

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE PSICOLOGIA
SUBDIRECCION DE POSGRADO E INVESTIGACION**

**MAESTRIA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN PSICOLOGÍA DE LA
SALUD**



**EFFECTO DEL AGONISTA CANNABINOIDE “WIN 212-2” EN RATAS DE LAS
CEPAS LEWIS Y FISCHER 344, EN UN MODELO DE CPP.**

**TESIS COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRIA EN CIENCIAS**

PRESENTA:

LIC. ADRIÁN EMILIO NÚÑEZ CARRANZA

DIRECTOR DE TESIS:

DR. CIRILO HUMBERTO GARCÍA CADENA

MONTERREY, N. L., MEXICO, DICIEMBRE DE 2011

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE PSICOLOGIA
SUBDIRECCION DE POSGRADO E INVESTIGACION

MAESTRIA EN CIENCIAS CON OPCION EN PSICOLOGÍA DE LA SALUD

“La presente tesis titulada “efecto del agonista cannabinoide “WIN 212-2” en ratas de las cepas lewis y fischer 344, en un modelo de CPP.”

Presentada por Adrián Emilio Núñez Carranza ha sido aprobada por el comité de tesis.

Dr. Cirilo Humberto García Cadena

Director de tesis

Dr. José Moral de la Rubia

Revisor de tesis

Dr. Emilio Ambrosio Flores

Revisor de tesis

Monterrey, N. L., México, diciembre de 2011

DEDICATORIA

Uno o dos párrafos donde se especifique a quién se dedica la tesis, puede ser a los papás, a los hijos, al esposo, a dios, etc.

AGRADECIMIENTOS

Una hoja con párrafos donde se especifique a quien se agradece por contribuir a la realización de la tesis. Por ejemplo al director de la tesis, a los sinodales, al director, a CONACYT, a los que participaron en el estudio, a la institución donde se realizó el estudio, etc. Ej.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue analizar en base a un modelo de la preferencia del lugar, si el cannabinoide sintético WIN 52, 212-2 produce propiedades adictivas en ratas de las cepas Lewis y Fisher 344. Los resultados indicaron que en base a la dosis administrada (0.05 ml.) los animales mostraron aversión al lugar, sugiriendo así, que a dosis elevadas el cannabinoide sintético WIN 52,212-2 produce un efecto aversivo. Estos datos concuerdan con otros estudios que muestran los efectos aversivos del WIN 52,212-2 en un rango similar de dosis.

Palabras clave: Cannabinoides, WIN 52,212-2, Lewis, Fisher 344.

ABSTRACT

The aim of this study was to analyze, based on a preference place model, if the synthetic cannabinoide WIN 52,212-2 produces addictive properties in rats of the Lewis and Fisher 344 strains. The results indicated that based on the administered dose (0.05 ml.) animals showed place aversion, suggesting that at high doses the synthetic cannabinoide WIN 52,212-2 produces an aversive effect. This data is consistent with other studies showing the aversive effects of WIN 52,212-2 in a similar range of doses.

Key words: Cannabinoides, WIN 52,212-2, Lewis, Fisher 344.

INDICE

Agradecimientos.....	v
Resumen.....	vii
CAPITULO I	9
INTRODUCCIÓN	9
1.1. Antecedentes.	9
1.2. Planteamiento del problema.	11
1.3. Justificación.	13
Objetivos.	15
CAPITULO II	16
MARCO TEÓRICO	16
2.1 Los Cannabinoides como Drogas de Abuso	16
2.1.1 Consumo de cannabinoides.	16
2.1.2 Propiedades reforzantes de los cannabinoides.	18
2.1.3 Mecanismo de recompensa y sistema cannabinoide.	22
2.2. Sistema Cannabinoide Endógeno.....	24
2.2.1. Receptores cannabinoides.	24
2.2.2. Funcionalidad de los receptores CB1 Y CB2.	26
2.3. Efectos Fisiológicos de los Cannabinoides.	28
2.3.1. Control de la ansiedad y otras conductas emocionales.....	28
2.3.3. Efectos psicológicos	29
2.4. Trastornos psiquiátricos inducidos por el consumo de cannabis.	30
2.4.1. Consumo de cannabis y esquizofrenia.	31
2.4.2. Psicosis cannábica.	33
2.5. Modelo del condicionamiento a la preferencia del lugar.	35
2.5.1. Desarrollo del CPP.	35
2.5.2. Conditioned place preferente (CPP).....	36
CAPITULO III	38
METODO	38
3.1. Condicionamiento de la preferencia del lugar (CPP).	38
3.1.1. Sujetos.	38
3.1.2. Procedimiento.....	38
3.1.3. Dosis y Compuestos cannabinoides empleados.	40

CAPITULO IV.....	42
ANÁLISIS Y RESULTADOS	42
4. Análisis descriptivos.....	42
CAPITULO V.....	47
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	47
BIBLIOGRAFIA.....	49

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes.

Desde hace varios años existe polémica en la literatura sobre el potencial adictivo de las sustancias cannabinoides. Para esclarecer este debate, se han desarrollado modelos animales de administración de cannabinoides que han obtenido resultados variables. El modelo del condicionamiento de la preferencia del lugar CPP (por sus siglas en ingles: conditioned place preference), fue desarrollado por primera vez en 1940 por Spragg. En ese estudio Spragg les inyectó morfina a chimpancés hasta volverlos dependientes a la sustancia. Posteriormente se les dio a escoger a los animales entre una caja blanca con su dosis diaria de morfina o una caja negra con bananas. Cuando se les abstenía de la droga, los chimpancés mostraban preferencia por abrir la caja blanca con la dosis, pero cuando estos ya habían sido inyectados con su dosis diaria de morfina, preferían abrir la caja negra con la banana. Basado en los experimentos de Spragg, Beach (1957) trabajó induciendo morfina en ratas, utilizando laberintos donde el animal encontraba la droga. Finalmente concluyó que la dependencia física no es requisito previo para la obtención de un CPP. Siguiendo esas demostraciones Rossi y Reid (1976) elaboraron un procedimiento más restringido, donde vinculaban a la rata inducida con morfina en un cuarto y con suero salino en otro. Hasta la fecha este procedimiento ha sido adoptado por gran cantidad de los estudios de CPP que se han llevado a cabo, con ciertas modificaciones.

El condicionamiento a la preferencia del lugar, ha resultado exitoso sobre todo con drogas como la morfina o la cocaína (Campbell, Word & Spear, 2000; Brabant, Quertemont & Tirelli, 2005; Zakharova, Leoni, Kichko & Izenwasser, 2009), a diferencia de los cannabinoides que ha sido difícil condicionar la preferencia del lugar (Polissidis et al. 2009). Hasta la fecha no se ha logrado establecer una dosis clara en el CPP con cannabinoides.

El trabajo en laboratorio con Δ -9 Tetrahidrocannabinol, (principal componente psicoactivo de la marihuana), en ratas no parece tener propiedades reforzantes puesto que no es autoadministrado por dichos animales. No obstante, otros agonista cannabinoide, como lo es el WIN 55,512-2, al ser autoadministrado por las ratas de la cepa Long-Evans, sugiere que esta sustancia cannabinoide podría tener propiedades reforzantes que podrían llevar al abuso de la misma e incluso a la adicción. Por otra parte, durante los últimos años se viene enfatizando el papel fundamental que los componentes genéticos tienen a la hora de explicar la vulnerabilidad al consumo de drogas de abuso. Existen varios modelos animales de vulnerabilidad genética al consumo de drogas (Higuera-Matas et al., 2011); estos mismos investigadores han caracterizado las cepas de ratas Lewis y Fischer344 que difieren en su preferencia por estas sustancias. En este sentido las ratas Lewis parecen adquirir antes y de manera más sólida la conducta de autoadministración de varias de las drogas de abuso.

Santiago (2010) sugieren que a nivel neuroquímico, se detectaron mayores niveles de unión a receptores cannabinoides en el globo pálido lateral en la cepa

Fischer344. Concluyó además, que aunque no se pueda hablar de una conducta de autoadministración propiamente dicha, sí observamos una cierta especificidad en la conducta de búsqueda de la droga, que en el caso de las ratas Fischer344 parece depender en parte de los receptores CB1.

Higuera-Matas et al (2010) han investigado las conductas adictivas y sus sustratos neurobiológicos con las mismas cepas de ratas albinas utilizadas en el presente estudio (Lewis y Fischer 344), que son de gran cercanía filogenética, y que a pesar de ello muestran diferencias en la adquisición, mantenimiento, extinción y recaída en la conducta de autoadministración de sustancias de abuso, especialmente a opioides. Basándose en la interconexión de los sistemas opioide y cannabinoide endógenos, y en la similitud genética de ambas cepas, encontraron que en base a la autoadministración de WIN 55,212-2, lograron estudiar las diferencias en la distribución de los receptores cannabinoides en sus cerebros.

1.2. Planteamiento del problema.

El impacto del consumo de cannabis a nivel mundial muestra una tendencia clara en aumento, siendo esta la droga ilegal más consumida a nivel mundial. Gracias a la facilidad de producción en lugares cerrados, hace del cannabis una droga psicoactiva fácil de conseguir en cualesquier parte del mundo. Sin embargo, parece ser que los efectos producidos por dicha droga (siendo el Δ 9-Tetrahidrocannabinol (Δ 9-THC) el químico más psicoactivo de todos los que componen el cannabis), en aquellas personas que hacen de su consumo una constante permanente, presentan consecuencias adversas

que suelen ser preocupantes ya que se relaciona su consumo con diversas enfermedades psiquiátricas tales como la esquizofrenia y/o la psicosis cannábica, que suele presentarse después de un periodo no muy largo de abstinencia, asimismo, el cannabis está ampliamente relacionado con deficiencias cognitivas y motoras que en ocasiones pueden llegar a ser permanentes al igual que en las alteraciones psiquiátricas. Se sabe que dosis elevadas de cannabis predisponen al consumidor a episodios psicóticos transitorios, sin embargo no está claro si el incremento del riesgo de la enfermedad psicótica, persiste después de haber dejado el consumo. Asimismo, existen pruebas evidentes de que el abuso de esta planta por parte de personas sanas es un factor de riesgo para la manifestación clínica de una esquizofrenia y factor desencadenante tanto de la aparición de episodios psicóticos en sujetos predispuestos como de recaídas en esquizofrénicos (D'Souza, 2008a, 2008b; Müller-Vahl, 2008;). En estudios retrospectivos con 229 historias clínicas de individuos que se les había diagnosticado dependencia al cannabis y psicosis, independientemente de la secuencia, encontraron que en 122 casos (49%) estaba presente el trastorno de esquizofrenia. El 69% de los casos restantes, el consumo de la droga precedió al menos al años siguiente inicio de la psicosis (Stenbacka, Allebeck, & Romelsjö, 1993). Otros estudios retrospectivos nos muestran una comorbilidad entre el consumo de cannabis y el trastorno de esquizofrenia (Hambrecht y Hafner, 1996; Cantwell y cols. 1999).

En el marco del consumo, también nos topamos con el constante problema de las recaídas. Basándonos en ello y mediante la revisión de diferentes estudios realizados con ratas de diferentes cepas, diversos investigadores (Polissidis et al, 2009; Brabant, Quertemont, Tirelli, 2005; Braidá, Iosue`, Pegorini, Sala, 2004; Manzanedo, Aguilar,

Rodriguez-Arias, Navarro, Minarro, 2004; Campbell, Wood, Spear, 2000) han utilizado el método del CPP, en el cual se presenta el paradigma clásico propuesto por Pavlov (1929), se espera que las ratas se mostraran condicionadas a permanecer mayor tiempo en el lugar en el que se le haya administrado la sustancia debido a sus efectos placenteros; a lo que en relación a los seres humanos, se propone que estos serán más propensos de volver a consumir la droga regresando al lugar habitual de consumo debido al estímulo reforzante que este le genera.

Como preguntas de investigación nos planteamos, si el agonista cannabinoide sintético WIN 52,212-2 tiene propiedades adictivas reforzantes en las cepas de ratas Lewis y Fischer-344, con un modelo del condicionamiento de la preferencia del lugar, mediante la administración intraperitoneal del agonista sintético WIN 52,212-2. Asimismo nos preguntamos, si esta droga sintética predispone a desarrollar rasgos psicóticos en ambas cepas.

1.3. Justificación.

Se sabe que el consumo de cannabis en etapas juveniles podría servir como “puerta de entrada” para el consumo de otras drogas de abuso en edades adultas (Lynskey, 2002). Con respecto a esto último, existen tan solo en el área metropolitana de Monterrey, alrededor de 237 instituciones que brindan apoyo contra el consumo de drogas. Pero por el contrario, el número de personas adictas va en aumento (SISVEA, 2009). No obstante el número de personas que se dirige a un tratamiento en alguno de estos centros también se ha incrementado (SISVEA, 2009).

El fenómeno del consumo, abuso y dependencia de sustancias psicoactivas legales o ilegales muestra una preocupante evolución. Estas personas presentan importantes alteraciones de su comportamiento, de las relaciones interpersonales y de la afectividad derivadas directa o indirectamente de los efectos de las sustancias y del estilo de vida que llevan (Ochoa, 2006), que terminan por afectar el funcionamiento de la sociedad en general.

Tomando en cuenta que existe evidencia entre los efectos neuronales provocados por el uso de sustancias psicotrópicas y los trastorno de personalidad (Peele, 1985; Sánchez, & Berjano, 1996; Khantzian, 1985 en Sánchez, & Berjano, 1996), así como el hecho de que los cannabinoides, tomados en forma de marihuana o hachís, es la droga ilegal más consumida en el mundo (UNODC, 2011); con respecto a lo anterior es importante mencionar, que los altos índices de consumo en nuestra sociedad, están volviendo de este fenómeno, un hábito que alimenta al crimen organizado, y que a consecuencia de ello trae consigo problemáticas de alto nivel delictivo, que finalmente sufre la sociedad en general.

Sus posibles usos terapéuticos, así como sus consecuencias negativas por su consumo, hace evidente la importancia de realizar investigaciones que aporten más información sobre los mecanismos que rigen este complejo fenómeno de la adicción por los cannabinoides.

Mediante éste estudio, además, se pretende hacer un aporte a conocer las diferencias entre ambas cepas (LEW y F344), que nos acerquen a conocer cuáles son los mecanismos implicados en la vulnerabilidad genética a la drogadicción, ya que ambas

cepas muestran diferencias significativas en el comportamientos adictivo (Kosten y Ambrosio, 2002).

Objetivos.

- A) Evaluar si el agonista cannabinoide sintético WIN 52,212-2 tiene propiedades adictivas en las cepas de ratas Lewis y Fischer-344, con un modelo de administración intravenosa de droga.
- B) Evaluar el condicionamiento de la preferencia del lugar después de habersele inyectado el agonista cannabinoide WIN 52,212-2 a las cepas de ratas Lewis y Fischer-344.
- C) Evaluar si existe alguna predisposición a desarrollar rasgos psicóticos después de un periodo de administración del agonista cannabinoide WIN 52,212-2, en las cepas de ratas Lewis y Fischer-344.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Los Cannabinoides como Drogas de Abuso

2.1.1 Consumo de cannabinoides.

El cannabis es un término genérico usado para referirse a los preparativos de varios psicoactivo de la planta *Cannabis sativa*. El Cannabis Sátiva (nombre científico de la marihuana) contiene más de 400 compuestos químicos, pero solamente 66 de estos compuestos son considerados como cannabinoides (Fusar-Poli, 2011), siendo su principal componente psicoactivo es el Δ^9 -Tetrahidrocannabinol (THC) (Gaoni y Mechoulam, 1964). La 'Marihuana' es el término más frecuentemente usado para referirse a las hojas de cannabis o sus derivados en muchos países del mundo. Las plantas polinizadas mujer se llama *hachís*. El aceite de cannabis (aceite de hachís) es un concentrado de cannabinoides el cual se obtiene mediante extracción del material vegetal crudo o de la resina.

El cannabis es la droga ilegal más utilizada a nivel mundial y la tercera más utilizada después del tabaco y alcohol. Por sus efectos a nivel físico y psicológico se ha usado como droga con fines de rituales, recreativos y terapéuticos desde hace más de 5000 años. En México el consumo de esta droga se consume más que cualesquier otra droga ilegal, y se estima que su consumo total en el país corresponde al 4.4% de la población entre 12 y 65 años de edad (INSP, 2009a).

Los cannabinoides se suelen ingerir fumados en forma de cigarros, denominados popularmente “porros”, o bien por medio de una gran variedad de pipas. Su forma de consumo es inhalando profundamente el humo, manteniéndolo en los pulmones el mayor tiempo posible para maximizar la absorción de sus componentes psicoactivos. Se calcula que un porro suele contener entre 0,5 y 1 gr de cannabinoides (variable según hablemos de marihuana o hachís, este último con mayor concentración en sustancias psicoactivas). La cantidad de THC necesaria para producir efectos en los fumadores oscila entre 2 y 22 mg, lo cual varía mucho según los fumadores sean o no consumidores habituales. Se han realizado estudios para averiguar la cantidad de cannabinoides que llegan finalmente al cerebro (Adams y Martin, 1996), siendo estos una cantidad mínima aproximada de en torno a los 44 microgramos.

El inicio en el consumo de cannabis suele producirse en la adolescencia, período de gran vulnerabilidad y riesgo en el que muchos jóvenes experimentan con diferentes sustancias de abuso (Fergusson y Horwood, 2000; Laviola et al., 1999; Morral et al., 2002). Sin embargo, aunque son muchos los jóvenes que se inician en el consumo de cannabinoides, son pocos los que se convierten en consumidores regulares: la mayoría de los jóvenes suele dejar el consumo entre los 20 y los 30 años de edad. Se considera que solamente un 10% de los que se inician en el consumo de cannabis en edades tan tempranas mantendrá después el consumo regular de esta droga.

2.1.2 Propiedades reforzantes de los cannabinoides.

Una forma de estimar el potencial adictivo de una sustancia es mediante el modelo de la autoadministración intravenosa de drogas. Gracias a esta metodología es posible valorar directamente el efecto reforzante de una droga manifestado como el esfuerzo desarrollado por el animal para conseguirla. Usando este paradigma, se han descrito resultados positivos tanto con roedores como con primates (Justinova et al., 2003; Takahashi y Singer, 1979), que muestran un comportamiento adictivo por la sustancia. También cuando se han empleado potentes agonistas como el WIN 55,512-2 se ha comprobado que los sujetos se autoadministraban esa sustancia (Martellotta et al., 1998). Con otro tipo de técnica, la de autoadministración intracerebroventricular, también se observó que los cannabinoides (concretamente el agonista CP 55,940) eran autoadministrados por los sujetos experimentales (Brida et al., 2001).

Un modelo experimental que permite valorar indirectamente las propiedades adictivas de las drogas es el condicionamiento preferencial al lugar (Schechter y Calcagnetti, 1993; Campbell, Word & Spear, 2000; Brabant, Quertemont & Tirelli, 2005; Zakharova, Leoni, Kichko & Izenwasser, 2009; Polissidis et al. 2009), que asocia determinados ambientes con las acciones reforzantes producidas por una droga. Mediante esta técnica pudo comprobarse que, en la mayoría de los casos, los cannabinoides tenían propiedades aversivas (Chaperon et al., 1998; McGregor et al., 1996; Sanudo-Pena et al., 1997), si bien se encontraron resultados en la dirección contraria a dosis bajas (Lepore et al., 1995).

Por último, mediante el procedimiento experimental de discriminación de drogas

en animales, que se utiliza para la estimación de los efectos subjetivos de las drogas en humanos, se ha comprobado que diferentes especies de animales pueden discriminar el THC frente a otras sustancias (Balster y Prescott, 1992).

No han sido encontradas manifestaciones somáticas de un síndrome de abstinencia espontáneo tras el cese del tratamiento crónico con THC en diferentes especies animales, ni siquiera tras la aplicación de dosis extremadamente elevadas (Aceto et al., 2001; Diana et al., 1998b; McMillan et al., 1970). Además, cuando se usaron otros agonistas cannabinoides se obtuvieron similares resultados (Young et al., 1981). Existen, sin embargo, otros trabajos en los que se apreció un síndrome de abstinencia tras el cese de un tratamiento con WIN 55,212-2 (Aceto et al., 2001; Oliva et al., 2003). Al tener éste una vida media más corta que otros cannabinoides, se ha justificado el síndrome de abstinencia observado en base a las diferencias farmacocinéticas de este agonista.

Por su parte, el antagonista cannabinoide SR-141716^a, tras el consumo continuado de algún agonista cannabinoide, desencadenaba un síndrome de retirada (Aceto et al., 1996; Aceto et al., 2001; Cook et al., 1998; Ledent et al., 1999; Tzavara et al., 2000). Los síntomas de este síndrome en la rata fueron: movimientos de sacudida de tronco y cabeza, temblor generalizado, ataxia, posturas anormales, piloerección, disminución de la actividad locomotora, masticación, lameteo, fricción y rascado. Se sabe que el receptor implicado en estos fenómenos de retirada es el CB1, ya que al utilizar el antagonista SR141716^a sobre ratones *knockout* para dicho receptor, que habían recibido un tratamiento crónico con THC, no se desencadenó ningún signo de

abstinencia (Ledent et al., 1999).

Koob (1996) encontró que cuando se producía abstinencia cannabinoide se observaban cambios bioquímicos similares a los que aparecen en los síndromes de abstinencia de otras drogas, es decir, se producía una neuroadaptación que conllevaba efectos a los observados con el tratamiento agudo de la droga.

Los estudios realizados en humanos revelan que los grandes consumidores de cannabis no padecen un síndrome de abstinencia con sintomatología severa tras la retirada de la droga (Abood y Martin, 1992). Los principales signos de abstinencia que pueden presentarse son irritabilidad, anorexia, dolores, ansiedad y aumento de la vigilia, diarrea, insomnio, sudoración, salivación y temblor (Budney et al., 2004), aunque nunca de forma tan severa como para modificar la vida del individuo (Haney et al., 1999; Jones et al., 1981; Kouri et al., 1999; Kouri y Pope, 2000).

En otros estudios hechos con humanos, se señala la importancia de los factores genéticos para el desarrollo del abuso y la dependencia del cannabis. En un estudio realizado con gemelos, 19 parejas de monocigotos mostraron concordancia para abuso o dependencia, frente a 5 parejas de dicigotos (Kendler y Prescott, 1998). Estos resultados ponen de relieve la importancia de los factores genéticos en los problemas derivados del uso del cannabis.

La administración crónica de diferentes agonistas cannabinoides desarrolla un fenómeno de tolerancia (pérdida de efectos o aumento de la dosis para mantener los

mismos) a la mayor parte de sus respuestas farmacológicas, tal y como se ha demostrado en diferentes especies animales (Abood y Martin, 1992). La tolerancia a los efectos de los cannabinoides se produce sobre un amplio grupo de respuestas: la nocicepción, la actividad locomotora, la temperatura corporal, la evolución del peso corporal, las respuestas cognitivas, etc. (Dalton et al., 2005; Maldonado y Rodriguez de Fonseca, 2002). Este fenómeno puede observarse con gran rapidez en modelos animales, incluso tras la administración de una segunda dosis elevada (Abood y Martin, 1992; Maldonado y Rodriguez de Fonseca, 2002).

Los mecanismos que podrían explicar estos fenómenos de tolerancia son principalmente farmacodinámicos, siendo muy secundario el papel de los mecanismos farmacocinéticos (Martin et al., 1976a; Martin et al., 1976b; Martin et al., 1976c). De entre los procesos farmacodinámicos destacan los relacionados con la regulación a la baja de receptores CB1 o con procesos de desensibilización de los mismos. Así, por ejemplo, se ha visto modificada la expresión de receptores CB1, principalmente una regulación a la baja, en diversas áreas cerebrales durante la administración crónica de agonistas cannabinoides (Oviedo et al., 1993; Rubino et al., 2000). También la administración crónica puede afectar a otros sistemas moleculares como la actividad funcional de las proteínas G acopladas a receptores cannabinoides. Se habla de que los cambios producidos en estas proteínas G están relacionados con fenómenos de desensibilización de los receptores CB1. En este sentido, se vio disminuida la actividad de las proteínas G tras administración de THC o anandamida en diferentes estructuras cerebrales, lo que también podría explicar la tolerancia cannabinoide (Rubino et al., 2000; Sim et al., 1996). Por otro lado, se ha descrito que hay modificaciones en la

capacidad de acoplamiento del receptor CB1 a sus agonistas tras exposiciones prolongadas a cannabinoides (Oviedo et al., 1993; Romero et al., 1995).

También ha sido descrito el fenómeno contrario al de la tolerancia, el de la sensibilización a drogas (aumento de sensibilidad a los efectos de una droga conforme aumenta su consumo), cuando se administraban cannabinoides de manera subcrónica (Cadoni et al., 2001; Rubino et al., 2001; Rubino et al., 2003). Incluso, ha sido descrita una sensibilización cruzada con otras drogas de abuso (Pontieri et al., 2001).

2.1.3 Mecanismo de recompensa y sistema cannabinoide.

En el año 1954, Olds y Milner pusieron en marcha una técnica experimental a la que llamaron autoestimulación eléctrica intracraneal. Con ella pudieron concluir que las áreas cerebrales que respondían más favorablemente a la estimulación eran: bulbo olfatorio, septum, amígdala, núcleo accumbens, hipocampo, corteza entorrinal y prefrontal, hipotálamo lateral y la zona comprendida entre la banda diagonal de Broca hasta la VTA. Con ello se sentaban así las bases para el estudio de uno de los circuitos funcionales y neuroanatómicos más importantes del sistema nervioso central: el mecanismo de recompensa mesocorticolímbico. Este sistema se encarga de codificar el placer y la recompensa en procesos biológicos esenciales para la supervivencia de las especies, como la ingesta de comida, bebida o la actividad sexual, de modo que la satisfacción que sigue a la consecución de estas conductas favorece que se reproduzcan en un futuro. De manera similar este sistema de recompensas cerebral, explica la dependencia al consumo de sustancias tóxicas y conductas adictivas detrás del

fenómeno de la drogadicción.

De entre todos los núcleos mencionados antes, hay dos que tienen una particular importancia en los mecanismos de recompensa, y son la VTA y el NAcc. El neurotransmisor por excelencia relacionado con estos procesos es la DA (dopamina) (aunque otros como la 5-HT, el GABA, el glutamato, la acetilcolina o los péptidos opioides también tienen su importancia) (Koob, 1992; Lupica y Riegel, 2005). Si bien los cannabinoides tienen propiedades reforzantes (Braida et al., 2001), no parece haber una alta densidad de receptores CB1 en estos dos núcleos mencionados. Este receptor es muy abundante en regiones como la corteza prefrontal, el hipocampo y la amígdala, zonas desde las cuales parten eferencias hacia el NAcc y que intervienen, por tanto, en los mecanismos de recompensa. Esto explica de forma indirecta, como los cannabinoides pueden modular la ruta dopaminérgica y, por tanto, los sistemas de recompensa y motivación cerebral. Considerando que no abundan los receptores CB1 a estos niveles, estudios han concluido que el aumento en la liberación de DA se debía a la unión de los agonistas cannabinoides a receptores presinápticos ubicados en neuronas glutamatérgicas y GABAérgicas que inervaban la VTA y el NAcc (Melis et al., 2004; Robbe et al., 2001; Schlicker y Kathmann, 2001; Szabo et al., 2002). Por último, cabe destacar un estudio que indica que las propiedades reforzantes de los cannabinoides podrían ser debidas a la activación de los receptores μ -opioides (Tanda et al., 1997) a nivel de la VTA-NAcc. En este sentido, también se ha visto interacción con los receptores μ -opioides tras la administración crónica de cannabinoides, ya que se redujo la actividad inhibitoria mediada por el receptor μ -opioide a nivel del NAcc (Hoffman et al., 2003).

2.2. Sistema Cannabinoide Endógeno.

2.2.1. Receptores cannabinoides.

En los años 70 se hablaba de la existencia de un sitio de unión específico para cannabinoides que sería el responsable de los efectos mediados por el Δ^9 -Tetrahydrocannabinol, principal agente psicoactivo de la marihuana y el hachís. Durante un tiempo se siguió creyendo que el THC y demás agonistas cannabinoides interaccionaban directamente con la membrana celular debido a su naturaleza altamente lipofílica (Hillard et al., 1985), mediante un mecanismo similar al descrito para los anestésicos generales. No fue hasta el año 1988 cuando se caracterizó el primer receptor para cannabinoides, el CB1 (Devane et al., 1988), momento a partir del cual comenzaría la carrera en el estudio sobre la caracterización genética y bioquímica de dichos receptores.

Caracterización Bioquímica y Molecular: En 1990 se consiguió la clonación del receptor CB1 a partir de una “biblioteca” de cADN de córtex de rata (Matsuda et al., 1990). Sólo un año más tarde se caracterizaría también el receptor CB1 en humanos a partir de muestras del tronco cerebral (Gerard et al., 1991). Han sido obtenidas dos variantes de este receptor CB1 mediante procesamiento post-transcripcional alternativo (“splicing” alternativo), el CB1a, (Shire et al., 1995) y el CB1b (Ryberg et al., 2005). En 1993 fue caracterizado el otro gran tipo de receptor cannabinoide, el CB2, a partir de células mieloides del bazo de ratas (Munro et al., 1993). En 1999 se describió un grupo

de tres nuevos receptores acoplados a proteína G (Sawzdargo et al., 1999), de entre los cuales, el GPR55 parece que se puede considerar como un tercer receptor cannabinoide implicado en el incremento del calcio intracelular, ya que es activado por agonistas cannabinoideos y bloqueado por sus antagonistas (Lauckner et al., 2008; Pertwee, 2007; Ryberg et al., 2007).

Todos los receptores cannabinoideos están asociados a proteínas G (Choi et al., 2005). El receptor CB1 se encuentra principalmente a nivel del sistema nervioso central, mientras que el CB2 se muestra en células y tejidos relacionados con el sistema inmune. Dicha distribución ha sido realizada tanto en la rata (Herkenham et al., 1990; Herkenham et al., 1991; Lynn y Herkenham, 1994; Mailleux y Vanderhaeghen, 1992; Tsou et al., 1998) como en humanos (Westlake et al., 1994). No obstante, en el sistema nervioso también hay presencia de receptores CB2, aunque de manera mucho más restringida (Akinshola et al., 1999).

Diversos estudios autorradiográficos (Herkenham et al., 1990; Herkenham et al., 1991) indican que el receptor CB1 aparece representado en el sistema nervioso central a tres niveles de expresión diferentes:

-Nivel de expresión alta: En los ganglios basales (CPu lateral, globo pálido, núcleo entopeduncular y SN pars reticulata), capa molecular del cerebelo, hipocampo (capa molecular del giro dentado y región CA3 del asta de amón) y capas I y VI de la corteza.

-Nivel de expresión media: En el pallidum ventral y NAcc.

-Nivel de expresión baja: En el hipotálamo (área preóptica, hipotálamo lateral y

núcleos paraventricular y ventromedial), tronco cerebral y médula espinal.

El receptor CB1 ha sido encontrado en niveles mucho más bajos en otras zonas del cuerpo tales como en la adenohipófisis (Gonzalez et al., 1999), bazo, amígdalas, hígado, corazón, útero, ovario, próstata, testículos (Christopoulos et al., 2001; Pertwee, 2001a; Ross et al., 2001) y sistema inmune (en esplenocitos, linfocitos T4 y T8, células NK) (Daaka et al., 1995; Kaminski et al., 1992; Rinaldi-Carmona et al., 1998).

Los receptores CB2 se localizan fundamentalmente en bazo, las amígdalas, nódulos linfáticos, microglía, placas de Peyer y diferentes células del sistema inmune (principalmente en linfocitos B, aunque también en monocitos y linfocitos T) (Galiegue et al., 1995; Lynn y Herkenham, 1994; Schatz et al., 1997). Como ya se ha mencionado anteriormente, también hay receptores CB2 a nivel del sistema nervioso central, ya que han sido hallados en la retina de la rata (Ahluwalia et al., 2000), cerebelo, hipocampo, tubérculo olfatorio, islas de Calleja, SN, sustancia gris periacueductal, núcleos paratroclear, paralemniscal, rojo y pontinos, colículo inferior y región parvocelular del núcleo vestibular medial (Akinshola et al., 1999; Gong et al., 2006).

2.2.2. Funcionalidad de los receptores CB1 Y CB2.

Existe una marcada correlación entre los lugares en los que se expresan los receptores CB1 y CB2 y los efectos farmacológicos de los cannabinoides, como se muestra a continuación:

-Hipocampo y corteza cerebral: La presencia de receptores CB1 permite entender los efectos que los cannabinoides ejercen sobre la memoria, el aprendizaje y la cognición (Herkenham et al., 1991).

-Cerebelo y ganglios basales: El sistema endocannabinoide que aparece en estas áreas explica los efectos sobre la actividad motora (Glass y Felder, 1997; Tsou et al., 1998). El sistema endocannabinoide podría ejercer dicha regulación en diversos sistemas de neurotransmisores que actúan sobre la locomoción, tal como lo son el GABAérgico (Romero et al., 1998b), el dopaminérgico (Fernandez-Ruiz et al., 2002; Fernandez-Ruiz y Gonzales, 2005), entre otros.

-Núcleo Accumbens, ventral pallidum, amígdala y Área Tegmental Ventral: Los efectos que los cannabinoides median a este nivel tienen que ver con los mecanismos de recompensa. Se cree que la acción de los cannabinoides sobre el sistema mesocorticolímbico de la recompensa podría ser debida a la interacción con el sistema opioide y/o el dopaminérgico (Gardner, 2005; Tanda et al., 1997).

-Hipotálamo e hipófisis: A pesar de la escasez de receptores CB1 a este nivel, la aparición de los mismos justificaría porqué los agonistas cannabinoides controlan la ingesta de comida, el vómito, la temperatura corporal y las funciones neuroendocrinas (Rodriguez de Fonseca et al., 1999).

-Sustancia gris periacueductal, núcleos tálamicos, tallo cerebral y médula espinal (asta dorsal, región lumbar): A este nivel tan heterogéneo, el sistema cannabinoide mediaría su acción analgésica (Hohmann et al., 1999).

-Tejidos y células del sistema inmune: La presencia de receptores CB2 en el sistema inmunológico regularía los efectos inmunomoduladores de los cannabinoides (Munro et al., 1993; Schatz et al., 1997).

2.3. Efectos Fisiológicos de los Cannabinoides.

2.3.1. Control de la ansiedad y otras conductas emocionales

Los agonistas cannabinoides, aquí también, muestran un efecto dosis-dependiente (Viveros et al., 2005): a dosis bajas pueden actuar como ansiolíticos mientras que a dosis altas son ansiogénicos (Arevalo et al., 2001). En el caso del antagonista SR141716 se da una bipolaridad similar, puesto que en algunos estudios se indica su carácter ansiolítico (Tzavara et al., 2003), mientras que otros reflejan una acción ansiogénica (Arevalo et al., 2001). Parece que el sustrato neuroanatómico estaría localizado en el circuito límbico, área de gran importancia en la modulación emocional, donde regulan la liberación de GABA y del neuropéptido CRH. Otra sustancia relacionada con el control de las emociones, sobre la que el sistema cannabinoide parece tener una gran influencia, es la colecistoquinina (CCK) (Kathuria et al., 2003).

Se piensa que la anandamida podría controlar la ansiedad por medio de un tono ansiolítico intrínseco (Ferrer et al., 2003; Haller et al., 2002).

Sus efectos sobre otras respuestas emocionales, como la agresión y la interacción social, son también marcadamente bifásicos (Mechoulam, 2002; Sulcova et al., 1998): dosis bajas se relacionan con conductas agresivas mientras que las dosis altas inhiben la conducta social. El sustrato neuroquímico podría ser la interacción cannabinoide con la neurotransmisión serotoninérgica, muy implicada en la respuesta agresiva (Mechoulam, 2002).

2.3.3. Efectos psicológicos

Los principales efectos conductuales que el consumo de cannabinoides produce en humanos son: euforia, relajación, alteraciones de la percepción del tiempo y del espacio, experiencias sensoriales aumentadas, sonrisa fácil, locuacidad e incremento de la sociabilidad, deterioro de la memoria a corto plazo, deterioro de capacidades psicomotoras, dificultad de concentración, estupor, enlentecimiento en las reacciones, disminución de la actividad mental y alteración de la visión periférica (Heffernan et al., 2001; Menhiratta et al., 1978; Ranganathan y D'Souza, 2006; Soueif, 1976; Stark-Adamec et al., 1981; Weckowicz et al., 1977; Wert y Raulin, 1986). Con el consumo continuado se observa tolerancia para muchos de estos efectos, de modo que la duración de los efectos conductuales no se suele prolongar más de 4-6 horas (Hollister, 1986; Hollister, 1988).

Existen una serie de efectos adversos derivados del consumo de marihuana o hachís, la mayoría producidos tras consumos prolongados: ansiedad, pánico, trastornos disfóricos, depresivos, despersonalización y desrealización, conductas “bizarras” y auto-hetero-agresivas, delirios o alucinaciones (Adams y Martin, 1996; Hollister, 1986; Hollister, 1988; Negrete, 1983). Se ha indicado asimismo, que el consumo prolongado de marihuana podría provocar ciertas alteraciones psicológicas (Manzanares et al., 2004):

Síndrome amotivacional: supone apatía y pérdida de motivación. Probablemente sólo incrementaría estos síntomas ya presentes previamente en los consumidores.

Deterioro cognitivo: cierto deterioro sutil en la resolución de test psicológicos que miden memoria. Existe discrepancia en cuanto a la reversibilidad de este deterioro tras períodos prolongados de abstinencia.

Otros trastornos psiquiátricos: podría existir una relación entre consumo de marihuana y enfermedades mentales (manía, depresión o esquizofrenia). Ha sido descrito un estado psicótico con síntomas esquizofrénicos y maníacos llamado “psicosis cannábica”. Parece que la marihuana empeora la esquizofrenia. Además, el consumo de cannabinoides durante la adolescencia podría incrementar el riesgo a desarrollar síntomas o patologías psicóticas en la edad adulta.

2.4. Trastornos psiquiátricos inducidos por el consumo de cannabis.

La relación que se ha descrito entre el consumo de cannabis y alguna patología dual, persiste ampliamente en la literatura (Martín del Moral, 1998; Moore y *et al* en el 2007; Müller-Vahl, 2008). En general se habla de tres circunstancias relacionadas el uso de cannabis y la aparición de estadios psicóticos mencionadas por Martín del Moral (1998), tales como la esquizofrenia y la psicosis cannábica:

- Daño psicopatológicos en relación directa a la ingesta de THC.
- El uso de cannabis puede precipitar una psicosis latente. En otras palabras puede precipitar un trastorno psiquiátrico preexistente o bien puede interactuar con la vulnerabilidad subyacente de la persona hacia estos trastornos dando pie para que se produzca un primer episodio patológico.

- El sujeto intenta aliviar una patología psiquiátrica con el consumo de cannabis. Esta conducta conduce a una rápida dependencia y empeoramiento de la clínica psiquiátrica.

2.4.1. Consumo de cannabis y esquizofrenia.

El consumo de sustancias tóxicas trae consecuencias orgánicas en los individuos que las consumen ((Stenbacka, Allebeck, & Romelsjö, 1993; Hambrecht y Hafner, 1996; Cantwell y cols. 1999; Martín del Moral, 1998; Moore y *et al* en el 2007; Müller-Vahl, 2008). Existe una vasta revisión bibliográfica que nos muestran la relación dual entre el consumo de sustancias tóxicas y ciertas psicopatologías, principalmente la esquizofrenia. Esta no es la excepción del cannabis, que como ya se menciono en un principio, es la droga ilegal más utilizada a nivel mundial, y que suele ser consumida de forma recreativa, de relajación e inclusive de médica para aliviar dolores en enfermedades como el cáncer o el sida, sin embargo estudios (tanto retrospectivos como prospectivos) revelan que aquellas personas que han consumido cannabis sobre todo a edades tempranas suelen estar relacionados con enfermedades psiquiátricas, tal es el caso de la esquizofrenia.

Se sabe que dosis elevadas de cannabis predisponen al consumidor a episodios psicóticos transitorios. Moore y *et al* en el 2007, encontraron una consistente asociación entre el uso del cannabis y la presencia de síntomas psicóticos, sin embargo no está claro si el incremento del riesgo de la enfermedad psicótica, persiste después de haber dejado el consumo. Asimismo, existen pruebas evidentes de que el abuso de esta planta por

parte de personas sanas es un factor de riesgo para la manifestación clínica de una esquizofrenia y factor desencadenante tanto de la aparición de episodios psicóticos en sujetos predispuestos como de recaídas en esquizofrénicos (Müller-Vahl, 2008; poner varios autores). En uno estudios retrospectivos con 229 historias clínicas de individuos que se les había diagnosticado dependencia al cannabis y psicosis, independientemente de la secuencia, encontraron que en 122 casos (49%) estaba presente el trastorno de esquizofrenia. El 69% de los casos restantes, el consumo de la droga precedió al menos al año siguiente inicio de la psicosis (Stenbacka, Allebeck, & Romelsjö, 1993). Otros estudios retrospectivos nos muestran una comorbilidad entre el consumo de cannabis y el trastorno de esquizofrenia (Hambrecht y Hafner, 1996; Cantwell y cols. 1999).

Así mismo, encontramos estudios prospectivos, que muestran resultados similares a los estudios retrospectivos anteriores. Andreasson y cols., (1987) fue uno de los primeros en buscar evidencias respecto a que el consumo de cannabis predisponía a el trastorno de esquizofrenia. Para este estudio se tomó a una muestra de consumidores de cannabis de 18 años de edad, posteriormente realizaron un diagnostico de esquizofrenia 15 años después. Sus resultados muestran una relación significativa entre los consumidores de cannabis y los no consumidores. A lo que concluyeron que existía una predisposición de aquellos individuos vulnerables a padecer la enfermedad cuando eran consumidores de la sustancia. En otro estudio similar con una muestra de 4045 sujetos, Van Os et al. (2002) encontraron que los consumidores de cannabis eran tres veces más proclives a manifestar síntomas psicóticos, y donde el riesgo aumentaba 6,8 veces más cuando su consumo era mayor.

La relación que muestra el consumo de cannabinoides y la predisposición a la esquizofrenia, ha sido observada al administrarles THC a voluntarios completamente sanos, donde estos llegan a desarrollar trastornos similares a los de la esquizofrenia (D'Souza, 2004; 2005; 2008a; 2008b). Así es por tanto, que la reacción orgánica producida por el consumo de cannabinoides, predispone no únicamente a aquellos que genéticamente disponían a presentar la enfermedad, sino también a aquellos donde no existía ninguna factor genético a que este sucediera. Esto va en función del sistema cannabinoide, el cual como ya se ha mencionado anteriormente, se encuentra estrechamente relacionado con el sistema dopaminérgico, sistema el cual se ve afectado en pacientes esquizofrénicos al mostrarse un exceso de dopamina en el mesencéfalo. Por el lado del consumo de cannabinoides, al verse dañado el sistema cannabinoide, éste afecta al dopaminérgico, viéndose así, una explicación posiblemente evidente sobre esta patología dual.

2.4.2. Psicosis cannábica.

La psicosis cannábica ha sido puesta en duda, y suele ser con regularidad un tema de amplia controversia acerca de su existencia, su debate sigue abierto hasta la actualidad. Aquellos que niegan su existencia argumentan que, aquellas personas que han sido diagnosticadas con este trastorno, suelen presentarse como esquizofrénicos u otro trastorno psiquiátrico tiempo después (Arendt et al, 2005), eliminando una relación exclusiva con el consumo del cannabis.

La psicosis cannábica se atribuye después de haber consumido grandes

cantidades de cannabis y posteriormente surgen síntomas de confusión, desorientación, amnesia, trastornos del estado de ánimo, delirios entre otros. Esta surge a partir de días o semanas tras la abstinencia de cannabis, desapareciendo tiempo después y sin reaparecer salvo que se vuelva a consumir la sustancia.

El consumo de cannabis provoca un aumento de dopamina, especialmente en las zonas mesolímbicas, zonas especialmente implicadas en el desarrollo de las psicosis. A consecuencia del consumo crónico de cannabis se genera una disminución de los receptores CB1, así como una hipersensibilidad de los mismos (Bowers y Hoffman, 1986), e iniciado en la adolescencia, podría provocar una alteración en el sistema endocannabinoide (Pistis et al. 2004), de tal manera que un mayor consumo afectara del tal manera el equilibrio entre el sistema dopaminérgico y el sistema endocannabinoide, lo que conduciría a la aparición de cuadros psicóticos.

Chambers et al. (2001) han propuesto la hipótesis de la “primary addiction”. Esta pretende explicar la relación que comprende la adicción a la droga y la esquizofrenia. Según esta hipótesis, la alteración psicótica conduce al sujeto a consumir drogas, y en su deseo por superar el déficit provocado por dicha alteración (lo que inicialmente puede ser de utilidad) el consumo mantenido conduce a una alteración que provocaría la aparición de cuadros esquizofrénicos.

2.5. Modelo del condicionamiento a la preferencia del lugar.

2.5.1. Desarrollo del CPP.

El modelo del condicionamiento de la preferencia del lugar (CPP por sus siglas en inglés: conditioned place preference), fue desarrollado por primera vez en 1940 por Spragg. En ese estudio se les inyectó morfina a chimpancés hasta volverlos dependientes a la sustancia. Posteriormente se les dio a escoger a los animales entre una caja blanca con su dosis diaria de morfina o una caja negra con bananas. Cuando se les abstenía de la droga, los chimpancés mostraban preferencia por abrir la caja blanca con la dosis, pero cuando estos ya habían sido inyectados con su dosis diaria de morfina, preferían abrir la caja negra con la banana. Basado en los experimentos de Spragg, Beach (1957) trabajó induciendo morfina en ratas, utilizando laberintos donde el animal encontraba la droga. Finalmente concluyó que la dependencia física no es requisito previo para la obtención de un CPP. Siguiendo esas demostraciones Rossi y Reid (1976) elaboraron un procedimiento más restringido, donde vinculaban a la rata inducida con morfina en un cuarto y con suero salino en otro. Hasta la fecha este procedimiento ha sido adoptado por gran cantidad de los estudios de CPP que se han llevado a cabo, con ciertas modificaciones.

En la actualidad este modelo en “ratas”, está conformado por una caja dividida por tres compartimientos, siendo únicamente los laterales aquellos donde se pretende inducir la preferencia del lugar, constituidas por paredes con diseños diferentes en cada cuarto (ejemplo: liso negro en el lado X y rayas blanco y negro en el lado Y). El compartimiento de en medio (de color aluminio) es el más pequeño y su funcionalidad

solo corresponde a ser el acceso entre ambos cuartos. Este cuenta con dos pequeñas puertas para ser cerradas, para que el animal se quede de un lado o el otro, de ser necesario para el investigador.

El precondicionamiento es el primer paso y consiste en identificar la preferencia natural del animal hacia uno u otro lugar, soltando al animal en el compartimiento del centro y dejándolo libremente rondar en cualesquier parte de la caja durante 30 minutos (Murria & Bevins 2010; Polissidis et al. 2009). Una vez que se desea condicionar al animal en alguno de los lugares, el método consiste en inyectar con la droga predeterminada e introducir al animal en solo una habitación durante 20 minutos. Posteriormente, al siguiente día se hace lo mismo, utilizando únicamente vehículo y metiendo al animal en la otra habitación. Finalmente se realiza el test. que consiste en dejar nuevamente al animal en la parte central, hipotéticamente esperando que el animal permanezca mayor tiempo en el compartimiento en el que le fue inyectada la droga (Rossi & Reid, 1976).

2.5.2. Conditioned place preferente (CPP).

De acuerdo con Tzschentke (2007), la rata buscará permanecer mayor tiempo en el compartimiento donde tenga preferencia natural, evitando en la medida posible el otro compartimiento, sin embargo, a diferencias de la cocaína que produce una clara preferencia del lugar a una dosis de 20 mg/kg (Campbell, Word & Spear, 2000; Brabant, Quertemont & Tirelli, 2005; Zakharova, Leoni, Kichko & Izenwasser, 2009), el antagonista WIN 55,212-2 a una dosis de 0.01 mg/kg no logra reproducir los mismos

resultados (Polissidis et al. 2009). Usando una dosis de 1 a 6 mg/kg, los resultados fueron claramente una aversión utilizando cannabinoides sintéticos (Braidá, Iosu, Pegorini, Sala, 2004; Lepore, Vorel, Lowinson, Gardner, 1995).

Hasta la actualidad no se ha logrado determinar una dosis clara del agonista WIN 55,212-2 que logre condicionar a la rata en un lugar determinado. No obstante, recientemente Manssanedo y cols (2004), a una dosis de 0.05 mg/kg lograron condicionamiento de la preferencia del lugar, con dicho agonista en ratones. Asimismo, a dosis muy bajas (0.015–6 mg/kg), lograron reforzar la preferencia del lugar utilizando THC (Braidá, Iosue, Pegorini & Sala, 2004), haciendo amplia referencia al uso de una dosis baja. Resulta interesante que en otro estudio donde se pretendía condicionar la preferencia del lugar, utilizando un dispositivo de “water maze”, inclusive ni el WIN-2 ni el THC, lograron condicionar la preferencia del lugar a la rata (Robinson, Hinder, Pertwee, & Riedel, 2003).

A pesar que de que gran cantidad de estudios (ya antes mencionados) que intenta conseguir condicionamiento a la preferencia del lugar en ratas, han concluido con resultados negativos, coincidiendo en que el agonista cannabinoide sintético WIN, resulta aversivo para el animal, no fue así, en el caso de un estudio con ratas de la cepa Wistar y SHR con el síndrome de déficit de atención e hiperactividad (Pandolfo, Vendruscolo, Sordi, & Takahashi, 2009), las cuales bajo una dosis de 0.25 mg/kg, concluyen que el agonista cannabinoide produce un efecto reforzante sobre este tipo de ratas.

CAPITULO III

METODO

3.1. Condicionamiento de la preferencia del lugar (CPP).

3.1.1. Sujetos.

Se utilizó una muestra de ratas macho de las cepas LEW y F344 (LEW: n= 8; F344: n= 8) con un peso medio de 321.7g. al comienzo del experimento. Los animales se mantuvieron en condiciones de temperatura y humedad constantes en un ciclo de luz de 12 horas, iniciando éste a las 08:00 a.m.

Desde que los animales llegaron al animalario hasta el comienzo de los experimentos se los mantuvo con comida ad libitum y sin ser expuestos a ninguna situación experimental ni recibir ninguna sustancia psicoactiva previa al inicio de los experimentos. Debido que el experimento fue realizado en Madrid, España, fue necesario seguir las directrices de la norma europea 86/609/EEC en el uso y mantenimiento de estos animales.

3.1.2. Procedimiento.

Con la finalidad de que haya mayor facilidad en el manejo de los animales y evitar nerviosismo o tensión de los mismos a la hora del experimento, primeramente fue necesario acostumar a las ratas a estar con el investigador, de esta forma, el total de las ratas (n= 16) fueron acariciadas y cargadas un aproximado de 10 min. al día durante 6 días. A este procedimiento se le conoce como handling.

El CPP fue probado en una caja rectangular de plexiglás de medición de 21 x 21

x 68 cm. La caja de preferencia del lugar consiste en tres compartimientos (blanco-gris-negro) conectados unos con otros a través de dos puertitas que se manejan a través de poleas que dan acceso a los compartimientos de los lados ("X" y "Y"), y donde el compartimiento neutro se localiza en medio de ambos (gris). Los compartimientos "X" y "Y" sirven de condicionamiento en la preferencia del lugar (21 x 21 x 28) y el gris (21 x 21 x 12) que se encuentra en medio de los dos, sirve como lugar neutro y es ahí donde se introduce a la rata al iniciar el experimento, para posteriormente abrir las puertas. El compartimiento "Y" tiene plaquetas rayadas de forma vertical intercaladas por blanco y negro y el compartimiento "X" tiene plaquetas totalmente negras. Finalmente la caja completa fue colocada en un cuarto experimental con condiciones de poco o nada ruido y con una luz roja.

El procedimiento para realizar el CPP consiste en tres partes, repartida en 10 días: acondicionamiento, condicionamiento y test:

-Acondicionamiento. En el primer día, se le dejó a la rata explorar libremente por los tres compartimientos durante 20 min., mientras se le graba, para ese mismo día revisar los videos y establecer criterios para la formación de grupos (ver calendario, tabla N). A partir de esto se realizó un calendario que disponía de 4 grupos cada uno conformado con dos F344 y dos LEW. Dos grupos con vehículo (Teewn 80) y los otros dos con WIN 55,212-2.

-Condicionamiento. Esta parte del experimento abarca los días del 2 al 9. Los días 2-4-6-8 los animales fueron inyectados de manera intraperitoneal con WINN y

Tween según correspondía el calendario, en base al peso m/v de cada animal. Los animales fueron colocados en el compartimiento en el que tuvieron mayor aversión en la parte del precondicionamiento durante 30 min. sin posibilidad de pasar al compartimiento de a lado. En los días 3-5-7-9, según el grupo correspondiente al calendario, los animales son inyectados con la sustancia alterna al día anterior y se colocaron en el compartimiento contrario.

-Test. En el décimo día, se le deja a la rata libremente por los tres compartimientos durante 20 min., dejándolas inicialmente en el compartimiento neutral y sin habersele inyectado ninguna sustancia. Se le graba, para posteriormente analizar el video. La rata estará predispuesta a pasar mas tiempo en el lugar en el que le fue introducida la droga.

3.1.3. Dosis y Compuestos cannabinoides empleados.

La dosis del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 utilizada para este experimento fue de 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por animal. La media del peso total de las ratas fue de $x=321.7$ g lo que correspondió en base a esa media una dosis de 0.160 μg ($x=0.5 \times 0.3217=0.160$). Cada animales recibió 4 dosis, por lo tanto el total de dosis recibida por animal fue de 0.6434 ($0.160 \times 4 = 0.6434$). Para ser más precisos en la cantidad total, se cálculo en base a 20 animales ($20 \times 0.6434 = 12.84$). El cual fue redondeado a 13 μg .

Debido a que el agonista sintético cannabinoide WIN 55,212-2, no es hidrosoluble, hubo la necesidad de disolverlo en 0.3 % v/v del detergente Tween80, en suero salino (NaCl 0.9 % m/v). Y debido a que se administró una dosis de 0.5 μg en el

volumen total de 1 μl . Se calculo en base a los 13 μg correspondientes a la dosis total para los 20 animales, dando un resultado 6.5 μl .

CAPITULO IV

ANÁLISIS Y RESULTADOS

4. Análisis descriptivos.

El total de ratas utilizadas para éste estudio fue de 16, de las cuales 8 fueron de la cepa Fhiser-344 y las 8 restantes de la cepa Lewis. Todas ellas machos. Con un peso medio al inicio de experimento de 321.7 g., a partir del cual se calculó la dosis administrada a cada animal.

Los resultados de la distribución de la permanencia de los tiempos (en segundos) en la caja del CPP, durante el acondicionamiento y el test, se exponen en las Tablas 1 y 2. En ambas graficas se puede observar la preferencia de cada rata respectivamente a cada compartimiento X, Y o C, así como también se muestra dividido por cepa de ratas. En ella se pueden observar también el porcentaje del tiempo que permanecieron en cada compartimiento.

Para la realización de los análisis, las cepas fueron divididas en 4 grupos, constituidos cada uno por dos ratas F-344 y dos LEW. Al grupo 1, 2 y 4 se le administró el WIN en el compartimiento con rayas (X), únicamente al grupo 3 se le administró la droga en negro (Y). Fue necesario dividir el tiempo de permanencia en los grupos de droga y vehículo para hacer los análisis. Una vez teniendo la distribución de los grupos se procedió a realizar una t de student de grupos independientes para ver las diferencias entre cada cepa ().

Tabla 1. Permanencia acondicionamiento.

GRUPO	RATA	DROGA PRE	%	PRE C	%	VEHIC PRE	%
1	F1	362	30.16	528	44	308	25.66
1	F3	268	22.14	507	41.90	434	35.86
1	L14	346	28.76	307	25.51	548	45.55
1	L11	534	44.42	302	25.12	364	30.28
2	F2	149	12.28	974	80.29	89	7.33
2	F7	172	14.32	825	68.69	204	16.98
2	L9	530	44.12	295	24.56	376	31.30
2	L12	403	33.61	315	26.27	481	40.11
3	F4	420	38.30	320	26.64	460	34.97
3	F5	224	20.60	669	59.41	232	19.89
3	L10	432	39.08	291	24.25	469	36
3	L16	419	33.25	382	31.83	399	34.91
4	F6	519	43.21	384	31.97	295	24.56
4	F8	100	8.33	1031	85.91	69	5.75
4	L13	470	38.36	299	24.40	455	37.14
4	L15	457	38.08	327	27.25	416	34.66

Tabla 2. Permanencia test.

GRUPO	RATA	DROGA TEST	%	TEST C	%	VEHIC TEST	%
1	F1	232	19.25	440	36.51	533	44.23
1	F3	107	8.91	716	59.66	377	31.41
1	L14	164	13.32	232	18.84	835	67.83
1	L11	160	12.77	384	30.67	708	56.54
2	F2	72	6	848	70.66	280	23.33
2	F7	197	19.18	496	48.29	334	32.52
2	L9	352	29.30	504	41.96	345	28.72
2	L12	195	16.23	287	23.89	718	59.78
3	F4	293	46.62	348	28.97	560	24.39
3	F5	123	10.31	931	78.10	138	11.57
3	L10	322	26.39	562	46.79	317	26.81
3	L16	421	32.94	385	32.02	396	35.02
4	F6	133	11.02	536	44.44	537	44.52
4	F8	140	11.73	829	69.48	224	18.77
4	L13	258	21.51	284	23.68	657	54.79

4	L15	246	20.38	352	29.16	609	50.45
---	-----	-----	-------	-----	-------	-----	-------

Inicialmente se realizó un t de student de muestras pares entre el “vehículo test” y “droga test”, con ambas razas, donde los resultados nos presentan una $p. 000$ con una $t. -4.789$, siendo la media mayor de “vehículo test” de 473 en comparación a “droga test” de 213.44 (véase tabla 3).

	Sig.	t	media
VEHÍCULO TEST	p.000	-4.789	473
DROGA TEST			213.44

Mediante la prueba de Levene’s, comprobamos que las distribución de la variable “droga test” presenta normalidad ya que tiene una significancia de $r.= 462$ (Tabla 4) por lo tanto se procedió a utilizar una T de muestra independiente.

	F	Sig.
DROGA_TEST	.572	.462

Por lo tanto se procedió a realizar una t de student de muestras independientes de $t. -2.44,1$ en la que encontramos además diferencias significativas entre ambas razas de $p. 029$, presentando una media mayor el grupo de las LEW de 264.75, y siendo la media de las Fhiser de 162.13 (tabla 5).

Tabla 5. T de student de muestras independientes “Droga Test”			
RAZA	t	Sig.	Media
FISHER	-2.441	p. 029	162.13
LEW			264.75

Cuando se hizo un análisis entre el tiempo permanecido en el compartimiento donde le fue administrada la droga durante el acondicionamiento en comparación con tiempo permanecido en el mismo compartimiento durante el test, usando un t de student de muestras relacionadas, encontramos diferencias significativas de $p.000$ y una t de 4.947. con una media superior de 362.81 en el acondicionamiento a diferencia de 213.44 en el test (tabla 6).

Tabla 6. T de student de muestras relacionadas entre “droga pre y droga test”			
	t	Sig. (2-tailed)	media
DROGA_PRE	4.947	.000	362.81
DROGA_TEST			213.44

Cuando se realizó esta misma prueba pero distinguiendo cada raza encontramos que las Lew muestran mayor diferencia entre sus medias con una t . 4.924 y una significancia de $p. 002$, siendo las medias de “droga pre” de 448.88 y la “droga test” de 264.75. En cambio las Fisher mostraron una tendencia menor con una t . 2.464 y una significancia de $p. 043$, presentando igualmente una media mayor en el “droga pre” de

276.75 y una media de “droga test” de 162.13 (tabla 7).

Tabla 7. T de student de muestras relacionadas entre “droga pre y droga test” por raza				
		t	Sig.	media
F344	DROGA_PRE	2.464	<i>p.</i> 043	276.75
	DROGA_TEST			162.13
LEW	DROGA_PRE	4.924	<i>p.</i> 002	448.88
	DROGA_TEST			264.75

CAPITULO V

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En la actualidad son dos los modelos más utilizados para medir la adicción a una sustancia toxica en ratas, el primero de ellos es el modelo de autoadministración, que es quizás el más efectivo ya que se puede medir de forma numérica y observable las veces que la rata consume la sustancia y como paulatinamente va en aumento hasta llegar a tener una conducta adictiva; el segundo (utilizado en esta investigación) es el del condicionamiento del lugar. Este modelo explica la adicción a partir de la preferencia de la rata por permanecer mayor tiempo en el lugar donde le fue administrada la sustancia toxica, pero cuando ésta permanece mayor tiempo en el compartimiento, habrá causado entonces aversión al lugar donde le fue administrada la droga. Esto sucede en consecuencia de la droga y, sobre todo de la dosis administrada, ya que no en todos los casos las ratas presentan placer por los efectos de la droga administrada. Tal como se ha visto previamente en la revisión teórica, establecer una dosis específica para condicionar la preferencia del lugar en las cepas LEW y F-344 resulta difícil, siendo por el contrario la aversión al lugar, mismo resultado de la dosis establecida en el presente experimento. Diversos estudios y revisiones que han usado el método del CPP (Murray & Bevins, 2010; Polissidis et al. 2009; Braida, Iosu, Pegorini, Sala, 2004; Mallet & Beninger, 1998; Lepore, Vorel, Lowinson, Gardner, 1995) han encontrado aversión al lugar usando cannabinoides a dosis más elevadas a la utilizada en el presente experimento.

Más allá de especificar una dosis capaz de condicionar la preferencia del lugar,

es importante tratar de resolver las causas por las que se produce aversión al lugar con la presente dosis, e inclusive con otras dosis más elevadas. Una explicación posible a esta reacción es quizás que el efecto de cannabinoides tiene dos vertientes, siendo la primera de ellas los efectos placenteros tales como la relajación, euforia, aumento en la imaginación, la hipersensación de los sentidos, los cuales, en un principio pretenderían ser del agrado del animal y por lo tanto, desearía permanecer mayor tiempo en el lugar de placer, en donde, por ende preferiría el lugar donde se le administrara la droga, en otras palabras el animal se condicionaría al lugar. Sin embargo, el consumo de cannabinoides, también puede llegar a producir un estado elevado de ansiedad generalizada, disforia, síntomas paranoides e inclusive pánico, consecuencia de un consumo elevado, que deriva en genera un displacer por el lugar en el que le fue administrada la sustancia, o en otras palabras aversión al lugar.

En relación a lo revisado anteriormente acerca de un efecto de displacer producto de una dosis elevada por el consumo del cannabinoide (Murray & Bevins, 2010; Polissidis et al. 2009; Braida, Iosu, Pegorini, Sala, 2004; Arevalo et al. 2001; Mallet & Beninger, 1998; Lepore, Vorel, Lowinson, Gardner, 1995), y específicamente en esta tesis el cannabinoide sintético WIN 52,212-2, concluimos que a la dosis de 0.5 µg de este compuesto, en un modelo de condicionamiento a la preferencia del lugar, las ratas de las cepas Lewis y Fhiser-344, presentan aversión significativa al lugar donde les fue administrada la droga, sugiriendo así, que los efectos de displacer, disforia y ansiedad sean el factor producto de la aversión al lugar.

BIBLIOGRAFIA.

1. Aceto, M. D., Scates, S. M., Lowe, J. A., Martin, B. R. (1996). Dependence on delta 9-tetrahydrocannabinol: studies on precipitated and abrupt withdrawal. *J Pharmacol Exp Ther*, 278, 1290-5.
2. Aceto, M. D., Scates, S. M., Martin, B. B. (2001). Spontaneous and precipitated withdrawal with a synthetic cannabinoid, WIN 55212-2. *Eur J Pharmacol* 416, 75-81.
3. Adams, I. B., Martin, B. R. (1996). Cannabis: pharmacology and toxicology in animals and humans. *Addiction*, 91, 1585-614.
4. Ahluwalia, J., Urban, L., Capogna, M., Bevan, S., Nagy, I. (2000). Cannabinoid 1 receptors are expressed in nociceptive primary sensory neurons. *Neuroscience*, 100, 685-8.
5. Akinshola, B. E., Chakrabarti, A., Onaivi, E. S. (1999). In-vitro and in-vivo action of cannabinoids. *Neurochem Res*, 24, 1233-40.
6. Arevalo, C., de Miguel, R., Hernandez-Tristan, R. (2001). Cannabinoid effects on anxiety-related behaviours and hypothalamic neurotransmitters. *Pharmacol Biochem Behav*, 70, 123-31.
7. Balster, R.L., Prescott, W.R., 1992. Delta 9-tetrahydrocannabinol discrimination in rats as a model for cannabis intoxication. *Neurosci Biobehav Rev*. 16, 55-62.
8. Beach H. D. (1957). Morphine addiction in rats. *Can J Psychol*, 11:104–112.

9. Beitner-Johnson, D., Guitart, X., Nestler, E. J. (1991). Dopaminergic brain reward regions of Lewis and Fischer rats display different levels of tyrosine hydroxylase and other morphine- and cocaine-regulated phosphoproteins. *Brain Res*, 561, 147-50.
10. Brabant, C., Quertemont, E., Tirelli, E. (2005). Influence of the dose and the number of drug-context pairings on the magnitude and the long-lasting retention of cocaine-induced conditioned place preference in C57BL/6J mice. *Psychopharmacology (Berl)* 180 (1), 33–40.
11. Braidà, D., Iosue`, S., Pegorini, S., Sala, M. (2004). D9-Tetrahydrocannabinol-induced conditioned place preference and intracerebroventricular self-administration in rats. *European Journal of Pharmacology*, 506, 63–69.
12. Braidà, D., Pozzi, M., Parolaro, D., Sala, M. (2001). Intracerebral self-administration of the cannabinoid receptor agonist CP 55,940 in the rat: interaction with the opioid system. *Eur J Pharmacol*, 413, 227-34
13. Budney, A. J., Hughes, J. R., Moore, B. A., Vandrey, R. (2004). Review of the validity and significance of cannabis withdrawal syndrome. *Am J Psychiatry*, 161, 1967-77
14. Cadoni, C., Pisanu, A., Solinas, M., Acquas, E., Di Chiara, G. (2001). Behavioural sensitization after repeated exposure to Delta 9-tetrahydrocannabinol and cross-sensitization with morphine. *Psychopharmacology (Berl)*, 158, 259-66.

15. Camp, D. M., Browman, K. E., Robinson, T. E. (1994). The effects of methamphetamine and cocaine on motor behavior and extracellular dopamine in the ventral striatum of Lewis versus Fischer 344 rats. *Brain Res*, 668, 180-93.
16. Campbell, J. O., Wood, R. D., Spear, L. P. (2000). Cocaine and morphine-induced place conditioning in adolescent and adult rats. *Physiology and Behavior* 68 (4), 487–493.
17. Cantwell, R., Brewin, J., Glazebrook, C., Dalkin, T., Fox, R., Medley, I. & Harrison, G. (1999). Prevalence of substance misuse in first-episode psychosis. *Br J Psychiatry*. 174, 150-153.
18. Chaouloff, F., Kulikov, A., Sarrieau, A., Castanon, N., Mormede, P. (1995). Male Fischer 344 and Lewis rats display differences in locomotor reactivity, but not in anxiety-related behaviours: relationship with the hippocampal serotonergic system. *Brain Res*, 693, 169-78.
19. Chaperon, F., Soubrie, P., Puech, A. J., Thiebot, M. H. (1998). Involvement of central cannabinoid (CB1) receptors in the establishment of place conditioning in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 135, 324-32.
20. Choi, G., Guo, J., Makriyannis, A. (2005). The conformation of the cytoplasmic helix 8 of the CB1 cannabinoid receptor using NMR and circular dichroism. *Biochim Biophys Acta*, 1668, 1-9.

21. Cook, S. A., Lowe, J. A., Martin, B. R., (1998). CB1 receptor antagonist precipitates withdrawal in mice exposed to Delta9-tetrahydrocannabinol. *J Pharmacol Exp Ther*, 285, 1150-6.
22. Daaka, Y., Klein, T. W., Friedman, H. (1995). Expression of cannabinoid receptor mRNA in murine and human leukocytes. *Adv Exp Med Biol*, 373, 91-6.
23. Dalton, G. D., Smith, F. L., Smith, P. A., Dewey, W. L. (2005). Chronic Delta9-tetrahydrocannabinol treatment produces antinociceptive tolerance in mice without altering protein kinase A activity in mouse brain and spinal cord. *Biochem Pharmacol*, 70, 152-60.
24. Devane, W. A., Dysarz, F. A. 3rd., Johnson, M. R., Melvin, L. S., Howlett, A. C. (1988). Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*, 34, 605-13.
25. Diana, M., Melis, M., Muntoni, A. L., Gessa, G. L. (1998b). Mesolimbic dopaminergic decline after cannabinoid withdrawal. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95, 10269-73.
26. D'Souza, D. C., Braley, G., Blaise, R., Vendetti, M., Oliver, S., Pittman, B., Ranganathan, M., Bhakta, S., Zimolo, Z., Cooper, T., Perry, E. (2008b) Effects of haloperidol on the behavioral, subjective, cognitive, motor, and neuroendocrine effects of Delta-9-tetrahydrocannabinol in humans. *Psychopharmacology*, 198(4), 587-603.

27. D'Souza, D. C., Ranganathan, M., Braley, G., Gueorguieva, R., Zimolo, Z., Cooper, T., Perry, E., Krystal, J. (2008a). Blunted psychotomimetic and amnestic effects of delta-9-tetrahydrocannabinol in frequent users of cannabis. *Neuropsychopharmacology*, 33(10), 2505-16.
28. Fergusson, D. M., Horwood, L. J. (2000). Cannabis use and dependence in a New Zealand birth cohort. *N Z Med J*, 113, 156-8.
29. Fernandez-Ruiz, J., Gonzales, S. (2005). Cannabinoid control of motor function at the basal ganglia. *Handb Exp Pharmacol*, 479-507.
30. Fernandez-Ruiz, J., Lastres-Becker, I., Cabranes, A., Gonzalez, S., Ramos, J. A. (2002). Endocannabinoids and basal ganglia functionality. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 66, 257-67.
31. Fusar-Poli, P., Borgwardt, S., Crescini, A., Deste, G., Kempton, M. J., Lawrie, S.,... Sacchetti, E. (2011). Neuroanatomy of vulnerability to psychosis: A voxel-based meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*, 35, 1175-1185.
32. Galiegue, S., Mary, S., Marchand, J., Dussossoy, D., Carriere, D., Carayon, P.,... Casellas, P., (1995). Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem*, 232, 54-61.
33. Gaoni, Y. & Mechoulam, R., (1964). Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *Journal of the American Chemical Society*, 86, 1646-1647.

34. Gardner, E. L. (2005). Endocannabinoid signaling system and brain reward: emphasis on dopamine. *Pharmacol Biochem Behav*, *81*, 263-84.
35. Gerard, C. M., Mollereau, C., Vassart, G., Parmentier, M., (1991). Molecular cloning of a human cannabinoid receptor which is also expressed in testis. *Biochem J.* *279-1*, 129-34.
36. Glass, M. & Felder, C. C. (1997). Concurrent stimulation of cannabinoid CB1 and dopamine D2 receptors augments cAMP accumulation in striatal neurons: evidence for a Gs linkage to the CB1 receptor. *J Neurosci*, *17*, 5327-33.
37. Gong, J. P., Onaivi, E. S., Ishiguro, H., Liu, Q. R., Tagliaferro, P. A., Brusco, A., Uhl, G. R. (2006). Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Res*, *1071*, 10-23.
38. Gonzalez, S., Manzanares, J., Berrendero, F., Wenger, T., Corchero, J., Bisogno, T., Romero, J.,... Fernandez-Ruiz, J. (1999). Identification of endocannabinoids and cannabinoid CB(1) receptor mRNA in the pituitary gland. *Neuroendocrinology*, *70*, 137-45.
39. Grigson, P. S. & Freet, C. S., (2000). The suppressive effects of sucrose and cocaine, but not lithium chloride, are greater in Lewis than in Fischer rats: evidence for the reward comparison hypothesis. *Behav Neurosci*, *114*, 353-63.
40. Guitart, X., Beitner-Johnson, D., Marby, D.W., Kosten, T.A., Nestler, E.J. (1992). Fischer and Lewis rat strains differ in basal levels of neurofilament proteins and their

regulation by chronic morphine in the mesolimbic dopamine system. *Synapse*, 12, 242-53.

41. Hambrecht, M. & Haefher, H. (1996). Substance abuse and the onset of schizophrenia. *Biol Psychiatry*. 40,1155-1163.
42. Haney, M., Ward, A. S., Comer, S. D., Foltin, R. W., Fischman, M. W. (1999). Abstinence symptoms following oral THC administration to humans. *Psychopharmacology (Berl)*, 141, 385-94.
43. Heffernan, T. M., Jarvis, H., Rodgers, J., Scholey, A. B., Ling, J. (2001). Prospective memory, everyday cognitive failure and central executive function in recreational users of Ecstasy. *Hum Psychopharmacol*, 16, 607-612.
44. 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. *J Neurosci*, 11, 563-83.
45. Herkenham, M., Lynn, A. B., Little, M. D., Johnson, M. R., Melvin, L. S., de Costa, B. R., Rice, K. C. (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87, 1932-6.
46. Higuera-Matas, A., Boteau, F., Del Olmo, N., Miguéns, M., Olías, O., Montoya, G, L., García-Lecumberri, C. & Ambrosio E. (2010). Periadolescent exposure to cannabinoids alters the striatal and hippocampal dopaminergic system in the adult rat brain. *Eur Neuropsychopharmacol* 20(12), 895-906.

47. Higuera-Matas, A., Montoya G, L., Coria, S.M., Miguéns, M., García-Lecumberri, C. & Ambrosio, E. (2011). Differential gene expression in the nucleus accumbens and frontal cortex of Lewis and Fischer 344 rats relevant to drug addiction. *Curr Neuropharmacol.*, 9(1), 143-50.
48. Hillard, C. J., Harris, R. A., Bloom, A. S. (1985). Effects of the cannabinoids on physical properties of brain membranes and phospholipid vesicles: fluorescence studies. *J Pharmacol Exp Ther*, 232, 579-88.
49. Hoffman, A. F., Oz, M., Caulder, T., Lupica, C. R., (2003). Functional tolerance and blockade of long-term depression at synapses in the nucleus accumbens after chronic cannabinoid exposure. *J Neurosci.* 23, 4815-20.
50. Hohmann, A. G., Briley, E. M., Herkenham, M. (1999). Pre- and postsynaptic distribution of cannabinoid and mu opioid receptors in rat spinal cord. *Brain Res*, 822, 17-25.
51. Hollister, L. E. (1986). Health aspects of cannabis. *Pharmacol Rev*, 38, 1-20.
52. Hollister, L. E. (1988). Cannabis--1988. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, 345, 108-18.
53. Horan, B., Smith, M., Gardner, E. L., Lepore, M., Ashby, C. R., Jr. (1997). (-)-Nicotine produces conditioned place preference in Lewis, but not Fischer 344 rats. *Synapse*, 26, 93-4.
54. Jones, R. T., Benowitz, N. L., Herning, R. I. (1981). Clinical relevance of cannabis tolerance and dependence. *J Clin Pharmacol.* 21, 143S-152S.

55. Justinova, Z., Tanda, G., Redhi, G. H., Goldberg, S. R., (2003). Self-administration of delta9-tetrahydrocannabinol (THC) by drug naive squirrel monkeys. *Psychopharmacology (Berl)*, 169, 135-40.
56. Kaminski, N. E., Abood, M. E., Kessler, F. K., Martin, B. R., Schatz, A. R. (1992). Identification of a functionally relevant cannabinoid receptor on mouse spleen cells that is involved in cannabinoid-mediated immune modulation. *Mol Pharmacol*, 42, 736-42
57. Kendler, K. S., Prescott, C. A. (1998). Cannabis use, abuse, and dependence in a population-based sample of female twins. *Am J Psychiatry*, 155, 1016-22.
58. Khantzian, E. J. & Treece, C. (1985). DSMIII psychiatric diagnosis of narcotic addicts. Recent findings". *Arch. Gen. Psychiatric*, 42, 1067-1071. En Sánchez, E., & Berjano, E. (1996). Características de personalidad en sujetos drogodependientes. *psicothama*, 8(3), 457-463.
59. Koob, G. F. (1996). Drug addiction: the yin and yang of hedonic homeostasis. *Neuron*, 16, 893-6.
60. Koob, G.F. (1992). Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends Pharmacol Sci*, 13, 177-84.
61. Kosten, T. A. & Ambrosio, E. (2002). HPA axis function and drug addictive behaviors: insights from studies with Lewis and Fischer 344 inbred rats. *Psychoneuroendocrinology*, 27, 35-69.

62. Kosten, T. A., Miserendino, M. J., Chi, S., Nestler, E. J. (1994). Fischer and Lewis rat strains show differential cocaine effects in conditioned place preference and behavioral sensitization but not in locomotor activity or conditioned taste aversion. *J Pharmacol Exp Ther*, 269, 137-44.
63. Kosten, T.A., Ambrosio, E., 2002. HPA axis function and drug addictive behaviors: insights from studies with Lewis and Fischer 344 inbred rats. *Psychoneuroendocrinology*. 27, 35-69.
64. Kouri, E. M., Pope, H. G, Jr., Lukas, S. E. (1999). Changes in aggressive behavior during withdrawal from long-term marijuana use. *Psychopharmacology (Berl)*, 143, 302-8.
65. Kouri, E. M., Pope, H. G., Jr. (2000). Abstinence symptoms during withdrawal from chronic marijuana use. *Exp Clin Psychopharmacol*, 8, 483-92.
66. Lancellotti, D., Bayer, B. M., Glowa, J. R., Houghtling, R. A., Riley, A. L. (2001). Morphine-induced conditioned taste aversions in the LEW/N and F344/N rat strains. *Pharmacol Biochem Behav*, 68, 603-10.
67. Lauckner, J. E., Jensen, J. B., Chen, H. Y., Lu, H. C., Hille, B., Mackie, K. (2008). GPR55 is a cannabinoid receptor that increases intracellular calcium and inhibits M current. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105, 2699-704.
68. Laviola, G., Adriani, W., Terranova, M. L., Gerra, G. (1999). Psychobiological risk factors for vulnerability to psychostimulants in human adolescents and animal models. *Neurosci Biobehav Rev*. 23, 993-1010.

69. Ledent, C., Valverde, O., Cossu, G., Petitet, F., Aubert, J. F., Beslot, F.,... Parmentier, M. (1999). Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB1 receptor knockout mice. *Science*, 283, 401-4.
70. Lepore, M., Vorel, S. R., Lowinson, J., Gardner, E. L. (1995). Conditioned place preference induced by delta 9-tetrahydrocannabinol: comparison with cocaine, morphine, and food reward. *Life Sci*, 56, 2073-80.
71. Lupica, C. R. & Riegel, A. C., (2005). Endocannabinoid release from midbrain dopamine neurons: a potential substrate for cannabinoid receptor antagonist treatment of addiction. *Neuropharmacology*, 48, 1105-16.
72. Lynn, A. B. & Herkenham, M. (1994). Localization of cannabinoid receptors and nonsaturable high-density cannabinoid binding sites in peripheral tissues of the rat: implications for receptor-mediated immune modulation by cannabinoids. *J Pharmacol Exp Ther*, 268, 1612-23
73. Lynskey, M. (2002). An alternative model is feasible, but the gateway hypothesis has not been invalidated: comments on Morral et al. *Addiction*. 97, 1505-7.
74. Mailleux, P. & Vanderhaeghen, J. J. (1992). Distribution of neuronal cannabinoid receptor in the adult rat brain: a comparative receptor binding radioautography and in situ hybridization histochemistry. *Neuroscience*, 48, 655-68.
75. Maldonado, R. & Rodriguez de Fonseca, F. (2002). Cannabinoid addiction: behavioral models and neural correlates. *J Neurosci*, 22, 3326-31.

76. Manzanares, J., Uriguen, L., Rubio, G., Palomo, T. (2004). Role of endocannabinoid system in mental diseases. *Neurotox Res*, 6, 213-24.
77. Manzanedo, C., Aguilar, M. A., Rodriguez-Arias, M., Navarro, M. y Minarro, J. (2004). Cannabinoid agonist-induced sensitisation to morphine place preference in mice. *Neuroreport*, 15 (8), 1373–1377.
78. Martellotta, M. C., Cossu, G., Fattore, L., Gessa, G. L., Fratta, W. (1998). Self-administration of the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 in drug-naive mice. *Neuroscience*, 85, 327-30.
79. Martin, B. R., Harvey, D. J., Paton, W. D. (1976c). Identification of new in vivo side-chain acid metabolites of delta1-tetrahydrocannabinol. *J Pharm Pharmacol*, 28, 773-4.
80. Martin, B., Agurell, S., Nordqvist, M., Lindgren, J. E. (1976a). Dioxygenated metabolites of cannabidiol formed by rat liver. *J Pharm Pharmacol*, 28, 603-8.
81. Martin, B., Nordqvist, M., Agurell, S., Lindgren, J. E., Leander, K., Binder, M. (1976b). Identification of monohydroxylated metabolites of cannabidiol formed by rat liver. *J Pharm Pharmacol*, 28, 275-9.
82. Matsuda, L. A., Lolait, S. J., Brownstein, M. J., Young, A. C., Bonner, T. I. (1990). Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*, 346, 561-4.
83. McGregor, I. S., Issakidis, C. N., Prior, G. (1996). Aversive effects of the synthetic cannabinoid CP 55,940 in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 53, 657-64.

84. McMillan, D. E., Harris, L. S., Frankenheim, J. M., Kennedy, J. S. (1970). 1-Dgr9-trans-Tetrahydrocannabinol in Pigeons: Tolerance to the Behavioral Effects. *Science*, *169*, 501-503.
85. Melis, M., Pistis, M., Perra, S., Muntoni, A .L., Pillolla, G., Gessa, G. L. (2004). Endocannabinoids mediate presynaptic inhibition of glutamatergic transmission in rat ventral tegmental area dopamine neurons through activation of CB1 receptors. *J Neurosci*, *24*, 53-62.
86. Menhiratta, S. S., Wig, N. N., Verma, S. K. (1978). Some psychological correlates of long-term heavy cannabis users. *Br J Psychiatry*, *132*, 482-6.
87. Moral, S., Higuera, A., Ambrosio, E., García, C., Miguéns, M. (2010). Estudio de las Diferencias Genéticas en la Distribución de Receptores de Cannabinoides y en la Conducta de Autoadministración de WIN 55,212-2 en Ratas Lewis y Fischer 344. Tesis
88. Morral, A. R., McCaffrey, D. F., Paddock, S. M. (2002). Reassessing the marijuana gateway effect. *Addiction*, *97*, 1493-504
89. Müller-Vahl, K. (2008). Cannabinoides y esquizofrenia: ¿dónde está el Vínculo. *Cannabinoids* *3*(4):11-15.
90. Munro, S., Thomas, K. L., Abu-Shaar, M. (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*, *365*, 61-5
91. Negrete, J. C. (1983). Effect of cannabis use on health. *Acta Psiquiatr Psicol Am Lat*, *29*, 267-76.

92. Ochoa, E. (2006). Uso de antipsicóticos en drogodependientes. *Actas españolas de psiquiatria*, 29(3), 172-185.
93. Olds, J. & Milner, P. (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 47, 419-427
94. Oliva, J. M., Ortiz, S., Palomo, T., Manzanares, J., (2003). Behavioural and gene transcription alterations induced by spontaneous cannabinoid withdrawal in mice. *J Neurochem*, 85, 94-104.
95. Ortiz, J., Fitzgerald, L. W., Lane, S., Terwilliger, R., Nestler, E. J. (1996). Biochemical adaptations in the mesolimbic dopamine system in response to repeated stress. *Neuropsychopharmacology*, 14, 443-52.
96. Oviedo, A., Glowa, J., Herkenham, M. (1993). Chronic cannabinoid administration alters cannabinoid receptor binding in rat brain: a quantitative autoradiographic study. *Brain Res*, 616, 293-302.
97. Pavlov, I. P. (Eds.) (1929). *Los reflejos condicionados*. Madrid: Ediciones Morata.
98. Peele, S. (1985). The meaning of addiction: compulsive experience and its interpretation. Lexington Books, Massachusetts. En Sánchez, E., & Berjano, E. (1996). Características de personalidad en sujetos drogodependientes. *psicothama*, 8(3), 457-463.
99. Pertwee, R. G. (2007). GPR55: a new member of the cannabinoid receptor clan?. *Br J Pharmacol*, 152, 984-6.

100. Polissidis, A., Chouliara, O., Galanopoulos, A., Marselos, M., Papadopoulou-Daifoti, Z., Antoniou, K. (2009) . Behavioural and dopaminergic alterations induced by a low dose of WIN 55,212-2 in a conditioned place preference procedure. *Life Sciences* 85, 248–254.
101. Pontieri, F. E., Monnazzi, P., Scontrini, A., Buttarelli, F. R., Patacchioli, F. R. (2001). Behavioral sensitization to heroin by cannabinoid pretreatment in the rat. *Eur J Pharmacol*, 421, R1-3.
102. Ranganathan, M., D'Souza, D. C. (2006). The acute effects of cannabinoids on memory in humans: a review. *Psychopharmacology (Berl)*, 188, 425-44.
103. Rinaldi-Carmona, M., Barth, F., Millan, J., Derocq, J. M., Casellas, P., Congy, C.,... Le Fur, G.L. (1998). SR 144528, the first potent and selective antagonist of the CB2 cannabinoid receptor. *J Pharmacol Exp Ther*, 284, 644-50.
104. Robbe, D., Alonso, G., Duchamp, F., Bockaert, J., Manzoni, O. J. (2001). Localization and mechanisms of action of cannabinoid receptors at the glutamatergic synapses of the mouse nucleus accumbens. *J Neurosci*, 21, 109-16.
105. Rodriguez de Fonseca, F., Wenger, T., Navarro, M., Murphy, L. L. (1999). Effects of delta9-THC on VIP-induced prolactin secretion in anterior pituitary cultures: evidence for the presence of functional cannabinoid CB1 receptors in pituitary cells. *Brain Res*, 841, 114-22.

106. Romero, J., de Miguel, R., Ramos, J.A., Fernandez-Ruiz, J. J., (1998). The activation of cannabinoid receptors in striatonigral GABAergic neurons inhibited GABA uptake. *Life Sci.* 62, 351-63.
107. Romero, J., Garcia, L., Fernandez-Ruiz, J. J., Cebeira, M., Ramos, J. A. (1995). Changes in rat brain cannabinoid binding sites after acute or chronic exposure to their endogenous agonist, anandamide, or to delta 9-tetrahydrocannabinol. *Pharmacol Biochem Behav*, 51, 731-7.
108. Rossi, N. A. & Reid, L. D. (1976). Affective states associated with morphine injections. *Physiol Psychol* 4: 269–274.
109. Rubino, T., Vigano, D., Massi, P., Parolaro, D. (2000). Changes in the cannabinoid receptor binding, G protein coupling, and cyclic AMP cascade in the CNS of rats tolerant to and dependent on the synthetic cannabinoid compound CP 55,940. *J Neurochem.* 75, 2080-6.
110. Rubino, T., Vigano, D., Massi, P., Parolaro, D. (2001). The psychoactive ingredient of marijuana induces behavioural sensitization. *Eur J Neurosci.* 14, 884-6.
111. Rubino, T., Vigano, D., Massi, P., Parolaro, D. (2003). Cellular mechanisms of Delta 9-tetrahydrocannabinol behavioural sensitization. *Eur J Neurosci.* 17, 325-30.
112. Ryberg, E., Larsson, N., Sjogren, S., Hjorth, S., Hermansson, N.O., Leonova, J.,... Greasley, P.J. (2007). The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br J Pharmacol*, 152, 1092-101

113. Ryberg, E., Vu, H.K., Larsson, N., Groblewski, T., Hjorth, S., Elebring, T.,... Greasley, P.J., (2005). Identification and characterisation of a novel splice variant of the human CB1 receptor. *FEBS Lett.* 579, 259-64.
114. Sanudo-Pena, M. C., Tsou, K., Delay, E. R., Hohman, A. G., Force, M., Walker, J. M. (1997). Endogenous cannabinoids as an aversive or counter-rewarding system in the rat. *Neurosci Lett*, 223, 125-8.
115. Sawzdargo, M., Nguyen, T., Lee, D. K., Lynch, K. R., Cheng, R., Heng, H. H.,... O'Dowd, B. F., (1999). Identification and cloning of three novel human G protein-coupled receptor genes GPR52, PsiGPR53 and GPR55: GPR55 is extensively expressed in human brain. *Brain Res Mol Brain Res.* 64, 193-8.
116. Schatz, A. R., Lee, M., Condie, R. B., Pulaski, J. T., Kaminski, N. E. (1997). Cannabinoid receptors CB1 and CB2: a characterization of expression and adenylate cyclase modulation within the immune system. *Toxicol Appl Pharmacol*, 142, 278-87.
117. Schechter, M. D. & Calcagnetti, D. J. (1993). Trends in place preference conditioning with a cross-indexed bibliography; 1957-1991. *Neurosci Biobehav Rev.* 17, 21-41.
118. Schlicker, E., Kathmann, M. (2001). Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends Pharmacol Sci.* 22, 565-72.
119. Secretaría de Salud en Nuevo León. (2005). Sistema de Vigilancia Epidemiológica de las Adicciones del Estado de Nuevo León. Recuperado el día 20 de marzo del 2010, de http://www.insp.mx/Portal/Inf/ENA08_nacional.pdf

120. Shire, D., Carillon, C., Kaghad, M., Calandra, B., Rinaldi-Carmona, M., Le Fur, G.,... Ferrara, P. (1995). An amino-terminal variant of the central cannabinoid receptor resulting from alternative splicing. *J Biol Chem.* 270, 3726-31.
121. Sim, L. J., Hampson, R. E., Deadwyler, S. A., Childers, S. R. (1996). Effects of chronic treatment with delta9-tetrahydrocannabinol on cannabinoid-stimulated [35S]GTPgammaS autoradiography in rat brain. *J Neurosci*, 16, 8057-66.
122. Soueif, M. I. (1976). Some determinants of psychological deficits associated with chronic cannabis consumption. *Bull Narc*, 28, 25-42.
123. Spragg, S. D. S. (1940). Morphine addiction in chimpanzees. *Comp Psychol Monogr* 15:1-132.
124. Stark-Adamec, C., Adamec, R. E., Pihl, R. O. (1981). The subjective marijuana experience: great expectations. *Int J Addict.* 16, 1169-81.
125. Stenbacka, M., Allebeck, P. & Romelsjö, A. (1993). Initiation to drug abuse: The pathway from being offered drugs to trying cannabis and progression to intravenous drug abuse. *Scandinavian Journal of Social Medicine*, 21, 31-39.
126. Strecker, R. E., Eberle, W. F., Ashby, C. R, Jr. (1995). Extracellular dopamine and its metabolites in the nucleus accumbens of Fischer and Lewis rats: basal levels and cocaine-induced changes. *Life Sci*, 56, 135-41.
127. Szabo, B., Siemes, S., Wallmichrath, I. (2002). Inhibition of GABAergic neurotransmission in the ventral tegmental area by cannabinoids. *Eur J Neurosci.* 15, 2057-61.

128. Takahashi, R. N., Singer, G. (1979). Self-administration of delta 9-tetrahydrocannabinol by rats. *Pharmacol Biochem Behav*, *11*, 737-40.
129. Tanda, G., Pontieri, F. E., Di Chiara, G. (1997). Cannabinoid and heroin activation of mesolimbic dopamine transmission by a common mu1 opioid receptor mechanism. *Science*, *276*, 2048-50.
130. Tsou, K., Brown, S., Sanudo-Pena, M. C., Mackie, K., Walker, J. M. (1998). Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience*. *83*, 393-411.
131. Tzavara, E. T., Valjent, E., Firmo, C., Mas, M., Beslot, F., Defer, N.,... Maldonado, R. (2000). Cannabinoid withdrawal is dependent upon PKA activation in the cerebellum. *Eur J Neurosci*, *12*, 1038-46.
132. United Nations Office on Drugs and Crime [UNDOC] (2010). *World Drug Report*.
133. Weckowicz, T. E., Collier, G., Spreng, L. (1977). Field dependence, cognitive functions, personality traits, and social values in heavy cannabis users and nonuser controls. *Psychol Rep*, *41*, 291-302.
134. Wert, R. C. & Raulin, M. L. (1986). The chronic cerebral effects of cannabis use. II. Psychological findings and conclusions. *Int J Addict*. *21*, 629-42.
135. Westlake, T. M., Howlett, A. C., Bonner, T. I., Matsuda, L. A., Herkenham, M. (1994). Cannabinoid receptor binding and messenger RNA expression in human brain: an in vitro receptor autoradiography and in situ hybridization histochemistry study of normal aged and Alzheimer's brains. *Neuroscience*. *63*, 637-52.

136. Young, A. M., Katz, J. L., Woods, J. H. (1981). Behavioral effects of levonantradol and nantradol in the rhesus monkey. *J Clin Pharmacol*, *21*, 348S-360S.
137. Zakharova, E., Miller, J., Unterwald, E., Wade, D., & Izenwasswe, S. (2009). Social and physical environment alter cocaine conditioned place preference and dopaminergic markers in adolescent male rats. *Neuroscience*, *163*, 890-7.