2 horas ($p < 0,05$) pero no a las 8 y 24 horas. Además, el efecto decayó progresivamente durante los días de tratamiento. Los animales tratados con pioglitazona más naltrexona, en su lugar, redujeron significativamente su ingesta a todos los puntos de tiempo sometidos a prueba (2, 8 y 24 horas). Este efecto siguió siendo significativo durante todo el periodo de tratamiento. Estos resultados indican que la administración conjunta de pioglitazona y naltrexona puede dar como resultado efectos aditivos o sinérgicos.

Durante el tratamiento, el consumo de agua era bastante bajo y no se vio afectado significativamente por el tratamiento con fármaco. A la inversa, la ingesta de alimento aumentó significativamente mediante la pioglitazona [$F(3,32) = 5,34$ $p < 0,05$] (Figura 4D). El efecto era superior tras la administración de la dosis más baja (10 mg/kg) de

fármaco. Al final del tratamiento, las ratas se recuperaron gradualmente del efecto del fármaco y la ingesta de etanol regresó progresivamente a los niveles antes del tratamiento.

EJEMPLO 5

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE PIOGLITAZONA SOBRE EL RESTABLECIMIENTO INDUCIDO POR YOHIMBINA DE LA BÚSQUEDA DE ALCOHOL

Para demostrar el efecto de TZD sobre la recaída inducida por estrés en la búsqueda de alcohol, tras la adquisición de un nivel inicial estable de etanol al 10%, se sometieron ratas msP que responden ($n=10$) a un periodo de extinción (14 días) durante el que disminuyó progresivamente la respuesta al etanol. El día después de la última sesión de extinción, se sometieron las ratas a la prueba de restablecimiento. Se trataron los animales por vía oral con pioglitazona (0,0, 10,0 o 30,0 mg/kg) a las 12 horas y 1 hora antes de la prueba de restablecimiento. Se administró yohimbina (1,25 mg/kg, i.p.) 30 min. después de la última administración de pioglitazona.

Los animales recibieron todos los tratamientos con fármacos según un diseño de cuadrados latinos compensado. Se dejó un intervalo de 3 días entre las pruebas con fármacos, durante el cual los animales se sometieron a sesiones de extinción. En la prueba de restablecimiento, se registraron las respuestas de palanca activa e inactiva.

Se estableció un nivel inicial estable de respuesta para alcohol al 10% (v/v) en 15 días. Tras esta fase de autoadministración de alcohol, comenzó el entrenamiento de extinción. Durante la fase de extinción, la respuesta disminuyó progresivamente, y los valores del último día de extinción eran de $16,1 \pm 3,9$. La administración intraperitoneal del antagonista de receptores adrenérgicos alfa-2 yohimbina a la dosis de 1,25 mg/kg restableció significativamente la respuesta operante para alcohol $F(1,18) = 22,78$ $p < 0,01$. Tal como se muestra mediante el análisis de la varianza, el tratamiento previo con pioglitazona redujo significativamente el efecto de yohimbina [$F(2,9) = 12,21$, $p < 0,01$] (figura 5). El análisis a posteriori demostró una inhibición significativa del restablecimiento tras la administración de 30 mg/kg de pioglitazona ($p < 0,01$).

A la dosis más baja (10 mg/kg), la pioglitazona mostró una clara tendencia ($p=0,07$) a una inhibición del efecto de la yohimbina. El análisis de las respuestas de palanca inactiva reveló una ausencia de efectos del tratamiento en esta palanca. Esto indicó la selectividad del efecto de yohimbina para provocar el restablecimiento de la búsqueda de alcohol.

EJEMPLO 6

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE PIOGLITAZONA SOBRE EL RESTABLECIMIENTO INDUCIDO POR SEÑALES DE AVISO DE LA BÚSQUEDA DE ALCOHOL

En este experimento para demostrar el efecto de TZD sobre la recaída inducida por señales de aviso en el uso de alcohol, se entrenaron ratas msP ($n=14$) para que se autoadministrasen de manera operante etanol al 10% o agua en una sesión diaria de 30 min. en un programa FR-1 de refuerzo, en el que cada respuesta daba como resultado el suministro de 0,1 ml de fluido. La disponibilidad de etanol se señaló mediante el olor de un extracto de naranja, que servía como estímulo diferenciador. Además, se emparejó cada pulsación de la palanca que daba como resultado el suministro de etanol con la iluminación del foco durante 5 s (S^+/CS^+). Para el agua, se emplearon olor a anís y un ruido blanco de 5 s como señales de aviso diferenciadora y contigua (S^-/CS^-), respectivamente. Entonces se expusieron las ratas a sesiones de extinción diarias, durante las cuales las pulsaciones de la palanca disminuyeron progresivamente.

Se realizó la prueba de restablecimiento volviéndolas a exponer a los estímulos condicionados predictivos de disponibilidad de etanol o agua pero en ausencia de los fluidos. Se administró pioglitazona (0,0, 10,0, 30,0 mg/kg) 12 horas y 1 hora antes de la prueba de restablecimiento. Se realizaron los experimentos al comienzo de la fase de oscuridad del ciclo de luz/oscuridad. Los animales recibieron todos los tratamientos con fármaco según un diseño de cuadrados latinos compensado, y se dejó un intervalo de 3 días entre sesiones de restablecimiento. En la prueba de restablecimiento, se registraron las respuestas de palanca activa e inactiva.

A lo largo de toda la fase de condicionamiento, en la que los animales diferenciaban entre disponibilidad de alcohol o agua, las ratas respondieron a un nivel superior para el alcohol. El ANOVA mostró un efecto global significativo del condicionamiento [$F(1,28) = 41,89$, $p < 0,01$]. En el último día del periodo de diferenciación, los animales alcanzaron una respuesta de pulsación de la palanca de aproximadamente 120 en 30 min., mientras que la respuesta para el agua era de 20. Durante la extinción, la pulsación de la palanca disminuyó progresivamente hasta $5,87 \pm 1,07$ del último día de extinción. En la prueba de restablecimiento, el ANOVA mostró que las señales de aviso tenían un efecto global significativo sobre la búsqueda de alcohol [$F(1,28) = 30,4$, $p < 0,01$]. Un análisis más detallado mostró un restablecimiento robusto de la respuesta bajo el S^+/CS^+ ($p < 0,01$) pero no bajo el S^-/CS^- en comparación con el último día de extinción. Tal como se muestra en la figura 6, el restablecimiento condicionado de la búsqueda de alcohol no se modificó significativamente por el tratamiento previo con pioglitazona. Las respuestas en la palanca inactiva no se vieron influidas por el tratamiento (datos no mostrados).

EJEMPLO 7

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE CIGLITAZONA SOBRE LA AUTOADMINISTRACIÓN DE ETANOL EN RATAS WISTAR

Se realizó este estudio para demostrar que el efecto de la pioglitazona sobre la ingesta de etanol también se extiende a otros agonistas de PPAR γ . Se determinó el efecto de la ciglitazona, una TDZ estructuralmente diferente, sobre la autoadministración de etanol. Además, para verificar que el efecto observado con la pioglitazona se extiende a otros modelos de ingesta de alcohol experimentales, se realizaron estos estudios en ratas Wistar heterogéneas en condiciones de autoadministración operantes.

Se entrenaron ratas Wistar (n=7) para que se autoadministrasen etanol 30 min./día bajo un programa FR1 de refuerzo. Una vez que se alcanzó un nivel estable de respuesta, en un orden de compensación dentro de los sujetos (diseño de cuadrados latinos), se trataron las ratas con ciglitazona (0,0, 5,0 ó 20,0 mg/kg) administrada por vía i.p. 30 minutos antes del comienzo de la sesión de autoadministración. Se registró el número de respuestas en las palancas activa e inactiva. Se dejó un intervalo de 3 días entre sesiones de autoadministración.

Durante la autoadministración de etanol, las ratas Wistar adquirieron una respuesta al alcohol operante robusta. Al final de esta fase, las ratas pulsaban la palanca de alcohol un promedio de 30-35 veces en 30 min. En este momento, se trataron los animales con ciglitazona por vía i.p. Los resultados mostraron que el tratamiento con ciglitazona redujo significativamente la autoadministración de etanol [F (2,6) =5,87 p<0,05]. La respuesta en la palanca inactiva era muy baja y no se vio influida por el tratamiento con fármaco [F (2,6) =1,52 NS]. Las pruebas a posteriori mostraron que la autoadministración de etanol se redujo significativamente tras la administración de la dosis más alta de fármaco (figura 7).

EJEMPLO 8

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE ROSIGLITAZONA SOBRE LA INGESTA VOLUNTARIA DE ETANOL

Se demostró la capacidad de otra TZD, rosiglitazona, para reducir la ingesta de etanol. En primer lugar se entrenaron ratas msP para que bebiesen alcohol al 10% (p/v) durante 24 horas al día (libre elección entre agua y etanol). Una vez que se alcanzó un nivel inicial de ingestión de etanol estable (6-8 g/kg/día), se sometieron a prueba las ratas (n= 28) para determinar el efecto de la rosiglitazona (0,0, 7,5 y 15 mg/kg) usando un diseño entre sujetos. Antes de empezar el tratamiento, se entrenaron las ratas para procedimientos de administración mediante sonda nasogástrica durante tres días, durante los cuales recibieron vehículo (agua destilada). Se administró rosiglitazona dos veces, a las 12 horas y 1 hora antes del acceso a etanol. Los experimentos de ingestión empezaron al comienzo del ciclo de oscuridad. Se monitorizaron las ingestas de alcohol, agua y alimento a las 2, 8 y 24 horas después de que estuviese disponible el etanol.

El análisis de la varianza reveló un efecto significativo del tratamiento sobre la ingesta de etanol [F(2,18)= 0,4 p<0,05]. Tal como se muestra en la figura 8, las pruebas de Newman-Keuls a posteriori revelaron que el tratamiento agudo con 15 mg/kg de rosiglitazona redujo significativamente el consumo de etanol a las 2 horas (p<0,05). La inhibición de la ingesta de etanol era altamente significativa a las 24 horas (p<0,01). Se demostró el efecto de selectividad por la falta de efectos significativos sobre el consumo de agua y alimento (datos no mostrados).

EJEMPLO 9

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN I.P. DEL ANTAGONISTA DE PPAR γ GW9662 SOBRE LA REDUCCIÓN INDUCIDA POR PIOGLITAZONA DE LA INGESTA DE ETANOL

Este experimento demostró que el efecto de la pioglitazona sobre la ingesta de etanol estaba mediado por la activación de receptores de PPAR γ . Tras la adquisición de un nivel inicial estable de ingesta de etanol, se sometieron a prueba ratas msP (n=22) para determinar el efecto de GW9662 sobre la reducción inducida por pioglitazona de la ingesta de etanol. Se trataron las ratas con 30 mg/kg de pioglitazona administrada por vía oral 1 hora antes del acceso al etanol. Se administró GW9662 por vía i.p. 30 min. tras la administración de pioglitazona, y se esperaron 30 min. adicionales antes de proporcionar acceso a etanol a las ratas. Antes de empezar el tratamiento, se entrenaron las ratas para procedimientos de administración por vía i.p. y mediante sonda nasogástrica durante tres días. Se realizó el experimento en un diseño entre sujetos (n = 22). Otro grupo de ratas msP (n=22) recibió GW9662 solo para demostrar el efecto del bloqueo de PPAR γ sobre el consumo de etanol. Los experimentos de ingesta empezaron al comienzo del ciclo de oscuridad. Se monitorizaron las ingestas de alcohol, agua y alimento a las 2, 8 y 24 horas después de que estuviese disponible el etanol.

Tal como se muestra en la figura 9A, el análisis de la varianza reveló que el bloqueo de los receptores de PPAR γ por GW9662 no modificó la ingesta de etanol en ratas msP [F(2,18)= 0,40 NS]. Sin embargo, el análisis de la varianza reveló un efecto significativo del tratamiento sobre la ingesta de etanol F(3,24) = 18,64 p<0,01] tras la administración de pioglitazona (figura 9B). Las pruebas de Newman-Keuls revelaron que el tratamiento con 30 mg/kg de pioglitazona redujo significativamente el consumo de etanol a las 8 y 24 horas (p<0,01). El tratamiento previo con GW9662 bloqueó el efecto de pioglitazona de una manera relacionada con la dosis. El consumo de agua y alimento no se vio afectado por los tratamientos con fármaco (datos no mostrados).

EJEMPLO 10EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN I.C.V DEL ANTAGONISTA DE PPAR γ GW9662 SOBRE LA REDUCCIÓN INDUCIDA POR PIOGLITAZONA DE LA INGESTA DE ETANOL

- 5 Este experimento demostró que el efecto de la pioglitazona sobre la ingesta de etanol estaba mediado por la activación de receptores de PPAR γ cerebrales. Para este fin, se trataron ratas msP (n=6) con GW9662 (5 μ g/rata) por vía i.c.v. para bloquear selectivamente receptores de PPAR γ cerebrales, mientras que se administró pioglitazona (30 mg/kg) por vía oral. Se realizó el experimento usando un diseño de cuadrados latinos compensado dentro de los sujetos, en el que cada animal recibió todas las dosis de fármaco.
- 10 Se realizaron los experimentos de ingesta al comienzo del ciclo de oscuridad, y se monitorizaron las ingestas de alcohol, agua y alimento a las 2, 8 y 24 horas después de que estuviese disponible el etanol.
- 15 El análisis de la varianza reveló un efecto significativo del tratamiento sobre la ingesta de etanol $F(3,5) = 12,93$ $p < 0,001$. Tal como se muestra en la figura 10, las pruebas de Newman-Keuls a posteriori revelaron que el tratamiento con 30 mg/kg de pioglitazona redujo significativamente el consumo de etanol a las 2 horas ($p < 0,05$), 8 horas ($p < 0,05$) y a las 24 horas ($p < 0,01$). La administración por vía i.c.v. de GW9662 no afectó significativamente a la ingesta de etanol *per se*. Sin embargo, previno completamente el efecto de la pioglitazona. El consumo de agua y alimento no se vio afectado por los tratamientos con fármaco (datos no mostrados).

EJEMPLO 11

EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE NALTREXONA SOBRE EL RESTABLECIMIENTO INDUCIDO POR YOHIMBINA DE LA BÚSQUEDA DE ALCOHOL

- 20 Se demostró la incapacidad de la naltrexona para reducir el restablecimiento inducido por yohimbina del uso de alcohol. Tras la adquisición de un nivel inicial estable de etanol al 10%, se sometieron ratas msP (n=10) que responden a un periodo de extinción (14 días) durante el que disminuyó progresivamente la respuesta al etanol. El día después de la última sesión de extinción, se sometieron las ratas a la prueba de restablecimiento.
- 25 Para determinar si la naltrexona podía prevenir el efecto del estresante farmacológico yohimbina, se trataron los animales (n=7) por vía i.p. con el antagonista de opioides (0,0, 0,25 y 1,0 mg/kg) 1 hora antes de la prueba de restablecimiento. Se administró yohimbina (1-25 mg/kg, i.p.) 30 min. tras la administración de naltrexona. Los animales recibieron todos los tratamientos con fármaco según un diseño de cuadrados latinos compensado. Se dejó un intervalo de 3 días entre las pruebas con fármacos, durante el cual los animales se sometieron a sesiones de extinción. En la prueba de restablecimiento, se registraron las respuestas de palanca activa e inactiva.
- 30 Se estableció un nivel inicial estable de respuesta para alcohol al 10% (v/v) en 15 días. Tras esta fase de autoadministración de alcohol, comenzó el entrenamiento de extinción. Durante la fase de extinción, la respuesta disminuyó progresivamente. La administración intraperitoneal del antagonista de receptores adrenérgicos alfa-2 yohimbina a la dosis de 1,25 mg/kg restableció significativamente la respuesta operante para alcohol $F(1,8) = 19,99$ $p < 0,01$. Tal como se muestra mediante el análisis de la varianza, el tratamiento previo con naltrexona no redujo significativamente el efecto de yohimbina [$F(2,8) = 0,46$, NS] (figura 11). El análisis de la respuesta en la palanca inactiva reveló una ausencia de efectos del tratamiento en esta palanca (datos no mostrados). Esto indica la selectividad del efecto de yohimbina para provocar el restablecimiento de la búsqueda de alcohol.
- 35

EJEMPLO 12

EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE NALTREXONA SOBRE EL RESTABLECIMIENTO INDUCIDO POR SEÑALES DE AVISO DE LA BÚSQUEDA DE ALCOHOL

- 40 Se demostró la capacidad de la naltrexona para reducir el restablecimiento inducido por señales de aviso de la búsqueda de alcohol. En este experimento, se entrenaron ratas msP (n=9) para que se autoadministrasen de manera operante etanol al 10% o agua en una sesión diaria de 30 min. en un programa FR-1 de refuerzo, en el que cada respuesta daba como resultado el suministro de 0,1 ml de fluido. La disponibilidad de etanol se señaló mediante el olor de un extracto de naranja, que servía como estímulo diferenciador. Además, se emparejó cada pulsación de la palanca que daba como resultado el suministro de etanol con la iluminación del foco durante 5 s (S^+/CS^+). Para el agua, se emplearon olor a anís y un ruido blanco de 5 s como señales de aviso diferenciadora y contigua (S^+/CS^-), respectivamente. Entonces se sometieron las ratas a sesiones de extinción diarias, durante las cuales las pulsaciones de la palanca disminuyeron progresivamente.
- 45
- 50 Se realizaron pruebas de restablecimiento volviéndolas a exponer a los estímulos condicionados predictivos de disponibilidad de etanol o agua, pero en ausencia de los fluidos. Se administró naltrexona (0,0, 0,25 y 1,0 mg/kg) una hora antes de la prueba de restablecimiento. Se realizaron los experimentos al comienzo de la fase de oscuridad del ciclo de luz/oscuridad. Los animales recibieron todos los tratamientos con fármaco según un diseño de cuadrados latinos compensado, y se dejó un intervalo de 3 días entre sesiones de restablecimiento. En la prueba de restablecimiento, se registraron las respuestas de palanca activa e inactiva.
- 55

A lo largo de toda la fase de condicionamiento, en la que los animales diferenciaban entre disponibilidad de alcohol o agua, las ratas respondieron a un nivel superior para el alcohol. Durante la extinción, la pulsación de la palanca disminuyó progresivamente. En la prueba de restablecimiento, el ANOVA mostró que las señales de aviso tenían un efecto global significativo sobre la búsqueda de alcohol [$F(1,8) = 36,31$, $p < 0,01$]. Un análisis más detallado mostró un restablecimiento robusto de la respuesta bajo el S^+/CS^+ ($p < 0,01$) pero no bajo el S^-/CS^- en comparación con el último día de extinción. Tal como se muestra en la figura 12, el restablecimiento condicionado de la búsqueda de alcohol no se modificó significativamente por la naltrexona [$F(2,8) = 15,90$, $p < 0,01$]. El análisis a posteriori reveló que ambas dosis (0,25 y 1,0 mg/kg) del antagonista de opioides sometido a prueba reducían significativamente el restablecimiento de la búsqueda de etanol ($p < 0,01$). Las respuestas en la palanca inactiva no se vieron influidas por el tratamiento (datos no mostrados).

EJEMPLO 13

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN CONJUNTA DE PIOGLITAZONA Y NALTREXONA SOBRE EL RESTABLECIMIENTO INDUCIDO POR SEÑALES DE AVISO Y YOHIMBINA DE LA BÚSQUEDA DE ALCOHOL

Se determinó el efecto combinado de un agonista de $PPAR\gamma$, pioglitazona, y un antagonista de opioides, naltrexona, sobre diversos inductores de la búsqueda de alcohol restablecida.

Para el restablecimiento inducido por yohimbina de la búsqueda de etanol, tras la adquisición de un nivel inicial estable de respuesta a etanol al 10%, se sometieron ratas msP ($n=9$) a un periodo de extinción (14 días) durante el que la respuesta al etanol disminuyó progresivamente. El día después de la última sesión de extinción, se sometieron las ratas a la prueba de restablecimiento.

Para evaluar si la combinación de naltrexona más pioglitazona podía prevenir el efecto del estresante farmacológico yohimbina, se trataron los animales por vía i.p. con el antagonista de opioides (1,0 mg/kg) y por vía oral con la TDZ (30 mg/kg) 1 hora antes de la prueba de restablecimiento. Se administró yohimbina (1,25 mg/kg, i.p.) 30 min. tras la administración de naltrexona/pioglitazona. Los animales recibieron todos los tratamientos con fármaco según un diseño de cuadrados latinos compensado. Se dejó un intervalo de 3 días entre pruebas con fármaco, durante el que los animales se sometieron a sesiones de extinción. En la prueba de restablecimiento, se registraron las respuestas de palanca activa e inactiva.

Para el restablecimiento inducido por señales de aviso de la búsqueda de alcohol, se entrenó otro grupo de ratas msP ($n=10$) para que se autoadministrasen de manera operante etanol al 10% o agua en una sesión diaria de 30 min. en un programa FR-1 de refuerzo, en el que cada respuesta daba como resultado el suministro de 0,1 ml de fluido. La disponibilidad de etanol se señalizó mediante el olor de un extracto de naranja, que servía como estímulo diferenciador. Además, se emparejó cada pulsación de la palanca que daba como resultado el suministro de etanol con la iluminación del foco durante 5 s (S^+/CS^+). Para el agua, se emplearon olor a anís y un ruido blanco de 5 s como señales de aviso diferenciadora y contigua (S^-/CS^-), respectivamente. Entonces se sometieron las ratas a sesiones de extinción diarias, durante las cuales las pulsaciones de la palanca disminuyeron progresivamente.

Se realizó una prueba de restablecimiento volviéndolas a exponer a los estímulos condicionados predictivos de disponibilidad de etanol o agua, pero en ausencia de los fluidos. Se administraron conjuntamente naltrexona (1,0 mg/kg) y pioglitazona 1 hora antes de la prueba de restablecimiento. Se realizaron los experimentos al comienzo de la fase de oscuridad del ciclo de luz/oscuridad. Los animales recibieron todos los tratamientos con fármaco según un diseño de cuadrados latinos compensado, y se dejó un intervalo de 3 días entre sesiones de restablecimiento. En la prueba de restablecimiento, se registraron las respuestas de palanca activa e inactiva.

Para el restablecimiento inducido por yohimbina de la búsqueda de alcohol, las ratas alcanzaron un nivel inicial estable de respuesta para alcohol al 10% (v/v) en 15 días. Tras este periodo de tiempo, comenzó la fase de autoadministración de alcohol, entrenamiento de extinción. Durante la fase de extinción, la respuesta disminuyó progresivamente. La administración intraperitoneal del antagonista de receptores adrenérgicos alfa-2 yohimbina a la dosis de 1,25 mg/kg restableció significativamente la respuesta operante para alcohol [$F(1,8) = 12,86$, $p < 0,01$]. Tal como se muestra mediante el análisis de la varianza, el tratamiento previo con naltrexona más pioglitazona redujo significativamente el efecto de la yohimbina [$F(2,8) = 5,71$, $p < 0,01$] (Figura 13A). El análisis de la respuesta en la palanca inactiva reveló una ausencia de efectos del tratamiento en esta palanca.

Para el restablecimiento inducido por señales de aviso de la búsqueda de alcohol, las ratas msP aprendieron rápidamente a diferenciar entre disponibilidad de alcohol o agua; las ratas respondían a un nivel superior para el alcohol. Durante la extinción, las pulsaciones de la palanca disminuyeron progresivamente. En la prueba de restablecimiento, el ANOVA mostró que las señales de aviso tenían un efecto global significativo sobre la búsqueda de alcohol [$F(1,9) = 31,83$, $p < 0,01$]. Un análisis más detallado mostró un restablecimiento robusto de la respuesta bajo el S^+/CS^+ ($p < 0,01$) pero no bajo el S^-/CS^- en comparación con el último día de extinción. Tal como se muestra en la figura 13B, se redujo significativamente el restablecimiento condicionado de la búsqueda de alcohol mediante la administración conjunta de naltrexona y pioglitazona [$F(2,9) = 16,58$; $p < 0,01$]. Las respuestas en la palanca inactiva no se vieron influidas por el tratamiento (datos no mostrados).

EJEMPLO 14

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE PIOGLITAZONA MÁS FLUOXETINA SOBRE LA INGESTA VOLUNTARIA DE ETANOL

En este experimento, se estudió el efecto de la administración conjunta de pioglitazona y fluoxetina sobre el consumo de alcohol para demostrar que el tratamiento conjunto con agonistas de $\text{PPAR}\gamma$, por ejemplo, TZD, y antidepresivos, por ejemplo, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, tiene efectos sinérgicos sobre la inhibición de la ingesta de etanol. Para este fin, se usó una dosis baja de fluoxetina (3,0 mg/kg, por vía oral) que no reducía la ingesta de etanol en ratas msP en un estudio piloto. Además, se eligió una dosis de pioglitazona (10 mg/kg, por vía oral) que no afecta significativamente a la ingesta de alcohol *per se*.

En primer lugar se entrenaron ratas msP para que bebiesen alcohol al 10% (p/v) durante 24 horas al día (libre elección entre agua y etanol). Una vez que se alcanzó un nivel inicial de ingesta de etanol estable (6-8 g/kg/día), en un diseño entre sujetos, se sometieron a prueba las ratas msP (n=34) para determinar el efecto de pioglitazona, fluoxetina o su combinación. Ratas tratadas con vehículos de fármaco sirvieron como control. Antes de empezar el tratamiento, se entrenaron las ratas para administración mediante sonda nasogástrica durante tres días, durante los cuales recibieron vehículo de fármacos (agua destilada). Se administraron pioglitazona y fluoxetina dos veces, a las 12 horas y 1 hora antes del acceso al etanol. Los experimentos de ingesta empezaron al comienzo del ciclo de oscuridad. Se monitorizaron las ingestas de alcohol, agua y alimento a las 2, 8 y 24 horas después de que estuviese disponible el etanol.

El análisis de la varianza reveló un efecto global significativo del tratamiento [$F(3,30) = 5,37$ $p < 0,01$] sobre la ingesta de alcohol. Tal como se muestra en la figura 14, las pruebas a posteriori demostraron que una dosis baja de pioglitazona sola o fluoxetina sola no modificaba significativamente la ingesta de etanol en ratas msP. Sin embargo, la administración conjunta de los dos agentes dio como resultado una marcada inhibición del consumo de etanol a las 2 y 8 horas ($p < 0,01$), así como a las 24 horas ($p < 0,05$). Estos datos sugieren que la administración conjunta de los dos fármacos ejerce acciones inhibitoras sinérgicas sobre la ingesta de etanol.

Se observó una tendencia modesta, no significativa hacia un aumento de la ingesta de alimento tras el tratamiento con fármaco (datos no mostrados). El consumo de agua era muy bajo y no se modificó por la administración de fármaco (datos no mostrados).

EJEMPLO 15

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE PIOGLITAZONA MÁS MIRTAZAPINA SOBRE LA INGESTA VOLUNTARIA DE ETANOL

Se estudió el efecto de la administración conjunta de pioglitazona y mirtazapina sobre el consumo de alcohol para demostrar que el tratamiento conjunto con agonistas de $\text{PPAR}\gamma$ y este antidepresivo tenía efectos sinérgicos sobre la inhibición de la ingesta de etanol. Para este fin, se usó una dosis baja de mirtazapina (5,0 mg/kg, por vía oral) que no reducía la ingesta de etanol en ratas msP en un estudio piloto. Además, se eligió una dosis de pioglitazona (10 mg/kg, por vía oral) de manera que no afectaba significativamente a la ingesta de alcohol *per se*.

En primer lugar se entrenaron ratas msP para que bebiesen alcohol al 10% (p/v) durante 24 horas al día (libre elección entre agua y etanol). Una vez que se alcanzó un nivel inicial de ingestión de etanol estable (6-8 g/kg/día), en un diseño entre sujetos, se sometieron a prueba las ratas msP (n = 34) para determinar el efecto de pioglitazona, mirtazapina o su combinación. Ratas tratadas con vehículos de fármaco sirvieron como control. Antes de empezar el tratamiento, se entrenaron las ratas para administración mediante sonda nasogástrica durante tres días, durante los cuales recibieron vehículo de fármacos (agua destilada). Se administraron pioglitazona y mirtazapina dos veces, a las 12 horas y 1 hora antes del acceso al etanol. Los experimentos de ingesta empezaron al comienzo del ciclo de oscuridad. Se monitorizaron las ingestas de alcohol, agua y alimento a las 2, 8 y 24 horas después de que estuviese disponible el etanol.

El análisis de la varianza reveló un efecto global significativo del tratamiento [$F(3,30) = 12,50$ $p < 0,01$] sobre la ingesta de alcohol. Tal como se muestra en la figura 15, las pruebas a posteriori demostraron que una dosis baja de pioglitazona sola o mirtazapina sola no modificaba significativamente la ingesta de etanol en ratas msP. Sin embargo, la administración conjunta de los dos agentes dio como resultado una marcada inhibición del consumo de etanol a las 2 y 8 horas ($p < 0,05$); también se notificó una reducción significativa de la ingesta de etanol a las 2 horas para pioglitazona sola ($p < 0,05$). Estos datos sugieren que la administración conjunta de los dos fármacos ejerce acciones inhibitoras sinérgicas sobre la ingesta de etanol.

Se observó una tendencia no significativa hacia un aumento de la ingesta de alimento tras los tratamientos con fármaco (datos no mostrados). El consumo de agua era muy bajo y no se modificó por la administración de fármaco (datos no mostrados).

EJEMPLO 16

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE PIOGLITAZONA MÁS TOPIRAMATO SOBRE LA INGESTA VOLUNTARIA DE ETANOL

En este experimento, se estudió el efecto de la administración conjunta de pioglitazona y topiramato sobre el consumo de alcohol para demostrar que el tratamiento conjunto con agonistas de PPAR γ y este antiepiléptico tiene efectos sinérgicos sobre la inhibición de la ingesta de etanol. Para este fin, se usó una dosis baja de topiramato (30,0 mg/kg, por vía oral) que no reducía la ingesta de etanol en ratas msP en un estudio piloto. Además, se eligió una dosis de pioglitazona (10 mg/kg, por vía oral) de manera que no afectaba significativamente a la ingesta de alcohol *per se*.

En primer lugar se entrenaron ratas msP para que bebiesen alcohol al 10% (p/v) durante 24 horas al día (libre elección entre agua y etanol). Una vez que se alcanzó un nivel inicial de ingestión de etanol estable (6-8 g/kg/día), en un diseño entre sujetos, se sometieron a prueba las ratas msP (n=34) para determinar el efecto de pioglitazona, topiramato o su combinación. Ratas tratadas con vehículos de fármaco sirvieron como control. Antes de empezar el tratamiento, se entrenaron las ratas para administración mediante sonda nasogástrica durante tres días, durante los cuales recibieron vehículo de fármacos (agua destilada). Se administraron pioglitazona y topiramato dos veces, a las 12 horas y 1 hora antes del acceso al etanol. Los experimentos de ingesta empezaron al comienzo del ciclo de oscuridad. Se monitorizaron las ingestas de alcohol, agua y alimento a las 2, 8 y 24 horas después de que estuviese disponible el etanol.

El análisis de la varianza reveló un efecto global significativo del tratamiento [$F(3,30) = 4,35$ $p < 0,01$] sobre la ingesta de alcohol. Tal como se muestra en la figura 16, las pruebas a posteriori demostraron que una dosis baja de pioglitazona sola o topiramato solo no modificaba significativamente la ingesta de etanol en ratas msP. Sin embargo, la administración conjunta de los dos agentes dio como resultado una inhibición marcada del consumo de etanol a las 2, 8 y 24 horas ($p < 0,05$); también se notificó una reducción significativa de la ingesta de etanol a las 2 horas para topiramato solo ($p < 0,05$). Estos datos sugieren que la administración conjunta de los dos fármacos ejerce acciones inhibitoras sinérgicas sobre la ingesta de etanol.

Se observó una tendencia no significativa hacia un aumento de la ingesta de alimento tras los tratamientos con fármaco (datos no mostrados). El consumo de agua era muy bajo y no se modificó por la administración de fármaco (datos no mostrados).

EJEMPLO 17

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE PIOGLITAZONA MÁS LEVETIRACETAM SOBRE LA INGESTA VOLUNTARIA DE ETANOL

Se estudió el efecto de la administración conjunta de pioglitazona y levetiracetam sobre el consumo de alcohol para demostrar que el tratamiento conjunto con agonistas de PPAR γ y este antiepiléptico tiene efectos sinérgicos sobre la inhibición de la ingesta de etanol. Para este fin, se usó una dosis baja de levetiracetam (100,0 mg/kg, por vía oral) que no reducía la ingesta de etanol en ratas msP en un estudio piloto. Además, se eligió una dosis de pioglitazona (10 mg/kg, por vía oral), de manera que no afectaba significativamente a la ingesta de alcohol *per se*.

En primer lugar se entrenaron ratas msP para que bebiesen alcohol al 10% (p/v) durante 24 horas al día (libre elección entre agua y etanol). Una vez que se alcanzó un nivel inicial de ingestión de etanol estable (6-8 g/kg/día), en un diseño entre sujetos, se sometieron a prueba las ratas msP (n=33) para determinar el efecto de pioglitazona, levetiracetam o su combinación. Ratas tratadas con vehículos de fármaco sirvieron como control. Antes de empezar el tratamiento, se entrenaron las ratas para administración mediante sonda nasogástrica durante tres días, durante los cuales recibieron vehículo de fármacos (agua destilada). Se administraron pioglitazona y levetiracetam dos veces, a las 12 horas y 1 hora antes del acceso al etanol. Los experimentos de ingesta empezaron al comienzo del ciclo de oscuridad. Se monitorizaron las ingestas de alcohol, agua y alimento a las 2, 8 y 24 horas después de que estuviese disponible el etanol.

El análisis de la varianza reveló un efecto global significativo del tratamiento [$F(3,29) = 3,76$ $p < 0,05$] sobre la ingesta de alcohol. Tal como se muestra en la figura 17, las pruebas a posteriori demostraron que una dosis baja de pioglitazona sola o levetiracetam solo no modificaba significativamente la ingesta de etanol en ratas msP. A la inversa, la administración conjunta de los dos agentes dio como resultado una inhibición marcada del consumo de etanol a las 2 horas ($p < 0,01$), así como a las 8 y 24 horas ($p < 0,05$). Estos datos sugieren que la administración conjunta de los dos fármacos ejerce acciones inhibitoras sinérgicas sobre la ingesta de etanol.

El consumo de alimento y agua no se modificó por la administración de fármaco (datos no mostrados).

EJEMPLO 18

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE PIOGLITAZONA MÁS GABAPENTINA SOBRE LA INGESTA VOLUNTARIA DE ETANOL

Se estudió el efecto de la administración conjunta de pioglitazona y gabapentina sobre el consumo de alcohol para demostrar que el tratamiento conjunto con agonistas de PPAR γ y este antiepiléptico tiene efectos sinérgicos sobre la inhibición de la ingesta de etanol. Para este fin, se usó una dosis baja de gabapentina (60,0 mg/kg, por vía oral) que no reducía la ingesta de etanol en ratas msP en un estudio piloto. Además, se eligió una dosis de pioglitazona

(10 mg/kg, por vía oral), de manera que no afectaba significativamente a la ingesta de alcohol *per se*.

En primer lugar se entrenaron ratas msP para que bebiesen alcohol al 10% (p/v) durante 24 horas al día (libre elección entre agua y etanol). Una vez que se alcanzó un nivel inicial de ingestión de etanol estable (6-8 g/kg/día), en un diseño entre sujetos, se sometieron a prueba las ratas msP (n=36) para determinar el efecto de pioglitazona, gabapentina o su combinación. Ratas tratadas con vehículos de fármaco sirvieron como control. Antes de empezar el tratamiento, se entrenaron las ratas para administración mediante sonda nasogástrica durante tres días, durante los cuales recibieron vehículo de fármacos (agua destilada). Se administraron pioglitazona y topiramato dos veces, a las 12 horas y 1 hora antes del acceso al etanol. Los experimentos de ingesta empezaron al comienzo del ciclo de oscuridad. Se monitorizaron las ingestas de alcohol, agua y alimento a las 2, 8 y 24 horas después de que estuviese disponible el etanol.

El análisis de la varianza reveló un efecto global significativo del tratamiento [$F(3,7) = 3,31$ $p < 0,05$] sobre la ingesta de alcohol. Tal como se muestra en la figura 18, las pruebas a posteriori demostraron que una dosis baja de pioglitazona sola o gabapentina sola no modificaba significativamente la ingesta de etanol en ratas msP. A la inversa, la administración conjunta de los dos agentes dio como resultado una inhibición marcada del consumo de etanol a las 2 y 8 horas ($p < 0,05$). Estos datos sugieren que la administración conjunta de los dos fármacos ejerce acciones inhibitoras sinérgicas sobre la ingesta de etanol.

Se observó una tendencia no significativa hacia un aumento de la ingesta de alimento tras los tratamientos con fármaco (datos no mostrados). El consumo de agua era muy bajo y no se modificó por la administración de fármaco (datos no mostrados).

EJEMPLO 19

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE PIOGLITAZONA MÁS ONDANSETRÓN SOBRE LA INGESTA VOLUNTARIA DE ETANOL

Se estudió el efecto de la administración conjunta de pioglitazona y ondansetrón sobre el consumo de alcohol para demostrar que el tratamiento conjunto con agonistas de $PPAR\gamma$ y este antagonista selectivo del receptor de serotonina-3 (5-HT₃) tiene efectos sinérgicos sobre la inhibición de la ingesta de etanol. Para este fin, se usó una dosis baja de ondansetrón (1,0 mg/kg, por vía i.p.) que no reducía la ingesta de etanol en ratas msP en un estudio piloto. Además, se eligió una dosis de pioglitazona (10 mg/kg, por vía oral), de manera que no afectaba significativamente a la ingesta de alcohol *per se*.

En primer lugar se entrenaron ratas msP para que bebiesen alcohol al 10% (p/v) durante 24 horas al día (libre elección entre agua y etanol). Una vez que se alcanzó un nivel inicial de ingestión de etanol estable (6-8 g/kg/día), en un diseño entre sujetos, se sometieron a prueba las ratas msP (n=36) para determinar el efecto de pioglitazona, ondansetrón o su combinación. Ratas tratadas con vehículos de fármaco sirvieron como control. Antes de empezar el tratamiento, se entrenaron las ratas para administración mediante sonda nasogástrica durante tres días, durante los cuales recibieron vehículo de fármacos (agua destilada). Se administraron pioglitazona y ondansetrón dos veces, a las 12 horas y 1 hora antes del acceso al etanol. Los experimentos de ingesta empezaron al comienzo del ciclo de oscuridad. Se monitorizaron las ingestas de alcohol, agua y alimento a las 2, 8 y 24 horas después de que estuviese disponible el etanol.

El análisis de la varianza reveló un efecto global no significativo del tratamiento [$F(3,32) = 2,73$ $p < 0,05$], pero se observó una interacción del tiempo de tratamiento significativa sobre la ingesta de alcohol [$F(6,64) = 2,29$ $p < 0,05$]. Tal como se muestra en la figura 19, las pruebas a posteriori demostraron que una dosis baja de pioglitazona sola u ondansetrón solo no modificaba significativamente la ingesta de etanol en ratas msP. Sin embargo, la administración conjunta de los dos agentes dio como resultado una inhibición marcada del consumo de etanol a las 24 horas ($p < 0,05$). El consumo de agua y alimento era muy bajo y no se modificó por la administración de fármaco (datos no mostrados). Estos datos sugieren que la administración conjunta de los dos fármacos ejerce acciones inhibitoras sinérgicas sobre la ingesta de etanol.

EJEMPLO 20

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE PIOGLITAZONA MÁS ANTALARMINA SOBRE LA INGESTA VOLUNTARIA DE ETANOL

Se estudió el efecto de la administración conjunta de pioglitazona y antalarmina sobre el consumo de alcohol para demostrar que el tratamiento conjunto con agonistas de $PPAR\gamma$ y este antagonista selectivo del receptor CRF1 del factor de liberación de corticotropina tiene efectos sinérgicos sobre la inhibición de la ingesta de etanol. Para este fin, se usó una dosis baja de antalarmina (15,0 mg/kg, por vía i.p.) que reducía modestamente la ingesta de etanol en ratas msP en un estudio piloto. Además, se eligió una dosis de pioglitazona (10 mg/kg, por vía oral), de manera que no afectaba significativamente a la ingesta de alcohol *per se*.

En primer lugar se entrenaron ratas msP para que bebiesen alcohol al 10% (p/v) durante 24 horas al día (libre elección entre agua y etanol). Una vez que se alcanzó un nivel inicial de ingestión de etanol estable (6-8 g/kg/día),

en un diseño entre sujetos, se sometieron a prueba las ratas msP (n=32) para determinar el efecto de pioglitazona, antalarmina o su combinación. Ratas tratadas con vehículos de fármaco sirvieron como control. Antes de empezar el tratamiento, se entrenaron las ratas para administración mediante sonda nasogástrica durante tres días durante los cuales recibieron vehículo de fármacos (agua destilada). Se administraron pioglitazona y antalarmina dos veces, a las 12 horas y 1 hora antes del acceso al etanol. Los experimentos de ingesta empezaron al comienzo del ciclo de oscuridad. Se monitorizaron las ingestas de alcohol, agua y alimento a las 2, 8 y 24 horas después de que estuviese disponible el etanol.

El análisis de la varianza reveló un efecto global significativo del tratamiento [$F(3,28) = 3,29$ $p < 0,05$] sobre la ingesta de alcohol. Tal como se muestra en la figura 20, las pruebas a posteriori demostraron que una dosis baja de pioglitazona sola o antalarmina sola no modificaba significativamente la ingesta de etanol en ratas msP. Sin embargo, la administración conjunta de los dos agentes dio como resultado una inhibición marcada del consumo de etanol a las 8 ($p < 0,01$) y las 24 horas ($p < 0,05$); también se notificó una reducción significativa de la ingesta de etanol a las 8 horas para antalarmina sola ($p < 0,05$). Estos datos sugieren que la administración conjunta de los dos fármacos ejerce acciones inhibitoras sinérgicas sobre la ingesta de etanol.

El consumo de agua y alimento no se modificó por la administración de fármaco (datos no mostrados).

EJEMPLO 21

EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE PIOGLITAZONA SOBRE LA ABSTINENCIA DE ALCOHOL

Se determinó el efecto de la administración de pioglitazona sobre la abstinencia de alcohol en ratas. Se sometieron ratas Wistar macho a una intoxicación con alcohol intermitente de seis días. Durante la fase de oscuridad, las ratas recibieron 4 administraciones orales de 2,5-3,0 g/kg de etanol al 20%. Se administró la primera dosis de etanol al comienzo de la fase de oscuridad. Las otras 3 dosis diarias se administraron a intervalos de 3 horas. Las ratas no se sometieron a inyección durante la fase de luz del ciclo de luz/oscuridad. Los niveles de alcohol en sangre objetivo eran de 250-300 mg/dl. Tras 6 días de este tratamiento, las ratas experimentaron abstinencia espontánea, que generalmente aparece entre 8 y 14 horas tras la última inyección de etanol. Se administró pioglitazona (0,0, 10 y 30 mg/kg) dos veces, a las 12 horas y 1 hora antes de la clasificación de los síndromes de abstinencia. Los signos de comportamiento de abstinencia incluían: (1) presencia de respuesta de flexión distal ventromedial; (2) agarrotamiento/rigidez de la cola; y (3) temblores (Schulteis *et al.* 1995). Se clasificó cada signo durante un periodo de observación de 3-5 min. en una escala de 0-2 (Macey *et al.*, 1996; Schulteis, *et al.*, 1995). Se acumularon todos los signos para producir una puntuación de gravedad de abstinencia global.

Doce horas tras la última administración de etanol, los animales tratados con vehículo de pioglitazona mostraban síntomas de abstinencia marcados. El análisis de la varianza mostró un efecto global del tratamiento con pioglitazona que redujo la rigidez de la cola [$F(4,25) = 11,98$ $p < 0,001$] (figura 21). Las pruebas a posteriori revelaron que los signos de abstinencia de alcohol se redujeron significativamente tras la administración tanto de 10 mg/kg como de 30 mg/kg de pioglitazona, con un efecto altamente significativo de la rigidez de la cola ($p < 0,01$), los temblores ($p < 0,01$) y la retracción ventromedial de las extremidades ($p < 0,01$). De manera interesante, mientras se medía la puntuación de abstinencia, dos de los 7 animales de los grupos tratados con vehículo mostraron convulsiones. A la inversa, ninguna de las 12 ratas tratadas con pioglitazona mostraron crisis epilépticas. Estos datos sugieren que la pioglitazona no sólo ayuda a reducir la ingesta de etanol (véanse los experimentos anteriores), sino que también presenta la capacidad para reducir o controlar el síndrome de abstinencia de alcohol y síntomas relacionados, incluyendo crisis epilépticas.

EJEMPLO 22

EFFECTO DE LA PIOGLITAZONA SOBRE EL ALCOHOLISMO EN SERES HUMANOS

Se realizó un estudio de observación de pacientes humanos usando pioglitazona (Actos®) para el tratamiento de la diabetes para demostrar que los agonistas de PPAR γ , solos o en combinación con antagonistas de opioides, son eficaces en la reducción del abuso de etanol.

Se incluyeron un total de 12 pacientes en el estudio. 4 pacientes (2 hombres y 2 mujeres) recibieron sólo psicoterapia (control; CRT); 4 pacientes (hombres) recibieron naltrexona 50 mg/día (NTX) + psicoterapia; y 4 pacientes (3 hombres y 1 mujer) recibieron pioglitazona 30 mg/día (Actos®; ACT) + psicoterapia. Las edades de los pacientes oscilaban entre 25 y 45 años. Todos los pacientes tenían experiencias previas no satisfactorias de desintoxicación de alcohol. No se identificaron comorbilidades psiquiátricas importantes. A todos los pacientes tratados con Actos® se les diagnosticó diabetes.

Se puntuaron los pacientes en el punto de tiempo 0 (inmediatamente antes del comienzo del tratamiento) para diversos indicadores psicológicos. Se determinó la ansiedad usando el cuestionario S.T.A.I. Y-1; se determinó la obsesión por el alcohol usando el cuestionario de escala obsesivo-compulsiva de la bebida ("*Obsessive Compulsive Drinking Scale*"); y se determinó la depresión usando el cuestionario de 10 puntos M.A.D.R.S. También se puntuó el consumo de etanol diaria y semanalmente. También se sometieron a prueba los pacientes una vez a la semana para determinar la ansiedad, la depresión y la obsesión por beber.

Además, se tomaron muestras de sangre de los pacientes al punto de tiempo 0 y tras cuatro semanas (T1) y 12 semanas (T2) de tratamiento. Los parámetros hematológicos medidos incluían: volumen corpuscular medio (MCV); gamma-GT; aspartato aminotransferasa (AST); alanina aminotransferasa (ALT); y transferencia deficiente de hidratos de carbono (CDT). MCV y CDT son biomarcadores para el consumo de etanol, y GGT, ALT y AST son biomarcadores para la funcionalidad hepática.

Se analizaron los datos mediante análisis de la varianza seguido por pruebas a posteriori de Newman-Keuls cuando sea apropiado.

Los resultados demostraron una normalización rápida de todos los parámetros sanguíneos en pacientes tratados con pioglitazona (ACT), tal como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2: Valor medio de las pruebas sanguíneas

	T0			T1 = 4 semanas			T2 = 8 semanas		
	ACT	NTX	CTR	ACT	NTX	CTR	ACT	NTX	CTR
MCV	102,26	101,96	102,78	99,82	101,96	103,26	91,37	97,96	104,87
GGT	192,21	167,38	173,58	86,7	91,35	181,67	38,26	42,9	179,47
ALT	51,6	62,7	58,7	45,6	52,8	52	24,9	41,8	55,9
AST	69,2	49,3	82,1	51,9	41,5	78,4	29,3	38,3	77
CDT	3,2	3,6	3,8	2,9	3,0	3,7	2,1	2,5	3,1

La disminución de MCV y CDT indicó que la ingestión de etanol por los pacientes disminuyó progresivamente a lo largo de los dos meses de tratamiento con fármaco. La disminución en GGT, ALT y AST reflejó la normalización de la función hepática. En pacientes tratados con naltrexona (NTX), también se observó una disminución en MCV y CDT, pero en un menor grado en comparación con el grupo de pioglitazona. Los parámetros hepáticos también se mejoraron por la naltrexona, pero de nuevo el efecto de la pioglitazona era más pronunciado. El grupo control que recibió sólo psicoterapia no mostró ninguna mejora durante el tratamiento de 2 meses.

El análisis estadístico reveló un efecto global del tratamiento para todos los parámetros sanguíneos medidos (MCV, [F(2,9) = 89,7 P<0,0001]; GGT; [F(2,9) = 5328 P<0,0001]; ALT [F(2,9) = 52,57 P<0,0001]; AST [F(2,9) = 771 P<0,0001]; CDT [F(2,9) = 26,54 P<0,0001]). Las pruebas a posteriori revelaron que para los cinco biomarcadores, existe una diferencia estadística (P<0,001) entre los controles (psicoterapia sola) y los pacientes tratados con naltrexona (P<0,001) o con pioglitazona (P<0,001). La pioglitazona era más eficaz que la naltrexona en la reducción de los valores de MCV (P<0,001), GGT (P<0,001) y ALT (p<0,001). No se detectaron diferencias significativas entre naltrexona y pioglitazona para CDT y AST.

Los resultados también mostraron una disminución progresiva en la puntuación de ansiedad durante el tratamiento. La pioglitazona mostró el efecto más alto, tal como se muestra en la tabla 3. En pacientes control (psicoterapia sola), la ansiedad no disminuyó durante el tratamiento.

Tabla 3: Puntuación de ansiedad obtenida usando la escala STAY-Y1 (valores de puntuación media)

	ACT	NTX	CTR
T=0	59	61	63
T=1.1	58	61	64
T=1.2	55	59	62
T=1.3	54	53	69
T=1.4	56	52	65
	ACT	NTX	CTR
T=2.1	49	51	61
T=2.2	47	53	63
T=2.3	43	52	67
T=2.4	40	51	64

T=0 corresponde al comienzo del tratamiento; T=1.1 corresponde al mes 1, semana 1, T=1.2 corresponde al mes 1, semana 2, etc.

El análisis de la varianza reveló un efecto global del tratamiento ([F(2,9)= 142,86 P<0,0001]). Las pruebas a posteriori revelaron diferencias estadísticamente significativas entre los controles y los pacientes tratados con naltrexona (P<0,001) o con pioglitazona (P<0,001). La pioglitazona era más eficaz que la naltrexona, y también se observó una diferencia significativa entre la pioglitazona y la naltrexona (p<0,001).

Los resultados también mostraron una disminución progresiva en la puntuación obsesiva-compulsiva para el alcohol. El efecto era extremadamente robusto para la pioglitazona. Tal como se muestra en la tabla 4. En pacientes control,

la OCDS permaneció al nivel antes del tratamiento.

Tabla 4: Escala obsesivo-compulsiva de la bebida (OCDS) (valores de puntuación media)

	ACT	NTX	CTR
T=0	50	49	52
T=1.1	45	47	49
T=1.2	37	45	48
T=1.3	36	41	49
T=1.4	34	40	47
	ACT	NTX	CTR
T=2.1	31	41	47
T=2.2	29	43	49
T=2.3	28	42	50
T=2.4	28	44	51

T=0 corresponde al comienzo del tratamiento; T=1.1 corresponde al mes 1, semana 1, T=1.2 corresponde al mes 1, semana 2, etc.

- 5 El análisis de la varianza reveló un efecto global del tratamiento ($[F(2,9) = 329,27 \text{ } P<0,0001]$). Las pruebas a posteriori revelaron diferencias estadísticamente significativas entre los controles y los pacientes tratados con naltrexona ($P<0,001$) o con pioglitazona ($P<0,001$). La pioglitazona era más eficaz que la naltrexona, y también se observó una diferencia significativa entre la pioglitazona y la naltrexona ($p<0,001$).
- 10 La puntuación inicial en la escala MADRS indicó que esta población de pacientes no tenía depresión comórbida grave. Durante el tratamiento con pioglitazona, la puntuación de depresión disminuyó empezando a partir de la segunda semana de tratamiento, tal como se muestra en la tabla 5. A la semana 3, alcanzó la meseta. Sin embargo, un efecto suelo podría haber contribuido a la meseta rápida.

Tabla 5: Escala de depresión M.A.D.R.S. (valores de puntuación media)

	ACT	NTX	CTR
T=0	21	19	20
T=1.1	15	16	18
T=1.2	13	18	19
T=1.3	10	16	17
T=1.4	11	17	19
	ACT	NTX	CTR
T=2.1	12	17	21
T=2.2	13	15	19
T=2.3	10	18	19
T=2.4	12	19	

- 15 T=0 corresponde al comienzo del tratamiento; T=1.1 corresponde al mes 1, semana 1, T=1.2 corresponde al mes 1, semana 2, etc.
- El análisis de la varianza reveló un efecto global del tratamiento ($[F(2,9) = 42,12 \text{ } P<0,0001]$). Las pruebas a posteriori revelaron diferencias estadísticamente significativas entre los controles y los pacientes tratados con pioglitazona ($P<0,001$) pero no naltrexona. La pioglitazona también era significativamente diferente de la naltrexona ($p<0,001$).
- 20 En resumen, los parámetros sanguíneos determinados durante el transcurso de este estudio indicaron la normalización de los diferentes marcadores relacionados con la ingesta de alcohol en pacientes tratados con pioglitazona o naltrexona. El efecto era más robusto con pioglitazona. Pacientes que se sometieron a psicoterapia solo no mostraron mejoras durante el tratamiento. Esto indica que la diferencia entre los controles y los pacientes tratados con fármaco dependen de la intervención farmacológica.
- 25 Existe una alta comorbilidad entre el alcoholismo, la ansiedad y la depresión. Los síntomas de estos trastornos relacionados con el estado de ánimo tienden a agravarse durante la fase de desintoxicación temprana del alcohol, contribuyendo así al reducido cumplimiento de los pacientes. En este sentido, es altamente relevante que la pioglitazona reduce la ansiedad y los síntomas depresivos en pacientes alcohólicos. Esto podría explicar también por qué tras dos meses de administración del fármaco, los 4 pacientes con tratamiento con pioglitazona estaban todavía en tratamiento, mientras que 2 pacientes del grupo control y 1 del grupo de naltrexona abandonaron.
- 30 También es altamente relevante que la pioglitazona redujo de manera constante la puntuación de OCDS. La obsesión por el alcohol y el deseo de beber (que se miden mediante la escala OCDS) son los factores de pronóstico principales de la recaída. Estos datos indican, por tanto, que la pioglitazona tiene propiedades anti-recaída.

La ausencia de un tratamiento placebo en el grupo control (psicoterapia sola) puede haber contribuido a la alta

eficacia de los tratamientos con fármaco, puesto que el efecto de la naltrexona era superior al notificado normalmente en ensayos clínicos aleatorizados controlados. Sin embargo, el efecto placebo no puede explicar la diferencia entre la eficacia de la pioglitazona y la de la naltrexona. De hecho, en este caso, ambos grupos de pacientes recibieron medicamentos farmacológicos en asociación con psicoterapia. Basándose en esta consideración, aunque no puede descartarse que el efecto de la pioglitazona pueda haberse sobreestimado en algún grado en estos estudios, es evidente que este fármaco tiene una eficacia significativa en el control del alcoholismo, y su efecto puede ser superior al de la naltrexona.

EJEMPLO 23 (referencia)

EFFECTO DE LA PIOGLITAZONA SOBRE LA AUTOADMINISTRACIÓN DE COCAÍNA

Se demostró la capacidad de la pioglitazona para reducir el uso de cocaína en un modelo de rata de adicción a la cocaína. Se disolvió clorhidrato de cocaína (obtenido del National Institute on Drug Abuse, Bethesda, MD) en solución salina fisiológica estéril a una concentración de 0,25 mg/0,1 ml. Se infundió disolución de vehículo o fármaco a un volumen de 0,1 ml a lo largo de 4 s. Se suspendió pioglitazona obtenida de una fuente comercial en agua destilada, y se mantuvo la suspensión resultante bajo agitación constante hasta su administración. Se administró la pioglitazona por vía oral (v.o.) mediante un procedimiento de sonda nasogástrica 12 horas y 1 hora antes del comienzo de la autoadministración de cocaína.

Se usaron ratas Wistar macho que pesaban entre 180 y 200 g en el momento de su llegada al laboratorio. Se alojaron las ratas en grupos de tres en un vivero con humedad y temperatura controladas (22°C) en un ciclo de luz/oscuridad inverso de 12 h:12 h (luces encendidas, 17:00; luces apagadas, 05:00) con acceso a voluntad a alimento y agua. Una semana después de su llegada, se sometieron las ratas a cirugía, y se implantó un catéter silástico en la vena yugular derecha.

Se entrenaron las ratas (n=6) para que se autoadministrasen cocaína en sesiones diarias de 2 h en un programa de razón fijada 5 de refuerzo, en el que cada respuesta daba como resultado el suministro de 0,25 mg/0,1 ml de disolución de cocaína fluida. El entrenamiento de autoadministración de cocaína continuó hasta que se alcanzó un nivel inicial estable de respuesta (variación inferior al 10% durante 3 días consecutivos calculada para cada rata individual). En este momento, comenzaron las pruebas con fármaco.

En un orden compensado dentro de los sujetos (diseño de cuadrados latinos), se trataron las ratas con pioglitazona (0,0, 10,0 ó 30,0 mg/kg) administrada por vía oral 12 horas y 1 hora antes del comienzo de la sesión de autoadministración. Se registró el número de respuestas en las palancas activa e inactiva. Se dejó un intervalo de 3 días entre las pruebas con fármaco. Durante estos intervalos, la autoadministración de cocaína continuó hasta que se restablecieron las respuestas de palanca iniciales.

Se evaluó el efecto de la administración de pioglitazona sobre la autoadministración de cocaína por medio de un ANOVA de una vía con factores dentro de los sujetos seguido por una prueba a posteriori de Newman-Keuls.

El tratamiento con pioglitazona redujo significativamente la autoadministración de cocaína [$F(2,5) = 13,189$ $p < 0,01$]. Las pruebas a posteriori revelaron una reducción significativa ($p < 0,01$) de la autoadministración de cocaína tanto a 10,0 como a 30,0 mg/kg de pioglitazona (figura 22A). Las respuestas en la palanca inactiva izquierda eran muy bajas y no se modificaron por el tratamiento con pioglitazona (figura 22B).

EJEMPLO 24 (referencia)

EFFECTO DE LA PIOGLITAZONA SOBRE EL USO DE NICOTINA

Se demostró la capacidad de los agonistas de PPAR γ y antidepresivo para reducir el uso de nicotina en un modelo animal de adicción a la nicotina.

Se disolvió clorhidrato de bupropión (Sigma, Milán, Italia) en solución salina. Se disolvió tartrato de nicotina (Sigma, Milán, Italia) en solución salina isotónica a una concentración de 0,03 mg/0,1 ml de base libre. Se ajustó el pH de la disolución nicotina a 7 con NaOH diluido. Se infundió disolución de vehículo o fármaco a un volumen de 0,1 ml a lo largo de 4 s. Se obtuvo pioglitazona de una fuente comercial; se suspendió en agua destilada, y se mantuvo la suspensión resultante bajo agitación constante hasta su administración. Se administró pioglitazona por vía oral (v.o.) mediante un procedimiento de sonda nasogástrica a las 12 horas y 1 hora antes del comienzo de la autoadministración de nicotina.

Se usaron ratas Wistar macho que pesaban entre 180 y 200 g en el momento de su llegada al laboratorio. Se alojaron las ratas en grupos de tres en un vivero con humedad y temperatura controladas (22°C) en un ciclo de luz/oscuridad inverso de 12 h:12 h (luces encendidas, 17:00; luces apagadas, 05:00) con acceso a voluntad a alimento y agua. Una semana después de su llegada, se sometieron las ratas a cirugía, y se implantó un catéter silástico en la vena yugular derecha.

Se entrenaron las ratas (n=9) para que se autoadministrasen cocaína en sesiones diarias de 2 h en un programa de

razón fijada 5 de refuerzo, en el que cada respuesta daba como resultado el suministro de 0,25 mg/0,1 ml de disolución de cocaína fluida. Tras la finalización satisfactoria del entrenamiento de cocaína, se permitió que las ratas se autoadministrasen nicotina a la dosis de 0,03 mg/kg/infusión cambiando el suministro de cocaína por el suministro de una infusión de nicotina. El entrenamiento de autoadministración de nicotina continuó hasta que se estableció un nivel inicial estable de respuesta (variación inferior al 20% durante 3 días consecutivos calculada para cada rata individual). En este momento, comenzaron las pruebas con fármaco.

En un orden compensado dentro de los sujetos (diseño de cuadrados latinos), se trataron las ratas con pioglitazona (0,0, y 30,0 mg/kg) administrada por vía oral 12 horas y 1 hora antes del comienzo de la sesión de autoadministración. Se registró el número de respuestas en las palancas activa e inactiva. Se dejó un intervalo de 3 días entre las pruebas con fármaco. Durante estos intervalos, la autoadministración de cocaína continuó hasta que se restablecieron las respuestas de palanca iniciales.

Se evaluó el efecto de la administración de pioglitazona sobre la autoadministración de nicotina por medio de una prueba de la t apareada. Se fijó la significación estadística a $P < 0,05$

Tras unos cuantos días de entrenamiento, las ratas Wistar adquirieron una respuesta operante robusta para la nicotina. Tal como se muestra en la figura 23A, el tratamiento con pioglitazona 30 mg/kg redujo significativamente la autoadministración de nicotina [$t_{df8} = -2,70$ $p < 0,05$]. Las respuestas en la palanca inactiva izquierda eran muy bajas y no se modificaron por el tratamiento con pioglitazona (figura 23B). Estos resultados demuestran que los agonistas de PPAR γ son eficaces en la reducción del uso de nicotina.

EJEMPLO 25 (referencia)

EFECTO DE LA PIOGLITAZONA Y AGENTES TERAPÉUTICOS SELECCIONADOS SOBRE EL USO DE NICOTINA

Se determina la capacidad de agonistas de PPAR γ en combinación con otros agentes terapéuticos, tales como bupropión, formulaciones de reemplazo de la nicotina, naltrexona, vareniciclina y antagonistas/agonistas inversos del receptor CB1, por ejemplo, rimonabant, rosonabant, taranabant y CP-945598, para reducir sinérgicamente el uso de nicotina en un modelo de rata de adicción a la nicotina.

Se realizan experimentos usando paradigmas de autoadministración operante, esencialmente tal como se describe en el ejemplo 23 (véase también Bruijnzeel y Markou, 2003; Rauhut *et al* 2003). En resumen, se les implanta a ratas Wistar macho un catéter silástico permanente en la vena yugular derecha para la autoadministración de nicotina intravenosa (0,03 mg/infusión). Usando cámaras de autoadministración operante, se entrenan las ratas para que se autoinfundan nicotina bajo un programa de razón fijada 5 de refuerzo (cinco pulsaciones de la palanca para obtener una infusión de nicotina). Se continúa el entrenamiento de autoadministración de nicotina hasta que se establece un nivel inicial estable de respuesta. En este momento, comenzaron las pruebas con fármaco.

En un orden compensado dentro de los sujetos (diseño de cuadrados latinos), se tratan las ratas con pioglitazona (intervalo de dosis pronosticado 5-30,0 mg/kg) o con otros agonistas de PPAR γ en combinación con bupropión, nicotina (formulaciones de reemplazo; es decir, parches de nicotina), naltrexona, vareniciclina o rimonabant. Para evaluar la sinergia entre agonistas de PPAR γ y estos últimos fármacos, se somete a prueba la dosis eficaz más baja para cada uno de los compuestos en asociación con el agonista de PPAR γ . Un intervalo de dosis para bupropión es 10-100 mg/administrados por vía oral; un intervalo de dosis para naltrexona es 0,25-2,5 mg/kg administrados por vía i.p.; un intervalo de dosis para vareniciclina es 0,25-2,5 mg/kg administrados por vía i.p.; y un intervalo de dosis para rimonabant es (0,1-3,0 mg/kg administrados por vía i.p.) (Bruijnzeel y Markou, 2003; Rauhut *et al.* 2003; Steensland P *et al.* 2007; Cohen *et al.* 2005). Se registra el número de respuestas en las palancas activa e inactiva. Se permite un intervalo de 3 días entre las pruebas con fármaco. Durante estos intervalos, se continúa la autoadministración de nicotina para restablecer el nivel inicial de respuestas en las palancas.

Se analizan los datos mediante análisis de la varianza seguido por pruebas a posteriori (Newman-Keuls o Dunnett) cuando sea apropiado. Se fija la significación estadística a $P < 0,05$. Se espera que estos experimentos demuestren que la combinación de un agonista de PPAR γ y cualquiera de los fármacos enumerados actuará de manera sinérgica en la reducción de la autoadministración de nicotina, demostrando de ese modo la eficacia del uso de PPAR γ y cualquiera de estos fármacos para tratar la adicción.

EJEMPLO 26 (referencia)

EFECTO DE LA PIOGLITAZONA Y ANTIDEPRESIVOS O AGONISTAS/ANTAGONISTAS/AGONISTAS PARCIALES DE OPIOIDES SOBRE EL USO DE COCAÍNA

Se determina la capacidad de agonistas de PPAR γ en combinación con antidepresivos, bupropión, fluoxetina o el agonista parcial/agonista/antagonista buprenorfina, para reducir sinérgicamente el uso de cocaína en un modelo de rata de adicción a la cocaína.

Se realizaron experimentos usando paradigmas de autoadministración operante tal como se describe en el ejemplo

23 (véase también Glatz *et al.* 2002; Peltier *et al.* 1993). En resumen, se les implanta a ratas Wistar macho un catéter silástico permanente en la vena yugular derecha para la autoadministración de cocaína intravenosa (0,25 mg/infusión). Usando cámaras de autoadministración operante, se entrenan las ratas para que se autoinfundan cocaína bajo un programa de razón fijada 5 de refuerzo (cinco pulsaciones de la palanca para obtener una infusión de cocaína). Se continúa el entrenamiento de autoadministración de nicotina hasta que se establece un nivel inicial estable de respuesta. En este momento, comenzaron las pruebas con fármaco.

En un orden compensado dentro de los sujetos (diseño de cuadrados latinos), se tratan las ratas con pioglitazona (intervalo de dosis pronosticado 5-30,0 mg/kg) o con otros agonistas de PPAR γ en combinación con bupropión, fluoxetina o buprenorfina. Para evaluar la sinergia entre agonistas de PPAR γ y estos últimos fármacos, se somete a prueba la dosis eficaz más baja para cada uno de los compuestos en asociación. Un intervalo de dosis para bupropión es 10,0-100,0 mg/kg administrados por vía oral; un intervalo de dosis para fluoxetina es 3,0-15,0 mg/kg administrados por vía oral; y un intervalo de dosis para buprenorfina es 0,1-5,0 mg/kg administrados por vía oral (Glatz *et al.* 2002; Peltier *et al.* 1993; Sorge *et al.* 2005). Se registra el número de respuestas en las palancas activa e inactiva. Se permite un intervalo de 3 días entre las pruebas con fármaco. Durante estos intervalos, se continúa la autoadministración de nicotina para restablecer el nivel inicial de respuestas en las palancas.

Se analizan los datos mediante análisis de la varianza seguido por pruebas a posteriori (Newman-Keuls o Dunnett) cuando sea apropiado. Se fija la significación estadística a $P < 0,05$. Se espera que estos experimentos demuestren que la combinación de un agonista de PPAR γ y cualquiera de los fármacos enumerados actuará de manera sinérgica en la reducción de la autoadministración de nicotina, demostrando de ese modo la eficacia del uso de PPAR γ y cualquiera de estos fármacos para tratar la adicción.

EJEMPLO 27

EFECTO DE LA PIOGLITAZONA SOBRE EL DESARROLLO DE LA ADICCIÓN DE OPIÁCEOS

Se determina la capacidad de agonistas de PPAR γ para reducir el uso de opiáceos y prevenir la adicción a opiáceos en un modelo de rata de adicción a opiáceos.

Se realizaron experimentos usando un aparato de preferencia de lugar condicionada y un procedimiento bien establecido para estudiar la preferencia de lugar condicionada inducida por morfina (Ciccocioppo *et al.* 2000). En resumen, usando un aparato de condicionamiento de lugar de dos cámaras, se entrenaron ratas Wistar macho para que asociaran los efectos de la morfina con un lado de la caja y solución salina con el otro lado. Se usaron múltiples grupos de ratas, y se realizó el experimento en un diseño entre sujetos. Se trataron previamente los animales con vehículo de pioglitazona antes de la inyección de vehículo de morfina. El grupo control recibe vehículos de morfina y pioglitazona en ambos compartimentos.

Se condicionan las ratas durante una fase de condicionamiento de seis días. Cada dos días, por tres veces, las ratas reciben inyecciones subcutáneas de 3 mg/kg de morfina o su vehículo. Se inyecta pioglitazona (5,0-30,0 mg/kg) una hora antes de la morfina. Durante el condicionamiento, la puerta de guillotina permanece cerrada, y las ratas se confinan durante 1 h en un compartimento de la caja. El día después de la última sesión de condicionamiento, se permite que las ratas exploren toda la caja durante 15 min., y se mide el tiempo que pasan en cada compartimento.

Se obtiene la puntuación de preferencia de lugar (denominado Δ tiempo) para cada rata restando el tiempo pasado en el compartimento asociado con vehículo de morfina con el tiempo pasado en el compartimento asociado a las inyecciones de morfina. Se someten los valores de Δ tiempo a análisis estadístico. Se analizan los datos mediante análisis de la varianza seguido por pruebas a posteriori (Newman-Keuls o Dunnett) cuando sea apropiado. Se fija la significación estadística a $P < 0,05$.

Se pronostica que la morfina provocará una preferencia de lugar condicionada marcada, y el tratamiento con pioglitazona reducirá la adquisición de condicionamiento de lugar inducido por morfina (véase para revisión; Sanchis-Segura y Spanagel 2006). Estos resultados demostrarán la capacidad de agonistas de PPAR γ para prevenir el desarrollo de adicción a opiáceos y más específicamente a morfina.

Referencias citadas:

Ahmed, S. H. y Koob, G. F., Cocaine- but not food-seeking behaviour is reinstated by stress after extinction, *Psychopharmacology*, 132, 289, 1997.

Ang E., Chen J., Zagouras P., Magna H., Holland J., Schaeffer E, *et al.* (2001). Induction of nuclear factor-kappaB in nucleus accumbens by chronic cocaine administration. *J. Neurochem.* 79:221-224.

Asanuma M., Cadet J. L. (1998). Metamphetamine-induced increase in striatal NF-kappaB DNA-binding activity is attenuated in superoxide dismutasetransgenic mice. *Brain Res Mol Brain Res* 60:305-30, 9.

Barroso, I., Gurnell, M., Crowley, V.E. Agostani, M., Schwabe, J. W., Soos, M. A., Maslen, G. L., Williams, T. D. Lewis, H., Schafer, A. J., *et al.*, Dominant negative mutations in human PPARgamma associated with severe insulin

- resistance, diabetes mellitus and hypertension. *Nature*. 1999;402:880-3.
- Blanchard, R. J., Hori, K., Tom, P., y Blanchard, C., Social structure and ethanol consumption in laboratory rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 28, 437, 1987.
- 5 Bowers M. S., Kalivas P. W. (2003). Forebrain astroglial plasticity is induced following withdrawal from repeated cocaine administration. *Eur J Neurosci* 17:1273-1278.
- Breider T., Callebert J., Heneka M. T., Landret G. E., Launary J. M., Hirsch E. C.: Protective action of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonist pioglitazone in a mouse model of Parkinson's disease. *J Neurochem* 2002;82:615-624
- 10 Brown S. A., Vik P. W., Patterson T. L., *et al.* Stress, vulnerability and adult alcohol relapse. *J Studies Alcohol* 1995; 56:538.
- Bruijnzeel A. W., Markou A. Characterization of the effects of bupropion on the reinforcing properties of nicotine and food in rats. *Synapse*. 2003;50: 20-8.
- Bucher, S. P., Henshall, D. C., Teramura, Y., Iwasaki, K., Sharkey, J., 1997. Neuroprotective actions of FK501 in experimental stroke: *in vivo* evidence against an antiepileptotoxic mechanism. *J Neurosci*. 17, 6939-694.
- 15 Burstein S. PPAR-gamma: a nuclear receptor with affinity for cannabinoids. *Life Sci*. 2005;77:1674-84.
- Cernuda-Morollon, E., Rodriguez-Pascual, F., Klatt, I., Iamas, Perez-Sala, D., 2002. PPAR agonists amplify iNOS expression while inhibiting NF-kappaB: implications for mesangial cell activation by cytokines. *J. Am. Soc. Nephrol*. 13, 2223-2231.
- 20 Childress, A. R., Ehrman, R. N., McLellan, A. T., y O'Brien, C. P., Conditioned craving and arousal in cocaine addiction: A preliminary report, en NIDA Research Monograph 81, US Government Printing Office, Washington, DC, 1988,74.
- Chinetti G, Fruchart J. C., Staels B. (2000). Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): nuclear receptors at the crossroads between lipid metabolism and inflammation. *Inflamm Res* 49: 497-505.
- 25 Ciccocioppo R., Angeletti S., Sanna P. P., Weiss F., Massi M. Effect of nociceptin/orphanin FQ on the rewarding properties of morphine. *Eur J Pharmacol*. 2000;404: 153-9.
- Ciccocioppo R., Katner S. N., Weiss F. Relapse induced by alcohol-associated environmental stimuli after extinction in rats. *Alcohol Clin Exp Res* 1999-c; 23 (supl.): 52A.
- Ciccocioppo R., Panocka I., Polidori C., Regoli D., Massi M. Effect of nociceptin on alcohol intake in alcohol-preferring rats. *Psychopharmacology* 1999-a; 141:220-4.
- 30 Ciccocioppo R., Sanna P.P., Weiss F. Cocaine-predictive stimulus induces drug-seeking behaviour and neural activation in limbic brain regions after multiple months of abstinence: reversal by D(1) antagonists. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001-b; 98 (4): 1976-81.
- Cohen C., Perrault G., Griebel G., Soubrié P. Nicotine-associated cues maintain nicotine-seeking behavior in rats several weeks after nicotine withdrawal: reversal by the cannabinoid (CB1) receptor antagonist, rimonabant (SR141716). *Neuropsychopharmacology*. 2005; 30:145-55.
- 35 Crews F., Nixon K., Kim D., Joseph J., Shukitt-Hale B., Qin L., Zou J. 2006. BHT blocks NF-kappaB activation and ethanol-induced brain damage. *Alcohol Clin Exp Res*. 30:1938-49.
- Cristiano L., Cimini A., Moreno S., Ragnelli A.M., Paola Ceru M. (2005). Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and related transcription factors in differentiating astrocyte cultures. *Neuroscience* 131: 577-587.
- 40 Crosby M. B., Zhang J., Nowing T. M., Svenson J. L., Nicol C. J., Gonzalez F. J. *et al.* (2006). Inflammatory modulation of PPAR gamma expression and activity. *Clin Immunol* 118:276-283 [publicación electrónica noviembre de 2005-2021].
- De Souza E. B. Corticotropin-releasing factor receptors: physiology, pharmacology, biochemistry and role in central nervous system and immune disorders. *Psychoneuroendocrinology* 1995; 20 (8): 789-819.
- 45 Deeb, S., Fajas, L., Nemoto, M., Laakso, M., Fujimoto, W. & Auwerx, J., (1998) *Nat Genet*. 20, 284-287.
- Di Chiara G., Imperato A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988; 85 (14): 5274-8.
- Dunn, A. J. y Berridge, C. W., Physiological and behavioural responses to corticotropin-releasing factor

- administration: is CRF a mediator of anxiety or stress responses?, *Brain Res Brain Res Rev*, 15, 71, 1990.
- Ehrman, R. N., Robbins, S. J., Childress, A. R., y O'Brien, C. P., Conditioned responses to cocaine-related stimuli in cocaine abuse patients, *Psychopharmacology*, 107, 523, 1992.
- 5 Erb Suzanne, Shaham Yavin, Stewart Jane. The Role of Corticotropin-Releasing Factor and Corticosterone in Stress- and Cocaine-Induced Relapse to Cocaine Seeking in Rats. *J Neurosci* 1998; 18 (14): 5529-3
- Feinstein D. L. (2003). Therapeutic potential of peroxisome proliferator-activated receptor agonists for neurological disease. *Diabetes Technol Ther* 5: 67-73.
- 10 Feinstein D. L., Galea E., Gavrilyuk V., Brosnan C. F., Whitacre C. C., Dumitrescu-Ozimek L., Landret G. E., Pershdsingh H. A., Heneka M. T: peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists prevent experimental autoimmune encephalomyelitis. *Ann Neuronal* 2002;51:694-702.
- Furumaka, S., *et al.* Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J. Clin. Invest.* 114: 1752-1761.
- 15 Glatz A. C., Ehrlich M., Bae R. S., Clarke M. J., Quinlan P. A., Brown E. C., Rada P., Hoebel B. G. Inhibition of cocaine self-administration by fluoxetine or D-fenfluramine combined with fentermine. *Pharmacol Biochem Behav.* 2002; 71:197-204.
- Goeders, N. E. y Guerin, G. F., Non-contingent electric shock facilitates the acquisition of intravenous cocaine self-administration in rats, *Psychopharmacology*, 114, 63, 1994.
- 20 Gonzalez-Zalueta, M., Ensz, L. M., Mukhina, G., Lebovitz, R. M., Zwacka, R. M., Engelhardt, J. F., Oberley, L. W., Dawson, V. L., Dawson, T. M., 1998. Manganese superoxide dismutase protects nNOS neurons from NMDA and nitric oxide-mediated neurotoxicity. *J. Neurosci.* 18, 2040-2055.
- Gracy, K. N., Dankiewicz, L. A., Weiss, F., y Koob, G. F., Heroin-specific cues reinstate heroin-seeking behaviour in rats after prolonged extinction, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 65, 489, 2000.
- Haney, M., Maccari, S., Le Moal, M., Simon, H., y Piazza, P. V., Social stress increases the acquisition of cocaine self-administration in male and female rats, *Brain Res.*, 698, 46, 1995.
- 25 Harris S. G., Phipps R. P.: Prostaglandin D (2), its metabolite 15- d- PGJ (2), and peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists induce apoptosis in trasformed, but not normal, human T lineage cells. *Immunology* 2002; 105: 23-34.
- Heinrichs, S. C., Merlo Pich, E., Miczek, K. A., Britton, K. T., y Koob, G. F., Corticotropin-releasing factor reduces emotionality in socially defeated rats via direct neurotropic action, *Brain Res.*, 581, 190, 1992.
- 30 Heneka M. T., Feinstein D. L., Gleichamann M., Wullner U., Klockgeter T: Peroxide proliferator-activated receptor gamma agonists protect cerebellar granule cells from cytokine-induced apoptotic cell death by inhibition of inducible nitric oxide synthase. *J Neuroimmunol* 1999;100:156-168.
- Higley, J. D., Hasert, M. F., Suomi, S. J., y Linnoila, M., Nonhuman primate model of alcohol abuse: effect of early experience, personality, and stress on alcohol consumption., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 7261, 1991.
- 35 Hofmann C., Lorenz K., Braithwaite S. S. *et al.* Altered gene expression for tumor necrosis factor- γ and its receptors during drug and dietary modulation of insulin resistance. *Endocrinology* 1994; 134:264-270.
- Hollenberg, A. N., Susulic, V. S., Madura, J. P., Zhang, B., Moller, D. E., Tontonoz, P., Sarraf, P., Spiegelman, (1997) *J. Biol. Chem.* 272, 5283-5290.
- 40 Hotta, K., *et al.* 2001. Circulating concentrations of the adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkeys. *Diabetes.* 50:1126-1133.
- Hu, E., Liang, P., y Spiegelman, B. M. (1996) Adipo Q is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J. Biol. Chem.* 271: 10697-10703.
- 45 Hwang, J., Kleinhenz, D. J., Lassegue, B., Griendling, K. K., Dikalov, S., Hart, C. M., 2005. Peroxisome proliferator activated receptor-gamma ligands regulate endothelial membrane superoxide production *Am. J. Physiol.:Cell Physiol.* 288,C899-C905.
- Jiang C, Ting A. T., Seed B. (1998) PPAR γ agonists inhibit production of monocyte inflammatory cytokines. *Nature* 391:82-86.
- Kainu T, Wikstrom A. C., Gustafsson J. A., Pelto-Huikko M.: Localization of the peroxisome proliferator-activated receptor in the brain. *Neuroreport* 1994; 5:2481-2485.

- Katner, S. N., Magalong, J. G., y Weiss, F., Reinstatement of alcohol-seeking behaviour by drug-associated discriminative stimuli after prolonged extinction in the rat, *Neuropsychopharmacology*, 20, 471, 1999.
- Katner S. N. y Weiss F. Ethanol-associated olfactory stimuli reinstate ethanol-seeking behaviour after extinction and modify extracellular dopamine levels in the nucleus accumbens. *Alcohol Clin Exp Res* 1999;23:1751.
- 5 Kielian, T., Drew, P. D., 2003. Effects of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists on central nervous system inflammation. *J. Neurosci. Res.* 71, 315-325.
- Kliwer, S. A., Lenhard, J. M., Willson, T. M., Patel, I., Morris, D. C., Lehmann, J. M., 1995. A prostaglandin J2 metabolite binds peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and promotes adipocyte differentiation. *Cell* 83, 813-819.
- 10 Koob G. F., Heinrichs S. C. , Menzaghi F., *et al.* Corticotropin releasing factor, stress and behaviour. *Semin Neurosci* 1994;6:221.
- Koob G. F., Sanna P. P., Bloom F. E. Neuroscience of addiction. *Neuron* 1998; 21:467-76.
- Koob G. F. Drugs of abuse: Anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends Pharmacol Sci* 1992; 13:177-84.
- 15 Kubota, N., *et al.*, Pioglitazone ameliorates insulin resistance and diabetes by both adiponectin dependent and independent pathways. *J. Biol. Chem.* 281:8748-8755.
- Landret G. E, Heneka M. T: Anti-inflammatory actions of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2001; 22:937-944.
- 20 Le A. D., Harding S., Juzysch W., Watchus J., Shalev U., Shaham Y. The role of corticotrophin-releasing factor in stress-induced relapse to alcohol-seeking behaviour in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2000; 150 (3): 317-24.
- Lê A. D, Harding S., Juzysch W., Funk D., Shaham Y. Role of alpha-2 adrenoceptors in the stress-induced reinstatement of alcohol seeking and alcohol self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2005;179:366-73.
- 25 Lee B., Tiefenbacher S., Platt D. M., Spealman R. D. Pharmacological blockade of alpha2-adrenoceptors induces reinstatement of cocaine-seeking behavior in squirrel monkeys. *Neuropsychopharmacology*. 2004; 29:686-93.
- Letteron P., Fromenty B., Terris B. Acute and chronic hepatic steatosis lead to *in vivo* lipid peroxidation in mice. *J Hepatol* 1996; 24:200-208.
- Levine J. A., Harris M. M., Morgan M. Y. Energy expenditure in chronic abuse. *Eur. J. Clin. Invest.* 2000; 30:779-787.
- 30 Liu, X. y Weiss, F., Reinstatement of ethanol-seeking behaviour by stress- and drug-related cues in rats with a history of ethanol dependence, *Soc. Neurosci. Abstr.* 26, 786, 2000.
- Liu X., Weiss F. Reversal of ethanol-seeking behaviour by D1 and D2 antagonists in an animal model of relapse: differences in antagonist potency in previously ethanol- dependent versus nondependent rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 300 (3): 882-9.
- 35 Maeda, K., *et al.* 1996. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (Adipose most abundant Gene transcript 1). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 221: 286-289.
- Maeda, N., *et al.* 2001. PPAR γ ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose derived protein. *Diabetes*. 50:2094-2099.
- Mao, X., *et al.* 2006. APPL1 binds to adiponectin receptors and mediates adiponectin signalling and function. *Nat. Cell Biol.* 8:516-523.
- 40 Marlatt, G. A., Relapse prevention: introduction and overview of the model, in *Relapse Prevention: Maintenance Strategies in the Treatment of Addictive Behaviours*, Guilford, London, 1985, 3.
- McKay, J. R., Rutherford, M. J., Alterman, A. I., Cacciola, J. S., y Kaplan, M. R., An examination of the cocaine relapse process, *Drug Alcohol Dep.*, 38, 35, 1995.
- 45 McCusker C. G., Brown K. The cue-responsivity phenomenon in dependent drinkers: 'personality' vulnerability and anxiety as intervening variables. *Br J Addict* 1991;86:905-12.
- McEwen B. S., Magarinos A. M., Reagan L. P. 2002. Studies of hormone action in the hippocampal formation: possible relevance to depression and diabetes. *J Psychosom Res.*; 53 (4): 883-90.

- Merali, Z., McIntosh, J., Kent, P., Michaud, D., y Anisman, H., Aversive and Appetitive Events Evoke the Release of Corticotropin-Releasing Hormone and Bombesin-Like Peptides at the Central Nucleus of the Amygdala, *J. Neurosci.*, 18,4758,1998.
- 5 Merlo Pich, E., Lorang, M. T., Yeganeh, M., De Fonseca, F. R., Raber, J., Koob, G. F., y Weiss, F., Increase of extracellular corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity levels in the amygdala of awake rats during restraint stress and ethanol withdrawal as measured by microdialysis, *J. Neurosci.*, 15, 5439, 1995.
- Miller, N. S. y Gold, M. S., Dissociation of "conscious desire" (craving) from and relapse in alcohol and cocaine dependence, *Ann. Clin. Psychiatry*, 6, 99, 1994.
- 10 Mollenauer, S., Bryson, R., Robinson, M., Sardo, J., y Coleman, C., EtOH Self-administration in anticipation of noise stress in C57BL/6J mice, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 46, 35, 1993.
- Monti P. M., Rohsenow D. J., Rubonis A. V., Niaura R. S., Sirota A. D., Colby S. M., Abrams D. B. Alcohol cue reactivity: effects of detoxification and extended exposure. *J Stud Alcohol* 1993;54:235-45.
- Nash, J., Jr. y Maickel, R. P., The role of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis in post-stress induced ethanol consumption by rats, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 12, 653, 1988.
- 15 Nishikawa T, Mataga N, Takashima M, Toru M (1993). Behavioural sensitization and relative hyperresponsiveness of striatal and limbic dopaminergic neurons after repeated MHET treatment. *Eur J Pharmacol* 88: 195-203.
- O'Brien CP (1997). A range of research-based pharmacotherapies for addiction. *Science* 278: 66-70.
- Oliveira A. *et al.*, Antinociceptive and antiedematogenic activities of fenofibrate, an agonist of PPAR alpha, and pioglitazona, an agonist of PPAR gamma, *Eur J Pharmacol.* 561 (1-3): 194-201 (2007).
- 20 Panocka I, Ciccocioppo R, Mosca M, Polidori C, Massi M. Effects of the dopamine D1 receptor antagonist SCH 39166 on the ingestive behaviour of alcohol-preferring rats. *Psychopharmacology (Berl)* 1995; 120 (2): 227-35.
- Park, E.J., Park, S.Y., Jou, I., 2003 15d-PGJ2 and rosiglitazone suppress janus kinase-STAT inflammatory signaling through induction of suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS1) and SOCS3 in glia. *J. Biol. Chem.* 278,14747-14752.
- 25 Peltier R, Schenk S. Effects of serotonergic manipulations on cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 1993;110:390-4.
- Pomerleau, O. F., Fertig, J., Baker, L., y Cooney, N., Reactivity to alcohol cues in alcoholics and non-alcoholics: Implications for the stimulus control analysis of drinking, *Addict. Behav.*, 8, 1, 1983.
- 30 Ramsey, N. F, y Van Ree, M., Emotional but not physical stress enhances intravenous cocaine self-administration in drug naive rats, *Brain Res.*, 608, 216, 1993.
- Rauhut A. S., Neugebauer N., Dwoskin L. P., Bardo M. T. Effect of bupropion on nicotine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2003;169:1-9.
- Sanchis-Segura C., Spanagel R. Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: an overview. *Addict Biol.* 2006;11:2-38.
- 35 Shaham, Y., Immobilization stress-induced oral opioid self-administration and withdrawal in rats: role of conditioning factors and the effect of stress on "relapse" to opioid drugs, *Psychopharmacology*, 111, 477, 1993.
- Shaham Y y Stewart J. Stress reinstates heroin-seeking in drug-free animals: an effect mimicking heroin, not withdrawal. *Psychopharmacology* 1995;119:334.
- 40 Shalev U., Yap J., Shaham Y. 2001 Leptin attenuates acute food deprivation-induced relapse to heroin seeking. *J Neurosci.* 15;21 (4):RC129.
- Sorensen T. I., Orholm M., Bentsen K. D., Hoybye G., Eghoj K., Christoffersen P. 1984 Prospective evaluation of alcohol abuse and alcoholic liver injury in men as predictors of development of cirrhosis. *Lancet.* 2 (8397): 241-4.
- Sorge R. E., Rajabi H., Stewart J. Rats maintained chronically on buprenorphine show reduced heroin and cocaine seeking in tests of extinction and drug-induced reinstatement. *Neuropsychopharmacology.* 2005;30:1681-92.
- 45 Souza S. C., Yamamoto M. T., Franciosa M. D., Lien P., BRL 49653 blocks the lipolytic actions of tumor necrosis factor- α : a potential new insulin sensitizing mechanism for thiazolidindiones. *Diabetes* 1998; 47:691-695.
- Steensland P., Simms J. A., Holgate J., Richards J. K., Bartlett S. E. Varenicline, an $\alpha 4 \beta 2$ nicotinic acetylcholine receptor partial agonist, selectively decreases ethanol consumption and seeking. *Proc Natl Acad Sci U*

S A. 2007; 104:12518-23.

Stormark, K. M., Laberg, J. C., Bjerland, T., Nordby, H., y Hugdahl, K., Autonomic cued reactivity in alcoholics: The effect of olfactory stimuli, *Addict. Behav.*, 20, 571, 1995.

5 Swiergiel, A. H., Takahashi, L. K., y Kalin, N. H., Attenuation of stress-induced behaviour by antagonism of corticotropin-releasing factor receptors in the central amygdala in the rat, *Brain Res*, 623, 229, 1993.

Takehara T., Nakamura T., Protective effect of hepatocyte growth factor on *in vitro* hepatitis in primary cultured hepatocytes. *Biomed. Res.* 1991; 12:335-338.

Tiffany, S. T. y Carter, B. L., Is craving the source of compulsive drug use?, *J Psychopharmacol*, 12, 23, 1998.

10 Tsuchida, A., *et al.* 2005. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha activation increases adiponectin receptors and reduces obesity related inflammation in adipose tissue: comparison of activation of PPARalpha, PPARgamma, and their combination. *Diabetes*. 54:3358-3370.

Volpicelli J. R., Alterman A. I., Hayashida M., O'Brien C. P. naltrexona in the treatment of alcohol dependence. *Arch Gen Psychiatry* 1992;49:876-880.

15 Wallace, B. C., Psychological and environmental determinants of relapse in crack cocaine smokers, *J Sust Abuse Treat*, 6, 95, 1989.

Weiss, F. y Ciccocioppo, R., Environmental stimuli potently reinstate alcohol-seeking behaviour: Effect of repeated alcohol intoxication, *Soc. Neurosci. Abstr.*, 25, 1081, 1999.

20 Weiss F., Ciccocioppo R., Parsons L. H., Katner S., Liu X., Zorrilla E. P., Valdez G. R., Ben-Shahar O., Angeletti S., Richter R. R. Compulsive drug-seeking behaviour and relapse. Neuroadaptation, stress, and conditioning factors. *Ann N Y Acad Sci* 2001;937:1-26.

Weiss F., Lorang M. T., Bloom F. E., Koob G. F. Oral alcohol self-administration stimulates dopamine release in the rat nucleus accumbens: genetic and motivational determinants. *J Pharmacol Exp Ther* 1993;267:250-8.

25 Weiss, F., Maldonado-Vlaar, C. S., Parsons, L. H., Kerr, T. M., Smith, D. L., y Ben-Shahar, O., Control of cocaine seeking behaviour by drug-associated stimuli in rats: Effects on recovery of extinguished operant responding and extracellular dopamine levels in amygdala and nucleus accumbens, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 4321, 2000.

Wise R. A. Drug activation of brain reward pathways. *Drug Alcohol Depend* 1998;51:13-22.

Wu Z., Bucher N. L., Farmer S. R. (1996). Induction of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma during the conversion of 3t3 fibroblasts into adipocytes is mediated by C/EBPbeta, C/EPBdelta, and glucocorticoids. *Mol Cell Biol* 16: 4128-4136.

30 Yamauchi, T., *et al.* 2001. The fat derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat. Med.* 7:941-946.

Yamauchi, T., *et al.* 2003. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nat. Med.* 423:762-769.

35 Yu X, Shao X. G., Sun H., Li Y. N., Yang J., Deng Y. C., Huang Y. G. Activation of cerebral peroxisome proliferator-activated receptors gamma exerts neuroprotection by inhibiting oxidative stress following pilocarpine-induced status epilepticus. *Brain Res.* 2008;1200C:146-58.

Yu, J.G., *et al.* 2002. The effect of thiazolidindiones on plasma adiponectin levels in normal, obese, and type 2 diabetic subjects. *Diabetes*. 51:2968-2974.

40 Zalcman S., Savina I., Wise R. A. (1999). Interleukin-6 increases sensitivity to the locomotor-stimulating effects of amphetamine in rats. *Brain Res* 847: 276-283.

Zhao, M. L., Brosnan, C. F., Lee, S. C., 2004. 15-Deoxy-delta (12-14) -PGJ2 inhibits astrocyte IL-1 signaling: inhibition of NF-kappaB and MAP kinase pathways and suppression of cytokine and chemokine expression. *J. Neuroimmunol.* 153, 132-142.

REIVINDICACIONES

1. Agonista del receptor gamma activado por proliferador de peroxisomas (PPAR γ) para su uso en el tratamiento o la prevención de una adicción a un agente adictivo seleccionado del grupo que consiste en alcohol y un agonista opioide.
- 5 2. Agonista de PPAR γ para su uso según la reivindicación 1, en el que el agente adictivo es alcohol; o un agonista opioide seleccionado del grupo que consiste en: morfina, metadona, fentanilo, sufentanilo y heroína.
3. Agonista de PPAR γ para su uso según la reivindicación 1 ó 2, en el que el agonista de PPAR γ es una tiazolidindiona (TZD).
- 10 4. Agonista de PPAR γ para su uso según la reivindicación 3, en el que la TZD se selecciona del grupo que consiste en: pioglitazona, rosiglitazona, ciglitazona, troglitazona, englitazona, rivoglitazona y darglidazona.
5. Agonista de PPAR γ para su uso según la reivindicación 4, en el que la TZD es pioglitazona.
6. Composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de una adicción a un agente adictivo seleccionado del grupo que consiste en alcohol y un agonista opioide, que comprende un agonista de receptor gamma activado por proliferador de peroxisomas (PPAR γ) y un agente terapéutico adicional, en el que cada uno del agonista de PPAR γ y del agente terapéutico adicional contribuyen al tratamiento o la prevención eficaz de la adicción.
- 15 7. Forma farmacéutica unitaria de una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de una adicción a un agente adictivo seleccionado del grupo que consiste en alcohol y un agonista opioide, comprendiendo dicha forma farmacéutica unitaria un agonista de receptor gamma activado por proliferador de peroxisomas (PPAR γ) y un agente terapéutico adicional, comprendiendo dicha forma farmacéutica unitaria el agonista de PPAR γ y el agente terapéutico adicional en una cantidad combinada eficaz en el tratamiento de la adicción, y en la que cada uno del agonista de PPAR γ y del agente terapéutico adicional contribuyen al tratamiento o la prevención eficaz de la adicción.
- 20 8. Forma farmacéutica unitaria para su uso según la reivindicación 7, comprendiendo dicha forma farmacéutica unitaria el agonista de PPAR γ en una cantidad eficaz para evitar que el sujeto sea adicto, o reducir la probabilidad de que el sujeto se vuelva adicto, al agente terapéutico adicional.
9. Kit para su uso en la prevención de una adicción a un agente adictivo seleccionado del grupo que consiste en alcohol y un agonista opioide que comprende: un primer envase que comprende un agonista de un receptor gamma activado por proliferador de peroxisomas (PPAR γ); y un segundo envase que comprende un agente terapéutico adicional, en el que cada uno del agonista de PPAR γ y del agente terapéutico adicional contribuyen al tratamiento o la prevención eficaz de la adicción.
- 30 10. Composición para su uso según la reivindicación 6, forma farmacéutica unitaria para su uso según la reivindicación 7 o kit para su uso según la reivindicación 9, en los que el agente terapéutico adicional es nicotina.
- 35 11. Composición para su uso según la reivindicación 6, forma farmacéutica unitaria para su uso según la reivindicación 7 o kit para su uso según la reivindicación 9, en los que el agente terapéutico adicional se selecciona del grupo que consiste en: un agonista de opioides, un antagonista parcial/antagonistas de opioides mixtos, un antidepresivo, un antiepiléptico, un antiemético, un antagonista del receptor de factor de liberación de corticotropina 1 (CRF-1), un antagonista selectivo de serotonina-3 (5-HT₃), un antagonista de 5-HT_{2A/2C} y un antagonista de receptor de cannabinoide-1 (CB1).
- 40 12. Composición, forma farmacéutica unitaria o kit para su uso según la reivindicación 11, en los que el agente terapéutico adicional es:
un antagonista de opioides seleccionado de naltrexona y nalmefeno;
un antidepresivo seleccionado del grupo que consiste en fluoxetina, mirtazapina y bupropión;
un antiepiléptico seleccionado del grupo que consiste en: topiramato, levetiracetam y gabapentina;
el antagonista del receptor CRF-1, antalarmina;
el antagonista selectivo de serotonina-3 (5-HT₃), ondansetrón;
un antagonista del receptor cannabinoide-1 (CB1) seleccionado de rimonabant y tanarabant; o
50 el agonista/antagonista de opioides mixto, buprenorfina.

13. Composición, forma farmacéutica unitaria o kit para su uso según la reivindicación 12, en los que: el agente adictivo es alcohol y el agente terapéutico adicional es un antagonista de opioides o un antagonista/agonista parcial opioide mixto.
- 5 14. Composición, forma farmacéutica unitaria o kit para su uso según la reivindicación 11, en los que el agonista de PPAR γ es pioglitazona y el agente terapéutico adicional es naltrexona.
15. Composición para su uso según la reivindicación 6, forma farmacéutica unitaria para su uso según la reivindicación 7 o kit para su uso según la reivindicación 9, en los que el agente terapéutico adicional es un agonista opioide.
- 10 16. Composición, forma farmacéutica unitaria o kit para su uso según la reivindicación 15, en los que el agonista de PPAR γ es pioglitazona, y el agonista opioide se selecciona del grupo que consiste en: morfina, metadona, fentanilo, sufentanilo, diacetilmorfina (heroína), alfentanilo, alilprodina, alfaprodina, anileridina, apomorfina, bencilmorfina, beta-hidroxi-3-metilfentanilo, becitramida, carfentanilo, clonitaceno, codeína, desomorfina, dextromoramida, diampromida, dihidrocodeína, dihidroetorfina, dihidromorfina, dimenoxadol, dimefeptanol, dimetiltiambuteno, butirato de dioxafetilo, dipipanona, eptazocina, etoheptacina, etilmetiltiambuteno, etilmorfina, etonitaceno, etorfina, hidrocodona, hidromorfona, hidroxipetidina, isometadona, cetobemidona, LMM, levorfanol, levofenacilmorfano, lofentanilo, meperidina, metopón, metazocina, acetato de metadilo, metapón, mirofina, narceína, nicomorfina, norlevorfanol, normetadona, normorfina, norpipanona, opio, oxicodona, oximorfona, papaverina, fenadoxona, fenomorfano, fenoperidina, piminodina, piritramida, proheptacina, promedol, properidina, propoxifeno, remifentanilo, sufentanilo, tebaína, tilidina, tramadol, noscapina, nalorfina, naloxona, naltrexona, fenazocina y propoxifeno.
- 15 17. Uso de un agonista de un receptor gamma activado por proliferador de peroxisomas (PPAR γ) para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una adicción a un agente adictivo seleccionado del grupo que consiste en alcohol o un agonista opioide.
- 20 18. Uso según la reivindicación 17, en combinación con un agente terapéutico adicional, en el que la cantidad del agonista de PPAR γ es una cantidad eficaz para evitar que un sujeto sea adicto, o reducir la probabilidad de que el sujeto se vuelva adicto, al agente terapéutico adicional.
- 25 19. Uso según la reivindicación 17 ó 18, en el que el sujeto redujo o eliminó previamente el uso del agente adictivo en respuesta a un tratamiento antiadicción, y en el que el sujeto ya no está expuesto al tratamiento antiadicción.
- 30 20. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 19, que comprende proporcionar una cantidad eficaz del agonista de PPAR γ a un sujeto que experimenta abstinencia fisiológica del agente adictivo, que es eficaz para reducir uno o más síntomas asociados con la abstinencia fisiológica del agente adictivo.
- 35 21. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 17 a 20, que comprende además proporcionar al sujeto un agente terapéutico adicional, en el que cada uno del agonista de PPAR γ y el agente terapéutico adicional contribuyen al tratamiento o la prevención eficaz de la adición o recaída en el uso, o la reducción de uno o más síntomas asociados con la abstinencia fisiológica del agente adictivo.
- 40 22. Agonista de PPAR γ para su uso según la reivindicación 1, que comprende determinar que un sujeto tiene o corre el riesgo de desarrollar la adicción; y proporcionar una cantidad eficaz del agonista de PPAR γ al sujeto.
23. Agonista de PPAR γ para su uso según la reivindicación 22, que comprende proporcionar una cantidad eficaz del agonista de PPAR γ a un sujeto, que ha experimentado un periodo de abstinencia de, o ha limitado o reducido el uso de, el agente adictivo, que es eficaz para prevenir la recaída en el uso del agente adictivo.

Efecto de pioglitazona sobre la ingesta de etanol

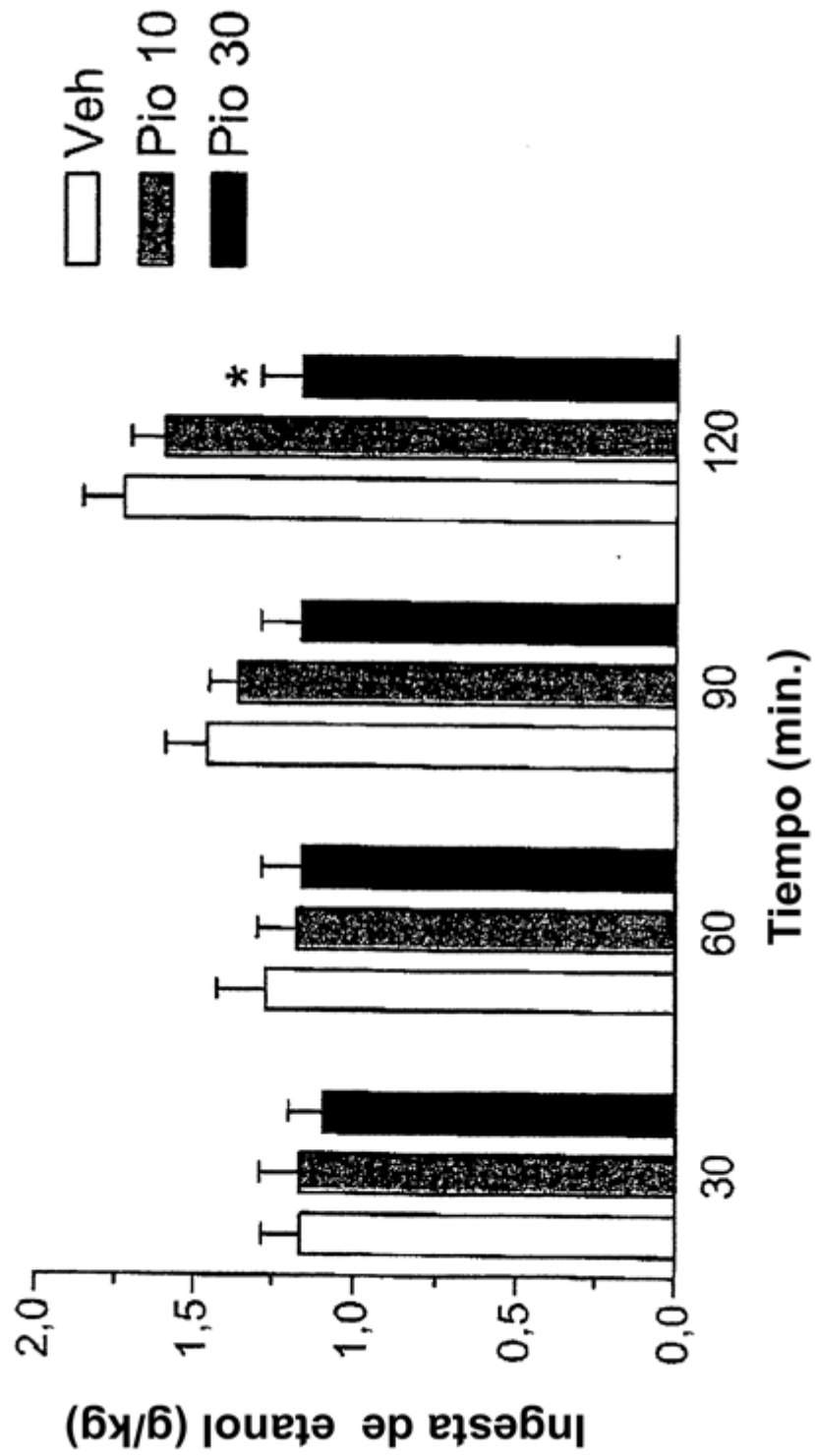


FIG. 1

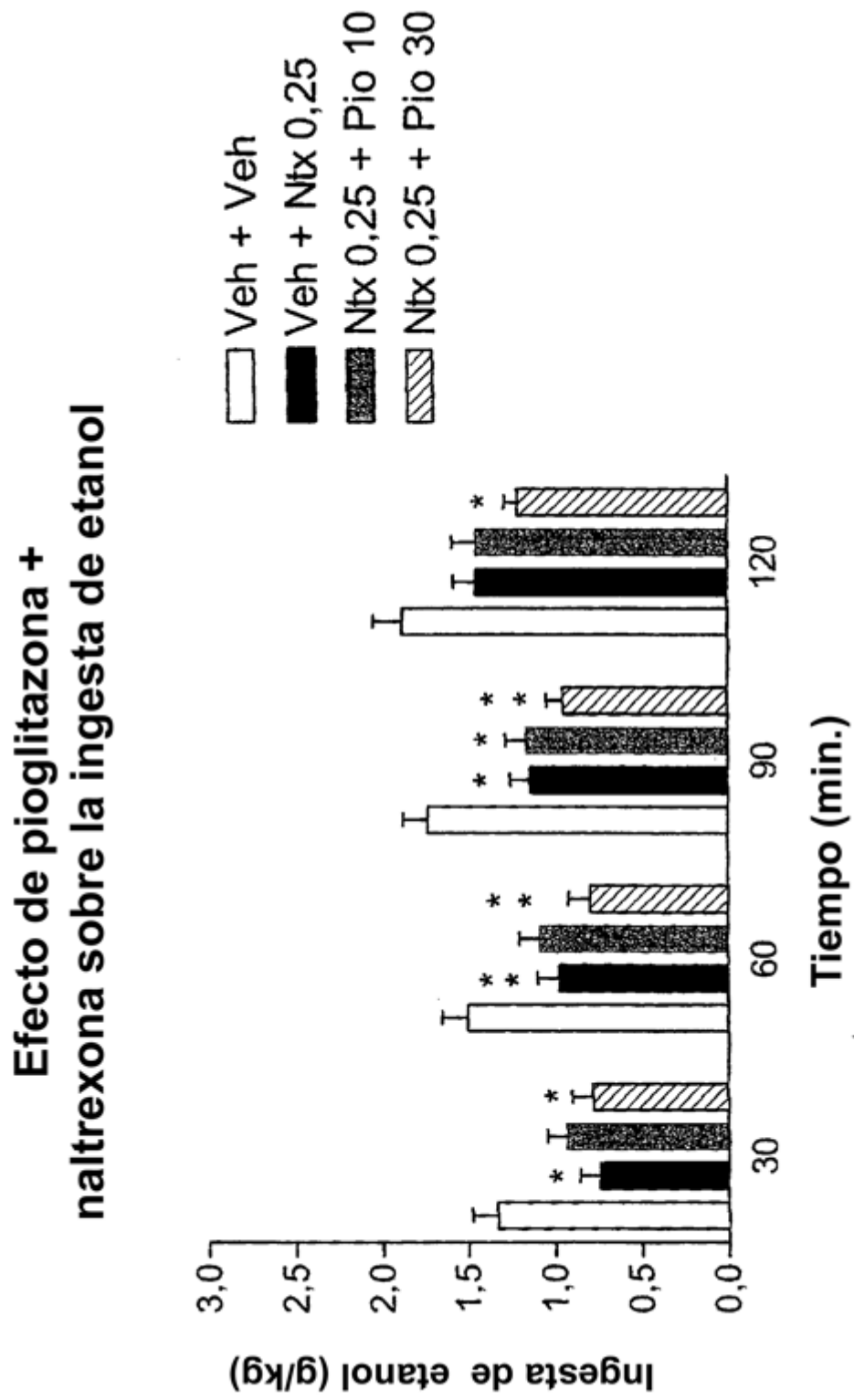


FIG. 2

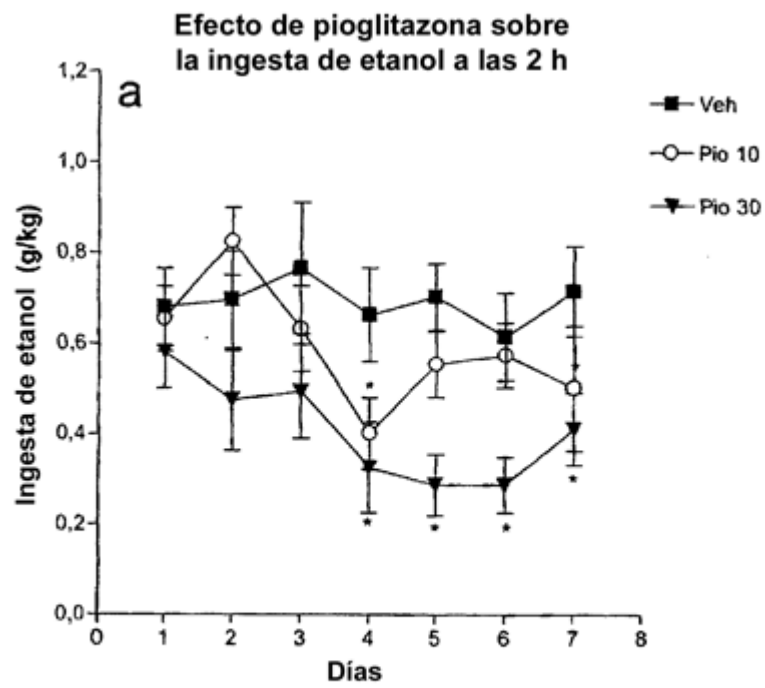


FIG. 3A

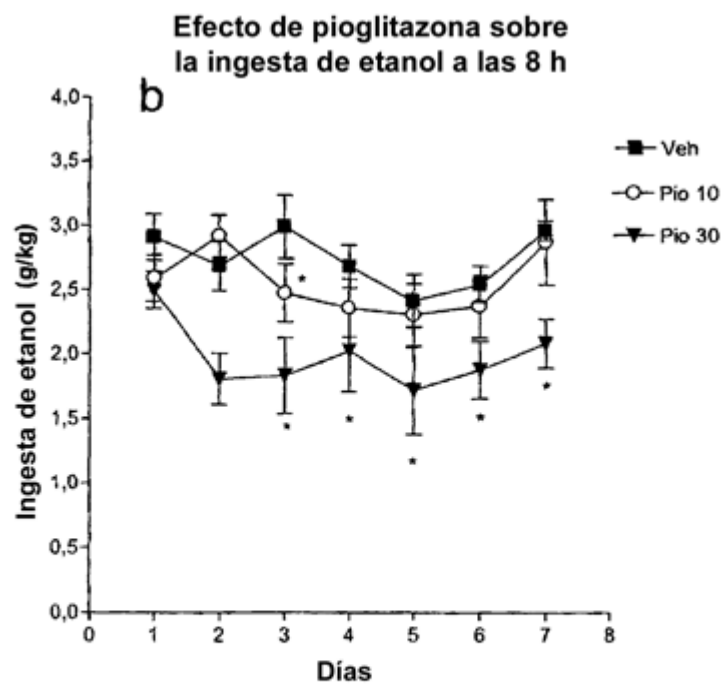


FIG. 3B

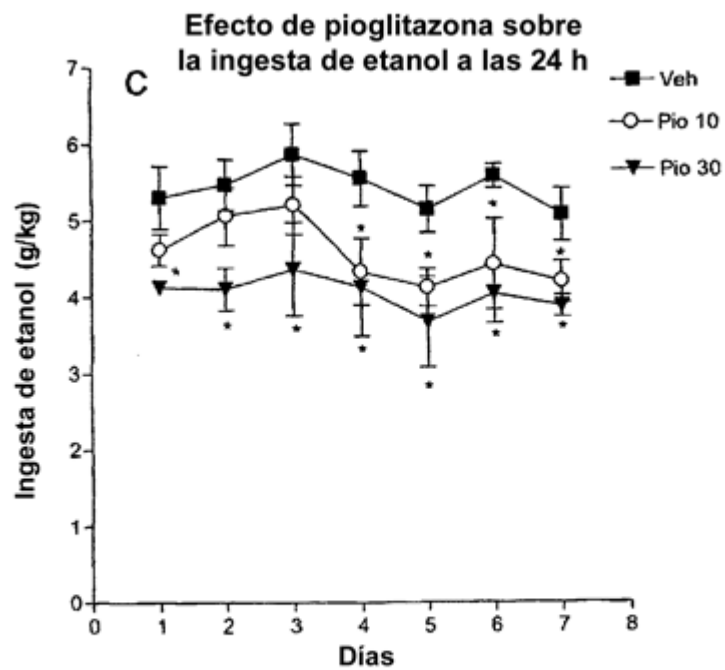


FIG. 3C

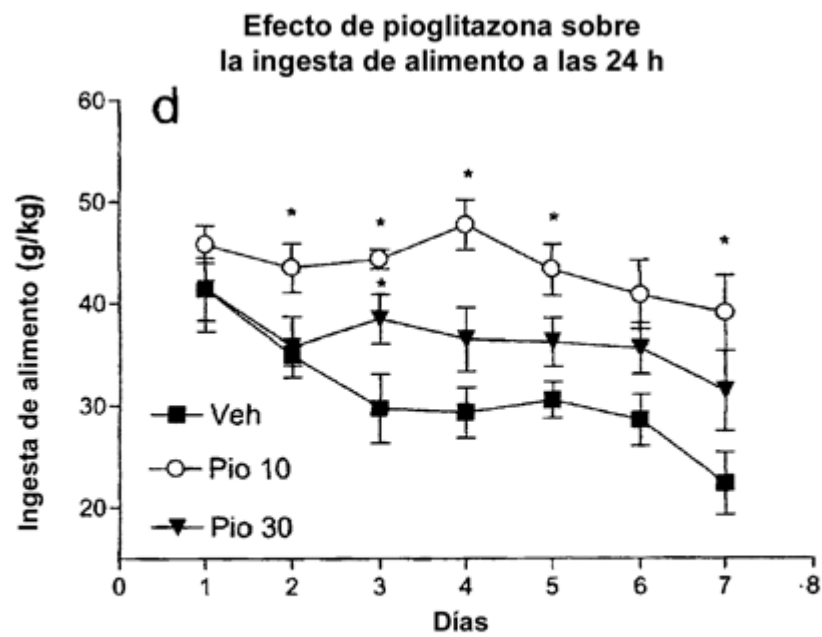


FIG. 3D

Efecto de pioglitazona + naltrexona sobre la ingesta de etanol a las 2 h

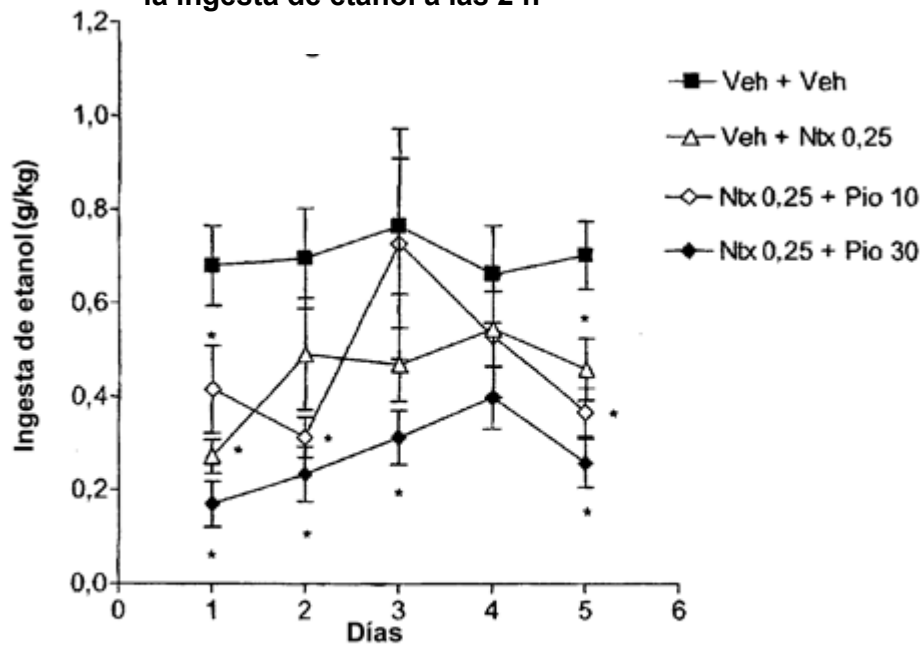


FIG. 4A

Efecto de pioglitazona + naltrexona sobre la ingesta de etanol a las 8 h

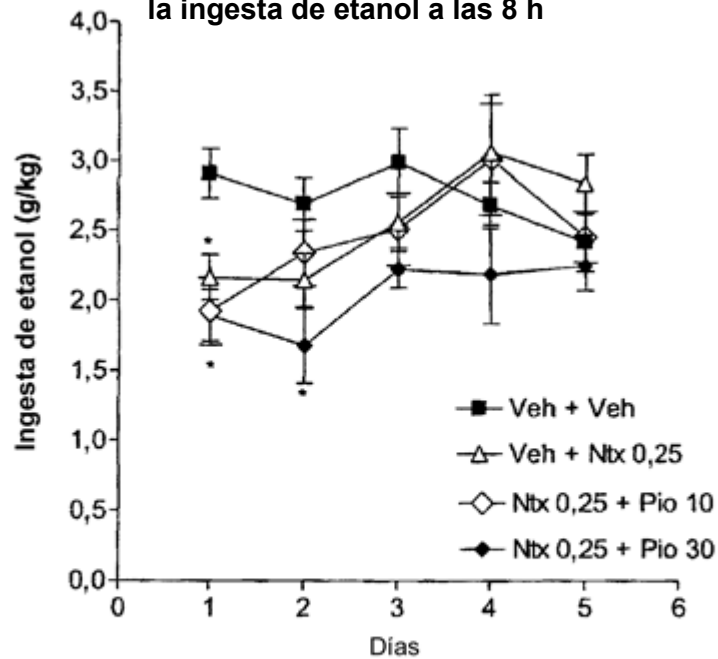


FIG. 4B

Efecto de pioglitazona + naltrexona sobre la ingesta de etanol a las 24 h

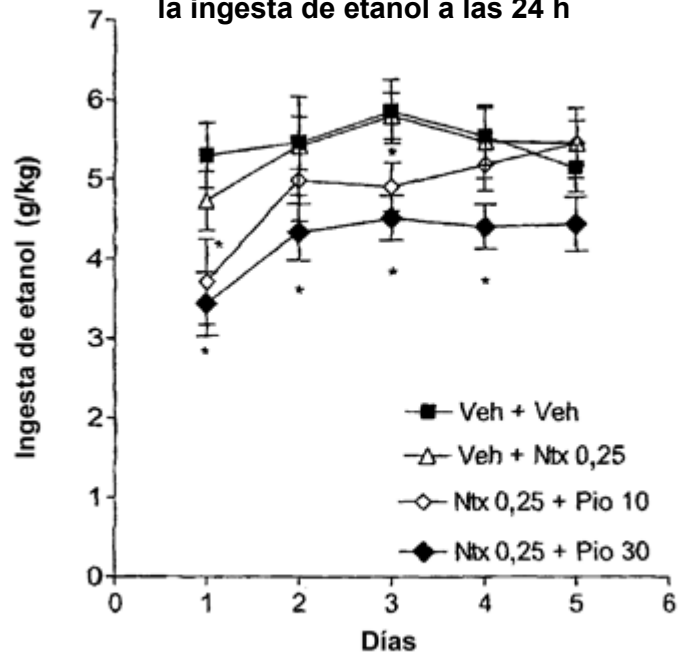


FIG. 4C

Efecto de pioglitazona + naltrexona sobre la ingesta de alimento a las 24 h

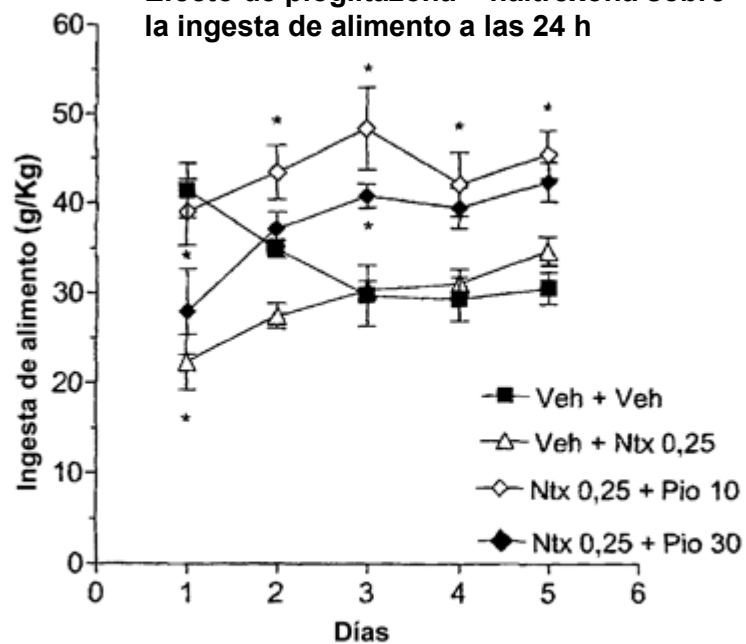


FIG. 4D

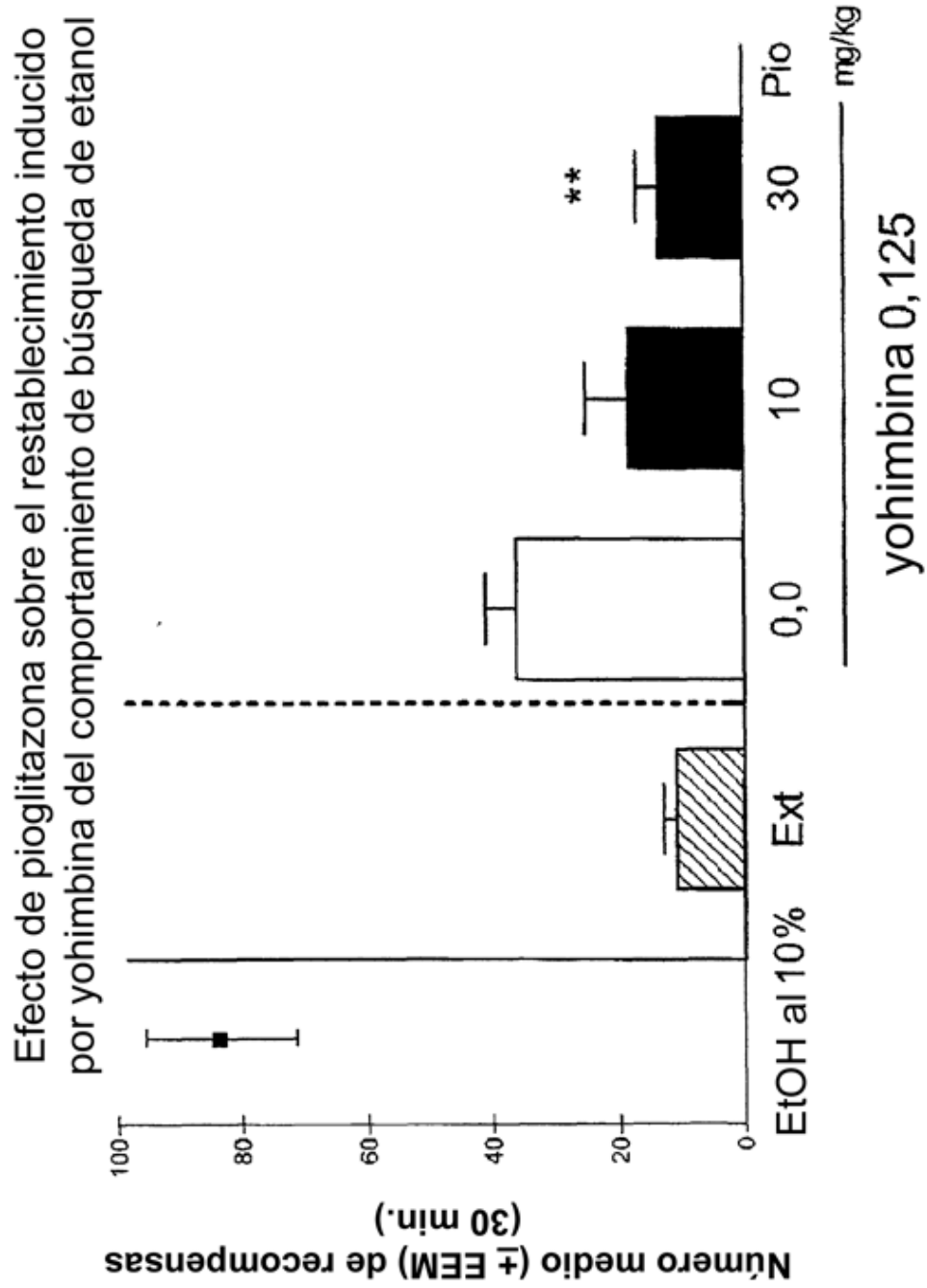


FIG. 5

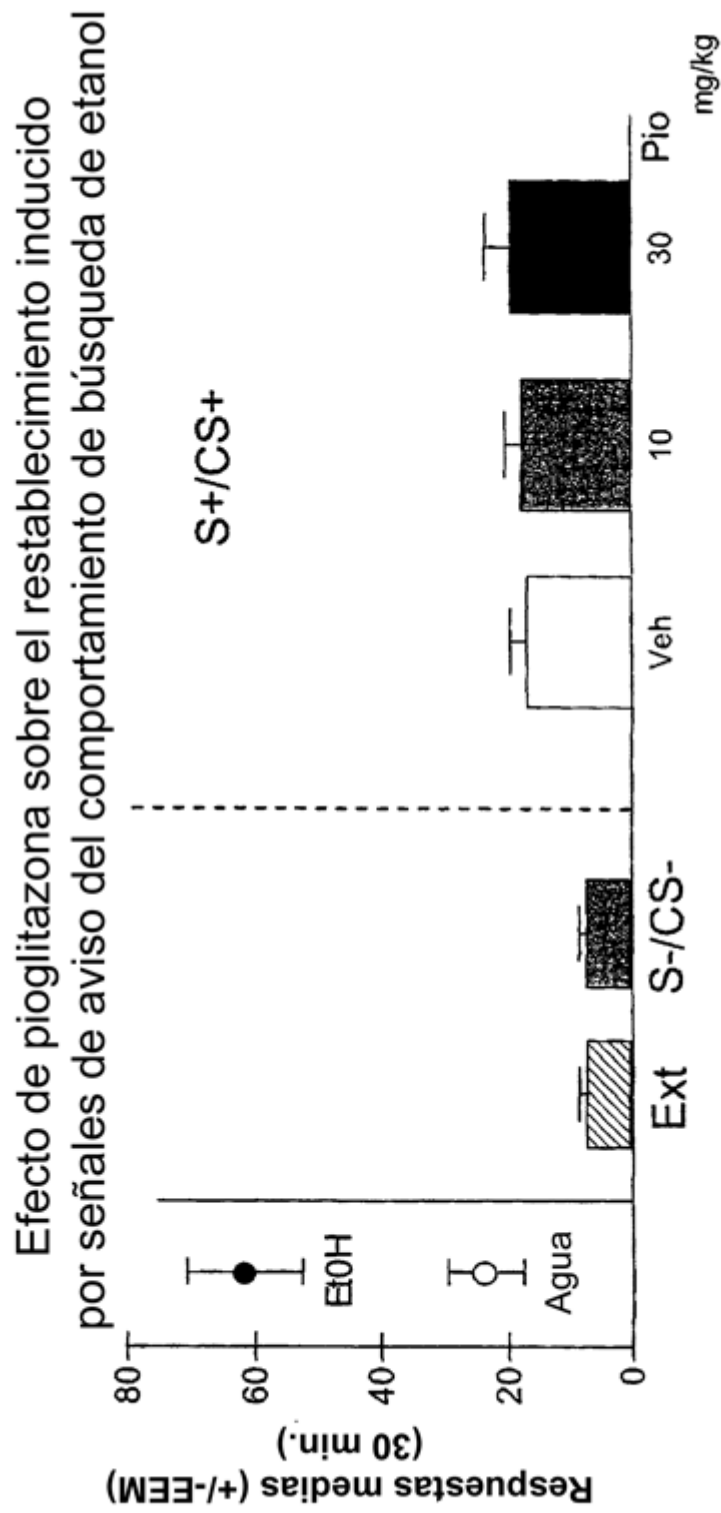


FIG. 6

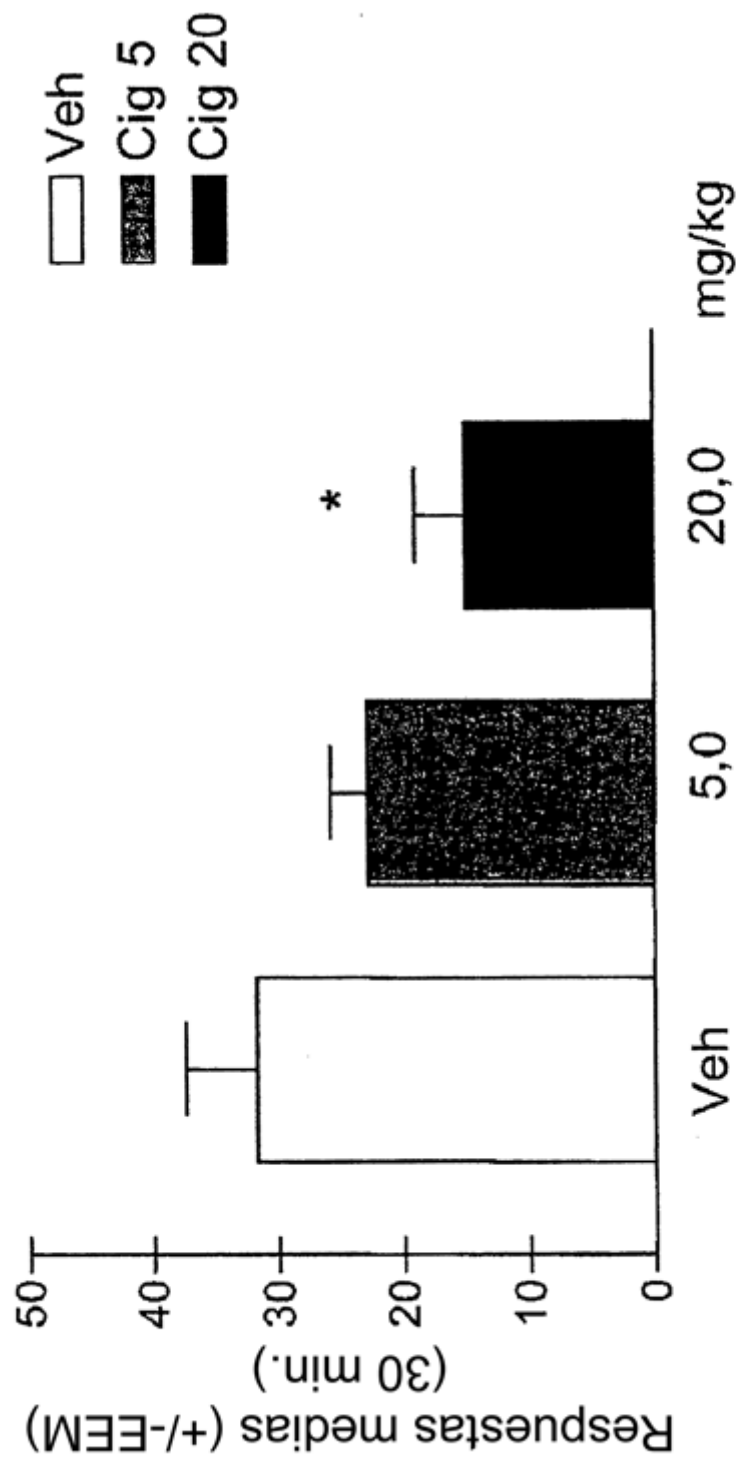


FIG. 7

Efecto de rosiglitazona sobre la ingesta de etanol

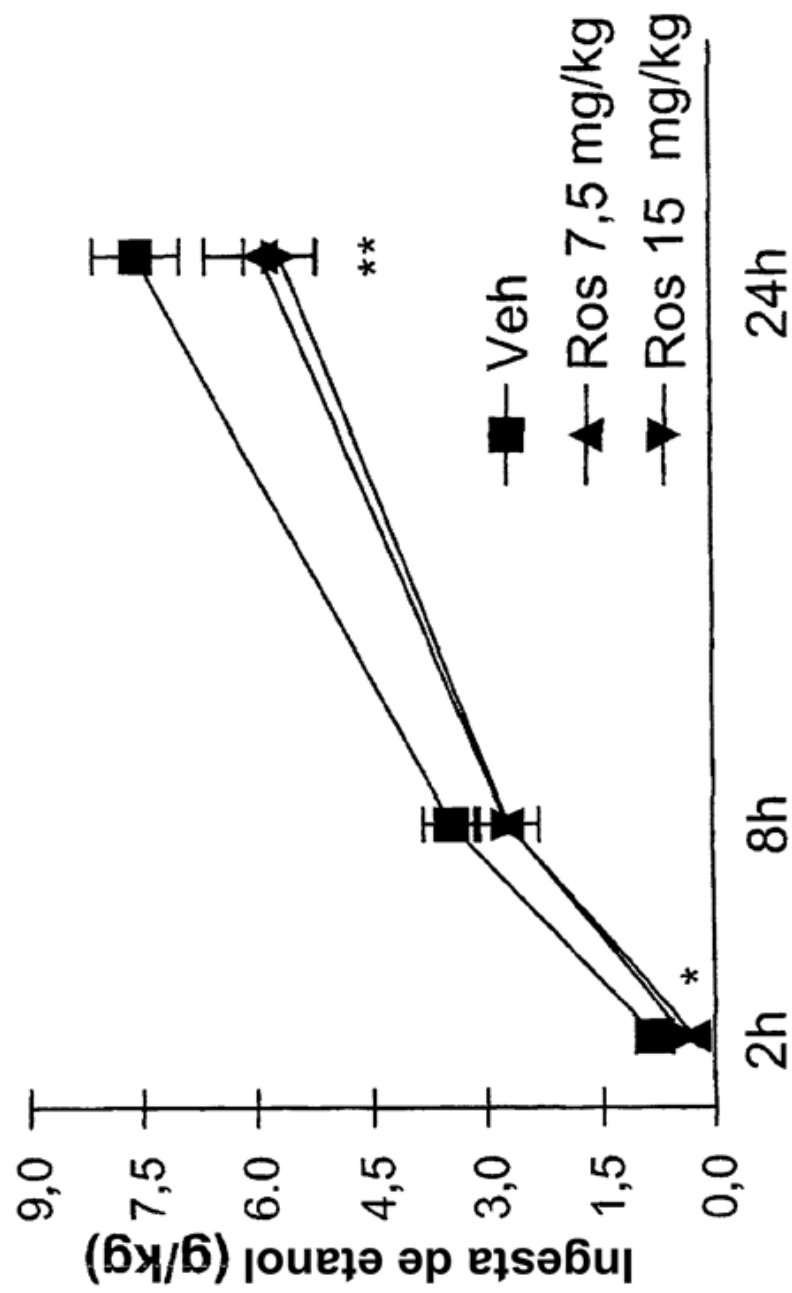


FIG. 8

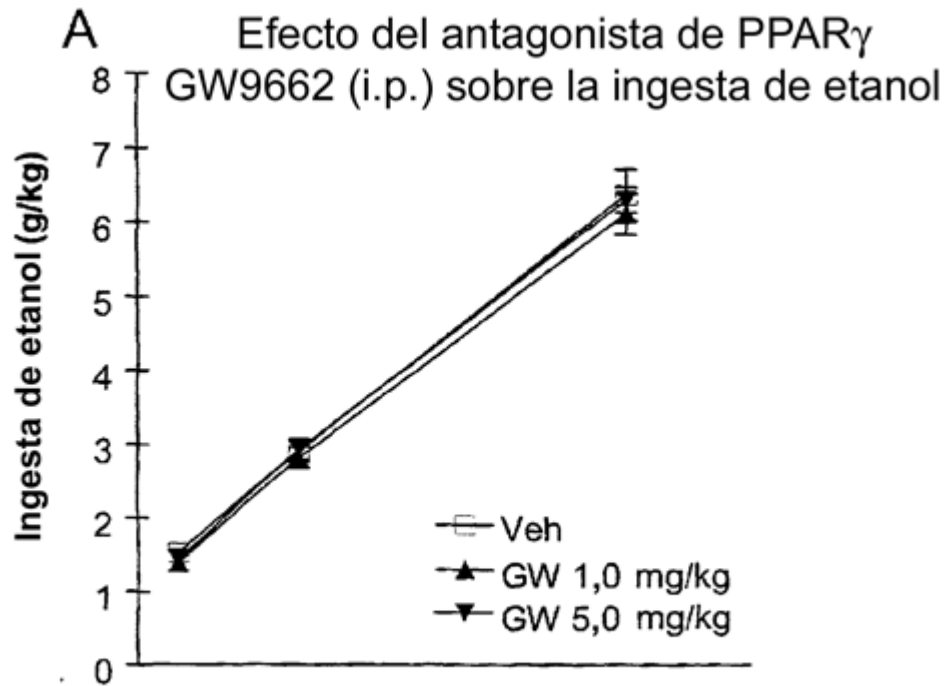


FIG. 9A

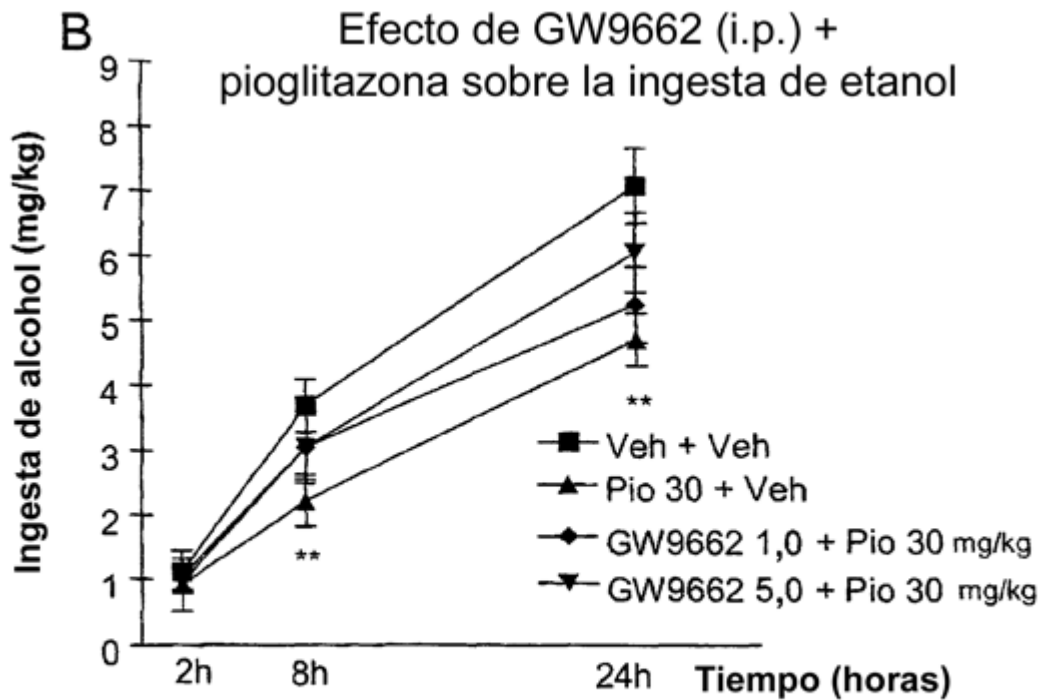


FIG. 9B

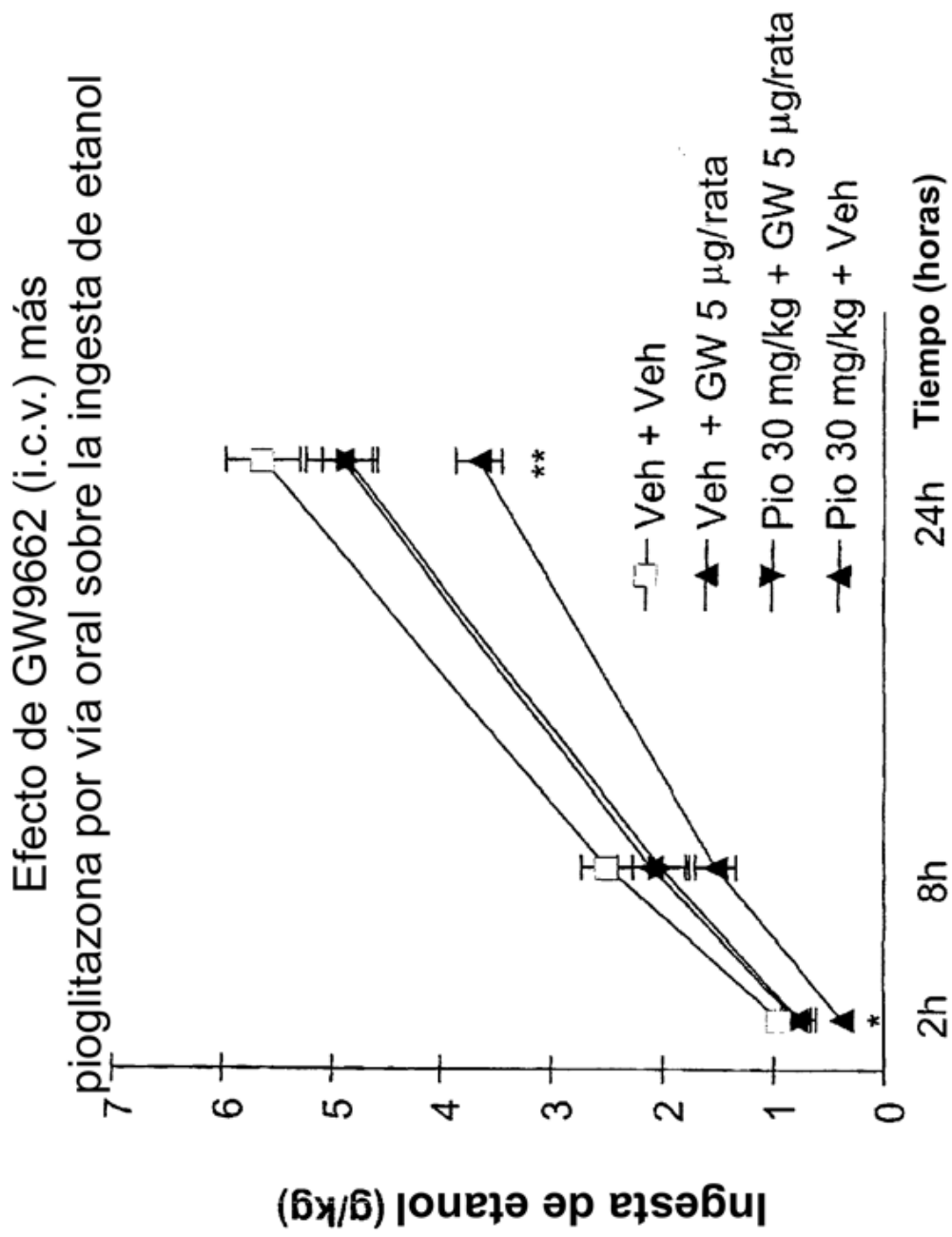
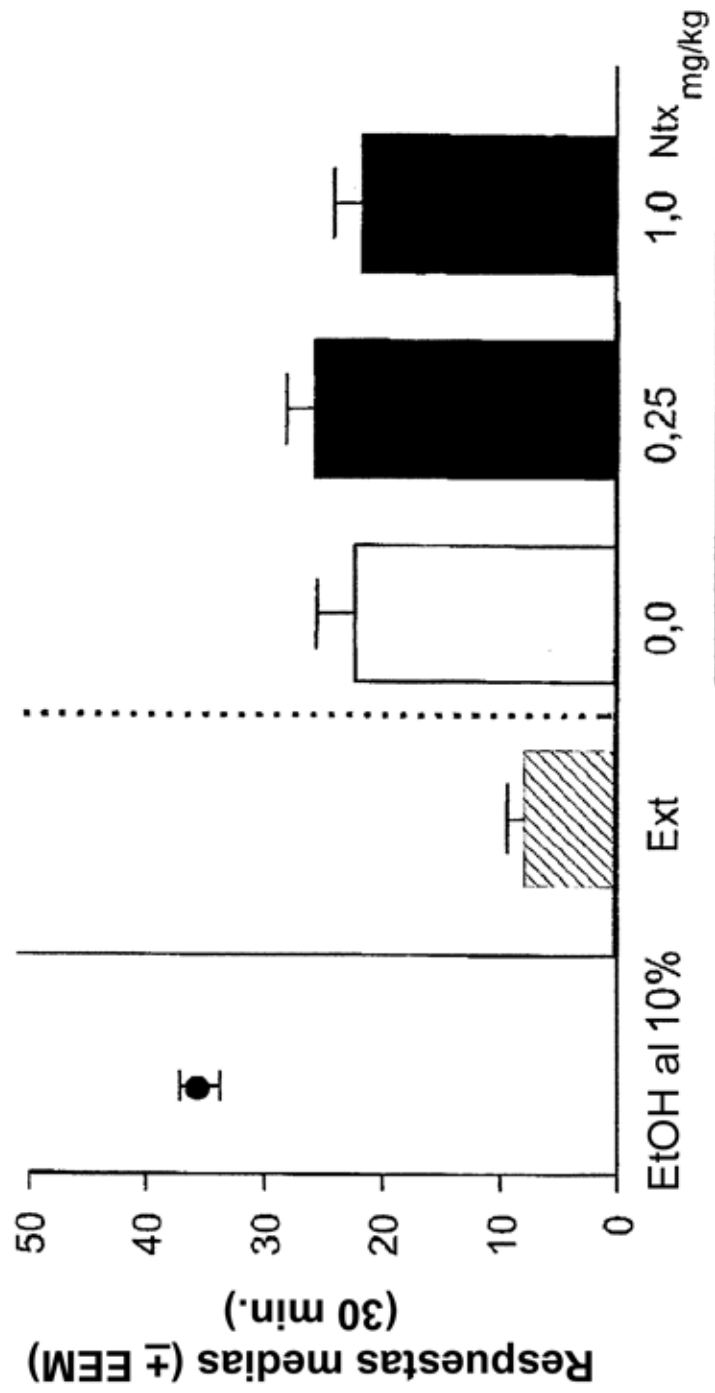


FIG. 10

Efecto de naltrexona sobre el restablecimiento inducido por yohimbina del comportamiento de búsqueda de etanol



yohimbina 0,125

FIG. 11

Efecto de naltrexona sobre el restablecimiento inducido por señales de aviso del comportamiento de búsqueda de etanol

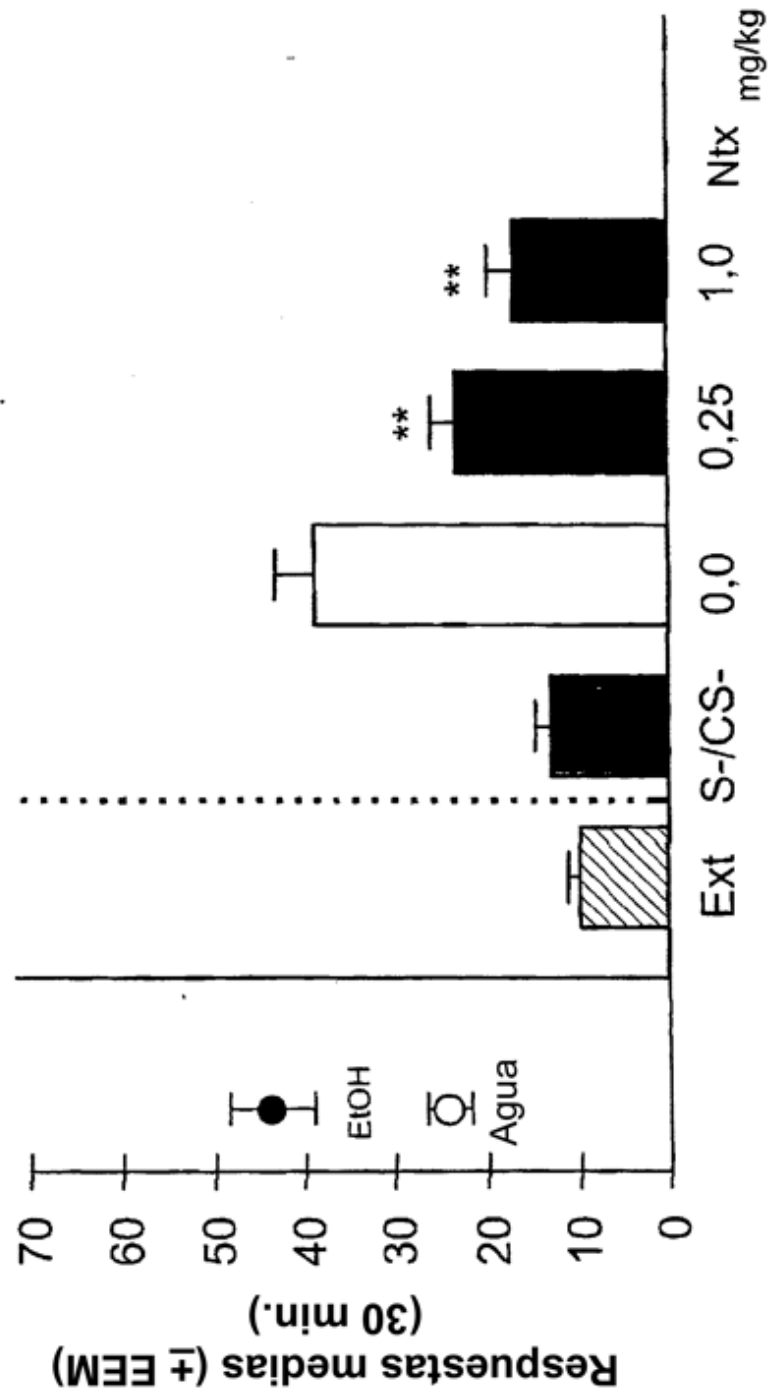


FIG. 12

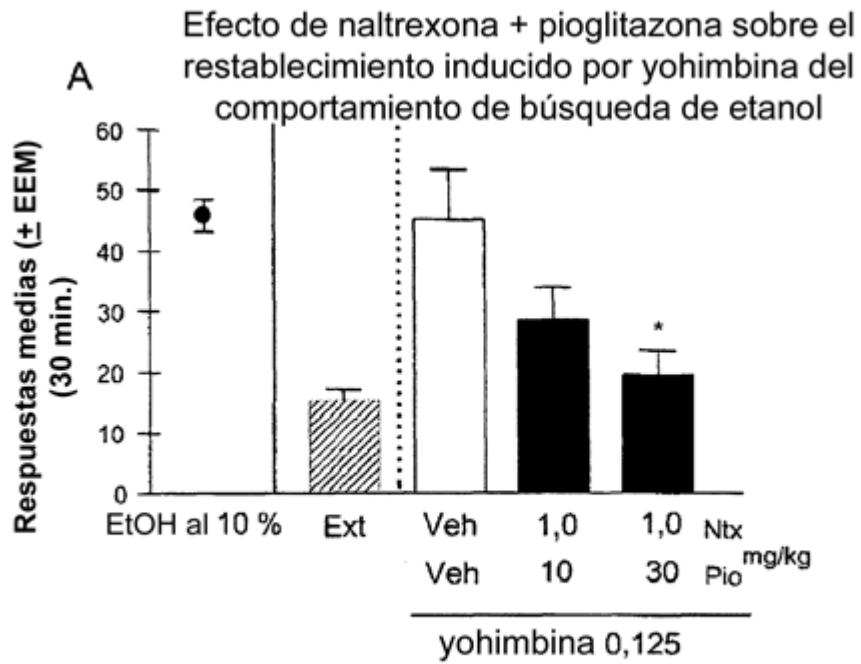


FIG. 13A

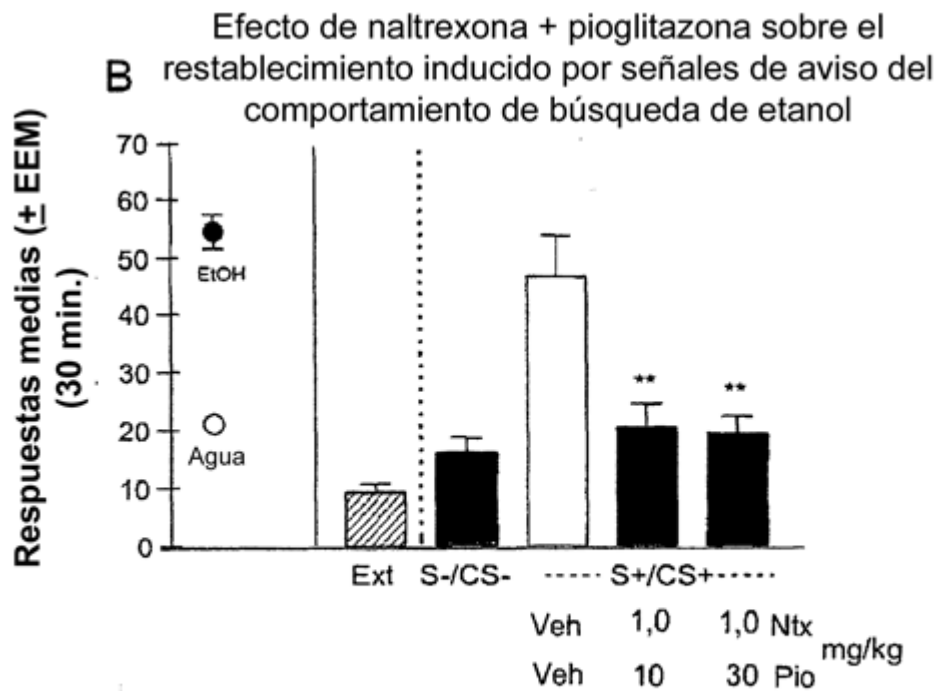


FIG. 13B

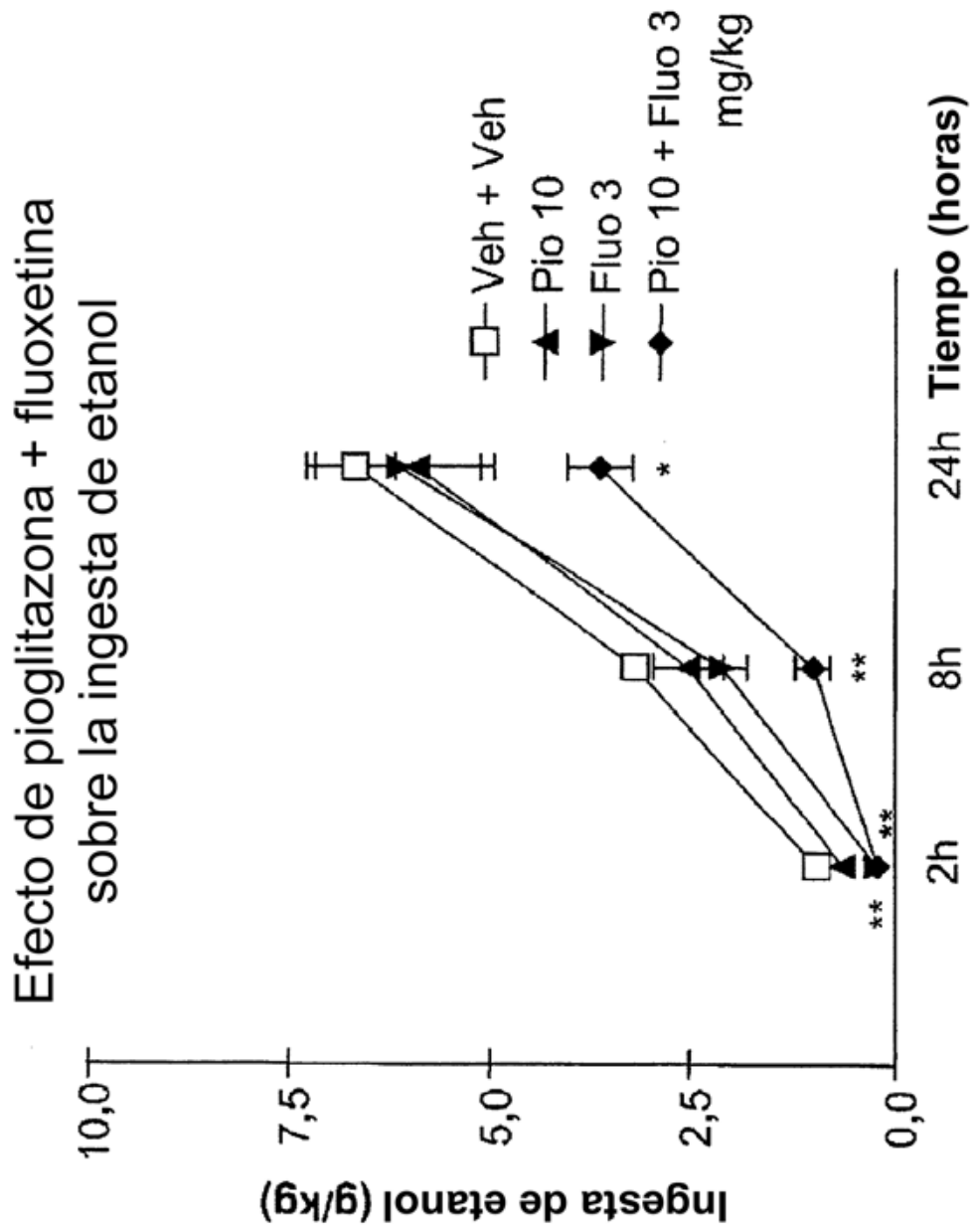


FIG. 14

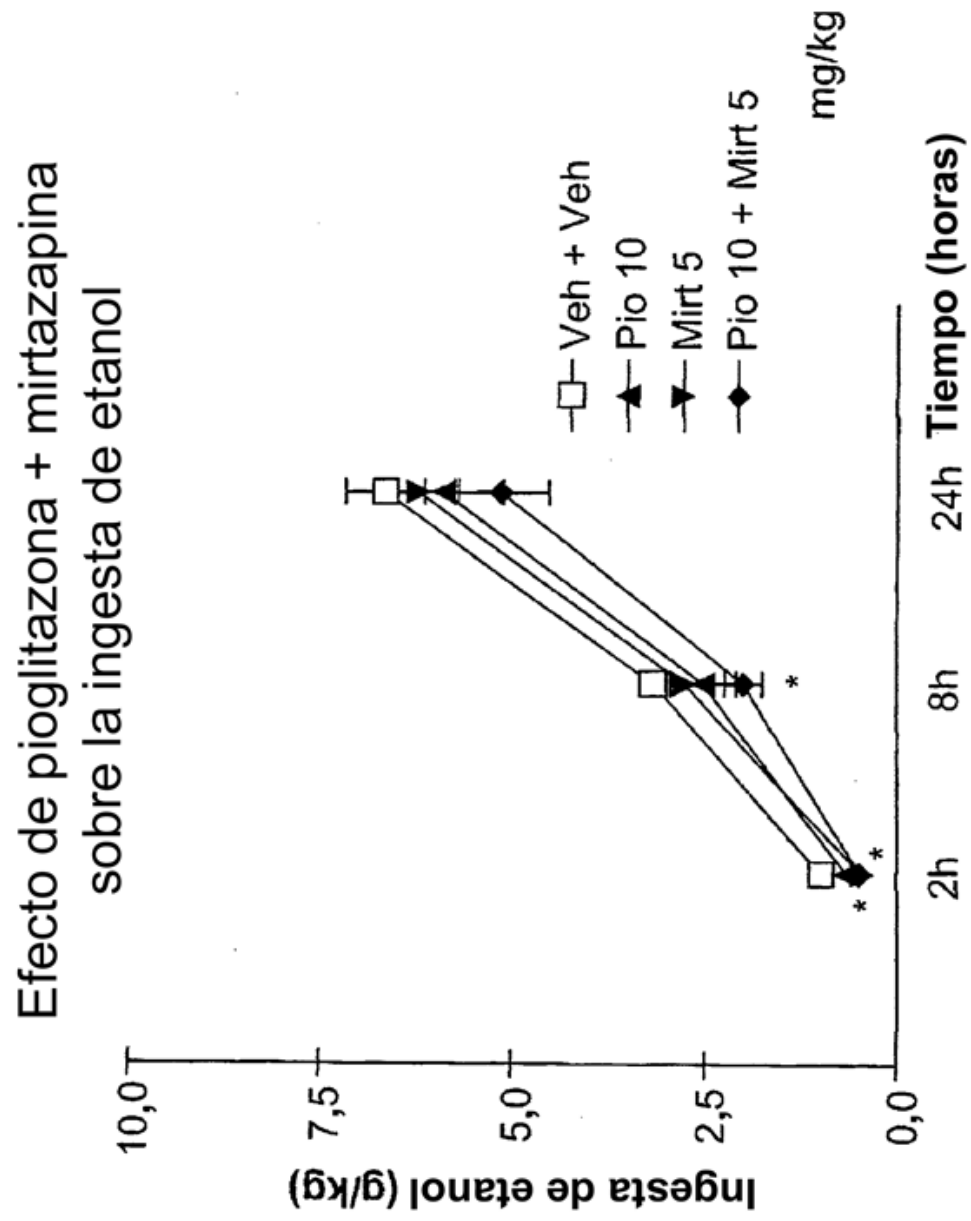


FIG. 15

Efecto de pioglitazona + topiramato
sobre la ingesta de etanol

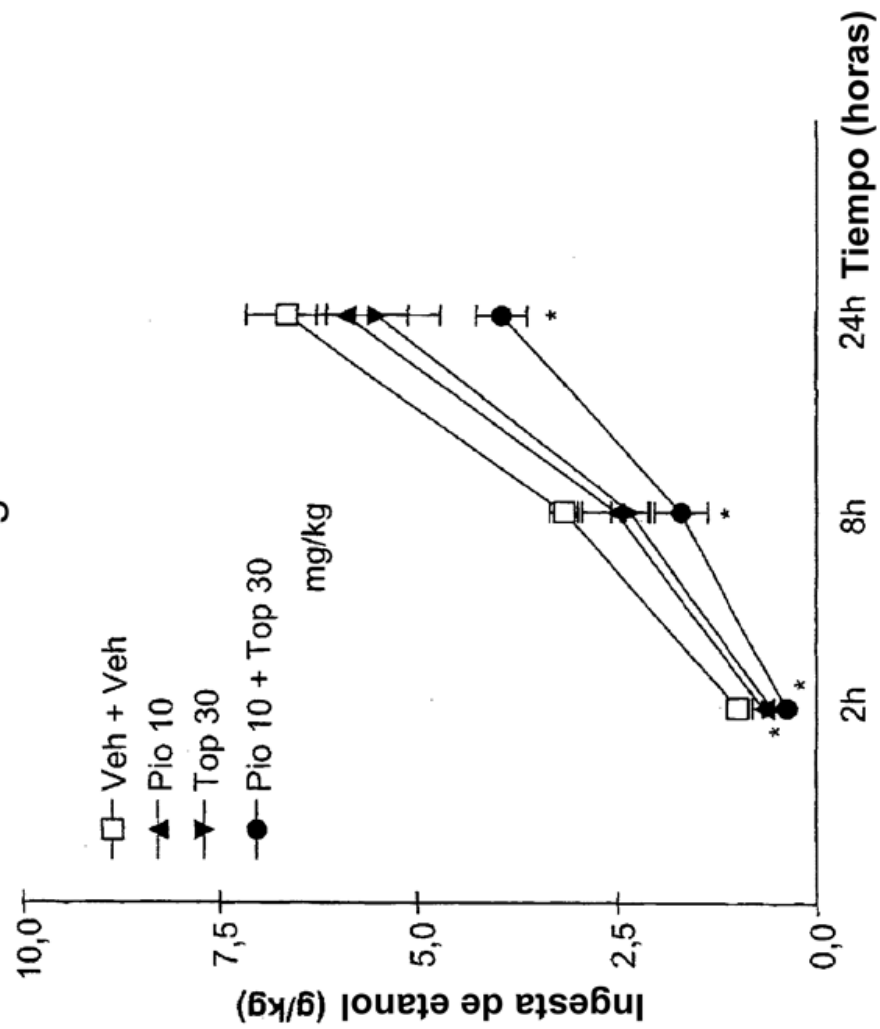


FIG. 16

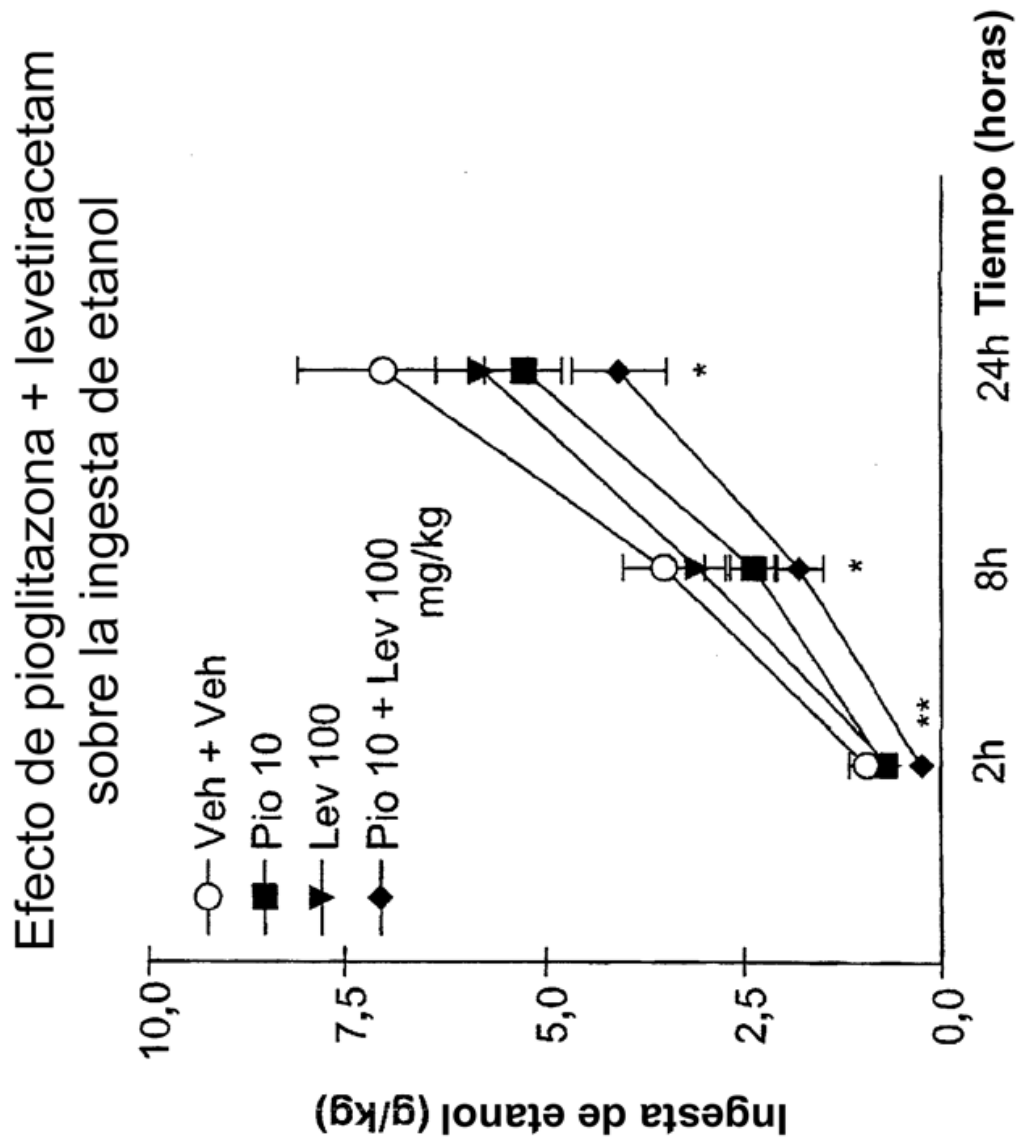


FIG. 17

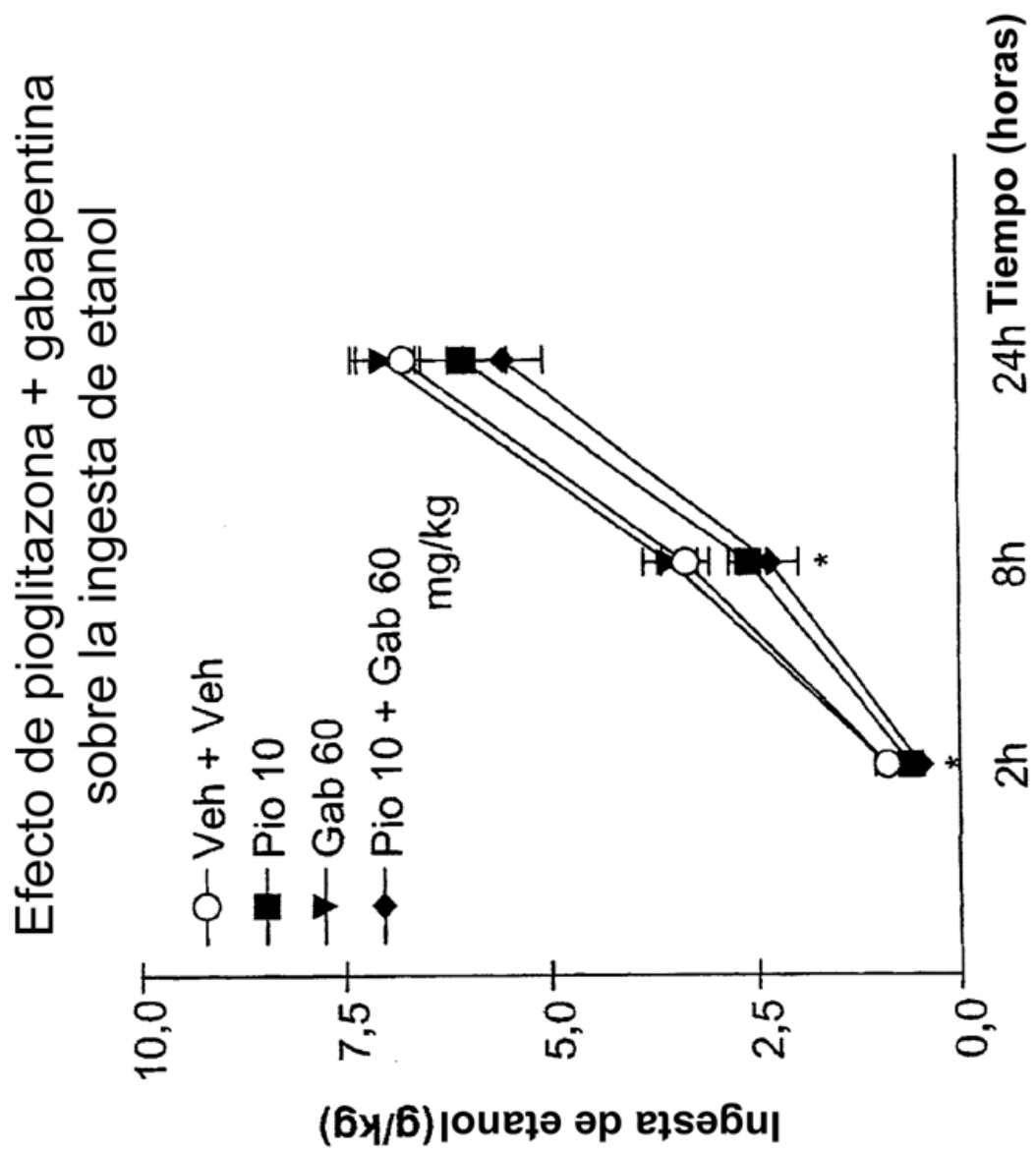


FIG. 18

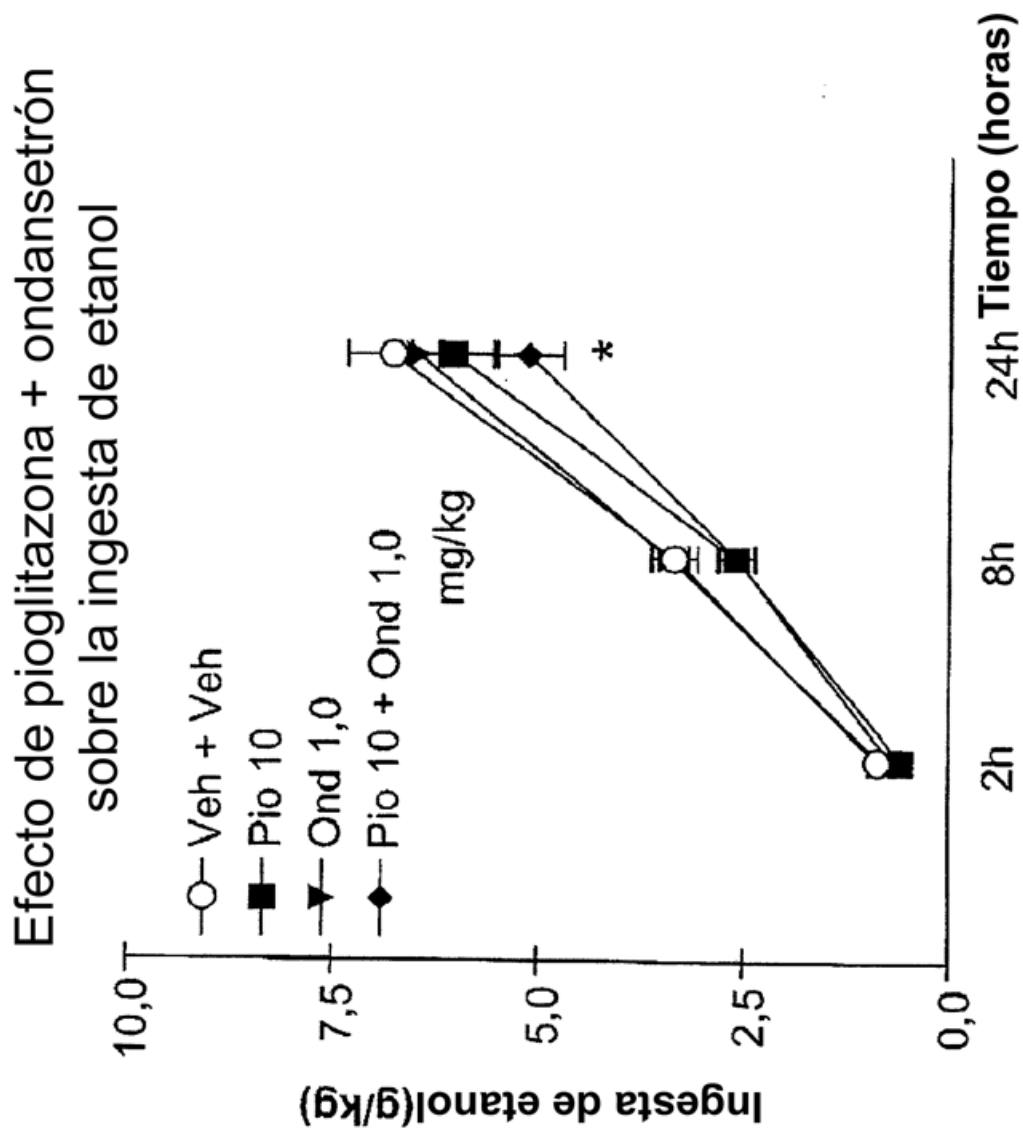


FIG. 19

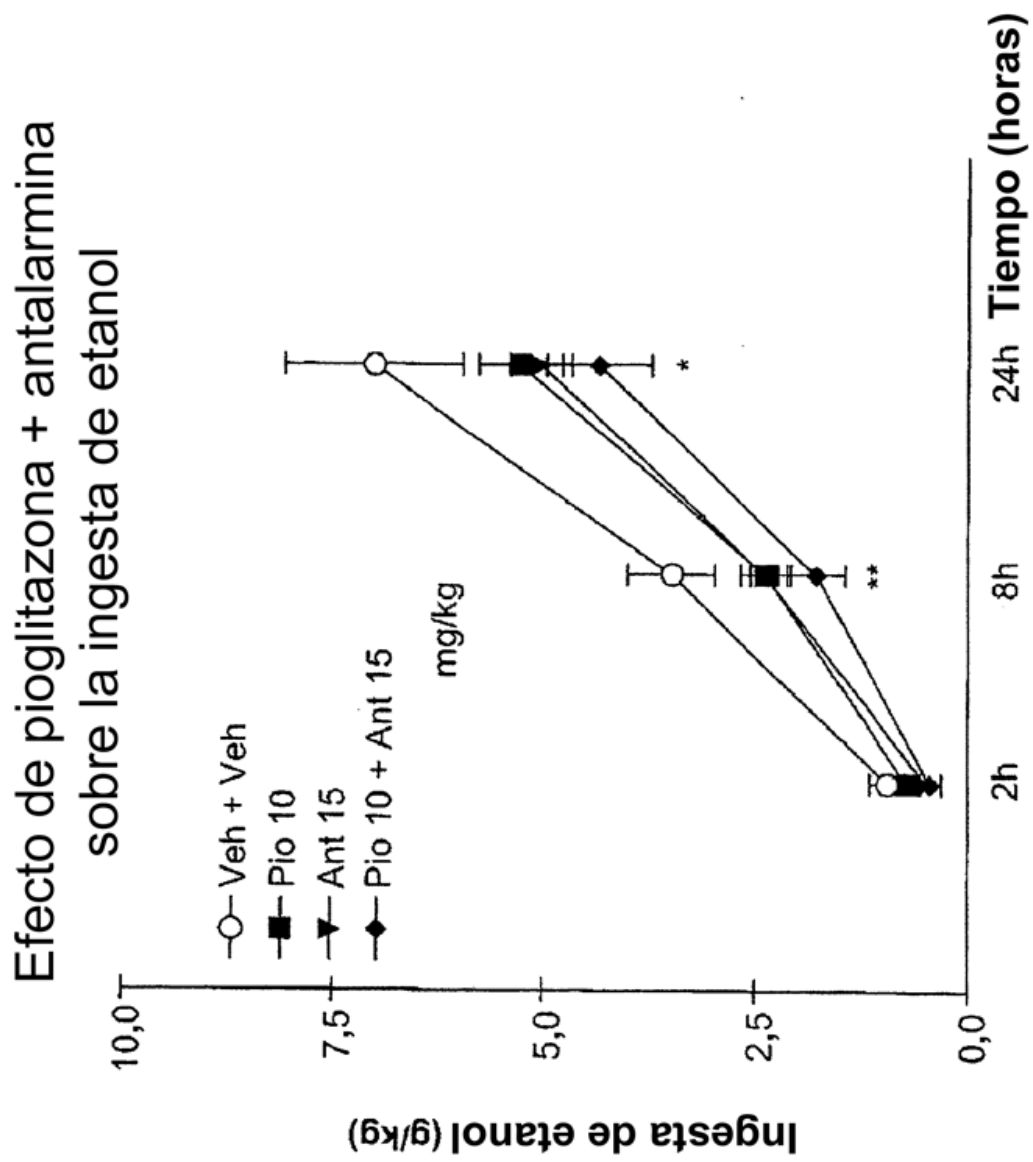


FIG. 20

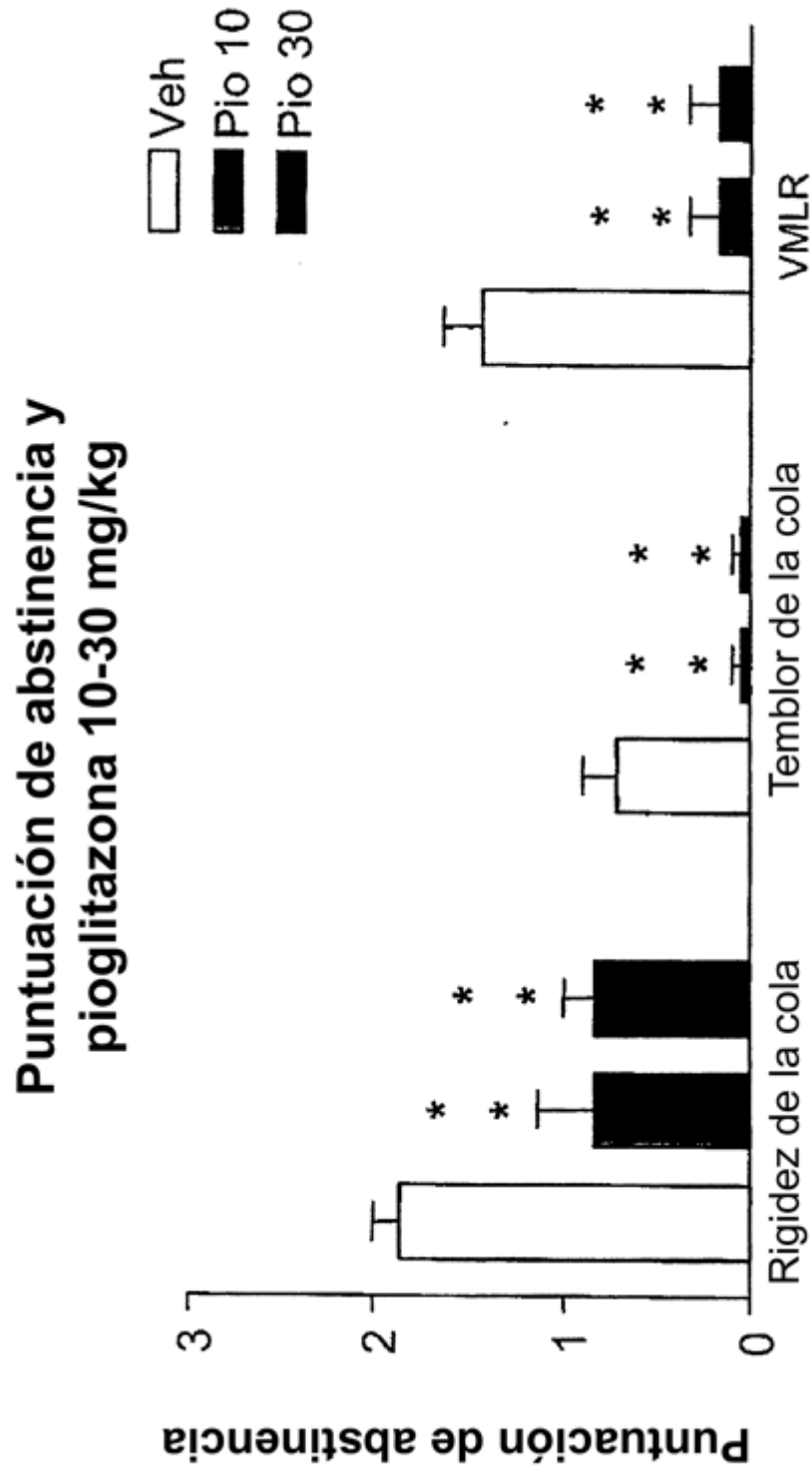


FIG. 21

Efecto de pioglitazona sobre la autoadministración de cocaína

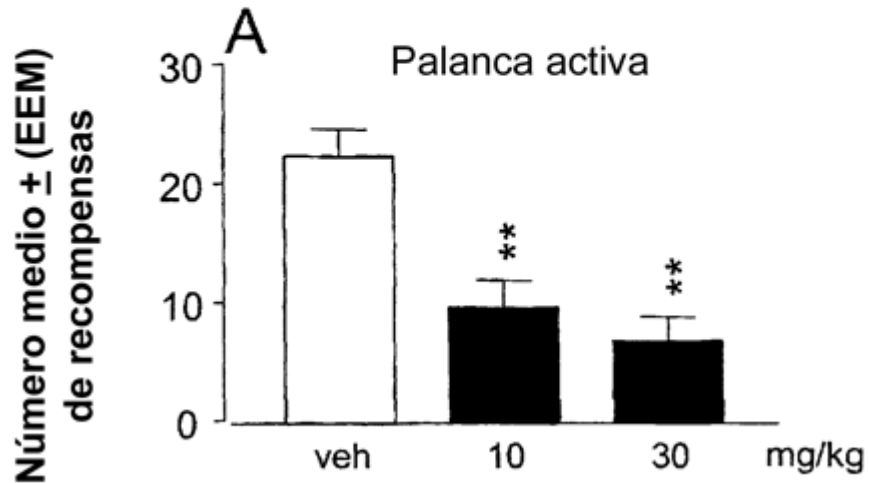


FIG. 22A

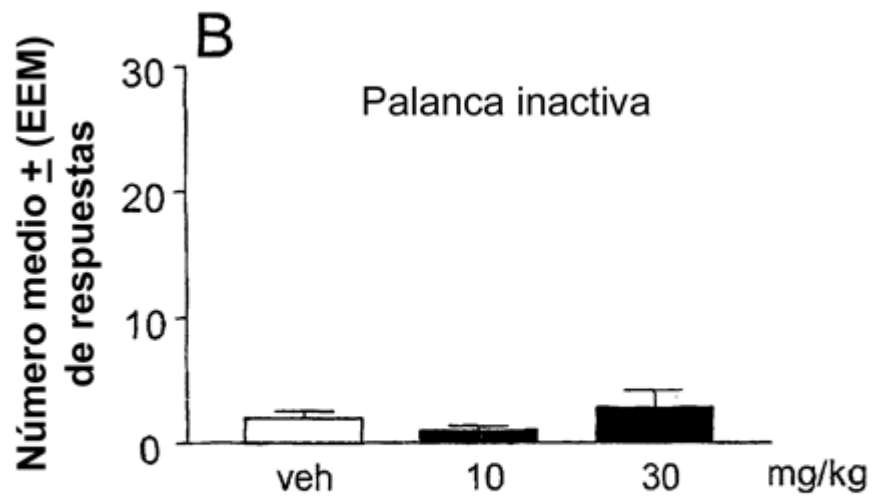


FIG. 22B

Efecto de pioglitazona sobre la autoadministración de nicotina

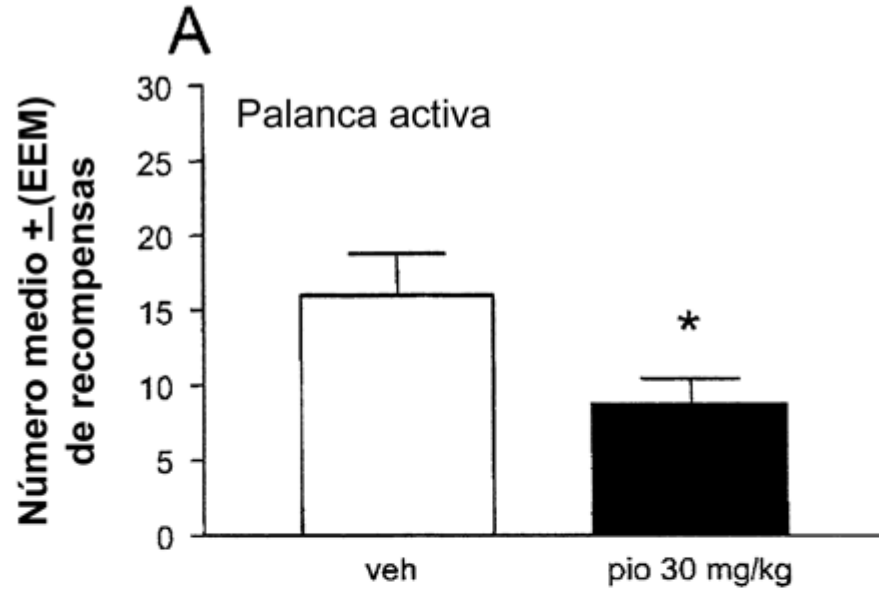


FIG. 23A

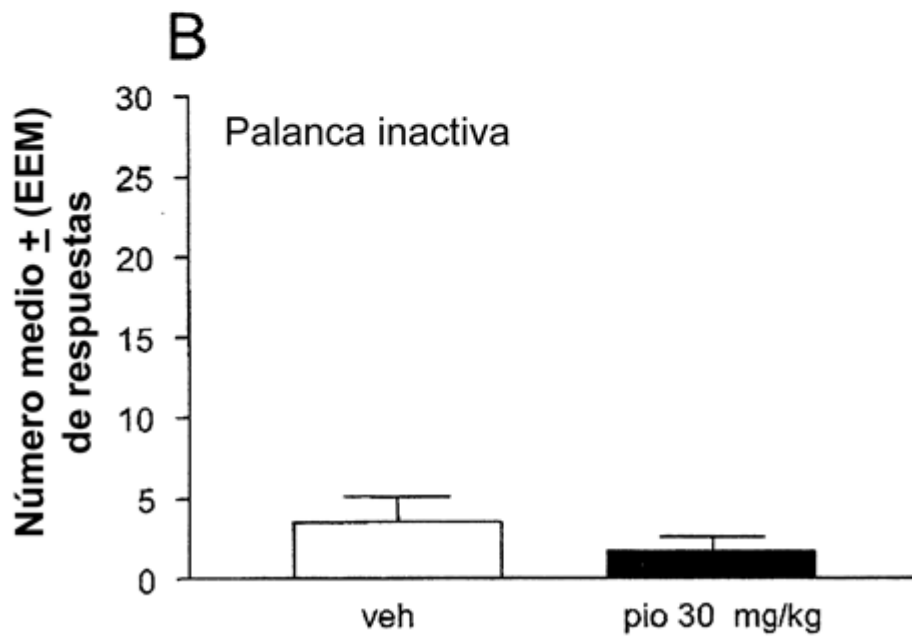


FIG. 23B