



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Psicología



**Efecto reforzante de la estimulación del receptor CB1 por
Oleamida en el Núcleo Accumbens shell de la rata**

TESIS

Que para obtener el grado de Licenciado en Psicología

presenta:

Vicente Estrada González

Director: Dr. Oscar Próspero García

Revisora: Dra. Alejandra E. Ruiz Contreras

Sinodales:

Dr. David N. Velázquez Martínez

Dr. Hugo Sánchez Castillo

Mtra. Gabriela Orozco Calderón



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



[Faint, illegible text, possibly bleed-through from the reverse side of the page]

[Faint, illegible text, possibly bleed-through from the reverse side of the page]

Dedico esta tesis a mis padres. Gracias, papá, por haberme enseñado que el trabajo arduo es el único medio para conseguir los objetivos que uno se plantea en la vida. Gracias, mamá, por haberme enseñado que sólo una pequeña parte del mundo puede ser explicada por la razón, que el resto es cuestión de sensación.

ÍNDICE

RESUMEN	3
CAPÍTULO I: RECOMPENSA	4
Neurobiología de la recompensa.	6
Sistema límbico	7
Neurotransmisión de la recompensa	13
CAPÍTULO II: ADICCIÓN	21
Drogadicción	23
Intoxicación	25
Síndrome de abstinencia	27
Recaída	32
CAPÍTULO III: SISTEMA ENDOCANABINOIDE Y ADICCIÓN	36
Sistema endocanabinoide	38
Efectos reforzantes del sistema endocanabinoide	40
Sustratos fisiológicos de los efectos recompensantes por cannabinoides	41

Plasticidad por administraciones crónicas de agonistas CB1	44
Relación entre sistemas endocanabinoide y opioide	46
Oleamida	48
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	49
JUSTIFICACIÓN	49
OBJETIVOS	50
HIPÓTESIS	50
MÉTODO	51
RESULTADOS	56
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	63
ANEXO I. Análisis de varianza mixto	71
ABREVIATURAS	74
REFERENCIAS	75

RESUMEN

La activación del sistema endocanabinoide (SEC) modula distintas funciones cognitivas que desencadenan modificaciones en el comportamiento. El aumento de 2-araquidonilglicerol (2-AG), anandamida (ANA) y oleamida (OLE) se ha relacionado con el incremento en la ingestión de alimentos y la modulación del ciclo sueño-vigilia.

El SEC se distribuye importantemente dentro del Sistema Límbico (SL), el cual se compone de un conjunto de estructuras cerebrales encargadas principalmente de gestionar emociones, como aquellas relacionadas con la recompensa (placer, alborozo, júbilo). Dado lo anterior, es muy probable que el SEC esté modulando la sensación subjetiva de recompensa. 2-AG y ANA aumentan e inducen, respectivamente, la conducta de búsqueda (comportamiento estrechamente relacionado con la recompensa).

La administración de OLE ha logrado incrementar la ingesta de alimento en ratas saciadas. Dicho efecto ha sido atribuido al aumento de la activación del componente hedónico comprendido en el consumo de alimento, con lo que se ha sugerido que OLE está involucrada en el fenómeno de la recompensa. Con el fin de comprobarlo, el presente estudio se propuso evaluar si la OLE es capaz de generar conducta de búsqueda, al ser administrada dentro del núcleo accumbens *shell* (estructura que es parte del sistema límbico y ha sido fuertemente asociada con la recompensa). Para ello, fueron utilizadas ratas macho de la cepa Wistar, a quienes se les sometió a un paradigma de condicionamiento de preferencia de lugar (método que mide la conducta de búsqueda). Tres dosis de OLE fueron administradas (0.1, 1 y 10 μ g), de las cuales sólo la segunda produjo conducta de búsqueda, que fue bloqueada con la administración de AM 251 (antagonista a los receptores CB1). Sorprendentemente la dosis de 10 μ g provocó conducta de evitación. Estos resultados nos muestran que, en efecto, OLE motiva a los sujetos a realizar conducta de búsqueda, lo que evidencia su participación en la modulación del SL, su efecto reforzante y su tentativa participación en el aumento de la recompensa.

CAPÍTULO I: RECOMPENSA

Desde el siglo III a. C. la filosofía epicúrea consideraba al comportamiento, como el resultado de la búsqueda individual de la maximización del placer y la minimización del sufrimiento. Dicha búsqueda se da en principio por la tendencia natural de los individuos a acercarse a estos eventos placenteros (recompensas); la forma en la que estos se consiguen implica una serie de acciones que son señaladas por determinados estímulos, los cuales, al ser favorables para la empresa del individuo, se aprenden y son reproducidos en situaciones futuras. Estos estímulos son denominados reforzadores (White, 1989).

En el siglo XX Eduard Lee Thorndike postuló la ley del efecto, la cual permite inferir los motivos que instan a los organismos a repetir determinadas conductas. Lo que encontró fue que cuando un animal se enfrenta a una problemática que requiere una solución, éste va actuando de forma semi- aleatoria (no lo hace del todo aleatoria, porque ciertas conductas son más probables que otras, dependiendo de la situación, experiencia, etc.); eventualmente, alguna de las conductas emitidas por el sujeto es adecuada para alcanzar su propósito, es decir, da solución al problema. El sujeto se percata de qué conducta fue benéfica para su empresa y aprende que ejecutarla será muy conveniente cuando se enfrente de nuevo a una problemática similar. La conducta ahora ha incrementado su probabilidad de ocurrencia y decimos entonces que ha sido *reforzada* (Thorndike, 1989).

Aunado a lo antes dicho, las clasificaciones dadas por los resultados de los trabajos de Skinner, construyeron el concepto de *reforzador*. Un reforzador es todo aquel estímulo que incrementa la probabilidad de ocurrencia de la conducta que precede su aparición. Existen dos tipos de reforzadores: negativos y positivos. En el primero, el estímulo es del tipo aversivo y la conducta que incrementará su probabilidad de ocurrencia es evitación. En el reforzador positivo, el estímulo es atractivo, y las conductas de aproximación y consumación hacia éste serán las facilitadas. Como vemos, ambos reforzadores poseen invariablemente un correlato hedónico (Skinner, 1938).

Los organismos han llegado a sobrevivir porque han estado motivados a hacer determinadas conductas que satisfacen sus menesteres para sobrevivir. La homeostasis, definida como el proceso en el que un organismo al afrontar un medio ambiente cambiante,

logra mantener una estabilidad relativa en su medio interno, juega un papel muy importante en la motivación que un individuo tiene para sobrevivir y ejecutar todo el bagaje comportamental necesario para que esto ocurra (Penazzio, 2009).

La motivación surge de una descompensación del estado homeostático del organismo que, cuando es apaciguada, trae consigo una experiencia placentera que ha sido denominada recompensa. Skinner llamó *impulso* a esta motivación (Skinner, 1938). Comer, beber y los estados de reposo como el dormir; son imprescindibles para que un organismo siga con vida. Estas conductas, son realizadas para obtener aquello que acalla la queja del organismo por la pérdida de la homeostasis (alimento, agua, sueño) y causa su recuperación (Koob y Le Moal, 1997).

Estas conductas han sido clasificadas como *comportamiento adaptativo motivado*, que ha sido definido como aquel cúmulo de acciones ejecutadas por un individuo que le permiten resolver las problemáticas que conllevan el constante cambio de eventualidades en el medio. Cada una de estas acciones repercute en una recompensa.

El comportamiento va moldeándose entonces por estas resultantes, tal como se mencionó en el apartado anterior. Schultz (2004) ha mencionado tres formas en las que lo consiguen:

- a) inducen aprendizaje.
- b) inducen aproximación.
- c) inducen emociones positivas.

Dicho en otras palabras, gracias a la información extraída del medio, se modifica y controla el comportamiento (Schultz, 2000). Además, se consolida el gusto por el objeto recompensante, las claves que predicen su disponibilidad, las acciones que permiten su obtención y consumo, y por último, una valencia les es asignada (Berridge y Robinson 2003). Como vemos, la recompensa es un engrane muy importante en toda la maquinaria comportamental; que como inductor del reforzamiento, es el núcleo de todo proceder animal, al contemplar aprendizaje, memoria, conductas motoras y emociones. Adicionalmente, ya que la recompensa involucra una gran cantidad de sustratos neuronales, es un fenómeno de complejidad vasta que requiere, para su entendimiento, la observación de cada uno de los elementos que lo comprende (Blizard et al, 2006). Por ejemplo, el caso

de la corteza prefrontal (CPF), -encargada de evaluar la importancia del conglomerado de estímulos que generan la conducta (*saliencia del estímulo*)- y la amígdala (Amg) y núcleo accumbens (NAc), a cargo éstos de establecer la valencia de los estímulos (negativa o positiva).

Neurobiología de la recompensa

Según Schultz (2000), el reforzamiento incide en una amplia cantidad de fenómenos, además, ha llegado a comprenderse mejor gracias a la comprensión de aquellos sustratos fisiológicos que la subyacen.

Uno de los principales estudios encargados de lo anterior tuvo lugar en 1954, cuando se identificó al haz proscencefálico medial (HPM) como una zona esencial para la distribución de información recompensante. Olds y Millner demuestran que su estimulación eléctrica genera en el individuo un efecto reforzante, capaz de motivarlo a trabajar para presionar una palanca. El efecto es tal que esta conducta se realiza incluso a costa de exponer su integridad física, como al atravesar una reja electrificada (Olds y Millner, 1954; Olds, 1958). Otras áreas fueron identificadas también por sus trabajos, como capaces de generar reforzamiento de conductas operantes, tales como el área septal, la corteza cingulada (CC) y el tegmento mesencefálico.

El HPM contiene fibras ascendentes y descendentes que comunican al área ventral tegmental (AVT) con el estriado ventral, por ello fueron estas estructuras propuestas como posibles procesadores del reforzamiento, y sus vínculos anatómicos (la CPF, la Amg, el hipocampo, el pálido ventral, etc.) como posibles componentes de dicho fenómeno. Casi un siglo antes de este experimento, el médico francés Paul Broca denominó a esta porción del cerebro sistema límbico. En concordancia con lo dicho en párrafos anteriores, Broca encontró que el sistema límbico estaba encargado de conductas instintivas, la memoria, la atención y la personalidad. Parecía entonces que dos ideas se habían mezclado para dilucidar la respuesta a la pregunta: ¿Por qué hacemos las cosas?

Sistema límbico

El sistema límbico (fig.1) es una de las más antiguas regiones cerebrales en términos evolutivos. Se localiza alrededor del tálamo y debajo de la corteza cerebral, está conformado por el AVT, el NAc, el complejo hipocampal y amigdalino, la CPF, la corteza cingulada (CC) y corteza insular (CI). A continuación serán descritas cada una de estas regiones, contemplando ubicación, función y comunicación entre ellas.

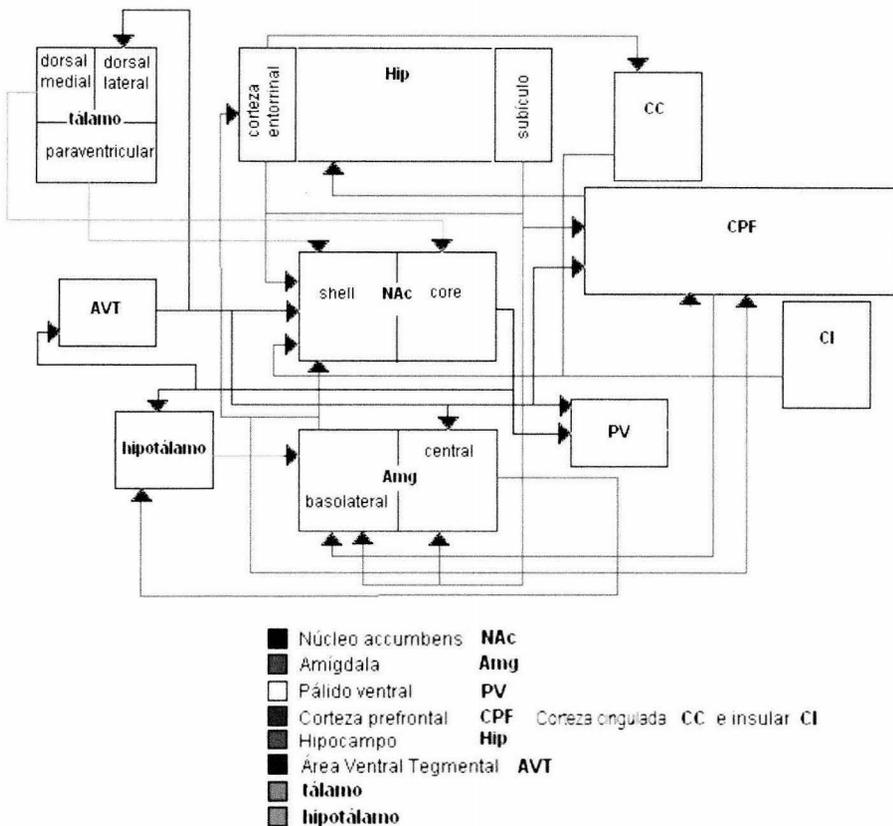


Fig. 1. Estructuras que contempla el sistema límbico y sus interconexiones. Cada una de las eferentes de cada región es diferenciada por un color distinto.

El AVT (fig. 2) es un grupo de neuronas, casi en su totalidad dopaminérgicas, localizadas cerca de la línea media en el piso del mesencéfalo. Contiene al grupo dopaminérgico neuronal A10 e interneuronas gabaérgicas. De su parte paranigral surgen las neuronas del sistema mesocortical, las cuales, a diferencia de las mesolímbicas, exhiben disparos espontáneos rápidos y carecen de autorreceptores (receptores localizados en la presinapsis, cuya función es la de regular la liberación del neurotransmisor sintetizado en esta región) (Del-fava et al, 2007). En su porción caudal se encuentran las neuronas que proyectan hacia el NAc, mientras que en su porción rostral están aquellas que lo hacen hacia el núcleo tegmental laterodorsal. Una de las porciones del AVT conocida como núcleo rostral lineal, provee de inputs al núcleo caudado de la estría terminal (NCET), al núcleo central amigdalino (CeA), al septum, al núcleo olfatorio, al pálido ventral (PV) y al estriado ventral (Del-fava et al, 2007). Aunque su emisión dopaminérgica en esta última área ha sido de interés primordial debido a que se cree que es este evento aquel que desencadena la sensación de placer (Volkow et al, 1996), es supuesto que sus otras proyecciones codifican particularidades hedónicas, también importantes.

El estriado ventral (fig. 2) está conformado por el NAc y el tubérculo olfatorio; el primero se divide en dos, su parte medial y lateral, las cuales se denominan también *shell* y *core*, respectivamente. Ambas contienen neuronas gabaérgicas llamadas *espinosas medianas*. No existe un sistema de aferencias exclusivo para *shell* o *core*, sólo zonas que preferentemente proyectan a alguna, pero, sin dejar de hacerlo a la otra. Tenemos así que el subículo (Sub), la corteza entorrinal (CE), el núcleo basolateral amigdalino (BLA), el núcleo basal parvocelular, el núcleo basal magnocelular, el núcleo talámico paraventricular, la corteza infralímbica, la CI y el AVT, proyectan preferencialmente a la porción *shell*, mientras que el núcleo talámico dorsomedial y medialcentral y el parafascicular a la región *core*. El NAc *shell* tiene eferentes hacia el PV, el AVT, la sustancia negra, el hipotálamo lateral y el área preóptica lateral (Groenewegen et al, 1999).

Se sabe que las proyecciones del BLA y las del Sub convergen en la parte medial de ambas porciones del NAc *shell* y *core*. En las partes dorsomedial del *shell* y la ventromedial del caudado putamen sólo llegan proyecciones de hipocampo (Hip), mientras que a las

porciones ventrolaterales de *shell* y *core* sólo lo hacen del BLA. Las proyecciones de la porción medial del NAc llegan a AVT y sustancia negra (Mulder et al, 1998).

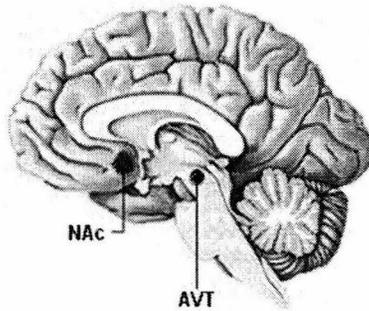


Fig. 2 Localización de Núcleo Accumbens (NAc) y Área Ventral Tegmental (AVT) en un corte sagital de cerebro humano.

La Amg (fig. 3) es una macroestructura que comprende 3 divisiones (Fig. 3), las cuales contienen a su vez subdivisiones varias, lo que nos habla de la complejidad con la que procesa información (Sah et al, 2003).

El complejo amigdalino recibe aferencias principalmente de dos tipos: cortico-talámicas y subcortico-hipotalámicas. Las primeras tienen como blanco principal al BLA, mientras que las segundas al *CeA* y a los *amigdalocorticales*. Puesto que todos ellos reciben información sensorial vasta y básicamente de todo tipo (gustativa, visual, auditiva, olfativa, táctil, somatosensorial y vestibular) se consideran esenciales para que la recompensa tenga lugar.

La CPF y el Hip envían eferentes hacia el BLA, el que a su vez proyecta hacia áreas corticales sensitivas, NAc y devuelve a la CPF e Hip, entre otros. El *CeA* recibe información de Hip, y envía hacia hipotálamo, medula espinal, puente y áreas del mesencéfalo (Sah et al, 2003).

El Hip es una estructura localizada en los lóbulos temporales, conformada por el giro dentado, los cuernos de *Ammonis* (1, 2, 3, 4), el Sub y la CE. La principal proyección del giro dentado, a través de la vía perforante, proviene de la CE; el giro dentado, a su vez,

envía información hacia la región CA3 de los cuernos de *Ammonis*, que a través de las colaterales de Schaffer lo hace a CA1. El Sub es la estructura de salida por excelencia del Hip; ésta envía información a distintas áreas, principalmente a la CE (fig. 4), donde fomenta la reverberación de información en el circuito hipocampal, lo que se ha supuesto como el principal mecanismo con el cual logra consolidar y almacenar información (Amaral et al, 1989).

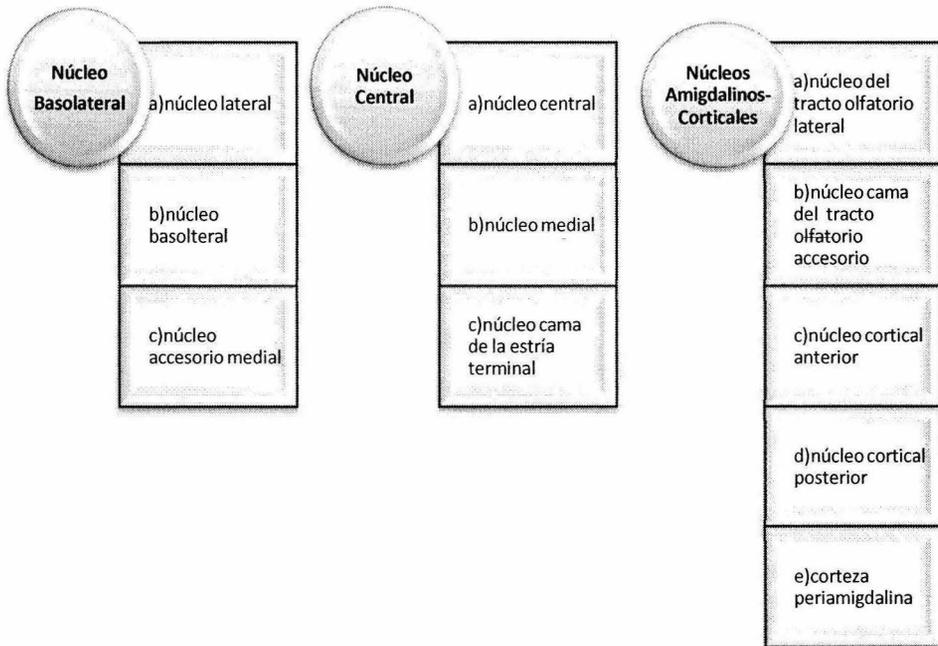


Fig. 3. Divisiones del complejo amigdalino, con sus respectivas subdivisiones.

El Hip es una región de importancia esencial en el sistema límbico, ya que además de estar estrechamente relacionado con el afianzamiento de información para su posible recuperación, lo está también con la focalización de la atención (Muzzio et al, 2009). Recibe proyecciones de dos áreas fuertemente vinculadas con este proceso, estas son: la corteza parietal posterior y el núcleo talámico reuniens; este último lo hace, a su vez, de la corteza prefrontal medial, uno de los principales *outputs* límbicos del subículo, al igual que la porción medial del NAc *shell* y *core*. Esto nos habla de cómo el sondeo de la

información, para decidir si es tan relevante como para centrar nuestra atención en ella o no, es constante y frecuente. Si el acontecimiento del medio es significativo para el organismo, el NAc responde y le indica al Hip que el evento merece focalizarse, a través de sus conexiones con CPF y consecuentemente de tálamo.

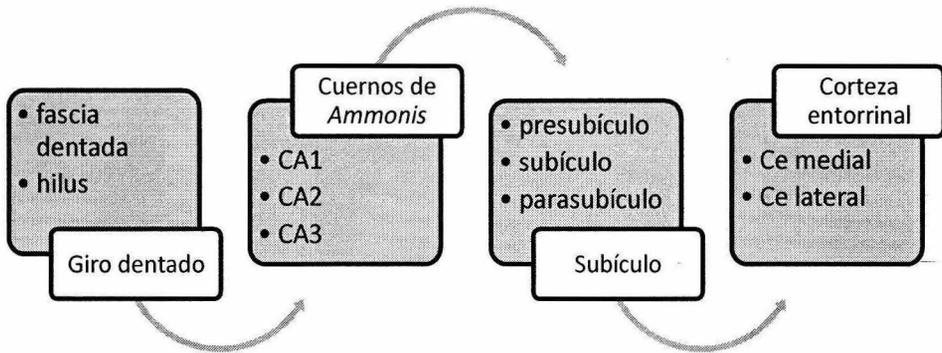


Fig. 4. Regiones de la formación hipocámpica, así como sus subdivisiones. Las flechas indican la dirección en la que lleva a cabo la comunicación interna.

Por último, al igual que el Sub, la CE envía eferentes a la CC, entre cuyas funciones está la de regular la atención ejecutiva, es decir, aquella que se requiere para la prolongación de la ejecución óptima de una conducta en curso (Muzzio et al, 2009).

La CPF es la parte anterior de los lóbulos frontales, está localizada frente a las cortezas motora y premotora; dentro de sus funciones se encuentran la toma de decisión, la planeación y parte de la expresión de la personalidad (García-Molina, 2010). Las porciones lateral y dorsal controlan la atención, memoria de trabajo y respuestas motoras, ya que son ellas quienes tienen conexiones con las cortezas sensoriales, motoras, ganglios basales y cerebelo. A las regiones ventral y medial se les ha asociado con la modulación emocional, pues contienen proyecciones hacia, Amg, NAc e Hip. La corteza inferotemporal envía

proyecciones hacia la CPF ventrolateral, mientras que la parietal envía hacia la CPF dorsolateral. Además, la CPF lateral en general recibe información de la corteza orbitofrontal, el núcleo caudado y de las células dopaminérgicas del AVT y sustancia negra, y envía a las corteza motora y premotora; tiene como principal función la de inhibir repuestas motoras. (Sakagami et al, 2007). Por otra parte, la CPF medial proyecta hacia el núcleo paraventricular hipotalámico. La corteza orbitofrontal recibe información del BLA y del CeA, de la corteza parahipocampal, del Sub y del núcleo anteromedial del tálamo.

La CC está conformada por el giro cingulado y el sulcus, situada justo por encima del cuerpo calloso y en la parte medial de la corteza (fig.5). Posee aferencias provenientes del tálamo y neocorteza y envía hacia el estriado ventral. Dicha proyección es dopaminérgica, y se cree está involucrada en la toma de decisión, evaluación costo-beneficio y en el control de emociones (Assadi et al, 2009).

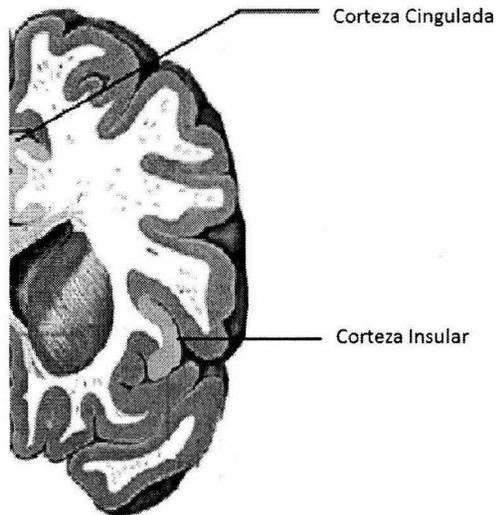


Fig. 5. Corte coronal del hemisferio izquierdo de cerebro humano en donde aparecen la Corteza Cingulada (CC) y la Corteza Insular (CI).

La CI está localizada en la profundidad de la fisura lateral, entre el lóbulo temporal y el lóbulo frontal (fig. 5). Se reconocen dos divisiones de ella, determinadas por el tipo de proyecciones que recibe cada una. Su parte posterior tiene aferencias de las cortezas sensoriales primarias y secundarias, y del núcleo ventromedial del tálamo. Llamada también región granular, esta porción asociada con la integración de la sensación vestibular, somática y motora. La región anterior o agranular, posee conexiones recíprocas con la corteza orbitofrontal, con la CC, el BLA, el CeA y estriado ventral. Integra la información visceral y autonómica dentro de funciones motivacionales y emotivas. Promueve la auto-conciencia de eventos fisiológicos, tales como la presión sanguínea, la temperatura de la piel, distensión gástrica, etc. De igual forma, se cree que pueda estar involucrada en el juicio emocional de sanciones tales como el dolor, el gusto, el olor, etc. (Binder et al, 2007).

El PV yace dentro la sustancia *innominata*, además de recibir proyecciones del NAc, lo hace también del tubérculo olfatorio, CPF, AVT, Amg, hipotálamo lateral, núcleo paraventricular y del núcleo subtalámico; envía proyecciones recíprocas a todos los anteriores y hacia el núcleo dorsomedial talámico y pedunculopontino (Difiglia et al, 1982).

Neurotransmisión de la recompensa

Debido a la participación de tantas estructuras para el funcionamiento de un mismo sistema, puede encontrarse dentro de éste una variada comunicación molecular, esto es, vías que liberan diferentes tipos de neurotransmisor a blancos que poseen receptores correspondientes a estos últimos. Los principales sistemas de neurotransmisión dentro del sistema límbico son el glutamatérgico, gabaérgico y dopaminérgico.

Dopamina (DA): La DA es una monoamina cuyo precursor es la 3,4-dihidroxifenilalanina (L-DOPA). Este neurotransmisor es, a su vez, precursor de la noradrenalina y de la adrenalina. La DA es capturada en el espacio sináptico por su transportador (DAT), la devuelve al botón axonal, en donde es degradada por la enzima monoamina oxidasa (MAO) en ácido 3,4-dihidroxifenilacético y por la Catecol-o-metil transferasa (COMT).

La DA se une a 5 tipos de receptores que van desde el D1 hasta el D5. Éstos pueden dividirse en dos familias como se muestra en la figura 6 (Cooper, 2002).

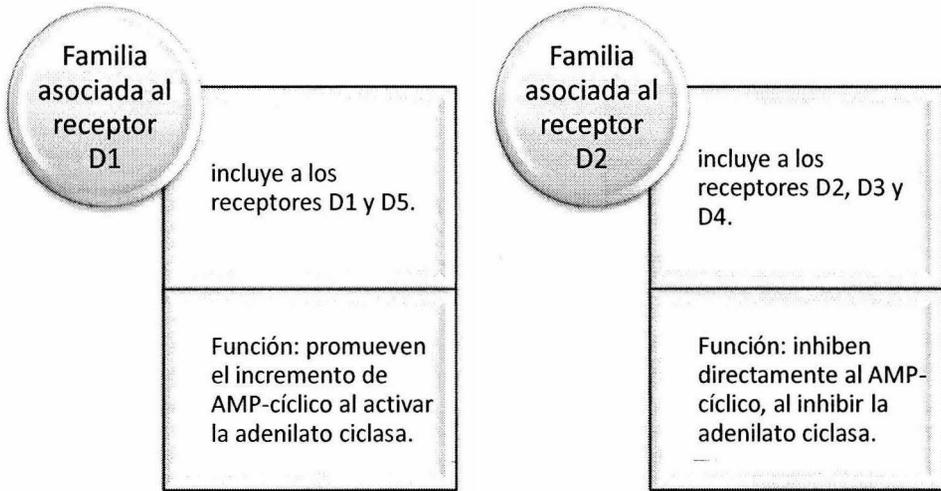


Fig. 6. Familias de receptores dopaminérgicos (asociada a D1 y asociada a D2), los receptores que las conforman, y su función molecular inmediata.

El sistema dopaminérgico posee diferentes vías de proyección. La ubicación y nombre de estos sistemas son expuestos en la figura 7.

El sistema mesolímbico-cortical desempeña un papel crucial en la recompensa. Su activación ha estado relacionada con la gratificación emocional y la motivación; como su nombre lo indica, conecta al mesencéfalo (específicamente al AVT) con el sistema límbico (NAc, Amg y tubérculo olfatorio) y algunas regiones de la corteza (CPF, CC y CI) (Cooper, 2002). El conjunto de proyecciones que el NAc recibe modulan este efecto hedónico; cada una de ellas proporcionando particularidades del medio. NAc posee aferentes glutamatérgicas del subículo del Hip, de la amígdala basolateral (BLA) y de la corteza prefrontal medial. El Hip, específicamente su porción denominada subículo ventral, proyecta a la parte *shell* del NAc. Está encargado de proveer información espacial y contextual que contribuya a la codificación reforzante de un determinado evento. También

se han detallado claramente las proyecciones glutamatérgicas que el NAc recibe de una gran cantidad de núcleos talámicos que, aunque continúan siendo exploradas, se sugiere que tienen la función de dirigir la atención hacia eventos relevantes. (Sesack, 2010).

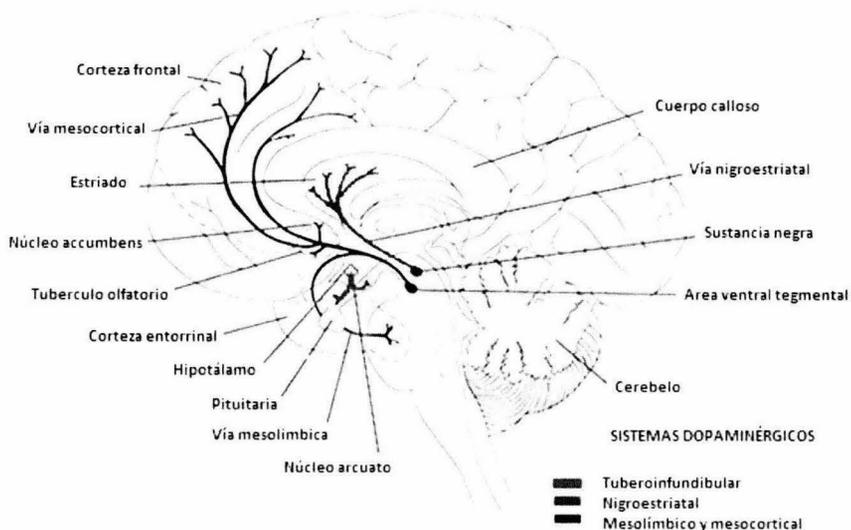


Fig. 7. Corte sagital de cerebro humano, en donde se señalan con distintos colores a los tres sistemas dopaminérgicos de proyección: Tuberoinfundibular, Nigro-estriatal y Mesocortico-límbico

Glutamato: El glutamato es el neurotransmisor excitador por excelencia; participa en procesos cognitivos tales como la memoria y la nocicepción. En vertebrados, más del 75 % de la comunicación excitadora en el sistema nervioso central está dada por él. Es un aminoácido sintetizado en las terminales nerviosas por la enzima glutaminasa, a partir de glutamina; aunque se encuentra en todo el sistema nervioso central, sus concentraciones mayores están en el Hip, en la corteza cerebral y en la sustancia gelatinosa de Rolando de la médula espinal. Se libera a partir de la activación de canales de Ca^{++} dependientes de

voltaje y es recapturado en las terminales sinápticas por cuatro transportadores distintos: EEAT4, EEAT5, EEATi y GLT-I.

Sus receptores son de ambos tipos, inotrópicos (iGluR) y metabotrópicos (mGluR). La figura 8 muestra qué receptores pertenecen a estas familias:

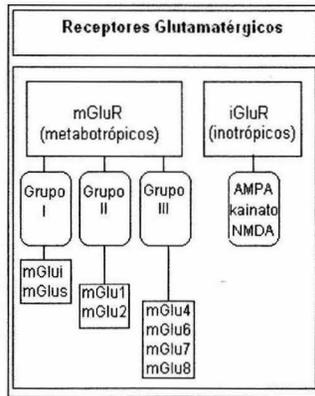


Fig. 8. Clasificación de los once receptores glutamatergicos.

Como ya ha sido mencionado, el NAc está conformado, casi en su totalidad, por neuronas gabaérgicas (las neuronas espinosas medianas); cuyas proyecciones inervan principalmente al AVT, al PV y al hipotálamo. Su actividad es de suma importancia para la recompensa (Sano y Yokoi, 2007).

Ácido gamma-aminobutírico (GABA): El GABA es un aminoácido cuyo precursor es el glutamato. Lo anterior ha resultado sumamente interesante al considerar que, al contrario del glutamato, el GABA es el neurotransmisor inhibitor más abundante en el sistema nervioso central de vertebrados. Surge después de que el ácido glutámico sufre una descarboxilación a través de la glutamato-decarboxilasa. Se encuentra principalmente en la médula espinal, cerebelo, núcleos basales, corteza y en las interneuronas de muchas otras estructuras.

Los receptores GABA son tanto inotrópicos (GABA-A y GABA-C) como metabotrópicos (GABA-B). De los primeros, la estimulación permite la entrada de Cl⁻, lo que hiperpolariza a la neurona e impide su disparo. Los segundos inhiben por medio de una cascada de segunda mensajería iniciada por una proteína Gi, a la cual están acoplados (Dimitrijevic et al, 2005).

Además de los neurotransmisores antes mencionados, en el sistema límbico tienen injerencia la serotonina, norepinefrina, acetil colina, histamina y orexina (Tzschentke, 1998).

Se ha observado que la activación del AVT, y la consecuente liberación de DA de sus proyecciones, alertan al organismo de la aparición de un estímulo novedoso o de aquellos que predicen un evento familiar motivacionalmente relevante (Schultz, 2000). Sin embargo, a principios de la década de los setentas, fue evidenciada otra función de la DA muy importante para el comportamiento. Ungerstedt (1971) realizó las primeras lesiones neurotóxicas con 6-hidroxi-dopamina en neuronas dopaminérgicas del mesencéfalo, encontrando que éstas producen una deficiencia en la ingesta de alimentos y líquidos. Esto provocó una interrupción motivacional, probablemente causada por la afección de los centros neuronales que procesan la sensación placentera que resulta de la aproximación a reforzadores naturales. Estudios posteriores fortalecieron dicha suposición: Nishino *et al* (1987) realizaron registros unicelulares en neuronas del AVT de monos que fueron entrenados para responder a una prueba operante, en la que tenían que presionar una palanca para recibir alimento. Más del 90 % de las neuronas respondieron cuando se ejecutaba la conducta y la comida era consumida.

El incremento de DA, que se ha mencionado ocurre en el NAc y se relaciona con emociones placenteras, se debe al tipo de disparo de las neuronas del AVT, el cual puede ser de forma tónica o de forma fásica. Este último tipo de disparo desencadena una liberación en brotes del neurotransmisor, lo que permite que la recaptura de DA sea insuficiente y no sólo permanezca por más tiempo en el espacio sináptico, sino que aumente su cantidad; incidiendo así por más tiempo en una mayor cantidad de receptores (Schultz, 1998).

Del mismo modo, estudios de neuroimagen en humanos, mostraron una correlación positiva entre el aumento de DA en el NAc y la descripción subjetiva de placer (Volkow et al, 1996), lo que sustenta que la activación del NAc, por lo menos en parte, subyace a la recompensa y la motivación. Se cree que el rol que desempeña, es en gran medida resultado de su privilegiada ubicación, pues inerva diversas regiones dentro y fuera del sistema límbico. (Goto y Grace, 2008; Groenewegen, 1999). Además, se ha observado que reforzadores naturales incrementan la DA extracelular en el NAc (Weiss, 1999); y que administraciones de antagonistas DA en NAc son capaces de bloquear los efectos placenteros de éstos (Salamone, 1996).

Antes de concluir este apartado, cabe señalar que se ha encontrado que el incremento dopaminérgico en el sistema límbico no siempre se traduce en un suceso recompensante. Se ha observado que pruebas que provocan estrés, tales como nado forzado o condicionamiento al miedo, producen también su incremento en la CPF, sugiriendo así que son los estímulos relevantes en general, aquellos que producen incremento en el disparo dopaminérgico (Le Moal y Simon, 1991). Sin embargo, Schultz y Dickinson (2000) señalan que las neuronas dopaminérgicas que disparan frente a estas eventualidades son muy pocas en comparación a las que lo hacen cuando los estímulos son del tipo recompensante, proponiendo que este efecto encontrado es más una modulación que una función como tal. Adicionalmente, la ausencia del estímulo reforzante una vez que el sujeto se ha habituado a su presencia, tampoco produce aumento de la actividad de estas neuronas. Sugiriendo que no es la sorpresa o la novedad lo que las activa, si no la recompensa. Más estudios deben hacerse al respecto para poder generar conclusiones mejor fundamentadas.

El PV es considerado el principal output del NAc. Es una estructura que, en un inicio, fue pensado intervenía en las conductas motoras, de la misma forma que el estriado dorsal; sin embargo, se tiene evidencia de que su activación promueve por si sola efectos recompensantes. Bloqueando su inhibición, al administrar bicoculina (antagonistas GABA A) de forma bilateral, fue observado un aumento significativo en la ingesta de alimentos en modelos animales. Además de que todo indica que este aumento parece resultar de un bloqueo en el componente hedónico de la ingesta de alimento, la lesión del PV impide que se instale la auto-estimulación con descargas dadas en el HPM (Smith et al, 2009).

Por otro lado, estudios hechos en la formación hipocampal han dejado entrever su participación en la recompensa. Se ha observado que, a pesar de no tener conexiones directas con el AVT, la activación del subículo es suficiente para producir un incremento en el disparo de las neuronas dopaminérgicas A10 y elevar la DA extracelular en NAc. Se ha propuesto a la CPF como mediador, aunque dicho evento podría darse también a través de las mismas proyecciones del subículo con el NAc, activando la comunicación recíproca con el AVT. Pareciera ser entonces que cuando la información almacenada de ciertos eventos es recuperada, particularmente a través de la estimulación del Hip, puede generar placer por si misma o ser un componente de un complejo hedónico más elaborado (Cooper, et al, 2006). Por ejemplo, el reconocimiento sensorial de un objeto, cuyas propiedades codifiquen con patrones legados por la previa exposición a un objeto placentero y de características similares, probablemente activará el complejo hipocampal, recuperando el recuerdo de la primera vivencia, incluido en éste la sensación agradable.

Por otro lado, se tiene evidencia de que la auto-estimulación de pequeñas descargas eléctricas, dentro de la CPF medial de la rata, es exitosamente instaurada. Contrastantemente, la lesión de CPF no impide que se instaure la auto-estimulación cuando la descarga es dada en el HPM; y puesto que su activación incrementa cuando se está aprendiendo una tarea operante, se ha sugerido que esté gestionando el reforzamiento de segundo orden (Robertson, 1989). Los reforzadores de segundo orden son aquellos estímulos contiguos a un reforzador natural, que se condicionan de forma clásica y producen efectos muy similares. La Amg ha sido fuertemente relacionada con dicho fenómeno. Del mismo modo, ha sido asociada estrechamente con la codificación de información motivacionalmente relevante y el aprendizaje resultante. Las proyecciones que la Amg recibe del AVT son del tipo dopaminérgicas y aquellas que envía hacia el NAc y CPF son glutamatérgicas. La modificación plástica, tanto de sus aferentes como eferentes, genera aprendizaje asociativo, es decir, influye en una respuesta más compleja con la presentación de un estímulo que predice los eventos motivacionalmente relevantes ya mencionados (Garavan, 2001).

Continuando con la relación entre la recompensa y la corteza, encontramos que dos zonas de ésta contribuyen con dos procesos fundamentales para tal suceso. Dichos procesos son la

toma de decisión y la impulsividad. Por ejemplo, animales lesionados de la CCA y sus controles no lesionados, fueron expuestos a una disyuntiva, entre una recompensa grande por la que había que trabajar (esto fue, trepar por ella) y una recompensa menor por la que sólo había que aproximarse para conseguirla. Los animales lesionados, a diferencia de aquellos con la CCA intacta, mostraron una preferencia por la recompensa pequeña (Assadi et al, 2009). Ya que ambos grupos se encontraban bajo una privación de alimento equiparable entre ellos, los resultados se traducen como una deficiencia en el componente de la toma de decisión conocido como maximización, que es definida como la elección por estímulos asociados con mayores probabilidades de obtención, mayores magnitudes y menor demora del reforzador.

En la toma de decisión se ponderan los costos frente a los beneficios susceptibles a ser obtenidos a través de una determinada acción emitida, de tal forma que, mientras el costo incrementa va disminuyendo el valor subjetivo del beneficio. Llega el punto en el que el costo es tal que el individuo no percibe beneficio alguno en la recompensa, y decide no responder (De Leon et al, 2009).

El punto óptimo, en el que el animal decide responder, encuentra una meseta que refleja el aumento asintótico del beneficio subjetivo. Assadi *et al* (2009) propusieron que los sujetos lesionados en la CCA, llegan a la meseta antes mencionada más rápidamente que sus controles. Estos últimos se ven impedidos para responder frente a costos relativamente bajos con respecto a sus controles, y nos sugiere también el porqué de su preferencia por recompensas que no implican mayor esfuerzo. Como veremos, lo anterior es un punto importante para la explicación de conductas patológicas, tales como la conducta obsesivo-compulsiva y la adicción.

En el reforzamiento, la ínsula es responsable de la sensación de ansia o urgencia por la obtención de algo; la impulsividad en la toma de decisión es, en parte, resultado de la activación de la ínsula. La activación de la ínsula es un elemento importante en la codificación de la recompensa, ya que contribuye a la notificación de las necesidades actuales del organismo en un determinado momento; esto influye, como ya se mencionó, en la decisión de qué conductas son primordiales de realizar y cuáles no (Naqvi y Bechara, 2009).

En resumen, el sistema *motivacional-recompensante* o sistema límbico, y sus componentes previamente descritos, son los encargados de propiciar las conductas orientadas a objetivos y de almacenar la información de las estrategias empleadas para lograr tal empresa. Dichos objetivos tienen como fin brindar una satisfacción biológica que se traduce en un estado placentero, cuya función es la de plasmar en memoria la asociación de su ocurrencia con el objetivo, y hacer que el organismo procure, de nueva cuenta, las estrategias ya mencionadas. De forma normal, el estado placentero es de magnitud y duración equivalentes al grado de satisfacción producida (por ejemplo, cuando un platillo incrementa su exquisitez si quien lo come tiene hambre) y a la demora con que se presenta el estímulo, antes denominado objetivo. La satisfacción dada depende de factores tales como la disponibilidad del objetivo y el estado homeostático del organismo.

Cuando uno o más de los componentes antes mencionados se tornan aberrantes, surgen conductas desadaptativas, que orillan al sujeto a hacer evaluaciones erróneas entre el esfuerzo que debe realizar y el beneficio que obtendrá. En situaciones extremas, lo anterior puede degenerar en patologías en donde se persevera en la realización de conductas retribuidas con escaso beneficio o incluso perjuicio.

Los trabajos que se encargaron de dilucidar los sustratos fisiológicos que subyacen a la recompensa, sirvieron también para advertir que es en este sistema donde ocurren las anormalidades que propician estas conductas, tales como la *conducta obsesivo-compulsiva* y los distintos tipos de adicción (Fattore et al, 2010; Holden, 2010).

CAPÍTULO II: ADICCIÓN

Adicción es un fenómeno conductual que se caracteriza por corromper al sistema encargado de proveer la motivación que requiere un organismo para concretar las actividades que le aseguran supervivencia (Meredith et al, 2002). Dicha motivación es resultado de un cambio homeostático, que en condiciones normales se presenta y alerta al individuo de que es menester cubrir alguna de sus necesidades primarias (comer, dormir, beber, copular, etc.). En este caso, el individuo se percató del alertamiento dado por su organismo, y se propone la meta de buscar aquello que sacie su requerimiento vital, cuando lo encuentra lo

consume, y ya que se ve satisfecho, el alertamiento cesa, y está ahora listo para iniciar cualquier otra empresa (Koob y Le Moal, 1997).

En la adicción, la degeneración de este sistema motivacional se ha dado en puntos específicos que producen un cambio conductual, manifestado en una compulsión en la búsqueda y consumo, y la nula restricción de la ingesta de aquello a lo que se es adicto (Sellman, 2010). En abstinencia de ello, emerge en el sujeto un estado emocional negativo (disforia, irritabilidad, ansiedad, etc.), que funge como un incentivo motivacional más, e insta al individuo a repetir la experiencia del consumo del objeto adictivo (Koob y Volkow, 2010).

La drogadicción es un tipo de conducta que, como su nombre lo indica, posee como objeto adictivo una droga. Las drogas de abuso son diversas, y las sensaciones producto de la intoxicación de cada una son particulares y variadas. Sin embargo, la intoxicación con, por ejemplo, psicoestimulantes (cocaína, anfetamina, metanfetamina, etc.), opioides (heroína, morfina, etc.), nicotina o alcohol, comparten manifestaciones fisiológicas que tienen como resultado sensaciones del mismo tipo. Los reportes en los que se presentan euforia (denominada como *rush*), alborozo y júbilo, tienen lugar con el consumo de cada una de las anteriores (Koob y Le Moal, 2005).

La suma motivacional de estos estados positivos (reforzador positivo) y el deseo de retirar de uno mismo los negativos (reforzador negativo), una vez que fue instaurada la adicción, crean un ambiente propicio para capturar casi todo el tiempo y energía del adicto. Las señales que envía su sistema, ahora, son tan intensas como si el consumir la droga se tratase de un asunto indispensable para sobrevivir. Los modelos animales nos han mostrado que tal urgencia por consumir la droga es tan imperativa que el individuo prefiere trabajar para conseguir una administración de la droga a la que es adicto, que hacerlo para conseguir comida cuando se encuentra privado de ésta (Lombas et al, 2008; Crespo et al, 2008).

Aunque ciertamente existen muchos tipos de adicción, por ejemplo al juego, al sexo, a la comida, etc. (Fattore et al, 2010; Holden, 2010); la drogadicción ha sido la que ha despertado el interés de la mayoría de investigadores en adicciones del mundo, ya que cada

vez incide más en la población, obviando incluso, a últimas fechas, distinción entre edades, género y clase social.

Drogadicción

Con el propósito de alterar el estado anímico, la ingesta de sustancias psicoactivas ha acompañado al hombre desde los inicios de su historia. Desde el año 300 a. C. se tienen registros del consumo de opio por los griegos, y de la planta de coca por la realeza Inca desde el siglo XV (Siegel, 1982). El consumo de éstas y de otras drogas de abuso ha ido aumentando año con año. En nuestro país el aumento se ha dado agudamente en los últimos años. En 2008 la Encuesta Nacional de Adicciones muestra que el abuso de drogas incrementó hasta un 5.7 % en la población total nacional. Cabe señalar (fig. 9) que el consumo de drogas ilegales aumentó casi en un punto porcentual en 6 años (2002-2008).

Encuestas Nacionales de Adicciones.
Tendencias 2002-2008. México, ENA 2008

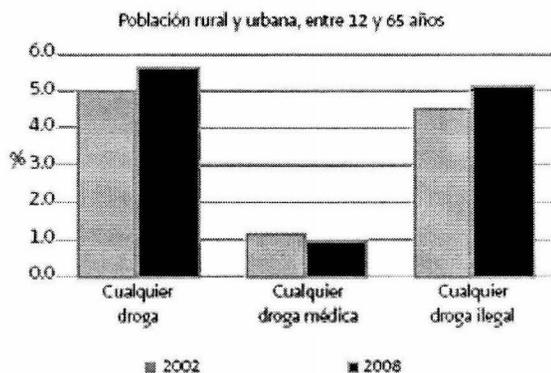


Fig. 9. Muestra el porcentaje de la población en distintos años (2002 y 2008) que presenta un consumo de drogas recurrente (se excluyen tabaco y alcohol).

La Asociación Psiquiátrica Americana (*American Psychiatric Association*) considera a la drogadicción como una enfermedad de reincidencia crónica. Y es justo ésta la principal

problemática a la que se enfrenta aquel que la padece, es decir, la incapacidad en la que se ve envuelto para cesar el consumo de la droga, después de un periodo de abstinencia (Koob y Le Moal, 1997).

Los síntomas que la denotan son del tipo comportamental y cognitivo; todos estos dejan entrever que el afectado ha perdido el control sobre el consumo de la sustancia (Koob y Bloom, 1988). Esta ablación de la voluntad en la ingesta, significa un brete de dimensiones amplias y consecuencias correspondientes, que llegan incluso tan lejos como para incapacitar al individuo para realizar sus actividades cotidianas. El enfermo se convierte en un marginal social.

Criterios para considerar a la drogadicción según la APA.		
a) compulsión al buscar y consumir la droga	b) pérdida de control en la regulación de la ingesta de la droga	c) la aparición de un estado emocional negativo en abstinencia de la droga (por ejemplo, disforia, ansiedad e irritabilidad)

Fig. 10. Tres criterios que considera la Asociación Psiquiátrica Americana para determinar a una persona como enferma de drogadicción.

Tal como anteriormente se ha mencionado, una adicción se caracteriza por menguar la funcionalidad del sistema motivacional o recompensante (el sistema límbico). En el caso de la adicción a sustancias, son éstas mismas quienes generan los cambios morfológicos desde el plano molecular y, en exposiciones prolongadas, dichos cambios pueden ser incluso genéticos. Por supuesto, estos cambios tienen diferentes etapas identificadas

conductualmente: **intoxicación, abstinencia y recaída** (Koob y Le Moal, 2005). En el siguiente apartado se describirán las alteraciones fisiológicas que se dan en cada una de ellas.

Intoxicación

Por motivos tales como presión social, por la búsqueda de sus propiedades terapéuticas o de sus efectos hedónicos, son buscadas las primeras exposiciones a drogas de abuso (Koob y Volkow, 2010). Estas exposiciones generalmente producen una intoxicación, que puede ser considerada como la primera fase de instauración de la drogadicción. Independientemente del móvil, en este momento el individuo experimenta un estado placentero de magnitudes estrechamente relacionadas con el tipo de droga, dosificación y vía de administración empleada. Este sentimiento conducirá al sujeto a procurar más de estos eventos, es decir, reforzará las conductas empleadas para adquirir y administrarse el fármaco.

La intoxicación tiene lugar cuando los niveles moleculares del fármaco administrado generan cambios que afectan la homeostasis. Los cambios fisiológicos producidos aquí, son revertidos en tanto que el fármaco sea metabolizado y abandone al sistema. Sin embargo, cuando el consumo se torna prolongado, el fármaco va generando cambios plásticos en las estructuras cerebrales en las cuales ejerce su acción (Sklair-Tavron et al, 1996; Robinson y Kolb, 2004).

El sistema dopaminérgico mesolímbico ha sido el principal componente neurobiológico estudiado, que es vulnerable a alteraciones por el abuso de sustancias. Ha sido observado que todas las drogas de abuso, al ser administradas de forma aguda, generan una disminución del umbral de estimulación reforzante, evento estrechamente relacionado con el incremento de la liberación dopaminérgica en el sistema mesolímbico. Por ejemplo, estudios hechos con estimulación intracraneal, muestran que se necesita un menor amperaje cuando son administradas cocaína o metanfetamina antes de la descarga eléctrica, para generar un efecto recompensante (Rothman, 2001).

En acorde con lo anterior, y aunque cada droga de abuso tiene particulares efectos primarios, es decir, pueden afectar a receptores cuyas neuronas no liberen necesariamente el mismo neurotransmisor; todas coinciden en desencadenar la liberación de DA, la cual es

de mayor duración y amplitud que aquella que ocurre en presencia de reforzadores naturales (Di Chiara, 1999). Esto puede ocurrir al inhibir la recaptura de DA del espacio sináptico (efecto que tienen psicoestimulantes como anfetamina o cocaína) o al promover la excitación (nicotina) (Livingstone y Wonnacott, 2009), o retirar la inhibición (opioides) del AVT (Nader y Van der Kooy, 1997).

Wise en 1978 comprobó cómo antagonistas dopaminérgicos podían bloquear efectos reforzantes de drogas que inciden directamente en el sistema dopaminérgico (ej. cocaína, anfetaminas).

Durante la intoxicación, no sólo son estimuladas las áreas ya mencionadas, que regulan las sensaciones placenteras. Además, la corteza orbitofrontal, cuya hiperactividad se ha asociado con el trastorno *obsesivo-compulsivo*, está sobre-estimulada en consumidores de cocaína durante la intoxicación (Volkow et al, 1991); así como la Amg y la CCA, que son responsables de atribuir las propiedades reforzantes a estímulos neutros (Grant et al, 1996).

Aunque es claro, que el fenómeno de la adicción está apoyado principalmente por el suceso hedónico que resulta de la administración de cualquier droga de abuso, no puede ser negado el hecho de que posee también otros componentes que van matizando este complejo fenomenológico. En 1999 se propuso que la discapacidad para inhibir las respuestas condicionadas por el consumo de drogas, y el incremento de su incentivo y el de los estímulos asociados a ellas, son factores determinantes para que el consumidor de drogas repita sus exposiciones a estas (Jentsch y Tylor, 1999).

Recapitulando, tenemos que en la intoxicación con alguna droga de abuso, participan por lo menos tres elementos que promueven el estado anímico del sujeto y sus correspondientes repercusiones. El primer elemento es el hedónico, en cuyo sustrato encefálico participan el AVT, y sus proyecciones dopaminérgicas al NAc, Amg y CPF. El AVT es estimulado por el fármaco, ya sea directa, o indirectamente al retirar su inhibición, lo que propicia que el aumento de DA se extienda al NAc, principalmente en su región *shell*, al CeA y a la CPF. Primero, al poseer el NAc una preferente expresión de receptores D1, la liberación de DA promueve su excitación. En la CPF (en la capa V, donde es que llegan las eferencias de

AVT) y CeA, se expresan en mayor cantidad receptores D2, es por ello que la DA tiene aquí efectos inhibidores (Gaspar et al, 2009).

El segundo elemento es la activación de la CC, la cual expresa mayor cantidad de receptores D1 por lo que se ve estimulada. Ésta envía proyecciones que excitan a la BLA que estimula a su vez al Hip. Este circuito envía y regresa información entre una estructura y otra. Este evento tiene como resultado el aprendizaje asociativo, entre la droga y el placer obtenido (Salamone et al, 2009).

El último elemento es la estimulación de la corteza orbitofrontal, que extenderá el periodo de administración, aun cuando ya no se obtengan efectos recompensantes o incluso, si la droga ahora produce efectos negativos, puesto que su sobre-estimulación se asocia con la perseveración de conductas estereotipadas (Asensio et al, 2010). Es aquí donde la drogadicción pasa a su siguiente fase.

Síndrome de Abstinencia

Después de administraciones repetidas de algún fármaco específico, surgen cambios estructurales en las regiones del encéfalo que se encargan de la recompensa, aprendizaje y planeación. Dichos cambios varían drásticamente dependiendo del tipo de droga y su exposición a ésta, y son responsables de manifestaciones físicas y emocionales que denotan el nuevo estado alostático (actividad alterada resultado de un desbalance homeostático) en el que ahora se encuentra el sistema, por la ausencia del fármaco.

Las manifestaciones físicas han sido medidas preferentemente en modelos animales, y contemplan una gama de comportamientos inusuales, tales como temblor excesivo, sacudidas, piloerección, postura encorvada, etc. Por otro lado, las manifestaciones emocionales que en humanos aparecen son la disforia, depresión, anhedonia, ansiedad, anergia, insomnio y anhelo por consumir la droga (Gawing y Kleber, 1986).

Todos estos síntomas son parte de un fenómeno fisiológico denominado *síndrome de abstinencia*. Como se mencionó, cada droga produce efectos particulares, que dependen de su tipo e incidencia; por supuesto, aquellos que se exhiben en la abstinencia no son la excepción. Por ejemplo, se ha observado que el síndrome de abstinencia es capaz de

manifestarse en consumidores de heroína, sorprendentemente, 6 horas después de la primera administración (Blachly, 1966). En contraste, el síndrome de abstinencia comienza a aparecer después de 10 días de consumo crónico de una dosis alta de alcohol (de 10 a 15 copas) (Goldstein, 1976).

A pesar de lo anterior, la plasticidad neural resultante es muy similar en rasgos gruesos, en cada síndrome de abstinencia. En general, cambios en la eficiencia de la recepción de información en el AVT y el NAc es vista; además de una hipoactividad de la CPF y la CC (Hu et al, 2002).

Los estados emocionalmente negativos que surgen son irritabilidad, disforia y ansiedad. Notablemente, estos últimos son del tipo afectivo contrario a los que acompañan a las administraciones agudas. Solomon y Corbit (1974) proponen, basados en su *teoría de los procesos oponentes*, que un mecanismo que contrarresta los efectos emocionales que son producidos por un determinado estímulo es echado a andar de forma automática desde la aparición de este último. Dicho mecanismo es el responsable de que la emoción disminuya, con respecto a su abrupto inicio, y llegue a una meseta o nivel estable que permanece mientras continúe la presentación del estímulo (Solomon y Corbit, 1974). Cuando el estímulo cesa, el efecto oponente demora brevemente en hacer lo propio, de este modo es manifestado un estado afectivo de valor negativo al primario, que va disminuyendo de forma paulatina hasta desaparecer por completo (fig. 11). Esta teoría se ha propuesto como posible explicación del malestar que emerge en la abstinencia a drogas de abuso

Es claro que el estímulo que produce el efecto placentero en el consumo de algún estupefaciente, es la incidencia que tiene en receptores a los que es agonista y la consecuente neurotransmisión que desencadena. Y aunque el proceso oponente en esta situación no tiene una clara representación en términos biológicos, se han propuesto algunas estructuras como posibles orquestadoras del fenómeno, principalmente algunos eventos fisiológicos que aparecen como respuesta frente a estímulos estresantes. Por ejemplo, una elevación de factor liberador de corticotropina (FLC) en el CeA, y aquella que se da también en el eje hipotalámico-pituitario-adrenal, correlaciona con la abstinencia a drogas. Se ha encontrado, también, que antagonistas de FLC dentro del CeA logran bloquear el síndrome de abstinencia producido por alcohol (Menzaghi et al, 1994). Otro

resultado del bloqueo de dichos receptores es la inhibición de la conducta de búsqueda, en ratas adictas a nicotina (Bruijnzeel et al, 2009). Adicionalmente, cuando los niveles extracelulares de FLC en CeA se incrementan constantemente, provocan potenciación a largo lazo (o LTP, definida como la mejora duradera de la transmisión de la señal entre dos neuronas, producida por la estimulación sincronizada de ambas), lo que traería como resultado el cambio de umbral de excitabilidad de esta estructura. Se ha sugerido entonces que una Amg hipersensible mantiene el alertamiento, traducido en un malestar más duradero y de forma más aguda (Rassnick et al, 1993; Krishnan et al, 2010; Koob, 2009).

PATRÓN ESTANDAR DE LA DINÁMICA AFECTIVA

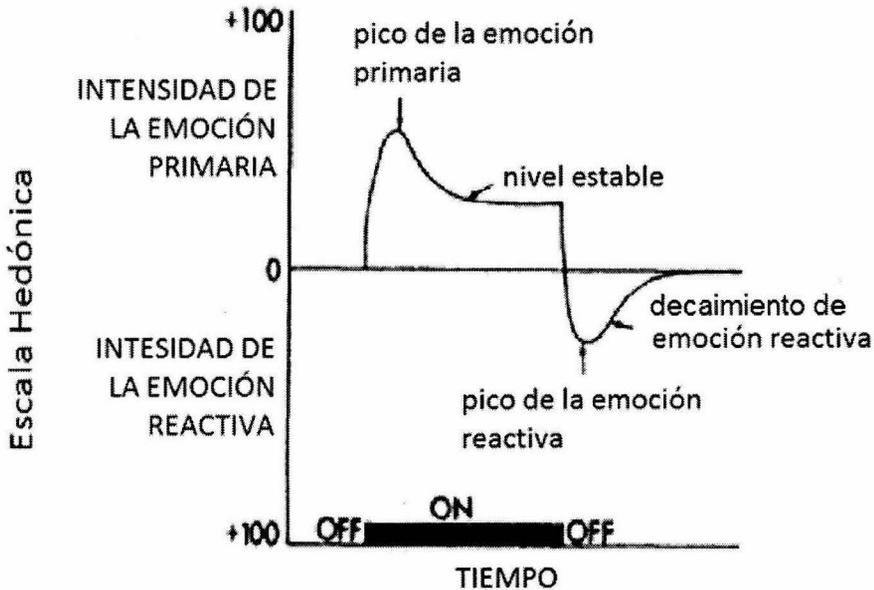


Fig. 11. Procesos oponentes (Solomon y Corbit, 1974). Oscilación del estado afectivo con respecto a la presencia del estímulo (el cual está representado como una barra negra). La curva muestra el aumento abrupto de intensidad de la emoción primaria cuando aparece el estímulo, el proceso oponente lo fuerza a disminuir, manteniéndolo así en un nivel estable. Cuando la estimulación se detiene, la intensidad disminuye súbitamente hasta incluso alcanzar una afectividad negativa a la primaria.

Así mismo, pareciera que la activación del NCET influye en este fenómeno, dicha activación es dada principalmente por la liberación de noradrenalina proveniente de terminales del locus cerúleos. Delfs *et al* (2000) muestran cómo la aparición del síndrome de abstinencia se abole con la administración del antagonista a los receptores noradrenérgicos α -2. Adicionalmente, la administración de factor neurotrófico derivado del cerebro (BNDF) dentro del NAc, Amg y AVT induce el *comportamiento de búsqueda* por la droga; lo contrario ocurre cuando es dada en la CPF (Horger *et al*, 1999; Berglind *et al*, 2007). Esto adquiere sustento con otros trabajos que han mostrado que la abstinencia a psicoestimulantes produce aumento de BDNF y consecuentemente una proliferación de recetores D3, cuya estimulación participan también en los efectos negativos del síndrome de abstinencia (Guillin *et al*, 2001).

Además de estos sucesos negativos *per se*, ocurren cambios plásticos que incapacitan al individuo para sentir placer. Rossetti *et al* encontraron que en ratas expuestas a 5 g de etanol diario por 6 días, comportamientos que evidenciaron síndrome de abstinencia (sacudidas de perro mojado, temblores, piloerección, etc.) tuvieron lugar en ausencia de la droga. Y no sólo eso, sino que por medio de la técnica de microdiálisis, un decremento de los niveles basales de DA en el estriado ventral fue observado; esto al mismo tiempo que se desplegaban las conductas ya mencionadas (Rossetti *et al*, 1992). Aparentemente este decremento de DA es debido a una disminución de los receptores D2 en el estriado ventral (Volkow *et al*, 1997).

Dichos cambios plásticos (modificaciones anatómico-funcionales en la circuitería neuronal debido a modulación genética. Carew y Sutton, 2001), suelen generar un incremento del umbral al placer, el cual se entiende como la necesidad de aumentar la magnitud del estímulo que regularmente producía agrado. Este aumento es generalizado de tal forma que no limita su incidencia al estímulo farmacológico que lo produjo, sino que va más allá e incluso llega hasta los umbrales a reforzadores naturales (Weiss *et al*, 1992). Es claro que esto se traduce en un estado de anhedonia generalizada, que incluso puede conducir a un estado depresivo (Paterson y Markou, 2007).

Uno de los sustratos propuestos como responsables de esta anhedonia, ha sido la deficiente transmisión dopaminérgica de la CC al NAc. Se tiene evidencia de que la

hipofuncionalidad de la CC tiene una fuerte relación con la depresión. Cuando la estructura antes mencionada es evaluada mediante resonancia magnética, se ha encontrado una menor actividad durante el estado depresivo; así como un volumen severamente bajo de materia gris en estudios postmortem (Drevets et al, 2008). Además, gracias a la técnica empleada en ratas conocida como nado forzado, pudo comprobarse que pequeñas estimulaciones eléctricas en la CCA logran producir efectos antidepresivos; lo anterior evidenciado por el tiempo de nado más prolongado en los sujetos experimentales (Hamani et al, 2010). Yang *et al* (2009) lograron observar que esta disfunción es posiblemente resultado de una disminución de glutamato en dicha área. De la misma forma, parece tener implicaciones el sistema serotoninérgico en tal deficiencia; administraciones de agonistas al receptor 5HT-2C impiden se presente la conducta de búsqueda, en animales expuestos previamente al paradigma de autoadministración con cocaína.

Es claro que en el síndrome de abstinencia, al igual que en las descompensaciones homeostáticas cotidianas, se presenta la sensación de ansiedad de dos formas: una implícita y otra consciente. La primera es resultado de los cambios subcorticales que han sido mencionados con anterioridad; la segunda en cambio, proviene de un procesamiento mayor dado por la comunicación del componente implícito (Amg principalmente) con zonas corticales (Naqvi y Bechara, 2009). Se ha propuesto a la CI como la principal de estas zonas. Su región agranular recibe una fuerte inervación dopaminérgica que estimula principalmente a receptores del tipo D1; éstos han sido propuestos como posibles blancos de los cambios plásticos que subyacen a la ansiedad extrema en el síndrome de abstinencia. Se ha encontrado además, que la ínsula genera una gran cantidad de FLC, cuyo objetivo principal es la amígdala (Naqvi y Bechara, 2009).

La estimulación del receptor D1, en el estriado y en la corteza, incrementan el adenosín monofosfato cíclico (AMP c), consecuentemente la fosforilación de la proteína cinasa A (PKA) y la proteína CREB (cAMP response element-binding), cuya función es promover la transcripción de los genes c-fos, preprodinorfina y Homer, entre otros (Nestler, 2001). A través de manipulaciones genéticas, se ha podido ver que el aumento de CREB intra-NAC, desencadena eventos que propician este aumento en el umbral placentero del que se ha hablado; por lo que se cree que los genes antes mencionados están involucrados en este

fenómeno (Barrot, 2002). Adicionalmente, se ha visto que dicho aumento de CREB genera hipoactividad en células dopaminérgicas, así como el bloqueo de la sensibilización motora provocada por cocaína (Hyman et al, 2006).

Otro de los genes involucrados en la adquisición de la adicción ha sido el fosB, cuya función principal es la de traducción a la proteína delta-fos B, que a últimas fechas le ha atribuido facilitar el incremento del receptor mGlu2 en el NAc, a cuyo aumento se le atribuye también, en parte, la disminución del umbral reforzante (Todtenkof et al, 2006). Además, se tienen datos que sugieren su participación en los cambios dendríticos que sufre el NAc (por ejemplo, el aumento en la arborización dendrítica después de la exposición prolongada a psicoestimulantes) (Norrholm et al, 2003).

El síndrome de abstinencia es el reflejo fiel de que el fármaco ha tenido repercusiones biológicas que han modificado el funcionamiento del organismo, suscitándole variaciones en la percepción de lo que es primordial y orillándolo a tener como principal objetivo la repetición de la experiencia que produjo la administración farmacológica. La repetición de ésta tiene lugar y el individuo se sitúa en la tercera y última fase del establecimiento de la adicción.

Recaída

El aprendizaje que convierte el uso social de alguna droga en una adicción a ésta, es desencadenado por la liberación prolongada de DA en la CPF, Amg y NAc. Los cambios plásticos que ocurren por ello, generan alteraciones morfológicas en las conexiones de dichas estructuras, capaces de originar aprendizaje de conductas estereotipadas, que proveen una especie de resguardo en el momento en el que los estados emocionales negativos del síndrome de abstinencia ocurren (Berridge y Robinson, 1998). Es entonces cuando, la aparición de estos últimos en conjunto con el deseo por experimentar de nuevo el agrado causado por la droga, propician la reincidencia, más como un hábito frente a estas situaciones que como una conducta voluntaria (Berridge y Robinson, 1998).

La compulsión por la búsqueda de la droga implica una perseverancia de los hábitos antes mencionados, el cual es componente de la drogadicción. Dado que esto implicaría un déficit en la planeación y en la capacidad para sobrellevar un retraso del reforzador (impulsividad), la CPF ha sido contemplada como uno de los probables sitios, donde son sufridas las modificaciones que dan pie a dicha problemática. En 2006 Sun y Rebec monitorearon neuronas de la CPF mientras un grupo de ratas eran sometidas a un procedimiento de autoadministración de cocaína por tres semanas. Como resultado pudo observarse una hipofuncionalidad en el área estudiada, cuya duración fue prolongada hasta 10 días después de la última sesión.

Esta hipofrontalidad es una de las principales razones por las cuales las capacidades del individuo para regular su deseo de buscar la droga son limitadas y entonces recae, incluso a pesar de su voluntad. Estudios de neuroimagen en humanos muestran que dos porciones importantes de la corteza, encargadas de modular el comportamiento adaptativo y de identificar el comportamiento biológicamente favorable (la corteza orbital ventral y la CCA respectivamente) se encuentran hipoactivas en el síndrome de abstinencia (Goldstein y Volkow, 2002).

Administraciones de agonistas dopaminérgicos dentro de la CPF inducen recaída a casi cualquier droga de abuso. Una adaptación celular que se ha pensado podría subyacer a este suceso, es el incremento del activador de proteína G de señalización 3 (AGS3) en las neuronas piramidales de la CPF, el cual secuestra a la subunidad alfa de Gi (Kalivas et al, 2005) y como consecuencia, inhibe la acción inhibitoria de los receptores D2, aumentando así la liberación de glutamato en el NAc. Aunado a esto, se ha identificado un incremento en la arborización dendrítica del NAc que, particularmente aquí, hace más susceptible a la CPF de excitarlo.

Se tiene evidencia de que administraciones prolongadas de cocaína incrementan la liberación basal de glutamato en las aferentes del NAc. A este evento se le ha atribuido el cambio plástico que sufren las ramificaciones dendríticas de dicha estructura. (Lippman y Dunaevsky, 2005). Drogas psicoestimulantes y, de forma interesante, la marihuana, incrementan la cantidad y longitud de las ramificaciones dendríticas en el NAc, por lo que

se cree que dichas sustancias podrían estar aumentando indirectamente el glutamato extracelular en esta zona.

Esta prolongación dendrítica también está asociada con un incremento en los receptores AMPA en el NAc, que a su vez, incapacita a sus aferentes de producir depresión a largo plazo (o LTD, definida como la reducción duradera en la eficacia sináptica, que es dependiente de actividad neuronal). Se ha mostrado que esto ocurre en la abstinencia de cocaína después de administraciones crónicas (Martin et al, 2006; Kourrich et al, 2007).

Cuando la adicción a drogas de abuso se ha instalado, la recaída suele ser difícil de eludir, ya que es complicado extinguir todas aquellas señales que evocan la sensación agradable de la droga. Se cree que un elemento de dicha dificultad, es que pareciera que el cerebro echa a andar un mecanismo que impide la extinción del aprendizaje en circunstancias sumamente recompensantes. El Sub, que como ha sido mencionado es la estructura principal de salida del Hip, se muestra importantemente activado frente a estímulos novedosos (Sun et al, 2003); esto desencadena la activación de una serie de estructuras que tienen como resultado final el incremento de DA en el NAc. Se cree que este evento tiene lugar también frente a la presentación de algún estímulo que previamente ha sido aprendido. Lo que podemos ver hasta aquí, es que al parecer el recuerdo de alguna experiencia placentera puede incluso producir placer por sí mismo. Se cree que cuando un estímulo que ha sido asociado con los efectos de la droga, se presenta al individuo, éste experimentará un efecto placentero débil, de propiedades similares al que tuvo con la administración del fármaco; este remembranza instará al sujeto a buscar el efecto original que resulta de la ingesta de la droga. Lo anterior ha sido modelado con animales y se le ha llamado *conducta de búsqueda* (Sun et al, 2003).

Se ha supuesto que la conducta de búsqueda aparece cuando el individuo procura experimentar los efectos recompensantes producidos por la droga a la que fue expuesto. Después de extinguir dicha conducta, su reinstalación ha sido inducida principalmente de tres formas: *priming*, estrés y por clave (fig. 12). Esto ha sido utilizado para modelar la recaída a drogas de abuso.

En sujetos a los cuales se les ha expuesto a una administración crónica de cocaína, la inactivación de los receptores D1 en el NAc *shell* impide que se de la reinstalación de la adicción por *priming* (Anderson, 2003), lo mismo ocurre si son bloqueados los receptores D1, D2 y AMPA/kainato en la CPF (McFarland y Kalivas, 2001). En contraste, la activación de los receptores AMPA en el NAc core y de D1 en *shell* inducen la reinstalación de la conducta de búsqueda (McFarland et al, 2003).

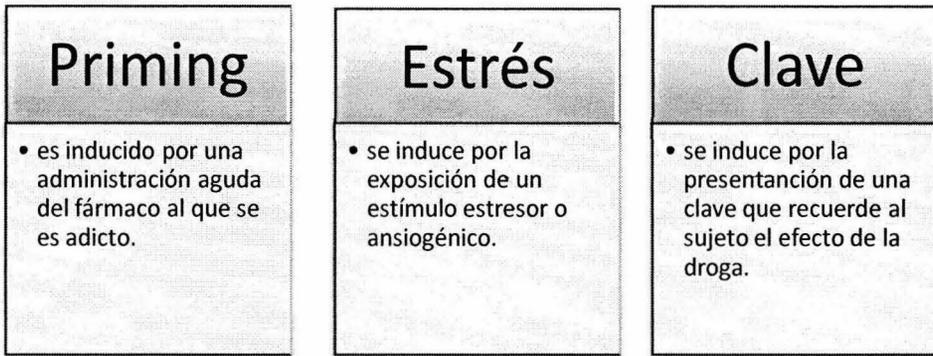


Fig. 12. Esquema que muestra las tres formas para inducir la reinstalación de la conducta de búsqueda a una droga.

La recaída producida por estrés es bloqueada por antagonistas del FLC y antagonistas colinérgicos en la amígdala extendida, específicamente en el del BNST (Saham et al, 2000).

La reinstalación provocada por clave parece estar a cargo de la CC y la BLA. Esto ha sido sugerido puesto que la inactivación de los receptores dopaminérgicos en estas estructuras, bloquean el tipo de recaída por clave. En sustento de lo anterior se ha observado en la recaída por clave un incremento extracelular de DA en la amígdala, en la CC, en la corteza orbitofrontal, así como en el NAc core (McFarland y Kalivas, 2001). Además, Jentsch y Tylor (1999) postularon que la corteza orbitofrontal y la BLA, contribuyen al aprendizaje asociativo entre la droga como objeto y el cúmulo de señales que vienen del medio.

Como ha sido mencionado en apartados anteriores, el Hip está encargado también de dirigir la atención hacia estímulos relevantes; la actividad que surge en esta área frente a tales estímulos, es un cambio de disparos tónicos a disparos en brotes. Se tiene evidencia de que en el periodo de abstinencia, después de una semana de administraciones crónicas de psicoestimulantes, la excitabilidad del Hip disminuye, acompañada por una disminución de casi el 50% de disparos en brotes. Se ha propuesto a este suceso como el posible sustrato de la incapacidad de los reforzadores naturales para capturar la atención de los adictos (Cooper et al, 2006).

Sustentando lo anterior, ciertos experimentos han evidenciado cómo la ablación del Hip genera una perseverancia de conductas estereotipadas. Por ejemplo, en uno de estos experimentos, dos grupos de ratas fueron entrenadas para presionar una palanca para obtener alimento en un programa de reforzamiento conocido como *razón progresiva*. En él, el esfuerzo requerido para obtener determinada cantidad de comida aumenta continuamente hasta que el sujeto deja de responder (*break-point*). Después de que ambos grupos lograron aprender la tarea, a los sujetos del primer grupo les fue lesionado el Hip, mientras que a los otros les fue mantenido intacto. Los primeros llegaron al *break point* mucho después de los segundos. Esto puede ocurrir a causa de la imposibilidad de detener conductas estereotipadas por medio de la focalización de la atención hacia otros eventos (Tracy et al, 2001).

CAPÍTULO III: SISTEMA ENDOCANABINOIDE Y ADICCIÓN

Quienes investigan el fenómeno conductual que contempla al abuso de drogas han puesto particular interés en el consumo de la marihuana, el cual destaca de cualquier otro consumo tanto por su alta frecuencia a nivel mundial, como por la suposición de que la marihuana es una *droga de entrada* (*gateway drug*); esto es, que su ingesta aumenta la probabilidad del abuso de otras drogas.

Por ejemplo, datos obtenidos por el Instituto Nacional sobre el Abuso de Drogas (NIDA por sus siglas en inglés) muestran que en 2008 más de 25.8 millones de estadounidenses

mayores a 12 años abusaron de la marihuana por lo menos una vez en ese año. La Organización Mundial de la Salud (2008) reporta que cerca de 160 millones de personas son usuarios recurrentes de ésta. Es considerada por lo anterior, la droga ilícita mayormente consumida en el mundo (Degenhardt et al, 2007). El consumo de marihuana en nuestro país ha encabezado las listas mundiales. En 2007 México fue el país en donde más toneladas de marihuana fueron incautadas en el mundo (fig. 13).

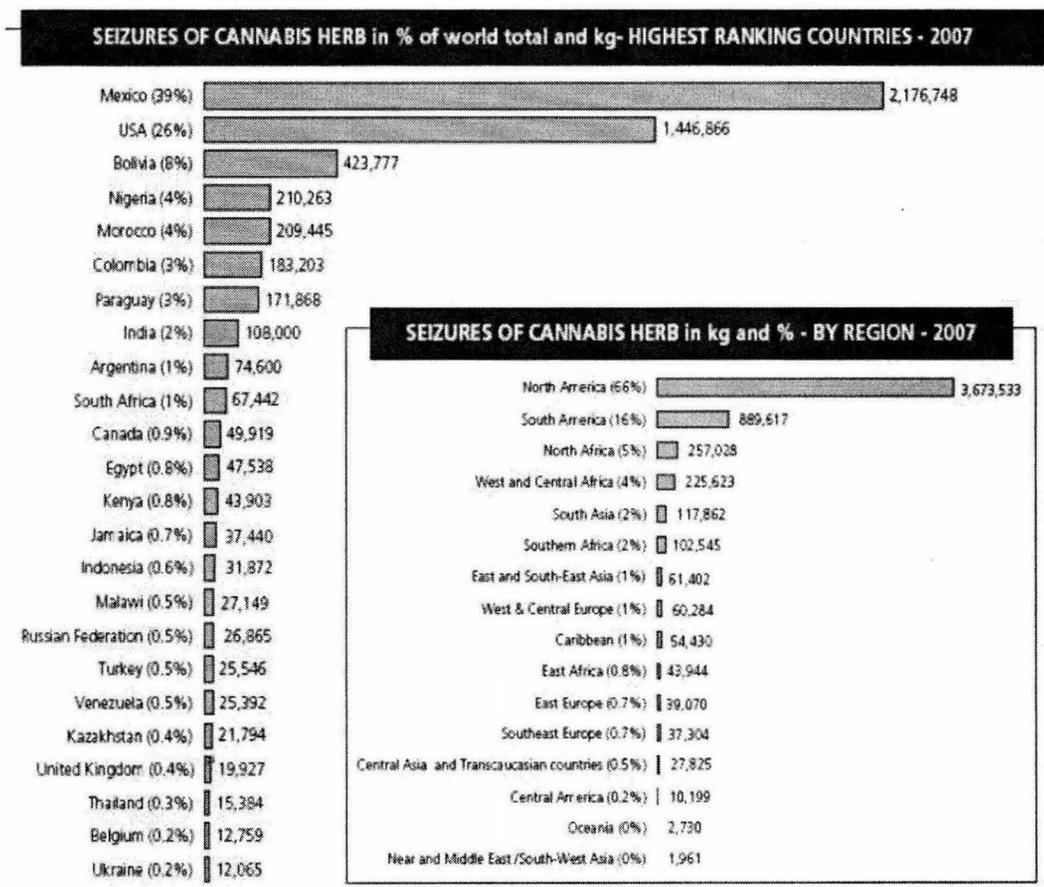


Fig. 13 Porcentaje (cifra a lado del nombre del país) y la cantidad en kilogramos (a la derecha de la barra) de marihuana que fue incautada en cada país mostrado.

Además, respaldando el calificativo de droga de entrada, el Centro de Adicción y Abuso de Sustancias (CASA por sus siglas en inglés) reportó en 1991 datos que sugerían que el abuso de cocaína era 85 veces más probable en usuarios de marihuana que en aquellos que no lo eran.

También conocida como Cannabis, la marihuana contiene una gran cantidad de sustancias, entre ellas más de 60 canabinoides, tales como canabinol, canabigerol, canabicromeno, canabicitrol y delta-9-tetrahidrocannabinol o THC, considerada como la más psicoactiva de ellas (Mechoulam, 1970). El THC produce diversos efectos cuando incide en el organismo de los mamíferos, tales como hipolocomoción, baja en la temperatura corporal, hiperfagia; y afecciones cognitivas, como el incremento en la agudeza sensitiva y alucinaciones leves.

Sistema endocanabinoide

Por supuesto, ningún canabinoide contenido en la planta de marihuana tendría algún efecto en quien la consume, de no ser por un sistema receptivo que responda cuando estos logran entrar al organismo. Este sistema permaneció prácticamente oculto para la ciencia hasta 1990.

En este año, Matsuda *et al* clonaron al receptor CB1, el cual es un receptor metabotrópico acoplado a una proteína G inhibidora. Esta proteína es un heterotrímero formado por las subunidades α , β y γ . Cuando este receptor es activado, ocurren una serie de fenómenos de segunda mensajería; primero, las subunidades β y γ se desprenden del heterotrímero y viajan hasta los canales de calcio dependientes de voltaje para inhibirlos (Matsuda, 1990). Aún se discute si dichas subunidades logran que los canales de potasio dependientes de voltaje se activen, evento relacionado con la estimulación del CB1.

Por otro lado, la subunidad α bloquea la adenilato ciclasa impidiendo así la formación de AMPc (Howlett y Fleming, 1984). Se ha propuesto que la inactivación del AMPc propicia la activación de dos enzimas muy importantes en la expresión genética que subyace a los cambios morfológicos derivados de las administraciones crónicas de canabinoides: la cinasa reguladora de señal extracelular (ERK por sus siglas en inglés) y la cinasa de

adhesión focal (FAK) (Piomelli, 2003). Aunque las evidencias aun no son suficientes para asegurar lo anterior, se tienen algunos datos que lo apoyan. Por ejemplo, tanto agonistas CB1 como inhibidores del AMPc, logran activar la ERK y la FAK al ser administrados en modelos animales (Piomelli, 2003).

Cabe mencionar que el CB1 es el receptor metabotrópico más abundante dentro del encéfalo, superando incluso a los receptores a DA (Howlett et al, 2002). Su distribución es amplia en el Hip, cerebelo, CPF, sistema dopaminérgico mesolímbico, estriado y en el AVT (Solinas et al, 2008).

En 1993 otro de los componentes principales de sistema endocanabinoide fue descubierto, Munro *et al* describieron el receptor CB2. Su ubicación exacta es aún en nuestros días controversial. Se había sugerido que su aparición se limita a la periferia del sistema nervioso, principalmente a tejidos del sistema inmune, tales como timo y bazo; sin embargo, investigaciones recientes han mostrado que también se encuentran en algunas áreas del sistema nervioso central: cerebelo, CPF y en tallo cerebral (Van Sickle et al, 2005).

Los principales ligandos endógenos de este sistema fueron descubiertos en 1992 y 1995: anandamida (N-araquidonil-etanolamida) y 2-AG (2 -araquidonil-glicerol) respectivamente (Devane et al, 1992; Mechoulam et al, 1995).

La Anandamida (ANA) es un ligando de ambos receptores a canabinoides (Piomelli, 2003), su liberación ha sido asociada con cambios conductuales como consolidación de la memoria, modulación del ciclo sueño-vigilia, modulación de la ingesta de alimentos e hipoalgesia. Es sintetizada por la N-acil-fosfatidil-etanolamida, que hidroliza a la fosfolipasa D, y es degradada por la Hidrolasa de los ácidos grasos amidados (FAAH por sus siglas en inglés) (Reggio, 2010).

El 2-AG se encuentra dentro del cerebro en mayor cantidad que la ANA, sin embargo, posee menor afinidad a los receptores CB1. Logra acoplarse también a los CB2. Es sintetizado por la lipasa-diacil-glicerol y degradado por la lipasa-monoacil-glicerol. Aunque se sabe que 2-AG participa prácticamente en todas aquellas conductas en las que lo hace la ANA, se desconocen las implicaciones que tienen sus diferencias. Se tiene

evidencia de que el transportador de ambos neurotransmisores es el mismo, aunque no ha podido ser caracterizado (Solinas et al, 2008).

Efectos reforzantes del sistema endocanabinoide

Como se ha mencionado, los endocanabinoides tienen efecto en la ingesta de alimentos. Siendo más precisos, el aumento de éstos en el NAc por ejemplo, ya sea de forma natural o sintética (Soria et al, 2010), produce un aumento en el consumo de alimentos; este fenómeno se da de forma dosis-dependiente y ya que es bloqueado por *rimonabant*, un antagonista a los CB1, puede decirse que dicho efecto es a causa de la estimulación de este tipo de receptores (Williams y Kirkham, 1999). Una posible explicación a este hecho es que la estimulación de los receptores CB1 incide en el componente reforzante del alimento, haciendo que su ingesta resulte más placentera.

Lo anterior adquiere sustento en distintos hechos. Los CB1 se distribuyen ampliamente por el sistema límbico: AVT, NAc, CPF, Amg e Hip (Herkenham et al, 1990). Además, existe investigación amplia que sugiere que la estimulación del receptor CB1, en las áreas antes mencionadas, es reforzante por si sola:

Por ejemplo, en 1996 Lepore *et al* determinaron el umbral reforzante en modelos animales por el método de auto-estimulación intracraneal. Después de una administración aguda de 1 mg/kg i. p. de THC, pudo observarse que la intensidad de la corriente eléctrica requerida era menor ahora, que en ausencia de THC. El umbral había decrementado. Exceptuando las drogas alucinógenas, todas las drogas de abuso tienen la propiedad de disminuir el umbral a la recompensa cuando son administradas de forma aguda; ya sea producido por otras drogas de abuso, por reforzadores naturales o, en este caso, por estimulación eléctrica (Lepore et al, 1996).

Acorde con lo anterior, se ha comprobado que dosis bajas de THC (0.3 mg/kg i. p.), logran que un tratamiento crónico de Nicotina (0.12 mg/kg i. p.), el cual no es reforzante por sí solo, provoque condicionamiento de preferencial de lugar. Esto no ocurre cuando son bloqueados los CB1 (Valjent et al, 2002).

Más allá de ser un potenciador de los efectos placenteros, la estimulación de los CB1 ha demostrado ser reforzante por sí sola. Por ejemplo, la administración crónica de THC (1 mg/kg i. p.) logra producir un condicionamiento de preferencia de lugar (CPP) tan potente como aquel inducido por 10 mg/kg i. p. de cocaína. El CPP es un paradigma cuyos resultados han sido interpretados como posibles indicadores de que el tratamiento de administraciones repetidas de alguna sustancia produce adicción. El CPP puede constar de 3 a 5 fases (pre-condicionamiento, condicionamiento, prueba, extinción y recaída) (Tzschentke, 1998). En este paradigma, una curva dosis-respuesta del tipo que se presenta con psicoestimulantes aparece también con THC; en otras palabras, después de la dosis efectiva aparece un decremento del efecto reforzante (Lepore et al, 1995).

Otros trabajos han afirmado que los efectos reforzantes encontrados por la administración de cannabinoides son dados ciertamente por la activación de los receptores CB1. En 1999 Ledent *et al* encontraron que la conducta de autoadministración logra ser instalada en sujetos *wilde type* con WIN 55212 (agonista sintético a los receptores CB1); en contraste, dicha conducta no tiene lugar en ratones *knock-out-CB1*. Estos últimos no muestran respuesta al síndrome de abstinencia precipitado por la administración de rimonabant, después de un tratamiento crónico con THC.

Indagando en los mecanismos cerebrales consecuentes de la activación de los CB1, se ha podido comprender cómo es que ésta logra ser recompensante.

Sustratos fisiológicos de los efectos recompensantes por cannabinoides

La ANA es autoadministrada vía intravenosa por monos Rhesus en dosis de 40 µg/kg; dicha conducta es bloqueada por la administración de 0.1 µg de rimonabant. En el mismo estudio se midieron los niveles dopaminérgicos extracelulares del NAc, mismos que se vieron incrementados, particularmente en la porción *shell* (Justinova et al, 2005).

En 1998 se encontró que la actividad eléctrica del sistema dopaminérgico meso-prefrontal, específicamente de las mediciones provenientes de 27 neuronas del AVT, aumentaba de forma dosis-dependiente después de administrar THC (de 62.5 a 1000 µm/kg i. v.) o WIN 55212 (de 62.5 a 500 µm/kg i. v.) (Diana et al, 1998).

Basándose en información como la anterior, se ha sugerido como primer lugar de acción, para generar efectos placenteros al AVT.

El AVT envía proyecciones dopaminérgicas al NAc, Amg y CPF. Agonistas cannabinoides han mostrado ser efectivos al reducir las corrientes postsinápticas inhibitoras mediadas por la activación de los receptores GABA A dentro del AVT; dicha reducción, a su vez, conduce a un incremento de la tasa de disparo de las neuronas dopaminérgicas. Además, se ha encontrado que la estimulación de los receptores CBI de esta área, produce un incremento en los niveles de β -endorfina (Szabo et al, 2002).

Se entiende entonces que la activación de los receptores CBI debe estarse dando en las interneuronas, y esto aunado al aumento de β -endorfina que activa los receptores μ -opioides, genera una inhibición de la inhibición gabaérgica tan fuerte que incrementa la probabilidad de disparo de las neuronas dopaminérgicas. Como resultado, los niveles extracelulares de NAc incrementan, y desde luego, los niveles de la CPF y la Amg.

El siguiente lugar de acción que contribuye al reforzamiento es el NAc. El NAc está conformado principalmente de neuronas gabaérgicas espinosas medianas. Estas son neuronas de talla media, con extensas y abundantes ramificaciones dendríticas, que son invadidas por neuronas glutamatérgicas provenientes de la Amg, Hip y CPF, así como de interneuronas gabaérgicas y, como ya ha sido mencionado, por dopaminérgicas del AVT (Groenewegen et al, 1999). El NAc envía proyecciones gabaérgicas al PV que, a su vez, envía al núcleo talámico mediodorsal que envía a CPF, la cual devuelve información al NAc.

Utilizando la técnica de *patch clamp* in vitro, se ha observado que la administración de WIN 55212 y CP 55940 dentro del NAc bloquea la transmisión gabaérgica, ya sea evocada o espontánea. La previa administración de rimonabant impide este bloqueo (Manzoni y Bockaert, 2001). El papel desinhibidor, aquí sugerido, de los cannabinoides dentro del NAc, hace a este núcleo más susceptible de ser excitado.

Por otro lado, como ya ha sido mencionado, el PV (parte ventral del Globo Pálido) es una estructura importante en la sensación de recompensa. Se piensa que su activación concede

parte del estado hedónico en el consumo de drogas. Caille y Parsons (2004) descubrieron que la administración de heroína propicia la activación de este núcleo, al mismo tiempo que decrementa los niveles extracelulares de GABA. Dos años después, se encuentra que la activación de los receptores CB1 tiene gran impacto en este suceso. La administración de WIN 55212 en dosis de 5 mg/kg disminuye la cantidad de GABA extracelular del PV (Caille y Parsons, 2006).

Una posible explicación a lo anterior es que las aferentes glutamatérgicas del NAc son inhibidas al exponerse a algún agonista canabinoide, lo que evita la activación de las neuronas gabaérgicas espinosas medianas, y a su vez decrementa el flujo de GABA hacia el PV (Robbe et al, 2001).

Podemos ahora hacer un paréntesis para recapitular lo que en conjunto nos dicen los hallazgos encontrados por administraciones crónicas de agonistas CB1. La activación de estos últimos, se da en por lo menos 3 partes importantes que dan a su vez 3 efectos que correlacionan con la experiencia recompensante del uso de cannabinoides. El VTA incrementa el disparo de sus neuronas, que incrementan DA extracelular en el NAc; éste, además, ha visto su inhibición basal disminuida, lo que en conjunto hace que este núcleo sea más excitable. Asimismo, la excitabilidad del PV también aumenta.

Tomando en cuenta que las proyecciones del VTA no se limitan al NAc, suponemos que el incremento en el disparo de sus neuronas es también guiado a otras áreas. Las neuronas piramidales de la CPF, consideradas como sus principales neuronas excitadoras, son inhibidas por las proyecciones dopaminérgicas enviadas del VTA. Esta inhibición logra ser anulada por la administración i.v. de 0.5 mg/kg de THC (Pistis et al, 2001). En un trabajo ulterior en donde la misma dosis de THC fue dada, se encontró un incremento significativo de glutamato y DA extracelular en la CPF, al mismo tiempo que una reducción de los niveles de GABA. Lo que hace suponer que no son las proyecciones del VTA quienes son inhibidas, sino las interneuronas de la CPF (Pistis et al, 2002).

Plasticidad por administraciones crónicas de agonistas CB1

Al tornarse crónica la administración de agonistas al CB1, cambios particulares comienzan a surgir en la comunicación de las estructuras de las que se ha hablado. Estos cambios propician un ambiente ideal para la instalación de la adicción.

Un estudio en el 2006 mostró que administraciones sistémicas diarias de THC (0.5 mg/kg i.p.) durante 12 días promueven el aumento, en cantidad y tamaño, de las ramificaciones dendríticas en el NAc *shell* y CPF. Estos resultados contrastan con aquellos que muestran que, después de administraciones crónicas de heroína, se genera poda dendrítica en estas dos estructuras (Kolb et al, 2006).

Por otro lado, Robbe *et al* (2002) indujeron LTD aplicando estimulación eléctrica de 13 Hz por 30 minutos en las aferentes glutamatérgicas del NAc provenientes de la CPF. Al aplicar previamente rimonabant o AM 251 (antagonistas selectivos a los receptores CB1) se observó un bloqueo claro de la LTD previamente inducida. Esto va acorde con los estudios que indican que la administración de THC inhibe la activación del NAc que tiene lugar por la estimulación eléctrica de la CPF (Pistis et al, 2002).

Una vez que ha sido instalada la LTD en las eferentes glutamatérgicas de la CPF, la administración de antagonistas CB1 no revierten la LTD. Esto es evidente ya que los potenciales postsinápticos excitadores no aumentan. Además, en este estado la administración de WIN 55212 bloquea de forma significativa a la LTD, esto reflejado en la disminución de la LTD con respecto a la basal de los potenciales postsinápticos excitadores (Robbe et al, 2002).

Algo singular en este fenómeno, es que esta la LTD generada artificialmente es inhibida cuando se da previamente una administración aguda de 3 mg/kg i.p. de THC, una dosis considerada alta (Mato et al, 2005). Podemos suponer entonces, que si bien es necesaria la activación de los receptores CB1 para que se de la LTD en estas aferentes del NAc, la estimulación excesiva impide que dicho efecto tenga lugar. Adicionalmente, se ha encontrado que el antagonismo del CB1 no sólo bloquea la LTD; administraciones crónicas de rimonabant producen LTP (Auclair et al, 2000).

Es un hecho que la plasticidad sináptica derivada de la estimulación canabinoide no se limita a la CPF. De hecho existe una especie de competencia entre las eferentes del Hip, Amg y CPF.

Por ejemplo, estimulaciones tetánicas dadas en el Hip generan LTP en las conexiones de *fimbria fornix* (Fi/Fo) con el NAc; que consecuentemente generan LTD en las proyecciones de la CPF hacia el NAc. No obstante, cuando la LTP es generada primero en éstas últimas, la LTD tiene lugar en la Fi/Fo (Goto y Grace, 2008).

Algo muy similar se da en la parte medial del NAc. Es aquí donde convergen las proyecciones del Hip y la BLA; y donde la LTP por estimulación del Hip es acompañada de LTD en las proyecciones del BLA hacia el NAc (Mulder et al, 1998).

Resumiendo lo anterior, tenemos que la estimulación crónica de los CB1 genera una deficiencia en la comunicación que tiene la CPF y el NAc, que a su vez produce una mejora en la que tienen el Hip y el NAc, que probablemente conlleva una deficiencia en la comunicación entre la Amg y el NAc. Aunque aventurada nuestra hipótesis, esto podría indicar que la información que es codificada en el principal centro de planeación y en el principal centro de emotividad negativa es incapaz de regular el principal centro de placer (que supondría una omisión de la capacidad de retrasar el reforzador y en el alertamiento de lo dañino que resulta de la intoxicación del sistema).

Las eferentes de las estructuras antes mencionadas no son los únicos blancos de modificaciones a largo plazo. Por ejemplo, administraciones crónicas de THC en dosis de 10 mg/kg i. p. por 3 días dentro del Hip han demostrado ser efectivas al bloquear la LTP provocada por la estimulación eléctrica de alta frecuencia en las colaterales de Schaffer (Hoffman et al, 2007).

Ha sido sugerido también, que el sistema endocanabinoide tiene importante influencia en la regulación del giro dentado, estructura clave en la entrada de información de Hip. Administraciones de CP 55942 logran inhibir las corrientes inhibitoras postsinápticas dirigidas hacia dicha área; lo que sugiere la probable participación canabinoide en la plasticidad gabaérgica del giro dentado (Isokawa et al, 2005).

Es conveniente mencionar también la evidencia que se tiene de los cambios plásticos que subyacen al síndrome de abstinencia generado por marihuana.

El tratamiento agudo de HU 210 (agonista CB1), activa el tracto hipotalámico-pituitario-adrenal a través de las neuronas que contienen FLC. Además, a través de la técnica de microdiálisis, se logró identificar un aumento significativo del FLC extracelular en la CeA, y se pudo suponer que la activación de esta estructura correspondió al aumento del FLC, gracias al incremento inmunoreactivo de c-Fos (Rodríguez de Fonseca et al, 1997). Finalmente, este trabajo correlaciona el momento en el que la cantidad de FLC fue mayor, con aquel en el que los animales mostraron más conductas adjudicadas al síndrome de abstinencia.

Valverde *et al* (2000) trataron a ratones con THC (20 mg/kg i. p. dos veces al día durante 6 días) para después inducir síndrome de abstinencia a través de la administración de rimonabant (10 mg/kg i. p). Conductas representativas del síndrome de abstinencia tales como sacudidas de perro mojado, piloerección, postura encorvada, masticación y temblor en extremidades y tronco, fueron presentadas por estos sujetos. Interesantemente, el síndrome de abstinencia no tuvo lugar en ratones modificados genéticamente que tuvieron una deficiencia en la producción de encefalinas (agonista a los receptores opioide- κ) sometidos al tratamiento antes mencionado (Valverde et al, 2000).

Relación entre sistemas endocanabinoide y opioide

En muchas conductas, la relación que existe entre el sistema canabinoide y el opioide es evidente. Particularmente en los fenómenos de recompensa y adicción se ha encontrado que la coacción de ambos sistemas es imprescindible.

Tanda *et al* (1997), investigaron la incidencia que tiene la interacción entre estos dos sistemas en la liberación de DA. Una dosis de 0.15 mg/kg i.v. de THC logra incrementar el nivel de DA extracelular en el NAc *shell*, así como lo logra la administración de 0.018 mg/kg i.v. de heroína. Dichos efectos logran ser bloqueados en ambos casos con la administración del antagonista opioide- μ naloxona, pero sólo el aumento causado por THC pudo ser bloqueado con rimonabant.

Esto indica que los receptores CB1 son indispensables para generar cambios plásticos a causa de administraciones de opioides, pero no para procesar la información de administraciones agudas. En el paradigma de CPP se ha demostrado que la interrupción de la activación del CB1 bloquea los efectos reforzantes de los opioides; ya que la administración de rimonabant impide que se de una preferencia por el compartimiento asociado a heroína (Mas-Nieto et al, 2001).

Dos explicaciones son posibles para que dichos procesos, aparentemente contradictorios, tengan lugar en un mismo fenómeno. La primera es que las administraciones crónicas de heroína generen una regulación a la baja en los receptores opioides- μ ; este fenómeno ocasiona que la liberación basal de DA sea menor en ausencia de la droga. Ahora, aunque en niveles bajos, el neurotransmisor sigue liberándose; sin embargo, cuando los receptores CB1 son bloqueados, esta cantidad de DA, ya escasa, es abolida casi totalmente. Se impide de esta forma una preferencia condicionada.

La segunda explicación contempla que dicho efecto debería darse de forma independiente de la DA. Se ha encontrado que el decremento del eflujo gabaérgico del NAc hacia el PV, producido por administraciones de heroína, es bloqueado por rimonabant. Como ya se ha mencionado, la excitación del PV resulta también en efectos reforzantes (Caillé y Parsons, 2006). Por otra parte, ya que en el trabajo de Mas-Nieto (2001) rimonabant induce por sí mismo condicionamiento de aversión de lugar. Se requieren más investigaciones para dilucidar la verdadera causa del bloqueo reforzante por rimonabant.

Hallazgos interesantes muestran que cada agonista CB1 endógeno pareciera modular distintos aspectos del reforzamiento. Por ejemplo, se ha mostrado que tratamientos crónicos con THC, producen un decremento en los niveles extracelulares de ANA en el estriado. No obstante, con administraciones agudas de drogas de abuso, como la heroína, las concentraciones de ANA se ven incrementadas extracelularmente en el NAc, pero no así las de 2-AG (Di Marzo et al, 2000).

Oleamida

Cis-9,10- octadecenoamida, mejor conocida como oleamida (fig. 14), es una amida de ácido graso oleico producida naturalmente dentro de los organismos. Fue identificada en 1995 por primera vez (Cravatt et al, 1995) en líquido cefalorraquídeo de gatos privados de sueño. Se ha visto que logra activar receptores GABA A y serotoninérgicos, sin embargo, se considera principalmente como un endocanabinoide, ya que se une y activa a los receptores CB1, logrando producir analgesia, hipolocomoción y decremento en la temperatura corporal. Dichos efectos son atribuidos a estas sustancias (Martínez-González et al, 2004).

Al igual que ANA, OLE es degradada por la FAAH serina hidrolasa. También se encuentra en los neuroblastomas de roedores (78 veces más que ANA), es hipnótica y aumenta el sueño de ondas lentas. Además, induce catalepsia, antinocicepción (Leggett et al, 2004) y reduce los efectos ansiogénicos producidos por el aislamiento social (Wei et al, 2007).

Existe evidencia de que la administración de OLE en el NAc *shell* induce un aumento del componente hedónico en la ingesta de alimento. Administraciones de 1 µg de OLE intra NAc *shell*, producen hiperfagia en ratas bajo condiciones estándar de laboratorio. Este efecto fue revertido por la administración conjunta de OLE y AM 251, lo que indica que el incremento en el consumo de alimento fue dado a través de los receptores CB1 (Soria et al, 2010).

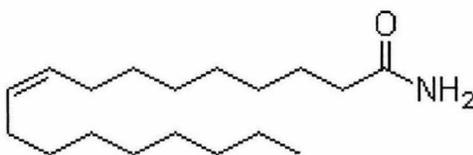


Fig. 14. Estructura química de la molécula de oleamida

Hemos visto que es importante identificar claramente los mecanismos que intervienen en el placer inducido por la estimulación del sistema canabinoide, puesto que este también es un importante regulador de otros sistemas que subyacen al placer y, por supuesto, a la

drogadicción. Para esto, es menester no sólo explorar la activación de los receptores, sino la interacción que poseen con sus diferentes ligandos naturales.

Ya que la OLE está involucrada en la modulación de conductas atribuidas a otros endocannabinoides (a las que produce ANA, por ejemplo. Como el aumento en la ingesta de alimento) cabe la pregunta de si la drogadicción es moldeada por la incidencia de OLE en los receptores CB1.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En resumen, el sistema canabinoide modula la activación del sistema límbico y con ello logra modular también los efectos recompensantes que se generan de dicho evento. También se ha mencionado, cómo es que el aumento de cannabinoides endógenos (inducido por la administración de sus réplicas sintéticas), tales como ANA y 2-AG, logran por sí mismas inducir efectos reforzantes.

Por último, se ha mencionado que OLE logra potenciar una conducta motivada, como la ingesta de alimentos. Ya que dicha potenciación ha sido adjudicada al aumento del sustrato hedónico en este consumo, queda el cuestionamiento de si OLE es tan capaz, como los endocannabinoides previamente mencionados, de provocar por si sola efectos reforzantes.

JUSTIFICACIÓN

La importancia de evaluar los efectos de OLE dentro del NAc con el paradigma de CPP surge por la necesidad de comprender la funcionalidad de este ligando endógeno y su interacción con el SL. Además, ya que el método empleado asegura la observación de la respuesta producida específicamente por el receptor CB1, el presente estudio aporta información acerca de la participación de la activación de este receptor dentro del NAc. La respuesta que es evaluada (conducta de búsqueda) busca reafirmar los supuestos que se tienen sobre el incremento hedónico producidos por OLE.

El experimento elegido (CPP) permite advertir los cambios producidos en un organismo por las administraciones repetidas de un fármaco, en este caso OLE. Los resultados de lo anterior aclaran si OLE, en administraciones repetidas, logra inducir cambios plásticos relativamente permanentes.

OBJETIVO GENERAL

El presente trabajo tiene como propósito observar los efectos que produce el aumento de OLE en el NAC región *shell* en la prueba de CPP, que evalúa el reforzamiento producido por su administración repetida.

Objetivos específicos

Objetivo 1: Identificar los distintos efectos que produce la administración de OLE en 3 distintas dosis (0.1, 1 y 10 μg) dentro del NAc *shell* (bilateralmente), en la prueba de CPP.

Objetivo 2: Identificar aquellas dosis que surtan algún efecto, e intentar inducir una extinción, con el fin de modelar el estado de desintoxicación del adicto a alguna sustancia de abuso.

Objetivo 3: Inducir una reinstalación de la conducta adquirida (condicionamiento de preferencia de lugar) por medio de un *priming* de la dosis que produjo el efecto; modelando así la recaída del adicto a drogas de abuso.

Objetivo 4: Demostrar que los efectos que produjeron condicionamiento de preferencia de lugar son causados por de la estimulación de los receptores CB1; esto al abolir dicho efecto bloqueando estos receptores.

HIPÓTESIS

La hipótesis que plantea el presente estudio es que la administración de OLE en el NAC *shell* produce efectos reforzantes que se evidencian con un condicionamiento de preferencia de lugar.

Hipótesis 1: La administración de OLE en el NAc *shell* produce condicionamiento de preferencia de lugar, expresado en la conducta de búsqueda.

Hipótesis 2: La desintoxicación, es decir, la suspensión de la administración de OLE, conduce a una extinción del condicionamiento producido por aquellas dosis que lo causan.

Hipótesis 3: Después de la extinción, un *priming* de la dosis de OLE que haya sido extinguida produce reinstalación de la conducta de búsqueda, modelando así la fase de recaída de la drogadicción.

Hipótesis 4: La administración conjunta del antagonista a los receptores CB1, AM 251 y la dosis de OLE que produce condicionamiento de preferencia de lugar, impide los efectos de esta última, demostrando que los receptores CB1 son los responsables.

MÉTODO

Sujetos

Fueron utilizadas ratas macho de la cepa Wistar pesando entre 250 y 300 g al inicio de la cirugía estereotáxica. Dichas ratas fueron alojadas individualmente en cajas de policarbonato, después de la cirugía; y mantenidas en condiciones estándar de laboratorio: ciclo luz/oscuridad de 12 horas invertido (luces encendidas 20:00 hrs. luces apagadas 08:00), temperatura de 20-24°C y humedad relativa de 52%.

Exceptuando el tiempo de las sesiones experimentales, dichos animales tuvieron libre acceso a alimento (*Laboratory Rat Chow Pellets*) y agua potable. Todos los experimentos fueron hechos al inicio de la fase de oscuridad (de 08:00 a 12:00 hrs). Todos los individuos fueron manipulados bajo las directrices del Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Cirugía

Bajo los efectos de anestesia (una mezcla de 66 mg/kg de ketamina, 0.26 mg/kg de xilazina y 1.3mg/kg de acepromazina), los sujetos fueron sometidos a cirugía estereotáxica para

colocar cánulas guía, bilateralmente, de diámetro calibre 23 y longitud de 10 mm; dirigidas al NAc, en su región *shell* (coordenadas referidas de Bregma: A = 2.0; L = +1.0; V = -6.0, Paxinos y Watson, 1986). Después de haber sido fijadas al cráneo con cemento dental, las cánulas fueron selladas con estiletos para mantener su permeabilidad. Las infusiones fueron realizadas mientras el animal estuvo restringido de movimiento, con inyectores de calibre 30, que sobresalían 1.5 mm al final de la cánula guía.

Aparatos

Las cajas de condicionamiento consistieron de dos compartimientos extremos (25x30x30 cm), y uno ubicado entre ambos (10x30x30cm). Las paredes, entre cada compartimiento, contaron con compuertas removibles que, gracias a esta cualidad, permitieron libre exploración por la caja completa en los días de evaluación, y acceso restringido en los días de condicionamiento. Los muros y el suelo de cada compartimiento extremo, difirieron en textura y color. La textura de uno fue lisa con relieves lineales intermitentes y de color negro, mientras el otro tuvo textura rugosa y color blanco.

Fármacos

Oleamida (*Tocris Bioscience, Ellisville Missouri, USA*). Lípido endógeno inductor de sueño, agonista de los receptores canabinoides CB1. Es también un potenciador de la actividad serotoninérgica por activación directa en los receptores 5HT-2A y 5HT-2C y alostérica de los 5HT-7.

AM 251 (*Tocris Bioscience, Ellisville Missouri, USA*). Antagonista inverso de los receptores canabinoides CB1.

El vehículo usado fue una mezcla de *Dimethyl Sulphoxida* (30%), PBS (69.8%) y *Tween 80* (0.2%).

Procedimiento

Fue utilizado un paradigma de condicionamiento de preferencia de lugar de tipo sesgado, (Tzschentke, 1998). Primero, se identificó aquel compartimiento en el que el sujeto invirtió la mayor cantidad de tiempo, con respecto al otro, y se denominó como *preferido*. El

compartimiento no preferido, es decir, aquel en el cual el sujeto permaneció menos tiempo, fue asociado a la droga.

Fueron utilizados 4 grupos experimentales, a los que les fueron asignadas tres dosis de OLE (0.1 µg, 1 µg y 10 µg) y un coctel de la dosis que resultó más reforzante (1 µg en este caso) y AM 251, en dosis de 1.6 µg.

Tal procedimiento consistió en tres fases iniciales y dos extras en el caso de encontrar diferencias:

Pre-condicionamiento

Esta fase consistió en 15 minutos, en donde se permitió la libre exploración por toda la caja de condicionamiento. El tiempo pasado en cada uno de los compartimientos fue cuantificado. Gracias a esto, se identificó el compartimiento menos preferido (aquel en el que el animal transcurrió menos tiempo), el cual, en la fase de condicionamiento, fue asociado a la droga. Transcurridos los 15 minutos, el animal fue devuelto a su caja habitación.

Condicionamiento

La fase de condicionamiento fue conducida una vez cada 24 hrs. por un periodo de 10 días, comenzando 24 horas después del pre-condicionamiento (del día 2 al 11). Al inicio de cada sesión, cada sujeto fue administrado en el NAc *shell*, de forma bilateral, con fármaco (las tres dosis de Oleamida o el coctel) disuelto en 1µl de vehículo (DMS-O 30%, PBS 69.8 % y Tween 80 0.2%) e inmediatamente después, fue confinado al compartimiento asociado a la droga por 30 minutos. Terminando este periodo, el animal fue devuelto a su caja habitación. Cinco sesiones con administración de droga (días 2, 4, 6, 8 y 10) y 5 con administración de vehículo (días 3, 5, 7, 9 y 11) tuvieron lugar de forma alternada (días contrabalanceados).

Prueba Condicionamiento

En el día 12 se llevó a cabo la fase de prueba, con una duración de 15 minutos. El procedimiento aquí, fue idéntico al pre-condicionamiento.

Extinción

Este periodo tuvo lugar de los días 13 al 22. Cada una de sus sesiones fue igual a la fase de condicionamiento, excepto que aquí no se administró ningún fármaco antes del confinamiento.

Prueba Extinción

Esta prueba fue idéntica a la fase de pre-condicionamiento y prueba. Tuvo lugar el día 23.

Recaída

La fase denominada recaída constó de 2 sesiones. En el día 24, cada animal recibió un *priming*, es decir, una administración de OLE y fue confinado al compartimiento asociado a la droga. Veinticuatro horas después, fue llevada a cabo una prueba, con características idénticas a las fases de pre-condicionamiento, a la prueba de condicionamiento y a la prueba de extinción.

Análisis de datos

El análisis fue guiado hacia el cambio de tiempo, antes y después de cada tratamiento. Con el fin de tener un mejor panorama del cambio producido por un tratamiento, los tiempos en bruto (<900 segundos) fueron transformados a porcentaje, tomando como 100 % el total tiempo que cada individuo invirtió en el compartimiento señalado en la fase de pre-condicionamiento. Todos los grupos que fueron analizados de dos formas: *entre-* e *intra-*compartimiento. Las comparaciones *entre-* compartimiento se refieren al porcentaje de tiempo invertido en la fase de prueba del compartimiento asociado a la droga contra aquel del compartimiento asociado al vehículo. En las comparaciones *intra-* compartimiento fueron verificados los cambios de porcentaje del compartimiento asociado a la droga después del tratamiento.

En los análisis *entre-* e *intra-compartimiento* se utilizó la prueba estadística t-Student, con un valor de significancia establecida en $p < 0.05$, exceptuando los análisis del grupo de 1 μg , cuya comparación *entre-compartimiento* se realizó con la prueba U de Mann-Whitney y

aquella hecha *intra-compartimiento* requirió de la prueba Wilcoxon. Esta excepción fue dada puesto que los datos del grupo de 1µg no pasaron la prueba de normalidad.

Un segundo análisis fue hecho con el fin de comparar diferencias entre grupos, para lo cual fueron requeridas dos análisis de varianza (ANOVA) mixtas, en donde el factor 1 (entre-grupos) fue determinado como la dosis, y el facto 2 (intra-grupos) fue la sesión (pre-condicionamiento, prueba, extinción y recaída). Los datos utilizados en este análisis fueron los segundos transcurridos en el CAD. Las siguientes tablas lo ilustran.

Primer análisis con ANOVA mixta

	Factor 1 : Dosis	
Factor 2: Sesión	Pre- condicionamiento (1 µg)	Pre- condicionamiento (10 µg)
	Prueba (1 µg)	Prueba (10 µg)
	Extinción (1 µg)	Extinción (10 µg)
	Recaída (1 µg)	Recaída (10 µg)

Segundo análisis con ANOVA mixta

	Factor 1: Dosis		
Factor 2: Sesión	Pre- condicionamiento (0.1 µg)	Pre- condicionamiento (1 µg)	Pre- condicionamiento (10 µg)
	Prueba (0.1 µg)	Prueba (1 µg)	Prueba (10 µg)

Por último se analizaron los datos del grupo de AM 251 con una t-Student ($p < 0.05$), considerando el tiempo bruto también (segundos).

RESULTADOS

La administración de OLE dentro del NAc *shell* produce un efecto reforzante, que se manifiesta en la inducción de CPP. Además, este efecto es inhibido al bloquear los receptores CB1 por administración del antagonista AM 251.

Tal como se muestra en la figura 15, la administración de una dosis de 0.1 μg bilateralmente en el NAc *shell* no produce efecto alguno; lo anterior sustentado en la comparación del porcentaje de tiempo, con respecto a la fase de pre-condicionamiento, que

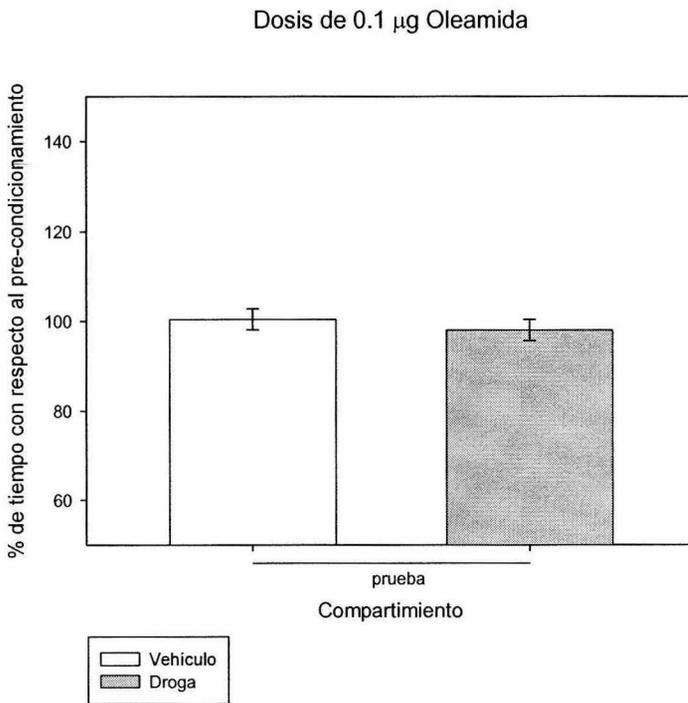


Fig. 15. Porcentaje de tiempo transcurrido en la fase de prueba en los compartimientos asociado a la droga y asociado a vehículo, después de la administración de 0.1 μg de oleamida. Ninguna diferencia fue encontrada con una significancia establecida en valor $p < 0.05$ al realizar una prueba estadística *t-Student* ($t_{18} = 0.722$; $p = 0.479$).

cada sujeto permaneció en el compartimiento asociado a la droga y aquel que estuvo en el compartimiento asociado al vehículo. Estos resultados son observados también cuando los datos fueron analizados como segundos (fig.22 y 23).

La administración de 1 μg de OLE en el NAc *shell* indujo condicionamiento de preferencia de lugar. La figura 16 muestra una diferencia significativa ($U = 155.000$, $P = <0.001$) al comparar el porcentaje de tiempo que, este grupo, permaneció en el compartimiento asociado a la droga (116.990 %) el día de prueba, con aquel que pasó en el compartimiento

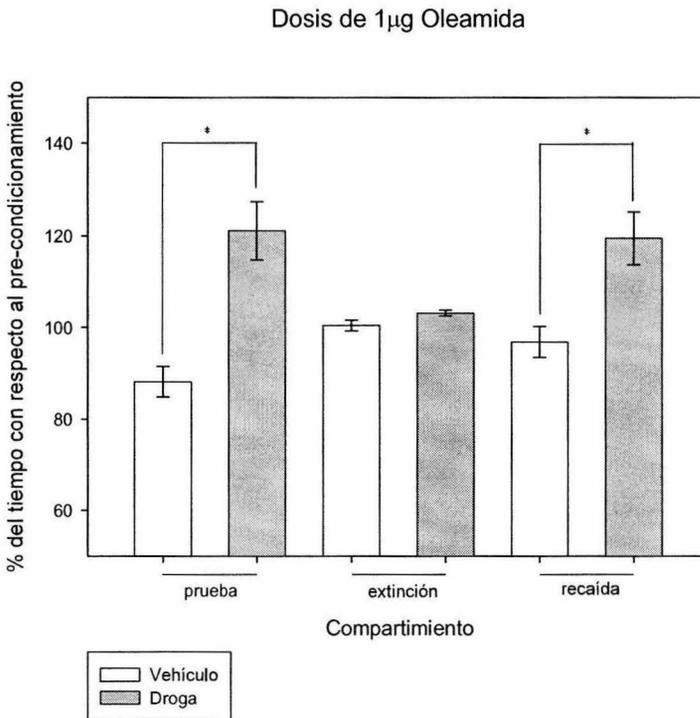


Fig. 16. Porcentaje de tiempo transcurrido en las fases de prueba, extinción y recaída en los compartimientos asociado a la droga y asociado a vehículo, después de la administración de 1 μg de oleamida. La prueba U de Mann-Whitney fue utilizada en la fase de prueba y recaída ($U = 155.000$, $P = <0.001$; $U = 149.000$, $P = 0.001$). La prueba t-Student fue utilizada para evaluar la fase de extinción ($t_{18} = 1.997$, $p = 0.061$). Diferencias estadísticas marcadas con (*).

asociado al vehículo (90.665 %). La figura 22 ilustra que las diferencias significativas persisten cuando los datos en bruto (segundos) son analizados.

Ya que fueron obtenidos los resultados deseados, se procedió con las fases ulteriores: extinción y recaída. Se encontró que, en este grupo, 10 días de extinción generan un regreso a la preferencia basal, es decir, el porcentaje de tiempo que los sujetos pasan en el compartimiento asociado a la droga (103.137 %) no tiene diferencia significativa con aquel que invierten en el compartimiento asociado al vehículo (100.429 %). En la figura 16, también se muestra cómo un *priming* dado de 1 µg de OLE genera la reinstalación del condicionamiento, esto es, el porcentaje de tiempo transcurrido en el compartimiento asociado a la droga (113.683 %) muestra de nuevo un incremento comparado con aquel transcurrido en el compartimiento asociado al vehículo (97.232 %). Los resultados son consistentes con el análisis mostrado en la figura 22.

El grupo tratado con la dosis de 10 µg, al igual que la dosis de 1 µg, produjo cambios significativos en los porcentajes de tiempo de cada compartimiento en cada una de las evaluaciones. Inesperadamente, las alteraciones sufridas aquí, fueron del tipo contrario de las encontradas con la dosis de 1 µg (fig. 22 y 23). Como se observa en la figura 17, el porcentaje de tiempo transcurrido en el compartimiento asociado a la droga en la fase de prueba fue de 80.385 %, con una desviación estándar de 8.320, mientras que en el compartimiento asociado al vehículo fue de 112.920 %, con una desviación estándar de 6.207.

En la fase de extinción, el porcentaje de tiempo transcurrido en el compartimiento asociado a la droga (98.698 % con desviación estándar de 4.187) no tuvo diferencia significativa con aquel pasado en el compartimiento asociado al vehículo (101.088 % con una desviación estándar de 5.084). Del mismo modo que con la dosis previa, un *priming* de la dosis condicionada fue eficiente al propiciar un retorno a la conducta aprendida (compartimiento asociado a la droga 82.290 %, con desviación estándar de 9.525, versus 109.377 % en el compartimiento asociado al vehículo, con desviación estándar de 8.595).

Dosis de 10 μg Oleamida

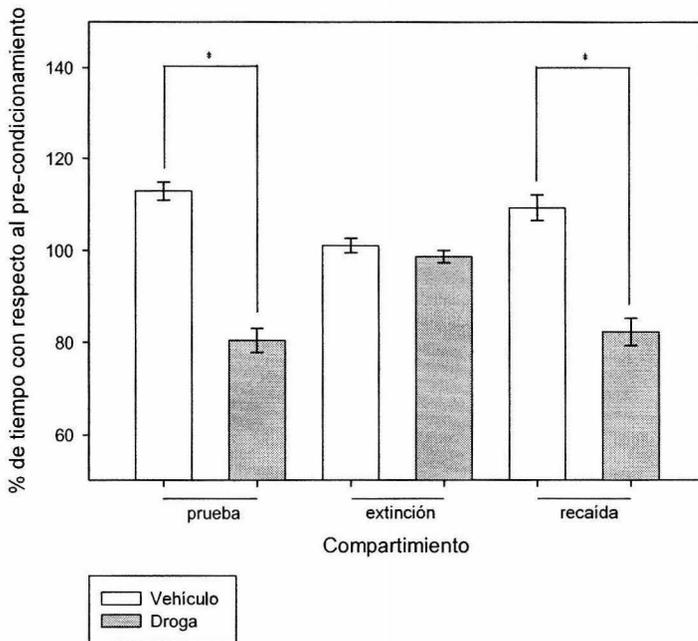


Fig. 17. Porcentaje de tiempo transcurrido en las fases de prueba, extinción y recaída en los compartimientos asociado a droga y asociado a vehículo, después de la administración de 10 μg de oleamida. El valor de significancia establecida fue de $p < 0.05$ realizando una prueba estadística *t-Student*. Prueba ($t_{18} = -9.912$, $p = < 0.001$). Extinción ($t_{18} = -1.147$, $p = 0.266$). Recaída ($t_{18} = -6.676$, $p = < 0.001$). Diferencias significativas marcadas con (*).

Después de que fue localizada la dosis que logró producir un condicionamiento de preferencia de lugar (dosis de 1 μg), se procedió a administrarla en conjunto con una dosis, equimolar a ésta, del antagonista al receptor CB1 AM 251 (1.6 μg), con el fin de bloquear los efectos. Tal como se muestra en la figura 18, el tratamiento antes mencionado bloquea los efectos de 1 μg de OLE, esto evidenciado en la fase de prueba, en donde el porcentaje de tiempo transcurrido en el compartimiento asociado a la droga (102.653 % con una

desviación estándar de 8.416) no obtuvo diferencias significativas con aquel pasado en el compartimiento asociado al vehículo (100.874 % con una desviación estándar de 7.541). Al comparar el tiempo transcurrido en el CAD antes y después del tratamiento (fig.24), observamos que la nula diferencia persiste.

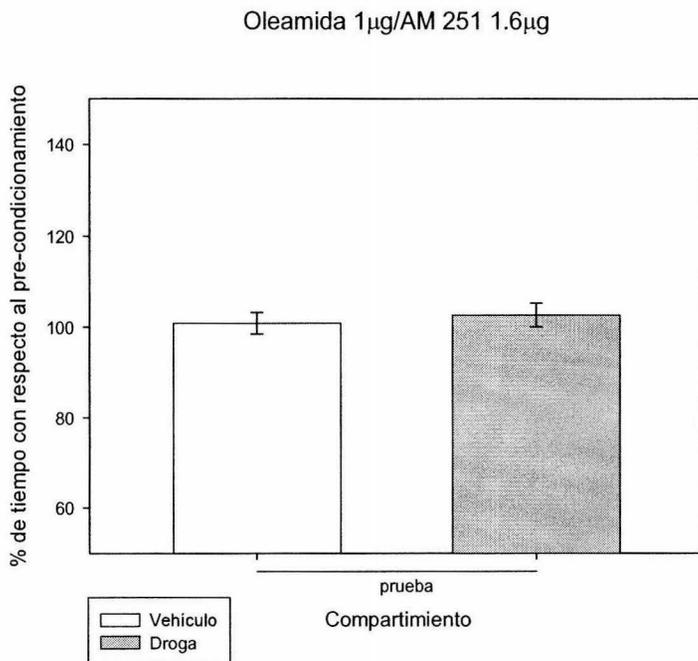


Fig. 18. Porcentaje de tiempo transcurrido en la fase de prueba en los compartimientos asociado a la droga y asociado a vehículo, después de la administración de 1 μ g de oleamida más 1.6 μ g de AM 251. Ninguna diferencia es encontrada con una significancia establecida en valor $p < 0.05$ al realizar una prueba estadística *t-Student* ($t_{18} = 0.498$, $p = 0.625$).

Por último y gracias a que el procedimiento utilizado fue uno de tipo sesgado, se evaluó el porcentaje de cambio entre el tiempo permanecido en el CAD en el pre-condicionamiento y aquel permanecido en la prueba; lo anterior para todos los tratamientos empleados. Como es mostrado en la figura 19, la dosis de 1 μ g produjo un cambio hacia la alza significativo, mientras que la dosis de 10 μ g lo hizo hacia la baja. Congruente con los análisis anteriores,

ni la dosis de 0.1 μg ni la mezcla de OLE (1 μg) y AM 251 (1.6 μg) lograron efecto significativo alguno.

Evaluando de la misma forma a las distintas fases de las dosis que produjeron efecto, encontramos también, datos que sustentan a los análisis anteriores.

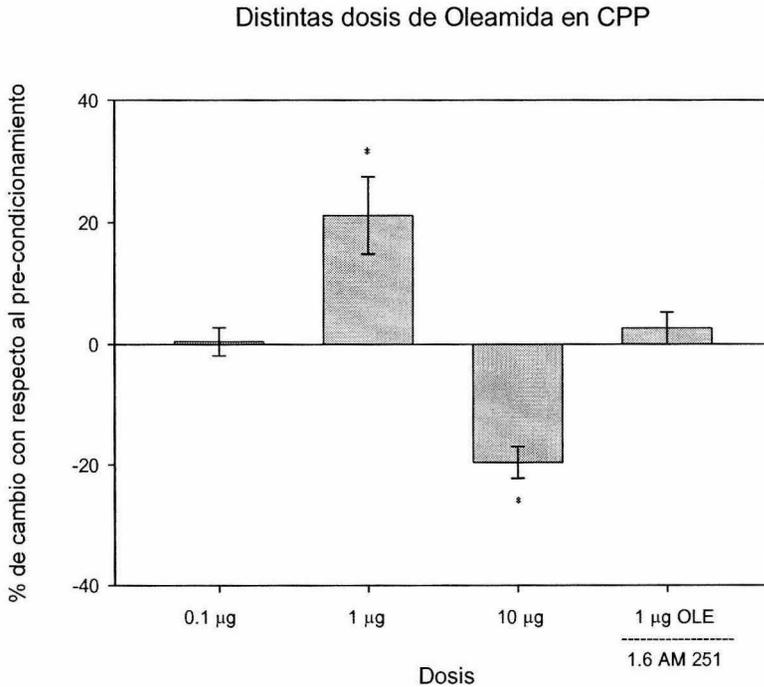


Fig. 19. Porcentaje de cambio en la fase de prueba, con respecto al tiempo transcurrido en la fase de pre-condicionamiento, con cada una de las dosis empleadas. Significancia establecida con valor de $p < 0.05$. Dosis 0.1 μg ($t_9 = -0.195$, $p = 0.850$). Dosis 1 μg ($W = 55.000$, $P = 0.006$). 10 μg ($t_9 = 7.455$, $P = < 0.001$). OLE/AM 251 ($t_9 = -0.997$, $p = 0.345$).

Tal como se muestra en la gráfica 20, se observan diferencias significativas en los porcentajes de cambio del compartimento asociado a la droga, en las fases de prueba y recaída con el tratamiento de 1 μg de OLE.

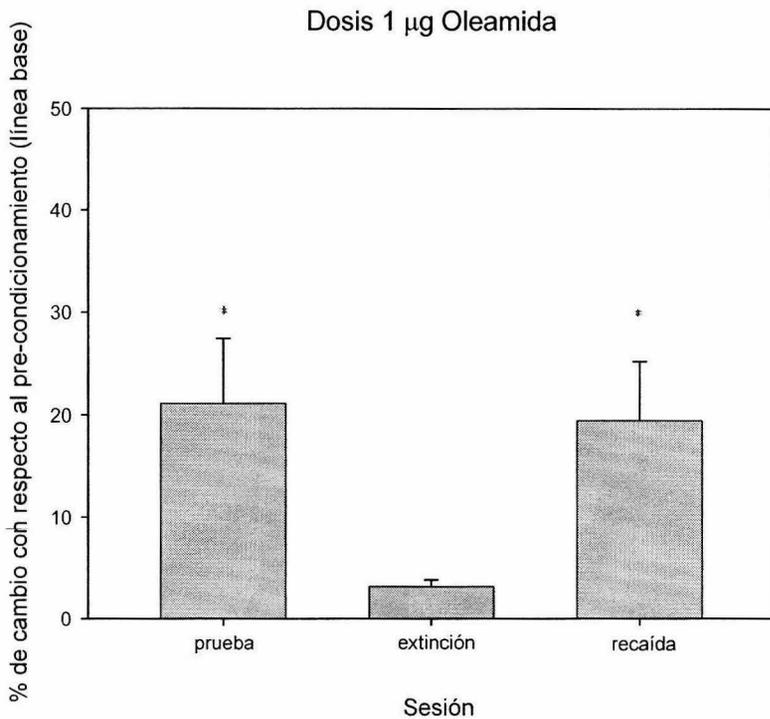


Fig. 20. Porcentaje de cambio, con respecto al pre-condicionamiento, en cada una de las fases del tratamiento con 1 μg . Prueba ($W= 55.000$, $P= 0.006$). Recaída ($W= 55.000$, $P= 0.006$).

Finalmente, las diferencias en el porcentaje de cambio de la dosis de 10 μg de OLE, son consistentes con aquellas encontradas entre compartimientos del primer análisis, ya que existen decrementos significativos en las fases de prueba y recaída (fig.21).

Dosis 10 μ g Oleamida

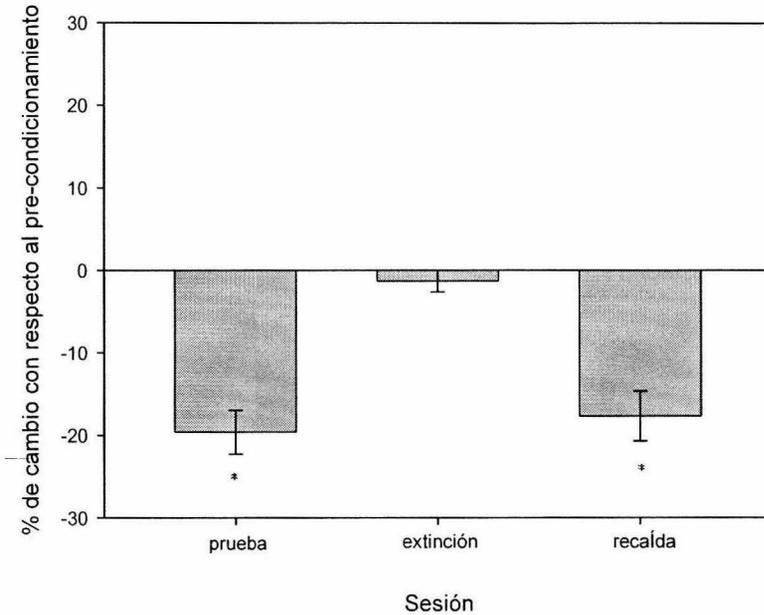


Fig. 21. Porcentaje de cambio en cada una de las fases, con respecto al pre-condicionamiento del tratamiento con dosis de 10 μ g. Significancia establecida con valor de $p < 0.05$. Prueba ($t_9 = 7.455$, $p = < 0.001$). Recaída ($t_9 = 5.880$, $p = < 0.001$).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados nos muestran cómo los tratamientos empleados de OLE generan un cambio significativo con las dosis de 1 y 10 μ g. El cambio mencionado, que como se ha visto es el cambio de preferencia por el ambiente asociado a OLE, se ha interpretado en experimentos análogos como la expresión de la conducta de búsqueda (Mueller et al, 2000; Nowak et al, 2000; Shaham, 1996); dicha conducta, a su vez, es considerada como un indicador de que una experiencia determinada (en este caso, las sensaciones producidas por la administración

de OLE en el NAc) ha sido asociada con el contexto ambiental, y se intenta repetir al buscar contacto de nueva cuenta con este último. El grupo cuyo tratamiento fue el de 1 μ g de OLE presentó una conducta de búsqueda, la cual fue interpretada como tal, debido al aumento significativo en más de 20% de cambio en la fase de *prueba* por el compartimiento asociado a la droga, es decir, un incremento en la preferencia, un condicionamiento de preferencia de lugar (fig. 19). Con lo anterior, queda aceptada la primera hipótesis.

El efecto esperado (el condicionamiento de preferencia de lugar) se presentó con la dosis de 1 μ g. La figura 19 nos muestra también, cómo un efecto no previsto fue encontrado. Éste fue una disminución del porcentaje de tiempo (casi un 20%) transcurrido en el compartimiento condicionado a la OLE (dosis de 10 μ g), que ha sido interpretado como un condicionamiento de *aversión* al lugar (Tzschentke, 2007).

Ambos tratamientos producen un efecto de valencia contraria pero de igual potencia, pues vemos que el porcentaje de cambio de la preferencia es igual a un 20% y el de la aversión igual a -20%, aproximadamente. Cabe la posibilidad de encontrar una dosis intermedia entre 1 y 10 μ g, que tuviera como resultado un regreso a la basal. Ya que esta cuestión se encuentra fuera de los objetivos planteados por el presente estudio, no fueron hechos experimentos aquí que intentaran responderla, sin embargo, sería en sumo interesante que pudiera realizarse investigación en el futuro que intentara llevarlos a acabo.

Siguiendo el lineamiento planteado en el objetivo 2, ambos grupos, pertenecientes a las dosis 1 y 10 μ g, fueron sometidos a extinción del condicionamiento adquirido a causa de sus respectivos tratamientos. Los planteamientos hechos en la hipótesis 2 tuvieron congruencia con los resultados, ya que podemos ver que aquellos grupos, cuyas dosis administradas (1 y 10 μ g) produjeron aprendizaje (condicionamiento de preferencia y aversión al lugar), pudieron extinguir esta conducta al serles suspendido el tratamiento de OLE, en un lapso de tiempo equivalente al que llevo adquirir el aprendizaje (10 días). Los resultados confirman la hipótesis 3; lo anterior comprobado por la recuperación del aprendizaje obtenido a causa de un *priming* de OLE después de la fase de *extinción*. Esto fue supuesto a raíz de ver que la preferencia por el compartimiento asociado a la droga, regresaba a los porcentajes mostrados en la fase de *prueba* (fig. 20 y 21). Tenemos así que

los individuos del grupo de 1 μg presentan de nuevo la conducta de búsqueda, pasando una mayor cantidad de tiempo en el compartimiento asociado a la droga; del mismo modo, vemos como los sujetos expuestos al tratamiento de 10 μg , vuelven a tener aversión por el compartimiento asociado a la droga y presentan de nuevo una disminución en el porcentaje de tiempo aquí, antes bloqueada por los días de extinción.

Los planteamientos anteriores nos dejan información valiosa, cuya interpretación será detallada a continuación. Primero, vemos que las hipótesis, cuya intención era la de sugerir los efectos recompensantes de la administración de OLE en el NAc, fueron aceptadas (hipótesis 1 e hipótesis 3 en el caso de 1 μg). Ya que estos efectos pueden ser considerados como consecuentes exclusivamente de la activación de los receptores CB1, puesto que al ser bloqueados inhiben el condicionamiento (hipótesis 4), pueden inferirse ciertos eventos, cuya probabilidad de haber ocurrido es alta, y que serán descritos a continuación:

En primer lugar, como se ha mencionado, algunos autores concuerdan en que es la estimulación de los receptores CB1, encontrados en las terminales sinápticas de interneuronas gabaérgicas, quien produce el reforzamiento (Manzoni y Bockaert, 2001; Revuelta et al, 1982); esto, al aumentar la susceptibilidad de activación de las neuronas espinosas medianas. Tal como señala Volkow *et al* (1996), con pruebas hechas en humanos, pareciera que la simple activación del NAc produce efectos reforzantes, no obstante, la activación de esta región, promovería demás cambios adyacentes. Las repercusiones en el PV, por ejemplo, serían prácticamente ineludibles, ya que éste es el principal *output* de las espinosas medianas; a pesar de esto, la actividad específica no es clara. Temiendo parecer reduccionistas, dos son las posibilidades evidentes: la primera sería que el PV sea inhibido, implicando una participación del GABA procedente del NAc en las neuronas de proyección del PV; mientras que la segunda opción encontraría su explicación más probable, en la incidencia de GABA en interneuronas dentro del PV. Ya que hemos visto que esta estructura no es responsable sólo en parte de la sensación recompensante, sino indispensable para que ésta se dé, encontramos más asequible la segunda propuesta (Johnson, 1994).

Aunque el PV es el principal *output* del NAc, no es el único. Una de las regiones que también serían moduladas por el evento que se ha planteado (la activación del NAc), es la

misma AVT. Las implicaciones que esto conllevaría son vastas, y al igual que en el caso del PV, la resultante más probable, sugerida por los resultados encontrados, es que el AVT se vea funcionalmente estimulada. La mención de un estudio del 2004 es propicia en este momento: Bankson y Yamamoto, por medio de la técnica de microdiálisis, encontraron que la administración de *MDMA* (3-4 metil-enedioxi-metanfetamina o éxtasis) produce un aumento del flujo extracelular de GABA en el AVT, que es acompañado de un incremento extracelular de DA en el NAc. Ya que el estudio actual no tuvo un seguimiento, posterior al tratamiento empleado con lo que respecta a la neurotransmisión, es necesario que en futuras exploraciones, del fenómeno aquí planteado, se consideren tales cuestiones. No obstante es de señalar la alta probabilidad de que el aumento de GABA extracelular en el AVT, a causa de la excitación del NAc, fuera parte de los efectos recompensantes de la administración de OLE. Pareciera que la excitación del NAc promueve su propio sostenimiento, ya que como se acaba de mencionar, estimula a su vez regiones (el AVT por ejemplo) que le proyectan y activan.

Los resultados aquí encontrados concuerdan con aquellos vistos anteriormente en nuestro laboratorio (Soria et al, 2010) en donde se muestra un aumento de forma dosis-dependiente en la ingesta de alimento, con administraciones de OLE en el NAc *shell*. Estos datos fueron interpretados por los autores como un incremento en el componente hedónico de la conducta antes señalada, que incitó el repetirla.

Ya que en el trabajo citado (Soria et al, 2010) fueron utilizadas las mismas dosis que fueron usadas en el presente, nuestros resultados encajan de forma muy precisa con los suyos; no obstante, hay ciertas discrepancias importantes que apuntalar. La primera y más evidente, es que ellos encuentran que la dosis de 10 μg no incrementa ni disminuye significativamente el consumo de alimento (en la primera hora, que corresponde al rango de tiempo evaluado en nuestro estudio), sugiriendo así que esta dosis es funcionalmente inocua. Como puede verse en el apartado de los resultados, la dosis de 10 μg produjo un decremento en la preferencia del compartimento asociado a OLE en el estudio actual, lo que hemos interpretado como condicionamiento de *aversión* de lugar (fig. 21). El contraste entre ambos resultados planteados, puede deberse a diversos factores; primero debe tenerse en cuenta que son evaluadas conductas que difieren sustancialmente. La conducta de

ingesta es una conducta innata, mientras que la conducta de búsqueda es resultado de un condicionamiento, es decir, una conducta aprendida; los sustratos fisiológicos que subyacen a cada una de ellas, aunque convergen en el sistema motivacional, contemplan distintos sectores, cuyas repercusiones producidas por la estimulación del NA varían inevitablemente. Por ejemplo, la participación directa del hipotálamo en la conducta de ingesta; éste, como sabemos, recibe aferentes directas del NAc, de donde recibe información que le comunica del estado hedónico del sistema. Un estudio hecho en 1995 por Parada *et al* describió que la inhibición de los receptores D2 en el hipotálamo lateral incrementa la DA extracelular en el NAc *shell*. Considerando que los receptores D2 son del tipo inhibitor, su inactivación estaría propiciando la activación funcional de este complejo nuclear; este evento estaría fomentado en parte la sensación recompensante por el efecto alostérico de DA en el NAc ya mencionado. Y tendría validez si se intentara trasladar al experimento de Soria, pues aquí se muestra cómo diversos núcleos hipotalámicos, entre ellos el lateral, exhiben un mayor marcaje de c-fos en pruebas inmunohistoquímicas hechas posteriormente a la administración de OLE en el NAc, lo que sugiere una mayor activación hipotalámica a causa de la estimulación de este último. Por otro lado, en la conducta de búsqueda, los cambios plásticos generados en el hipotálamo después del tratamiento crónico de alguna droga de abuso, por ejemplo heroína (Weber et al, 2009), dan como consecuencia la liberación excesiva de glucocorticoides y hormona adrenocorticotropa, que propicia efectos emocionalmente desagradables en el sujeto, y que producen la urgencia por buscar la droga (*craving*); vemos entonces que el hipotálamo participa justo de la forma contraria a la que lo hace en el planteamiento del estudio de Soria *et al* (2010). Un estudio del presente año (Milan et al, 2010) explora la posibilidad de que sea a través de las proyecciones del NAc, la activación hipotalámica que promueve la reinstalación de la conducta de búsqueda en modelos animales adictos a alcohol.

¿Qué es lo que puede suponerse ahora, al ver que las mismas estructuras, en el mismo fenómeno (recompensa) pueden participar en la generación de efectos contrarios? La diferencia más evidente entre ambos casos (donde la estimulación del NAc activa regiones que propician la recompensa y donde, ésta misma, genera efectos aversivos que promueven la recaída a drogas) es el tipo de administración, el primero es de tipo agudo, el segundo semicrónico; y ya que las evaluaciones son posteriores a éstos, es lógico pensar que los

resultados observados se deben a cambios plásticos. Las administraciones crónicas, como se vio en el marco teórico, producen cambios neuronales que modifican la conformación estructural del sistema y lo hacen más proclive a manifestar respuestas por unos determinados fenómenos que por otros. Es así como las evaluaciones de ambos estudios (el de Soria y el actual) pudieron haber encontrado resultados diferentes con las administraciones de 10 μg de OLE, incluso habiéndolas hecho en el mismo sitio; el primero es la afección de OLE en un cerebro “línea base”, y en el segundo caso lo es a un cerebro moldeado plásticamente.

Tenemos ahora por lo menos dos factores determinantes propiciando los resultados contrastantes de la dosis de 10 μg , la diferencia entre conductas y los diferentes tipos de administración. Si supusiéramos que dichos contrastes tienen su sustento en mayor medida por el segundo factor, esto es, que 10 μg de OLE resulten “inocuos” afectivamente hablando en una primera exposición, pero que al ésta tornarse repetida se genere un cambio plástico que vaya modificando gradualmente su valencia de neutra a negativa, esto supondría que el primer resultado, el inocuo, no lo es del todo, sino que pareciera serlo al no manifestarse con fuerza suficiente el verdadero efecto. Empero, lo anterior puede resultar dudoso al observar los efectos después de 4 horas de la administración de 10 μg de OLE en el estudio de Soria, aquí, lejos de desenmascarse un efecto negativo lo hace un positivo que incluso supera al producido por la dosis de 1 μg .

Por lo señalado en el apartado anterior, el foco de atención debería tornarse hacia otra posibilidad; una de ellas es que otro sistema de neurotransmisión esté involucrado. Como sabemos OLE no sólo afecta a los receptores CB1, sino también lo hace con los receptores serotoninérgicos 5HT 2A y 5HT 2C (Boger et al, 1998); y ya que se ha visto que la activación de los receptores 5HT 2C a través de OLE (Soria et al, 2010) produce efectos negativos, es importante explorar en estudios posteriores la posibilidad de que nuestros resultados estén siendo mediados por este tipo de receptores también. Una primera aproximación que nos daría información importante de lo anterior, sería bloquear los receptores CB1, tal como fue hecho en el cuarto grupo. A éste, le fue administrado un coctel de OLE más AM 251, con el fin de comprobar que los efectos reforzantes de la dosis de 1 μg se debieron a causa de la estimulación de los recetores CB1 (objetivo 4). Los

resultados indican que ciertamente el efecto recompensante mostrado por la administración de OLE se debe a la estimulación de los receptores CB1, puesto que la administración del coctel antes mencionado no produjo efecto alguno.

Otro aspecto importante de señalar, es que la finalidad de llevar a cabo un procedimiento de tipo sesgado en el condicionamiento de preferencia de lugar, es el producir un cambio en la valencia de algún determinado contexto ambiental; es por ello que se compara el tiempo que permanece el sujeto, antes y después del tratamiento, en un mismo compartimiento (Tzschentke, 1998; 2007). No obstante, existe controversia en la interpretación de los resultados, pues en la mayoría de los casos, todas las observaciones hechas de lo ocurrido en el compartimiento “no condicionado”, son omitidas (Tzschetke, 1998); es por ello que en el estudio actual, a pesar de ser un experimento de tipo sesgado, fueron hechas también las comparaciones entre compartimientos en las fases de prueba, tal como es hecho en los procedimientos no sesgados.

Los resultados de dichas comparaciones arrojaron datos que refuerzan las interpretaciones hechas en el análisis intra-compartimiento (antes y después del tratamiento, en el mismo compartimiento). Vemos que en la fase de *prueba* del grupo de 0.1 μg , los porcentajes de tiempo no presentan diferencia significativa alguna entre el compartimiento asociado a la droga y aquella asociado al vehículo (fig. 15); mientras que para el grupo con tratamiento con la dosis de 1 μg , se encuentran diferencias significativas entre compartimientos en las fases de *prueba* y *recaída*, lo que respalda que se haya aceptado la hipótesis 1. El análisis también dejó ver las diferencias existentes entre los porcentajes de tiempo de ambos compartimientos en el grupo de 10 μg , esto teniendo lugar en la fase de *prueba* y *recaída*.

Además, debe ser considerada la importancia del presente estudio en el fenómeno conductual donde se ve inmerso. La relevancia que tiene el sistema canabinoide en el cerebro y en el sistema motivacional, es determinante para que ciertos eventos, cuya aparición repercute sustancialmente en la recompensa, tengan lugar. Existe evidencia de que la ablación parcial del sistema canabinoide (ratones *knock out* al receptor CB1) genera una falla en el sustrato fisiológico que ha sido considerado como el más importante para el surgimiento del placer, esto es, la liberación de DA en el NAc (Mascia et al, 1999).

Por otro lado, es claro que el sistema canabinoide no puede pensarse de forma aislada, es decir, aunque sea determinante para que ciertos eventos se den, no actúa individualmente y, por lo tanto, no es ni el sistema de mayor importancia ni el único que orquesta la hipotética eventualidad. La comprensión holística del funcionamiento cerebral hará posible contestar preguntas cuyas respuestas han quedado varadas a causa de los eventuales hallazgos contradictorios, o de aquellos faltos de una explicación basada en sus antecedentes. Para que tan ambiciosa pretensión se haga realidad, es empero indispensable, dentro del trabajo del neurocientífico, una minuciosa exploración dentro de las partículas que suponen cada sistema; y si los resultados de ello encontraran poco sustento conceptual, se vería orillada incluso la aparición de una reforma en la conceptualización de los fenómenos comportamentales.

En conclusión, este estudio sugiere que la OLE es un neurotransmisor involucrado en la recompensa (no sólo aquella producida sintéticamente como aquí se hizo, sino aquella que es el resultado de la “estimulación natural”) que incluso, podría estar orquestando la instalación de la adicción (ya sea a alguna droga o alguna necesidad fisiológica, como el comer). De forma general, vemos que muy probablemente dicha instalación no se limite al efecto de la OLE, sino que involucre a todo el sistema endocanabinoide, esto es, a los neurotransmisores (ANA y 2-AG, principalmente) y a ambos receptores (CB1y CB2). Por último, el efecto aversivo encontrado con la dosis de 10 µg, puede interpretarse como un indicador de que el organismo, de mamíferos por lo menos, echa a andar un mecanismo que contrarresta el placer cuando este se presenta de forma excesiva. Esta propuesta, aunque aventurada, tiene fundamentos en el precepto evolutivo de la mesura; dicho en otras palabras, lo natural es que el sistema permanezca en equilibrio.

ANEXO I. Análisis de varianza mixto

Se observó un efecto significativo en función del factor dosis ($F(1,18)=13.30$, $p=0.002$). La dosis de $1 \mu\text{g}$ (340.85 ± 12.12) fue mayor que la dosis de $10 \mu\text{g}$ (278.30 ± 12.12). No se observaron resultados significativos en función de la sesión ($p=0.99$). Sin embargo, se observó una interacción significativa entre dosis y sesión ($F(3,54)= 30.60$, $p<0.0001$). El análisis post-hoc Tukey *HSD* mostró diferencias significativas entre las sesiones de pre-condicionamiento y prueba para ambas dosis (1 y $10 \mu\text{g}$), de la misma forma para pre-condicionamiento y recaída (Figura 22). Ninguna diferencia fue encontrada entre las fases de pre-condicionamiento de 1 y $10 \mu\text{g}$.

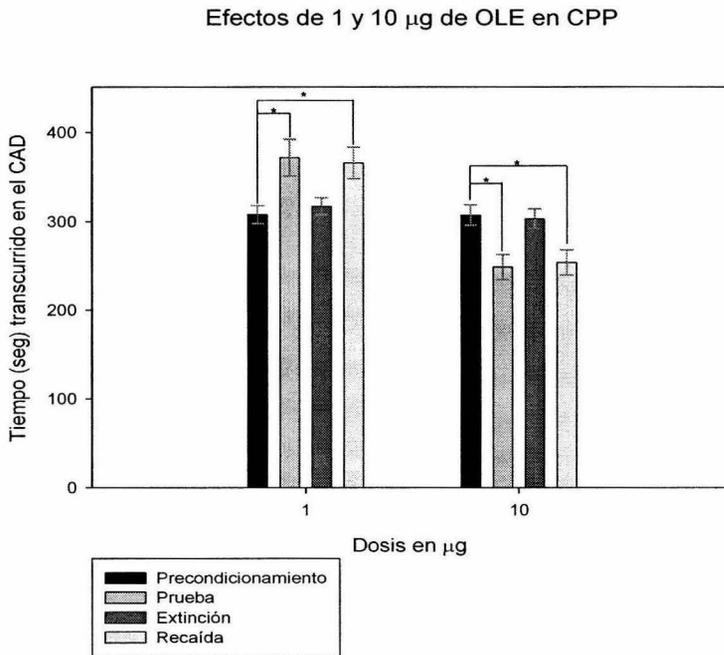


Fig. 22 Tiempo transcurrido en el compartimiento asociado a la droga en cada una de las sesiones experimentales. Las dos dosis (1 y $10 \mu\text{g}$) fueron sometidas a un análisis de varianza (ANOVA) mixto con el factor entre grupos dosis, y el factor para medidas repetidas, sesión; se empleó la prueba *post-hoc* Tukey *HSD*. Los resultados muestran diferencias significativas (*) entre sesiones en ambas dosis. $F(3,54)=30.596$, $p<0.0001$.

Se observó un efecto significativo en función del factor dosis ($F(2,27)=8.60$, $p=0.001$). La dosis de $1 \mu\text{g}$ (339.95 ± 13.93) fue mayor que la dosis de $10 \mu\text{g}$ (278.05 ± 13.93), así como esta última fue mayor a la de $0.1 \mu\text{g}$ (262.70 ± 13.93). No se observaron resultados significativos en función de la sesión ($p=0.83$). No obstante, se observó una interacción significativa entre dosis y sesión ($F(2,27)= 24.78$, $p<0.0001$). El análisis post-hoc mostró diferencias significativas entre las sesiones de pre-condicionamiento y prueba para las dosis de 1 y $10 \mu\text{g}$; no así con la dosis de $0.1 \mu\text{g}$ (Figura 23). Ninguna diferencia fue encontrada entre las fases de pre-condicionamiento de 1 y $10 \mu\text{g}$.

Efectos de 0.1 , 1 y $10 \mu\text{g}$ de OLE en CPP

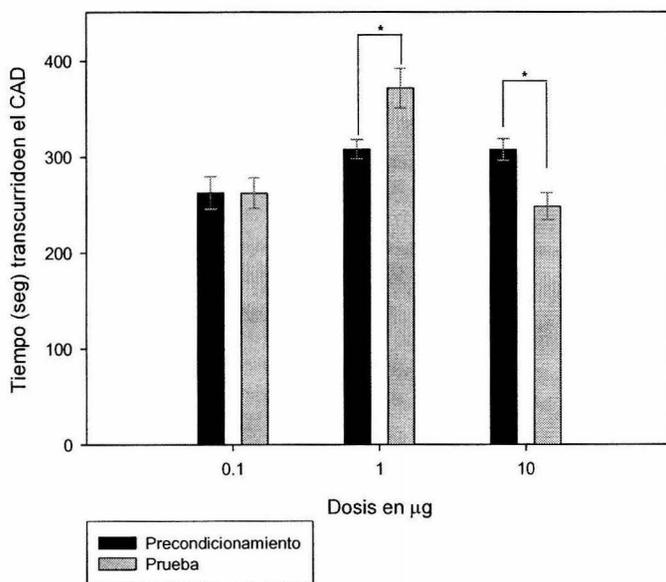


Fig. 23 Tiempo transcurrido en el compartimiento asociado a la droga (CAD) en las fases de pre-condicionamiento y prueba. Las dos dosis (0.1 , 1 y $10 \mu\text{g}$) fueron sometidas a un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores (f_1 =dosis, f_2 =sesión) para medidas repetidas y a una prueba post-hoc Tukey para las comparaciones entre grupos. Los resultados muestran diferencias significativas (*) entre sesiones en ambas dosis. $F(2,27)= 24.78$, $p<0.0001$.

El efecto visto con la administración de AM 251 fue el boqueo del cambio producido por la dosis de 1 μg . El análisis estadístico no muestra diferencias significativas ($t_9 = 0.791$, $p = 0.449$) al comparar la sesión del pre-condicionamiento con la sesión de prueba para este grupo.

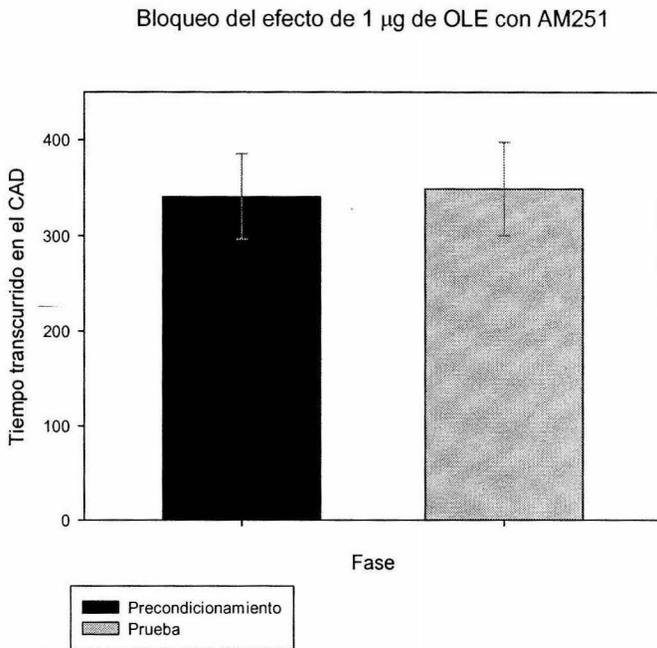


Fig. 24 Cantidad de tiempo transcurrido en el compartimiento asociado a la droga en las fases de pre-condicionamiento y prueba. Administración conjunta de AM 251 (1.6 μg) con OLE (1 μg) fue sometida a una prueba *t-Student*, no se encontró alguna diferencia significativa ($p = 0.45$).

ABREVIATURAS

2-AG	2-araquidonil-glicerol	Hip	hipocampo
ACHT	factor liberador de corticotropina	HPM	haz proscencefálico medial
AGS3	activador de proteína G de señalización 3	L-DOPA	3,4-dihidroxifenilalanina
Amg	amígdala	LTD	depresión a largo plazo
AMP c	adenosín monofosfato cíclico	LTP	potenciación a largo plazo
ANA	anandamida	MAO	enzima monoamina oxidasa
AVT	área ventral tegmental	NAC	núcleo accumbens
BLA	núcleo basolateral amigdalino	NCET	núcleo cama de la estria terminal
BNDF	factor neurotrófico derivado del cerebro	OLE	oleamida
CAD	compartimiento asociado a la droga	PKA	proteín cinasa A
CAV	compartimiento asociado al vehículo	PV	pálido ventral
CC	corteza cingulada	SEC	sistema endocanabinoide
CCA	corteza cingulada anterior	SL	sistema límbico
CE	corteza entorrinal	Sub	subículo
CI	corteza insular		
COMT	catecol-o-metil transferasa		
CPF	corteza prefrontal		
CPP	condicionamiento de preferencia de lugar		
DA	dopamina		
FLC	factor liberador de corticotropina		
GABA	ácido gamma-aminobutírico		

REFERENCIAS

- Amaral, D., Witter, M. (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience*. 31, 571-591.
- Anderson, C., Horne, J. (2003). Prefrontal cortex: links between low frequency delta EEG in sleep and neuropsychological performance in healthy, older people. *Psychophysiology*. 40, 349-357.
- Asensio, S., Romero, M., Palau, C., Sanchez, A., Senabre, I., Morales, J., Carcelen, R., Romero, F. (2010). Altered neural response of the appetitive emotional system in cocaine addiction: an fMRI study. *Addiction Biology*.
- Assadi, S., Yücel, M., Pantelis, C. (2009). Dopamine modulates neural networks involved in effort-based decision-making. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 33, 383-393.
- Auclair, N., Otani, S., Soubrie, P., Crepel, F. (2000). Cannabinoids modulate synaptic strength and plasticity at glutamatergic synapses of rat prefrontal cortex pyramidal neurons. *Journal of Neurophysiology*. 83, 3287-3293.
- Bankson, M., Yamamoto, B. (2004). Serotonin-GABA interactions modulate MDMA-induced mesolimbic dopamine release. *Journal of Neurochemistry*. 91, 852-859.
- Barrot, M., Olivier, J., Perrotti, L., Di Leone, R., Berton, O., Eisch, A., Impey, S., Storm, D., Neve, R., Yin, J., Zachariou, V., Nestler, E. (2002). CREB activity in the nucleus accumbens shell controls gating of behavioral responses to emotional stimuli. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*. 99, 11435-11440.
- Berglind, W., See, R., Fuchs, R., Ghee, S., Whitfield, T., Miller, S., McGinty, J. (2007). A BDNF infusion into the medial prefrontal cortex suppresses cocaine seeking in rats. *The European Journal of Neuroscience*. 26, 757-766
- Berridge, K., Robinson, T. (1998). What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Reserch*. 28, 309-369
- Berridge, K., Robinson, T. (2003). Parsing reward. *Trends in Neuroscience*. 26, 581.
- Binder, D., Schaller, K., Clusmann, H. (2007). The seminal contributions of johann-christian reil to anatomy, physiology, and psychiatry. *Neurosurgery*. 61, 1091-1096.
- Bishop, M., Elder, T., Heath, R. (1963) Intracranial self-stimulation in man. *Science*. 3565, 394-396
- Blachly, P. (1966). Management of the opiate abstinence syndrome. *The American Journal of Psychiatry*. 122, 742-744.
- Blizard, D., Weinheimer, V., Klein, L., Petrill, S., Cohen, R., McClearn, G. (2006). 'Return to home cage' as a reward for maze learning in young and old genetically heterogeneous mice. *Comparative Medicine*. 56, 196-201.

- Boger, D., Patterson, J., Jin, Q. (1998). Structural requirements for 5-HT_{2A} and 5-HT_{1A} serotonin receptor potentiation by the biologically active lipid oleamide. *Proceedings of the National Academy of Science*. 95, 4102-4107.
- Buijnzeel, A., Prado, M., Isaac, S. (2009). Corticotropin-releasing factor-1 receptor activation mediates nicotine withdrawal-induced deficit in brain reward function and stress-induced relapse. *Biological Psychiatry*. 66, 110–117.
- Caillé, S., Parsons, L. (2006). Cannabinoid modulation of opiate reinforcement through the ventral striatopallidal pathway. *Neuropsychopharmacology*. 31, 804-813.
- Caillé, S., Parsons, L. (2004). Intravenous heroin self-administration decreases GABA efflux in the ventral pallidum: an in vivo microdialysis study in rats. *European Journal of Neuroscience*. 20, 593–596.
- Carew, T. J., Sutton, M. A. (2001) Molecular stepping stones in memory consolidation. *Nature Neuroscience*. 4, 769-771.
- Carmichael, S., Price, J. (1995). Limbic connections of the orbital and medial prefrontal cortex in macaque monkeys. *The Journal of Comparative Neurology*. 363, 615-641.
- Cooper, D. (2002) The significance of action potential bursting in the brain reward circuit. *Neurochemistry International*. 41, 333-340.
- Cooper, D., Klipec, W., Fowler, M., Ozkan, E. (2006). A role for the subiculum in the brain motivation/reward circuitry. *Behavioral Brain Research*. 174, 225-231.
- Cooper, Z., Haney, M. (2008). Cannabis reinforcement and dependence: role of the cannabinoid CB1 receptor. *Addiction Biology*. 13, 188-195.
- Cravatt, B., Prospero-Garcia, O., Siuzdak, G., Gilula, N., Henriksen, S., Boger, D., Lerner, R. (1995). Chemical characterization of a family of brain lipids that induce sleep. *Science*. 268, 1506-1509
- Crespo, J., Stöckl, P., Zorn, K., Saria, A., Zernig, G. (2008). Nucleus accumbens core acetylcholine is preferentially activated during acquisition of drug- vs food-reinforced behavior. *Neuropsychopharmacology*. 33, 3213–3220.
- De Leon, I., Frank, M., Gregory, M., Allman, M. (2009) On the correspondence between preference assessment outcomes and progressive-ratio schedule assessments of stimulus value. *Journal of Applied Behavior Analysis*. 42, 729-733.
- Degenhardt, L., Tat Chiu, W., Sampson, N., Kessler, R., Anthony, J. (2007) Epidemiological patterns of extra-medical drug use in the United States: Evidence from the National Comorbidity Survey Replication, 2001–2003. *Drug and Alcohol Dependence*. 90, 210–223

- Del-Fava, F., Hasue, R., Ferreira, J., Shammah-Lagnado, S.(2007). Efferent connections of the rostral linear nucleus of the ventral tegmental area in the rat. *Neuroscience*. 145, 1059-1076.
- Delfs, J., Zhu, Y., Druhan, J., Aston-Jones, G. (2000). Noradrenaline in the ventral forebrain is critical for opiate withdrawal-induced aversion. *Nature*.403, 430-434.
- Devane, W., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R., Stevenson, L., Griffin, G., Gibson, D., Mandelbaum, A., Etinger, A., Mechoulam, R. (1992) Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*. 258, 1946-1949
- Di Chiara, G. (1999). Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder. *European Journal of Pharmacology*. 375, 13-30.
- Di Marzo, V., Berrendero, F., Bisogno, T., González, S., Cavaliere, P., Romero, J., Cebeira, M., Ramos, J., Fernández-Ruiz, J.(2000). Enhancement of anandamide formation in the limbic forebrain and reduction of endocannabinoid contents in the striatum of D9-tetrahydrocannabinol-tolerant rats. *Journal of Neurochemistry*. 74, 1627–1635.
- Diana, M., Melis, M., Gessa, G. (1998).Increase in meso-prefrontal dopaminergic activity after stimulation of CB1 receptors by cannabinoids. *European Journal of Neuroscience*. 10, 2825–2830
- Difiglia, M., Pasik, P., Pasik, T. (1982). Golgi and ultrastructural study of the monkey globus pallidus. *Journal of Comparative Neurology*.212, 53-75.
- Dimitrijevic, N., Dzitoyeva, S., Satta, R., Imbesi, M., Yildiz, S., Manev, H. (2005). Drosophila GABA(B) receptors are involved in behavioral effects of gamma-hydroxybutyric acid (GHB). *European Journal of Pharmacology*. 519, 246-252.
- Drevets, W., Savitz, J., Trimble, M. (2008). The subgenual anterior cingulate cortex in mood disorders. *CNS Spectrums*. 13, 663-681.
- Fattore, L., Melis, M., Fadda, P., Pistis, M., Fratta, W. (2010).The endocannabinoid system and nondrug rewarding behaviours. *Experimental Neurology*. 224, 23-36.
- Garavan, H., Pendergrass, J., Ross, T., Stein, E., Risinger, R. (2001). Amygdala response to both positively and negatively valenced stimuli. *Neuroreport*. 12, 2779-2783.
- García-Molina, A. (2010). Phineas Gage y el enigma del córtex prefrontal. *Neurologia*. 10, 1016-1012.
- Gaspar, P., Bloch, B., Le Moine, C. (1995). D1 and D2 receptor gene expression in the rat frontal cortex: cellular localization in different classes of efferent neurons. *European Journal of Neuroscience*.7, 1050-1063.
- Gawin, F., Kleber, H. (1986). Abstinence symptomatology and psychiatric diagnosis in cocaine abusers. Clinical observations. *Archives of General Psychiatry*.43, 107-113.

- Goldstein, D. (1976). Pharmacological aspects of physical dependence on ethanol. *Life Science*. 18, 553-561.
- Goldstein, R., Volkow, N. (2002). Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. *American Journal of Psychiatry*. 159, 1642-1652.
- Goto, Y., Grace, A. (2008). Limbic and cortical information processing in the nucleus accumbens. *Trends in Neuroscience*. 11, 552-558.
- Grant, S., London, E., Newlin, D., Villemagne, V., Liu, X., Contoreggi, C., Phillips, R., Kimes, A., Margolin, A. (1996). Activation of memory circuits during cue-elicited cocaine craving. *Proceedings of the National Academy of Science*. 93, 12040-12045.
- Groenewegen, H., Wright, C., Beijer, A., Voorn, P. (1999) Convergence and segregation of ventral striatal inputs and outputs. *Annals of the New York Academy of Science*. 877, 49-63.
- Guillin, O., Diaz, J., Carroll, P., Griffon, N., Schwartz, J., Sokoloff, P. (2001). BDNF controls dopamine D3 receptor expression and triggers behavioural sensitization. *Nature*. 411, 86-89.
- Hamani, C., Diwan, M., Isabella, S., Lozano, A., Nobrega, J. (2010). Effects of different stimulation parameters on the antidepressant-like response of medial prefrontal cortex deep brain stimulation in rats. *Journal of Psychiatric Research*. 44, 683-687.
- Herkenham, M., Lynn, A., Little, M., Johnson, M., Melvin, L., de Costa B., Rice, K. (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Proceeding of the National Academy of Science of U.S.A*. 87, 1932-1936.
- Herz, A. (1997). Endogenous opioid systems and alcohol addiction. *Psychopharmacology* 129, 99–111
- Hoffman, A., Oz, M., Yang, R., Lichtman, A., Lupica, C. (2007). Opposing actions of chronic Delta9-tetrahydrocannabinol and cannabinoid antagonists on hippocampal long-term potentiation. *Learning and Memory*. 14, 63-74.
- Holden, C. (2010). Behavioral addictions debut in proposed DSM-V. *Science*. 327, 935.
- Horger, B., Iyasere, C., Berhow, M., Messer, C., Nestler, E., Taylor, J. (1999). Enhancement of locomotor activity and conditioned reward to cocaine by brain-derived neurotrophic factor. *The Journal of Neuroscience*. 19, 4110-4122.
- Howlett, A., Barth, F., Bonner, T., Cabral, G., Casellas, P., Devane, W., Felder C., Herkenham, M., Mackie, K., Martin, B., Mechoulam, R., Pertwee, R. (2002). International union of pharmacology. Xxvii. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacological Reviews*. 54, 161-202.

- Howlett, A., Fleming, R. (1984). Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase pharmacology of the response in neuroblastoma cell membranes. *Molecular Pharmacology*. 26, 532-538
- Hu, X., Koeltzow, T., Cooper, D., Robertson, G., White, F., Vezina, P.(2002). Repeated ventral tegmental area amphetamine administration alters dopamine D1 receptor signaling in the nucleus accumbens. *Synapse*. 45, 159-170.
- Hyman, S., Malenka, R., Nestler, E.(2006). Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annual Review of Neuroscience*. 29, 565-598.
- Isokawa, M., Alger, B. (2005). Retrograde endocannabinoid regulation of GABAergic inhibition in the rat dentate gyrus granule cell. *The Journal of Physiology*. 567, 1001-1010.
- Jentsch, J., Taylor, J. (1999). Impulsivity resulting from frontostriatal dysfunction in drug abuse: implications for the control of behavior by reward-related stimuli. *Psychopharmacology*. 146, 373-390.
- Johnson, P., Stellar, J. (1994). N-methyl-D-aspartic acid-induced lesions of the nucleus accumbens and/or ventral pallidum fail to attenuate lateral hypothalamic self-stimulation reward. *Brain Research*. 646, 73-84.
- Justinova, Z., Solinas, M., Tanda, G., Redhi, G., Goldberg, S. (2005) The endogenous cannabinoid anandamide and its synthetic analog r-methanandamide are intravenously self-administered by squirrel monkeys. *The Journal of Neuroscience*. 25,5645–5650
- Kalivas, P., Volkow, N., Seamans, J. (2005). Unmanageable motivation in addiction: a pathology in prefrontal-accumbens glutamate transmission. *Neuron*. 45, 647-650
- Kolb, B., Gorny, G., Limebeer, C., Parker, L. (2006) Chronic treatment with delta-9-tetrahydrocannabinol alters the structure of neurons in the nucleus accumbens shell and medial prefrontal cortex of rats. *Synapse*. 60, 429-36.
- Koob, G. (2009). Brain stress systems in the amygdala and addiction. *Brain Research*. 1293, 61-75.
- Koob, G., Bloom, F. (1988). Cellular and molecular mechanisms of drug dependence. *Science* 242, 715 – 723.
- Koob, G., Le Moal, M. (1997). Drug abuse: Hedonic homeostatic dysregulation. *Science* 278, 52-58.
- Koob, G., Le Moal, M. (2005). *Neurobiology of addiction*. San Diego: Academic Press.
- Koob, G., Le Moal, M., (1997). Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science*. 278, 52-58
- Koob, G., Volkow, N. (2010) Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology Reviews*. 35, 217–238

Kourrich, S., Rothwell, P., Klug, J., Thomas, M. (2007). Cocaine experience controls bidirectional synaptic plasticity in the nucleus accumbens. *The Journal of Neuroscience*. 27, 7921-7928

Krishnan, B., Centeno, M., Pollandt, S., Fu, Y., Genzer, K., Liu, J., Joel P. Gallagher, J., Shinnick-Gallagher, P. (2010). Dopamine receptor mechanisms mediate corticotropin-releasing factor-induced long-term potentiation in the rat amygdala following cocaine withdrawal. *European Journal of Neuroscience*. 31, 1027-1042

Le Moal, M., Simon, H. (1991). Mesocorticolimbic dopaminergic network: functional and regulatory roles. *Physiological Reviews*. 71, 155-234.

Ledent, C., Valverde, O., Cossu, G., Petitet, F., Aubert, J., Beslot, F., Böhme, G., Imperato, A., Pedrazzini, T., Roques, B., Vassart, G., Fratta, W., Parmentier, M. (1999). Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in cb1 receptor knockout mice. *Science* 283, 401-404.

Leggett, J.D., Aspley, S., Beckett, S.R., D'Antona, A.M., Kendall, D.A., Kendall, D.A. (2004). Oleamide is a selective endogenous agonist of rat and human CB1 cannabinoid receptors. *British Journal of Pharmacology*. 141, 253-262.

Lepore, M., Vorel, S., Lowinson, J., Gardner, E. (1995). Conditioned place preference induced by Delta 9-tetrahydrocannabinol: comparison with cocaine, morphine, and food reward. *Life Sciences*, 56, 2073-2080.

Lepore, M., Xinhe, L., Savage, V., Matalon, D., Gardner, E. (1996). Genetic differences in D9-tetrahydrocannabinol-induced facilitation of brain stimulation reward as measured by a rate-frequency curve-shift electrical brain stimulation paradigm in three different rat strains. *Life Sciences*. 58, 365-372

Lippman, J., Dunaevsky, A. (2005). Dendritic spine morphogenesis and plasticity. *The Journal of Neurobiology*. 64, 47-57

Livingstone, P., Wonnacott, S. (2009). Nicotinic acetylcholine receptors and the ascending dopamine pathways. *Biochemical Pharmacology*. 78, 744-755.

Lombas, A., Kearns, D., Weiss, S., (2008). Differential effects of a food-based conditioned inhibitor on food- or cocaine-seeking behavior. *Learn and Motivation*. 39, 323-333.

Mansveldera, H., Mertza, M., y Roleb, L., (2009). Nicotinic modulation of synaptic transmission and plasticity in cortico-limbic circuits. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 20, 4432-4440

Manzoni, O., Bockaert, J. (2001). Cannabinoids inhibit GABAergic synaptic transmission mice nucleus accumbens. *European Journal of Pharmacology* 412, R3-R5.

Martin, M., Chen, B., Hopf, F., Bowers, M., Bonci, A. (2006). Cocaine self-administration selectively abolishes LTD in the core of the nucleus accumbens. *Nature Neuroscience*. 9, 868-869.

- Martínez-González, D., Bonilla-Jaime, H., Morales-Otal, A., Henriksen, S., Velázquez-Moctezuma, J., Prospéro-García, O. (2004). Oleamide and anandamide effects on food intake and sexual behavior of rats. *Neuroscience Letters*. 364, 1–6
- Mascia, M., Obinu, M., Ledent, C., Parmentier, M., Böhme, G., Imperato, A., Fratta, W. (1999). Lack of morphine-induced dopamine release in the nucleus accumbens of cannabinoid CB(1) receptor knockout mice. *European Journal of Pharmacology*. 383, 1-2.
- Mas-Nieto, M., Pommier, B., Tzavara, E., Caneparo, A., Da Nascimento, S., Le Fur, G., Roques, B., Noble, F. (2001). Reduction of opioid dependence by the CB(1) antagonist SR141716A in mice: evaluation of the interest in pharmacotherapy of opioid addiction. *British Journal of Pharmacology*. 132, 1809-1816.
- Mato, S., Robbe, D., Puente, N., Grandes, P., Manzoni, O. (2005) Presynaptic homeostatic plasticity rescues long-term depression after chronic Delta 9-tetrahydrocannabinol exposure. *Journal of Neuroscience*. 25, 11619-1127.
- Matsuda, L., Lolait, S., Brownstein, J., Young, A., Bonner, T. (1990). Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*. 346, 561-564.
- McFarland, B., Lierman, W., Penner, N., McCamant, L., Zani, B. (2003). Employee benefits managers' opinions about addiction treatment. *Journal of Addictive Disease*. 22, 15-29.
- McFarland, K., Kalivas, P. (2001). The circuitry mediating cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. *Journal of Neuroscience*. 21, 8655-8663.
- Mechoulam, R. (1970). Marihuana chemistry. *Science*. 3936, 1159-1166
- Mechoulam, R., Ben-Shabat, S., Hanus, L., Ligumsky, M., Kaminski, N., Schatz, A., Gopher, A., Almog, S., Martin, B., Compton, D., Pertwee, D., Griffin, G., Bayewitch, M., Barg, J., Vogel, Z. (1995) Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochemical Pharmacology*. 50, 83-90.
- Menzaghi, F., Rassnick, S., Heinrichs, S., Baldwin, H., Pich, E., Weiss, F., Koob, G. (1994). The role of corticotropin-releasing factor in the anxiogenic effects of ethanol withdrawal. *Annals of the New York Academy of Science*. 739, 176-84.
- Meredith, G., Callen, S., Scheuer, D. (2002) Brain-derived neurotrophic factor expression is increased in the rat amygdala, piriform cortex and hypothalamus following repeated amphetamine administration. *Brain Research*. 949, 218–227
- Merlo-Pich, E., Lorang, M., Yeganeh, M., Rodriguez de Fonseca, F., Raber, J., Koob, G., Weiss, F. (1995). Increase of extracellular corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity levels in the amygdala of awake rats during restraint stress and ethanol withdrawal as measured by microdialysis. *The Journal of Neuroscience*. 15, 5439-5447

- Millan, E., Furlong, T., McNally, G. (2010). Accumbens shell-hypothalamus interactions mediate extinction of alcohol seeking. *Journal of Neuroscience*. 31, 4626-4635.
- Mueller, D., Stewart, J. (2000). Cocaine-induced conditioned place preference: reinstatement by priming injections of cocaine after extinction. *Behavior Brain Research*. 115, 39-47.
- Mulder, A., Hodenprijl, M., Lopes da Silva, F. (1998). Electrophysiology of the hippocampal and amygdaloid projections to the nucleus accumbens of the rat: convergence, segregation, and interaction of inputs. *The Journal of Neuroscience*. 18, 5095-5102
- Mulder, A., Hodenprijl, M., Lopes da Silva, F. (1998). Electrophysiology of the hippocampal and amygdaloid projections to the nucleus accumbens of the rat: convergence, segregation, and interaction of inputs. *The Journal of Neuroscience*. 18, 5095-5102.
- Munro, S., Thomas, K., Abu-Shaar, M. (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 365, 61-65.
- Muzzio, I., Kentros, C., Kandel, E. (2009) What is remembered? Role of attention on the encoding and retrieval of hippocampal representations. *The Journal of Physiology*. 587, 2837-2854.
- Nader, K., van der Kooy, D. (1997). Deprivation state switches the neurobiological substrates mediating opiate reward in the ventral tegmental area. *Journal of Neuroscience*. 17, 383-390.
- Naqvi, N., Bechara, A. (2009). The hidden island of addiction: the insula. *Trends in Neuroscience*. 32, 56-67.
- Nestler, E. (2001). Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nature*. 2, 119-28.
- Nishino, H., Ono, T., Muramoto, K., Fukuda, M., Sasaki, K. (1987). Neuronal activity in the ventral tegmental area (VTA) during motivated bar press feeding in the monkey. *Brain Research*. 413, 302-313.
- Norrholm, S., Bibb, J., Nestler, E., Ouimet, C., Taylor, J., Greengard, P. (2003). Cocaine-induced proliferation of dendritic spines in nucleus accumbens is dependent on the activity of cyclin-dependent kinase-5. *Neuroscience*. 116, 19-22.
- Nowak, K., Ingraham, C., Mckinzie, D., McBride, W., Lumeng, L., Li, T., Murphy, J. (2000). An assessment of novelty-seeking behavior in alcohol-preferring and nonpreferring rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 66, 113-121.
- Olds, J. (1958) Self-stimulation of the brain. *Science*. 127, 315-324.
- Olds, J., Milner, P. (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*. 47, 419-427.
- Olds, M. y Olds, J. (1969). Effects of lesions in medial forebrain bundle on self-stimulation behavior. *American Journal Of Physiology* 217, 5.

- Parada, M., Puig de Parada, M., Hoebel, B. (1995). Rats self-inject a dopamine antagonist in the lateral hypothalamus where it acts to increase extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 52, 179-187.
- Paterson, N., Markou, A. (2007). Animal models and treatments for addiction and depression comorbidity. *Neurotoxicity Research*. 11, 1-32
- Pennazio, S. (2009). Homeostasis: a history of biology. *Rivista di Biologia*. 102, 253-271.
- Pentkowski, N., Duke, F., Weber, S., Pockros, L., Teer, A., Hamilton, E., Thiel, K., Neisewander, J. (2010). Stimulation of medial prefrontal cortex serotonin 2C (5-HT_{2C}) receptors attenuates cocaine-seeking behavior. *Neuropsychopharmacology*.
- Piomelli, D. (2003). The molecular logic of endocannabinoid Signalling. *Nature Reviews. Neuroscience*. 4, 873-84
- Pistis, M., Muntoni, A., Pillolla, G., Gessa, G. (2002). Cannabinoids inhibit excitatory inputs to neurons in the shell of the nucleus accumbens: an in vivo electrophysiological study. *The European Journal of Neuroscience*. 11, 1795-1802.
- Pistis, M., Porcu, G., Melis, M., Diana, M., Gessa, G. (2001). Effects of cannabinoids on prefrontal neuronal responses to ventral tegmental area stimulation. *The European Journal of Neuroscience*. 14, 96-102.
- Rassnick, S., Heinrichs, S., Britton, K., Koob, G. (1993). Microinjection of a corticotropin-releasing factor antagonist into the central nucleus of the amygdala reverses anxiogenic-like effects of ethanol withdrawal *Brain Research*. 605, 25-32
- Reggio, P. H. (2010). Endocannabinoid binding to the cannabinoid receptors: what is known and what remains unknown. *Current Medicinal Chemistry*. 17, 1468-1486.
- Renthal, W., Nestler, E. (2008). Epigenetic mechanisms in drug addiction. *Trends in Molecular Medicine*. 14, 341-350.
- Revuelta, A., Cheney, D., Costa, E. (1982). The dimethylheptyl derivative of (-)-delta 8-tetrahydrocannabinol reduces the turnover rate of gamma-aminobutyric acid in the septum and nucleus accumbens. *Life Sciences*. 30, 1841-1846.
- Robbe, D., Alonso, G., Duchamp, F., Bockaert, J., Manzoni, O. (2001). Localization and mechanisms of action of cannabinoid receptors at the glutamatergic synapses of the mouse nucleus accumbens. *The Journal of Neuroscience*. 21, 109-116.
- Robbe, D., Kopf, M., Remaury, A., Bockaert, J., Manzoni, O. (2002). Endogenous cannabinoids mediate long-term synaptic depression in the nucleus accumbens. *Proceeding of The National Academy of Sciences*. 99, 8384-8388

- Robertson, A. (1989). Multiple reward systems and the prefrontal cortex. *Neuroscience and Biobehavioral Review*. 13, 163-170.
- Rodríguez de Fonseca, F., Carrera, R., Navarro, M., Koob, G., Weiss, F. (1997). Activation of corticotropin-releasing factor in the limbic system during cannabinoid withdrawal. *Science* 276, 2050 – 2054.
- Ronbinson, T., Kolb, B. (2004). Structural plasticity associated with exposure to drug abuse. *Neuropharmacology*. 47, 33-46.
- Rossetti, Z., Melis, F., Carboni, S., Diana, M., Gessa, G. (1992). Alcohol withdrawal in rats is associated with a marked fall in extraneuronal dopamine. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*. 16, 529-532.
- Rothman, R., Baumann, M., Dersch, C., Romero, D., Rice, K., Carroll, F., Partilla, J., (2001) Amphetamine-type central nervous system stimulants release norepinephrine more potently than they release dopamine and serotonin. *Synapse* 39,32–41.
- Sah, P., Faber E., Lopez De Armentia, M., Power, J. (2003). The amygdaloid complex: anatomy and physiology. *Physiological Reviews*. 83, 803-834.
- Sakagami, M., Watanabe, M. (2007). Integration of cognitive and motivational information in the primate lateral prefrontal cortex. *Annals of the New York Academy of Science*. 1104, 89-107.
- Salamone, J., Correa, M., Farrar, A., Nunes, E., Pardo, M. (2009). Dopamine, behavioral economics, and effort. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 3, 13.
- Salamone, S. (1996). Marijuana detection times: does the methodology validate the conclusions? *Journal of Analytical Toxicology*. 20, 204-206.
- Sano, H., Yokoi, M. (2007). Striatal medium spiny neurons terminate in a distinct region in the lateral hypothalamic area and do not directly innervate orexin/hypocretin- or melanin-concentrating hormone-containing neurons. *The Journal of Neuroscience*. 27, 6948-6955.
- Schultz, W. (1998). Predictive reward signal of dopamine neurons. *The Journal of Neurophysiology*. 80, 1-27
- Schultz, W. (2000). Multiple reward signals in the brain. *Nature Reviews Neuroscience*. 1, 199-2007.
- Schultz, W. (2004). Neural coding of basic reward terms of animal learning theory, game theory, microeconomics and behavioural ecology. *Current opinion in neurobiology*. 14, 139-47.
- Schultz, W., Dickinson, A. (2000). Neuronal coding of prediction errors. *Annual Review of Neuroscience*. 23, 473-500.
- Sellman, D. (2010) The 10 most important things known about addiction. *Addiction*. 105, 6-13

- Sesack, S., Grace, A. (2010). Cortico-basal ganglia reward network: microcircuitry. *Neuropsychopharmacology*. 35, 27-47.
- Shaham, Y. (1996). Effect of stress on opioid-seeking behavior: evidence from studies with rats. *Annals of Behavioral Medicine*. 18, 255-263.
- Shaham, Y., Erb, S., Stewart, J. (2000). Stress-induced relapse to heroin and cocaine seeking in rats: a review. *Brain Research Reviews*. 33, 13-33.
- Siegel, S. (1988). Drug anticipation and the treatment of dependence. *NIDA Research Monograph*. 84, 1-24.
- Skinner, B. F. (1938) *El comportamiento de organismos: Un análisis experimental*. Barcelona: Fontanela.
- Sklair-Tavron, L., Shi, W., Lane, S., Harris, H., Bunney, B., Nestler, E. (1996). Chronic morphine induces visible changes in the morphology of mesolimbic dopamine neurons. *Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A.* 93, 11202-11207.
- Smith, K., Tindell, A., Aldridge, J., Berridge, K. (2009). Ventral pallidum roles in reward and motivation. *Behavioral Brain Research*. 196, 155-167.
- Solinas, M., Goldberg, S., Piomelli, D. (2008). The endocannabinoid system in brain reward processes. *British Journal of Pharmacology*. 154, 369–383
- Solomon, R., Corbit, J. (1978). An opponent-process theory of motivation. *The American Economic Review*. 68, 12-24.
- Soria-Gómez, E., Márquez-Diosdado, M., Montes-Rodríguez, C., Estrada-González, V., Prospéro-García, O. (2010). Oleamide administered into the nucleus accumbens shell regulates feeding behaviour via CB1 and 5-HT2C receptors. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 22, 1-8.
- Spanagel, R., Weiss, F. (1999). The dopamine hypothesis of reward: past and current status. *Trends in Neuroscience*. 22, 521-527.
- Stewart, J. (1983) Conditioned and unconditioned drug effects in relapse to opiate and stimulant drug self-administration. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 7, 591-597.
- Sun, W., Rebec, G. (2003). Lidocaine inactivation of ventral subiculum attenuates cocaine-seeking behavior in rats. *The Journal of Neuroscience*. 23, 10258-10264.
- Sun, W., Rebec, G. (2006) .Repeated cocaine self-administration alters processing of cocaine-related information in rat prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience*. 26, 8004-8008.

- Szabo, B., Siemes, S., Wallmichrath, I. (2002). Inhibition of GABAergic neurotransmission in the ventral tegmental area by cannabinoids. *The European Journal of Neuroscience*. 15, 2057-2061.
- Tanda, G., Pontieri, F., Di Chiara, G. (1997). Cannabinoid and heroin activation of mesolimbic dopamine transmission by a common $\mu 1$ opioid receptor mechanism. *Science* 276, 2048-2052.
- Thorndike, E. (1989) Some Experiments on Animal Intelligence. *Science*. 7, 818-824
- Todtenkopf, M., Parsegian, A., Naydenov, A., Neve, R., Konradi, C., Carlezon, W. (2006). Brain reward regulated by AMPA receptor subunits in nucleus accumbens shell. *The Journal of Neuroscience*. 26, 11665-11669.
- Tracy, A., Jarrard, L., Davidson, T. (2001). The hippocampus and motivation revisited: appetite and activity. *Behavioral Brain Research*. 127, 13-23.
- Tzschentke, T. (1998). Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. *Progress in Neurobiology*. 56, 613-672.
- Tzschentke, T. (2007). Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade. *Addiction Biology*. 12, 227-462.
- Ungerstedt, U. (1971). Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system. *Acta Physiologica Scandinavica*. 367, 95-122.
- Valjent, E., Mitchell, J., Besson, M., Caboche, J, Maldonado, R. (2002). Behavioural and biochemical evidence for interactions between delta 9-tetrahydrocannabinol and nicotine. *British Journal of Pharmacology*. 135, 564 – 578.
- Valverde, O., Maldonado, R., Valjent, E., Zimmer, A., Zimmer, A. (2000). Cannabinoid withdrawal syndrome is reduced in pre-proenkephalin knock-out mice. *The Journal of Neuroscience*. 24, 9284–9289
- Van der Kam, E., De Vry, J., Tzschentke, T. (2009). 2-Methyl-6(phenylethynyl)-pyridine (MPEP) potentiates ketamine and heroin reward as assessed by acquisition, extinction, and reinstatement of conditioned place preference in the rat. *European Journal of Pharmacology* 606, 94–101.
- Van Sickle, M., Duncan, M., Kingsley, P., Mouihate, A., Urbani, P., Mackie, K., Stella, N., Makriyannis, A., Piomelli, D., Davison, J., Marnett, L., Di Marzo, V., Pittman, Q., Patel, K., Sharkey, K. (2005). Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science*. 310, 329-332.
- Volkow, N., Fowler, J., Wang, G., Swanson, J. (2004). Dopamine in drug abuse and addiction: results from imaging studies and treatment implications. *Molecular Psychiatry*. 9, 557–569.

- Volkow, N., Fowler, J., Wolf, A., Hitzemann, R., Dewey, S., Bendriem, B., Alpert, R., Hoff, A. (1991). Changes in brain glucose metabolism in cocaine dependence and withdrawal. *The American Journal of Psychiatry*. 148, 621-626.
- Volkow, N., Wang, G., Fowler, J., Gatley, S., Ding, Y., Logan, J., Dewey, S., Hitzemann, R., Lieberman, J. (1996). Relationship between psychostimulant-induced "high" and dopamine transporter occupancy. *Proceeding of the National Academy of Science of the United States of America*. 19, 10388-10392.
- Volkow, N., Wang, G., Fowler, J., Logan, J., Gatley, S., Hitzemann, R., Chen, A., Dewey, S., Pappas N. (1997). Decreased striatal dopaminergic responsiveness in detoxified cocaine-dependent subjects. *Nature*. 386, 830-833.
- Wang, L., Lv, Z., Hu, Z., Sheng, J., Hui, B., Sun, J. y Ma, L. (2010). Chronic cocaine-induced H3 acetylation and transcriptional activation of CaMKII α in the nucleus accumbens is critical for motivation for drug reinforcement. *Neuropsychopharmacology* 35, 913–928.
- Weber, R., Gomez-Flores, R., Smith, J., Martin, T. (2009). Neuronal adaptations, neuroendocrine and immune correlates of heroin self-administration. *Brain, Behavior and Immunity*. 23, 993-1002.
- Wei, X.Y., Yang, J.Y., Dong, Y.X., Wu, C.F. (2007). Anxiolytic-like effects of oleamide in group-housed and socially isolated mice. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biology Psychiatry*. 31, 1189-1195.
- Weiss, F., Markou, A., Lorang, M., Koob, G. (1992). Basal extracellular dopamine levels in the nucleus accumbens are decreased during cocaine withdrawal after unlimited-access self-administration. *Brain Research*, 593, 314-318
- White, N. (1989). Reward or reinforcement: what's the difference? *Neuroscience and Biobehavioral Review*. 13, 181-186.
- Williams, C., Kirkham, T. (1999). Anandamide induces overeating: mediation by central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology*. 143, 315-317.
- Wise, R. (1978). Catecholamine theories of reward: a critical review. *Brain Research*. 152, 215-47.
- Xi, Z., Kiyatkin, M., Li, X., Peng, X., Wiggins, A., Spiller, K., Li, J., Gardner, E., (2010). N-acetylaspartylglutamate inhibits intravenous cocaine self-administration and cocaine-enhanced brain-stimulation reward in rats. *Neuropharmacology* 58, 304–313
- Xi, Z., Spiller, K., Pak, A., Gilbert, J., Dillon, C., Li, X., Peng, X., Gardner, E. (2008). Cannabinoid cb1 receptor antagonists attenuate cocaine's rewarding effects: experiments with self-administration and brain-stimulation reward in rats. *Neuropsychopharmacology* 33, 1735–1745.

Yang, S., Salmeron, B., Ross, T., Xi, Z., Stein, E., Yang, Y. (2009). Lower glutamate levels in rostral anterior cingulate of chronic cocaine users - a (1)h-mrs study using te-averaged press at 3 t with an optimized quantification strategy. *Psychiatry Research*. 174, 171-176.