

Efectos de la administración subcrónica de ácido gammahidroxibutírico (GHB) sobre la memoria de trabajo espacial en ratas

Francisca B. García, Carmen Pedraza, Jorge L. Arias* y José Fco. Navarro
Universidad de Málaga y * Universidad de Oviedo

El GHB, una droga popularmente conocida como «éxtasis líquido», es una sustancia con potencial de abuso. Entre los posibles efectos secundarios descritos tras su consumo continuado se han referido amnesia y deterioro de la memoria. Además, estudios recientes indican la existencia de neurotoxicidad en determinadas regiones cerebrales tras su tratamiento prolongado. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la administración subcrónica de GHB (10 y 100 mg/kg) sobre la memoria de trabajo espacial y los reflejos sensoriales y motores en ratas machos, utilizando el laberinto de agua de Morris y una batería de tests sensoriomotores, respectivamente. Los resultados indicaron que los animales tratados con 10 mg/kg de GHB presentaban una mayor latencia de escape durante la fase de adquisición en los días primeros y terceros de pruebas, respecto al grupo control ($p < 0.05$), así como un deterioro del reflejo de «grasping» con las dos dosis de GHB empleadas ($p < 0.01$). Numerosos estudios indican que la corteza prefrontal medial funciona como un sustrato neuronal crucial en la memoria de trabajo y en el reflejo de «grasping». Estos resultados sugieren que la administración prolongada de GHB podría alterar la estructura y/o función de la corteza prefrontal medial, así como sus interconexiones con otras estructuras relevantes en los procesos cognitivos y neurológicos evaluados.

Effects of subchronic administration of gammahydroxybutyrate (GHB) on spatial working memory in rats. GHB, a popularly known drug as «liquid ecstasy», is a substance with abuse potential. Among the possible described side-effects after the continued consumption of GHB are amnesia and deterioration of memory. Likewise, recent studies indicate the existence of neurotoxicity in certain brain regions after its prolonged treatment. The aim of this study was to examine the effect of the subchronic administration of GHB (10 and 100 mg/kg) on spatial memory and sensoriomotor reflexes in male rats, using the Morris water maze and a battery of sensoriomotor tests, respectively. The results indicated that animals treated with GHB (10 mg/kg) showed a greater latency of escape during the phase of acquisition in the days first and third of tests, as compared with the control group ($p < 0.05$), as well as a deterioration of grasping reflex with the two doses of GHB ($p < 0.01$). Numerous studies indicated that the medial prefrontal cortex is a crucial neuronal substrate in the working memory and grasping reflex modulation. These results suggest that prolonged administration of GHB could alter structure and/or function of the medial prefrontal cortex, as well as its interconnections with other brain regions involved in the evaluated cognitive and neurological processes.

El ácido gammahidroxibutírico (GHB) es un metabolito del GABA (aunque también se puede sintetizar a través de otros compuestos) que cumple los principales criterios para ser considerado como un neurotransmisor o un neuromodulador (Maitre, 1997; Maitre et al, 2000; García et al, 2006). En los últimos años el GHB ha experimentado un creciente interés social debido a su empleo como nueva droga de abuso, empezando a describirse en 1995 los primeros cuadros de sobredosis, que han ido en aumento hasta la actualidad (Nicholson y Balster, 2001; Royo-Isaach et al, 2004).

En animales de experimentación, se ha demostrado que la administración de GHB provoca una serie de acciones farmacológicas que incluyen la inducción de sedación (Laborit, 1964), hipotermia (Kauffman et al, 1990), reducción de la agresión (Navarro y Pedraza, 1996), catalepsia (Navarro et al, 1996, 1998, 1999, 2000), así como la aparición de cambios electroencefalográficos similares a las crisis de ausencia descritas en humanos (Barnejee et al, 1993). Asimismo, es conocido el importante potencial clínico del GHB debido a su efecto terapéutico en el síndrome de abstinencia a opiáceos y a alcohol (Pedraza y Navarro, 2001a), a su eficacia para reducir los síntomas narcolépticos y a su utilidad para inducir el sueño (Vera y Navarro, 1996).

No obstante, estudios recientes sugieren la existencia de una posible neurotoxicidad tras el tratamiento prolongado de GHB en dosis con potencial de abuso. Por un lado, la administración subcrónica de dosis bajas de esta sustancia (5 mg/kg, ip) en ratones machos y hembras, produce alteraciones de la memoria de trabajo

evaluada mediante el «test del hole-board» (Luna et al, 2002; Dávila et al, 2004). Además, el tratamiento crónico con dosis bajas de GHB provoca alteraciones tanto de la memoria de trabajo como del reflejo de «grasping» en ratones machos (Luna et al, 2002; García et al, 2002a). En esta misma línea, la administración subcrónica de dosis bajas de GHB en ratas macho (10 mg/kg, ip) se asocia a alteraciones de la memoria de trabajo evaluada mediante el test del «hole-board», afectando además a la correcta manifestación del reflejo de «grasping» (García et al, 2002b; García et al, 2002c; García et al, 2005). La implicación de la corteza prefrontal en el reflejo de «grasping», así como la implicación del circuito integrado por la corteza prefrontal e hipocampo en la regulación de la memoria de trabajo espacial, indican que un posible deterioro en estas regiones podría ser el origen de las deficiencias registradas en las evaluaciones conductuales (Matsumura et al, 1996; Thierry, 2000).

En la misma línea, estudios histológicos centrados en la cuantificación del número de células neuronales en la corteza prefrontal y en el área CA1 del hipocampo tras la administración subcrónica de GHB en ratas machos (10 mg/kg, ip) han evidenciado una reducción del número de neuronas en ambas regiones (García et al, 2003). Esta pérdida neuronal registrada en el hipocampo y en la corteza prefrontal tras la administración subcrónica de GHB en dosis con potencial de abuso podría ser indicativo de un daño neurotóxico, teniendo como consecuencia indirecta un funcionamiento defectuoso de aquellos procesos cognitivos o neurológicos que regulan, lo que posiblemente se pondría de manifiesto en la realización de tareas conductuales que impliquen la participación de tales procesos (Matsumura et al, 1996; Thierry, 2000; García et al, 2003).

Nuestra investigación tuvo como principal objetivo el estudio del efecto de una administración subcrónica de GHB sobre el aprendizaje espacial con demandas de memoria de trabajo, evaluado mediante el laberinto de agua de Morris. De hecho, es ampliamente conocido que lesiones hipocámpales generan un déficit en el aprendizaje espacial, de modo que los animales son incapaces de resolver tareas espaciales cuando esta región sufre algún tipo de deterioro (Morris et al, 1982; Santin et al, 2001; Cimadevilla et al, 2005). Por otro lado, realizamos una evaluación de una serie de reflejos neurológicos mediante una batería de tests sensoriales y motores. De este modo, pretendíamos obtener información sobre aquellas regiones implicadas en la adecuada manifestación de tales reflejos neurológicos, así como sobre aquellos sistemas de neurotransmisión que parecen jugar un papel en su correcta expresión conductual (Matsumura et al, 1996).

Metodología

Animales

Para la realización del primer experimento se utilizaron 20 ratas macho albinas de la cepa Wistar con un peso comprendido entre 250 y 300 gr. Los animales llegaron al laboratorio con una edad aproximada de cinco semanas, siendo adquiridos en el «Servicio de Animales de Laboratorio» de la Universidad de Oviedo. Éstos fueron alojados en grupos de dos en jaulas de plástico transparente (Techniplast-Letica, Madrid), con unas dimensiones de 34 × 20 × 21 cm. Las condiciones ambientales en el animalario del laboratorio se controlaron cuidadosamente, manteniendo a los animales bajo condiciones de luz estandarizadas (luz blanca desde 20:00 hasta 8:00; oscuridad desde 8:00 hasta 20:00), temperatura constante (20 ± 2 °C), y agua y comida accesible desde las jaulas du-

rante el período de habituación y tratamiento. Entre la llegada de los animales al laboratorio y el comienzo del experimento se dejaron diez días para la habituación de los animales a las citadas condiciones. La limpieza de las jaulas se llevó a cabo dos veces por semana, tarea realizada siempre por la misma persona.

Fármacos

El fármaco empleado fue el GHB (ácido γ -hidroxibutírico), adquirido en los Laboratorios Sigma (Madrid, España). Dicha sustancia fue disuelta en solución salina y administrado por vía intraperitoneal (ip), proporcional al peso del animal. A los animales del grupo control se les administró el mismo volumen de suero salino.

Aparatos

Se empleó una piscina circular similar a la descrita por Morris et al (1982) con las siguientes dimensiones: 150 cm de diámetro y 40 cm de altura. La plataforma de escape se encontraba 1,5 cm por debajo del nivel del agua, cuya temperatura se mantuvo constante (24 ± 1 °C) a lo largo del experimento. Se planteó el uso de un sistema táxico como criterio a seguir para la navegación espacial de los animales. Concretamente, se aplicaron las condiciones ambientales óptimas para determinar el empleo de estrategias táxicas durante el aprendizaje espacial, de modo que los animales debían aprender a emplear patrones motores estereotipados para localizar el camino hacia la plataforma de escape, aprendiendo series de movimientos de orientación. Así pues, la habitación se encontraba iluminada por bombillas de color rojo para que los animales permanecieran en oscuridad. Además, se anulaban las posibles señales extralaberínticas, tanto visuales como auditivas, que permitieran la orientación del animal usando estrategias cartográficas.

Procedimiento

Los animales fueron aleatoriamente distribuidos en tres grupos de tratamiento. Todos los animales recibieron un tratamiento subcrónico, durante 12 días, con suero fisiológico o con 10 o 100 mg/kg de GHB. El día 11 de tratamiento se realizó la habituación al laberinto, de modo que todos los animales pasaban por tres ensayos de una duración de 60 segundos cada uno sin plataforma. El día 12 cada animal pasaba la batería de tests sensoriales y motores tras alcanzar el pico máximo de concentración en plasma de GHB, es decir, 30 minutos después de la última administración (Maitre et al, 2000). La batería de tests sensoriales y motores se compuso de: 1. abducción; 2. «grasping»; 3. extensión; 4. flexión; 5. tacto; 6. vestibular; 7. auditiva; 8. pupilar; 9. sacudida; 10. plataforma; 11. barra; 12. hocico; 13. olfacción y 14. «righting». El déficit en cada test se cuantificó en función de una escala de gravedad de tres puntos: 0, ausencia de afectación; 1, afectación leve; 2, afectación grave (Ottani et al, 2003).

Posteriormente, se procedió a iniciar la evaluación del aprendizaje espacial mediante el laberinto de agua de Morris, utilizándose para ello un protocolo estandarizado que permitía evaluar memoria de trabajo espacial (Cimadevilla et al, 2004, 2005). Así pues, éste consistía en la evaluación de la memoria de trabajo espacial mediante un entrenamiento diario de cuatro días con una simple sesión de dos ensayos por día (un primer ensayo de adquisición y un segundo ensayo de retención). En cada ensayo las ra-

tas eran introducidas en la piscina desde uno de los cuatro cuadrantes imaginarios en que ésta se dividía (A, B, C o D), de modo que éstas debían encontrar la plataforma de escape que se encontraba localizada en otro de los cuadrantes. La duración máxima de cada ensayo era de 60 segundos (si el animal no encontraba la plataforma tras los 60 segundos el experimentador guiaba al animal hacia ésta), siendo la permanencia del animal en la plataforma de 15 segundos tras alcanzarla. El intervalo entre los ensayos era de 30 segundos, donde el animal era introducido en su jaula. Puesto que se demandaba el uso de una memoria de trabajo espacial mediante estrategias de orientación táxicas, la localización de la salida del animal y de la plataforma de escape era constante en cada sesión de adquisición/retención (ya que el animal debía alcanzar la plataforma utilizando series de movimiento de orientación), pero variaba entre los diferentes días de entrenamiento.

Resultados

Reflejos neurológicos

Los datos obtenidos mediante los tests sensoriomotores fueron analizados mediante la prueba exacta de Fisher, ya que se trataba de muestras aleatorias independientes y cada animal era clasificado en una de las tres categorías excluyentes (0= ausencia de afectación; 1= afectación leve; 2= afectación grave), ya que los datos evaluados se encontraban en escala nominal y las frecuencias esperadas fueron menores de cinco. No obstante, debemos tener en cuenta que el número de sujetos no era el mismo para cada grupo experimental, lo que determinó el uso de porcentajes para facilitar la comparación entre los distintos grupos de tratamiento (véase figura 1). Así pues, tan sólo se encontraron diferencias significativas en el reflejo de «grasping» ($p < 0.01$, prueba exacta de Fisher), de modo que los animales que recibían la administración subcrónica de la dosis baja e intermedia de GHB mostraban una peor ejecución de este reflejo neurológico.

Aprendizaje espacial

Para la realización del análisis estadístico de las fases de adquisición y retención con respecto a las variables dependientes «latencia» y «distancia» recorridas por los animales para encontrar la plataforma de escape durante el aprendizaje espacial se utilizó un análisis no paramétrico, concretamente la prueba de Kruskal-Wallis, ya que no se cumplía el supuesto de homogeneidad de varianzas que permitía la utilización de un análisis de varianza, el ANOVA (estadístico de Levene= 0.000). Posteriormente, para el análisis por pares de comparaciones entre los diferentes grupos de tratamiento, se llevó a cabo la prueba U de Mann-Whitney. Así pues, los resultados obtenidos tan sólo muestran diferencias significativas con respecto a la variable «latencia» en el día 1 de pruebas ($p < 0.05$, prueba U de Mann-Whitney) y en el día 3 de pruebas ($p < 0.04$, prueba U de Mann-Whitney) correspondientes al ensayo de adquisición del aprendizaje, de manera que el tiempo que tardan en encontrar la plataforma de escape los animales que recibían el tratamiento subcrónico de la dosis intermedia de GHB (100 mg/kg) es significativamente mayor en comparación con el grupo control (véase figura 2).

Discusión

La existencia de una peor ejecución de la memoria de trabajo espacial en el ensayo de adquisición del aprendizaje, tras la administración subcrónica de la dosis intermedia de GHB, sugiere que el tratamiento prolongado de esta sustancia podría generar alteraciones en aquellas estructuras que regulan este proceso cognitivo. Estudios previos realizados en torno al empleo de estrategias de orientación espacial táxicas tras la administración subcrónica de GHB han mostrado que los animales tratados con esta sustancia realizaban una peor ejecución de la memoria de trabajo espacial a lo largo de todo el entrenamiento (García et al, 2005). En esta misma línea, Sircar y Basak (2004) han descrito que la administración

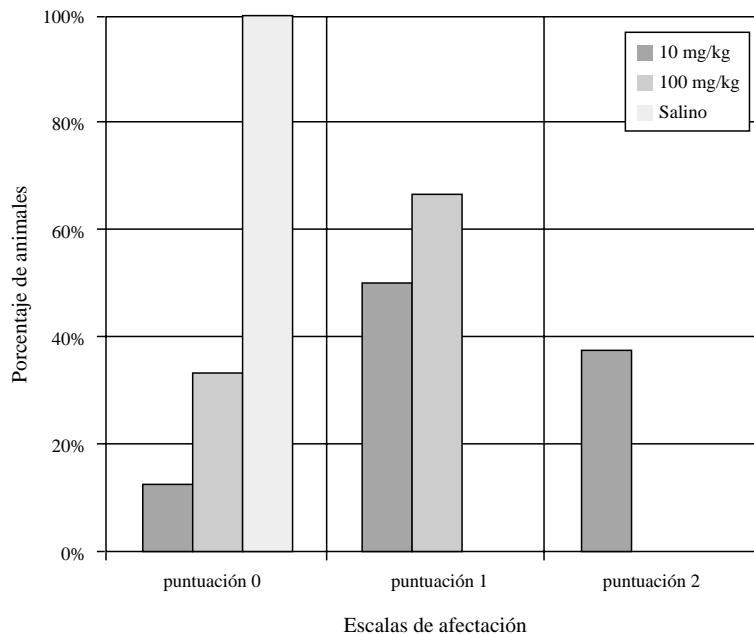


Figura 1. Porcentajes correspondientes al reflejo de «grasping» en función del tratamiento recibido

subcrónica de GHB en ratas adolescentes ocasiona un déficit en la adquisición de la memoria espacial, de modo que los animales tratados con 100 mg/kg de GHB presentan una latencia de escape significativamente mayor en comparación con los animales no tratados con esta sustancia. Por otro lado, algunos estudios han puesto de manifiesto que la administración subcrónica de dosis bajas e intermedias de GHB tiene como consecuencia una pérdida neuronal en aquellas regiones potencialmente susceptibles a un daño neurotóxico ocasionado por el tratamiento continuado de esta sustancia, tales como la corteza prefrontal y el área CA1 del hipocampo (García et al, 2003), lo que podría generar alteraciones en los procesos cognitivos regulados por estas estructuras.

Son numerosos los estudios que han evidenciado que las drogas estimulantes que afectan al sistema monoaminérgico y que, por tanto, presentan un perfil farmacológico similar al GHB, tales como la amfetamina y la cocaína, alteran determinados procesos cognitivos (Pedraza y Navarro, 2001a; Slamberová et al, 2005). Diversos trabajos centrados en el estudio de los efectos del tratamiento continuado de cocaína han demostrado que tras su administración en ratas adultas y adolescentes, así como tras su exposición prenatal, se producen alteraciones que afectan al aprendizaje espacial, describiéndose deficiencias significativas en la adquisición de la memoria de trabajo (Melnick et al, 2001; Santucci et al, 2004). Estos mismos resultados son descritos en ratas adultas expuestas prenatalmente a metanfetamina, encontrándose efectos similares tras su administración crónica (Slamberová et al, 2005). No obstante, algunos autores han planteado que posiblemente las alteraciones descritas en aprendizaje espacial se deban a deficiencias en la memoria de reconocimiento, de manera que los animales tratados con metanfetamina o sustancias similares son incapaces de discriminar entre objetos familiares y nuevos, lo que dificultaría la realización de aquellas tareas que suponen un uso adecuado de la memoria de trabajo, proceso cognitivo donde tienen una especial relevancia la corteza prefrontal y el hipocampo como estructuras reguladoras.

En este sentido, debemos tener en cuenta que corteza prefrontal e hipocampo son dos estructuras del SNC que presentan una densidad media-alta de receptores para GHB (Pedraza y Navarro, 2001b), y que algunos estudios recientes indican que la actividad de las neuronas prefrontales se encuentra modulada por la dopamina, estando además la interacción entre GHB y dopamina ampliamente documentada. Por tanto, podríamos inferir una interrelación entre ambos sistemas de neurotransmisión en estas regiones moduladoras de procesos cognitivos (Maitre, 1997; Howard y Feigenbaum, 1997; Bernasconi et al, 1999; Navarro et al, 1998; Luna et al, 2004). Si consideramos que el tratamiento prolongado de GHB produce alteraciones importantes en el sistema de neurotransmisión dopaminérgico, e incluso que podría inducir neurotoxicidad, ello podría tener como consecuencia la afectación de los procesos cognitivos controlados por este sistema de neurotransmisión, así como dañar aquellas estructuras con receptores GHBérgicos en sus terminales (Maitre, 1997; Bernasconi et al, 1999; Lidow et al, 2003). En esta misma línea, la existencia de niveles excesivos de zinc o el tratamiento con psicoestimulantes como la cocaína y la metanfetamina también han mostrado producir alteraciones en el sistema dopaminérgico, generando como consecuencia un deterioro de aquellos procesos cognitivos que modula (Melnick et al, 2001). De este modo, la muerte celular producida en regiones como la corteza prefrontal y el área CA1 del hipocampo tras la administración prolongada de GHB afectaría a su correcto funcionamiento y, por tanto, a aquellos procesos cognitivos que regulan (Kesner et al, 2000).

Numerosos trabajos apuntan a una implicación de la corteza prefrontal en la modulación de la memoria de trabajo, de modo que esta área es de vital importancia para un óptimo rendimiento en este proceso cognitivo (Kesner et al, 2000). Así, se ha evidenciado que un daño neurotóxico en diferentes áreas de la corteza prefrontal produciría una alteración en la ejecución de tareas que suponen una participación de la memoria de trabajo, planteándose

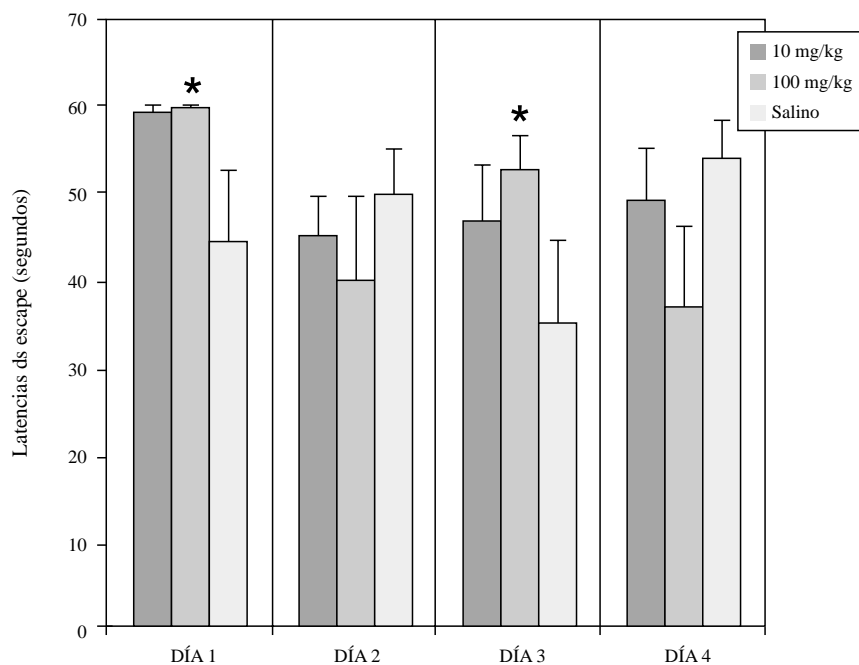


Figura 2. Medias (\pm ETM) de las latencias de escape de los animales en función del tratamiento recibido. * $p < 0.05$ grupo dosis intermedia de GHB vs grupo control

la especificidad de las áreas prelímbicas e infralímbicas en este tipo de memoria (Collette y Van der Linden, 2002). Por tanto, podemos considerar que un daño producido a nivel de la corteza prefrontal podría provocar alteraciones en la realización de pruebas que supongan un uso adecuado de la memoria de trabajo espacial. Por otro lado, la integración de las pistas distales o proximales necesarias para el aprendizaje y que van a permitir la orientación espacial de los animales tiene lugar en el período de adquisición del aprendizaje, donde cobra especial relevancia la memoria de trabajo como memoria transitoria, puesto que el animal debe relacionar momento a momento las pistas disponibles con aquellas que le serán útiles para la localización de la plataforma de escape (Izquierdo et al, 1999). Igualmente, se ha descrito que el neocórtex tiene una especial relevancia en la navegación espacial, de modo que una afectación de la corteza entorrinal y perirrinal, de la corteza prefrontal y de la corteza cingular anterior, podría suponer problemas en la adquisición durante el aprendizaje espacial. Además, un daño generado en la corteza prefrontal también puede suponer problemas en procesos de planificación, de manera que se ha postulado que su lesión provocaría una inadecuada representación del curso requerido de movimientos. Así, aunque el hipocampo es una estructura crítica en la memoria espacial y sus conexiones con la corteza prefrontal desempeñan un papel importante en la correcta manifestación de la memoria de trabajo espacial, la memoria de trabajo mantendría como eje central a la corteza prefrontal, por lo que una lesión de la misma posiblemente sería más significativa en el proceso cognitivo que regula (Jódar-Vicente, 2004).

Por otro lado, las conexiones existentes entre el área CA1 del hipocampo y la corteza prefrontal han llevado a plantear una relación entre ambas estructuras que estaría mediando ciertos procesos cognitivos, entre los que destacan aquellos relacionados con la memoria espacial (Wall y Messier, 2001). Así, se ha propuesto un circuito neuronal entre el hipocampo y la corteza prefrontal inervado por el sistema dopaminérgico ascendente, que supondría una

vía esencial por la que la información espacial se integraría en funciones cognitivas y en la planificación de procesos motores mediados por la corteza prefrontal. De este modo, la administración de GHB (posible agonista dopaminérgico) podría estar influenciando la conexión de la corteza prefrontal a través de sus inervaciones dopaminérgicas con otras estructuras igualmente implicadas en procesos cognitivos, tales como el hipocampo, y como consecuencia de ello la realización de las tareas de memoria espacial demandadas. En suma, una disfuncionalidad del sistema dopaminérgico tanto en la corteza prefrontal como en el hipocampo podría tener como consecuencia alteraciones a nivel de procesos cognitivos que impliquen un uso satisfactorio de la memoria de trabajo espacial modulada por este circuito auroregulatorio (Tanaka, 2002).

Con respecto al deterioro observado en el reflejo de «grasping», debemos tener en cuenta que éste es una respuesta neurológica que se controla desde la corteza prefrontal, por lo que la realización inadecuada del reflejo de «grasping», e incluso la ausencia de aparición del mismo, podría ser una consecuencia de un daño neurológico ocasionado en esta región (Matsumura et al, 1996). No obstante, diversos trabajos han evidenciado que un déficit dopaminérgico podría también suponer una manifestación inadecuada de este reflejo neurológico (Negrotti et al, 2005). En conclusión, tanto la afectación de la memoria de trabajo espacial como el deterioro del reflejo de «grasping» señalan a la corteza prefrontal como posible región perjudicada por el tratamiento prolongado de GHB.

Agradecimientos

Agradecemos la ayuda técnica de Piedad Burgos y Begoña Valdés. Trabajo financiado por el MEC (SEJ2004/07445/PSIC) y la Consejería de Educación y Ciencia de la Junta de Andalucía (CTS-195).

Referencias

- Barnejee, P. K., Hirsch, E. y Snead, O. C. (1993). Gamma-hydroxybutyric acid induced spike and wave discharges in rats: relation to high-affinity [³H] gammahydroxybutyric acid binding sites in the thalamus and cortex. *Neuroscience*, 56, 11-21.
- Bernasconi, R., Mathivet, P., Bischoff, S. y Marescaux, C. (1999). Gamma-hydroxybutyric acid: an endogenous neuromodulator with abuse potential? *Trends in Pharmacological Sciences*, 20, 135-141.
- Cimadevilla, J.M., Conejo, N.M., Miranda, R. y Arias, J.L. (2004). Sex differences in the Morris water maze in young rats: temporal dimensions. *Psicothema*, 16, 611-614.
- Cimadevilla, J.M., Miranda, R., López, L. y Arias, J. L. (2005). Partial unilateral inactivation of the dorsal hippocampus impairs spatial memory in the MWM. *Cognitive Brain Research*, 25, 741-746.
- Collette, F. y Van der Linden, M. (2002). Brain imaging of the central executive component of working memory. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 26, 105-125.
- Dávila, G., García, F., Pedraza, C., Luna, G., Martín, M. y Navarro, J.F. (2004). Effects of gammahydroxybutyric acid (GHB) on memory tested in the hole-board in female mice. *4th Forum of European Neuroscience*, Lisboa (Portugal), July 10-14, 2004.
- García, F., Pedraza, C., Luna, G., Dávila, G., Martín, M. y Navarro, J.F. (2002a). Neurobehavioral evaluation of gammahydroxybutyric acid (GHB) in male mice. *II Congreso Nacional de Psicobiología*, Almería (España), 19-21 de septiembre del 2002.
- García, F., Pedraza, C., Luna, G. y Navarro, J.F. (2002b). Neurobehavioral evaluation of gammahydroxybutyric acid (GHB), a new drug with abuse potential, in male *European Neuropsychopharmacology*, 11, suppl. 3, S389.
- García, F., Pedraza, C., Luna, G. y Navarro, J.F. (2002c). Effects of subchronic administration of gammahydroxybutyric acid (GHB) on memory tested in the hole-board in male rats. *II Congreso Nacional de Psicobiología*, Almería (España), 19-21 de septiembre del 2002.
- García, F., Pedraza, C., Luna, G., Dávila, G., Martín, M. y Navarro, J.F. (2003). Stereological quantification of adult rat hippocampus and prefrontal cortex after subchronic treatment with gamma-hydroxybutyric acid (GHB). *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 63 (supl.), 88.
- García, F., Herrera, A., Pedraza, C. y Navarro, J.F. (2005). Estudio del efecto neurotóxico del ácido gammahidroxibutírico (GHB) en ratas evaluado con el test del «Hole-board» y una batería de pruebas sensoriomotoras. *Revista de Neurología*, 41 (supl. 2), 83.
- García, F., Pedraza, C. y Navarro, J.F. (2006). Actualización del ácido γ -hidroxibutírico (GHB). *Revista de Neurología* (en prensa).
- Howard, S.G. y Feigebaum, J.J. (1997). Effect of γ -hydroxybutyrate central dopamine release «in vivo». A microdialysis study in awake and anesthetized animals. *Biochemical Pharmacology*, 53, 103-110.
- Izquierdo, I., Medina, J.H., Vianna, M.R., Izquierdo, L.A. y Barros, D.M. (1999). Separate mechanisms for short- and long-term memory. *Behavioural Brain Research*, 103, 1-11.

- Jódar-Vicente, M. (2004). Funciones cognitivas del lóbulo frontal. *Revista de Neurología*, 39, 178-182.
- Kauffman, E., Porrino, L.J. y Nelson, T. (1990). Pyretic action of low doses of gamma-hydroxybutyrate in rats. *Biochemical Pharmacology*, 40, 2.637-2.640.
- Kesner, R.P., Gilbert, P.E. y Wallenstein, G.V. (2000). Testing neural network models of memory with behavioural experiments. *Current Opinion in Neurobiology*, 10, 260-265.
- Laborit, H. (1964). Sodium 4-hydroxybutyrate. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 3, 433-452.
- Lidow, M.S., Koh, P. y Arnsten, A.F.T. (2003). D1 dopamine receptors in the mouse prefrontal cortex: immunocytochemical and cognitive neuropharmacological analyses. *Synapse*, 74, 101-108.
- Luna, G., García, F., Pedraza, C., Dávila, G., Martín, M. y Navarro, J.F. (2002). Effects of gamma-hydroxybutyric acid (GHB) on memory tested in the hole-board in male mice *European Neuropsychopharmacology*, 11, suppl. 3, S389.
- Luna, G., Pedraza, C. y Navarro, J.F. (2004). Efectos de la coadministración de gamma-hidroxibutirato (GHB) y L-741,741, un antagonista selectivo de los receptores dopaminérgicos D4, sobre la conducta agnóstica en ratones machos. *Psicothema*, 16, 282-287.
- Maitre, M. (1997). The γ -hydroxybutyrate signalling system in brain: organization and functional implications. *Progress in Neurobiology*, 51, 337-361.
- Maitre, M., Andriamampandry, C., Kemmel, V., Schmidt, C., Hodé, Y., Hechler, V. y Gobaille, S. (2000). Gamma-hydroxybutyric acid as signalling molecule in brain. *Alcohol*, 20, 277-283.
- Matsumura, M., Kawashima, R., Naito, E., Satoh, K., Takahashi, T., Yanagisawa, T. y Fukuda, H. (1996). Changes in rCBF during grasping in humans examined by PET. *NeuroReport*, 7, 749-752.
- Melnick, S.M., Kubie, J.L., Laungani, R. y Dow-Edwards, D.L. (2001). Impairment of spatial learning follow preweaning cocaine exposure in the adult rat. *Neurotoxicology and Teratology*, 23, 445-451.
- Morris, R.G.M., Garrud, P., Rawlins, J.N.P. y O'Keefe, J. (1982). Place-navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 297, 681-683.
- Navarro, J.F., Martín, M., Manzanque, J.M., Pedraza, C. y Dávila, G. (1996). Dose-dependent effect of gamma-hydroxybutyrate (GHB) on catalepsy in male mice. *Medical Science Research*, 24, 603-604.
- Navarro, J.F. y Pedraza, C. (1996). An ethopharmacological assessment of the effects of gamma-hydroxybutyrate (GHB) on agonistic interactions in male mice. *Medical Science Research*, 24, 817-819.
- Navarro, J.F., Pedraza, C., Maldonado, E. y Cavas, M. (1999). Absence of tolerance to cataleptic activity of gamma-hydroxybutyric acid (GHB) after subchronic administration to male mice. *Medical Science Research*, 27, 387-388.
- Navarro, J.F., Pedraza, C., Martín-López, M., Manzanque, J.M., Dávila, G. y Maldonado, E. (1998). Tiapride-induced catalepsy is potentiated by γ -hydroxybutyric acid administration. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 22, 835-844.
- Navarro, J.F., Pedraza, C., Dávila, G. y Martín-López, M. (2000). Effect of gamma-hydroxybutyric acid (GHB) administration on catalepsy behaviour in female mice. *Psicothema*, 12, 89-93.
- Negrotti, A., Secchi, C. y Gentilucci, M. (2005). Effects of disease progression and L-dopa therapy on the control of reaching-grasping in Parkinson's disease. *Neuropsychology*, 43, 450-49.
- Nicholson, K.L. y Balster, R.L. (2001). GHB: a new and novel drug of abuse. *Drug and Alcohol Dependence*, 63, 1-22.
- Ottani, A., Vergoni, A.V., Saltini, S., Mioni, C., Giulliani, M., Bartiromo, M., Zaffe, D., Boticelli, A.R., Ferrari, A., Bertolini, A. y Genedani, S. (2003). Effect of late treatment with γ -hydroxybutyrate on the histological and behavioural consequences of transient brain ischemia in the rat. *European Journal of Pharmacology*, 485, 183-191.
- Pedraza, C. y Navarro, J.F. (2001a). Efectos clínicos y conductuales del ácido γ -hidroxibutírico (GHB). *Psiquiatría Biológica*, 8, 146-160.
- Pedraza, C. y Navarro, J.F. (2001b). Perfil farmacológico del ácido gamma-hidroxibutírico (GHB). *Psiquiatría Biológica*, 8, 25-32.
- Royo-Isaach, J., Magrané, M., Vilà, R. y Capdevila, M.E. (2004). El «éxtasis líquido» (GHB): ¿una droga de uso recreativo? Clínica biopsicosocial del consumidor y algunas propuestas terapéuticas. *Atención Primaria*, 33, 516-520.
- Santín, L.J., Aguirre, J.A., Rubio, S., Begega, A., Miranda, R. y Arias, J.L. (2001). Memoria espacial y expresión de c-fos en núcleo supramamilar, giro cingulado anterior y corteza entorrinal. *Psicothema*, 13, 214-221.
- Santucci, A.C., Capodilup, S., Bernstein, J., Gómez-Ramírez, M., Milefsky, R. y Mitchell, H. (2004). Cocaine in adolescent rat produces residual memory impairments that are reversible with time. *Neurotoxicology and Teratology*, 26, 651-661.
- Sircar, R. y Basak, A. (2004). Adolescent γ -hydroxybutyric acid exposure decreases cortical N-methyl-D-aspartate receptor and impairs spatial learning. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 79, 701-708.
- Slamberová, R., Pometlová, M., Syllabová, L. y Mancuskova, M. (2005). Learning in the Place navigation task, no the New-learning task, is altered by prenatal methamphetamine exposure. *Developmental Brain Research*, 157, 217-219.
- Tanaka, S. (2002). Dopamine controls fundamental cognitive operations of multi-targets spatial working memory. *Neural Networks*, 15, 573-582.
- Thierry, A-M., Gioanni, Y., Dégénétais, E. y Glowinski, J. (2000). Hippocampus-prefrontal cortex pathway: anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus*, 10, 411-419.
- Vera, F. y Navarro, J.F. (1996). Efectos del ácido gamma-hidroxibutírico (GHB) sobre el sueño y la activación. *Vigilia/Sueño*, 7, 28-34.
- Wall, P.M. y Messier, C. (2001). The hippocampal formation - orbitomedial prefrontal cortex circuit in the attentional control of active memory. *Behavioural Brain Research*, 127, 99-117.