



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

## FACULTAD DE PSICOLOGÍA

---

---

**Ontogenia del control de impulsos en ratas adolescentes, adultas y viejas**

### TESIS

Que para obtener el título de

**Licenciada en Psicología**

### PRESENTA

Romero Torres Brenda Mónica

### DIRECTOR DE TESIS

Dra. Mónica Méndez Díaz

### REVISORA

Dra. Alejandra Evelyn Ruiz Contreras

### SINODALES

Dra. Corinne Jennifer Montes Rodríguez

Dr. Octavio César García González

Dr. Óscar Ricardo Galicia Castillo



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.

Esta tesis se desarrolló en el Laboratorio de Canabinoides de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, con apoyo económico de PAPIIT, proyecto No. IA207416 otorgado a la Dra. Mónica Méndez Díaz y al proyecto No. IN218316 otorgado al Dr.

Óscar Próspero García.

Agradezco a PAPIIT proyecto No. IA2077416, por la beca recibida.

Gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca que se me otorgó como Ayudante de Investigador Nacional nivel III, otorgado al Dr. Óscar Próspero García.

Agradezco al Dr. Andrés Eliú Castell Rodríguez y a los miembros del Laboratorio de Inmunoterapia e Ingeniería de Tejidos, especialmente a la Dra. Yolanda Gabriela Cano Ramírez, a la Biól. Beatriz Hernández Téllez y al M. en C. Miguel Ángel Herrera Enríquez, por todo el apoyo brindado para la toma de fotografías y la cuantificación de la técnica de inmunofluorescencia. Con apoyo económico de PAPIIT, proyecto No. IN218315.

## Agradecimientos

Gracias a la UNAM por convertirse en mi segunda casa, por brindarme la oportunidad de superarme a mí misma, académicamente y personalmente. Por permitirme conocer personas maravillosas con las que he compartido momentos que han definido quiénes somos y que, aunque ahora andemos por caminos diferentes, espero que sepan que una parte de sus enseñanzas forma parte importante de quien soy hoy.

Gracias al Laboratorio de Canabinoides, al Dr. Óscar Próspero García, a la Dra. Mónica Méndez Díaz y a la Dra. Alejandra Evelyn Contreras Ruiz, cuya noble labor académica ha permitido impulsar y forjar la carrera de muchos alumnos interesados en la ciencia.

A mis compañeros de laboratorio, cuya dedicación y enseñanzas han ayudado a construir este trabajo, a la Biol. Alline Becerril Melendez, al Q.F.B. Octavio García Belmont, al Psicol.

Alfonso Fajardo Valdez y a Sandra Ruth Durán Alonso.

Gracias al Dr. Octavio César García González, a la Dra. Corinne Jennifer Montes Rodríguez y al Dr. Óscar Ricardo Galicia Castillo por el tiempo invertido y las sugerencias para mejorar este trabajo.

## A mi familia

A mi madre, María Guadalupe Romero Torres, a la que le debo absolutamente todo lo que soy y lo que tengo, la que ha luchado y trabajado incansablemente para criar y proveer a sus hijas con un hogar y con una educación que nos permitiera salir adelante y valernos por nosotras mismas. Quien nos ha enseñado a nunca rendirnos a pesar de los obstáculos que enfrentemos y la que ha sabido salir adelante gracias a su gran fuerza de voluntad y fe.

A mi hermana Melina García Romero, gracias por estar siempre a mi lado cuando más lo he necesitado, por cuidarme como a uno más de tus hijos, por todo el amor que me has brindado, las enseñanzas que compartes conmigo, por todo tu apoyo y las palabras de aliento que me han consolado y me otorgan fuerzas para levantarme y seguir intentándolo. Espero que ahora que soy más capaz, pueda ser yo quien esté ahí para ti, permíteme recorrer junto a ti el camino que nos queda, apoyándonos la una a la otra.

A mi tío Eduardo Romero Torres, gracias por todas tus enseñanzas, por introducirme al mundo de la música, la pintura y la ciencia, por despertar en mí la curiosidad y el hambre del saber que ahora forman parte importante de lo que quiero llegar a ser, por apoyar a nuestra pequeña familia y fungir como mi figura paterna, eres parte esencial de este logro.

Finalmente a mis sobrinos, Michelle Monserrat Solís García y Gustavo Alejandro Solís García, a quienes tuve la dicha de tener como hermanos pequeños. Deseo de todo corazón que puedan cumplir con todas sus metas y que me permitan ser uno de los pilares en los que se apoyen para conseguirlas.

# ONTOGENIA DEL CONTROL DE IMPULSOS EN RATAS ADOLESCENTES, ADULTAS Y VIEJAS.

## Resumen

La impulsividad es la respuesta inmediata que se da sin reflexionar y sin prever sus consecuencias, dada la presentación de un estímulo, mientras que, el control de impulsos es la capacidad que tienen los sujetos de inhibir una conducta impulsiva en situaciones específicas. Se ha descrito que la frecuencia con la que se ejecutan respuestas impulsivas disminuye conforme se alcanza la edad adulta, sin embargo, debido a cambios en el funcionamiento cerebral, los adolescentes son menos capaces de controlar sus impulsos y potencialmente tienen un mayor riesgo a desarrollar problemas como un trastorno de uso de sustancias (TUS). En este trabajo se identificó si existen diferencias en el control de impulsos de ratas adolescentes, adultas y viejas, mediante una tarea de demora del reforzador (DDR), que permitiera emular en el laboratorio las características ontogénicas del control de impulsos halladas en humanos. Adicionalmente, se ha descrito que la función de la habénula lateral (HbL) contribuye al control de los impulsos, pero no se sabe si el receptor a cannabinoides 1 (CB1) de esta estructura está relacionado con el control de impulsos, por lo que en este estudio, se detectó el receptor CB1 mediante la técnica de inmunofluorescencia y se relacionó el área que ocupó la marca fluorescente en la HbL con el control de impulsos. Se encontró que los adolescentes ejecutaron un porcentaje menor de respuestas para obtener un reforzador grande cuando se entregaba con una demora de 16 segundos, sugiriendo que los adolescentes son menos tolerantes a la demora del reforzador y por lo tanto, más impulsivos que los adultos. En este trabajo no se encontró marca fluorescente del receptor CB1 en la HbL, por lo que éste receptor en dicha estructura no se encuentra relacionado con el control de impulsos.

## Índice

1.	Antecedentes .....	1
1.1.	Autocontrol .....	2
1.2.	Deficiencia del control de impulsos.....	9
1.3.	Ontogenia del control de impulsos.....	10
1.4.	Neurobiología del control de impulsos .....	13
1.5.	Sistema endocanabinoide en el control de impulsos.....	17
2.	Planteamiento del problema.....	21
3.	Pregunta de investigación .....	21
4.	Hipótesis .....	22
5.	Objetivo general.....	22
5.1.	Objetivos específicos .....	22
6.	Método .....	22
6.1.	Sujetos.....	22
6.2.	Equipo.....	23
6.3.	Tarea de Demora del Reforzador (DDR).....	23
6.3.1.	Entrenamiento .....	24
6.3.2.	Prueba .....	25
6.4.	Inmunofluorescencia.....	25
6.5.	Análisis de datos .....	28
7.	Resultados .....	30
7.1.	DDR Área bajo la curva.....	30
7.2.	DDR porcentaje de respuestas .....	31
7.3.	Inmunofluorescencia.....	34
9.	Limitaciones y sugerencias .....	47
10.	Conclusión .....	47
11.	Referencias.....	48
12.	Apéndice A: Consumo de alimento de adolescentes .....	54
13.	Apéndice B: Criterios de adquisición .....	57
14.	Apéndice C: Respuestas ejecutadas durante prueba .....	61
15.	Apéndice D: Consumo de alimento .....	63

## Introducción

El uso y dependencia a drogas de abuso constituye un serio problema de salud a nivel mundial, que tiene repercusiones negativas que van desde el ámbito económico, al gastarse sumas importantes de dinero en los distintos tratamientos actualmente disponibles, hasta el ámbito familiar, que se ve seriamente afectado cuando se tiene a un integrante con un problema de esta índole. Por ello, el estudio de factores de riesgo puede ayudar a identificar e informar a aquellos individuos que son más vulnerables a desarrollar dependencia a sustancias de abuso. Así mismo, sería de gran utilidad darles a estos factores un sustrato neuroquímico que permita generar futuros tratamientos que sean más efectivos y ayuden a rehabilitar a los pacientes adictos.

### 1. Antecedentes

#### Personalidad del paciente adicto

Según el Reporte Mundial de Drogas, se estima que durante 2014 existían 247 millones de consumidores de sustancias de abuso de entre 15 y 64 años de edad, de los cuales, cerca de 29 millones padecían problemas de dependencia (UNODC, 2016). Se han tratado de identificar los factores que predisponen a un sujeto a desarrollar un trastorno por consumo de sustancias y, aunque se han logrado importantes avances en el conocimiento y comprensión de este fenómeno, el problema persiste.

Antes de empezar a consumir sustancias, el paciente adicto manifiesta un tipo de personalidad, esto es, rasgos y conductas características que lo predisponen a desarrollar dependencia a sustancias. Una de estas características, que ha adquirido especial relevancia en el estudio del consumo de drogas en los últimos años, es la falta de autocontrol.

## 1.1. Autocontrol

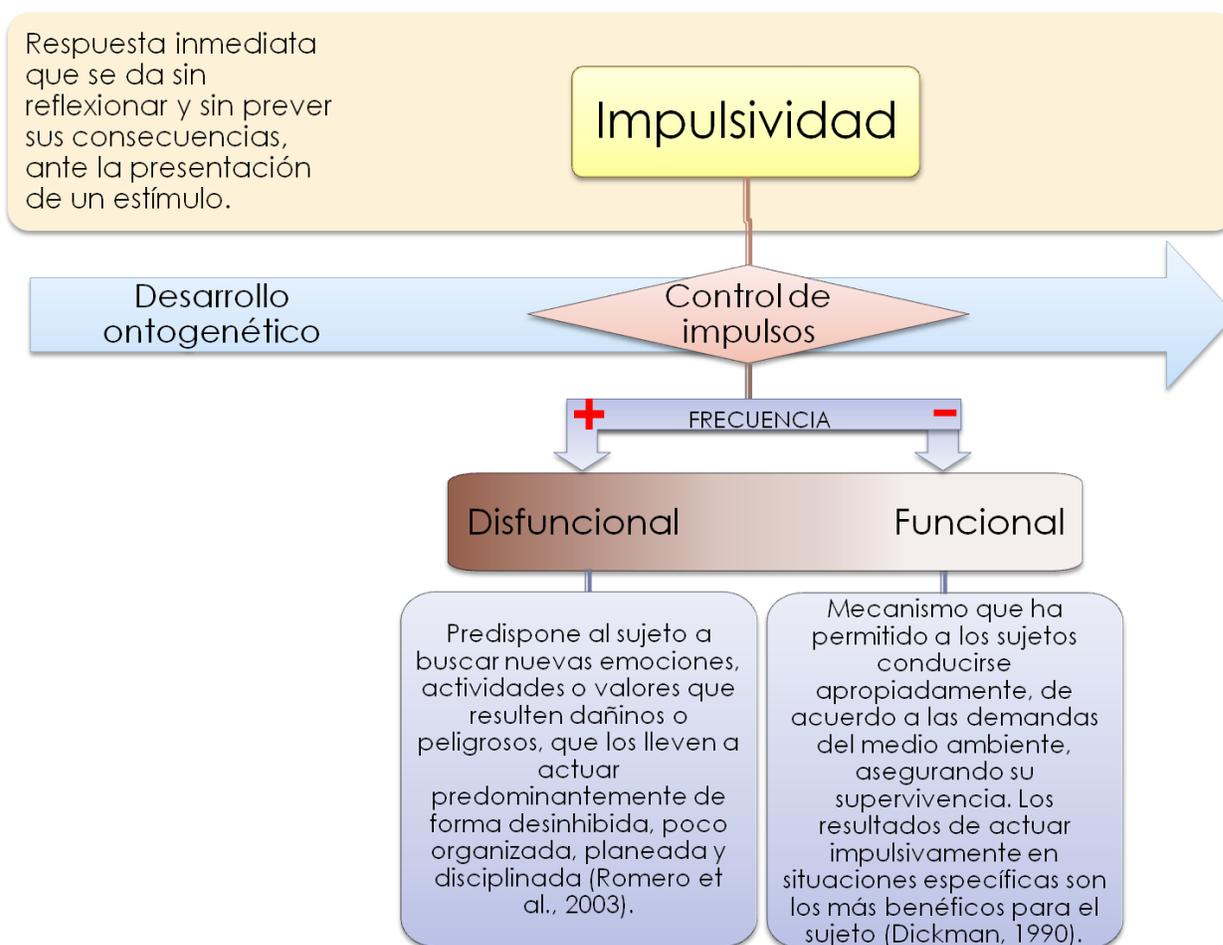
El autocontrol es un constructo compuesto por cinco factores: búsqueda de riesgo impulsiva, esto es, la preferencia irrazonable por actividades que son inmediatamente gratificantes pero que representan un peligro para la integridad del individuo; temperamento volátil, es decir, que un sujeto es incapaz de controlar sus emociones; preferencia por tareas simples, o sea, aquellas que requieran de poco esfuerzo para llevarse a cabo; egocentrismo, es decir, que carece de empatía; y preferencia por actividades físicas por sobre actividades intelectuales. Se considera que el sujeto posee mayor autocontrol entre menor sea la prevalencia de dichos factores. Adicionalmente, el factor búsqueda de riesgo impulsiva es el que se correlaciona positivamente y en mayor medida con el consumo de drogas legales (Romero, Gómez-Fraguela, Luengo, & Sobral, 2003).

La impulsividad es un concepto que ha adquirido una connotación negativa a lo largo de los estudios que se han hecho sobre ella. En muchas definiciones se toman en cuenta las consecuencias negativas que tienen las conductas impulsivas (Evensen, 1999; Moeller, Barratt, Dougherty, Schmitz, & Swann, 2001). Sin embargo, en este trabajo prescindiremos de dicha connotación y se definirá la impulsividad como la respuesta inmediata que se da sin reflexionar y sin prever sus consecuencias, dada la presentación de un estímulo (Méndez-Díaz et al., 2013).

Se ha hecho una diferencia entre conductas impulsivas funcionales, es decir, aquellas que se ejecutan en situaciones donde son óptimas para los individuos, y las conductas impulsivas disfuncionales, es decir, aquellas cuya tendencia a ejecutarse en situaciones que no son óptimas, representa una dificultad para el individuo (Dickman, 1990). La prevalencia de un tipo u otro de impulsividad podría estar dada por la frecuencia con la que un sujeto se comporta de manera impulsiva, de esta manera, entre mayor sea la tendencia a actuar de forma impulsiva, se corre un

mayor riesgo de ejecutar dichas acciones en situaciones donde no sean adecuadas e incluso tengan consecuencias adversas, predisponiendo al sujeto a buscar nuevas emociones, actividades o valores que puedan resultar dañinos o peligrosos, que los lleven a actuar de forma desinhibida, poco organizada, planeada y disciplinada ( Romero et al., 2003), dando como resultado la “impulsividad disfuncional”. La frecuencia con la que se ejecutan respuestas impulsivas está regulada por un sistema de control de impulsos (Koob & Volkow, 2010).

El control de impulsos es un mecanismo que se desarrolla conforme a la ontogenia del individuo (Leonard Green, Fry, & Myerson, 1994), de esta manera, las conductas impulsivas se ejecutan con mayor frecuencia durante las primeras etapas de la vida, ya que el sistema que las regula aún no ha madurado (Paus, 2005; Steinberg, 2010). Sin embargo, conforme el individuo alcanza la edad adulta, la impulsividad se convierte en un mecanismo adaptativo que permite a los sujetos conducirse apropiadamente y de acuerdo a las demandas del medio ambiente. Actuar de manera impulsiva en situaciones específicas asegura la supervivencia de la especie. Por ejemplo, huir ante un peligro inminente como una explosión. La modulación de la frecuencia con la que se generan respuestas impulsivas en las situaciones óptimas, da como resultado una “impulsividad funcional” (Dickman, 1990) (figura 1).



*Figura 1.* Esquema del modelo propuesto en este trabajo, basado en los conceptos utilizados por Dickman (1990). La impulsividad es un rasgo inherente en las primeras etapas del desarrollo, por lo que la mayor frecuencia de conductas impulsivas predispone al sujeto a buscar nuevas emociones, actividades o valores que puedan resultar dañinos o peligrosos (impulsividad disfuncional). La frecuencia con la que se ejecutan conductas impulsivas va siendo modulada conforme el mecanismo de control de impulsos va madurando en etapas posteriores. De esta manera, idealmente, las conductas impulsivas van disminuyendo en frecuencia y sólo se presentan en situaciones específicas (impulsividad funcional).

Cabe destacar que en algunos individuos, a pesar de estar en etapas de crecimiento avanzadas, el control de impulsos no se desarrolla o no funciona apropiadamente, por lo que prevalecen en mayor medida las conductas impulsivas, en comparación con sus congéneres. Aquellos sujetos que se comportan predominantemente de esta manera, se les ha denominado “impulsivos” (Evdenden, 1999).

Los sujetos con impulsivos tienen dificultad para la reflexión y la planificación, además de la tendencia a elegir reforzadores inmediatos (Olmstead, 2006), así mismo, tienen problemas para inhibir otros tipos de conducta, por ejemplo, la búsqueda de riesgo (Charles et al., 2016). La búsqueda de riesgo se considera también un predictor del inicio del consumo de drogas en la adolescencia (Charles, Mathias, Acheson, & Dougherty, 2017). Con base en esta evidencia, se sugiere que los sujetos con impulsividad disfuncional tienen una deficiente toma de decisiones y una mayor probabilidad de usar y desarrollar dependencia a sustancias de abuso.

Una conducta impulsiva puede ejecutarse ante la incapacidad de tolerar la demora del reforzador, es decir, los sujetos no son capaces de esperar tiempos prolongados para experimentar las consecuencias de sus elecciones (Dalley, Everitt, & Robbins, 2011). Por lo que una de las maneras de estudiar el control de impulsos ha sido poner a los sujetos a elegir entre recompensas de diferentes tamaños y demoras (Ainslie, 1975). A estos paradigmas se les ha denominado “descuento temporal”, en éstos, el valor subjetivo de una recompensa disminuye conforme el tiempo para recibirla aumenta (Leonard Green, Myerson, Holt, Slevin, & Estle, 2004). Dicho valor subjetivo se refiere a la fuerza o efectividad del reforzador para generar una respuesta instrumental (Mazur, 2001). Dentro del descuento temporal, los sujetos con poco control de impulsos se caracterizan por ser intolerantes a la entrega demorada de una recompensa y esto se refleja conductualmente en la preferencia de reforzadores pequeños e inmediatos, por sobre aquellos que son grandes pero entregados con demora (Pattij & Vanderschuren, 2008; Rachlin & Green, 1972; Winstanley, Eagle, & Robbins, 2006).

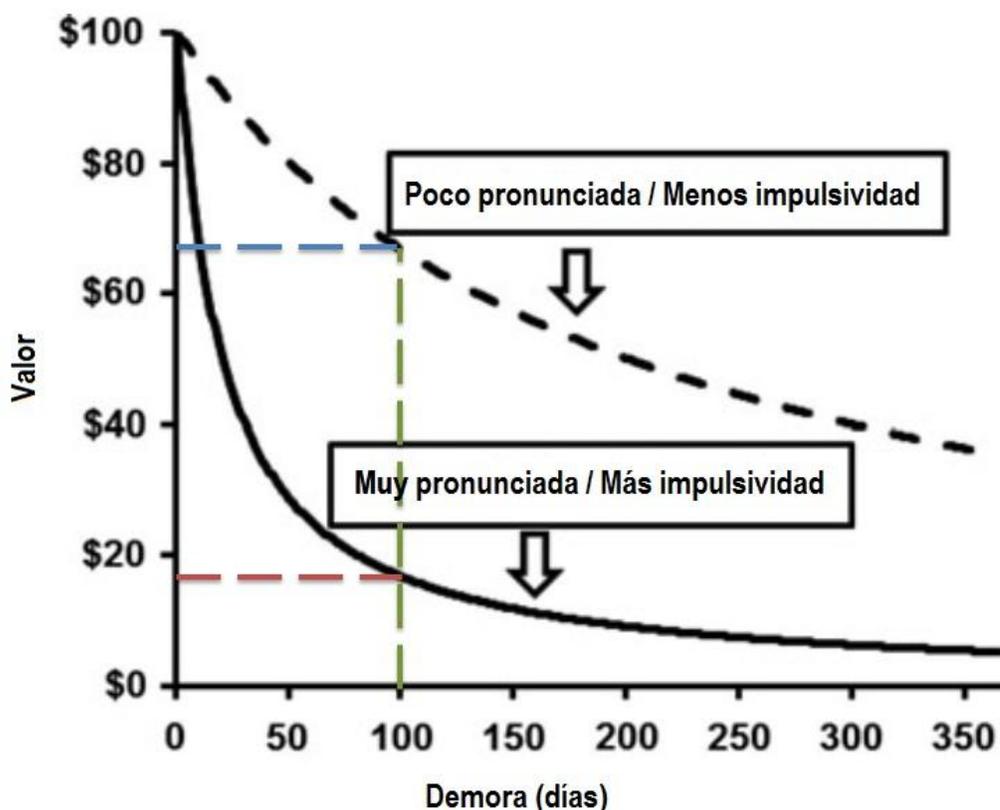
Para describir cómo el valor subjetivo de una recompensa disminuye, se han propuesto modelos matemáticos, de los cuales, el modelo hiperbólico de Mazur ha demostrado ser el que

posee un mejor ajuste a los datos observados. La ecuación que describe dicho modelo es la siguiente:

$$V = \frac{A}{1 + KD}$$

Donde  $V$  es igual al valor de un reforzador que es entregado después de una demora  $D$  en segundos,  $A$  se refiere a la cantidad total del reforzador y  $K$  es el valor de pendiente, que determina qué tan pronunciada es la caída del valor de  $V$  conforme incrementa  $D$  (Mazur, 2001). El valor 1, aparece en el denominador de la ecuación para evitar que el valor de  $V$  se prolongue al infinito conforme  $D$  se aproxime a 0 (Odum, 2011). De esta forma, los sujetos pueden ser clasificados con un alto control de impulsos cuando presenten una curva de respuestas negativamente acelerada poco pronunciada o con un valor de pendiente cercano al cero, lo que significa que tienen preferencia por un reforzador a pesar del incremento en la demora de su entrega, con respecto a otro más pequeño y entregado inmediatamente. Por otro lado, la curva de los sujetos con poco control de impulsos es más pronunciada debido a un valor de pendiente grande, lo que quiere decir que la preferencia del reforzador disminuye drásticamente conforme aumenta la demora de su entrega (figura 2).

Sin embargo, no hay un valor establecido de la pendiente para poder catalogar a los sujetos de manera sistemática como poco impulsivos o muy impulsivos, ya que todos los estudios reportan comparaciones entre grupos con los valores de la pendiente obtenidos de sus sujetos (Green, Myerson, & McFadden, 1997; Leonard Green et al., 2004; Perry, Larson, German, Madden, & Carroll, 2005).



*Figura 2.* Curvas negativamente aceleradas obtenidas a partir del paradigma de descuento temporal. El valor que se le asigna a una recompensa monetaria (\$100), disminuye de acuerdo a la demora de entrega y varía entre sujetos con mayor impulsividad (línea negra continua) y menor impulsividad (línea negra punteada). Por ejemplo, los sujetos impulsivos devalúan en mayor medida la recompensa monetaria (línea roja), en comparación con los sujetos menos impulsivos (línea azul) en el mismo valor de demora (100 días; línea verde). Modificado de (Amlung, Petker, Jackson, Balodis, & Mackillop, 2017).

Otro parámetro que se utiliza para clasificar a los sujetos como altos impulsivos y bajos impulsivos, ha sido el punto de indiferencia, que es el valor de demora en el que el sujeto tiene la misma preferencia por reforzador pequeño e inmediato y el reforzador grande y demorado (Perry & Carroll, 2008). Por ejemplo, en un estudio desarrollado por Broos, et al. (2012), clasificaron a un grupo de ratas como altas impulsivas y bajas impulsivas mediante los puntos de indiferencia de cada animal, encontrando que los sujetos con alta impulsividad tenían una recaída por cocaína inducida por contexto más pronunciada que los sujetos con baja impulsividad. Tanto el punto de indiferencia como el valor de la pendiente pueden derivarse de dos procedimientos que se han

utilizado ampliamente para estudiar el descuento temporal: el primero se ha denominado demora ajustada, en donde se determina el valor del reforzador más grande al ajustarlo con la demora de entrega del reforzador más pequeño; el segundo es llamado cantidad ajustada, en donde la cantidad de una de las opciones puede ser ajustada a lo largo de los ensayos, mientras el valor de demora permanece constante (Odum, 2011).

Otro procedimiento ampliamente utilizado para evaluar el control de impulsos, es la tarea de demora del reforzador (DDR), donde se utiliza como variable dependiente la preferencia de un reforzador grande con respecto a uno pequeño e inmediato, medido como el porcentaje de respuestas de elección conforme la demora de entrega aumenta (Evenden & Ryan, 1996; Sanchez-Alavez & Ehlers, 2015; van Gaalen, van Koten, Schoffemeer, & Vanderschuren, 2006; Winstanley, Dalley, Theobald, & Robbins, 2003). De esta manera, entre mayor preferencia tenga un sujeto por el reforzador grande y demorado, se infiere que posee un mayor control de impulsos, comparado con un sujeto que prefiera en gran medida el reforzador pequeño e inmediato.

Ya que el valor de la pendiente es un parámetro libre determinado por el ajuste del modelo matemático de Mazur a los valores observados, no representa una medida directa del control de impulsos y sólo se convierte en un valor hipotético. Para obtener una medida general de control de impulsos que combine múltiples valores reales de descuento obtenidos a diferentes demoras, se ha tomado como valor determinante el área bajo la curva (ABC) de manera que, entre más grande sea el valor del ABC, significa que existe mayor preferencia por el reforzador a pesar del incremento en la demora de su entrega (Huskinson, Green, Miyerson, & Freeman, 2015; Myerson, Green, & Warusawitharana, 2001; Reed, Kaplan, & Brewer, 2012). Por ejemplo, se ha visto que el ABC de una tarea de descuento temporal llevada a cabo por sujetos de 9-23 años de

edad, incrementaba con respecto a la edad, y ya que se estima que los sujetos con valores elevados del ABC poseen mayor control de impulsos que aquellos sujetos con menores valores del ABC, entonces el control de impulsos aumenta con la edad (Olson, Hooper, Collins, & Luciana, 2007).

En este trabajo, el control de impulsos se definió operacionalmente como, dada la presencia de dos reforzadores, la preferencia del reforzador más grande a pesar del incremento en la demora de su entrega, con respecto a uno pequeño cuya obtención y disponibilidad es inmediata.

## 1.2. Deficiencia del control de impulsos

La investigación del control de impulsos ha englobado trabajos que relacionan su deficiencia con diversos trastornos mentales, como por ejemplo, el trastorno por déficit de atención con hiperactividad (ADHD), juego patológico y trastornos del uso de sustancias (TUS) (Aron, 2011; Dalley et al., 2011).

En estudios realizados con adolescentes, en donde se mide la impulsividad mediante la aplicación de escalas y auto-reportes, se ha encontrado que aquellos sujetos que puntúan con mayores valores de impulsividad, tienden a presentar comportamientos delictivos (Fine, Steinberg, Frick, & Cauffman, 2016).

En el caso de modelos animales, se clasificó a un grupo de ratas de acuerdo a su actividad locomotora en un ambiente novedoso. Posteriormente se sometieron a un protocolo de autoadministración de anfetamina, encontrando que aquellos sujetos que tuvieron mayor actividad locomotora, se autoadministraban un mayor número de infusiones que aquellos sujetos con menor actividad locomotora (Dellu, Piazza, Mayo, Le Moal, & Simon, 1996).

Así mismo, Perry, et al. (2005), realizaron un experimento en el que catalogaron a un grupo de ratas, como individuos con alta o baja impulsividad con base en una tarea de descuento temporal. Al someterlas a un protocolo de autoadministración de cocaína, encontraron que sólo el 20% de ratas catalogadas con baja impulsividad adquirirían la respuesta de palanqueo durante los primeros 10 días de entrenamiento y este porcentaje se mantenía durante los 20 días restantes de autoadministración. Mientras que, en los primeros 10 días, el 40% de las ratas catalogadas como altamente impulsivas adquirirían dicha respuesta, sumándose progresivamente el número de individuos hasta alcanzar el 80% en los últimos cinco días de entrenamiento. Estos resultados muestran que aquellos sujetos que ejecutan predominantemente respuestas impulsivas, tienden a consumir en mayor medida una sustancia de abuso que aquellos sujetos con menor frecuencia de conductas impulsivas, por lo que se sugiere que la alta frecuencia de conductas impulsivas es uno de los factores que contribuyen al desarrollo de un TUS.

Con base en los estudios presentados anteriormente, el tener deficiencias en el control de impulsos se ha caracterizado como un rasgo que puede vulnerar a los sujetos a adquirir un TUS con mayor probabilidad que aquellos con un mayor control de impulsos.

### 1.3. Ontogenia del control de impulsos

Los humanos presentan mayor eficiencia en el control de impulsos conforme aumenta la edad. En un estudio realizado por Leonard Green et al. (1994), sujetos mayores de 60 años evaluados en una tarea de descuento temporal presentaron una curva negativamente acelerada mucho menos pronunciada que la de los adultos jóvenes, y éstos a su vez, presentaron una curva mucho menos pronunciada que los niños. Lo anterior quiere decir que, a edades tempranas, los sujetos no son capaces de esperar tiempos prolongados para obtener un reforzador, por lo que lo

devalúan más rápidamente que los adultos jóvenes. A su vez, los adultos mayores de 60 años, son los que menos devalúan la recompensa, ya que son capaces de esperar su entrega mucho más tiempo que los adultos jóvenes. Dado lo anterior, se sugiere que el control de impulsos se va desarrollando a lo largo de la vida de los sujetos. Cabe mencionar que estos resultados no se han modelado en animales, de forma que en el laboratorio se puedan manipular otras variables que permitan entender el efecto que tienen las diferencias ontogénicas del control de impulsos sobre el abuso de sustancias o el desarrollo de trastornos mentales, así como su tratamiento y prevención.

Aunque el control de impulsos se desarrolla a lo largo de la vida de los sujetos, durante la adolescencia (periodo comprendido entre los 10 y 19 años de edad, según la OMS), los humanos se caracterizan por la tendencia a llevar a cabo conductas impulsivas y altamente riesgosas. Esta tendencia disminuye cuando llegan a la edad adulta (Steinberg, 2010). Por ejemplo, en la Encuesta Nacional del Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco (ENCODAT, 2016), se ha reportado que la edad promedio del inicio de consumo de sustancias es de 17.8 años. Así mismo, se reporta que los accidentes de tránsito son la principal causa de muerte entre personas de 15-29 años a nivel mundial (WHO, 2016). Dicha prevalencia de conductas impulsivas y riesgosas se han relacionado con los cambios producidos por el desarrollo cerebral en la etapa adolescente (Doremus-Fitzwater, Varlinskaya, & Spear, 2010).

Se han propuesto dos procesos de desarrollo cerebral que ocurren simultáneamente en la adolescencia y que podrían explicar la predisposición a conductas impulsivas y la búsqueda de riesgo que se presentan durante esta etapa. El primero involucra la participación del sistema de motivación y recompensa, que madura rápidamente durante este periodo, por lo que se considera que las conductas del adolescente son principalmente controladas por el funcionamiento de este

circuito; el segundo proceso es la inmadurez de la corteza prefrontal (CPF), cuyas conexiones con otras estructuras no son lo suficientemente funcionales para proporcionar un adecuado control de la conducta (Casey, Getz, & Galvan, 2008; Romer, 2010).

Durante el desarrollo, la CPF es la última estructura cortical en alcanzar la madurez mediante la masiva degeneración de neuronas, disminuyendo la densidad de materia gris, la cual se ha relacionado con la eficiencia de las funciones ejecutivas (Gogtay et al., 2004). Las funciones ejecutivas son procesos de alto nivel cognitivo que permiten a los sujetos dirigir su comportamiento hacia la creación de planes, iniciando su ejecución y manteniendo su desempeño hasta completarlos, ejemplos de éstas son el control atencional, la planeación, la flexibilidad cognitiva y la fluencia verbal (Jurado & Rosselli, 2007). También se ha reportado que durante la adolescencia, junto a la pérdida de materia gris, se lleva a cabo un proceso de *pruning*, que es la disminución de la cantidad de conexiones excesivas, características en el cerebro inmaduro (Selemon, 2013). Adicionalmente, hay un incremento de materia blanca dado por el proceso de mielinización que se genera durante esta etapa y que se ha relacionado con el establecimiento de conexiones más eficientes (Steinberg, 2008).

En la etapa adolescente también se presenta un aumento en la actividad del circuito de motivación y recompensa, esto es, la actividad exacerbada del núcleo acumbens (NAc) con respecto al funcionamiento de la corteza prefrontal (Galvan et al., 2006). Debido a esta disparidad en el funcionamiento de ambas estructuras, es muy probable que el cerebro de los adolescentes se encuentre más reactivo al reforzamiento con respecto al del adulto, y sea la razón por la que durante esta etapa, los adolescentes presentan más conductas impulsivas que los lleven a involucrarse en actividades riesgosas como el consumo de sustancias.

Finalmente, debido a que la impulsividad es una característica que disminuye con la edad, la mayoría de los estudios sobre control de impulsos se han enfocado exclusivamente en la niñez, adolescencia y adultez temprana (Charles et al., 2016, 2017; Fine et al., 2016; Galvan, Hare, Voss, Glover, & Casey, 2007; Kollins, 2003; Shulman, Harden, Chein, & Steinberg, 2015; Steinberg, 2010). Sin embargo, se ha reportado que los trastornos del control de impulsos, como la ludopatía (Kausch, 2004) o el trastorno explosivo intermitente (Tamam, Bican, & Keskin, 2014), se siguen presentando en edades avanzadas, por lo que la prevalencia de la impulsividad de rasgo en la vejez también tendría que ser un tema de interés en el estudio del control de impulsos.

#### 1.4. Neurobiología del control de impulsos

Los circuitos neuronales involucrados en el control de impulsos se encuentran relacionados con funciones y circuitos de inhibición, procesos atencionales y memoria de trabajo (Aron, 2011). Aron, et al. (2003), identificaron algunas regiones responsables del control de impulsos, realizando resonancias magnéticas funcionales a un grupo de sujetos sanos y otro grupo de pacientes con daños neuronales en diferentes regiones del lóbulo frontal, entre ellos, la corteza orbitofrontal y medial, el giro frontal inferior, medio y superior derechos.

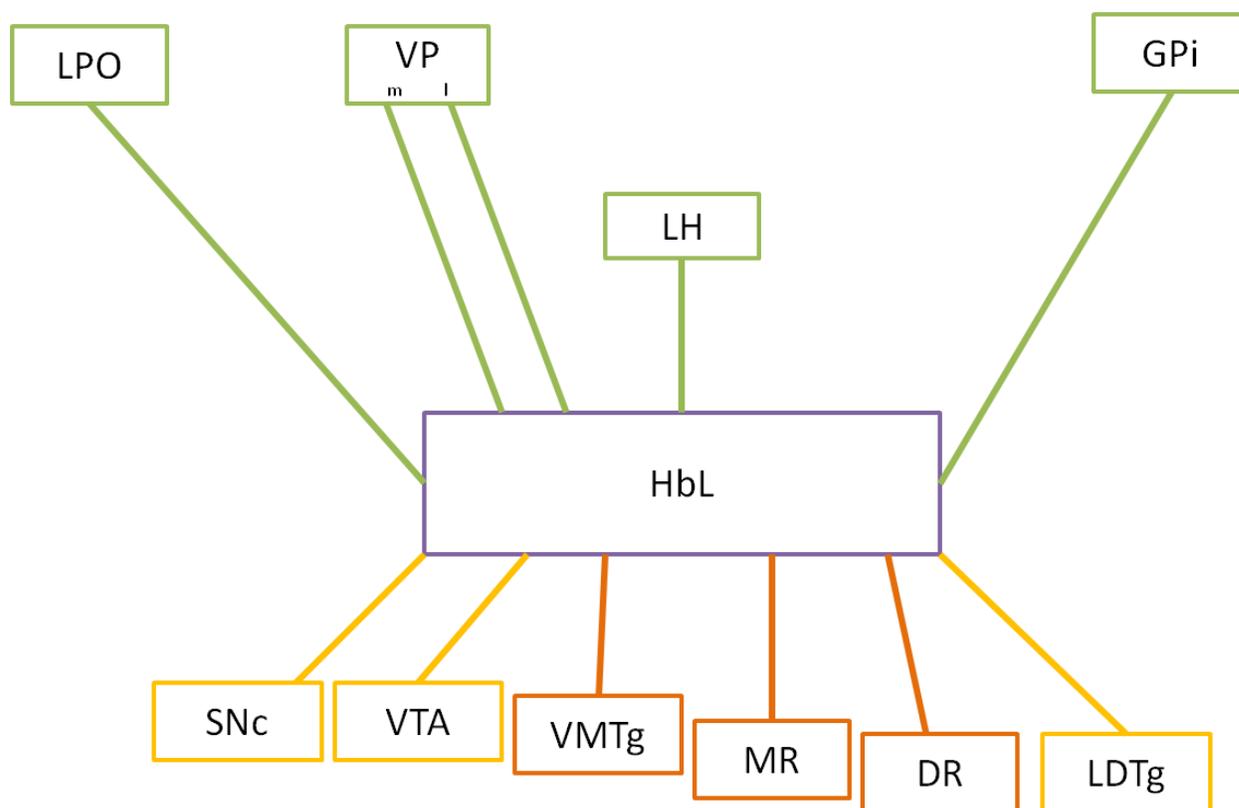
Los sujetos realizaron una tarea Go/no-Go, cuyos ensayos Go consistían en presionar un botón lo más rápidamente posible al presentarse un estímulo visual, mientras que en los ensayos no-Go, se presentaba un sonido después de la primera señal, que indicaba que el participante debía inhibir la respuesta iniciada. A partir del tiempo reacción de los ensayos Go, se determinó el tiempo de reacción asociado a la señal de paro, es decir, el tiempo mínimo que los sujetos necesitaban para inhibir la respuesta durante los ensayos no-Go. En este estudio, los participantes

con lesiones en la corteza frontal tuvieron un menor control de impulsos que los participantes sanos. Al correlacionar el tiempo asociado a la señal de paro con el tamaño del daño en las regiones específicas, se encontró una correlación positiva solamente en el giro frontal inferior derecho, es decir, el daño en esta región se relaciona con problemas en la inhibición de una conducta y, por lo tanto, el giro frontal inferior es particularmente crítico para el control de impulsos.

Se ha sugerido que las proyecciones excitadoras del giro frontal inferior derecho con los núcleos de la base, principalmente el núcleo subtalámico, es uno de los mecanismos para el control de impulsos, denominado “vía hiperdirecta” (Aron, 2011; Aron & Poldrack, 2006). A su vez, el núcleo subtalámico manda sus proyecciones excitadoras hacia el globo pálido interno (núcleo entopeduncular en roedores, EP), que manda proyecciones GABAérgicas hacia el tálamo, promoviendo la inhibición de la conducta (Nambu, Tokuno, & Takada, 2002).

Además de sus conexiones con el tálamo, se ha descrito que el EP también se conecta con la habénula lateral (HbL), mediante proyecciones que son dos terceras partes glutamatérgicas y el resto GABAérgicas. La estimulación optogenética de las células glutamatérgicas del EP que proyectan hacia la HbL tiene consecuencias aversivas en un paradigma de condicionamiento de preferencia de lugar, es decir, que los sujetos evitan el compartimento en el que se estimula dicha conexión, a diferencia de los animales que no expresaron el canal de rodopsina (Shabel, Proulx, Trias, Murphy, & Malinow, 2012). También es importante destacar que parte de las aferencias glutamatérgicas que recibe no sólo provienen del EP, sino también del hipotálamo lateral, la corteza cerebral y el área ventral tegmental (VTA) (Meye, Lecca, Valentinova, & Mameli, 2013) (figura 3). El VTA a su vez, manda proyecciones dopaminérgicas al NAc. La estimulación dopaminérgica del NAc está relacionada con la sensación subjetiva de placer, asociada al

consumo de reforzadores naturales como alimento, agua, llevar a cabo conducta sexual y no naturales como las drogas de abuso (Fields, Hjelmstad, Margolis, & Nicola, 2007). Ambas estructuras conforman los principales componentes del circuito de motivación y recompensa, que se encarga de los procesos de reforzamiento positivo (Schultz, Dayan, & Montague, 1997).

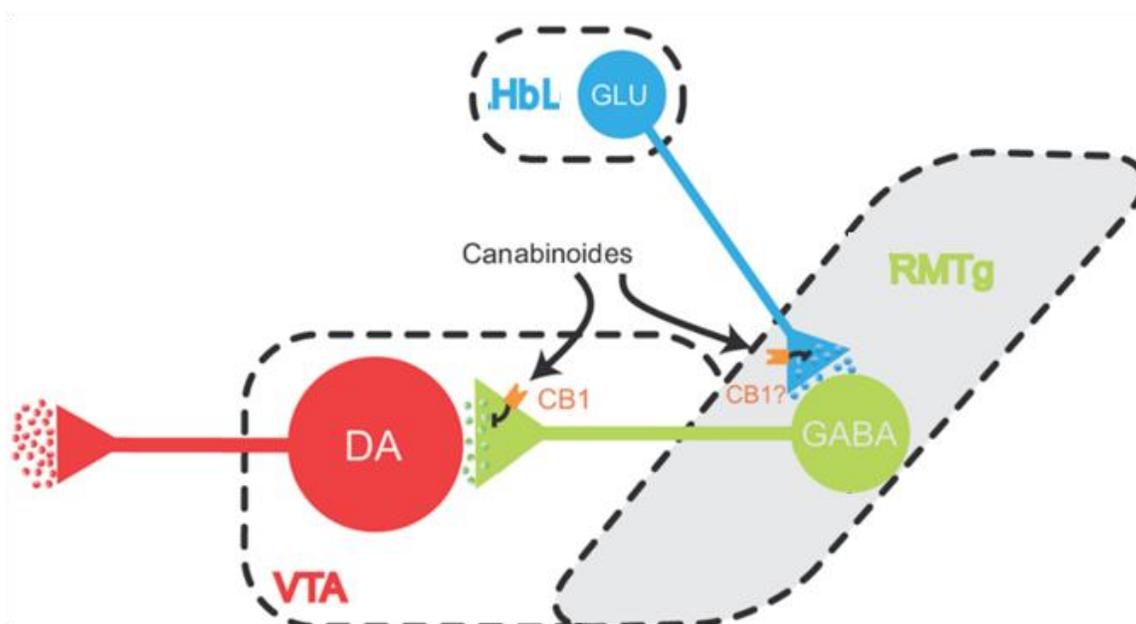


*Figura 3.* Principales aferencias y eferencias de la HbL. Principales aferencias de la HbL (verde). Eferencias a células principalmente serotoninérgicas (naranja). Eferencias a células principalmente dopaminérgicas (amarillo). DR, núcleos del rafé dorsal; GPi, globo pálido interno; LDTg, núcleo laterodorsal tegmental; LH, hipotálamo lateral; LPO, área preóptica lateral; MR, núcleos del rafé medial; SNc, sustancia negra pars compacta; ; VMTg, grupo celular ventromedial tegmental; VP pálido ventral (m, medial; l, lateral); VTA, área ventral tegmental (modificada de Geisler & Trimble, 2008).

El perfil neuroquímico de las células que componen la HbL es principalmente glutamatérgico (Aizawa, Kobayashi, Tanaka, Fukai, & Okamoto, 2012), y según estudios de hibridación *in situ*, existe RNAm de la enzima glutamato descarboxilasa 67 (GAD67), en la región del subnúcleo

oval, por lo que podría poseer algunas neuronas GABAérgicas. Mediante inmunohistoquímica se ha demostrado que recibe muchas aferencias GABAérgicas debido a la señal que se presenta contra GAD 67 (Brinschwitz et al., 2010).

La conexión EP-HbL puede ser un puente importante entre los sistemas de control de impulsos y el sistema de motivación y recompensa, ya que se ha descrito que la HbL manda proyecciones a las células del VTA (Herkenham & Nauta, 1979). Adicionalmente, se ha demostrado que la estimulación eléctrica de las células de la HbL produce una inhibición de las células dopaminérgicas del VTA (Christoph, Leonzio, & Wilcox, 1986). Sin embargo, se ha discutido que esta inhibición no es resultado de la acción directa de la HbL sobre el VTA, sino que las células glutamatérgicas de la HbL activan a las neuronas GABAérgicas del núcleo rostromedial tegmental (RMTg) (Balcita-Pedicino, Omelchenko, Bell, & Sesack, 2011; Brown et al., 2017) (figura 4).



*Figura 4.* Esquema que muestra la conexión de las neuronas glutamatérgicas (GLU) de la HbL con las células GABAérgicas (GABA) del RMTg, inhibiendo a las células dopaminérgicas (DA) del VTA. Adicionalmente se muestra la localización de receptores del sistema endocanabinoide (CB1). Modificado de Barrot et al., 2012.

Adicionalmente, se ha demostrado que al inhibir la función de la HbL con la infusión de los agonistas GABAérgicos muscimol y baclofen, hay un aumento en las respuestas impulsivas ejecutadas en un paradigma Go/noGo (Zapata, Hwang, & Lupica, 2017). Así mismo, se ha encontrado que al lesionar la HbL, hay un incremento significativo de consumo de alcohol voluntario, en comparación con los sujetos control (Haack et al., 2014). Las evidencias anteriores sugieren que la función de la HbL, inhibe la ejecución de respuestas impulsivas, mientras que su inactividad aumenta la frecuencia de conductas impulsivas y la frecuencia con la que se consume una sustancia de abuso, como el alcohol, lo que podría vulnerar a los sujetos al desarrollo de TUS.

#### 1.5. Sistema endocanabinoide en el control de impulsos

Debido a que los organismos deben de elegir entre varias opciones de forma óptima para asegurar su supervivencia, es importante que el circuito de control de impulsos-sistema de motivación y recompensa esté modulado por un sistema de neurotransmisión que le permita elegir un curso de acción u opción de manera efectiva. Dada la naturaleza principalmente glutamatérgica y GABAérgica de las estructuras que componen este circuito, sugerimos que el sistema de neurotransmisión de los endocanabinoides está regulando su actividad. A continuación, describiremos la razón de esta hipótesis.

El sistema de endocanabinoides tiene una amplia distribución en el Sistema Nervioso Central en regiones como el hipocampo (Hip), núcleos de la base, cerebelo y amígdala (Miles Herkenham et al., 1990) (figura 5).

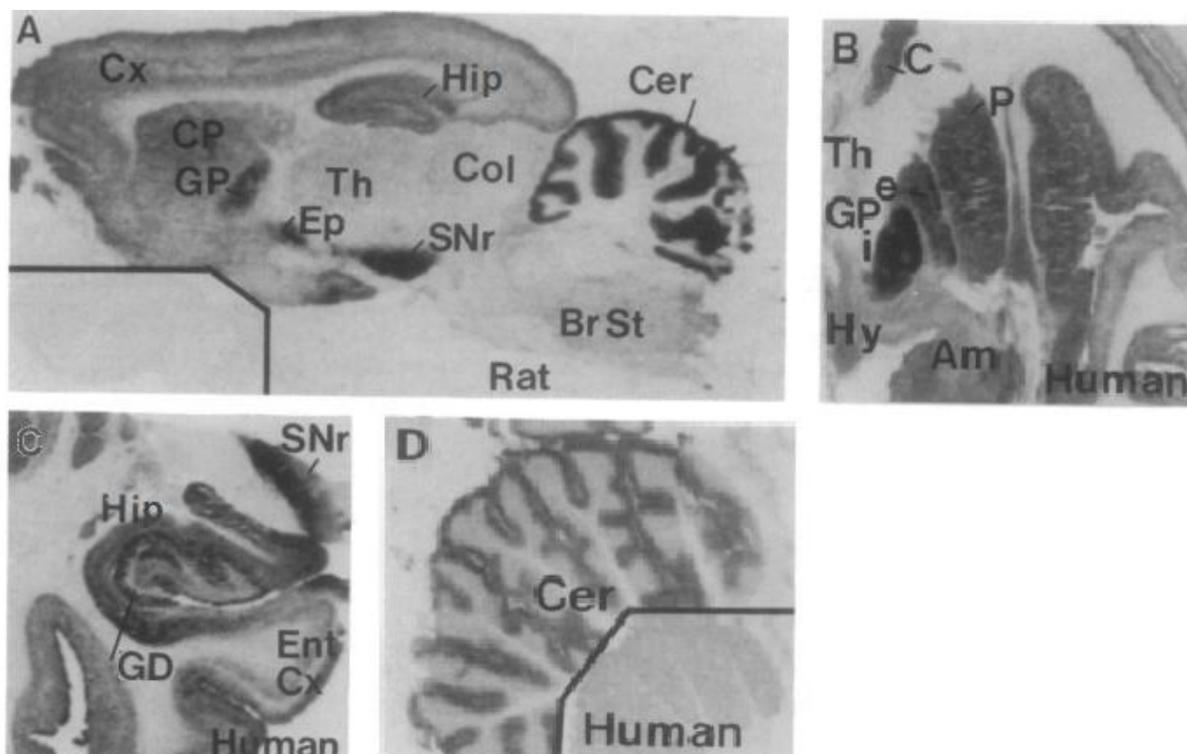
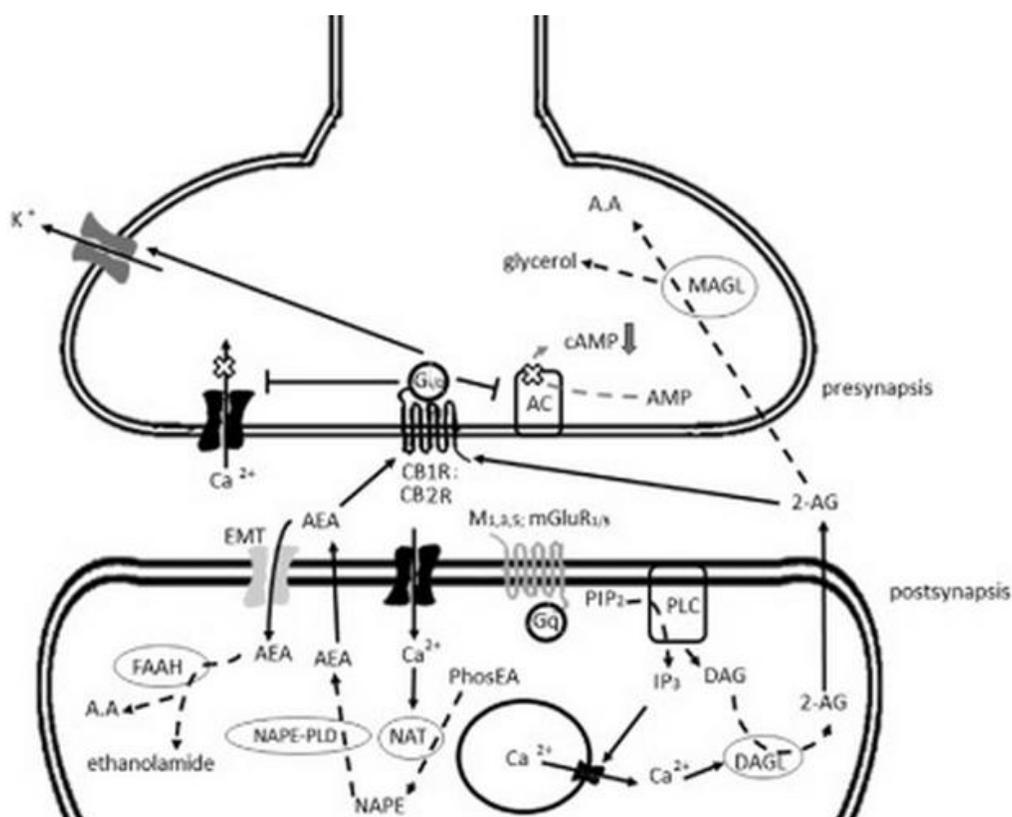


Figura 5. Autoradiografía de la unión del cannabinoide [ $^3\text{H}$ ] CP 55,940 a los receptores a cannabinoide en diversas estructuras del cerebro de rata (A) y de humano (B, C y D). Am, amígdala; Br St, tronco encefálico; C, caudado; Cer, cerebelo; Col, colículo; CP, caudado-putamen; Cx, corteza; Cx Ent, corteza entorrinal; GD, giro dentado; EP, núcleo entopeduncular (homólogo de GPi); GP, globo pálido (e, externo; i, interno); Hip, hipocampo; Hy, hipotálamo; P, putamen; SNr, sustancia nigra reticulata; Th, tálamo. Modificado de Herkenham, et al., 1990.

Está compuesto por los cannabinoide endógenos, enzimas de síntesis y degradación, así como por los receptores a cannabinoide (figura 6). Los endocannabinoide más estudiados son la anandamida (AEA), el 2 araquidonil glicerol (2-AG) y la oleamida (ODA) (tabla 1). Los principales receptores son el receptor cannabinoide 1 (CB1) y el receptor cannabinoide 2 (CB2), pero se ha descrito que los endocannabinoide también pueden ejercer su acción a través de otros receptores como GPR55 o TRPV1 (A. J. Brown, 2007; Ryberg et al., 2007). De estos receptores, el más estudiado es el CB1, que se expresa principalmente en los botones presinápticos de las células GABAérgicas y, en menor proporción, de las células glutamatérgicas; adicionalmente, su activación inhibe la liberación de neurotransmisor (Kendall & Alexander, 2009).

Adicionalmente, en ratas, se ha reportado que la densidad del receptor CB1 tiene un incremento progresivo respecto a la edad en el estriado, corteza límbica y la región ventral del mesencéfalo

desde los diez días posnatales (DPN), alcanzando un pico máximo en los DPN 30-40 (Rodríguez de Fonseca, Ramos, Bonnin, & Fernández-Ruiz, 1993), edad que corresponde a la etapa de desarrollo adolescente según el rango que se ha establecido (Spear, 2000). Adicionalmente se ha reportado que, a comparación de las ratas adultas y viejas, los adolescentes tienen un porcentaje menor de CB1 en NAc, CPF e Hip (Amancio-Belmont, Romano-López, Ruiz-Contreras, Méndez-Díaz, & Prospéro-García, 2016).



*Figura 6.* Síntesis, acción y degradación de endocannabinoides. Vías de síntesis a) La activación de los receptores muscarínicos ( $M_{1,3,5}$ ) o glutamatérgicos ( $mGluR_{1,5}$ ) generan fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato ( $PIP_2$ ), que al ser hidrolizado por la fosfolipasa C ( $PLC$ ), forma inositol trifosfato ( $IP_3$ ) y diacil glicerol ( $DAG$ ). El  $IP_3$  abre los canales de calcio de los almacenes del retículo endoplasmático, activando a la enzima  $DAGL$ , que convierte al  $DAG$  en 2-araquidilglicerol (2-AG). La síntesis de anandamida (AEA), inicia con la acción de la enzima N-aciltransferasa, activada por calcio ( $Ca^{2+}$ ), sobre la fosfatidiletanolamina (PhosEA), convirtiéndola en N-araquidil- fosfatidil-etanolamina (NAPE). La enzima fosfatidil-etanolamina-fosfolipasa D específica (NAPE-PLD) actúa sobre NAPE, generando AEA. 2-AG y AEA actúan en los receptores presinápticos CB1 y CB2. La activación del CB1, genera la apertura de canales de potasio ( $K^+$ ), la inhibición del adenilato ciclasa (AC) y el cierre de canales de  $Ca^{2+}$ . AEA es recapturada por el transportador membranar endocanabinoide (EMT) y degradada por la hidrolasa de amidas y ácidos grasos (FAAH) transformándola en ácido araquidónico (A.A.) y etanolamida. El 2-AG es hidrolizada por la enzima monoacilglicerol lipasa (MAGL), presente en la presinapsis, convirtiéndola en A.A. y glicerol. Tomada de Prospéro-García, Amancio-Belmont, Becerril-Meléndez, Ruiz-Contreras, & Méndez-Díaz, 2016.

Tabla 1.

*Endocannabinoides y principales receptores a los que se acoplan.*

Endocanabinoide	Receptor al que se acopla	Referencias
AEA	CB1>CB2	Iannotti, Di Marzo, & Petrosino, 2016
2-AG	CB1=CB2	
ODA	CB1	National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=5283387, <a href="https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5283387">https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5283387</a> (accessed May 4, 2017).

AEA, anandamida; 2-AG, araquidonil glicerol; ODA, oleamida; CB1, receptor canabinoide 1; CB2, receptor canabinoide 2.

Adicionalmente a los sistemas de neurotransmisión glutamatérgico y GABAérgico, el sistema de endocannabinoides tiene una gran representación en el sistema de inhibición de la conducta, ya que el receptor CB1 se encuentra localizado a lo largo de la corteza cerebral, EP, HbL y VTA (Herkenham et al., 1991). El receptor CB1 también está presente en las células del RMTg y su activación está involucrada en la inhibición de las proyecciones GABAérgicas que manda hacia el VTA (Barrot et al., 2012; Lecca, Melis, Luchicchi, Ennas, et al., 2011; Lecca, Melis, Luchicchi, Muntoni, & Pistis, 2011). Sin embargo, se desconoce si la presencia de este receptor en las demás estructuras que conforman el circuito está relacionada con el control de impulsos.

## 2. Planteamiento del problema

El autocontrol se compone de cinco factores, entre estos, la impulsividad es la que mayormente se correlaciona con el consumo de drogas.

Durante las primeras etapas de la vida, el sistema de control de impulsos no está completamente desarrollado, por lo que las conductas impulsivas son muy frecuentes. Conforme se da el desarrollo ontogénico del individuo, el sistema de control de impulsos madura y se encarga de regular la frecuencia con la que se llevan a cabo las conductas impulsivas.

La evidencia sugiere que la actividad exacerbada del circuito de motivación y recompensa, con respecto a la función de la corteza prefrontal, es responsable de un control de impulsos deficiente.

La actividad de la HbL inhibe las conductas impulsivas, mediante la inhibición indirecta de las células dopaminérgicas del VTA.

Sin embargo, la relación del CB1 con las estructuras que forman el circuito de control de impulsos-motivación y recompensa no está completamente descrita, principalmente en la conexión EP- HbL.

## 3. Pregunta de investigación

¿El control de impulsos de ratas adultas y viejas es diferente al de las ratas adolescentes?

¿Existen diferencias en la cantidad de CB1 en la HbL de ratas adolescentes, adultas y viejas?

¿Existe una relación entre el control de impulsos y la expresión del receptor CB1 en la HbL?

#### 4. Hipótesis

Las ratas adolescentes mostrarán menor control de impulsos que las ratas adultas y viejas.

Las ratas adolescentes tendrán mayor expresión del receptor CB1 en la HbL que las ratas adultas y viejas.

El receptor CB1 expresado en la HbL, se correlacionará negativamente con el control de impulsos.

#### 5. Objetivo general

Evaluar el control de impulsos de ratas adolescentes, adultas y viejas, para relacionarlo con la expresión del receptor CB1 en la HbL.

##### 5.1. Objetivos específicos

Demostrar, mediante la DDR, que las ratas adolescentes tienen menor control de impulsos que las ratas adultas y viejas.

Cuantificar, mediante inmunofluorescencia, la expresión del receptor CB1 en la HbL.

Relacionar la cuantificación del receptor CB1 de la HbL con el control de impulsos.

#### 6. Método

##### 6.1. Sujetos

Se utilizaron 30 ratas macho de la cepa Wistar: 10 ratas adolescentes con 25 días posnatales (DP) al inicio de la privación de alimento y 30 DP al inicio del entrenamiento (Adolescencia:

DP25 – DP 42); 10 ratas adultas (DP 90 – DP 120); 10 ratas viejas (DP 360 – DP 390). Se mantuvieron a los sujetos en condiciones de luz-oscuridad 12x12 (hora de encendido 9:00 p.m.), temperatura (21+/- 1°C) y humedad (52%) constantes. Los sujetos se alojaron en cajas habitación individuales con acceso al agua *ad libitum*. Para motivar a los sujetos a responder, se controló la ingesta de alimento (Rat Chow, Purina), manteniéndolos al 80% de su peso. El manejo y cuidado de los animales empleados se apegó estrictamente a las disposiciones establecidas en la Norma Oficial Mexicana sobre “Especificaciones Técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio” (NOM-062-ZOO-1999).

## 6.2. Equipo

Se utilizaron seis cámaras operantes (MED Associates Inc. Modelo ENV-007CT) equipadas con un comedero de metal (ENV-200R2M), localizado a 2 cm del piso de la cámara y conectado a través de una manguera de plástico a un dispensador de pellets de precisión (Modelo ENV-203M-45). Cada una de las cámaras estuvo equipada con una luz (ENV-215M) y dos palancas de metal retráctiles (Modelo ENV-112CM), activadas con una fuerza aproximada de 0.25 N, ubicadas a ambos lados del comedero y a una altura de 6 cm por encima del piso de la cámara.

Adicionalmente, una luz estímulo (ENV-221M) estuvo localizada a 2 cm sobre cada palanca. Cada una de las seis cámaras se colocó dentro de un cubículo sonoamortiguado (Modelo ENV-018V).

## 6.3. Tarea de Demora del Reforzador (DDR).

Una vez que los sujetos alcanzaron el 80% de su peso, iniciaron las sesiones de entrenamiento. Estas se llevaron a cabo al inicio de la fase de oscuridad del ciclo luz-oscuridad.

### 6.3.1. Entrenamiento

Los sujetos fueron entrenados en las cámaras operantes en un programa de razón fija uno (RF1), es decir, con cada presión de palanca ejecutada por el sujeto, se entregaba un reforzador. El entrenamiento terminó cuando los sujetos alcanzaron 60 ensayos en el caso del grupo de los adultos y el de los viejos, 30 ensayos en el caso de los adolescentes, o transcurridos 30 minutos, lo que ocurriese primero. Cabe señalar que la diferencia en el número de ensayos entre los grupos se debe a que, un grupo piloto de ratas adolescentes, sólo alcanzó a consumir un promedio máximo del 57.27% de la cantidad máxima de comida disponible (13.5 gr), entregada a las ratas adultas y viejas en el tiempo establecido, impidiéndoles cumplir con los criterios de adquisición de la prueba conductual (ver apéndice A). Dicho porcentaje se alcanzó hasta el DP 38, tiempo insuficiente para completar los criterios de adquisición y realizar la fase de prueba dentro del límite de los DP considerados para la etapa adolescente, por lo que se estableció reducir el número de ensayos al 50% de los correspondientes a los grupos de ratas adultas y viejas.

Cada sesión de entrenamiento comenzó con la extensión de ambas palancas y las luces estímulo encendidas. Cada vez que el sujeto respondía en una de las palancas, ambas se retraían y las luces estímulo se apagaban, encendiéndose la luz de la cámara y el dispensador de pellets. La presión de la palanca derecha tenía como resultado la entrega inmediata de cinco pellets de precisión (Dustless Precision pellets ®, 45 mg Rodent Purified Diet milk flavor), mientras que la presión de la palanca izquierda entregaba inmediatamente un solo pellet de precisión. Adicionalmente, la luz de la cámara permanecía encendida 5 segundos después de la entrega de la recompensa, indicando un intervalo entre ensayos. Se tomó como criterio de adquisición que

los animales generaran al menos un 80% de respuestas y que, de ellas, al menos un 85% fuesen en la palanca derecha durante tres días consecutivos.

### 6.3.2. Prueba

Una vez cumplido el criterio de adquisición de la respuesta (ver apéndice B), los sujetos pasaron por una fase de prueba, 6 días, que consistió en el incremento del tiempo entre la ejecución de la respuesta y la entrega de la recompensa, sólo de la palanca derecha. Las demoras utilizadas fueron 2, 4, 8, 16, 32 y 64 segundos, programando una cada día de la fase en orden ascendente. La palanca izquierda conservó los mismos criterios que en la fase de entrenamiento.

Se registró el número de respuestas dadas en cada palanca y como variable dependiente se tomó la preferencia, medida como el porcentaje de respuestas dadas para la obtención del reforzador más grande de acuerdo al total de respuestas generadas en cada valor de demora, esto es:

$$Preferencia = \frac{\text{número de respuestas en palanca derecha}}{(\text{respuestas en palanca derecha} + \text{respuestas en palanca izquierda})} \times 100$$

### 6.4. Inmunofluorescencia

Para evaluar la expresión del receptor CB1 se usó la técnica de inmunofluorescencia, que permitió localizar y cuantificar la expresión de CB1 y de forma simultánea utilizar NeuN como marcador neuronal y teñir los núcleos celulares con un medio de montaje que contenía 4',6-diamino-2-fenilindol (DAPI). Se utilizaron los tres grupos de ratas sometidas al procedimiento de autoadministración de alimento.

Para obtener el tejido, se anestesió a las ratas con pentobarbital sódico (126 mg/kg, i.p.) y se procedió a perfundirlas transcárdialmente, primero con 250 ml de una solución de buffer de fosfato sódico al 0.1 M (PBS) y luego con 250 ml de paraformaldehído al 4% (PFH). Se extrajeron los cerebros y se almacenaron en PFH durante 24 horas. Posteriormente, se sumergieron en soluciones de sacarosa al 10%, 20% y 30%, por 24 horas cada una.

Se cortaron los cerebros en un criostato a un grosor de 14  $\mu\text{m}$ , colocando las rebanadas en portaobjetos gelatinizados y dejándolas reposar por 24 horas. Para localizar las regiones anatómicas de interés se utilizó el atlas del cerebro de rata (Paxinos & Watson, 2007) (figura 7).

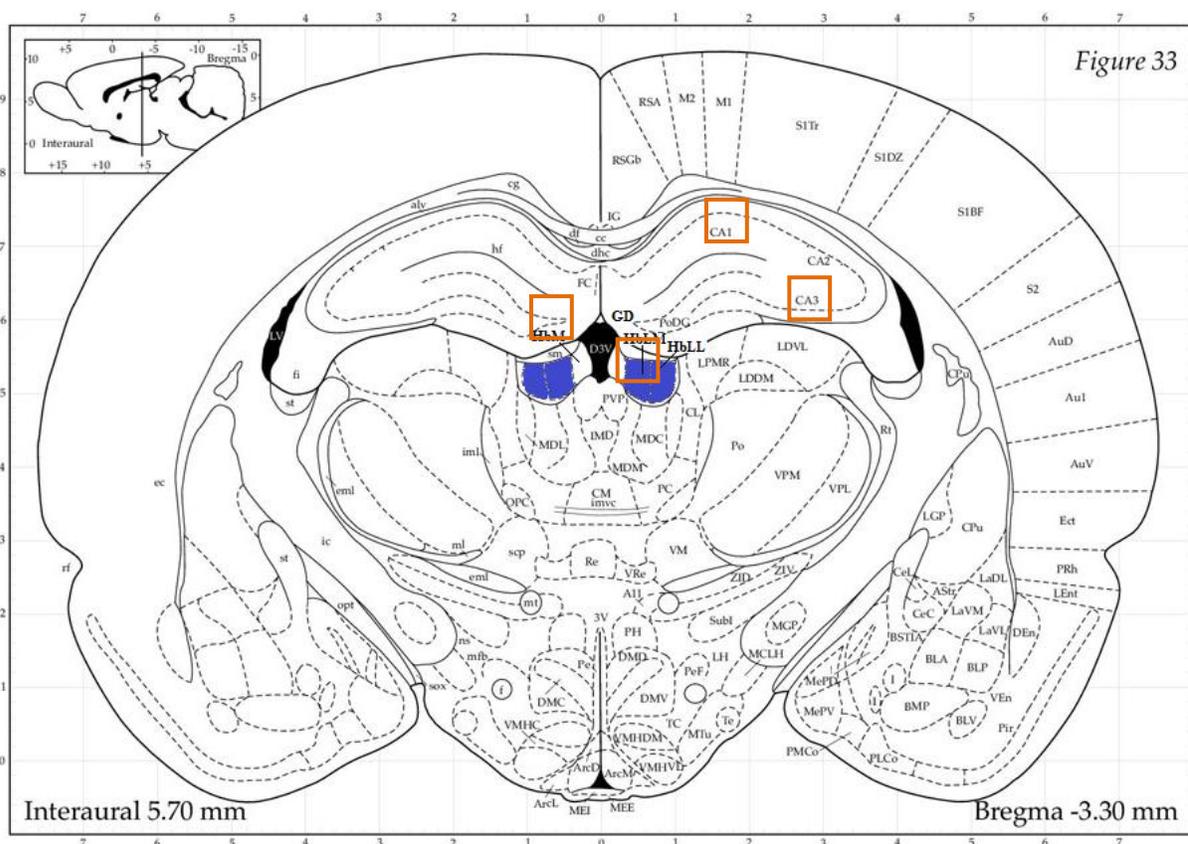


Figura 7. Nivel aproximado de los cortes cerebrales utilizados para mostrar la habénula lateral (azul). Se tomó como referencia la extensión del hipocampo, la forma del giro dentado (GD) del hipocampo y la mayor extensión de la habénula lateral (HbLM; HbLL) con respecto a la habénula medial (HbM). Región de interés para tomar las fotos (naranja). Modificado de Paxinos & Watson, 2006.

Los cortes en las laminillas fueron delimitados con una pluma ImmEdge™ (Vector Laboratories). Dentro de una cámara húmeda, se realizaron tres lavados a los cortes con 100µl de Tritón-PBS al 0.3%, por 10 minutos cada uno y consecutivamente se incubaron por dos horas en 100µl de albúmina de suero bovino al 5% (BSA), preparado en Tritón-PBS. Se incubaron los cortes por 24 horas con 100µl de anticuerpo policlonal de conejo anti-receptor CB1 (Abcam, AB23703) diluido en BSA a una concentración de 1:1000. Se hicieron nuevamente tres lavados con Tritón-PBS por diez minutos cada uno y se incubaron los cortes por dos horas con 100µl de anticuerpo secundario anti-conejo acoplado a fluorocromo Alexa Fluor-488 (Thermo Fisher Scientific, A21206) preparado en BSA y con una concentración de 1:1000. Los tejidos se lavaron tres veces nuevamente con Tritón-PBS, durando diez minutos cada lavado. Para analizar la co-expresión de NeuN se añadieron 100µl de anticuerpo monoclonal de ratón anti-NeuN (Millipore, MAB377) a una concentración 1:1000 diluido en BSA y se dejaron incubar por 24 horas en la cámara húmeda. Al día siguiente, se realizaron tres lavados con Tritón-PBS de diez minutos cada uno y se dejaron incubar los cortes con anticuerpo secundario anti-ratón acoplado a fluorocromo Alexa Fluor-555 (Abcam, AB150114) diluido en BSA a una concentración 1:1000 durante dos horas, pasadas las cuales, se realizaron tres últimos lavados con 100µl de Tritón-PBS por diez minutos cada uno.

Finalmente, a cada corte se le agregaron dos gotas de medio de montaje para fluourescencia Vectachield con DAPI (Vector Laboratories), colocando el cubreobjetos sin dejar burbujas en los tejidos. Se eliminó el exceso de líquido en las orillas y se selló con barniz alrededor del cubreobjetos. Todos los cortes a cuantificar se procesaron al mismo tiempo, utilizando las mismas soluciones madre.

Los cortes se observaron con un microscopio Nikon (Eclipse 80i). Se tomaron fotografías con una cámara digital de 12 bits (Nikon). Las imágenes se analizaron con el software Image-Pro Plus Ver. 5.1 y se utilizó el atlas de cerebro de rata (Paxinos y Watson, 2007), para localizar las áreas anatómicas de interés y se cuantificó el área que ocupa la marca fluorescente del receptor CB1. Los filtros usados fueron los correspondientes de acuerdo a cada anticuerpo secundario empleado (Nikon 96310, 96302, 96306) y la amplificación utilizada fue 20X y 40X.

### 6.5. Análisis de datos

Se calculó el porcentaje de respuestas dadas en cada palanca por sujeto a lo largo de las pruebas con demora. Para determinar si existen diferencias entre los grupos, se calculó el área bajo la curva total del porcentaje de respuestas ejecutadas por cada sujeto en la palanca derecha, es decir, aquella que proporcionaba el reforzador más grande y en la que se aumentaba la demora para su entrega. El área bajo la curva se calculó con el método de los trapecios:

$$ABC = (x_2 - x_1) \left[ \frac{(y_1 + y_2)}{2} \right]$$

Donde  $x_1$  y  $x_2$  son demoras sucesivas, mientras que  $y_1$  y  $y_2$  son los valores asociados a dichas demoras (Myerson et al., 2001). Una vez obtenido el ABC, se llevó a cabo un análisis de Kruskal-Wallis, utilizando la edad como factor entre grupos, ya que el grupo de ratas viejas no cumplió con el criterio de normalidad según la prueba Omnibus D'Agostino.

Para analizar las diferencias por edad en la preferencia del reforzador grande con respecto a cada valor de demora, se realizó un ANOVA de una vía o un análisis de Kruskal-Wallis (según el caso).

Para calcular el área que ocupa la marca fluorescente se calibraron las imágenes obtenidas en el microscopio con una amplificación X20 en el software Image-Pro Plus Ver. 5.1, usando como referencia la barra micrométrica de cada fotografía (100 $\mu\text{m}$ ), donde hubo 0.48780487805  $\mu\text{m}$ / pixel. Una vez calibrada, cada imagen se sometió a un proceso de segmentación manual para medir el área que ocupa la señal fluorescente del receptor CB1. En el procedimiento de segmentación manual, se seleccionan los colores basados en un histograma con formato HSI (Hue: Matiz; Saturation: Saturación; Intensity: Intensidad), que permite separar la intensidad del matiz, lo que hace al proceso menos sensible a la sobreposición de regiones que se encuentren en un rango seleccionado. Se tomó en cuenta el valor del Matiz (H) para determinar la señal fluorescente, que está asociado con la longitud de onda dominante (Báez Rojas & Alonso Pérez, 2008). El valor de H mínimo seleccionado como señal en todas las fotografías analizadas fue 55, mientras que el valor máximo fue 72, correspondiente a la tonalidad verde en una escala del 0 al 255.

Para comparar la cantidad de CB1 entre adolescentes, adultos y viejos, se cuantificó en cada foto el área en micras cuadradas ( $\mu\text{m}^2$ ) que ocupó la señal seleccionada y se promediaron los valores de las estructuras bilaterales de cada sujeto. Finalmente, los promedios de los sujetos se compararon entre grupos utilizando una prueba ANOVA de una vía y un análisis de Kruskal-Wallis para los datos que no pasaron las pruebas de normalidad.

Para determinar si hay una relación entre la conducta y el sistema endocanabinoide, se correlacionó para cada sujeto, el área que ocupó la marca de CB1 en el hipocampo con la preferencia del reforzador en los ensayos con 16s de demora, utilizando el coeficiente de correlación de Pearson.

Se consideraron los resultados como significativos con una  $p < 0.05$ . Para las variables del ANOVA en las que se encontraron diferencias estadísticamente significativas, se utilizó la prueba *post hoc* de *Tukey Honest Significance Difference* para determinar si existen diferencias entre los grupos. Para las variables que no pasaron prueba de normalidad, se empleó un análisis Kruskal-Wallis y un análisis *post hoc* de Dunn.

Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el programa GraphPad Prisma.

## 7. Resultados

### 7.1. DDR Área bajo la curva

Se calculó el porcentaje de respuestas ejecutadas en la palanca derecha a partir del tercer día de adquisición y a lo largo de los días de prueba con respecto a las respuestas totales ejecutadas en ambas palancas. Posteriormente se calculó el área bajo la curva de cada sujeto y se tomaron los valores resultantes para realizar un análisis de Kruskal-Wallis (figura 8), ya que el grupo de ratas viejas no cumplió con el criterio de normalidad según la prueba Omnibus D'Agostino. No se encontraron diferencias significativas en los valores del área bajo la curva de acuerdo a la edad de los sujetos ( $p = 0.0639$ ), con una mediana de 1937 para las ratas adolescentes, 3089 para las ratas adultas y 2355 para las ratas viejas.

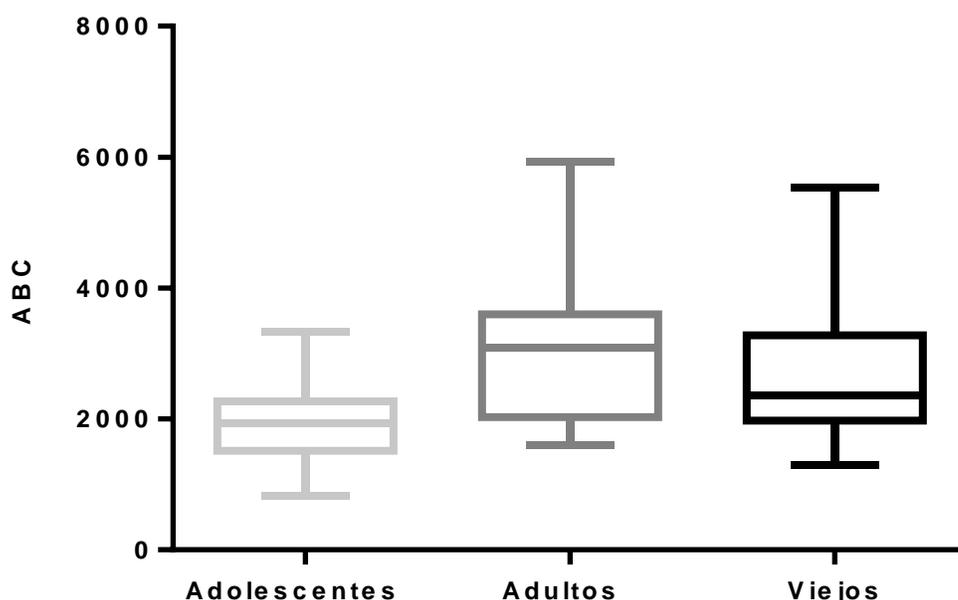


Figura 8. Área bajo la curva del porcentaje de respuestas ejecutadas en el último día de adquisición y los días de prueba de cada grupo (n=10 por grupo). Análisis de Kruskal-Wallis ( $p = 0.0639$ ). Nota: ABC = Área bajo la curva.

## 7.2. DDR porcentaje de respuestas

Se observaron diferencias significativas en la preferencia por el reforzador más grande con 16 segundos de demora, con un ANOVA de una vía y con un valor  $F(2, 27) = 3.405$ ,  $p = 0.0480$ . Un análisis *post hoc* de Tukey arrojó diferencias entre adultos y adolescentes ( $p = 0.0402$ ) (figura 9). No obstante, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de edad, dados los análisis de Kruskal-Wallis realizados para los datos de preferencia sin demora ( $p = 0.9909$ ), con demora de 2 segundos ( $p = 0.3635$ ), 4 segundos ( $p = 0.4854$ ), 8 segundos ( $p = 0.3228$ ) y 64 segundos ( $p = 0.2207$ ). Al realizar un ANOVA para la preferencia con 32 segundos de demora, tampoco se encontraron diferencias entre los grupos ( $p = 0.0798$ ). Se observó un cambio en la preferencia de las palancas conforme aumentaba la demora, mientras que no se encontraron diferencias en el porcentaje de respuestas totales ejecutadas a lo largo de las demoras de acuerdo

al máximo de respuestas posibles, indicando que el desempeño de los sujetos a lo largo de la prueba no se vio afectado (ver apéndice C).

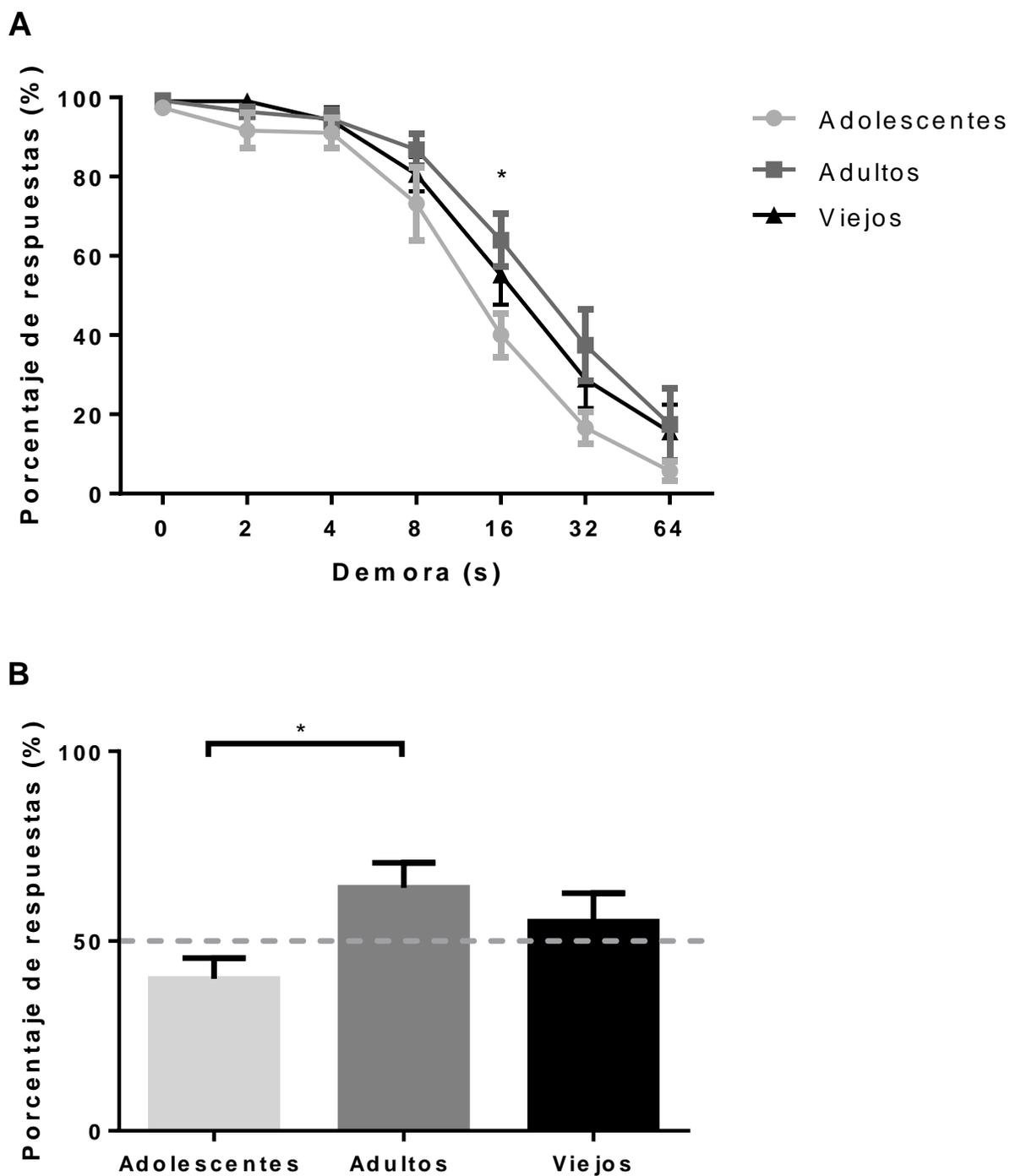
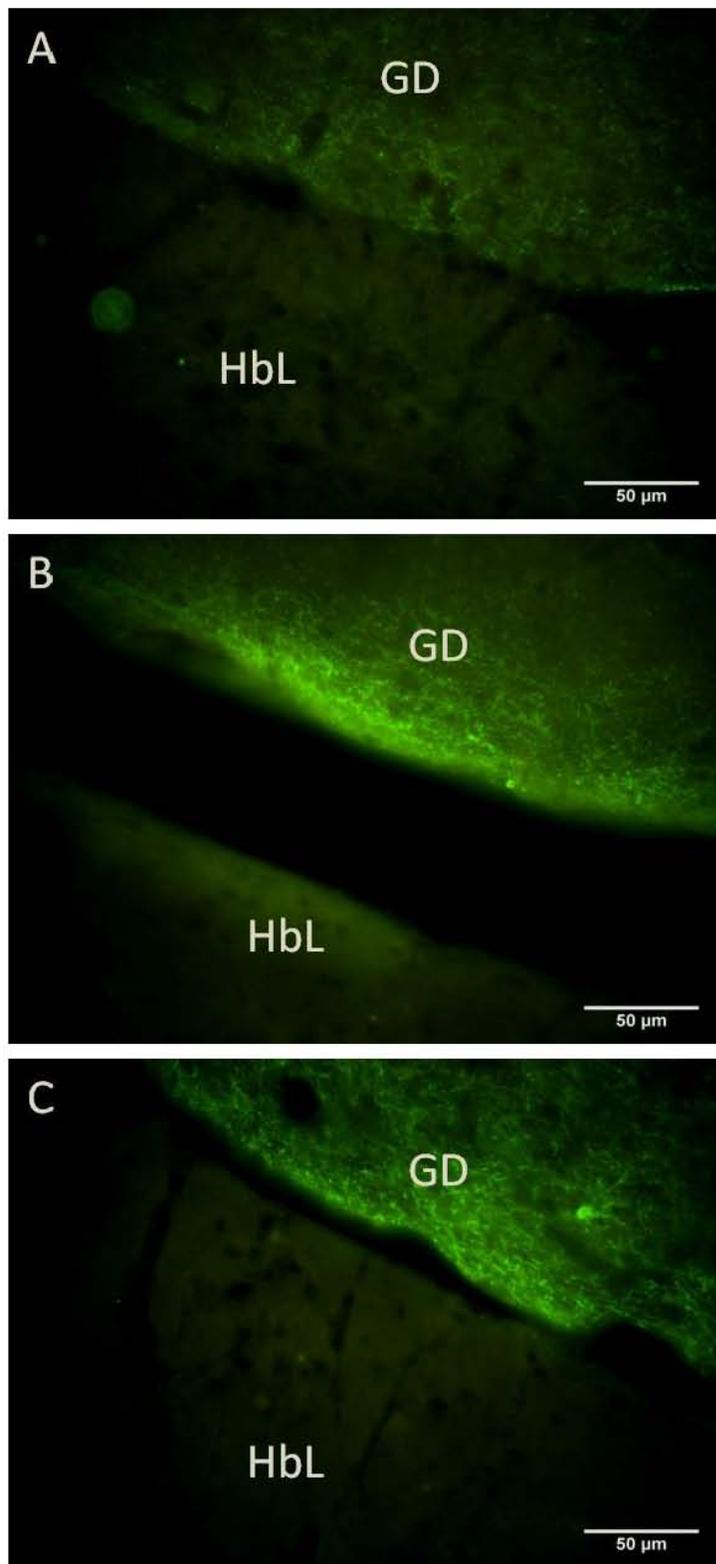


Figura 9. Comparación entre los tres grupos de edad del porcentaje de respuestas de la palanca derecha de acuerdo a cada uno de los valores de demora ( $n=10$  por grupo). Los datos fueron procesados con un ANOVA de una vía o análisis de Kruskal-Wallis (según el caso) (A). Se observaron diferencias significativas entre adolescentes y adultos en el segundo 16 ( $p = 0.0402$ ) (B). Las barras de error indican SEM.

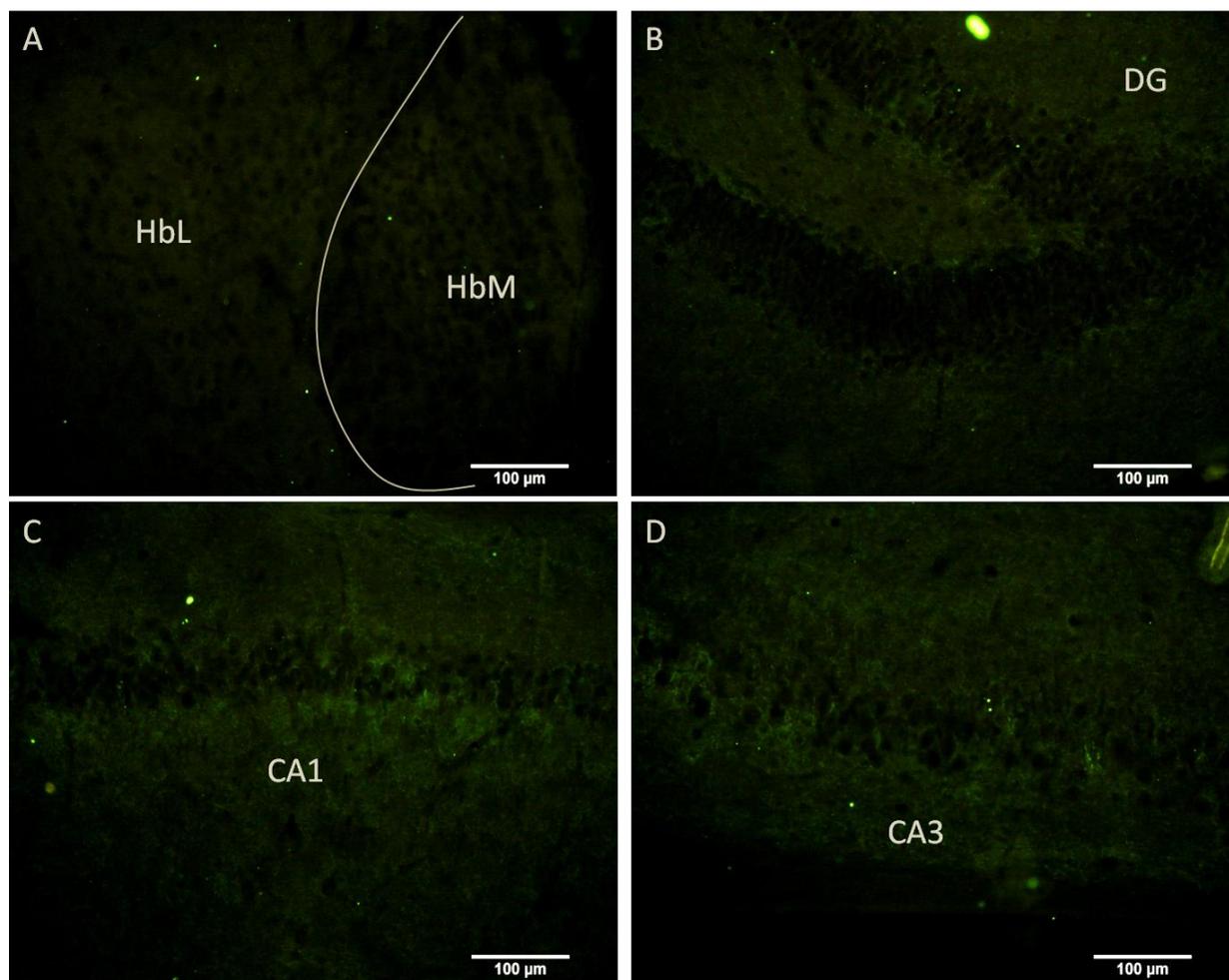
### 7.3. Inmunofluorescencia

En las figura 9 se muestran fotos representativas de laminillas con un corte coronal a una distancia aproximada de -3.30 mm de Bregma, coordenada en la que se puede localizar la habénula en sus porciones tanto medial como lateral y el hipocampo. Las fotos fueron tomadas en un microscopio de fluorescencia con una amplificación 40X y los cerebros corresponden a los sujetos utilizados en las pruebas conductuales. La señal fluorescente verde marca el receptor CB1, la cual se observa en la región del GD del Hip, mientras que la HbL carece de esta marca en los tres grupos.

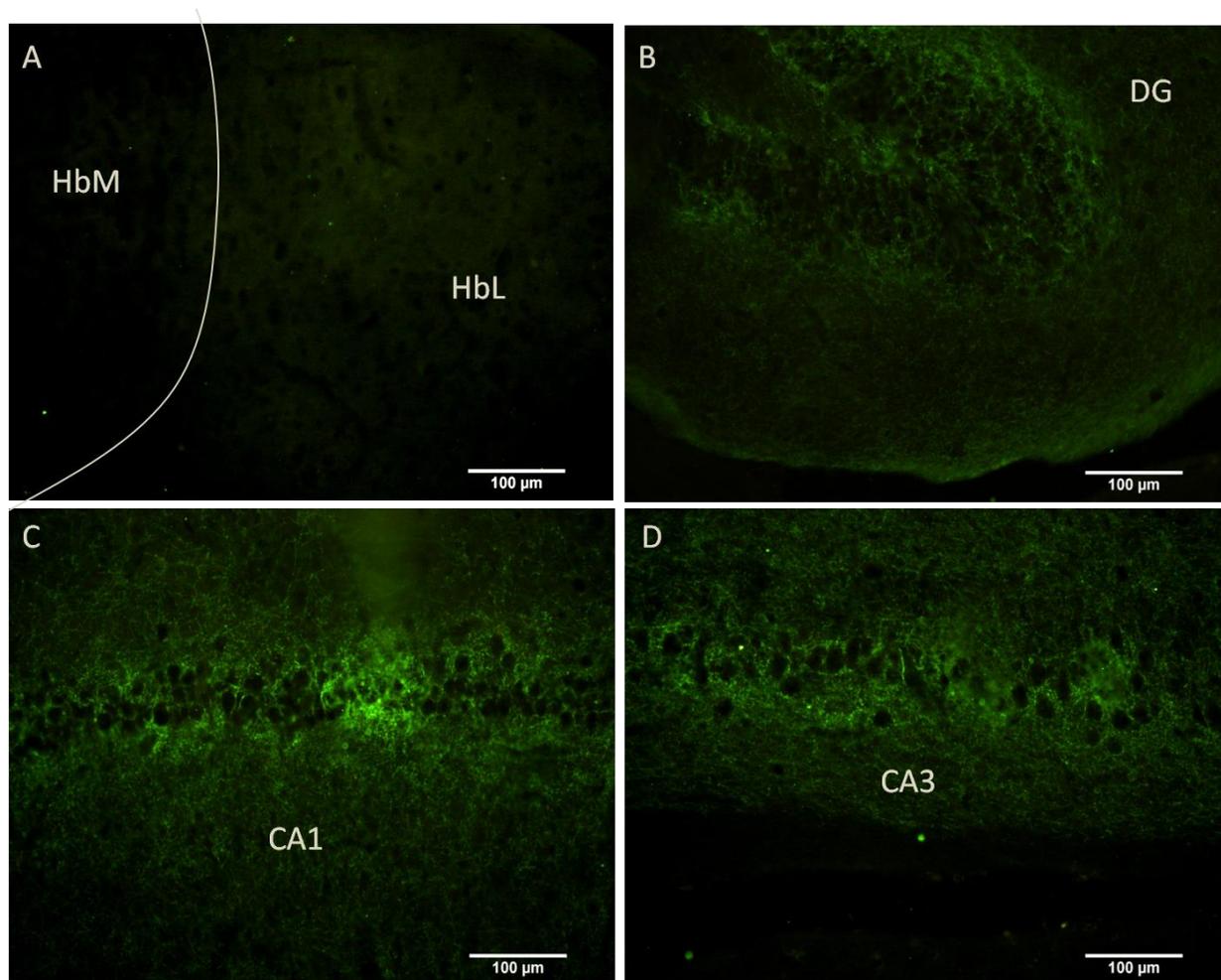


*Figura 10.* Fotografías de la marca fluorescente (verde) de CB1 en un corte coronal del cerebro de un sujeto perteneciente al grupo adolescente (A), al grupo adulto (B) y al grupo de viejos (C). Se puede observar el contraste entre la señal del GD del hipocampo y la habénula lateral, en donde no hay marca visible. Amplificación 40X. HbL, habénula lateral; GD, giro dentado.

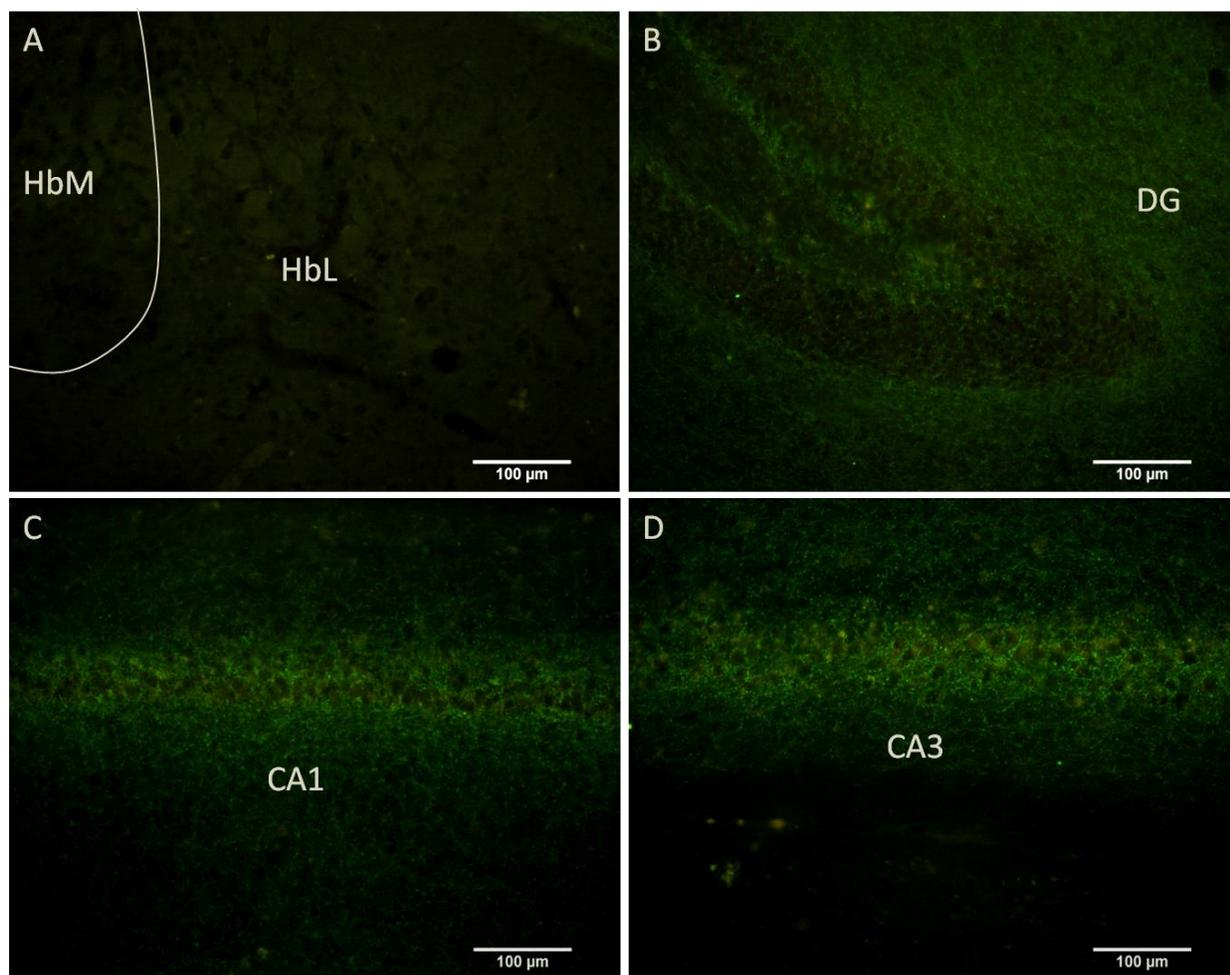
En las figuras 11, 12 y 13 pueden observarse el contraste de la ausencia de señal fluorescente de CB1 en la HbL de una rata adolescente, adulta y vieja, respectivamente, contra la marcada en tres regiones del Hip: cornus ammonis 1 (CA1), cornus amonis 3 (CA3) y giro dentado (GD).



*Figura 11.* Fotografías representativas de la marca fluorescente (verde) de CB1 en un corte coronal del cerebro de un sujeto perteneciente al grupo de adolescentes (Y24), ubicadas en la porción medial y lateral de la habénula (A) y en tres campos del hipocampo: GD (B), CA1 (C) y CA3 (D). En B, C y D se observa el contraste entre la señal del hipocampo contra A, en donde no hay marca visible. Amplificación 20X. HbM, habénula medial; HbL, habénula lateral; CA1, cornus ammonis 1; CA3, cornus ammonis 3; GD, giro dentado.

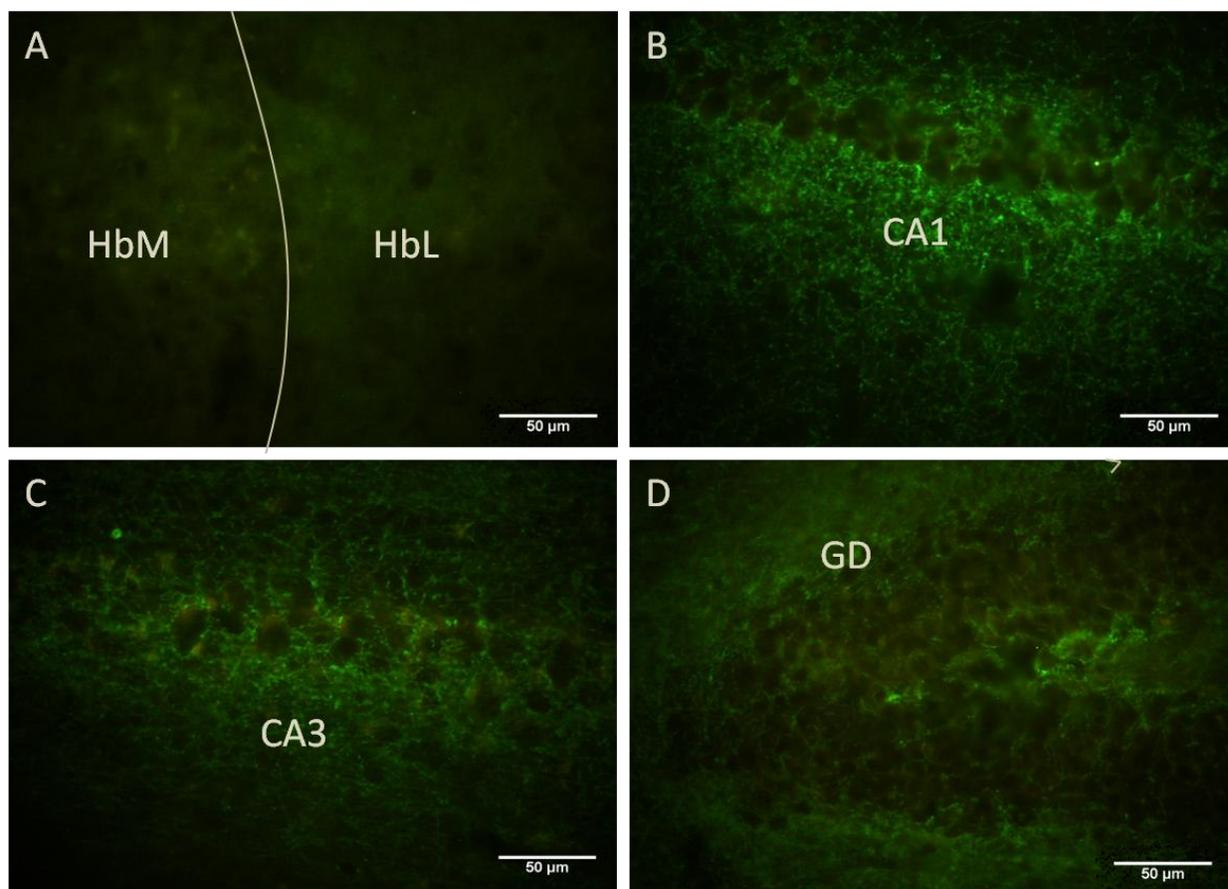


*Figura 12.* Fotografías representativas de la marca fluorescente (verde) de CB1 en un corte coronal del cerebro de un sujeto perteneciente al grupo de adultos (A17), ubicadas en la porción medial y lateral de la habénula (A) y en tres campos del hipocampo: GD (B), CA1 (C) y CA3 (D). En B, C y D se observa el contraste entre la señal del hipocampo contra A, en donde no hay marca visible. Amplificación 20X. CA1, cornus ammonis 1; CA3, cornus ammonis 3; GD, giro dentado; HbM, habénula medial; HbL, habénula lateral.



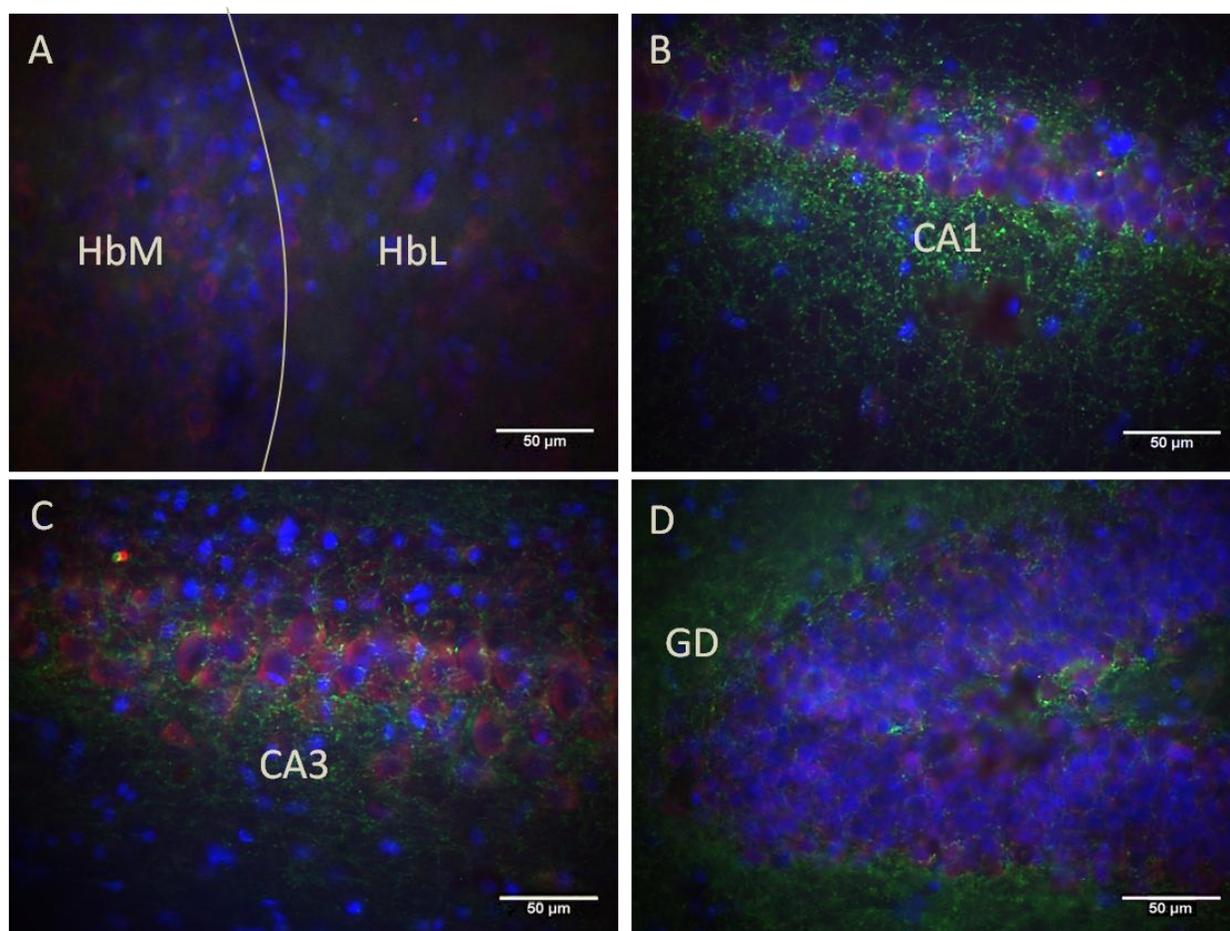
*Figura 13.* Fotografías representativas de la marca fluorescente (verde) de CB1 en un corte coronal del cerebro de un sujeto perteneciente al grupo de viejos (O18), ubicadas en la porción medial y lateral de la habénula (A) y en tres campos del hipocampo: GD (B), CA1 (C) y CA3 (D). En B, C y D se observa el contraste entre la señal del hipocampo contra A, en donde no hay marca visible. Amplificación 20X. CA1, cornus ammonis 1; CA3, cornus ammonis 3; GD, giro dentado; HbM, habénula medial; HbL, habénula lateral.

En la figura 14 puede observarse una microfotografía con amplificación 40X de la laminilla mostrada en la figura 13, donde se observa la ausencia de señal fluorescente de CB1 en la HbL, comparado con la señal en tres regiones del Hip: CA1, CA3 y GD.



*Figura 14.* Fotografías representativas de la marca fluorescente (verde) de CB1 en un corte coronal del cerebro de un sujeto perteneciente al grupo de viejos (O18), ubicadas en la porción medial y lateral de la habénula (A) y en tres campos del hipocampo: GD (B), CA1 (C) y CA3 (D). En B, C y D se observa el contraste entre la señal del hipocampo contra A, en donde no hay marca visible. Amplificación 20X. CA1, cornus ammonis 1; CA3, cornus ammonis 3; GD, giro dentado; HbM, habénula medial; HbL, habénula lateral.

Se realizó una combinación de las tres fotos correspondientes a las marcas de CB1, NeuN y DAPI (figura 15), en las mismas regiones mostradas en la Figura 14. Se puede apreciar la marca fluorescente de NeuN y DAPI, pero la ausencia específica de la señal de CB1 en la HbL.



*Figura 15.* Fotografías representativas de la marca fluorescente (verde) de CB1, de NeuN (rojo) y DAPI (azul), en un corte coronal del cerebro de un sujeto perteneciente al grupo de viejos (O18), ubicadas en la porción medial y lateral de la habénula (A) y en tres campos del hipocampo: CA1 (B), CA3 (C) y GD (D). En B, C y D se observa el contraste entre la señal del hipocampo contra A, en donde no hay marca visible de CB1, pero sí de NeuN y DAPI. Amplificación 40X. CA1, cornus ammonis 1; CA3, cornus ammonis 3; GD, giro dentado; HbM, habénula medial; HbL, habénula lateral.

Para saber si hay diferencias en la expresión de CB1 entre ratas adolescentes, adultas y viejas, se cuantificó el área que ocupa la marca en las tres regiones del Hip mostradas, con el método que se hubiese empleado de haber encontrado marca fluorescente de CB1 en la HbL. Se analizaron las fotos de cinco sujetos de cada grupo.

Para la región del CA1, debido a que los adolescentes no cumplieron con la prueba de normalidad según la prueba Kolmogorov-Smirnov con valor de P corregido Dallal-Wilkinson-Lilliefors, se realizó un análisis Kruskal-Wallis (figura 16), encontrando diferencias significativas

del área que ocupa la marca ( $H(2) = 8.880$ ,  $p = 0.0042$ ), con una mediana de  $29192 \mu\text{m}^2$  para las ratas adolescentes,  $42714 \mu\text{m}^2$  para las ratas adultas y  $76295 \mu\text{m}^2$  para las ratas viejas. Con un análisis de comparaciones múltiples de Dunn, se encontró que la marca de CB1 en CA1 ocupa un área menor en las ratas adolescentes que en las ratas viejas ( $p < 0.05$ ).

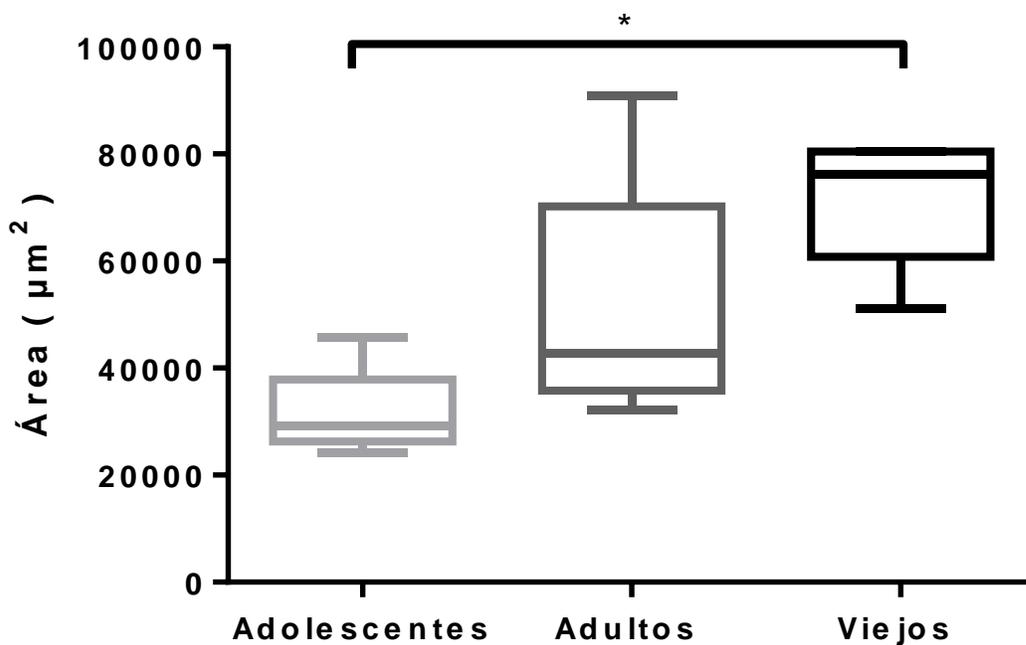


Figura 16. Comparación del área ( $\mu\text{m}^2$ ) que ocupa la marca fluorescente de CB1 en la región CA1 del Hip. en ratas adolescentes, adultas y viejas ( $n=5$  por grupo). Análisis de Kruskal-Wallis. El análisis de comparaciones múltiples de Dunn indica diferencias entre las ratas adolescentes y las ratas viejas  $*p < 0.05$ .

Para la región del CA3, se realizó una prueba ANOVA de una vía. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre adolescentes, adultos y viejos, con una  $p = 0.2598$ .

Para la región del GD, se realizó una prueba ANOVA de una vía (figura 17), encontrando diferencias estadísticamente significativas del área que ocupa la marca fluorescente de CB1,  $F(2, 12) = 9.049$ ,  $p = 0.0040$ . Se realizó una prueba *post hoc* de *Tukey Honest Significance*

*Difference*, encontrando que las ratas viejas tienen un área mayor de marca fluorescente con respecto a los adultos ( $p=0.0456$ ) y a los adolescentes ( $p=0.0033$ ).

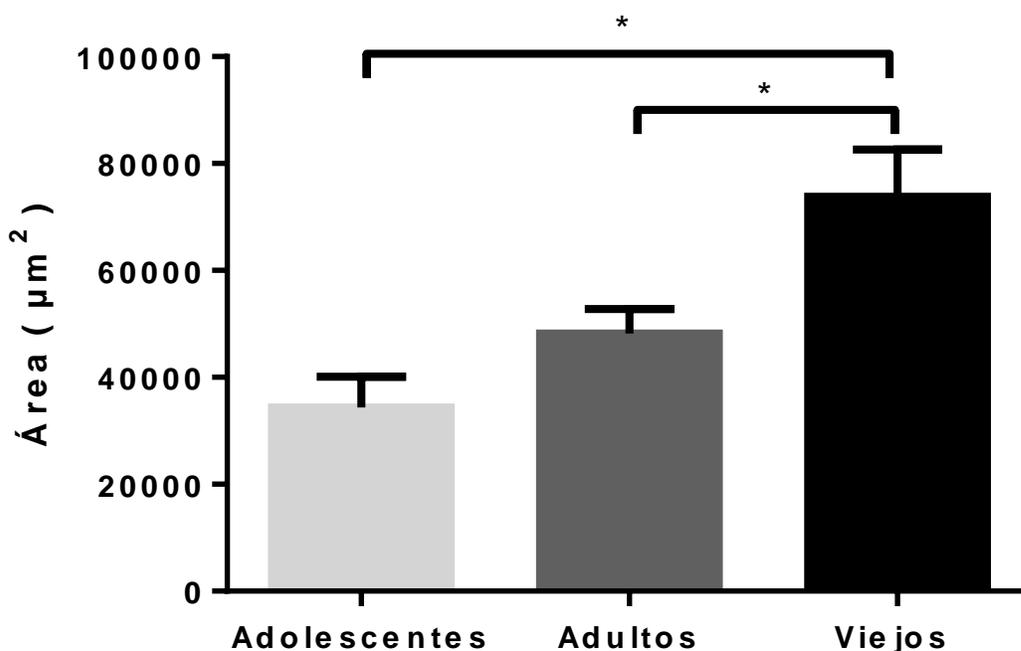


Figura 17. Comparación del área ( $\mu\text{m}^2$ ) que ocupa la marca fluorescente de CB1 en la región GD del Hip. en adolescentes, adultos y viejos ( $n=5$  por grupo). ANOVA de una vía. Las barras de error indican SEM.  $*p<0.05$ .

#### 7.4. Correlaciones

Para determinar si el control de impulsos se encuentra relacionado con la cantidad de CB1 en el hipocampo, se realizó una correlación de Pearson tomando en cuenta el área que ocupaba la marca fluorescente de CB1 de cada región del hipocampo, con la preferencia por el reforzador demorado a los 16 segundos. No hubo asociación entre la preferencia y el área de la marca fluorescente en GD ( $r= 0.04011$ ,  $p= 0.8871$ ), CA1 ( $r= 0.02262$ ,  $p= 0.9362$ ) o CA3 ( $r= -.3645$ ,  $p=0.1817$ ).

## 8. Discusión

Después de realizar la prueba DDR a los grupos experimentales (adolescentes, adultos y viejos) para analizar el control de impulsos se encontró que, los valores del ABC para el grupo de los adolescentes es menor (1937 unidades) que la de los adultos (3089 unidades) y viejos (2355 unidades); sin embargo, la estadística sólo revela una tendencia ( $p= 0.0639$ ).

Se pueden descartar efectos del aprendizaje de presión de palanca o la preferencia por una de ellas, debido a que se ha reportado que no existen diferencias en la memoria de reconocimiento de objetos en ninguno de los tres grupos de edad (Amancio-Belmont et al., 2016).

Estos resultados no pueden ser completamente determinantes debido a que se observa que el rango de los valores del ABC de las ratas adolescentes es más pequeño y tiene valores menores que el rango de valores de las ratas adultas, así como los valores comprendidos entre el 25 y el 75% de la población adolescente. Adicionalmente los valores del ABC de algunas ratas adultas y viejas se extienden a valores mucho más grandes, y en el caso de los adultos, los valores de ABC comprendidos entre el 25 y el 50% de la población están menos dispersos que entre el 50 y el 75%, indicando que los adultos tienen mayor dispersión que los adolescentes, y por lo tanto, presentan tanto alto como bajo control de impulsos.

La gran dispersión de los valores del ABC en adultos y viejos puede deberse a que, como en el ser humano, no todos los adultos y no todos los viejos van a tener un óptimo control de impulsos, lo que ha permitido clasificar a los sujetos que presenten alta impulsividad y baja impulsividad dentro de un mismo grupo de edad (Perry et al., 2005), además, estas diferencias pueden darse por características individuales de las funciones cerebrales y su maduración, como por ejemplo, los encontrados en el sistema dopaminérgico (Dellu et al., 1996; Yates, Darna,

Beckmann, Dwoskin, & Bardo, 2016) o en la funcionalidad de diferentes estructuras que componen el sistema de control de impulsos (Luna et al., 2001).

Probablemente sea necesario clasificar a los sujetos de acuerdo a su ejecución en paradigmas similares que midan el control de impulsos y no sólo ver la prevalencia de las conductas impulsivas como una característica exclusiva de los adolescentes, sino como algo continuo que puede vulnerar a los sujetos de cualquier edad a presentar trastornos mentales, como un TUS.

Haciendo un análisis más detallado de las diferencias entre grupos con respecto a los valores de demora, se encontró que cuando los sujetos tuvieron que esperar 16 segundos para recibir la recompensa, la preferencia de los adolescentes por la recompensa demorada fue significativamente menor que la de los adultos. Estos resultados sugieren que en durante este tiempo de demora, los adolescentes son menos tolerantes a la espera y ejecutan un mayor porcentaje de respuestas impulsivas para obtener el reforzador inmediato, a diferencia de los adultos. En futuros estudios se recomienda tomar en cuenta este intervalo para acotar las posibles diferencias que haya entre los grupos de edad. Así mismo, en todos los grupos, la completa caída de la preferencia del reforzador más grande está cerca del minuto de espera, lo que indica que existe un intervalo específico en el que el reforzador es efectivo y que, en este caso, dicho intervalo no va más allá de un minuto. Dicho rango límite concuerda con los valores de demora utilizados en los procedimientos de reforzamiento (Renner, 1964).

Se ha sugerido que la prevalencia de conductas impulsivas durante la adolescencia, puede ser un mecanismo que facilite la adquisición de conductas necesarias para la independencia de los sujetos y lograr una transición exitosa hacia la edad adulta, a través de la exploración de nuevas situaciones, reforzadores y conductas (Spear, 2000). Sin embargo, esto genera que los sujetos

que ejecutan frecuentemente conductas impulsivas, estén expuestos también a una gran variedad de opciones riesgosas (uso de sustancias, relaciones sexuales sin protección, conducir un automóvil a altas velocidades), principalmente durante la adolescencia, etapa donde la mayoría de los adultos que cumplen con los criterios de un TUS empezaron a consumir (Center for Disease Control, 2017; Roberti, 2004).

La importancia de que el sistema del control de impulsos se desarrolle y disminuya la frecuencia con la que se ejecutan las respuestas impulsivas en situaciones que lo requieran, radica en asegurar la supervivencia del individuo y disminuir las probabilidades con las que se exponga a situaciones riesgosas.

Contrario a lo reportado por Herkenham y cols. (1991), no se observó expresión del receptor CB1 en la HbL, por lo que en este estudio no se encontró relación entre este receptor y el control de impulsos, sin embargo, no descartamos la posibilidad de que otros receptores para canabinoides, como el CB2 o el GPR55 regulen la comunicación entre el EP y la HbL. Así mismo se sugieren otros tipos de análisis moleculares que ayuden a descartar la posibilidad como por ejemplo, inmunohistoquímica o western blot.

Debido a la ausencia del CB1 en la HbL, se realizó la cuantificación de este receptor en las regiones en las que sí se encontró marca fluorescente, para probar la eficacia del método de cuantificación. Cabe señalar que, como se ha reportado previamente (Amancio-Belmont et al., 2016) observamos la expresión de CB1 en el hipocampo (figuras 9, 10, 11 y 12), lo que nos permite descartar algún error dado por el método de inmunofluorescencia. Se seleccionaron las regiones CA1, CA3 y GD del hipocampo, presentes en los cortes trabajados. Se ha sugerido la participación del hipocampo en el control de impulsos, sin embargo, es la región ventral del

hipocampo la que se ha relacionado con el control de impulsos (Dougherty, 2009), lo que explica que no se haya encontrado relación entre la cuantificación del receptor CB1 realizada en la región dorsal y el control de impulsos.

Se sabe que el CB1 está distribuido ampliamente en el cerebro (M Herkenham et al., 1991; Miles Herkenham et al., 1990), sin embargo, hay evidencia que apoya la ausencia del receptor CB1 en las terminales glutamatérgicas de la HbL que proyectan hacia el RMTg, ya que se ha señalado la ausencia de mRNA de CB1 en la HbL mediante hibridación in situ fluorescente (Soria-Gómez et al., 2015).

Adicionalmente, se ha descrito que las células que componen la HbL son principalmente glutamatérgicas y que además poseen ARNm de los receptores a dopamina 2 (D2) y receptores a serotonina tipo 2c (HTr2c) (Aizawa et al., 2012), por lo que habría de considerar la posibilidad de que estos receptores se encarguen de regular la actividad de la HbL. Adicionalmente también habría que desarrollar otros estudios para descartar la participación del CB2.

Debido a la ausencia de receptor CB1 en la HbL fue imposible correlacionar el área bajo la curva de las respuestas ejecutadas por cada sujeto con el área que ocupara la marca de CB1, para encontrar una relación entre la cantidad de CB1 y el control de impulsos. Sin embargo, para probar el método de cuantificación a emplear, se analizaron las fotografías de las regiones del hipocampo en las que sí se encontró marca fluorescente. La menor cantidad de CB1 en el Hip de los adolescentes, replica lo reportado por Amancio-Belmont et al., (2016). Adicionalmente se encontraron diferencias específicamente en GD y CA1, mientras que no se encontraron diferencias en CA3.

## 9. Limitaciones y sugerencias

Ya que no hubo marca de CB1 en la HbL, fue imposible correlacionar su expresión con el ABC de la preferencia por un reforzador grande a pesar de la demora de su entrega y, por lo tanto, no se encontró relación entre la presencia de dicho receptor en la HbL y el control de impulsos.

La falta de marca de NeuN en la mayoría de los tejidos puede deberse a factores como la concentración de los anticuerpos, por lo que una forma de descartar este factor sería aumentándola.

El estudio da pie a relacionar el control de impulsos con la presencia de CB1 en las otras estructuras del circuito, como el EP, la corteza prefrontal, VTA y NAc, a excepción del RMTg, debido a la evidencia que reporta la ausencia de RNAm de CB1 en las células de la HbL.

Debido a la tendencia observada y para determinar si realmente el control de impulsos en las ratas adolescentes no difiere del de ratas adultas y viejas, se sugiere ampliar la N para tener una muestra poblacional más representativa.

## 10. Conclusión

Cuando el reforzador mayor se demora 16 segundos, los adolescentes prefieren en mayor proporción el reforzador inmediato, comparado con los adultos, sugiriendo que los adolescentes son menos tolerantes a la demora del reforzador y por lo tanto, más impulsivos que los adultos.

No se encontró receptor CB1 en la HbL, por lo que éste receptor en dicha estructura no se encuentra involucrado con la regulación del control de impulsos.

## 11. Referencias

- Ainslie, G. (1975). Specious reward: a behavioral theory of impulsiveness and impulse control. *Psychological Bulletin*, 82(4), 463–496. <http://doi.org/10.1037/h0076860>
- Aizawa, H., Kobayashi, M., Tanaka, S., Fukai, T., & Okamoto, H. (2012). Molecular characterization of the subnuclei in rat habenula. *Journal of Comparative Neurology*, 520(18), 4051–4066. <http://doi.org/10.1002/cne.23167>
- Amancio-Belmont, O., Romano-López, A., Ruiz-Contreras, A. E., Méndez-Díaz, M., & Próspero-García, O. (2016). From adolescent to elder rats: Motivation for palatable food and cannabinoids receptors. *Developmental Neurobiology*. <http://doi.org/10.1002/dneu.22472>
- Amlung, M., Petker, T., Jackson, J., Balodis, I., & Mackillop, J. (2017). Steep discounting of delayed monetary and food rewards in obesity : a meta-analysis, (2016), 2423–2434. <http://doi.org/10.1017/S0033291716000866>
- Aron, A. R. (2011). From reactive to proactive and selective control: developing a richer model for stopping inappropriate responses. *Biological Psychiatry*, 69(12). <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.07.024>
- Aron, A. R., Fletcher, P. C., Bullmore, E. T., Sahakian, B. J., & Robbins, T. W. (2003). Stop-signal inhibition disrupted by damage to right inferior frontal gyrus in humans. *Nature Neuroscience*, 6(2), 115–116. <http://doi.org/10.1038/nn1003>
- Aron, A. R., & Poldrack, R. A. (2006). Cortical and Subcortical Contributions to Stop Signal Response Inhibition: Role of the Subthalamic Nucleus. *The Journal of Neuroscience*, 26(9), 2424–2433. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4682-05.2006>
- Báez Rojas, J. J., & Alonso Pérez, M. A. (2008). Uso del sistema HSI para asignar falso color a objetos en imágenes digitales. *Revista Mexicana de Física*, 54(2), 186–192.
- Balcita-Pedicino, J. J., Omelchenko, N., Bell, R., & Sesack, S. R. (2011). The inhibitory influence of the lateral habenula on midbrain dopamine cells: Ultrastructural evidence for indirect mediation via the rostromedial mesopontine tegmental nucleus. *Journal of Comparative Neurology*, 519(6), 1143–1164. <http://doi.org/10.1002/cne.22561>
- Barrot, M., Sesack, S. R., Georges, F., Pistis, M., Hong, S., & Jhou, T. C. (2012). Braking Dopamine Systems: A New GABA Master Structure for Mesolimbic and Nigrostriatal Functions. *Journal of Neuroscience*, 32(41), 14094–14101. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3370-12.2012>
- Brinshawitz, K., Dittgen, A., Madai, V. I., Lommel, R., Geisler, S., & Veh, R. W. (2010). Glutamatergic axons from the lateral habenula mainly terminate on GABAergic neurons of the ventral midbrain. *Neuroscience*, 168(2), 463–476. <http://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.03.050>
- Broos, N., Diergaarde, L., Schoffelmeer, A. N., Pattij, T., & De Vries, T. J. (2012). Trait Impulsive Choice Predicts Resistance to Extinction and Propensity to Relapse to Cocaine Seeking: A Bidirectional Investigation. *Neuropsychopharmacology*, 37(6), 1377–1386. <http://doi.org/10.1038/npp.2011.323>
- Brown, A. J. (2007). Novel cannabinoid receptors. *British Journal of Pharmacology*, 152(5), 567–75. <http://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707481>
- Brown, P. L., Palacorolla, H., Brady, D., Riegger, K., Elmer, G. I., & Shepard, P. D. (2017). Habenula-Induced Inhibition of Midbrain Dopamine Neurons Is Diminished by Lesions of the Rostromedial Tegmental Nucleus. *The Journal of Neuroscience*, 37(1), 217–225.

- <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1353-16.2017>
- Casey, B. J., Getz, S., & Galvan, A. (2008). The adolescent brain. *Developmental Review*, 28(1), 62–77. <http://doi.org/10.1016/j.dr.2007.08.003>.The
- Center for Disease Control. (2017). Substance Use and Sexual Risk Behaviors Among Teens. Retrieved October 20, 2017, from <https://www.cdc.gov/healthyyouth/substance-use/pdf/dash-substance-use-fact-sheet.pdf>
- Charles, N. E., Mathias, C. W., Acheson, A., & Dougherty, D. M. (2017). Preadolescent Sensation Seeking and Early Adolescent Stress Relate to At-Risk Adolescents' Substance Use by Age 15. *Addictive Behaviors*, 69, 1–7. <http://doi.org/10.1016/j.addbeh.2017.01.005>
- Charles, N. E., Ryan, S. R., Bray, B. C., Mathias, C. W., Acheson, A., & Dougherty, D. M. (2016). Altered developmental trajectories for impulsivity and sensation seeking among adolescent substance users. *Addictive Behaviors*, 60, 235–241. <http://doi.org/10.1016/j.addbeh.2016.04.016>
- Christoph, G. R., Leonzio, R. J., & Wilcox, K. S. (1986). Stimulation of the lateral habenula inhibits dopamine-containing neurons in the substantia nigra and ventral tegmental area of the rat. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 6(3), 613–619.
- Dalley, J. W., Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (2011). Impulsivity, Compulsivity, and Top-Down Cognitive Control. *Neuron*, 69(4), 680–694. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.01.020>
- Dellu, F., Piazza, P. V., Mayo, W., Le Moal, M., & Simon, H. (1996). Novelty-Seeking in Rats: Biobehavioral Characteristics and Possible Relationship with the Sensation-Seeking Trait in Man. *Neuropsychobiology*, 34, 136–145.
- Dickman, S. J. (1990). Functional and dysfunctional impulsivity: Personality and cognitive correlates. *Journal of Personality and Social Psychology*, 58(1), 95–102. <http://doi.org/10.1037/0022-3514.58.1.95>
- Doremus-Fitzwater, T. L., Varlinskaya, E. I., & Spear, L. P. (2010). Motivational systems in adolescence: Possible implications for age differences in substance abuse and other risk-taking behaviors. *Brain and Cognition*, 72(1), 114–123. <http://doi.org/10.1016/j.bandc.2009.08.008>
- Dougherty, S. (2009). Contribution of the ventral hippocampus to impulsive behaviour in the rat, 1–54.
- ENCODAT. (2016). *Encuesta Nacional de Consumo de Drogas, Alcohol y Tabaco 2016-2017* (Vol. 2016).
- Evenden, J. (1999). Impulsivity: a discussion of clinical and experimental findings. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 13(2), 180–192. <http://doi.org/10.1177/026988119901300211>
- Evenden, J. L. (1999). Varieties of impulsivity. *Psychopharmacology*, 146(4), 348–361. <http://doi.org/10.1007/PL00005481>
- Evenden, J. L., & Ryan, C. N. (1996). The pharmacology of impulsive behaviour in rats: The effects of drugs on response choice with varying delays of reinforcement. *Psychopharmacology*, 128, 161–170. <http://doi.org/10.1007/PL00005486>
- Fields, H. L., Hjelmstad, G. O., Margolis, E. B., & Nicola, S. M. (2007). Ventral Tegmental Area Neurons in Learned Appetitive Behavior and Positive Reinforcement. *Annual Review of Neuroscience*, 30(1), 289–316. <http://doi.org/10.1146/annurev.neuro.30.051606.094341>
- Fine, A., Steinberg, L., Frick, P. J., & Cauffman, E. (2016). Self-Control Assessments and Implications for Predicting Adolescent Offending. *Journal of Youth and Adolescence*,

- 45(4), 701–712. <http://doi.org/10.1007/s10964-016-0425-2>
- Galvan, A., Hare, T. a, Parra, C. E., Penn, J., Voss, H., Glover, G., & Casey, B. J. (2006). Earlier development of the accumbens relative to orbitofrontal cortex might underlie risk-taking behavior in adolescents. *Journal of Neuroscience*, *26*(25), 6885–6892. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1062-06.2006>
- Galvan, A., Hare, T., Voss, H., Glover, G., & Casey, B. J. (2007). Risk-taking and the adolescent brain: Who is at risk? *Developmental Science*, *10*(2), 8–14. <http://doi.org/10.1111/j.1467-7687.2006.00579.x>
- Geisler, S., & Trimble, M. (2008). The lateral habenula: no longer neglected. *CNS Spectrums*, *13*(November 2014), 484–489. <http://doi.org/10.1017/S1092852900016710>
- Gogtay, N., Giedd, J. N., Lusk, L., Hayashi, K. M., Greenstein, D., Vaituzis, a C., ... Thompson, P. M. (2004). Dynamic mapping of human cortical development during childhood through early adulthood. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*(21), 8174–9. <http://doi.org/10.1073/pnas.0402680101>
- Green, L., Fry, A. F., & Myerson, J. (1994). Discounting of delayed rewards: A life-span comparison. *Psychological Science*, *5*(1), 33–36. <http://doi.org/10.1111/j.1467-9280.1994.tb00610.x>
- Green, L., Myerson, J., Holt, D. D., Slevin, J. R., & Estle, S. J. (2004). Discounting of delayed food rewards in pigeons and rats: is there a magnitude effect? *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, *81*(1), 39–50. <http://doi.org/10.1901/jeab.2004.81-39>
- Green, L., Myerson, J., & McFadden, E. (1997). Rate of temporal discounting decreases with amount of reward. *Memory & Cognition*, *25*(5), 715–723. <http://doi.org/10.3758/BF03211314>
- Haack, A. K., Sheth, C., Schwager, A. L., Sinclair, M. S., Tandon, S., & Taha, S. A. (2014). Lesions of the lateral habenula increase voluntary ethanol consumption and operant self-administration, block yohimbine-induced reinstatement of ethanol seeking, and attenuate ethanol-induced conditioned taste aversion. *PLoS ONE*, *9*(4). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0092701>
- Herkenham, M., Lynn, A. B., Johnson, M. R., Melvin, L. S., de Costa, B. R., & Rice, K. C. (1991). Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *The Journal of Neuroscience*, *11*(2), 563–583.
- Herkenham, M., Lynn, A. B., Litrle, M. D., Johnson, M. R., Melvin, L. S., De Costa, B. R., & Rice, K. C. (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Neurobiology*, *87*(March), 1932–1936. <http://doi.org/10.1073/pnas.87.5.1932>
- Herkenham, M., & Nauta, W. J. H. (1979). Efferent Connections of the Habenular Nuclei in the Rat. *Journal of Comparative Neurology*, *187*, 19–48.
- Huskinson, S. L., Green, L., Myerson, J., & Freeman, K. B. (2015). A procedure for rapid determination of delay discounting of drug and non-drug reinforcers in monkeys. *Drug and Alcohol Dependence*, *146*, e145–e146. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2014.09.313>
- Iannotti, F. A., Di Marzo, V., & Petrosino, S. (2016). Endocannabinoids and endocannabinoid-related mediators: Targets, metabolism and role in neurological disorders. *Progress in Lipid Research*, *62*, 107–128. <http://doi.org/10.1016/j.plipres.2016.02.002>
- Jurado, M. B., & Rosselli, M. (2007). The elusive nature of executive functions: A review of our current understanding. *Neuropsychology Review*, *17*(3), 213–233. <http://doi.org/10.1007/s11065-007-9040-z>

- Kausch, O. (2004). Pathological gambling among elderly veterans. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, *17*(1), 13–9. <http://doi.org/10.1177/0891988703261999>
- Kendall, D., & Alexander, S. (2009). *Neurobiology of the Endocannabinoid System*. United Kingdom: Springer. <http://doi.org/10.1007/978-3-540-88955-7>
- Kollins, S. H. (2003). Delay discounting is associated with substance use in college students, *28*, 1167–1173. [http://doi.org/10.1016/S0306-4603\(02\)00220-4](http://doi.org/10.1016/S0306-4603(02)00220-4)
- Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2010). Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *35*(1), 217–238. <http://doi.org/10.1038/npp.2009.110>
- Lecca, S., Melis, M., Luchicchi, A., Ennas, M. G., Castelli, M. P., Muntoni, A. L., & Pistis, M. (2011). Effects of drugs of abuse on putative rostromedial tegmental neurons, inhibitory afferents to midbrain dopamine cells. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *36*(3), 589–602. <http://doi.org/10.1038/npp.2010.190>
- Lecca, S., Melis, M., Luchicchi, A., Muntoni, A. L., & Pistis, M. (2011). Inhibitory Inputs from Rostromedial Tegmental Neurons Regulate Spontaneous Activity of Midbrain Dopamine Cells and Their Responses to Drugs of Abuse. *Neuropsychopharmacology*, *37*(5), 1164–1176. <http://doi.org/10.1038/npp.2011.302>
- Luna, B., Thulborn, K. R., Munoz, D. P., Merriam, E. P., Garver, K. E., Minshew, N. J., ... Sweeney, J. A. (2001). Maturation of widely distributed brain function subserves cognitive development. *NeuroImage*, *13*(5), 786–93. <http://doi.org/10.1006/nimg.2000.0743>
- Mazur, J. E. (2001). Hyperbolic value addition and general models of animal choice. *Psychological Review*, *108*(1), 96–112. <http://doi.org/10.1037/0033-295x.108.1.96>
- Méndez-Díaz, M., Caynas Rojas, S., Gómez Armas, D., Ruiz-Contreras, A. E., Aguilar-Roblero, R., & Prospéro-García, O. (2013). Endocannabinoid/GABA interactions in the entopeduncular nucleus modulates alcohol intake in rats. *Brain Research Bulletin*, *91*, 31–7. <http://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2012.11.010>
- Meye, F. J., Lecca, S., Valentinova, K., & Mamedi, M. (2013). Synaptic and cellular profile of neurons in the lateral habenula. *Frontiers in Human Neuroscience*, *7*(December), 860. <http://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00860>
- Moeller, F. G., Barratt, E. S., Dougherty, D. M., Schmitz, J. M., & Swann, A. C. (2001). Psychiatric aspects of impulsivity. *American Journal of Psychiatry*, *158*(11), 1783–1793. <http://doi.org/10.1176/appi.ajp.158.11.1783>
- Myerson, J., Green, L., & Warusawitharana, M. (2001). Area under the curve as a measure of discounting. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, *76*(2), 235–243. <http://doi.org/10.1901/jeab.2001.76-235>
- Nambu, A., Tokuno, H., & Takada, M. (2002). Functional significance of the cortico Á subthalamo Á pallidal “ hyperdirect ” pathway. *Neuroscience Research*, *43*, 111–117.
- Odum, A. L. (2011). Delay Discounting: I’m a k, You’re a k. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, *96*(3), 427–439. <http://doi.org/10.1901/jeab.2011.96-423>
- Olmstead, M. C. (2006). Animal models of drug addiction: Where do we go from here? *Q J Exp Psychol (Colchester)*, *59*(4), 625–653. <http://doi.org/10.1080/17470210500356308>
- Olson, E. A., Hooper, C. J., Collins, P., & Luciana, M. (2007). Adolescents’ performance on delay and probability discounting tasks: contributions of age, intelligence, executive functioning, and self-reported externalizing behavior. *Personality and Individual Differences*, *43*(7), 1886–1897.

- Pattij, T., & Vanderschuren, L. (2008). The neuropharmacology of impulsive behaviour. *Trends in Pharmacological Sciences*, 29(4), 192–199. <http://doi.org/10.1016/j.tips.2008.01.002>
- Paus, T. (2005). Mapping brain maturation and cognitive development during adolescence. *Trends in Cognitive Sciences*, 9(2), 60–68. <http://doi.org/10.1016/j.tics.2004.12.008>
- Paxinos, G., & Watson, C. (2007). *The rat brain in stereotaxic coordinates* (7th ed.). Amsterdam: Elsevier. [http://doi.org/10.1016/0166-2236\(87\)90017-8](http://doi.org/10.1016/0166-2236(87)90017-8)
- Perry, J. L., & Carroll, M. E. (2008). The role of impulsive behavior in drug abuse, 1–26. <http://doi.org/10.1007/s00213-008-1173-0>
- Perry, J. L., Larson, E. B., German, J. P., Madden, G. J., & Carroll, M. E. (2005). Impulsivity ( delay discounting ) as a predictor of acquisition of IV cocaine self-administration in female rats. *Psychopharmacology*, 178, 193–201. <http://doi.org/10.1007/s00213-004-1994-4>
- Prospéro-García, O., Amancio-Belmont, O., Becerril Meléndez, A. L., Ruiz-Contreras, A. E., & Méndez-Díaz, M. (2016). Endocannabinoids and sleep. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 71, 671–679. <http://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.10.005>
- Rachlin, H., & Green, L. (1972). Commitment, choice and self-control. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior*, 17(I), 15–22.
- Reed, D. D., Kaplan, B. A., & Brewer, A. T. (2012). a Tutorial on the Use of Excel 2010 and Excel for Mac 2011 for Conducting Delay-Discounting Analyses. *Journal of Applied Behavior Analysis*, 45(2), 375–386. <http://doi.org/10.1901/jaba.2012.45-375>
- Renner, K. E. (1964). Delay of reinforcement: A historical review. *Psychological Bulletin*. Vol 61(5), 61(5), 341–361. <http://doi.org/10.1037/h0048335>
- Roberti, J. W. (2004). A review of behavioral and biological correlates of sensation seeking. *Journal of Research in Personality*, 38(3), 256–279. [http://doi.org/10.1016/S0092-6566\(03\)00067-9](http://doi.org/10.1016/S0092-6566(03)00067-9)
- Rodriguez de Fonseca, F., Ramos, J. A., Bonnin, A., & Fernandez-Ruiz, J. J. (1993). Presence of cannabinoid bonding sites in the brain from early postnatal ages. *Neuroreport*, 4(2), 135–138.
- Romer, D. (2010). Adolescent Risk Taking, Impulsivity, and Brain Development: Implications for Prevention Daniel. *Developmental Psychobiology*, 52(3), 263–276. <http://doi.org/10.1002/dev.20442>.Adolescent
- Romero, E., Gómez-Fraguela, J. A., Luengo, M. A., & Sobral, J. (2003). The Self-Control Construct in the General Theory of Crime: An Investigation in Terms of Personality Psychology. *Psychology, Crime & Law*, 9(1), 61–86. <http://doi.org/10.1080/10683160308142>
- Ryberg, E., Larsson, N., Sjögren, S., Hjorth, S., Hermansson, N.-O., Leonova, J., ... Greasley, P. J. (2007). The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *British Journal of Pharmacology*, 152(7), 1092–101. <http://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707460>
- Sanchez-Alavez, M., & Ehlers, C. L. (2015). Event-related oscillations (ERO) during an active discrimination task: Effects of lesions of the nucleus basalis magnocellularis. *International Journal of Psychophysiology*. <http://doi.org/10.1016/j.ijpsycho.2015.02.010>
- Schultz, W., Dayan, P., & Montague, P. R. (1997). A Neural Substrate of Prediction and Reward. *Science*, 275(5306), 1593–1599. <http://doi.org/10.1126/science.275.5306.1593>
- Selemon, L. D. (2013). A role for synaptic plasticity in the adolescent development of executive function. *Transl Psychiatry*, 3(3), e238. <http://doi.org/10.1038/tp.2013.7>
- Shabel, S. J., Proulx, C. D., Trias, A., Murphy, R. T., & Malinow, R. (2012). Input to the Lateral Habenula from the Basal Ganglia Is Excitatory, Aversive, and Suppressed by Serotonin.

- Neuron*, 74(3), 475–481. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2012.02.037>
- Shulman, E. P., Harden, K. P., Chein, J. M., & Steinberg, L. (2015). Sex differences in the developmental trajectories of impulse control and sensation-seeking from early adolescence to early adulthood. *Journal of Youth and Adolescence*, 44(1), 1–17. <http://doi.org/10.1007/s10964-014-0116-9>
- Soria-Gómez, E., Busquets-Garcia, A., Hu, F., Mehidi, A., Cannich, A., Roux, L., ... Marsicano, G. (2015). Habenular CB1 Receptors Control the Expression of Aversive Memories. *Neuron*, 88(2), 306–313. <http://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.08.035>
- Spear, L. P. (2000). The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(4), 417–463. [http://doi.org/10.1016/S0149-7634\(00\)00014-2](http://doi.org/10.1016/S0149-7634(00)00014-2)
- Steinberg, L. (2008). A social neuroscience perspective on adolescent risk-taking. *Developmental Review*, 28(1), 78–106. <http://doi.org/10.1016/j.dr.2007.08.002>
- Steinberg, L. (2010). A dual systems model of adolescent risk-taking. *Developmental Psychobiology*, 52(3), 216–224. <http://doi.org/10.1002/dev.20445>
- Tamam, L., Bican, M., & Keskin, N. (2014). Impulse control disorders in elderly patients. *Compr Psychiatry*, 55(4), 1022–1028. <http://doi.org/10.1016/j.comppsy.2013.12.003>
- UNODC. (2016). *World Drug Report. United Nations publication*. Retrieved from [http://www.unodc.org/doc/wdr2016/WORLD\\_DRUG\\_REPORT\\_2016\\_web.pdf](http://www.unodc.org/doc/wdr2016/WORLD_DRUG_REPORT_2016_web.pdf)
- van Gaalen, M. M., van Koten, R., Schoffeleer, A. N. M., & Vanderschuren, L. J. M. J. (2006). Critical Involvement of Dopaminergic Neurotransmission in Impulsive Decision Making. *Biological Psychiatry*, 60(1), 66–73. <http://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.06.005>
- WHO. (2016). WORLD HEALTH STATISTICS SDG s. Retrieved from [http://www.who.int/gho/publications/world\\_health\\_statistics/en/](http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/en/)
- Winstanley, C. A., Dalley, J. W., Theobald, D. E. H., & Robbins, T. W. (2003). Global 5-HT depletion attenuates the ability of amphetamine to decrease impulsive choice on a delay-discounting task in rats. *Psychopharmacology*, 170(3), 320–331. <http://doi.org/10.1007/s00213-003-1546-3>
- Winstanley, C. A., Eagle, D. M., & Robbins, T. W. (2006). Behavioral models of impulsivity in relation to ADHD: Translation between clinical and preclinical studies. *Clinical Psychology Review*, 26(4), 379–395. <http://doi.org/10.1016/j.cpr.2006.01.001>
- Yates, J. R., Darna, M., Beckmann, J. S., Dwoskin, L. P., & Bardo, M. T. (2016). Individual differences in impulsive action and dopamine transporter function in rat orbitofrontal cortex. *Neuroscience*, 313, 122–129. <http://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.11.033>
- Zapata, A., Hwang, E.-K., & Lupica, C. R. (2017). Lateral Habenula Involvement in Impulsive Cocaine Seeking. *Neuropsychopharmacology*, 42286(10), 1103–1112. <http://doi.org/10.1038/npp.2016.286>

## 12. Apéndice A: Consumo de alimento de adolescentes

En la figura 1 se puede observar el porcentaje de consumo de alimento de un grupo piloto de ratas adolescentes durante las sesiones de entrenamiento, con respecto a la cantidad máxima de alimento disponible [(60 ensayos x 5 pellets) x 0.045 gr = 13.5 gr]. La cantidad de alimento se obtuvo tomando en cuenta las respuestas ejecutadas en ambas palancas y restando la cantidad de alimento que los sujetos dejaron {[ (número de respuestas palanca derecha x 5) + (número de respuestas palanca izquierda)] x 0.045 gr} – (número de pellets sin consumir x 0.045 gr). Los sujetos sólo alcanzan a ingerir durante los 30 minutos del ensayo. Consumiendo un máximo promedio de 57.27 % del alimento disponible en el DP 38.

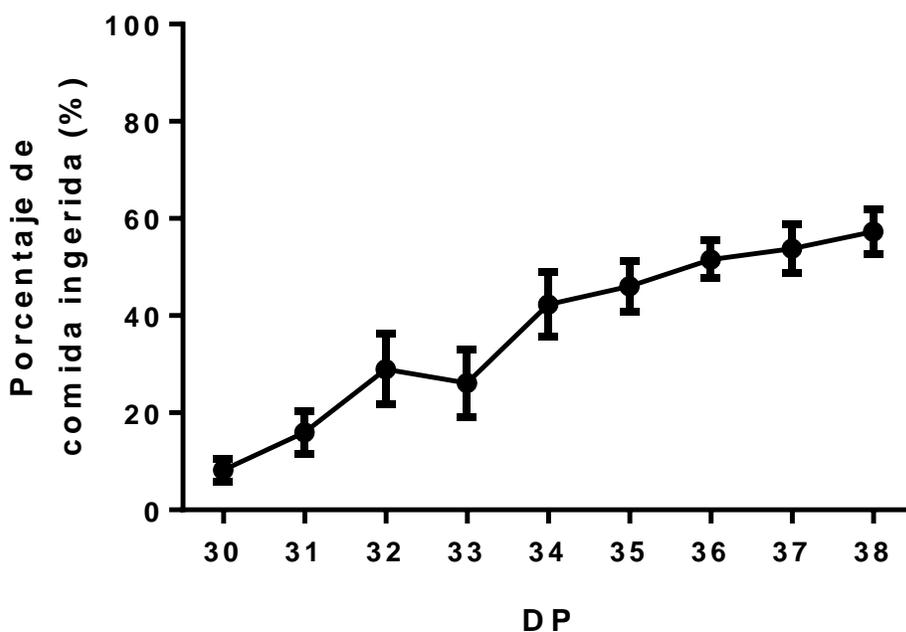


Figura 1. Porcentaje de comida ingerida por un grupo piloto de ratas adolescentes durante la fase de entrenamiento, con respecto a la cantidad máxima de alimento disponible (n=12). Nota: DP = Días posnatales. Las barras de error representan SEM.

En la figura 2A se muestra el porcentaje de respuestas ejecutadas en la palanca derecha durante la fase de entrenamiento, con respecto al total de ensayos posible, esto es, [(número de

ensayos \*100)/60 ensayos]. Los sujetos ejecutaron un promedio máximo de 56.52% de las respuestas en el DP 38. En la figura 2B se muestra el porcentaje de respuestas ejecutadas en la palanca izquierda con respecto al total de ensayos posible. Los sujetos no alcanzaron a cumplir los criterios de adquisición estipulados para las ratas adultas y viejas, por lo que se decidió reducir el número de ensayos al 50% para el grupo de ratas adolescentes.

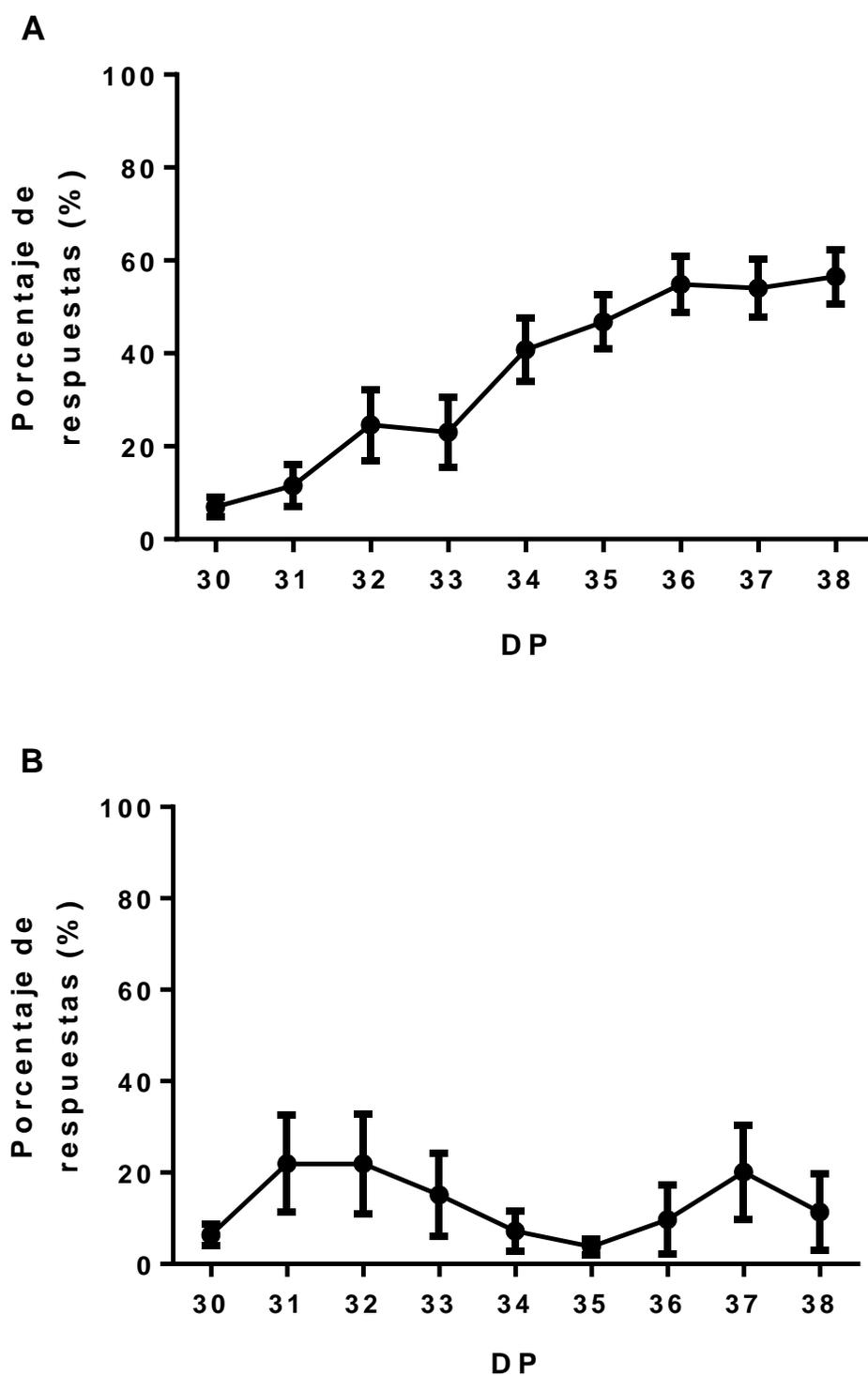


Figura 2. Porcentaje de respuestas ejecutadas durante la fase de entrenamiento por un grupo piloto de ratas adolescentes en la palanca derecha (A) y la palanca izquierda (B), con respecto al total de respuestas posibles. (n=12). Nota: DP = Días posnatales. Las barras de error representan SEM.

### 13. Apéndice B: Criterios de adquisición

En la figura 1 se muestra el porcentaje de respuestas totales ejecutadas en ambas palancas por los tres grupos durante la fase de entrenamiento. La línea punteada indica el primer día de adquisición, es decir, la ejecución de al menos un 80% de respuestas del máximo de los ensayos permitidos. Se observa que la respuesta se mantiene durante los dos días posteriores en todos los grupos.

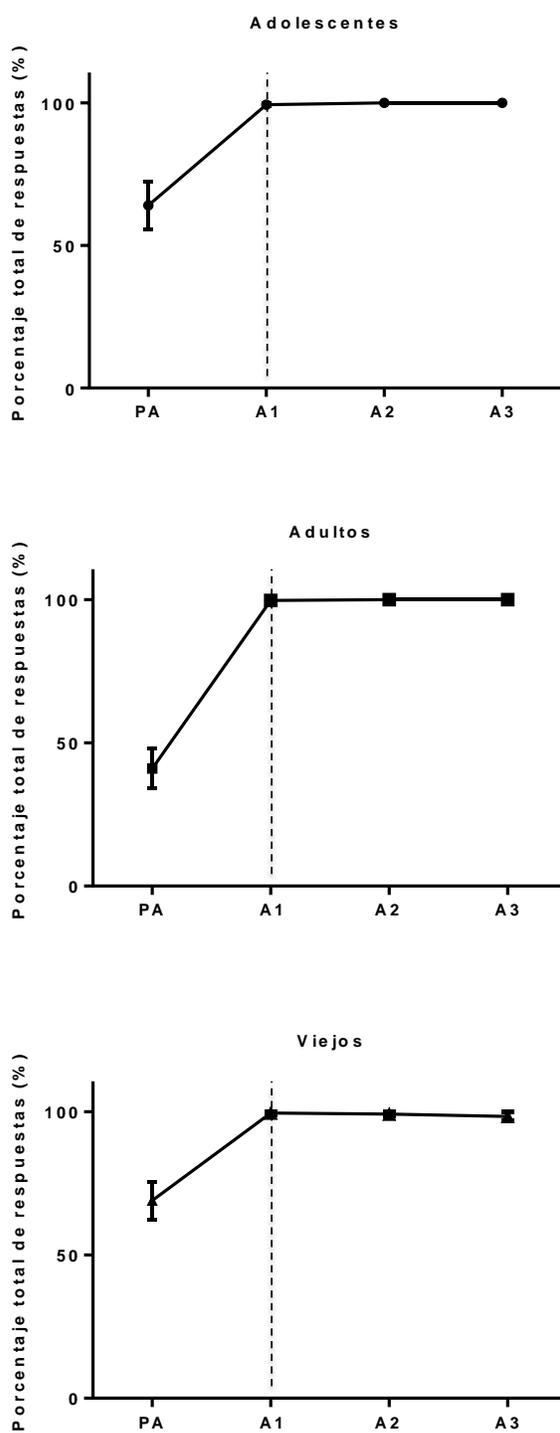


Figura 1. Porcentaje de respuestas totales ejecutadas por los tres grupos durante la fase de entrenamiento. Las barras de error representan los errores estándar. Nota: PA = Pre-adquisición; A1 = Primer día de adquisición; A2 = Segundo día de adquisición; A3 = Tercer día de adquisición.

En la figura 2 se muestra el porcentaje de respuestas ejecutadas en la palanca derecha durante la fase de entrenamiento. La línea punteada indica el primer día de adquisición, es decir, la ejecución de al menos un 85% de respuestas en la palanca derecha del máximo de los ensayos permitidos. Se observa que la respuesta se mantiene durante los dos días posteriores en todos los grupos.

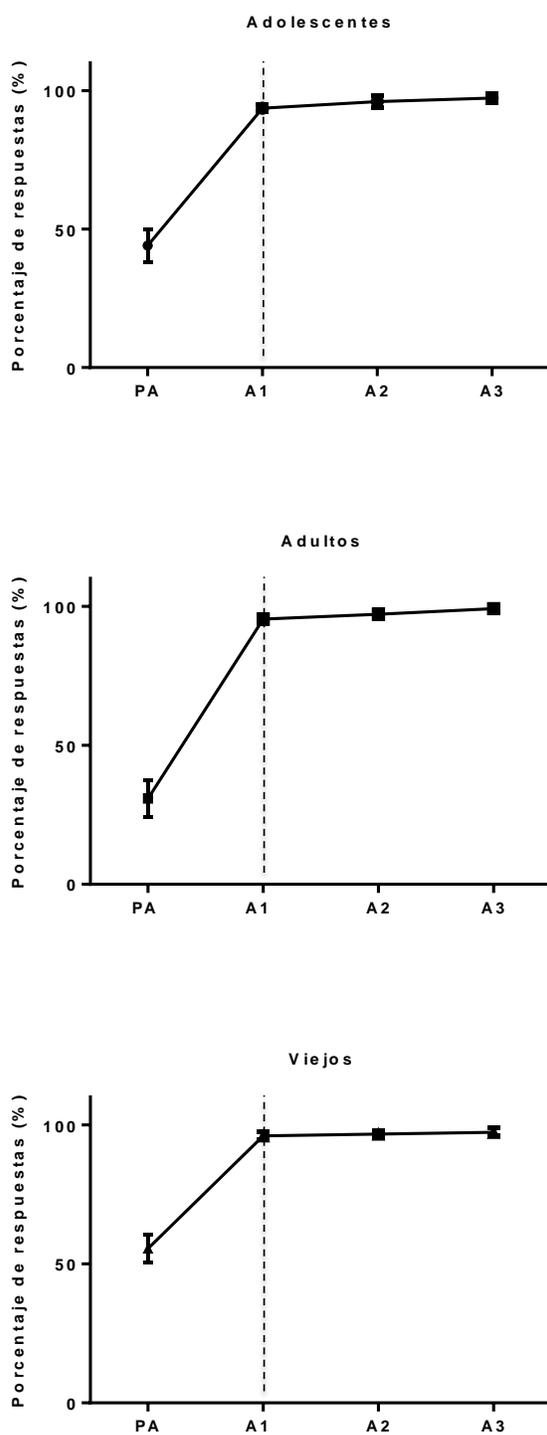


Figura 2. Porcentaje de respuestas ejecutadas en la palanca derecha por los tres grupos durante la fase de entrenamiento. Las barras de error representan los errores estándar. Nota: PA = Pre-adquisición; A1 = Primer día de adquisición; A2 = Segundo día de adquisición; A3 = Tercer día de adquisición.

#### 14. Apéndice C: Respuestas ejecutadas durante prueba

En la figura 1 se muestra el porcentaje de respuestas ejecutadas en la palanca izquierda a lo largo de las sesiones de prueba, con respecto a las respuestas totales ejecutadas. Para detectar interacciones significativas entre los factores, se realizó un ANOVA mixto de dos vías, tomando como factores la edad de los sujetos con tres niveles (adolescentes, adultos y viejos) y la demora en el reforzamiento con seis niveles (0, 2, 4, 8, 16, 32 y 64 segundos). No se encontraron efectos dados por el factor edad ( $p = 0.0789$ ), pero sí por el factor demora ( $p < 0.0001$ ). No hubo interacción entre los factores ( $p = 0.3899$ ).

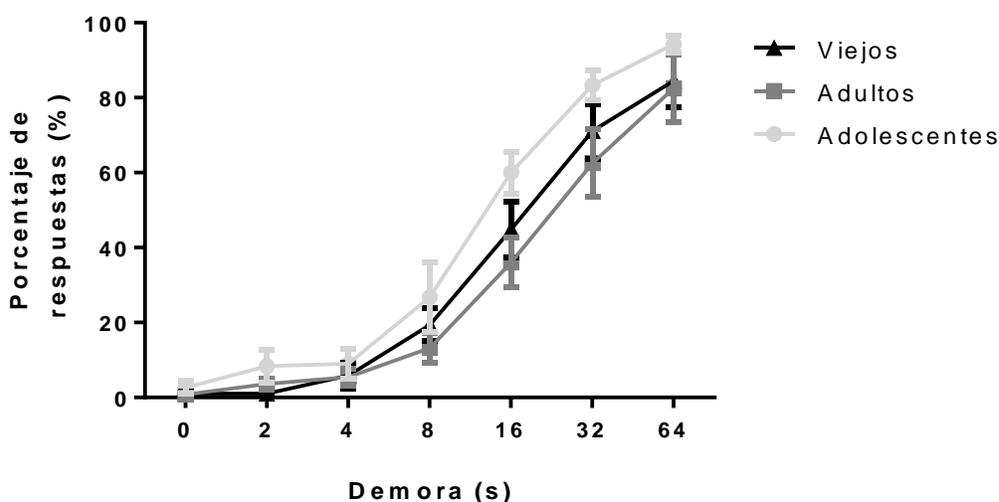
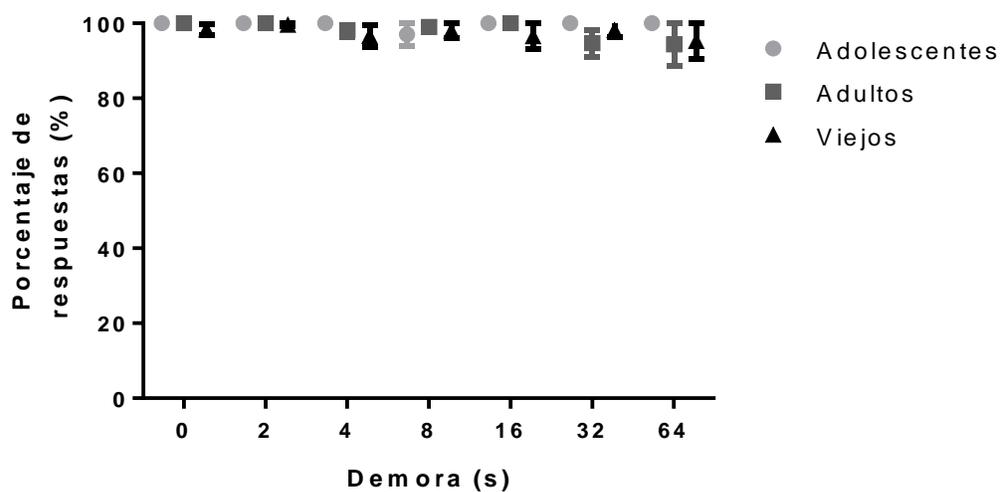


Figura 1. Comparación entre los tres grupos de edad del porcentaje de respuestas de la palanca izquierda de acuerdo a cada uno de los valores de demora ( $n=10$  por grupo). Nota: Las barras de error representan SEM.

En la figura 2 se muestra el porcentaje total promedio de las respuestas ejecutadas por cada grupo de edad a lo largo de las sesiones de prueba, con respecto al máximo de ensayos posibles, esto es, porcentaje de respuestas =  $[(\text{ensayos palanca derecha} + \text{ensayos palanca izquierda}) / \text{número de ensayos posibles}] * 100$ . Para detectar las interacciones significativas entre los factores, se realizó un ANOVA mixto de dos vías, tomando como factores la edad de los sujetos

con tres niveles (adolescentes, adultos y viejos) y la demora en el reforzamiento con seis niveles (0, 2, 4, 8, 16, 32 y 64 segundos). No se encontraron efectos dados por el factor edad ( $p = 0.3763$ ), ni por el factor demora ( $p = 0.5981$ ). Tampoco hubo interacción entre los factores ( $p = 0.8565$ ). Esto indica que no hubo variaciones significativas en el número de respuestas totales ejecutadas a lo largo de la prueba, por lo que no se vio afectado el desempeño de los sujetos.



*Figura 2.* Porcentaje total promedio de las respuestas ejecutadas por cada grupo de edad a lo largo de las sesiones de prueba, con respecto al máximo de ensayos posibles ( $n=10$  por grupo). *Nota:* Las barras de error representan SEM.

## 15. Apéndice D: Consumo de alimento

Consumo total de alimento =  $[(\text{gr}/\text{peso gr}) * 100]$  de las ratas adolescentes, adultas y viejas, dentro de las cámaras operantes durante las sesiones de prueba. En el tercer día de adquisición (Demora 0), el grupo de ratas adolescentes consume en promedio 9.98 gr de alimento por cada 100 gr de peso, mientras que el grupo de ratas adultas consume en promedio 4.73 gr de alimento por cada 100 gr de peso y la ratas viejas consumen en promedio 2.77gr de alimento por cada 100 gr de peso. El consumo de alimento en la demora 0 es muy cercano a lo reportado por Amancio-Belmont et al., (2016), en una tarea de autoadministración de comida con una duración de 30 min y RF 1.

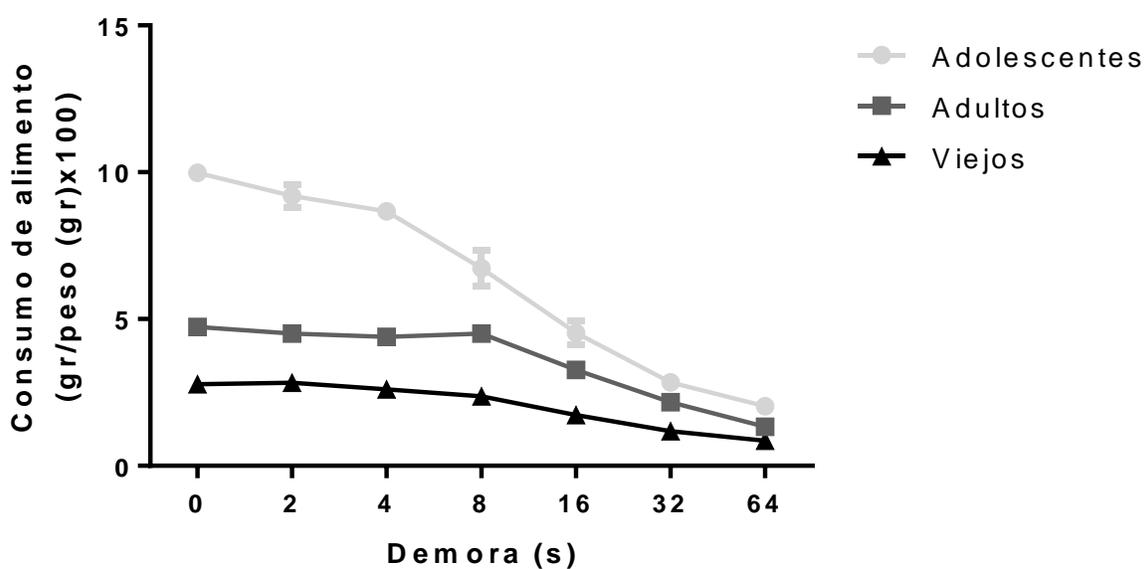


Figura 1. Consumo de alimento los tres grupos de edad, dentro de las cámaras operantes durante las sesiones de prueba (n=10 por grupo). Nota: Las barras de error representan SEM.