

<http://dx.doi.org/10.17579/RevPatDual.02.18>

Revisión

ESTRÉS, ALCOHOL Y ADOLESCENCIA STRESS, ALCOHOL AND ADOLESCENCE

Sandra Montagud-Romero, Carmen Ferrer-Pérez y Marta Rodríguez-Arias

Unidad de Investigación Psicobiología de las Drogodependencias, Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universitat de València, Valencia, Spain.

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 12 de junio de 2015

Aceptado el 23 de septiembre de 2015

Palabras clave: adolescencia, etanol, estrés, neuroinflamación.

Key words: adolescence, ethanol, stress, neuroinflammation.

RESUMEN

El alcohol es una de las drogas de elección entre los adolescentes siendo actualmente la forma de consumo más habitual el atracón o *binge drinking*. La adolescencia es un periodo de intenso desarrollo cerebral que hace a esta población más sensible a los efectos perjudiciales del etanol, como el deterioro cognitivo o el daño cerebral. En el presente artículo se describirán algunos de los estudios realizados por nuestro grupo de investigación en los que hemos estudiado los efectos que produce el consumo de etanol en forma de atracón en animales adolescentes. Este tipo de consumo produce alteraciones conductuales y cognitivas a largo plazo, incrementando los efectos reforzantes condicionados de la cocaína y de la MDMA, favoreciendo por tanto el desarrollo de adicción a estas sustancias. Determinadas variables como la exposición a un estrés durante la adolescencia o el presentar un determinado rasgo de personalidad como la búsqueda de la novedad, modificarán estos efectos. Por último, se discutirá brevemente la neuroinflamación producida por el etanol, mecanismo mediante el que parecen producirse los efectos anteriormente mencionados.

ABSTRACT

Alcohol is one of the most common drugs of abuse among adolescents, with binge drinking being the most frequent pattern of behavior. Adolescence is a period of major brain development, which makes adolescents highly sensitive to the detrimental effects of ethanol, including cognitive impairment and brain damage. In the present manuscript, we discuss several studies performed by our research group in which we have studied the effects of binge drinking in adolescent animals. This type of consumption induced long-lasting behavioral and cognitive disturbances, thereby increasing the conditioned reinforcing effects of cocaine and MDMA and favoring the development of addiction to these substances. Several variables, including suffering stress during adolescence and specific personality traits such as high novelty seeking, modified these effects. Finally, we will briefly discuss ethanol-induced neuroinflammation, which seems to underlie the aforementioned effects.

El consumo de alcohol en forma de atracón

El alcohol se encuentra entre las sustancias más consumidas por los adolescentes, habiendo aumentado la frecuencia de su consumo a lo largo de los años^{1,2}. Según la Encuesta Estatal sobre el abuso de drogas en estudiantes de enseñanzas secundarias (ESTUDES 2012), el alcohol es una de las sustancias más consumidas por jóvenes de entre 14 y 18 años. Hasta el 83,9% de los alumnos consultados afirman haber consumido alcohol en alguna ocasión en su

vida. Con respecto al consumo más reciente, por ejemplo el que se produce en los últimos 30 días, la proporción de consumidores se sitúa en el 74%, lo que confirma la tendencia gradual de aumento de la ingesta del alcohol. Respecto a la edad del inicio en el consumo, éste se inicia antes de cumplir los 14 años (13,9 años) tal y como venía ocurriendo en años anteriores¹.

Actualmente, la forma de consumo más habitual de alcohol y que se puede observar en diferentes países, es el llamado *binge drinking* o consumo en atracones, es decir, un consumo rápido, intensivo e intermitente de bebidas alcohólicas^{1,2}. Para considerar que se ha

Correspondencia:

marta.rodriguez@uv.es

2

producido este tipo de consumo se requiere que la concentración de alcohol en sangre sea igual o superior a 0,08 gr/dL. Esta concentración puede alcanzarse con un consumo de 5 o más vasos, cañas o copas de bebidas alcohólicas en un intervalo de tiempo no superior a dos horas, en el caso de los hombres y de 4 o más bebidas alcohólicas en el caso de las mujeres en el mismo período de tiempo^{2,3,4}. Este tipo de consumo, se ha comprobado que puede afectar a la maduración cerebral alterando la plasticidad neural y provocando daños que pueden perdurar toda la vida⁵. Actualmente, existe una gran preocupación por esta nueva forma de consumo alcohólico debido al gran deterioro cerebral que produce tanto a nivel estructural como funcional, provocando además cambios cognitivos y conductuales a largo plazo⁶.

Adolescencia y maduración cerebral

La adolescencia es una etapa de transición gradual de la infancia a la edad adulta en la que se producen cambios fisiológicos, cognitivos, conductuales y psicosociales⁷. En esta etapa crítica del desarrollo, los eventos son percibidos como más estresantes, produciéndose mayores tasas de depresión, problemas de sueño, inestabilidad emocional y ansiedad⁸. La adolescencia representa también una importante etapa en el desarrollo del sistema nervioso durante la cual, las hormonas esteroides desencadenan fenómenos de organización cerebral. Entre ellos cabe destacar la mielinización, la apoptosis o poda neuronal que producirá un aumento de la conectividad de las neuronas, los cambios en la plasticidad sináptica y la remodelación de las espinas dendríticas^{6,9,10}. Estos procesos son muy importantes para que se produzca una comunicación eficiente entre diferentes regiones cerebrales, y por lo tanto para el correcto funcionamiento de las funciones cognitivas superiores y las conductas complejas. Durante la adolescencia, el procesamiento neuronal inmaduro en la corteza prefrontal (que coordina procesos cognitivos y funciones ejecutivas) y otras regiones corticales y subcorticales, conduce a un comportamiento que está sesgado hacia el riesgo y la reactividad emocional^{11,12}. Realmente, son las características del cerebro adolescente las que predisponen a los individuos a comportarse en la forma que se ha referido anteriormente. Alteraciones en la maduración cerebral favorecen la aparición de conductas típicas de esta edad como la aceptación de riesgo o el consumo de drogas de abuso¹². Pero también se producen alteraciones en diferentes neurotransmisores con un incremento en el tono dopaminérgico a nivel del córtex prefrontal (CPF) que se acompaña de una disminución de la actividad dopaminérgica en el núcleo accumbens (NAcc) en comparación con lo que se observa en los individuos adultos¹³. Aunque en los adolescentes los niveles basales de dopamina (DA) sean más bajos, las

drogas producen un incremento mayor y más rápido de la liberación de DA^{14,15}. Es decir, los adolescentes experimentarán un menor impacto positivo ante estímulos de valor incentivo bajo o moderado, y por lo tanto buscarán reforzadores apetitivos adicionales¹⁶. Podemos concluir que las particulares características morfológicas y funcionales del cerebro adolescente le hacen operar en un estado promotivacional debido a la combinación de tres factores: capacidad inhibitoria limitada debido a la inmadurez del CPF, hiperactividad DA en el NAcc al procesar estímulos apetitivos e hiperactividad de la amígdala¹⁷.

Este cerebro en desarrollo resulta ser muy vulnerable a los efectos del alcohol, que altera tanto su fisiología como su función pudiendo causar daños irreversibles^{18,19}. Numerosos estudios han puesto de manifiesto la vulnerabilidad del cerebro adolescente a los efectos neurotóxicos del alcohol²⁰. El consumo de alcohol en adolescentes altera la integridad de la sustancia blanca reduciendo los tractos de mielina en las conexiones frontales²¹, que puede ser el responsable de la disfunción cognitiva observada en tareas de aprendizaje, memoria y funciones ejecutivas. Estudios en modelos animales han mostrado que los roedores adolescentes en comparación con sujetos adultos, son más sensibles a los efectos perjudiciales del etanol, como el deterioro de los procesos cognitivos^{22,23,24} presentando además un mayor daño cerebral^{25,26}. Aunque el mecanismo a través del cual el alcohol produce estos daños permanece en gran medida desconocido, actualmente ya existen numerosos datos que evidencian que el alcohol produce mediadores inflamatorios que serían los responsables de las alteraciones observadas²⁰.

Estrés social y consumo de etanol

Numerosos estudios realizados tanto en humanos como en modelos animales, han demostrado que la experiencia de situaciones estresantes a lo largo de la vida se asocia con la búsqueda y el consumo de drogas^{27,28}, incrementando su abuso y la recaída en el consumo de sustancias como el alcohol y la cocaína^{29,30}. El acoso escolar o el abuso infantil experimentado en estas edades tempranas de la vida pueden provocar cambios críticos a nivel fisiológico y comportamental que se manifiestan en la edad adulta^{31,32}. El término *bullying* (o acoso) se define como un acto consciente y deliberado de agresión y / o manipulación por una sola persona (*bully*) contra otra persona (víctima)³³. Este comportamiento puede ser extrapolado a animales de laboratorio mediante el paradigma de intruso-residente. En este modelo de laboratorio, un roedor agresivo adulto (residente) se enfrenta en su propia jaula a otro roedor adolescente (intruso) siguiendo unos protocolos que varían según la duración, la frecuencia o el número de derrotas sociales experimentadas³⁴. Este modelo presenta una validez ecológica y etológica, ya que

imita de manera muy precisa situaciones humanas de la vida real³⁵. Se ha observado que la derrota social puede desencadenar cambios psicopatológicos³⁶, alteraciones emocionales (depresión, ansiedad...) y aumentar la vulnerabilidad por desarrollar adicción a drogas³⁷.

La experiencia de derrota social repetida durante la adolescencia no produce un incremento de la ansiedad en la edad adulta, como sí se observa cuando se somete a este mismo procedimiento a animales adultos³⁸, pero sí afecta profundamente su comportamiento social, con una reducción en sus interacciones sociales y la aparición de conductas de evitación, huida y sumisión en situaciones que no inducirían este tipo de respuestas³⁹. También observamos que este modelo de *bullying* produce un incremento en el consumo de alcohol en la edad adulta. Estudios previos habían demostrado que ratones adultos derrotados socialmente incrementaban el consumo de etanol y la preferencia por el mismo tres semanas después de la última derrota social utilizando el procedimiento de elección entre dos botellas o *"two bottle choice"*⁴⁰. Resultados similares fueron observados por Caldwell y Riccio (2010)⁴¹ en ratas expuestas a cinco episodios de derrota social breve durante los días de la exposición al estresor, manteniéndose este consumo elevado una semana después. Sin embargo, no se habían realizado estudios para demostrar si la exposición a la derrota social durante la adolescencia producía resultados similares. Utilizando el paradigma de la autoadministración oral de etanol observamos que los ratones adultos que habían sido derrotados socialmente de forma repetida durante la adolescencia incrementaban el número de respuestas en la palanca activa y realizaban un mayor consumo de etanol cuando se les comparaba con sujetos no estresados. Igualmente el *breaking point* o número máximo de veces que el ratón aprieta la palanca activa para conseguir el etanol fue mayor en los ratones estresados, indicando que estos presentan una mayor motivación por el etanol³⁹.

Los efectos reforzantes del etanol se han relacionado con la activación del sistema dopaminérgico mesolímbico a través de diferentes mecanismos. Por ejemplo, tanto tras la administración aguda como crónica de etanol, se ha observado una regulación a la alza de la tiroxina hidroxilasa (TH)^{42,43}. También hemos observado que derrota social aumenta significativamente la expresión de TH, lo que sugiere que el aumento de la síntesis de DA estaría relacionado con el aumento de la auto-administración de etanol³⁹. El incremento en la liberación de DA inducido por el etanol también puede producirse a través de la activación de los receptores opiáceos en el área tegmental ventral (ATV) y el NAcc⁴⁴, habiendo sido también involucrados en los efectos del estrés social^{45,46}. A pesar que se había descrito un incremento persistente de la expresión de estos

receptores tras la derrota social⁴⁷, en nuestro estudio observamos una disminución de los mismos, que puede ser debido a las diferencias metodológicas existentes. Finalmente, las alteraciones en el eje hipotálamo hipófisis adrenal (HHA) se han relacionado con el desarrollo de la adicción a las drogas⁴⁸. La derrota social altera este eje ya que los ratones derrotados presentan una mayor expresión de hormona liberadora de corticotrofina (CRH) en el hipotálamo³⁹. El incremento en los glucocorticoides inducido por el estrés podría influir en la actividad DA mesolímbica a través de los receptores de glucocorticoides situados en las neuronas espinosas medias del NAcc regulando así la tasa de disparo de las neuronas DA mesolímbicas⁴⁹.

Efectos a largo plazo del consumo de etanol durante la adolescencia

Como hemos mencionado anteriormente, una de las formas más frecuentes de consumo de alcohol es el *binge drinking*. En nuestro grupo de investigación utilizamos un modelo que trata de simular este patrón de consumo observado en humanos. Para ello, ratones adolescentes reciben 16 dosis de etanol durante un período de dos semanas, recibiendo dos inyecciones diarias (separadas por un intervalo de cuatro horas), durante dos días consecutivos (simularía el consumo durante el fin de semana) a intervalos de 48 horas²². Hemos observado que este tipo de consumo durante la adolescencia produce a largo plazo un deterioro en las habilidades cognitivas de los sujetos adultos con un deterioro en el aprendizaje y la memoria^{24,50}. Sin embargo, no hemos observado que este tipo de consumo produzca cambios a largo plazo en modelos de patología mental como el test de suspensión de la cola (modelo de vulnerabilidad a la depresión) o la inhibición prepulso, que evalúa el proceso de inhibición preatencional (modelo de psicosis).

Los datos epidemiológicos nos informan que el etanol normalmente se consume en combinación con otras sustancias, siendo una de las más habituales la combinación de alcohol y 3,4-methylenedioxymethamphetamine o MDMA^{51,52}. Por ejemplo, Riley y cols. (2001)⁵³, observaron que el 85% de los jóvenes que asistían a las fiestas llamadas *"rave"* consumían una combinación de ambas drogas. Con el fin de estudiar los efectos a largo plazo del policonsumo de etanol y MDMA, añadimos al modelo anteriormente descrito, la exposición a la MDMA en dos de esas sesiones de atracón. Observamos que tres semanas después de la administración conjunta de etanol y MDMA, cuando los animales ya eran adultos, se incrementaba su nivel de ansiedad y se producían cambios en su interacción social y su actividad locomotora²⁴, potenciándose además el deterioro en el aprendizaje y la memoria que ya habíamos observado tras el

4

consumo de etanol^{50,54}. También observamos que el policonsumo incrementaba los efectos neurotóxicos de la MDMA ya que las concentraciones de DA en el estriado eran mucho más bajas en los ratones expuestos a ambas drogas^{24,50}. Aunque uno de los factores etiológicos más ampliamente implicados en la neurotoxicidad producida por la MDMA es la elevación de la temperatura corporal, es importante destacar que el alcohol disminuyó la respuesta hipertérmica inducida por la MDMA²⁴.

Pero quizá el resultado más interesante fue que la exposición al etanol, a la MDMA o a ambas drogas durante la adolescencia incrementaba los efectos reforzantes condicionados de la MDMA en la edad adulta. Estos animales desarrollan condicionamiento de la preferencia de lugar (CPL) con dosis inefectivas de esta droga, lo cual nos indica una mayor sensibilidad a sus efectos reforzantes. Pero además, se requirieron más sesiones para que los animales extinguieran la preferencia, es decir que la pre exposición a cualquiera de estas drogas durante la adolescencia hacia que una vez adultos, estos animales siguieran buscando la droga a pesar de no estar disponible^{56,57}.

El consumo de drogas en edades tempranas se asocia a mayores tasas de adicción en edades más avanzadas de la vida⁵⁸. Sin embargo, es bien sabido que no todos los consumidores van a desarrollar dependencia, obedeciendo esta progresión, entre otros factores, a ciertos rasgos de personalidad entre los que cabe destacar una elevada impulsividad o búsqueda de la novedad^{59,60}. Como ya hemos comentado, durante la adolescencia se observa un incremento de estas conductas⁶¹, donde son en cierta medida adaptativas ya que pueden facilitar la transición a la vida adulta promoviendo la independencia y las habilidades de supervivencia⁶². Sin embargo, pueden suponer un serio peligro ya que las nuevas experiencias asociadas al consumo de drogas se perciben como reforzantes y excitantes. Estudios en modelos animales también han puesto de manifiesto la predominancia del refuerzo versus los efectos aversivos de las drogas durante la adolescencia^{58,63,64,65,66}. Por lo tanto, el rasgo de búsqueda de la novedad o novelty seeking (NS), definido como la tendencia de perseguir experiencias y sensaciones emocionales intensas y novedosas⁶⁷, es significativamente más frecuente en consumidores de drogas⁶⁸. En modelos animales, este rasgo se define como la exploración específica de situaciones nuevas, objetos o estímulos desconocidos. Al igual que en los seres humanos, es un comportamiento complejo que implica la detección de cambios en el entorno (cognición) y que está relacionado con la respuesta de estrés⁶⁹.

Numerosos estudios han mostrado que existe una clara relación entre la búsqueda de la novedad y el consumo de alcohol. Los individuos que muestran una alta búsqueda de la novedad experimentan de

forma más intensa los efectos positivos del alcohol⁷⁰.

Además, este rasgo de personalidad parece predisponer a un incremento en los problemas relacionados con el consumo de alcohol, con mayores tasas de consumo y recaída tras la abstinencia⁷¹. Con el fin de demostrar si este rasgo influiría en los conocidos efectos a largo plazo que produce el consumo de etanol durante la adolescencia, dividimos a los ratones adolescentes en altos y bajos buscadores de novedad (utilizando el test de *hole board*) y posteriormente les administramos etanol en forma de atracón. Observamos en primer lugar que la búsqueda de la novedad está influida por la edad de los animales, ya que cuando los animales son ya adultos, aquellos catalogados como altos buscadores durante la adolescencia presentaron un perfil de búsqueda de la novedad similar al de los bajos. También observamos que solo los altos buscadores de novedad expuestos al alcohol mostraban un perfil de baja ansiedad en la edad adulta. Finalmente, como ya habíamos demostrado previamente, constatamos que la exposición al alcohol incrementaba los efectos reforzantes condicionados de la cocaína, ocurriendo este efecto tanto en altos como en bajos buscadores de la novedad. Todos los animales que habían consumido etanol durante la adolescencia, desarrollaban CPL con dosis inefectivas de cocaína, sin embargo, solo los altos buscadores reinstauraban esta preferencia, por lo que se muestran más vulnerables a la recaída en el consumo de este psicoestimulante^{24,72}.

Efectos neuroinflamatorios del etanol

Los mecanismos que subyacen al daño cerebral inducido por el etanol son poco conocidos, aunque algunos estudios apuntan a la participación de la excitotoxicidad⁷³. Estudios previos ya habían demostrado que el consumo crónico de etanol inducía inflamación cerebral activando las células gliales y estimulando vías de señalización intracelular que desencadenan por ejemplo la producción de citoquinas o ciclooxigenasa-2 (COX-2) que en última instancia producen muerte celular neural^{74,75}. Tras el consumo de alcohol en forma de atracón en animales adolescentes obtuvimos resultados similares. Observamos una regulación a la alza de mediadores de neuroinflamación como la COX-2, y además se constató un incremento de muerte celular en la neocorteza, el hipocampo y el cerebelo. Estos animales también exhibieron alteraciones conductuales, tanto al finalizar el tratamiento con etanol como en la edad adulta. Sin embargo, todos estos cambios fueron atenuados o completamente bloqueados si previamente al consumo de etanol se administraba indometacina (inhibidor de la COX-2)²², lo cual apunta a que la neuroinflamación juega un papel fundamental en la aparición de todos estos cambios. En un trabajo más reciente hemos querido

profundizar en este mecanismo y hemos estudiado el papel de los *toll-like receptor 4* (TLR4) mediante el uso de ratones *knockout* para estos receptores (KO TLR4). Ya sabíamos que la estimulación de los TLR 4 en las células gliales tras el consumo crónico de etanol inducía neuroinflamación, gliosis, desmielinización y daño cerebral^{75,76,77,78}. En este último estudio hemos observado que en los ratones KO TLR4 el consumo de alcohol en forma de atracón no produce ningún efecto, ni incrementos de las citoquinas, ni de los mediadores de inflamación, parámetros que si aparecen elevados en los ratones *wild type* expuestos a este consumo de etanol. Este tipo de consumo produce daños a nivel sináptico en la CPF, con disminución de las vesículas sinápticas o adelgazamiento de la densidad postsináptica, acompañado de un deterioro de la vaina de mielina. Ni estos cambios ni la disfunción cognitiva que los acompañan se observaron en los ratones KO TLR4²³. Por lo tanto queda claramente demostrado el papel de la neuroinflamación, mediante la activación de los receptores TLR4, en la aparición del deterioro cerebral tanto de tipo estructural como funcional, que induce el consumo de etanol en forma de *binge drinking* en sujetos adolescentes.

Conclusión

La ingesta de etanol en forma de atracón durante la adolescencia induce serios y duraderos cambios cerebrales que se manifiestan incluso en la edad adulta. Los modelos animales nos han permitido identificar déficits en la memoria y el aprendizaje, así como un incremento en la respuesta reforzante de otras drogas, como la cocaína o la MDMA. Estos efectos se modulan por variables como la experiencia de estrés o determinados rasgos de personalidad. Se ha propuesto que los mecanismos neuroinflamatorios son los responsables de la aparición de estos cambios, sugiriendo nuevas dianas terapéuticas que prevengan y contrarresten los efectos perjudiciales de este consumo intensivo de etanol.

AGRADECIMIENTOS

Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO), Dirección General de Investigación, PSI2011-24762 y PSI2014-51847-R, Instituto de Salud Carlos III, Red de Trastornos Adictivos (RTA) RD12/0028/0005 y la Unión Europea, Fondos FEDER “una manera de hacer Europa” Generalitat Valenciana, Conselleria de Educación, PROMETEOII/2014/063. The European Foundation for Alcohol Research (ERAB), EA13 08.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses

BIBLIOGRAFÍA

- Informe de la encuesta estatal sobre el uso de drogas en estudiantes de enseñanzas secundarias. ESTUDES (2012). Delegación del gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas. [Consultado 01/06/2015]. Disponible en: <http://www.pnsd.msc.es/Categoria2/observa/estudios/home.htm>
- European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. EMCDDA. Annual report 2014: the state of the drugs problem in Europe. [Consultado 01/06/2015]. Disponible en: <http://www.emcdda.europa.eu/news/2014/fs10>
- National Institute of Alcohol Abuse and Alcoholism. NIAAA Newsletter (2004) Department of health and human Services-National Institutes of Health website. [Consultado 01/06/2015]. Disponible en: http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/Newsletter/winter2004/Newsletter_Number3.pdf
- Encuesta domiciliaria sobre alcohol y drogas en España. EDADES (2013). Delegación del gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas. [Consultado 01/06/2015]. Disponible en: <http://www.pnsd.msc.es/Categoria2/observa/estudios/home.htm>
- Hiller-Sturmhöfel S, Swartzwelder HS. Alcohol's effects on the adolescent brain: what can be learned from animal models. *Alcohol. Res. Health.* 2005; 28: 213–21.
- Alfonso-Loeches S, GuerríC. Molecular and behavioral aspects of the actions of alcohol on the adult and developing brain. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2011; 48, 19–47.
doi: <http://dx.doi.org/10.3109/10408363.2011.580567>
- Pickles A, Pickering K, Simonoff E, Silberg J, Meyer J, Maes H, Buchanan CM, Eccles JS, Becker JB. Genetic “clocks” and “soft” events: a twin model for pubertal development and other recalled sequences of developmental milestones, transitions, or ages at onset. Are adolescents the victims of raging hormones: evidence for activation effects of hormones on moods and behavior at adolescence. *Behav Genet.* 1998; 28(4):243-53.
doi: <http://dx.doi.org/10.1023/A:1021615228995>
- Vigil P, Orellana RF, Cortes ME, Molina CT, Switzer BE, Klaus H. Endocrine Modulation of the Adolescent Brain: A Review. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2011; 24:330-7.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpjag.2011.01.061>
- Toga AW, Thompson PM, Sowell ER. Mapping brain maturation. *Trends Neurosci.* 2006; 29, 148–159.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2006.01.007>
- Sturman DA, Moghaddam B. The neurobiology of adolescence: Changes in brain architecture, functional dynamics, and behavioral tendencies. *Neurosci Biobehav Rev.* 2011; 35:1704-12.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.04.003>
- Mills KL, Goddings AL, Clasen LS, Giedd JN, Blakemore SJ. The developmental mismatch in structural brain maturation during adolescence. *Dev Neurosci.* 2014; 36:147-60.
doi: <http://dx.doi.org/10.1159/000362328>
- Doremus-Fitzwater TL, Varlinskaya EI, Spear LP. Motivational systems in adolescence: possible implications for age differences in substance abuse and other risk-taking behaviors. *Brain Cogn.* 2010; 72:114-23.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bandc.2009.08.008>
- Andersen SL, Gazzara RA. The ontogeny of apomorphine-induced alterations of neostriatal dopamine release: effects on spontaneous release. *J Neurochem.* 1993; 61:2247-55.
doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-4159.1993.tb07466.x>
- Laviola G, Pascucci T, Pieretti S. Striatal dopamine sensitization to D-amphetamine in periadolescent but not in adult rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2001; 68:115-24.

- doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0091-3057\(00\)00430-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0091-3057(00)00430-5)
15. Badanich KA, Adler KJ, Kirstein CL. Adolescents differ from adults in cocaine conditioned place preference and cocaine-induced dopamine in the nucleus accumbens septi. *Eur J Pharmacol* 2006; 550:95–106.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.08.034>
16. Spear LP. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neurosci Biobehav Rev*. 2000; 24:417–63.
doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634\(00\)00014-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634(00)00014-2)
17. Rodríguez-Arias M, Aguilar MA. Polydrug Use in Adolescence. En: Belin D, editor. *Addictions – From Pathophysiology to Treatment*. In Tech Open; 2012. p 227.
18. Harper C, Matsumoto I. Ethanol and brain damage. *Curr Opin Pharmacol*. 2005; 5:73–88.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2004.06.011>
19. Guerri C, Pascual M. Mechanisms involved in the neurotoxic, cognitive, and neurobehavioral effects of alcohol consumption during adolescence. *Alcohol*. 2010; 44:15–26.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.alcohol.2009.10.003>
20. Pascual M, Bali-o P, Aragón CM, Guerri C. Cytokines and chemokines as biomarkers of ethanol-induced neuroinflammation and anxiety-related behavior: role of TLR4 and TLR2. *Neuropharmacology*. 2015; 89:352–9.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.10.014>
21. Bava S, Jacobus J, Thayer RE, Tapert SF. Longitudinal changes in white matter integrity among adolescent substance users. *Alcohol Clin Exp Res*. 2013; 37 Suppl 1:E181–9.
doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1530-0277.2012.01920.x>
22. Pascual M, Blanco AM, Cauli O, Minarro J, Guerri C. Intermittent ethanol exposure induces inflammatory brain damage and causes long-term behavioural alterations in adolescent rats. *Eur. J. Neurosci*. 2007; 25:541–50.
doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05298.x>
23. Montesinos J, Pascual M, Pla A, Maldonado C, Rodríguez-Arias M, Mi-arro J, Guerri C. TLR4 elimination prevents synaptic and myelin alterations and long-term cognitive dysfunctions in adolescent mice with intermittent ethanol treatment. *Brain Behav Immun*. 2015; 45:233–44.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2014.11.015>
24. Rodríguez-Arias M, Maldonado C, Vidal-Infer A, Guerri C, Aguilar MA, Mi-arro J. Intermittent ethanol exposure increases long-lasting behavioral and neurochemical effects of MDMA in adolescent mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011; 218:429–42.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-011-2329-x>
25. Crews FT, Braun CJ, Hoplight B, Switzer RC, Knapp DJ. Binge ethanol consumption causes differential brain damage in young adolescent rats compared with adult rats. *Alcohol Clin Exp Res*. 2000; 24:1712–23.
doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1530-0277.2000.tb01973.x>
26. White AM, Swartzwelder HS. Age-related effects of alcohol on memory and memory-related brain function in adolescents and adults. *Recent Dev Alcohol*. 2005; 17:161–76.
doi: http://dx.doi.org/10.1007/0-306-48626-1_8
27. Sinha R. How does stress increase risk of drug abuse and relapse? *Psychopharmacology (Berl)*. 2001; 158:343–59.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s002130100917>
28. Stewart J. Stress and relapse to drug seeking: studies in laboratory animals shed light on mechanisms and sources of long-term vulnerability. *Am J Addict*. 2003; 12:1–17.
doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1521-0391.2003.tb00535.x>
29. Derr R, Lindblad S. Stress-induced consumption of ethanol by rats. *Life Sci*. 1980; 27:2183–86.
doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0024-3205\(80\)90382-3](http://dx.doi.org/10.1016/0024-3205(80)90382-3)
30. Kreibich AS, Briand L, Cleck JN, Ecke L, Rice KC, Blendy JA. Stress-induced potentiation of cocaine reward: a role for CRF R1 and CREB. *Neuropsychopharmacology*. 2009; 34:2609–17.
doi: <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2009.91>
31. de Groot J, van Milligen FJ, Moonen-Leusen BW, Thomas G, Koolhaas JM. A single social defeat transiently suppresses the antiviral immune response in mice. *J Neuroimmunol*. 1999; 95:143–51.
doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-5728\(99\)00005-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-5728(99)00005-3)
32. Lumley LA, Sipos ML, Charles RC, Charles RF, Meyerhoff JL. Social stress effects on territorial marking and ultrasonic vocalizations in mice. *Physiol Behav*. 1999; 67:769–75.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9384\(99\)00131-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9384(99)00131-6)
33. Sullivan K. *The Anti-Bullying Handbook*. Auckland: Oxford University Press; 2000.
34. Koolhaas JM, Coppens CM, de Boer SF, Buwalda B, Meerlo P, Timmermans PJ. The resident-intruder paradigm: a standardized test for aggression, violence and social stress. *J Vis Exp*. 2013; 77:e4367.
doi: <http://dx.doi.org/10.3791/4367>
35. Shimozuru M, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. Social defeat stress suppresses scent-marking and social-approach behaviors in male Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Physiol Behav*. 2006; 88:620–27.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.05.018>
36. Bjorkqvist K. Social defeat as a stressor in humans. *Physiol Behav*. 2001; 73:435–442
doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9384\(01\)00490-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0031-9384(01)00490-5)
37. Burke JD Jr, Burke KC, Rae DS. Increased rates of drug abuse and dependence after onset of mood or anxiety disorders in adolescence. *Hosp Community Psychiatry*. 1994; 45:451–55.
doi: <http://dx.doi.org/10.1176/ps.45.5.451>
38. García-Pardo MP, Blanco-Gandía MC, Valiente-Lluch M, Rodríguez-Arias M, Mi-arro J and Aguilar MA. Long-term effects of repeated social stress on the conditioned place preference induced by MDMA in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2015 (en prensa).
39. Rodríguez-Arias M, Navarrete F, Blanco-Gandia MC, Arenas MC, Bartoll-Andrés A, Aguilar MA, Rubio G, Mi-arro J, Manzanares J. Social defeat in adolescent mice increases vulnerability to alcohol consumption. *Addict Biol*. 2014. [Epub ahead of print].
doi: <http://dx.doi.org/10.1111/adb.12184>
40. Croft AP, Brooks SP, Cole J, Little HJ. Social defeat increases alcohol preference of C57BL/10 strain mice: effect prevented by a CCKB antagonist. *Psychopharmacology (Berl)*. 2005; 183:163–70.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-005-0165-6>
41. Caldwell EE, Riccio DC. Alcohol self-administration in rats: modulation by temporal parameters related to repeated mild social defeat stress. *Alcohol*. 2010; 44:265–74.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.alcohol.2010.02.012>
42. Oliva JM, Ortiz S, Perez-Rial S, Manzanares J. Time dependent alterations on tyrosine hydroxylase, opioid and cannabinoid CB1 receptor gene expressions after acute ethanol administration in the rat brain. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2008; 18:373–82.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.euroneuro.2007.09.001>

43. Lee YK, Park SW, Kim YK, Kim DJ, Jeong J, Myrick H, Kim YH. Effects of naltrexone on the ethanol-induced changes in the rat central dopaminergic system. *Alcohol Alcohol*. 2005; 40:297–301.
doi: <http://dx.doi.org/10.1093/alcalc/agh163>
44. Cowen MS, Lawrence AJ. The role of opioid-dopamine interactions in the induction and maintenance of ethanol consumption. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1999; 23:1171–1212.
doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0278-5846\(99\)00060-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0278-5846(99)00060-3)
45. Wang J, Charboneau R, Barke RA, Loh HH, Roy S. Mu-opioid receptor mediates chronic restraint stress-induced lymphocyte apoptosis. *J Immunol*. 2002; 169:3630–6.
doi: <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.169.7.3630>
46. Komatsu H, Ohara A, Sasaki K, Abe H, Hattori H, Hall FS, Uhl GR, Sora I. Decreased response to social defeat stress in μ -opioid-receptor knockout mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 2011; 99:676–82.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2011.06.008>
47. Nikulina EM, Arrillaga-Romany I, Miczek KA, Hammer Jr RP. Long-lasting alteration in mesocorticolimbic structures after repeated social defeat stress in rats: time course of mu-opioid receptor mRNA and FosB/DeltaFosB immunoreactivity. *Eur J Neurosci*, 2008; 27:2272–84.
doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06176.x>
48. Zorrilla EP, Logrip ML, Koob GF. Corticotropin releasing factor: a key role in the neurobiology of addiction. *Front Neuroendocrinol*. 2014; 35:234–44.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.01.001>
49. Spanagel R, Noori HR, Heilig M. Stress and alcohol interactions: animal studies and clinical significance. *Trends Neurosci*. 2014; 37:219–227.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tins.2014.02.006>
50. Vidal-Infer A, Aguilar MA, Mi-arro J, Rodríguez-Arias M. Effect of intermittent exposure to ethanol and MDMA during adolescence on learning and memory in adult mice. *Behav Brain Funct*. 2012; 8:32.
doi: <http://dx.doi.org/10.1186/1744-9081-8-32>
51. Barrett SP, Darredeau C, Pihl RO. Patterns of simultaneous polysubstance use in drug using university students. *Hum Psychopharmacol*. 2006; 21:255–63.
doi: <http://dx.doi.org/10.1002/hup.766>
52. Breen C, Degenhardt L, Kinner S, Bruno R, Jenkinson R, Matthews A, Newman J. Alcohol use and risk taking among regular ecstasy users. *Subst Use Misuse*. 2006; 41:1095–109.
doi: <http://dx.doi.org/10.1080/10826080500411528>
53. Riley SC, James C, Gregory D, Dingle H, Cadger M. Patterns of recreational drug use at dance events in Edinburgh, Scotland. *Addiction*. 2001; 96:1035–47.
doi: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1360-0443.2001.967103513.x>
54. Hernandez-Rabaza V, Navarro-Mora G, Velazquez-Sanchez C, Ferragud A, Marin MP, Garcia-Verdugo JM, Renau-Piqueras J, Canales JJ. Neurotoxicity and persistent cognitive deficits induced by combined MDMA and alcohol exposure in adolescent rats. *Addict Biol*. 2010; 15:413–23.
doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1369-1600.2010.00259.x>
55. Cassel JC, Riegert C, Rutz S, Koenig J, Rothmaier K, Cosquer B, Lazarus C, Birtheimer A, Jeltsch H, Jones BC, Jackisch R. Ethanol, 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) and their combination: long-term behavioral, neurochemical and neuropharmacological effects in the rat. *Neuropsychopharmacology*. 2005; 30:1870–82.
doi: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.npp.1300714>
56. Do Couto BR, Rodríguez-Arias M, Fuentes S, Gagliano H, Armario A, Mi-arro J, Aguilar MA. Adolescent pre-exposure to ethanol or MDMA prolongs the conditioned rewarding effects of MDMA. *Physiol Behav*. 2011; 103:585–93.
doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physbeh.2011.02.012>
57. Ribeiro Do Couto B, Daza-Losada M, Rodríguez-Arias M, Nadal R, Guerri C, Summavielle T, Mi-arro J, Aguilar MA. Adolescent pre-exposure to ethanol and 3,4-methylenedioxymethylamphetamine (MDMA) increases conditioned rewarding effects of MDMA and drug-induced reinstatement. *Addict Biol*. 2012; 17(3):588–600.
doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1369-1600.2011.00382.x>
58. Brown SA, McGue M, Maggs J, Schulenberg J, Hingson R, et al. A developmental perspective on alcohol and youths 16 to 20 years of age. *Pediatrics*. 2008; 121 Suppl 4:S290–310.
doi: <http://dx.doi.org/10.1542/peds.2007-2243D>
59. Martin CA, Kelly TH, Rayens MK, Brogli BR, Brenzel A, Smith WJ, Omar HA. Sensation seeking, puberty, and nicotine, alcohol, and marijuana use in adolescence. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2002; 41:1495–502.
doi: <http://dx.doi.org/10.1097/00004583-200212000-00022>
60. Kelly TH, Robbins G, Martin CA, Fillmore MT, Lane SD, Harrington NG, Rush CR. Individual differences in drug abuse vulnerability: d-amphetamine and sensation seeking status. *Psychopharmacology*, 2006; 189:17–25.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-006-0487-z>
61. Kelley AE, Schochet T, Landry CF. Risk taking and novelty seeking in adolescence: introduction to part I. *Ann N Y Acad Sci*, 2004; 1021:27–32.
doi: <http://dx.doi.org/10.1196/annals.1308.003>
62. Spear HJ, Kulbok P. Autonomy and adolescence: a concept analysis. *Public Health Nurs*, 2004; 21:144–52.
doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.0737-1209.2004.021208.x>
63. Laviola G, Adriani W, Terranova ML, Gerra G. Psychobiological risk factors for vulnerability to psychostimulants in human adolescents and animal models. *Neurosci Biobehav Rev*, 1999; 23:993–1010.
doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634\(99\)00032-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634(99)00032-9)
64. Laviola G, Macri S, Morley-Fletcher S, Adriani W. Risk-taking behavior in adolescent mice: psychobiological determinants and early epigenetic influence. *Neurosci Biobehav Rev*, 2003; 27:19–31.
doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634\(03\)00006-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0149-7634(03)00006-X)
65. Schramm-Sapyta NL, Pratt AR, Winder DG. Effects of periadolescent versus adult cocaine exposure on cocaine conditioned place preference and motor sensitization in mice. *Psychopharmacology*, 2004; 173:41–8.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-003-1696-3>
66. Schramm-Sapyta NL, Walker QD, Caster JM, Levin ED, Kuhn CM. Are adolescents more vulnerable to drug addiction than adults? Evidence from animal models. *Psychopharmacology*, 2009; 206:1–21.
doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00213-009-1585-5>
67. Zuckerman M, Cloninger CR. Relationships between cloninger's, zuckerman's, and eysenck's dimensions of personality. *Person Individ Diff*. 1996; 21: 283–85.
doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0191-8869\(96\)00042-6](http://dx.doi.org/10.1016/0191-8869(96)00042-6)
68. Jupp B, Dalley JW. Behavioral endophenotypes of drug addiction: Etiological insights from neuroimaging studies. *Neuropharmacology*. 2014; 76: 487–97.

doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.05.041>

69. Ballaz SJ, Akil H, Watson SJ. Previous experience affects subsequent anxiety-like responses in rats bred for novelty seeking. *Behav Neurosci*. 2007; 121:1113–8.

doi: <http://dx.doi.org/10.1037/0735-7044.121.5.1113>

70. Fillmore MT, Ostling EW, Martin CA, Kelly TH. Acute effects of alcohol on inhibitory control and information processing in high and low sensationseekers. *Drug Alcohol Depend*, 2009; 100:91–9.

doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2008.09.007>

71. Kushner MG, Abrams K, Borchardt C. The relationship between anxiety disorders and alcohol use disorders: a review of major perspectives and findings. *Clin Psychol Rev*, 2000; 20:149–71.

doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0272-7358\(99\)00027-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0272-7358(99)00027-6)

72. Montagud-Romero S, Daza-Losada M, Vidal-Infer A, Maldonado C, Aguilar MA, Mi-arro J, Rodríguez-Arias M. The novelty-seeking phenotype modulates the long-lasting effects of intermittent ethanol administration during adolescence. *PLoS One*. 2014; 9:e92576.

doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0092576>

73. Prendergast MA, Harris BR, Mullholland PJ, Blanchard JA. 2nd, Gibson DA, Holley RC, Littleton JM. Hippocampal CA1 region neurodegeneration produced by ethanol withdrawal requires activation of intrinsic polysynaptic hippocampal pathways and function of Nmethyl- D-aspartate receptors. *Neuroscience*. 2004; 124: 869–77.

doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.12.013>

74. Valles, S.L., Blanco, A.M., Pascual, M. & Guerri, C. Chronic ethanol treatment enhances inflammatory mediators and cell death in the brain and in astrocytes. *Brain Pathol*. 2004; 14, 365–71.

doi: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3639.2004.tb00079.x>

75. Blanco AM, Valles SL, Pascual M, Guerri C. Involvement of TLR4 / type I IL-1 receptor signaling in the induction of inflammatory mediators and cell death induced by ethanol in cultured astrocytes. *J. Immunol*. 2005; 175: 6893–9.

doi: <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.175.10.6893>

76. Alfonso-Loeches S, Pascual-Lucas M, Blanco AM, Sanchez-Vera I, Guerri C. Pivotal role of TLR4 receptors in alcohol-induced neuroinflammation and brain damage. *J Neurosci*. 2010; 30:8285–95.

doi: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0976-10.2010>

77. Alfonso-Loeches S, Pascual M, Gomez-Pinedo U, Pascual-Lucas M, Renau- Piqueras J, Guerri C. Toll-like receptor 4 participates in the myelin disruptions associated with chronic alcohol abuse. *Glia*. 2012; 60, 948–64.

doi: <http://dx.doi.org/10.1002/glia.22327>

78. Fernandez-Lizarbe S, Pascual M, Guerri C. Critical role of TLR4 response in the activation of microglia induced by ethanol. *J Immunol*. 2009; 183: 4733–44.

doi: <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.0803590>

