Cambios neurobiológicos inducidos por MDMA: mecanismos de neurotoxicidad

M.I. Colado

Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid.

Introducción

La 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA, "éxtasis") es un derivado anfetamínico sustituido en el anillo que también está estructuralmente relacionado con el alucinógeno mescalina. Se patentó en el año 1914, aunque no está claro si como agente supresor del apetito o como agente precursor de compuestos terapéuticamente activos. En la década de 1970 MDMA se comenzó a usar en psicoterapia debido a su supuesta capacidad para disminuir la ansiedad, aumentar la autoestima, desarbolar los mecanismos de defensa psicológicos y facilitar la comunicación terapéutica. Se administró por vía oral (75-175 mg) y se observó que también producía efectos simpaticomiméticos agudos, como incremento de la frecuencia cardíaca y de la presión sanguínea y un estado de ansiedad transitorio. En 1985, la Drug Enforcement Administration (DEA, EE.UU.) introdujo la MDMA dentro de la lista I de sustancias psicotrópicas debido a su alto potencial de abuso, ausencia de aplicación clínica, desacuerdo entre expertos sobre la seguridad para su uso bajo supervisión médica y evidencia de que la 3,4-metilenodioxianfetamina (MDA), un compuesto relacionado y principal metabolito de MDMA, inducía una degeneración de los terminales nerviosos serotoninérgicos en el cerebro de la rata.

No obstante, a partir de la década de 1980 MDMA ha llegado a ser muy popular como droga recreativa de abuso, principalmente entre amplios sectores de la población juvenil. La autoadministración de esta droga se realiza vía oral en forma de comprimidos o cápsulas, y generalmente los consumidores de MDMA son de fin de semana. El éxtasis aparece en una gran variedad de colores, formas y tamaños de tableta decorada con diversos diseños y logotipos. Como sucede con cualquier droga recreativa obtenida y preparada ilícitamente, la dosis y la pureza varían enormemente, pero las tabletas generalmente contienen 80-150 mg de MDMA.

El consumo humano de este compuesto es preocupante, debido a que estudios procedentes de diversos laboratorios han demostrado que MDMA, al igual que otros derivados anfetamínicos como metanfetamina, fenfluramina o p-cloroanfetamina, es tóxica para el cerebro de diversas especies animales.

Neurotoxicidad de MDMA

El efecto neurotóxico que produce MDMA en roedores es específico de la especie en el sentido de que hay marcadas diferencias entre el daño neuronal inducido por MDMA en la rata y el observado en el ratón.

La administración repetida de MDMA en el ratón produce, a largo plazo, un efecto neurotóxico selectivo sobre las vías dopaminérgicas nigroestriatales, ejerciendo poco efecto sobre las neuronas que contienen serotonina (5-HT)[1-3]. Este efecto neurotóxico se ha demostrado utilizando técnicas bioquímicas y se manifiesta mediante una disminución en la concentración de dopamina y sus metabolitos, los ácidos 3,4-dihidroxifenilacético y homovanílico en el estriado. Esta reducción en el contenido catecólico inducida por MDMA en el estriado del ratón probablemente refleja una degeneración neurotóxica de los terminales nerviosos dopaminérgicos similar a la que se observa tras la administración de metanfetamina en la rata y en el ratón[4-7].

En contraste con lo que ocurre en el ratón, en la rata MDMA se comporta como una neurotoxina serotoninérgica selectiva, de tal manera que una dosis única produce, a largo plazo, una pérdida de terminales nerviosos serotoninérgicos en diversas regiones cerebrales. La degeneración neuronal se manifiesta como una disminución significativa de la concentración de 5-HT y su metabolito, el ácido 5-hidroxiindolacético, una

reducción en la densidad de lugares de recaptación de 5-HT marcados con [^{3}H]-paroxetina[8,9] y una disminución en la inmunorreactividad de los axones serotoninérgicos finos en la corteza cerebral, estriado e hipocampo[10].

Especies reactivas de oxígeno y peroxidación lipídica

Existen relativamente pocos estudios orientados a evaluar los mecanismos implicados en el efecto neurotóxico de MDMA sobre las neuronas dopaminérgicas del estriado de ratón. No obstante, la evidencia experimental disponible indica que la neurotoxicidad de MDMA en el ratón se debe a un proceso de estrés oxidativo que se inicia inmediatamente después de la administración de la droga. MDMA provoca una disminución en las actividades de la superóxido dismutasa y de la glutatión peroxidasa y un incremento en el grado de peroxidación lipídica en diversas estructuras cerebrales[11]. Datos más directos se han obtenido recientemente en nuestro laboratorio, donde, utilizando la técnica de la microdiálisis intracerebral in vivo hemos demostrado que MDMA incrementa la conversión de ácido salicílico a ácido 2,3-dihidroxibenzoico (2,3-DHBA) en el dializado estriatal[2,12]. Esta medida es un método ampliamente aceptado para cuantificar la formación de radicales hidroxilo[8,13,14], e indica que MDMA está aumentando la formación de radicales libres en esta región cerebral[15]. Además, hemos demostrado que inhibidores de óxido nítrico sintasa neuronal, tales como AR-R17477AR y S-metiltiocitrulina, cuando se administran juntamente con MDMA, previenen el daño neuronal y el incremento en la formación de radicales hidroxilo inducidos por MDMA[2]. Estos compuestos no tienen actividad intrínseca como atrapadores de radicales libres y no modifican la hipertermia de MDMA[2]. Además, ratones transgénicos que sobreexpresan la enzima CuZn superóxido dismutasa son resistentes a la acción neurotóxica de MDMA[16]. El sistema de recaptación de dopamina parece desempeñar un importante papel, puesto que un compuesto inhibidor del transportador de dopamina, GBR 12909, coadministrado con MDMA previene la formación de radicales hidroxilo y el incremento en el índice de peroxidación lipídica inducido por la droga[12].

Respecto al mecanismo implicado en la producción del efecto neurodegenerativo en la rata, existen abundantes datos experimentales que indican la existencia de un proceso de estrés oxidativo similar al que ocurre en el ratón. Mediante microdiálisis intracerebral *in vivo*, se ha demostrado que MDMA también induce un incremento en la formación de radicales hidroxilo en el cerebro de la rata que se refleja por un aumento en la concentración de 2,3-DHBA en el dializado del hipocampo[8,17]. El atrapador de radicales hidroxilo alfa-fenil-N-ter-butilnitrona abole el incremento en los niveles de ácido 2,3-dihidroxibenzoico inducido por MDMA[8] y atenúa el daño neuronal a largo plazo[8,18,19]. Datos adicionales que apoyan la existencia de un proceso de estrés oxidativo se refieren a un incremento en el grado de peroxidación lipídica cerebral tras la administración de MDMA[20,21]. Los radicales hidroxilo son probablemente formados en los terminales serotoninérgicos, puesto que no se observa incremento en los niveles de 2,3-DHBA del dializado del hipocampo cuando MDMA se administra a ratas cuyos terminales nerviosos serotoninérgicos habían sido lesionados previamente por pretratamiento con fenfluramina[8]. Esta hipótesis es soportada por el hecho de que fluoxetina, que previene la entrada de MDMA en el terminal o más probablemente de un metabolito tóxico de la droga, reduce la formación de radicales libres inducida por MDMA[17].

Todos estos datos considerados en conjunto indican que MDMA induce la formación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno que a su vez inducen un proceso de estrés oxidativo.

Selenio en dieta y neurotoxicidad de MDMA

El selenio es un micronutriente que está presente en alta proporción en algunos alimentos de la dieta de los mamíferos, como el brócoli, y forma parte del centro activo de la enzima glutatión peroxidasa y de varias enzimas dependientes de selenio. Concretamente, la glutatión peroxidasa contiene un residuo de selenocisteína en su centro activo que es esencial para su actividad peroxidasa. Por tanto, la actividad de la glutatión peroxidasa es altamente sensible al contenido de selenio en la dieta, de tal manera que existe una alta correlación entre la actividad de la glutatión peroxidasa, los niveles de selenio en la dieta y la resistencia al estrés oxidativo[22]. La glutatión peroxidasa junto con catalasa y superóxido dismutasa son los principales sistemas antioxidantes celulares frente a la formación de radicales libres. La superóxido dismutasa cataliza la dismutación del anión superóxido a peróxido de hidrógeno (H_2O_2)[23,24], mientras que glutatión peroxidasa y catalasa utilizan glutatión para reducir el peróxido de hidrógeno a agua (H_2O).

Puesto que especies reactivas de oxígeno parecen desempeñar un importante papel en el mecanismo de la neurotoxicidad inducida por

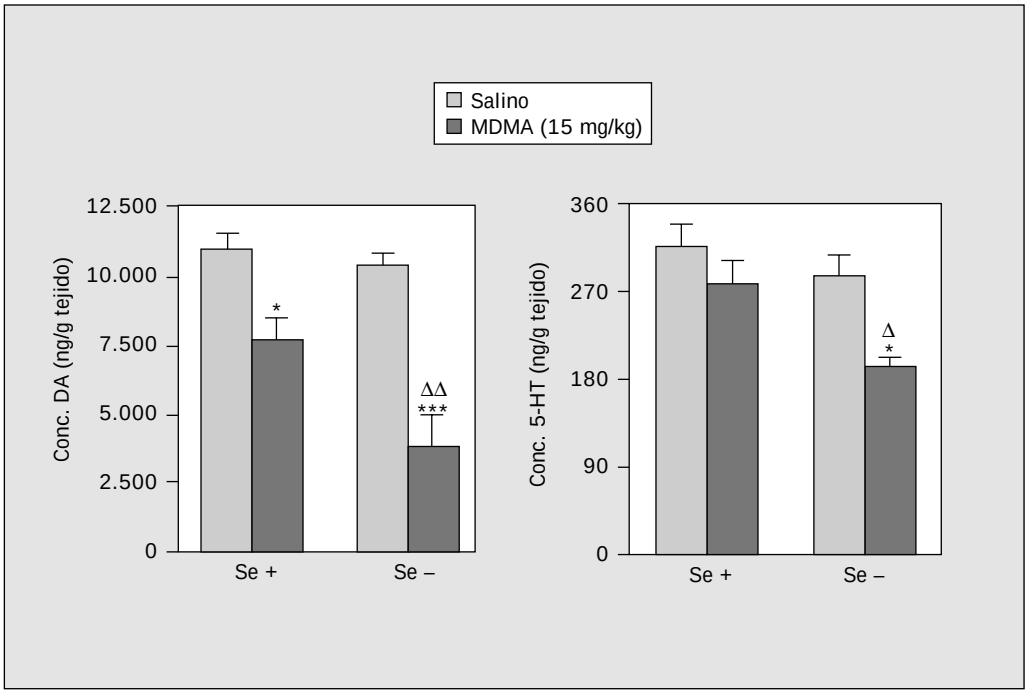

*Fig. 1. Efecto de MDMA (15 mg/kg, i.p., 3 veces, cada 3 h) sobre la concentración de dopamina (DA) en el estriado y de serotonina (5-HT) en la corteza cerebral de ratones mantenidos con una dieta deficiente o suplementada con selenio (Se). Los animales fueron mantenidos en tratamiento dietético 7 semanas antes de recibir MDMA y una semana después. Los resultados muestran la media ± ESM (n = 5-9). Diferente respecto al correspondiente grupo salino: *p < 0,05, ***p < 0,001. Diferente respecto al grupo Se (+) + MDMA: Δ p < 0,05, ΔΔ p < 0,01.*

MDMA en roedores y la glutatión peroxidasa es uno de los principales sistemas antioxidantes celulares frente a la formación de radicales libres, hemos evaluado recientemente en nuestro laboratorio la influencia del selenio en la dieta sobre los efectos a largo plazo inducidos por MDMA sobre las concentraciones de dopamina y 5-HT en el cerebro del ratón y de la rata. Para realizar este estudio, los animales se mantuvieron con una dieta deficiente en selenio (< 0,02 ppm) o suplementada en selenio (0,2 ppm) durante 8 semanas. En la séptima semana, los ratones recibieron 3 inyecciones de MDMA (15 mg/kg, i.p., con un intervalo de 3 h) y las ratas una única inyección de MDMA (12,5 mg/kg, i.p.). Todos los animales se sacrificaron 7 días más tarde, es decir, al final del tratamiento dietético.

Como cabía esperar la administración repetida de MDMA en el ratón, 7 días más tarde produjo una disminución en la concentración estriatal de dopamina en ambos grupos dietéticos, pero la depleción resultó mucho más pronunciada en el grupo deficiente de selenio (fig. 1). Pero, además, y quizá esto es lo más llamativo, observamos que la administración de MDMA en el grupo suplementado con selenio no alteró la concentración estriatal de 5-HT, exactamente igual que ocurre en animales mantenidos con una dieta estándar. Sin embargo, en situaciones de deficiencia en selenio la droga origina una pérdida significativa del contenido indólico (fig. 1).

Es importante destacar que esta potenciación de la neurotoxicidad de MDMA no se debe a un incremento en la respuesta hipertérmica a MDMA, puesto que tanto los animales mantenidos con un suplemento de selenio como aquellos deficientes de selenio mostraron un incremento similar en la temperatura rectal tras la inyección de MDMA.

Este incremento en la toxicidad de MDMA en ratones deficientes de selenio puede atribuirse a

una alteración en los mecanismos de detoxificación cerebrales (antioxidantes cerebrales) mediados por glutatión, ya que un tratamiento dietético prácticamente carente de selenio produce una disminución de aproximadamente un 30% en la actividad de la glutatión peroxidasa cerebral, concretamente en estriado y corteza, y esta reducción es lo suficiente para inducir un incremento en el grado de peroxidación lipídica cerebral que se refleja por un aumento en la formación de malondialdehído.

La administración de MDMA a la rata produjo, 7 días más tarde, una disminución en la concentración de 5-HT en la corteza, hipocampo y estriado. Ahora bien, el efecto que produce MDMA sobre estos parámetros serotoninérgicos es similar en ambos grupos dietéticos.

Podría pensarse que el tratamiento dietético con selenio por cualquier razón no había resultado eficaz para alterar el sistema de detoxificación cerebral en las ratas. Sin embargo, esta posibilidad queda descartada por el hecho de que en las ratas deficientes de selenio se observó una reducción de aproximadamente 35-45% en la actividad de la glutatión peroxidasa en corteza, hipocampo y estriado. Ahora bien, esta reducción no parece ser suficiente para aumentar el índice de peroxidación lipídica cerebral, puesto que la formación de malondialdehído fue similar en tejido cortical procedente de ambos grupos de animales suplementados o deficientes de selenio.

Conclusiones

La neurotoxicidad inducida por MDMA sobre las neuronas serotoninérgicas y dopaminérgicas de la rata y del ratón, respectivamente, resulta de la formación de radicales libres que a su vez induce un proceso de estrés oxidativo.

Una deficiencia en selenio altera el estado antioxidante celular en el cerebro del ratón y este efecto es suficiente para potenciar la neurotoxicidad inducida por MDMA.

La capacidad antioxidante del cerebro de la rata y del ratón difiere, y este hecho origina una diferente susceptibilidad al estrés oxidativo causado por MDMA en situaciones de bajo contenido de selenio en la dieta.

BIBLIOGRAFÍA

1. O'Callaghan JP, Miller DB. Neurotoxicity profiles of substituted amphetamines in the C57BL/6J mouse. J Pharmacol Exp Ther 1994; 270: 741-751.
2. Colado MI, Camarero J, Mechan AO, Sanchez V, Esteban B, Elliot JM et al. A study of the mechanism involved in the neurotoxic action of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, 'ecstasy') on dopamine neurons in mouse brain. Brit J Pharmacol 2001; 134: 1711-1723.
3. O'Shea E, Esteban B, Camarero J, Green AR, Colado MI. Effect of GBR 12909 and fluoxetine on the acute and long-term changes induced by MDMA ("ecstasy") on the 5-HT and dopamine concentrations in mouse brain. Neuropharmacology 2001; 40: 65-74.
4. Green AR, De Souza RJ, Williams JL, Murray TK, Cross AJ. The neurotoxic effects of methamphetamine on 5-hydroxytryptamine and dopamine in brain: evidence for the protective effect of chlormethiazole. Neuropharmacology 1992; 31: 315-321.
5. Baldwin HA, Colado MI, Murray TK, De Souza RJ, Green AR. Striatal dopamine release in vivo following neurotoxic doses of methamphetamine and effect of neuroprotective drugs, chlormethiazole and dizocilpine. Br J Pharmacol 1993; 108: 590-596.
6. Bowyer JF, Davies DL, Schmued L, Broening HW, Newport GD, Slikker W Jr et al. Further studies of the role of hyperthermia in methamphetamine neurotoxicity. J Pharmacol Exp Ther 1994; 268: 1571-1580.
7. Itzhak Y, Ali SF. The neuronal nitric oxide synthase inhibitor, 7-nitroindazole, protects against methamphetamine-induced neurotoxicity in vivo. J Neurochem 1996; 67: 1770-1773.
8. Colado MI, O'Shea E, Granados R, Murray TK, Green AR. *In vivo* evidence for free radical involvement in the degeneration of rat brain 5-HT following administration of MDMA ('ecstasy') and *p*-chloroamphetamine but not the degeneration following fenfluramine. Br J Pharmacol 1997; 121: 889-900.
9. Sanchez V, Camarero J, Esteban B, Peter MJ, Green AR, Colado MI. The mechanisms involved in the long-lasting neuroprotective effect of fluoxetine against MDMA ('ecstasy')-induced degeneration of 5-HT nerve endings in rat brain. Br J Pharmacol 2001; 134: 46-57.
10. O'Hearn E, Battaglia G, De Souza EB, Kuhar MJ, Molliver ME. Methylenedioxyamphetamine (MDA) and methylenedioxymethamphetamine (MDMA) cause selective ablation of serotonergic axon terminals in forebrain immunocytochemical evidence for neurotoxicity. J Neurosci 1988; 8: 2788-2803.
11. Jayanthi S, Ladenheim B, Andrews AM, Cadet JL. Overexpression of human copper/zinc superoxide dismutase in transgenic mice attenuates oxidative stress caused by methylenedioxymethamphetamine (ecstasy). Neuroscience 1999; 91: 1379-1387.
12. Camarero J, Sanchez V, O'Shea E, Green AR, Colado MI. Studies, using in vivo microdialysis, on the effect of the dopamine uptake inhibitor GBR 12909 on 3,4-methylenedioxymethamphetamine ('ecstasy')-induced dopamine release and free radical formation in the mouse striatum. J Neurochem 2002; 81: 961-972.

13. Chiueh CC, Krishna G, Tulsi P, Obata T, Lang K, Huang SJ et al. Role of dopamine autoxidation, hydroxyl radical generation and calcium overload in underlying mechanisms involved in MPTP-induced Parkinsonism. Adv Neurol 1992; 60: 251-258.
14. Giovanni A, Liang LP, Hastings TG, Zigmond MJ. Estimating hydroxyl radical content in rat brain using systemic and intraventricular salicylate; impact of methamphetamine. J Neurochem 1995; 64: 1819-1825.
15. Halliwell B, Kaur H. Hydroxylation of salicylate and phenylalanine as assays for hydroxyl radicals: a cautionary note visited for the third time. Free Rad Res 1997; 27: 239-244.
16. Cadet JL, Ladenheim B, Hirata H, Rothman RB, Ali S, Carlson E et al. Superoxide radicals mediate the biochemical effect of methylenedioxymethamphetamine (MDMA): Evidence from using CuZn-superoxide dismutase transgenic mice. Synapse 1995; 21: 169-176.
17. Shankaran M, Yamamoto BK, Gudelsky GA. Involvement of the serotonin transporter in the formation of hydroxyl radicals induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine. Eur J Pharmacol 1999; 385: 103-110.
18. Colado MI, Green AR. The spin trap reagent α-phenyl-N-tert-butyl nitrone prevents 'ecstasy'-induced neurodegeneration of 5-hydroxytryptamine neurons. Eur J Pharmacol 1995; 280: 343-346.
19. Yeh SY. N-tert-butyl-alpha-phenylnitrone protects against 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced depletion of serotonin in rats. Synapse 1999; 31: 169-177.
20. Colado MI, O'Shea E, Granados R, Misra A, Murray TK, Green AR. A study of the neurotoxic effect of MDMA ('ecstasy') on 5-HT neurons in the brains of mothers and neonates following administration of the drug during pregnancy. Br J Pharmacol 1997; 121: 827-833.
21. Sprague JE, Nichols DE. The monoamine oxidase-B inhibitor L-depenyl protects against 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced lipid peroxidation and long-term serotonergic deficits. J Pharmacol Exp Ther 1995; 273: 667-673.
22. Castano A, Cano J, Machado A, Low selenium diet affects monoamine turnover differentially in substantia nigra and striatum. J Neurochem 1993; 61: 1302-1307.
23. Freeman BA, Crapo JD, Biology of disease: free radicals and tissue injury. Lab. Invest. 1982; 47: 412-426.
24. Fridovich I. Superoxide dismutases. An adaptation to a paramagnetic gas. J Biol Chem 1989; 264: 7761-7764.

DISCUSIÓN

La discusión correspondiente a esta ponencia tuvo lugar conjuntamente con la ponencia siguiente, por lo que se ha publicado a continuación del próximo capítulo.