



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

TESIS

**FUNCIÓN FARMACOLÓGICA DE LOS GPR35, GPR55 y GPR119 EN EL
APRENDIZAJE, LA MEMORIA Y LA ADICCIÓN A SUSTANCIAS EN LA RATA.**

PRESENTA

Alejandro Díaz Barba

Directores:

Dr. Bruno Antonio Marichal Cancino

Dr. José Luis Quintanar Stephano

Asesora:

Dra. Raquel Guerrero Alba

Aguascalientes, Ags., México, Noviembre 2022



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

M. en. C. JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHÁVEZ
DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

PRESENTE

Por medio del presente como **Miembros del Comité Tutoral** designado del estudiante **ALEJANDRO DÍAZ BARBA** con ID **177738** quien realizó la tesis titulado: **FUNCIÓN FARMACOLÓGICA DE LOS GPR35, GPR55 y GPR119 EN EL APRENDIZAJE, LA MEMORIA Y LA ADICCIÓN A SUSTANCIAS EN LA RATA**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia damos nuestro consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que nos permitimos emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que él pueda proceder a imprimirlo así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Ponemos lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 10 de noviembre de 2022.

Dr. Bruno Antonio Marichal Cancino
Tutor de tesis

Dra. Raquel Guerrero Alba
Asesor de tesis

Dr. José Luis Quintanar Stephano
Co-Tutor de tesis

c.c.p.- Interesado

c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado

Central GPR55 may prevent nicotine reinforcing actions: a preliminary study

Alejandro Díaz-Barba, Argelia Calvillo-Robledo, Priscila Vázquez-León, Eduardo Gallegos-Vieyra, J. Luis Quintanar, Bruno A. Marichal-Cancino*

*Departamento de Fisiología y Farmacología, Centro de Ciencias Básicas,
Universidad Autónoma de Aguascalientes, Ciudad Universitaria, Aguascalientes, Mexico,
Email: bruno.marichal@edu.uaa.mx

GPR55 is an orphan receptor whose endogenous agonists include lysophosphatidylinositol (LPI) and N-acylethanolamides (NAEs), such as palmitoylethanolamide (PEA) and anandamide. Furthermore, its physiology in the central nervous system involves motor coordination, procedural and spatial memory, pain, and anxiety, among others. Recent reports indicate that systemic injections of O-1602 (a GPR55 and GPR18 agonist) blocked the reinforcing effects of morphine and nicotine in the conditioned place preference (CPP) paradigm, suggesting a possible participation of peripheral and/or central GPR55/GPR18 in brain reward/anti-reward systems. In this pilot study, the endogenous GPR55 agonists LPI and PEA, the highly selective GPR55 synthetic agonist ML184 or the selective GPR55 antagonist ML193 were injected to examine their pharmacological effects on the reinforcing actions of nicotine in the CPP paradigm. Our preliminary study shows that injections of LPI, PEA, ML184 and ML193 interfered with the change in place preference induced by nicotine *via* mechanisms that remain to be identified (which probably include central GPR55).

Key words: GPR55, conditioned place preference, palmitoylethanolamide, lysophosphatidylinositol, nicotine

INTRODUCTION

The endocannabinoid system has been implicated in the mechanisms underlying the reward effects of several drugs of abuse (Di Marzo, 2006; Parsons and Hurd, 2015), including nicotine (Le Foll et al., 2008; Muldoon et al., 2013). Although the psychoactive effects of cannabinoids have been historically associated with the cannabinoid type 1 receptor (CB₁), the widely used CB₁ blockers/inverse agonists (e.g., AM251 and SR141716) may also interact as agonists for the orphan receptor GPR55 (Table 1). Furthermore, GPR55 is expressed in brain areas involved in the reinforcing actions of drugs of abuse, such as the basal nuclei, frontal cortex, and hippocampus (Sawzdargo et al., 1999; Ryberg et al., 2007), and in others related with negative emotional actions (e.g., pain, anxiety, irritability,

etc.) of the compulsive intake of substances such as the periaqueductal gray (PAG) and amygdala (Deliu et al., 2015; Marichal-Cancino et al., 2017; Shi et al., 2017; Vázquez-León et al., 2021b). Nevertheless, a possible function of GPR55 in the mechanisms that underlie brain reward and anti-reward systems remains virtually unexplored.

Two G protein-coupled receptors (GPCRs) have been classified as cannabinoid receptors (i.e., the type 1 and type 2; CB₁ and CB₂, respectively), but other GPCRs such as GPR3, GPR6, GPR12, GPR18, GPR55 and GPR119 have been genetically, pharmacologically and/or molecularly associated with the endocannabinoid system (Allende et al., 2020; Guerrero-Alba et al., 2018; Guzmán-Rodríguez et al., 2021; Marichal-Cancino et al., 2014; Morales and Reggio 2017; Ramirez-Orozco et al., 2019). Among those putative cannabinoid GPCRs,

Dedicación

Esta Tesis está dedicada con mucho amor a mi padre el Lic. Lisandro de Jesús Díaz Romero que me apoyo y me alentó a estudiar este posgrado, por desgracia falleció antes de que me viera concluir pero que sé que me acompaña y apoya con su espíritu, que esta y estará conmigo todos los días acompañándome en mis mejores y peores momentos de mi vida, y será mi guía y mi inspiración para mejorar y ser mejor persona, tanto a nivel académico como personal.

Agradecimientos

El presente proyecto fue realizado por un conjunto de personas que me han apoyado en mi formación académica y personal, por lo que les doy mi eterno agradecimiento.

En primer lugar, a mis padres, mi padre Lisandro de Jesús Díaz Romero y mi madre Rebeca Barba Martínez por todo su apoyo y amor incondicional, por su esfuerzo en educarme, orientarme por el buen camino, formarme y hacerme el hombre que soy hoy en día, del cual espero estén orgullosos, por hacerme ver que siempre se puede ser mejor, para ellos les tendré siempre mi amor, mi admiración, mi respeto y agradecimiento eterno.

A mi hermano Lizandro Díaz Barba, a quien amo y el cual siempre me ha apoyado a pesar de cualquier adversidad, demostrándome ser la persona con la cual siempre puedo contar para cualquier situación, que me ha guiado para ser mejor, al cual siempre admiro por tanta adversidad que ha pasado y ha sabido salir con la frente en alto.

A mis tutores, Bruno Antonio Marichal Cancino, José Luis Quintanar Stephano y Raquel Guerrero Alba, por impulsarme a mejorar y a continuar con este proyecto hasta finalizarlo, a instruirme guiándome a ser mejor persona e investigador, y a tenerme paciencia en momentos claves durante este trayecto.

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes por brindándome la oportunidad de utilizar sus instalaciones y aprender de sus docentes al igual que los años de preparación para poder titularme.

A mis amigos y compañeros de laboratorio Irma Guadalupe Reynosa Andeola, Priscila Vázquez León, Carlos Humberto López Lariz, Argelia Calvillo Robledo, Ismael Eduardo Gallegos Vieyra y Jesús Chávez Reyes por enseñarme, apoyarme en los diferentes procesos que tuve durante mi estancia en el laboratorio, dándome momentos de gratos dentro y fuera del laboratorio.

A mis amigos y compañeros de generación Karina Alejandra Pedroza García, Juan José Ayala Rodríguez, Nayeli Amalinalli Pulido Hornedo, Gloria Stephanie Villa Jaimes, Ricardo Ernesto Ramírez Orozco, Carolina Cassandra Barajas García y Fátima Alejandra Martínez Rodríguez por brindarme su amistad, regalarme momentos de alegría y acompañarme a lo largo de este proyecto.

A mis amigos Abel López Devora, Gerardo Dazaeth López Gallinar, Miguel Ángel García Álvarez, Luis Martín Castro Fernández, Sara Romina Paredes Padilla y Miriam Sarahí Lozano Gamboa que me han apoyado y han estado acompañándome a lo largo de mi vida, considero su amistad como una de las cosas más valiosas de mi vida con la que a sabiendas que contaré con ella el resto de ella.

Índice general

ÍNDICE DE TABLAS.....	4
ÍNDICE DE FIGURAS.....	5
RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	9
1. INTRODUCCIÓN: SUSTRATO BIOLÓGICO DE LOS PROCESOS COGNITIVOS.....	11
1.1 CÉLULAS DEL SISTEMA NERVIOSO.....	18
1.1.1 <i>Neurona</i>	18
1.1.2 <i>Neuroglia</i>	19
1.2 ANATOMÍA FUNCIONAL DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.....	25
1.2.1 <i>El cerebro</i>	25
1.2.2 <i>Ventrículos</i>	28
1.2.3 <i>Corteza cerebral</i>	29
1.2.4 <i>Núcleos Basales</i>	33
1.2.5 <i>Diencefalo</i>	35
1.2.6 <i>Sistema límbico</i>	39
1.3 PRINCIPIOS DE NEUROTRANSMISIÓN.....	42
1.4 PROCESOS COGNITIVOS DEPENDIENTES DE HIPOCAMPO: LA MEMORIA DECLARATIVA.....	48
1.4.1 <i>Memoria de trabajo</i>	50
1.4.2 <i>Bases celulares y moleculares de la memoria</i>	51
1.5 PROCESOS COGNITIVOS DEPENDIENTES DE NÚCLEOS DE LA BASE: LA MEMORIA DE PROCEDIMIENTO.....	62
1.6 FISIOPATOLOGÍA DE LAS ADICCIONES.....	66
2. RECEPTORES HUÉRFANOS GPR35, GPR55 Y GPR119.....	75
2.1 EXPRESIÓN EN SISTEMA NERVIOSO CENTRAL.....	75
2.1.1 <i>GPCR</i>	75
2.1.2 <i>Receptor GPR35</i>	76
2.1.3 <i>Receptor GPR55</i>	78
2.1.4 <i>Receptor GPR119</i>	79
2.2 POSIBLES FUNCIONES.....	80
2.2.1 <i>GPR35</i>	80
2.2.2 <i>GPR55</i>	81
2.2.3 <i>GPR119</i>	81
2.3 POTENCIAL UTILIDAD TERAPÉUTICA.....	82
2.3.1 <i>GPR35</i>	82
2.3.2 <i>GPR55</i>	83
2.3.3 <i>GPR119</i>	84
3. ANTECEDENTES.....	85

3.1 GPR35	85
3.2 GPR55	86
3.2.1 Memoria	86
3.2.2 Adicciones	88
3.3 GPR119.....	90
3.4 COMPUESTOS.....	90
4. JUSTIFICACIÓN.....	94
5. HIPÓTESIS.....	98
6. OBJETIVOS	98
6.1 OBJETIVO GENERAL.....	98
6.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	98
7. MATERIALES Y MÉTODOS	99
7.1 ANIMALES	99
7.2 MÉTODOS GENERALES	99
7.2.1 <i>Cirugía estereotáctica</i>	99
7.2.2 <i>Drogas y microinyecciones</i>	99
7.2.3 <i>Laberinto en forma de T</i>	100
7.2.4 <i>Prueba de preferencia de lugar condicionada</i>	101
7.2.5 <i>Ruedas de actividad física voluntaria</i>	103
7.2.6 <i>Prueba de campo abierto</i>	104
7.3 PRUEBAS ESTADÍSTICAS.....	104
8. RESULTADOS.....	105
8.1 GPR35	105
8.1.1 <i>Prueba de preferencia de lugar condicionada</i>	105
8.2 GPR55	106
8.2.1 <i>Laberinto en Forma de T</i>	106
8.2.2 <i>Prueba de preferencia de lugar condicionada</i>	107
8.2.3 <i>Rueda de actividad física voluntaria</i>	110
8.3 GPR119.....	111
8.3.1 <i>Laberinto en forma de T</i>	111
8.3.2 <i>Campo abierto</i>	112
9. DISCUSIÓN.....	114
9.1 GPR35	114
9.1.1 <i>Condicionamiento de Preferencia de Lugar</i>	114
9.2 GPR55	117
9.2.1 <i>Laberinto en forma de T</i>	117
9.2.2 <i>Condicionamiento de Preferencia de Lugar</i>	119
9.2.3 <i>Rueda de actividad física voluntaria</i>	126

9.3 GPR119.....127
 9.3.1 *Laberinto en forma de T*.....127
 9.3.2 *Campo abierto*.....127
10. CONCLUSIONES.....129
11. PERSPECTIVAS.....130
12. BIBLIOGRAFÍA.....131



Índice de tablas

TABLA 1.	POSIBLES USOS TERAPÉUTICOS PARA GPR35	83
TABLA 2.	POSIBLES USOS TERAPÉUTICOS PARA GPR55	84
TABLA 3.	POSIBLES USOS TERAPÉUTICOS PARA GPR119	85



Índice de figuras

FIGURA 1. DIAGRAMA ILUSTRANDO LAS TRES FUNCIONES BÁSICAS DEL SISTEMA NERVIOSO	13
FIGURA 2. DIBUJO DE LOS RECEPTORES IONOTRÓPICOS Y RECEPTORES METABOTRÓPICOS	15
FIGURA 3. DIVISIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO SOBRE UNA BASE ANATÓMICA. SISTEMA NERVIOSO CENTRAL Y SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO	16
FIGURA 4. ESQUEMA DE LA ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA NERVIOSO	18
FIGURA 5. NEURONA CENTRAL Y PERIFÉRICA SEÑALANDO SUS PARTES	19
FIGURA 6. DIFERENTES TIPOS DE NEUROGLIAS	20
FIGURA 7. CEREBRO HUMANO CON VISTA FRONTAL, VISTA SUPERIOR Y VISTA LATERAL	27
FIGURA 8. CEREBRO HUMANO VISTA SUPERIOR EN DONDE SE OBSERVAN LOS HEMISFERIOS CEREBRALES.....	28
FIGURA 9. CEREBRO HUMANO CON VISTA FRONTAL EN DONDE SE RESALTA LOS VENTRÍCULOS DE COLOR AZUL.....	29
FIGURA 10. CEREBRO HUMANO CON VISTA SUPERIOR Y LATERAL EN DONDE SE RESALTA EL LÓBULO FRONTAL DE COLOR AZUL.....	31
FIGURA 11. CEREBRO HUMANO CON VISTA SUPERIOR Y LATERAL EN DONDE SE RESALTA EL LÓBULO PARIETAL DE COLOR AZUL CLARO	31
FIGURA 12. CEREBRO HUMANO CON VISTA LATERAL EN DONDE SE RESALTA EL LÓBULO TEMPORAL DE COLOR VERDE.....	32
FIGURA 13. CEREBRO HUMANO CON VISTA SUPERIOR Y LATERAL EN DONDE SE RESALTA EL LÓBULO OCCIPITAL DE COLOR AMARILLO.....	32
FIGURA 14. CEREBRO HUMANO CON VISTA LATERAL EN DONDE SE RESALTA LA ÍNSULA DE COLOR VERDE.....	33
FIGURA 15. CEREBRO HUMANO CON VISTA FRONTAL Y CORTE TRANSVERSAL EN EL QUE SE RESALTA NÚCLEOS BASALES.....	34
FIGURA 16. CEREBRO HUMANO CON VISTA LATERAL Y CORTE LONGITUDINAL EN DONDE SE RESALTA EL TÁLAMO DE COLOR MORADO	36
FIGURA 17. CEREBRO HUMANO CON VISTA LATERAL Y CORTE LONGITUDINAL EN DONDE SE RESALTA EL SISTEMA LÍMBICO COMPUESTO POR EL GIRO CINGULADO, HIPOTÁLAMO, AMÍGDALA E HIPOCAMPO	39
FIGURA 18. CEREBRO HUMANO CON VISTA LATERAL Y CORTE LONGITUDINAL EN DONDE SE RESALTA EL HIPOCAMPO	41
FIGURA 19. ARTÍCULOS DISPONIBLES.....	49
FIGURA 20. DIFERENTES ETAPAS DE LA ADICCIÓN, ASÍ COMO TAMBIÉN LAS ZONAS CEREBRALES QUE PARTICIPAN EN DICHAS FASES.....	73
FIGURA 21. ESTRUCTURA MOLECULAR DEL DMSO	90
FIGURA 22. ESTRUCTURA MOLECULAR DE LA NICOTINA	91

FIGURA 23. ESTRUCTURA MOLECULAR DEL ML-19391

FIGURA 24. ESTRUCTURA MOLECULAR DEL ML-18492

FIGURA 25. ESTRUCTURA MOLECULAR DEL LPI92

FIGURA 26. ESTRUCTURA MOLECULAR DEL PEA93

FIGURA 27. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA LODOXAMIDA93

FIGURA 28. ESTRUCTURA QUÍMICA DE ML-19494

FIGURA 29. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL BMS-986034.....94

FIGURA 30. EFECTOS DEL VEHÍCULO, LODOXOMIDA A DIFERENTES CONCENTRACIONES (0.056NMOL Y 0.1NMOL), ML-194 (0.3NMOL) Y UNA ADMINISTRACIÓN CONJUNTA DE ML-194 (0.3NMOL) CON LODOXAMIDA (0.1NMOL) (VÍA INTRACEREBRAL EN EL ESTRIADO VENTRAL) EN EL APARATO CPP 106

FIGURA 31. EFECTO DE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS EN EL RENDIMIENTO DE LAS RATAS EN EL LABERINTO EN FORMA DE T 107

FIGURA 32. EFECTO DEL VEHÍCULO, PEA, LPI, ML184 O ML193 (I.C.V.) SOBRE LOS EFECTOS REFORZANTES DE LA NICOTINA (0,03 MG/KG; S.C.) EN EL PARADIGMA CPP 108

FIGURA 33. EFECTO DEL VEHÍCULO, PEA, LPI, ML184 O ML193 SOBRE EL TIEMPO DE MOVIMIENTO, ACTIVIDAD VERTICAL Y ENTRADAS EN LA CÁMARA PAREADA EN EL PARADIGMA CPP-NICOTINA..... 109

FIGURA 34. EFECTO DEL VEHÍCULO, PEA, LPI, ML184 O ML193 SOBRE LA FRECUENCIA Y EL TIEMPO DEL ASEO PERSONAL EN EL PARADIGMA CPP-NICOTINA..... 110

FIGURA 35. RUEDA CON ACTIVIDAD FÍSICA VOLUNTARIA EN ROEDORES 111

FIGURA 36. EFECTO EN LAS RATAS CON LOS TRATAMIENTOS EN EL LABERINTO EN FORMA DE T..... 112

FIGURA 37. EFECTOS DE DISTANCIA (AFUERA Y ADENTRO DEL CUADRANTE) Y TIEMPO (AFUERA Y ADENTRO DEL CUADRANTE) EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO DEL GPR119..... 113

FIGURA 38. EFECTOS EN LA ENTRADA AL CUADRANTE CENTRAL, FRECUENCIA DE ACICALAMIENTO, ACTIVIDAD VERTICAL Y DISTANCIA TOTAL DE EN LA PRUEBA DEL CAMPO ABIERTO DEL GPR119 114

FIGURA 39. POSIBLE VÍA QUE EXPLICA EL FENÓMENO OBSERVADO EN EL CPP DE GPR55 122

Resumen

En torno al mundo se incrementa el número de individuos en busca de ayuda para los inconvenientes de memoria, la demencia, patologías y adicciones a sustancias, las cuales se presentan en la población en general, afectando en diversos trastornos neurodegenerativos. Los individuos con inconvenientes de memoria, con alteraciones en la concentración, que dejan de lado los objetos, etc., son hallazgos usuales en adultos con deterioro de la memoria, y ya que la causa por lo general no se identifica, el deterioro de memoria tiene diferentes etiologías que abarcan estar en situaciones estresantes, sentirse mal, sentirse deprimido, exposición a contaminación atmosférica y acústica, los efectos colaterales de varias drogas y el abuso de sustancias, estilo de vida como el consumo de tabaco, alta consumo de alcohol, baja actividad física y dieta alta en grasas. Se ha observado que el aprendizaje, la memoria y la adicción a las drogas están modulados por los mismos componentes neurotróficos, compartiendo ciertas cascadas de señalización intracelular.

La adicción es un inconveniente grave de salud pública que produce un exceso de morbilidad, mortalidad y una carga económica notable. La adicción es resultante de una intoxicación frecuente por drogas, siendo esta una patología regulada por componentes de los genes, de desarrollo, experienciales y del medio ambiente, que ha causado directa y de forma indirecta una cantidad enorme de muertes, así sea por sobredosis, accidentes, suicidios, tráfico ilegal de drogas, etc., además de ocasionar inconvenientes económicos, sociales, laborales y personales al sujeto que llega a caer en la adicción de alguna sustancia.

Las sustancias que ejercen su acción por medio del sistema endocannabinoide, son capaces tanto de alterar como de mejorar las distintas etapas de la formación de la memoria por medio de mecanismos directos e indirectos, además diversos estudios han identificado el papel determinante del sistema endocannabinoide en el sustrato neurobiológico subyacente a la adicción a las drogas. Por consiguiente, son obligatorios y necesarios más estudios para proveer el entendimiento de los mecanismos en general del aprendizaje y adicciones, como para desarrollar novedosas herramientas terapéuticas para abordar patologías caracterizadas por un procesamiento y almacenamiento inadecuado de la información en el cerebro, y de los inconvenientes adictivos que perjudica a un número relevante de individuos en la sociedad actual, debido a que, en la actualidad los tratamientos

farmacológicos recientes para casi todos los trastornos cognitivos son deficientes y poco selectivos para atender las alteraciones celulares que corresponden a cada enfermedad.

El sistema endocannabinoide ciertamente constituye una sorprendente fuente de nuevos probables objetivos terapéuticos para diversas patologías, incluida la adicción a las drogas, y gracias a la proximidad filogenética de GPR35, GPR55 y GPR119 a los receptores de cannabinoides y su expresión en el cerebro en superficies que competen a ciertos trastornos cognitivos dichos serían blancos terapéuticos potenciales para el procedimiento de dichos, no obstante, para eso se necesita descifrar sus funcionalidades y su viable colaboración en estos trastornos.



Abstract

Around the world, the number of individuals seeking help for memory problems, dementia, pathologies and substance addictions is increasing, which occur in the general population, affecting various neurodegenerative disorders. Individuals with memory problems, impaired concentration, letting go of objects, etc., are common findings in adults with memory impairment, and since the cause is usually not identified, memory impairment has different etiologies that include being in stressful situations, feeling bad, feeling depressed, exposure to air and noise pollution, the side effects of various drugs and substance abuse, lifestyle such as tobacco use, high alcohol consumption, low physical activity and high fat diet. It has been observed that learning, memory and drug addiction are modulated by the same neurotrophic components, sharing certain intracellular signaling cascades.

Addiction is a serious public health problem that causes excess morbidity, mortality, and a significant economic burden. Addiction is the result of frequent drug intoxication, this being a pathology regulated by genetic, developmental, experiential and environmental components, which has directly and indirectly caused an enormous number of deaths, whether due to overdose, accidents, suicides, illegal drug trafficking, etc., in addition to causing economic, social, labor and personal problems for the subject who becomes addicted to some substance.

Substances that exert their action through the endocannabinoid system are capable of both altering and improving the different stages of memory formation through direct and indirect mechanisms. In addition, various studies have identified the determining role of the endocannabinoid system in the Neurobiological substrate underlying drug addiction. Therefore, more studies are mandatory and necessary to provide an understanding of the general mechanisms of learning and addictions, as well as to develop novel therapeutic tools to address pathologies characterized by inadequate processing and storage of information in the brain, and the drawbacks addictive that harms a significant number of individuals in today's society, due to the fact that, currently, recent pharmacological treatments for almost all cognitive disorders are deficient and not very selective to attend to the cellular alterations that correspond to each disease.

The endocannabinoid system certainly constitutes a surprising source of potential new therapeutic targets for various pathologies, including drug addiction, and thanks to the

phylogenetic proximity of GPR35, GPR55 and GPR119 to cannabinoid receptors and their expression in the brain on surfaces that pertain to certain cognitive disorders, these would be potential therapeutic targets for the procedure of said, however, for this it is necessary to decipher their functionalities and their viable collaboration in these disorders.



1. Introducción: sustrato biológico de los procesos cognitivos

El sistema nervioso, con sólo 1.2 a 1.4 kg de peso (alrededor del 2% del peso corporal total), es uno de los más pequeños, pero más complejos, de los 11 sistemas corporales (sistema nervioso, endocrino, circulatorio, digestivo, respiratorio, excretor, reproductor, muscular, esquelético, inmunológico y linfático) (Woolsey et. al., 2017; Tortora y Derrickson, 2016). Éste regula directa y/o indirectamente la actividad de todos los demás sistemas corporales (ejemplo: sistema cardiovascular, muscular, renal, respiratorio, tegumentario, etc.) y permite la comunicación entre prácticamente todas las células que conforman al organismo (Moini, 2019).

El sistema nervioso es un gran centro integrador de toda la información proveniente del medio interno y del ambiente; por tanto, participa en la ejecución de cualquier acción, emoción y pensamiento (Kandel et. al., 2021). El sistema nervioso emplea señales químicas y eléctricas en la comunicación celular. Ocurren muy rápidamente, en regiones muy específicas (ejemplo: a través de tractos nerviosos que derivan de los cuerpos neuronales y hacen uniones altamente especializadas o sinapsis con otras células), y las respuestas a estas señales son casi inmediatas. El sistema nervioso recibe una gran cantidad de información del entorno, pero también desde los diversos componentes del propio organismo (ejemplo: la distensión de vasos sanguíneos conducción como la carótida y el callado aórtico). En condiciones normales, toda esta información puede producir cambios en la actividad de las neuronas que integran núcleos funcionales (que son conjuntos neuronales altamente especializados y selectivamente interconectados con otros núcleos en diversas áreas cerebrales involucradas en procesos comunes integrándose de esta manera una respuesta adaptativa. A veces la respuesta se produce en el rango de milisegundos, como un reflejo o respuesta automática (ejemplo: retirar una extremidad del cuerpo que entró en contacto repentino con un objeto cuya temperatura resulta dañina para la piel). En otras ocasiones, la respuesta puede tomar considerablemente más tiempo, en especial si la actividad nerviosa conduce a un cambio en la expresión genética de las células que controla (ejemplo: la memoria, ver sección 1.4). En cualquier caso, la principal tarea del sistema nervioso es garantizar que los tejidos que conforman al organismo mantengan su funcionamiento dentro de un rango normal (es decir, promover la homeostasis) a pesar de las fluctuaciones que ocurran en medio ambiente (Brodal, 2010), con esto, aumentar su probabilidad de supervivencia.

En el ser humano (y quizás en muchos otros organismos complejos), el sistema nervioso nos permite percibir e interpretar una gama amplia de estímulos ambientales, pero también producir acciones cognitivas complejas como la comunicación, el recuerdo de eventos del pasado, entre otras (ejemplo: sentir afecto por otra persona). Además, en el sistema nervioso se generan los pensamientos que conducirán a la integración de señales en áreas específicas (ejemplo: las cortezas motoras) para iniciar y controlar los movimientos corporales voluntarios, pero también la regulación no consciente del funcionamiento de los órganos y tejidos de todo el cuerpo. Estas diversas actividades se pueden agrupar en tres funciones básicas: sensitiva (aporte), integradora (procesamiento) y motora (salida) (Tortora y Derrickson, 2016; Figura 1).

- Función sensorial. Esta función permite al organismo percibir información sobre su entorno externo o sobre el estado de sus elementos en relación con dicho entorno (Hine, 2019). Los receptores sensitivos detectan tanto estímulos internos, como elevación de la presión arterial, o estímulos externos, como la temperatura (Tortora y Derrickson, 2016).
- Función integradora. Es lo que permite que la coordinación entre la actividad nerviosa en núcleos y/o estructuras cerebrales separados anatómicamente entre sí, pero relacionados funcionalmente (Hine 2019). El sistema nervioso procesa la información sensorial, analizando y tomando las decisiones adecuadas para cada respuesta, una actividad conocida como integración nerviosa (Tortora y Derrickson, 2016).
- Función motora. Después del procesamiento de la información sensorial, el sistema nervioso puede desencadenar una respuesta motora específica a través de la activación de efectores (músculos y glándulas) por medio de los nervios craneales y espinales con la finalidad de realizar un trabajo mecánico (Hine, 2019). La estimulación de los efectores causa la contracción de los músculos y la secreción de hormonas por las glándulas (Tortora y Derrickson, 2016).

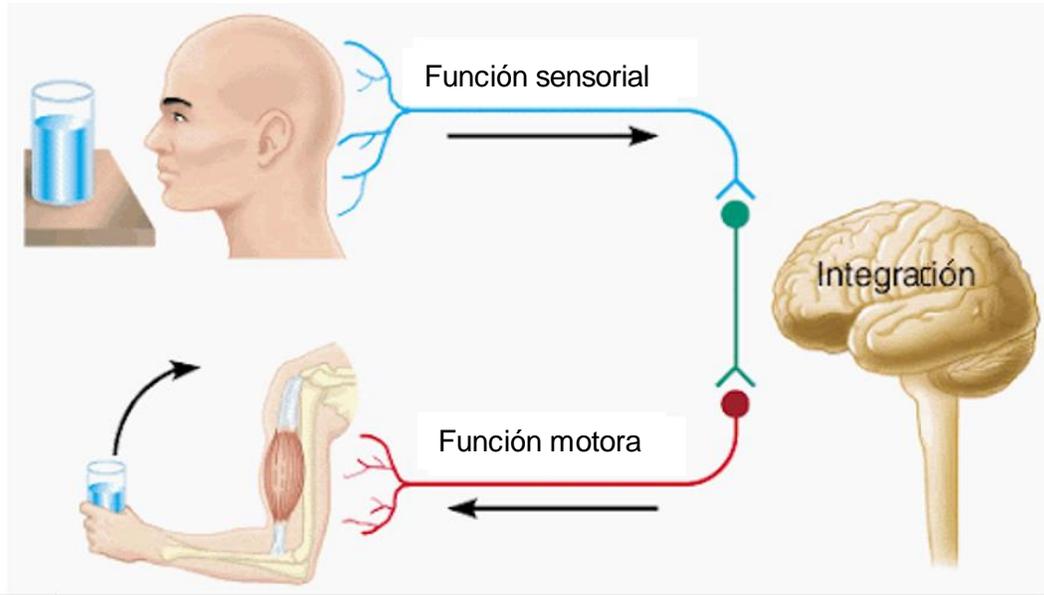


Figura 1. Diagrama ilustrando las tres funciones básicas del sistema nervioso

a) Función sensorial; b) Función integradora; c) Función motora (Imagen tomada y traducida de Human anatomy and physiology 7° edición, de Marieb y Hoehn 2006).

El sistema nervioso está equipado con órganos sensoriales, receptores, que reaccionan a diversas formas de información sensorial o estímulos. Independientemente del modo de estimulación (la forma de energía), los receptores "traducen" la energía del estímulo al lenguaje hablado por el sistema nervioso, es decir, los impulsos nerviosos (Brodal, 2010).

Los receptores son proteínas que pueden interactuar ligandos específicos (es decir, hormonas, neurotransmisores, fármacos u otras sustancias), iniciando así un cambio dentro de la célula. Algunas proteínas receptoras se encuentran en la membrana plasmática, por lo general se extienden a lo largo de la membrana y tienen sitios que miran hacia afuera y hacia adentro. Éstos se unen a ligandos grandes o polares que no pueden atravesar la membrana plasmática. Otros receptores son intracelulares, ubicados en el citoplasma o dentro del núcleo. Se unen a ligandos pequeños o apolares que pueden difundirse a través de la membrana plasmática. Muchos receptores intracelulares son factores de transcripción; cuando se activan, se mueven hacia el núcleo para regular la expresión de genes específicos (Hine, 2019). Funcionalmente, los receptores se dividen en dos categorías principales:

Receptores ionotrópicos: Proteína receptora que forma parte de un canal iónico la cual constan de múltiples subunidades, cada una de las cuales suele tener cuatro dominios

transmembrana que se asocian para formar receptores pentaméricos (Brunton et. al., 2017), siendo regulados por un ligando (neurotransmisores), de modo que la unión del ligando al receptor provoca la apertura del canal, lo que permite que los iones fluyan a través de él (Hine, 2019), produciendo potenciales sinápticos, estas respuestas tienden a ser rápidas (milisegundos) de la llegada del potencial de acción (Luo, 2020), por lo tanto, los efectos son directos y generalmente no requieren múltiples pasos que conduzcan a la generación de un segundo mensajero y la activación de una vía de señalización (Brunton et. al., 2017; Figura 2).

El receptor controla directamente el flujo de iones, al unirse al neurotransmisor, el receptor sufre un cambio conformacional que abre el canal iónico (Kandel et. al., 2021). Estos canales iónicos de alta conductancia, activados por ligandos, por lo general permiten el paso de Na^+ o Cl^- ; y con menor frecuencia K^+ y Ca^{2+} . En presencia de un neurotransmisor apropiado, el canal se abre rápidamente a un estado de alta conductancia, permanece abierto durante aproximadamente un milisegundo y luego se cierra. Se observa un pulso corto de corriente de onda cuadrada como resultado de la apertura y el cierre del canal. La suma de estos eventos microscópicos da lugar al potencial postsináptico excitador (Brunton et. al., 2017).

Los canales activados por ligandos pertenecen a una superfamilia de proteínas receptoras ionotrópicas que incluye los receptores nicotínicos, glutamato y ciertos receptores 5HT3 y purina, que conducen principalmente Na^+ , causan despolarización y son excitadores; y receptores de ácido γ -aminobutírico (GABA) y glicina, que conducen Cl^- , causan hiperpolarización y son inhibidores (Brunton et. al., 2017). Los receptores ionotrópicos de acetilcolina y glutamato son canales catiónicos no selectivos; tras la unión del neurotransmisor, estos receptores producen despolarización en forma de potenciales postsinápticos excitadores. Los receptores ácido N-metil-D-aspartico (NMDA) actúan como detectores de coincidencia, porque la apertura del canal depende tanto de la liberación de glutamato presináptico como de un estado despolarizado de la neurona postsináptica. Los receptores ionotrópicos GABA y glicina son canales de Cl^- . Su apertura suele producir infux de Cl^- , lo que impide que las neuronas postsinápticas alcancen el umbral en el que liberan potenciales de acción (Luo, 2020).

Receptores metabotrópicos: Receptor celular que, cuando se activa mediante la unión de un ligando, desencadena cambios en el metabolismo celular a través de segundos mensajeros intracelulares (Hine, 2019), por lo tanto, sus respuestas tienden a ser más lentas que en los receptores ionotrópicos, aunque todavía relativamente rápida, a menudo en una escala de tiempo de segundos, esto debido a que los efectos son indirectos. En este grupo los principales receptores consisten en los receptores acoplados a proteínas G (GPCR por sus siglas en inglés), los GPCR están asociados con un amplio espectro de efectos fisiológicos, que incluyen la activación de los canales de K^+ , la activación de las vías PLC-IP3- Ca^{2+} y la regulación de la actividad de la adenilil ciclasa y los sistemas posteriores afectados por el AMP cíclico (Brunton et. al., 2017).

La unión de neurotransmisores activa las proteínas G triméricas asociadas con los receptores. $G\alpha$ -GTP y $G\beta\gamma$ pueden activar diferentes efectores, dependiendo de las variantes de la proteína G y los contextos celulares. $G\beta\gamma$ puede actuar directamente sobre los canales de K^+ y Ca^{2+} , mientras que $G\alpha$ suele actuar a través de segundos mensajeros como cAMP y Ca^{2+} para activar las proteínas quinasas que fosforilan los canales iónicos para cambiar el potencial de membrana y la excitabilidad de las neuronas postsinápticas (Kandel et. al., 2021; Luo 2020; Brunton et. al., 2017). La activación del receptor metabotrópico provoca cambios de potencial de membrana en decenas de milisegundos a segundos. Los cambios a largo plazo de las neuronas postsinápticas en respuesta a la liberación de neurotransmisores y la actividad neuronal implican señalización de sinapsis a núcleo y alteraciones de la expresión génica (Kandel et. al., 2021; Luo, 2020).

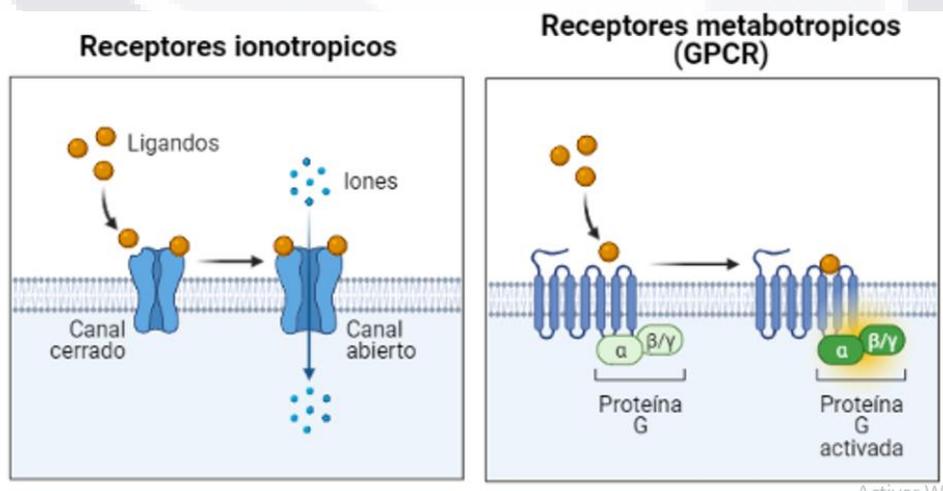


Figura 2. Dibujo de los receptores ionotrópicos y receptores metabotrópicos (Imagen creada a partir del programa BioRender).

Sobre una base anatómica, podemos dividir el sistema nervioso en el sistema nervioso central (SNC), que consiste en el encéfalo (contiene cerca de 85 mil millones de neuronas) y la médula espinal (posee cerca de 100 millones de neuronas), dentro del SNC, un grupo de fibras nerviosas que viajan juntas se llama vía o tracto, y si se unen los lados izquierdo y derecho, se denomina comisura (Rea, 2016), y el sistema nervioso periférico (SNP) comprende de los nervios (grupo de fibras nerviosas juntas) craneales, espinales y periféricos, los ganglios, los plexos entéricos y los receptores sensitivos (Figura 3).



Figura 3. División del sistema nervioso sobre una base anatómica. Sistema nervioso central y sistema nervioso periférico
(Imagen creada a partir del programa BioRender).

El SNP pueden subdividirse en partes relacionadas principalmente con la regulación de los órganos viscerales y el medio interno, y partes relacionadas principalmente con la

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

adaptación más o menos consciente al mundo externo. La primera división se llama sistema nervioso autónomo o visceral (SNA); el segundo suele denominarse sistema nervioso somático (SNS) (Figura 4). La segunda división, también llamada sistema nervioso voluntario, recibe información de los órganos sensoriales que captan eventos en nuestro entorno (visión, audición, receptores en la piel) y controla la actividad de los músculos voluntarios (compuestos de células musculares esqueléticas cruzadas). En contraste, el SNA controla la actividad de los músculos involuntarios (células del músculo liso y del músculo del corazón) y las células de las glándulas. El SNA puede subdividirse aún más en el sistema simpático, que se ocupa principalmente de movilizar los recursos energéticos del cuerpo cuando aumentan las demandas (como en emergencias y la vigilia), y el sistema parasimpático, que regula de manera predominante la actividad de las vísceras durante el reposo y el sueño (Brodal, 2010).

Las neuronas en la pared del tracto gastrointestinal forman el sistema nervioso entérico (SNE) y son capaces de mantener la actividad refleja local que es independiente del SNC. La SNE contiene tantas neuronas intrínsecas en sus ganglios como la médula espinal y a menudo se considera como una tercera división del sistema nervioso (Standring et. al., 2016). Considerado antiguamente como parte del SNA, el SNE está compuesto por más de 100 millones de neuronas que están dentro de los plexos entéricos, y se extienden por la mayor parte del sistema digestivo. La mayoría de estas neuronas funcionan independientemente del SNA y en parte del SNC, aunque se comunican con el SNC a través de neuronas simpáticas y parasimpáticas. Las neuronas sensibles del SNE monitorean los cambios químicos en el sistema digestivo, así como el estiramiento de sus paredes. Las neuronas motoras entéricas controlan, en el sistema digestivo, las contracciones del músculo liso para impulsar el alimento, las secreciones de los órganos (como el jugo gástrico) y la actividad de las células endocrinas, secretoras de hormonas (Tortora y Derrickson, 2016).

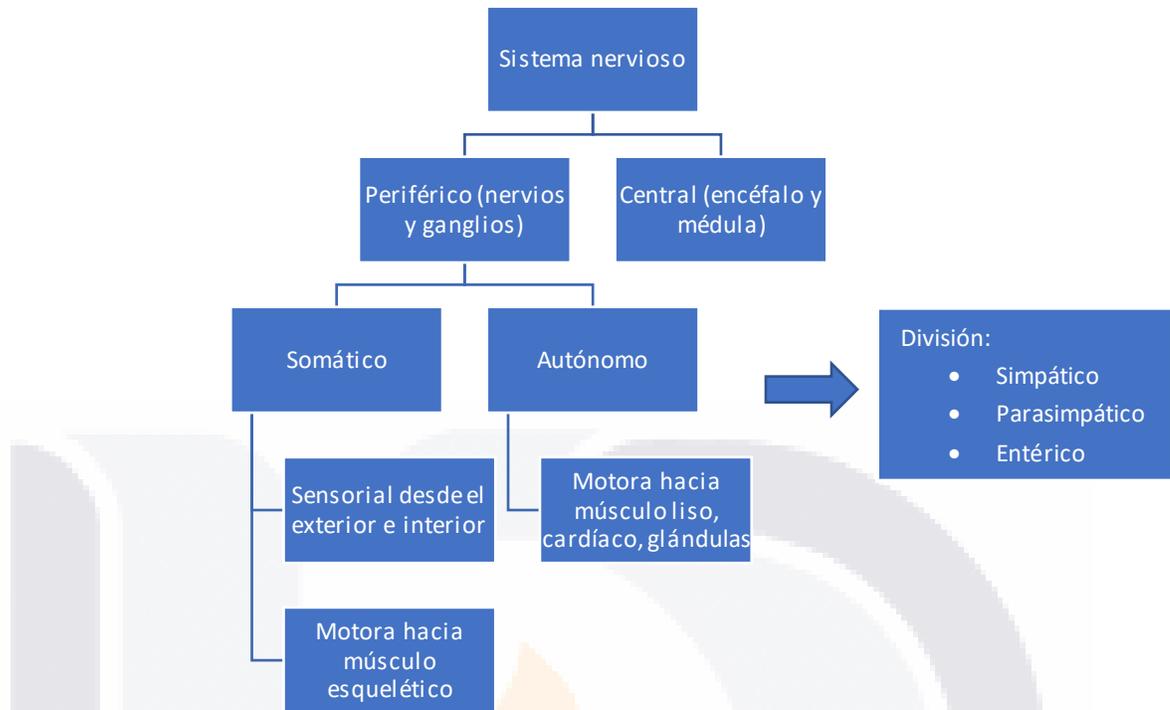


Figura 4. Esquema de la organización del sistema nervioso

1.1 Células del sistema nervioso

1.1.1 Neurona

La unidad en la que se basa toda la actividad del sistema nervioso se conoce como la neurona (célula nerviosa) (Figura 5), una célula especializada para la transmisión rápida de señales en largas distancias y de manera muy precisa. Miles de millones de neuronas en el cerebro forman redes complicadas y altamente organizadas para la comunicación y el procesamiento de la información (Brodal, 2010). El propósito de estas células es permitir la comunicación de los entornos circundantes a las células adyacentes para ayudar a regular el entorno interno del cuerpo y responder a estímulos externos (Rea, 2015). Muchos axones están rodeados por una vaina de mielina para aumentar la velocidad de propagación del impulso. El tejido nervioso contiene algunas áreas que se ven gris (materia gris) y otras que se ven blanquecinas (materia blanca). La materia blanca consiste en axones y no somata neuronal, y el color se debe al color blanquecino de la mielina. La materia gris se compone principalmente de somata y dendritas, que tienen un color gris (Brodal, 2010).

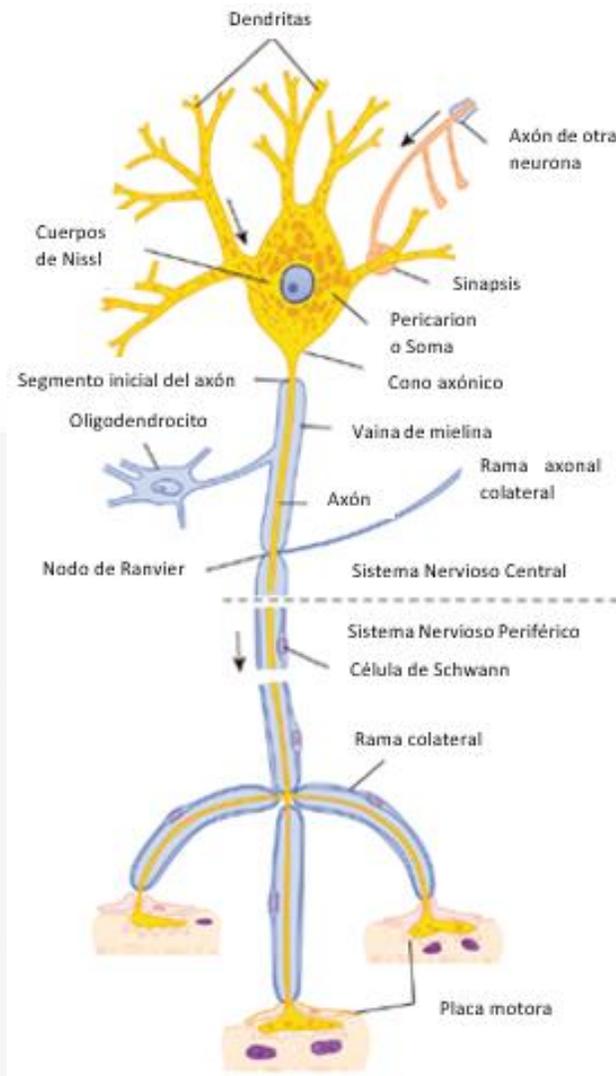


Figura 5. Neurona central y periférica señalando sus partes
 Imagen traducida del libro Clinical Neuroanatomy de Waxman 2020.

1.1.2 Neuroglia

Neuroglia, o glía, son las células de apoyo para las neuronas (Figura 6). Su propósito principal no es en relación con la transmisión de los impulsos nerviosos. Más bien, están involucrados en proporcionar apoyo a la neurona en cuestiones nutricionales, la fagocitosis, el mantenimiento de la homeostasis, la producción de la vaina de mielina y ejercen funciones estructurales (Rea, 2016; Moini, 2019). Las neuroglías son mucho más pequeñas que las neuronas y sus núcleos se tiñen de color oscuro. La neuroglia existe tanto en el SNC (astrocitos, células endoteliales, células microgliales y oligodendrocitos) como en el SNP (células satelitales y células de Schwann), estas pueden dividirse, mientras que la mayoría de las neuronas no pueden hacerlo. Hay muchas más células neurogliales que neuronas

en el cuerpo, aproximadamente 10 células de neuroglia en el SNC por cada neurona. La neuroglia forma aproximadamente la mitad de la masa del cerebro (Moini, 2019). Hay dos clasificaciones amplias: microglía y macroglía.

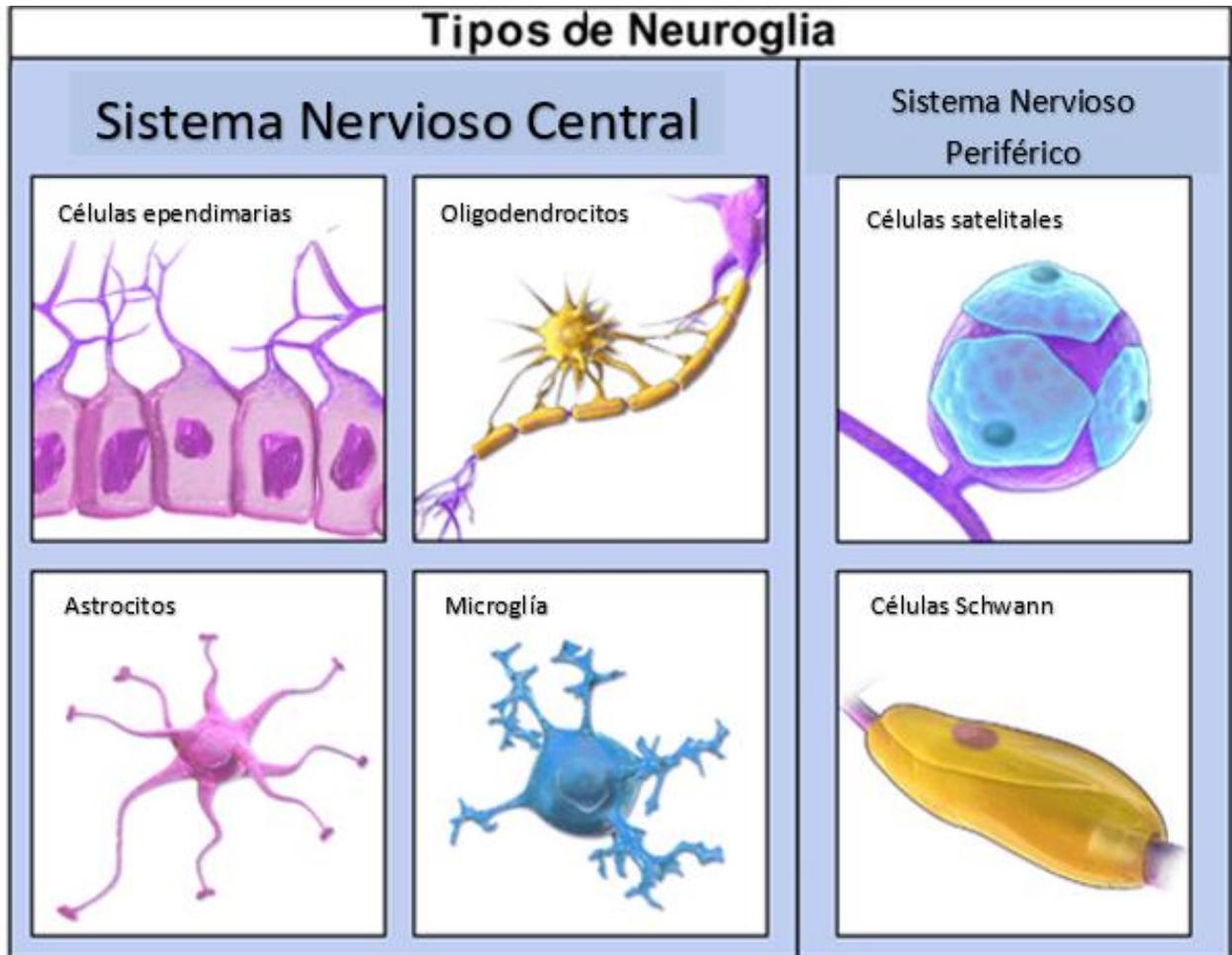


Figura 6. Diferentes tipos de neuroglias
 Imagen traducida de "Medical gallery of Blausen Medical 2014"

1.1.2.1 Microglía

Las células microgliales se encuentran en todo el SNC. Son el tipo de neuroglia menos numeroso compone aproximadamente el 10% de la glía, y el más pequeño en el SNC (Moini, 2019; Kandel et. al., 2021). Sus acciones van desde llevar linfocitos, neutrófilos y monocitos al SNC y expandir la población de linfocitos, actividades inmunológicas importantes en infecciones, accidentes cerebrovasculares y enfermedad desmielinizante inmunológica. También protegen el cerebro al fagocitar los desechos, así como las células no deseadas y moribundas y las proteínas tóxicas, acciones que son críticas para prevenir

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

un daño mayor y mantener la homeostasis cerebral. Aunque es fundamental para la respuesta inmunitaria a una infección o un traumatismo, la microglía también contribuye a la neuroinflamación patológica al liberar citocinas y proteínas neurotóxicas e inducir astrocitos reactivos neurotóxicos. También contribuyen a la pérdida y disfunción de las sinapsis en modelos de enfermedad de Alzheimer y enfermedad neurodegenerativa (Rea, 2016; Moini, 2019; Kandel et. al., 2021). Las funciones fagocíticas de las células de la microglía son vitales porque las células del sistema inmunológico solo tienen acceso limitado al SNC. Microglia aparecen temprano en el desarrollo embrionario; se originan a partir de células madre mesodérmicas similares a las células madre que producen macrófagos y monocitos (Moini, 2019). Durante el desarrollo, la microglía ayuda a esculpir los circuitos neurales en desarrollo al envolver las estructuras presinápticas y postsinápticas, y la evidencia emergente sugiere que la microglía puede modular otros aspectos del desarrollo y la homeostasis del cerebro (Kandel et. al., 2021).

1.1.2.2 Macrogλία

Macrogλία se subdivide en diferentes tipos de células (astrocitos, células endoteliales, oligodendrocitos, células de Schwann y células satelitales), nuevamente, cada uno con un rol especial. En el cerebro humano, aproximadamente el 90% de todas las células gliales son macrogλία. De estos, aproximadamente la mitad son células productoras de mielina (oligodendrocitos y células de Schwann) y la mitad son astrocitos (Kandel et. al., 2021).

1.1.2.2.1 Astrocitos

Los astrocitos se sitúan de forma adyacente a las neuronas proporcionando integridad estructural. También tienen procesos que se unen a los vasos sanguíneos capilares y ayudan a conformar una barrera protectora del SNC (es decir, la barrera hematoencefálica) con propiedades bioquímicas altamente impermeables a la mayoría de las sustancias polares de la sangre. Estos procesos son conocidos como pies extremos perivasculares. Por lo tanto, debido a su estrecha adhesión a los vasos sanguíneos, también se cree que son responsables del intercambio de metabolitos entre las neuronas y la vasculatura. Se encuentran en el SNC (Rea, 2016).

Los astrocitos generalmente se dividen en dos clases principales, que se distinguen por su morfología, ubicación y función. Los astrocitos protoplásmicos se encuentran en la materia gris y sus procesos están estrechamente asociados con las sinapsis y los vasos

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

sanguíneos. Los astrocitos fibrilares (o fibrosos) de la sustancia blanca entran en contacto con los axones y los nodos de Ranvier. Además, los astrocitos especializados incluyen la glía de Bergmann en el cerebelo y la glía de Müller en la retina (Kandel et. al., 2021).

Los astrocitos poseen forma de estrella y están delicadamente ramificados. Los astrocitos son las células gliales más abundantes y también las más grandes. Tienen una variedad de funciones: mantener la barrera hematoencefálica, reparar el daño del tejido neural y controlar el entorno intersticial, así como el desarrollo de las neuronas (Moini, 2019). Los astrocitos envuelven las sinapsis o grupos de sinapsis. Por su íntima asociación física con las sinapsis, a menudo más cercanas a 1 μm , los astrocitos se colocan para regular las concentraciones extracelulares de iones, neurotransmisores y otras moléculas. De hecho, los astrocitos expresan muchos de los mismos canales iónicos y receptores de neurotransmisores dependientes de voltaje que las neuronas y, por lo tanto, están bien equipados para recibir y transmitir señales que podrían afectar la excitabilidad neuronal y la función sináptica (Kandel et. al., 2021).

El tejido neural debe aislarse de la circulación general del cuerpo, ya que su función puede verse alterada por sustancias químicas de la sangre, como las hormonas y los aminoácidos. Los astrocitos envuelven pequeñas arteriolas y capilares en todo el cerebro, formando contactos entre los extremos de los procesos de astrocitos y la lámina basal alrededor de las células endoteliales. El SNC está secuestrado de la circulación general para que las macromoléculas de la sangre no ingresen pasivamente al cerebro y la médula espinal (la barrera hematoencefálica). La barrera es en gran parte el resultado de uniones estrechas entre las células endoteliales y los capilares cerebrales, una característica que no comparten los capilares en otras partes del cuerpo. Sin embargo, las células endoteliales tienen una serie de propiedades de transporte que permiten que algunas moléculas pasen a través de ellas al sistema nervioso. Debido a los contactos íntimos de los astrocitos y los vasos sanguíneos, las moléculas transportadas, como la glucosa, pueden ser absorbidas por las patas terminales de los astrocitos. Los astrocitos también controlan la migración de nuevas neuronas, así como la formación de sinapsis entre las neuronas (Moini, 2019; Kandel et. al., 2021). Los astrocitos también responden a los impulsos nerviosos, liberan y regulan las concentraciones de neurotransmisores en el cerebro, además, regulan la conducción axonal y la actividad sináptica (Moini, 2019).

1.1.2.2.2 Células endimarias.

Hay tres tipos de células endimarias: endimocitos, tanicitos y células epiteliales coroideas. Los endimocitos permiten el libre movimiento de las moléculas entre el líquido ceforraquídeo (LCR) y las neuronas. El líquido intersticial (ISF) llena los espacios entre las neuronas y la glía en el parénquima. El LCR baña los ventrículos del cerebro, el espacio subaracnoideo del cerebro y la médula espinal y las cisternas principales del SNC. El ISF y el LCR entregan nutrientes a las células del SNC, mantienen la homeostasis iónica y sirven como un sistema de eliminación de productos de desecho metabólicos. Junto con las capas meníngas que rodean el cerebro y la médula espinal, el LCR proporciona un cojín que protege los tejidos del SNC del daño mecánico. El entorno fluido del SNC se mantiene mediante las células endoteliales de la barrera hematoencefálica y las células epiteliales del plexo coroideo de la barrera hematoencefálica. Estas barreras no solo sirven para regular el entorno extracelular del cerebro y la médula espinal, sino que también transmiten información crítica entre el SNC y la periferia (Kandel et. al., 2021). Los tanicitos generalmente se encuentran en el tercer ventrículo y pueden participar en la respuesta al cambio de los niveles hormonales de las hormonas derivadas de la sangre en el LCR. Las células epiteliales coroideas son las células que controlan la composición química del LCR, se encuentran en el SNC (Rea, 2016).

En los antebrazos y en las extremidades posteriores, partes del techo del tubo neural no generan neuronas, sino que se convierten en láminas delgadas de tejido secretor, que son invadidas por los vasos sanguíneos y se denominan plexos coroideos. Este último secreta LCR, que llena los ventrículos y los espacios subaracnoideos, y penetra en los espacios intercelulares del cerebro y la médula espinal para crear su ISF (Standring et. al., 2016).

Las células endimarias recubren el cerebro central y las cavidades de la médula espinal, formando una barrera permeable o epéndimo entre el LCR en estas cavidades y el líquido tisular alrededor de las células del SNC. Las células endimarias pueden variar de columnares a escamosas y con frecuencia tienen cilios. El movimiento ciliar en las células endimarias ayuda a mover el LCR a través del sistema ventricular, lo que facilita la entrega de moléculas a largo plazo a otras células en el SNC y el transporte de desechos desde el SNC a la periferia, que protege el cerebro y la médula espinal (Moini, 2019; Kandel et. al., 2021).

Los capilares fenestrados que atraviesan el plexo coroideo permiten el paso libre de agua y pequeñas moléculas de la sangre al espacio estromal del plexo coroideo. Sin embargo, las células epiteliales del plexo coroideo forman uniones estrechas, lo que evita un mayor movimiento no regulado de estas moléculas hacia el cerebro. En cambio, la importación de agua, iones, metabolitos y mediadores de proteínas que componen el LCR está estrechamente regulada por transportadores y canales en el epitelio del plexo coroideo. Los mecanismos de transporte activo en el epitelio son bidireccionales, y además median el flujo de moléculas desde el LCR de vuelta a la circulación periférica (Kandel et. al., 2021).

1.1.2.2.3 Oligodendrocitos

Los oligodendrocitos se encuentran alineados a lo largo de las fibras nerviosas gruesas y tienen cuerpos celulares más pequeños que los astrocitos. Proporcionan capas aislantes de mielina (la vaina de mielina) alrededor de los axones dentro del cerebro y la médula espinal, aislando a los axones del líquido extracelular. También son ramificados, pero con menos procesos que los astrocitos. Estos procesos son extensiones citoplásmicas delgadas, principalmente en contacto con las superficies expuestas de las neuronas. Las funciones de sus procesos que terminan en los cuerpos celulares de las neuronas no se entienden, pero las funciones de los procesos que terminan en las superficies de los axones se conocen mejor (Moini, 2019).

Cerca de la punta de los procesos de oligodendrocitos, la membrana plasmática se expande, formando una gran almohadilla, mientras que el citoplasma en el área es muy delgado. Parecido a un panqueque plano, la estructura se enrolla alrededor de la axolema para formar capas concéntricas de la membrana plasmática. Esta envoltura de mielina proporciona aislamiento eléctrico y acelera los potenciales de acción que viajan a lo largo de los axones. Grandes cantidades de oligodendrocitos ayudan a formar la vaina de mielina a lo largo de los axones, que luego se denominan mielinizados. Todos los segmentos de mielinatos de oligodendrocitos se componen de varios axones. Estas áreas axonales más grandes, envueltas en mielina, se denominan entrenudos. Pequeños huecos de solo unos pocos micrómetros separados internodos adyacentes (los nodos de Ranvier). Las ramas axonales se originan en estos nodos (Moini, 2019).

1.1.2.2.4 Células de Schwann

Al igual que los oligodendrocitos, las células de Schwann son responsables de la producción de la vaina de mielina, pero en el SNP. También tienen un papel adicional en la fagocitosis de cualquier residuo; Por lo tanto, ayudan a limpiar el medio ambiente circundante (Rea, 2016). Las células de Schwann no se tocan entre sí, por lo que hay huecos en la vaina de mielina. Participan en la reparación de los nervios dañados en el SNP (Moini, 2019).

1.1.2.2.5 Células satelitales

Estas células rodean las neuronas del sistema autónomo y también el sistema sensorial. Mantienen un equilibrio químico estable del entorno que rodea a las neuronas (Rea, 2016). Las células satelitales tienen funciones similares a las de los astrocitos del SNC. Rodean los cuerpos de las células neuronales, pareciéndose a satélites alrededor de un planeta en el espacio exterior. Las células satelitales también se llaman anficitos (Moini, 2019).

1.2 Anatomía funcional del Sistema Nervioso Central

El SNC está formado por el cerebro y la médula espinal. Integra y coordina el procesamiento de datos sensoriales y la transmisión de comandos motores (Martini y Bartholomew, 2020). El SNC, son aquellas partes del sistema nervioso que están protegidas por el cráneo y en el canal espinal formado por las vértebras y sus arcos neurales (Woolse et. al., 2017). El SNC es también responsable de las funciones superiores, como la inteligencia, la memoria y la emoción. En el humano el cerebro está rodeado por el cráneo, y la médula espinal está rodeada por 33 vértebras que forman la columna vertebral. La médula espinal se divide en segmentos en relación con las vértebras marcadas (cervical 1 o C1, torácica 1 o T1, etc.). El nombre de los nervios espinales está dado en relación con su localización en las vértebras (C1, T1, etc.). La intersección de los nervios espinales con la médula espinal define el segmento de la médula espinal (C1, T1, etc.). Algunos nervios espinales tienen un curso intraespinal extendido desde su segmento espinal (superior) antes de salir por debajo de una vértebra (compare vértebra del sacro 1 o S1 con T1) (Woolsey et. al., 2017).

1.2.1 El cerebro

El cerebro es esencial para la vida y la función del cuerpo, en un humano adulto en promedio comprende aproximadamente el 2% del peso corporal, y su peso puede variar de 1.2 a 1.4 kg y ocupa ~ 1400 cc (Woolsey et. al., 2017). El cerebro es un órgano

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

increíblemente demandante de energía (Rea, 2016). Como tal, consume una enorme cantidad de volumen de sangre circulante, aproximadamente el 15% del gasto cardíaco. Además, utiliza aproximadamente una quinta parte de todo el oxígeno del cuerpo cuando estamos en reposo, ya que solo puede sobrevivir unos pocos minutos sin oxígeno. Si está privado de oxígeno, la muerte del tejido que lo conforma se producirá rápidamente (Rea, 2015). La mitad de todos los genes humanos (actualmente estimados en 20,000) que componen el genoma humano están activos (expresados) principalmente en el cerebro. Esta es la mayor proporción de genes expresados en cualquier parte del cuerpo. Estos genes influyen en el desarrollo y la función del cerebro y, en última instancia, controlan cómo nos movemos, pensamos, sentimos y nos comportamos (Woolsey et. al., 2017).

El cerebro (Figura 7) es el órgano cuyas funciones son las menos comprendidas y apenas empieza a desvelar su complejidad. Está encargado de controlar y regular el organismo, responde al estrés y la amenaza, y controla las funciones cognitivas superiores. Mantiene la temperatura corporal, permite interpretar los sentidos especiales e interactuar socialmente. Asegura que el cuerpo funcione de manera óptima en el entorno en el que estamos, tanto protegiendo como cuidando el cuerpo (Rea, 2016).

El cerebro (Figura 7) tiene una forma ovalada la cual, ocupa la mayor parte de la cámara craneal. Mientras que su curvatura, es decir, sus superficies superior y lateral, están curvadas de manera uniforme, la superficie basal es irregular. En el centro de la superficie basal, emerge el tallo cerebral (Brodal, 2010). El cerebro está diseñado básicamente como una cavidad central rodeada primero por materia gris y luego por materia blanca (Rea, 2015). La materia gris (corteza) consiste principalmente en cuerpos de células neuronales, mientras que la materia blanca consiste en tractos de fibras mielinizadas. Este patrón es diferente en la médula espinal, en la cual la materia gris se encuentra en el centro con la materia blanca afuera. Los hemisferios cerebrales y el cerebelo tienen una corteza externa, que es una capa de materia gris (Moini, 2019).

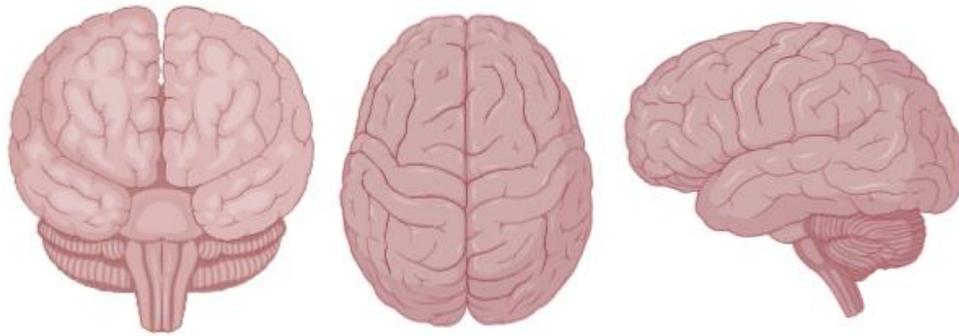


Figura 7. Cerebro humano con vista frontal, vista superior y vista lateral (Imagen creada a partir del programa BioRender).

Cerca de 100 mil millones de neuronas conforman al cerebro humano adulto (Gage y Muotri, 2012). Éste se compone de tres estructuras que se forman durante el desarrollo: el cerebro anterior (prosencefalo), el cerebro medio (mesencefalo) y el cerebro posterior (rombencefalo) (Rea, 2016). Está compuesto por dos hemisferios cerebrales, izquierdo y derecho, y juntos surgen del telencefalo embriológico. Entre estos dos hemisferios cerebrales masivos se encuentra el diencefalo (el tálamo y el hipotálamo). El telencefalo y el diencefalo forman el cerebro anterior, la primera parte del cerebro (Rea, 2015).

La parte media del cerebro, cerebro medio o mesencefalo, comprende estructuralmente el tectum, el tegmentum, el acueducto cerebral, los pedúnculos cerebrales y muchos núcleos y vías (o fascículos) (Ruchalski y Hathout, 2012). Normalmente, es responsable de la función motora, la visión, la audición, algunas regulaciones homeostáticas, como el control interno de la temperatura, el ciclo de sueño/vigilia y el estado de alerta (Rea, 2015). La última parte del cerebro se denomina cerebro posterior y está constituida estructuralmente por dos componentes individuales: el metencefalo (puente troncoencefálico, cerebelo y algunos núcleos de los nervios craneales) y el mielencefalo (médula oblongada) (Rea, 2015).

El tronco del encéfalo es directamente continuo con la médula espinal en el foramen magnum. Este sitio es de crucial importancia ya que actúa como un conducto para la información que pasa hacia y desde la periferia a la unidad central de procesamiento del cerebro (Rea, 2015).

1.2.1.1 Hemisferios cerebrales

El cerebro está dividido en dos grandes hemisferios cerebrales, uno a la izquierda y otro a la derecha (Figura 8). Forman la parte superior del cerebro y se visualizan fácilmente, representando aproximadamente el 83% de la masa total del cerebro (Marieb y Hoehn, 2016). El cuerpo caloso es un puente profundo de fibras nerviosas comisurales que conecta y permita la cooperación de los hemisferios cerebrales (Brodal, 2010), separados por una capa de duramadre. Se encuentra superior a los ventrículos laterales, profundo dentro de la fisura longitudinal. La superficie del cerebro está cubierta con giros, que están separados por surcos poco profundos o profundos. Cada surco superficial se llama surco y cada surco profundo se llama fisura. Las fisuras separan grandes regiones del cerebro. Todos estos surcos forman patrones distintos en los cerebros normales, con los giros y los surcos siendo más prominentes (Moini, 2019).

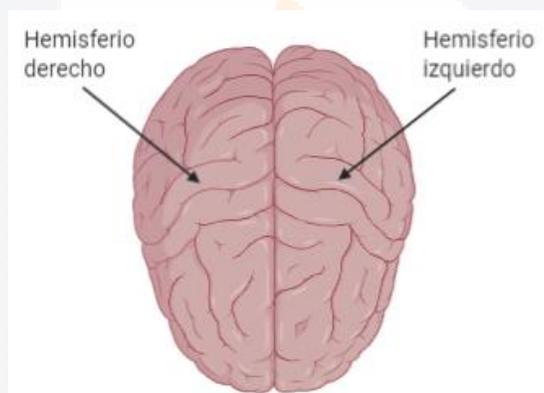


Figura 8. Cerebro humano vista superior en donde se observan los hemisferios cerebrales (Imagen creada a partir del programa BioRender).

Las tres regiones básicas de cada hemisferio cerebral son la corteza cerebral (Sección 1.2.3), la materia blanca y los núcleos basales (Sección 1.2.4; Figura 15). La corteza cerebral es una sustancia gris superficial y en realidad aparece de color gris en el tejido cerebral fresco. La materia blanca es más interna, y los núcleos basales son islas de materia gris localizadas en el interior de la materia blanca (Moini, 2019).

1.2.2 Ventrículos

Las cavidades interconectadas conocidas como ventrículos (Figura 9) existen dentro de los hemisferios cerebrales y el tronco cerebral. Son continuos con el canal central de la médula espinal y también contienen LCR (Moini, 2019). Las paredes de las cámaras ventriculares

huecas están revestidas por células endoteliales. A medida que el cerebro continúa creciendo, las cavidades y los canales del sistema ventricular se adaptan a la forma de los hemisferios cerebrales, diencéfalo, protuberancia, médula y cerebelo, que forman las paredes circundantes. Inferior y lateral al cuerpo calloso hay dos cavidades grandes llenas de líquido que representan el comienzo del sistema ventricular. Estas cavidades rostrales son los dos ventrículos laterales en forma de C, ubicados dentro de los hemisferios cerebrales (Drake et. al., 2019).

La mayoría de los ventrículos se encuentran en el plexo coroideo, una serie de células endoteliales modificadas responsables de producir 0.5 L de LCR por día en adultos (Drake et. al., 2019). Los dos ventrículos laterales grandes se ubican dentro de los lóbulos frontal, temporal y occipital. El tercer ventrículo se encuentra debajo del cuerpo calloso en la línea media del cerebro. El cuarto ventrículo está en el tronco cerebral y un acueducto cerebral estrecho lo une al tercer ventrículo (Moini, 2019).

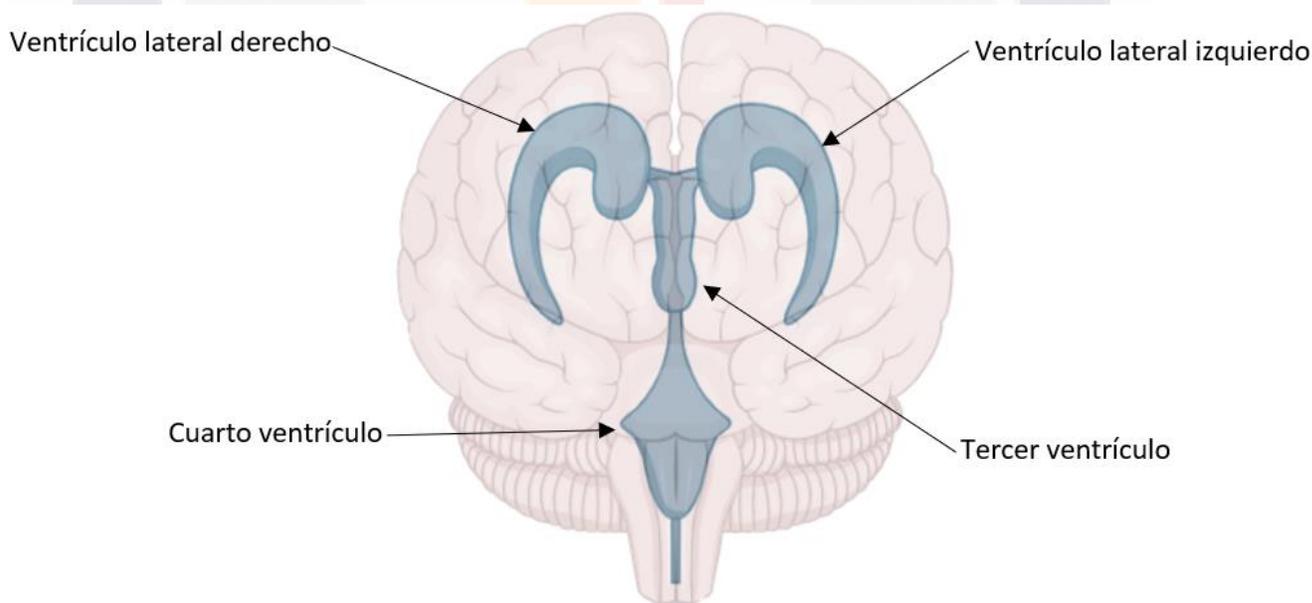


Figura 9. Cerebro humano con vista frontal en donde se resalta los ventrículos de color azul (Imagen creada a partir del programa BioRender).

1.2.3 Corteza cerebral

La corteza cerebral, una capa delgada de materia gris que comprende la porción externa del cerebro, es el centro de la mente consciente. El cerebro humano adulto contiene casi el 98% de todos los cuerpos de células neuronales del sistema nervioso. La corteza cerebral

está involucrada con la conciencia, la comunicación, la sensación, la memoria, la comprensión y la iniciación de movimientos voluntarios. Su materia gris contiene dendritas, cuerpos de células neuronales, glía y vasos sanguíneos. Carece de tractos de fibra, pero contiene seis capas en las que hay miles de millones de neuronas (Moini, 2019).

La corteza cerebral tiene aproximadamente 2 a 4 mm de espesor, pero constituye aproximadamente el 40% de la masa cerebral total. Su superficie es casi triplicada por sus numerosas convoluciones. Aparte del control sensorial y motor, la memoria y el razonamiento, el cerebro también coordina la inteligencia y la personalidad. Las funciones se superponen entre las regiones de la corteza cerebral. Las tres áreas funcionales de la corteza cerebral son las áreas motoras, sensoriales y de asociación. Cada hemisferio cerebral controla las funciones motoras y sensoriales del lado contralateral (opuesto) del cuerpo. Los hemisferios no son exactamente iguales en función, aunque su estructura es muy parecida (Moini, 2019).

Debajo de la corteza cerebral se encuentra la materia blanca, que comprende la mayor parte del cerebro. Contiene haces de axones mielinizados, algunos de los cuales pasan de un hemisferio cerebral a otro. Otros llevan los impulsos desde la corteza a los centros nerviosos del cerebro y la médula espinal (Moini, 2019).

Los lóbulos de la corteza cerebral se dividen en: Lóbulo frontal, parietal, temporal, occipital y la ínsula.

1.2.3.1 Lóbulo frontal

Forma la porción anterior de cada hemisferio cerebral (Moini, 2019; Figura 10), en términos generales, el lóbulo frontal se ocupa de las funciones "ejecutivas" como las de autorregulación, metacognición, memoria de trabajo y flexibilidad cognitiva; y de nuestra memoria a largo plazo. También es el sitio de nuestra corteza motora primaria, hacia su parte posterior (Rea, 2016).

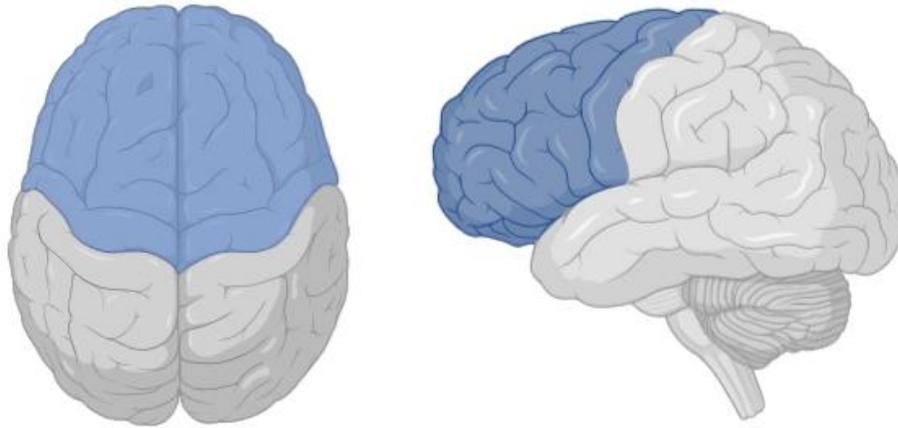


Figura 10. Cerebro humano con vista superior y lateral en donde se resalta el lóbulo frontal de color azul
(Imagen creada a partir del programa BioRender).

1.2.3.2 Lóbulo parietal

Se localiza posteriormente al lóbulo frontal (Moini, 2019; Figura 11), los lóbulos parietales son responsables de la integración de las funciones sensoriales. Es el sitio de nuestra corteza somatosensorial primaria (Rea, 2016).

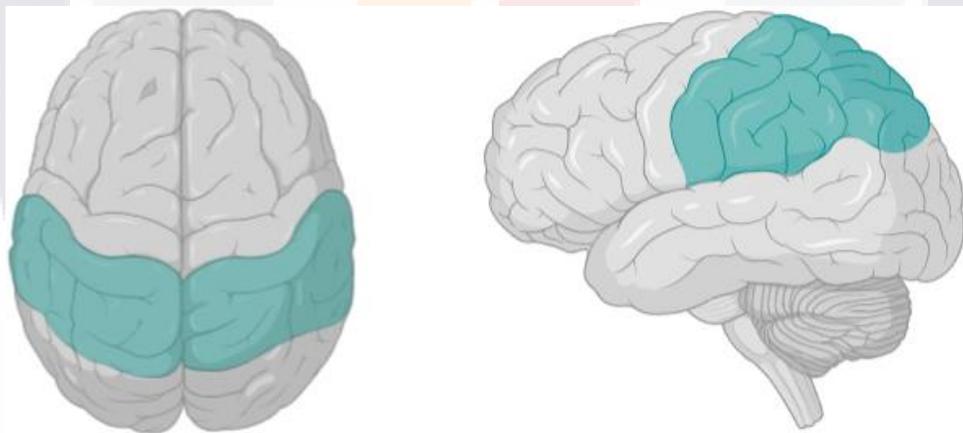


Figura 11. Cerebro humano con vista superior y lateral en donde se resalta el lóbulo parietal de color azul claro
(Imagen creada a partir del programa BioRender).

1.2.3.3 Lóbulo temporal

Se encuentra debajo de los lóbulos frontal y parietal (Moini, 2019; Figura 12), los lóbulos temporales integran información relacionada con la audición y, por lo tanto, es el sitio de nuestra corteza auditiva primaria (Rea, 2016).

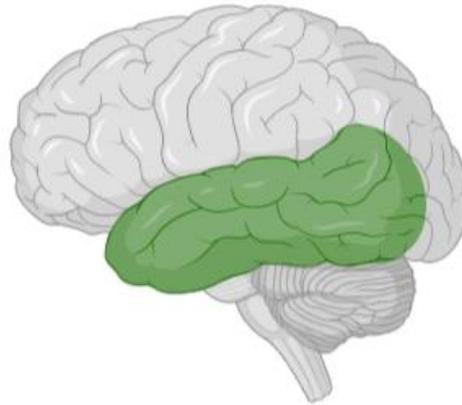


Figura 12. Cerebro humano con vista lateral en donde se resalta el lóbulo temporal de color verde (Imagen creada a partir del programa BioRender).

1.2.3.4 Lóbulo occipital

Forma la parte posterior de cada hemisferio cerebral (Moini, 2019; Figura 13), los lóbulos occipitales integran nuestra información visual y funcionan como la corteza visual primaria (Rea, 2016).

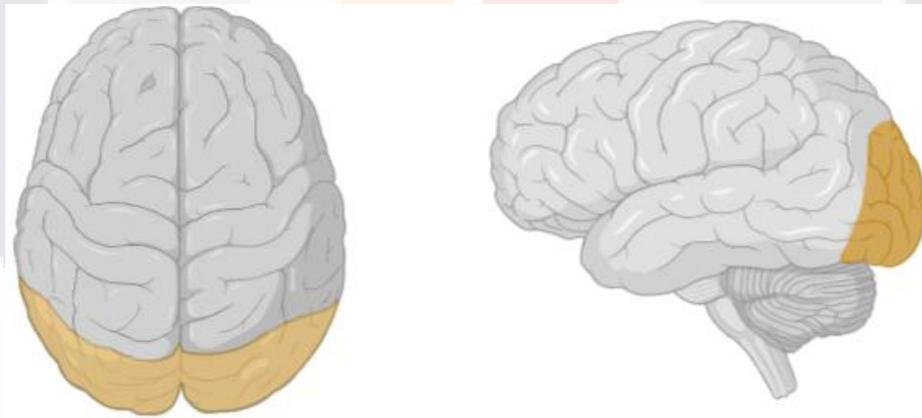


Figura 13. Cerebro humano con vista superior y lateral en donde se resalta el lóbulo occipital de color amarillo (Imagen creada a partir del programa BioRender).

1.2.3.5 Ínsula

Se encuentra debajo de los lóbulos frontal, parietal y temporal (Moini, 2019; Figura 14). La ínsula representa el área cortical primaria, no solo para la exterocepción química (olfato y gusto) sino también para la interocepción, es decir, la recepción de señales relativas al

estado interior del cuerpo (Craig, 2002). Estas señales ascienden con el haz espinotalámico y se proyectan a núcleos talámicos específicos, que a su vez se proyectan a varias partes de la ínsula (Donkelaar y Brabec, 2011). Además, la estimulación de la ínsula humana realizada en pacientes neuroquirúrgicos a menudo provoca reacciones visceromotoras como náuseas, arcadas y sensaciones desagradables o intolerables en la garganta y la boca (Penfield y Faulk, 1955; Krolak-Salmon et. al. 2003).

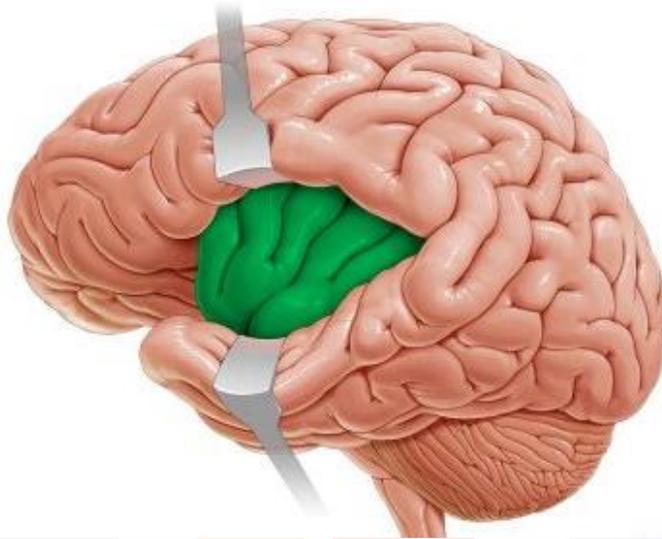


Figura 14. Cerebro humano con vista lateral en donde se resalta la ínsula de color verde
 Imagen sacada de <https://www.kenhub.com/es/library/anatomia-es/hemisferios-cerebrales> (Consultado el 30/09/2021)

1.2.4 Núcleos Basales

Varias masas de núcleos basales grises (ganglios basales) se encuentran profundamente dentro de cada hemisferio cerebral (Figura 15). El término núcleos basales se refiere a los núcleos cerebrales. Estos son el núcleo caudado, el globo pálido (GP) y el putamen (Moini, 2019). Los componentes de los ganglios basales incluyen la neocorteza, el cuerpo estriado, que incluye el putamen, el caudado y el núcleo del núcleo accumbens (NAc), el globo pálido externo (GPe), el núcleo subtalámico (STN), el globo pálido interno (GPi), la sustancia negra pars reticulata (SNr) y la sustancia negra compacta (SNc) (Steiner y Tseng, 2017).

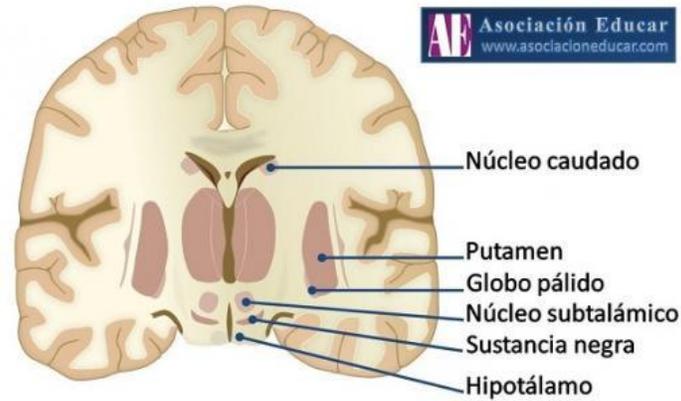


Figura 15. Cerebro humano con vista frontal y corte transversal en el que se resalta núcleos basales
 Imagen extraída de <https://asociacioneducar.com/neurofisiologia-ganglios-basales> (Consultado: 30/09/2021)

Los núcleos basales ayudan a controlar las actividades de los músculos esqueléticos. Proporciona el patrón general y el ritmo para movimientos como caminar. Filtran las respuestas inapropiadas y se involucran en la cognición y la emoción (Moini, 2019).

El núcleo caudado se arquea en forma superior sobre el diencefalo y se une al putamen para formar el cuerpo estriado, que tiene una apariencia de rayas. El cuerpo estriado abarca los núcleos caudado y lentiforme (Moini, 2019).

El núcleo lentiforme consiste en un GP medial y un putamen lateral. Ambas estructuras son laterales a la cápsula interna, que las separa del núcleo tálamo y caudado medialmente. Lateralmente, el putamen está rodeado por la cápsula externa, una capa delgada de materia blanca adyacente a una capa delgada de materia gris llamada claustrum. Más allá del claustrum está la cápsula externa, que bordea la sustancia blanca de la ínsula (Drake et. al., 2019). Los núcleos basales están vinculados a los núcleos subtalámicos del diencefalo y la sustancia negra (SN) del cerebro medio. Reciben información de toda la corteza cerebral, otros núcleos subcorticales y entre sí. El GP y la SN transmiten información a través del tálamo, llegando a las cortezas premotora y prefrontal (Moini, 2019).

El núcleo caudado, el nombre describe su forma: una gran parte del núcleo forma una "cola" larga y curva. El núcleo caudado consiste en una parte anterior voluminosa, la cabeza (cabeza) y una cauda (cola) progresivamente más delgada. La cauda se extiende primero

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

hacia atrás y luego hacia abajo y hacia delante en el lóbulo temporal, ubicado en la pared del ventrículo lateral (Brodal, 2010).

El claustrum forma una lámina de materia gris lateral al putamen. Tiene conexiones recíprocas en la mayor parte de la corteza cerebral. Poco se sabe acerca de su función o importancia clínica, pero en función de sus conexiones, se ha sugerido que se ocupe de la integración sensorial (Brodal, 2010).

El estriado envía eferentes al GP y la SN. De estos, las señales se dirigen al tronco cerebral y de regreso a la corteza cerebral a través del tálamo. Al influir en los grupos neuronales motores en el lóbulo frontal de la corteza cerebral (y en el tallo cerebral), los ganglios basales contribuyen al control de los movimientos. Las conexiones con otras áreas frontales en la corteza cerebral (y ciertos núcleos subcorticales) permiten que los ganglios basales influyan en las funciones cognitivas (Brodal, 2010).

1.2.5 Diencéfalo

El diencéfalo está formado principalmente por estructuras de materia gris pareadas conocidas como tálamo, hipotálamo y epitálamo, y forma el núcleo central del cerebro anterior. El diencéfalo está rodeado por los hemisferios cerebrales y encierra el tercer ventrículo (Moini, 2019).

Anterior e inferior al tálamo se encuentra el hipotálamo, que ejerce el control central del SNA, es decir, con el control de los órganos viscerales y los vasos. El hipotálamo forma la pared lateral de la parte anterior del tercer ventrículo. El borde entre el tálamo y el hipotálamo está marcado por el surco hipotalámico poco profundo. El cuerpo mamilar (cuerpo mamífero), una parte especial del hipotálamo, sobresale hacia abajo desde su parte posterior. El fórnix es un haz grueso y arqueado de fibras que se originan en la corteza cerebral (en la llamada región del hipocampo en el lóbulo temporal) y terminan en los cuerpos mamilares. La vía eferente principal del cuerpo mamilar se dirige hacia el tálamo, formando un haz de fibras distinto, el tracto mamilotálamico. Frente a los cuerpos mamilares, el piso del tercer ventrículo se abomba hacia abajo como un embudo y forma el tallo de la glándula pituitaria, el infundíbulo. La región entre los cuerpos mamilares y el infundíbulo se denomina túber cinereum. Contiene grupos neuronales que influyen en la actividad de la glándula pituitaria (Brodal, 2010).

La pituitaria consiste en un lóbulo posterior, desarrollado a partir del SNC, y un lóbulo anterior, desarrollado a partir del epitelio en el techo de la boca. El lóbulo anterior, que secreta varias hormonas que controlan funciones corporales importantes, se encuentra bajo el control del hipotálamo (Brodal, 2010).

1.2.5.1 Tálamo

El tálamo (Figura 16) es una masa grande, con forma de huevo, de materia gris derivada del diencéfalo del cerebro en desarrollo. El papel más importante del tálamo es como un relé sináptico para las vías que se proyectan a la corteza cerebral (Drake et. al., 2019). Esta estructura constituye el 80% del diencéfalo y se encuentra en el interior del cerebro. Los núcleos del tálamo están interconectados (en la mayoría de los individuos) por una masa intermedia conocida como la adhesión intertalámica. Los núcleos talámicos se denominan principalmente en función de su ubicación, cada uno con especialidades funcionales, con fibras únicas conectadas a ciertas regiones de la corteza cerebral. (Moini, 2019).

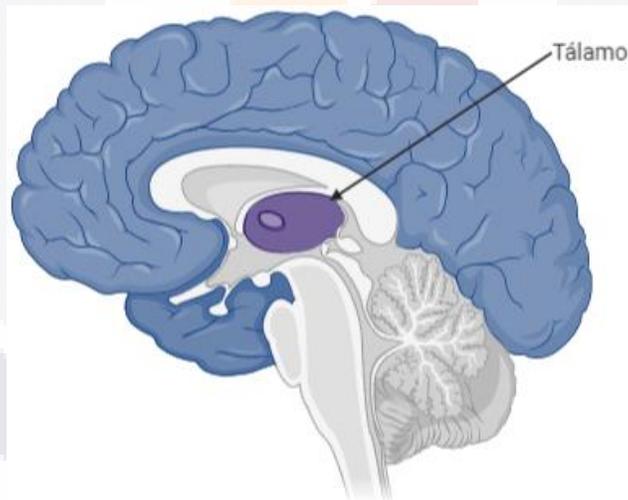


Figura 16. Cerebro humano con vista lateral y corte longitudinal en donde se resalta el tálamo de color morado

(Imagen creada a partir del programa BioRender).

El núcleo reticular del tálamo es una estructura delgada, parecida a una hoja, a lo largo de la cara lateral del tálamo justo medial a la extremidad posterior de la cápsula interna. A diferencia del resto de los núcleos talámicos, el núcleo reticular no envía proyecciones a la corteza cerebral, sino que recibe información de otros núcleos talámicos y la corteza, que

se proyecta de nuevo al tálamo. Funcionalmente, esta organización de entradas y salidas, junto con las neuronas GABAérgicas del núcleo reticular, le permite regular la actividad talámica con gran eficacia (Drake et. al., 2019).

El tálamo procesa y transmite toda la información entrante y saliente entre la corteza cerebral y la médula espinal. El tálamo media las actividades motoras, la sensación, la excitación cortical, el aprendizaje y la memoria. Los impulsos relacionados se organizan en grupos a través de la cápsula interna del tálamo hacia el área correcta de la corteza cerebral y las áreas de asociación. Los impulsos aferentes que llegan al tálamo se reconocen básicamente como agradables o desagradables. La discriminación y la localización específicas de estímulos ocurren en la corteza cerebral, no en el tálamo. Casi todas las demás entradas que ascienden a la corteza cerebral se canalizan a través de los núcleos talámicos: entradas para la memoria o integración sensorial proyectada hacia áreas como los núcleos pulvinares, lateral dorsal o lateral posterior, y entradas que regulan la función emocional y visceral del hipotálamo a través de los núcleos anteriores. Además, los núcleos talámicos interpretan instrucciones que ayudan en la dirección de la actividad cortical motora desde el cerebelo (a través de los núcleos laterales ventrales) y los núcleos basales (a través de los núcleos anteriores ventrales) (Moini, 2019). También funciona en la regulación de nuestro estado de vigilia, o sueño (Rea, 2016).

El tálamo también actúa como un guardián para prevenir o mejorar la transferencia de información, dependiendo del estado de comportamiento. Las señales sensoriales, motoras, límbicas y moduladoras de los circuitos de comportamiento y de activación tienen relés sinápticos dentro de los núcleos talámicos (Drake et. al., 2019).

La mayor parte del tálamo se compone de núcleos de relevo, que tienen conexiones excitatorias recíprocas con la corteza. Los núcleos de relevo se subdividen en específicos y no específicos según sus proyecciones a áreas específicas de la corteza sensorial y motora primaria o proyecciones corticales más difusas. La mayoría de los núcleos de relevo específicos residen en el tálamo lateral; de hecho, todas las modalidades sensoriales, con la excepción del olfato, tienen relés en el tálamo lateral antes de alcanzar su objetivo cortical primario (Drake et. al., 2019).

1.2.5.2 Hipotálamo

El hipotálamo es el principal centro de control visceral del cuerpo. Es crucial para la homeostasis del cuerpo, que afecta a casi todos los tejidos corporales. Se encuentra debajo del tálamo, que cubre el tallo cerebral y forma las paredes inferolaterales del tercer ventrículo. Las estructuras emparejadas, pequeñas y redondas se abultan anteriormente del hipotálamo. Conocidos como cuerpos mamilares, actúan como estaciones de relevo en las vías olfativas. Un tallo de tejido hipotalámico conocido como infundíbulo se encuentra entre los cuerpos mamilares y el quiasma óptico. El infundíbulo conecta la glándula pituitaria con la base del hipotálamo (Moini, 2019).

El hipotálamo controla el SNA y la función del sistema endocrino. También inicia respuestas físicas a las emociones. Otras funciones reguladoras del hipotálamo afectan la temperatura corporal, la ingesta de alimentos, el balance de agua, la sed y el ciclo de sueño y vigilia. Su control de las actividades de SNA se produce mediante el control de la actividad del tronco encefálico y la médula espinal (Moini, 2019). Se segrega hormonas que influyen en la glándula pituitaria y, a su vez, una amplia variedad de funciones corporales (Rea, 2016).

1.2.5.3 Epitálamo

El epitálamo es la parte más dorsal del diencéfalo, formando el techo del tercer ventrículo (Moini, 2019). Además de un pequeño núcleo, la habénula, el epitálamo contiene el cuerpo o glándula pineal (cuerpo pineal). Esta estructura peculiar se encuentra en la línea media (no apareada) y está formada por una evaginación del techo del tercer ventrículo. Contiene células glandulares, pinealocitos, que producen la hormona melatonina (y varios neuropéptidos). También contiene grandes cantidades de serotonina, que es un precursor de la melatonina. La melatonina influye en varios parámetros fisiológicos, especialmente aquellos que muestran una variación cíclica (Brodal, 2010). La glándula pineal se extiende desde su borde posterior. Esta glándula secreta la hormona melatonina, que ayuda a regular el ciclo de sueño-vigilia y también actúa como un antioxidante. El borde caudal del epitálamo está formado por la comisura posterior (Moini, 2019).

La habénula se encuentra justo debajo del cuerpo pineal (uno a cada lado). Este pequeño núcleo (compuesto de varios subnúcleos) recibe aferentes del hipotálamo y los núcleos septales, entre otras fuentes. Sus principales eferentes van a los núcleos en el mesencéfalo. El papel funcional de la habénula no se conoce, pero el camino desde el

hipotálamo a través de la habénula hasta el mesencéfalo puede involucrarse en las expresiones corporales de las emociones fuertes (Brodal, 2010).

1.2.6 Sistema límbico

En el aspecto medial de cada hemisferio cerebral y el diencefalo hay un grupo de estructuras que comprenden el sistema límbico (Moini, 2019; Figura 17). El sistema límbico se compone de una variedad de estructuras a ambos lados del tálamo. Sirve para una variedad de funciones que incluyen la memoria a largo plazo, el procesamiento del sentido especial del olfato (olfato), el comportamiento y nuestras emociones (Rea, 2016).

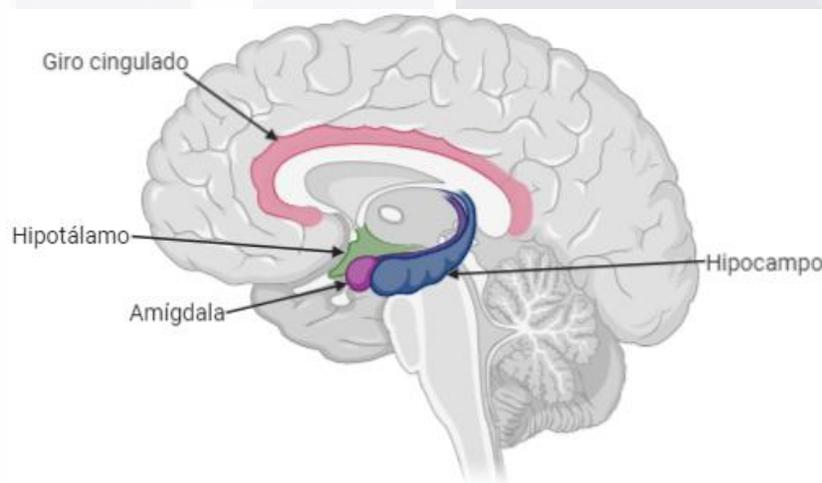


Figura 17. Cerebro humano con vista lateral y corte longitudinal en donde se resalta el sistema límbico compuesto por el giro cingulado, hipotálamo, amígdala e hipocampo (Imagen creada a partir del programa BioRender).

La parte superior del tronco encefálico está rodeada por las estructuras del sistema límbico. Un núcleo en forma de almendra en la cola del núcleo caudado, conocido como el cuerpo amigdalóide, es parte del sistema límbico. Otras partes incluyen las diversas secciones del rinencéfalo. En el diencefalo, las estructuras límbicas primarias son los núcleos talámicos anteriores y el hipotálamo. Tractos de fibra como el enlace de fornix todas estas regiones. El rinencéfalo incluye el giro cingulado, los núcleos septales, el hipocampo en forma de C (Moini, 2019).

La parte emocional del cerebro constituye el sistema límbico. Para las emociones, las áreas críticas son la circunvolución cingulada anterior y el cuerpo amigdalóide, que es importante para responder a las amenazas con miedo o con agresión (Moini, 2019).

El sistema límbico puede integrarse y responder a muchos estímulos ambientales debido a las extensas conexiones entre este y las regiones cerebrales inferiores y superiores. El hipotálamo transmite la mayor parte del sistema límbico. El hipotálamo procesa las respuestas emocionales, así como la función autónoma (visceral); como resultado, el estrés emocional agudo o prolongado (Moini, 2019).

1.2.6.1 Hipocampo

El hipocampo en el sistema límbico es responsable del almacenamiento y recuperación de nuevos recuerdos a largo plazo. El cuerpo amigdaloides también funciona en el procesamiento de la memoria (Moini, 2019; Figura 18).

El hipocampo juega un papel fundamental en la consolidación de la memoria explícita y espacial (Martin, 2020). El hipocampo (también llamado cuerno de Ammón) se extiende a lo largo del piso del cuerno inferior del ventrículo lateral y se vuelve continuo con el fórnix debajo del esplenio del cuerpo caloso. El nombre "hipocampo", que también significa "caballito de mar", refleja la forma de esta estructura en la sección coronal (Waxman, 2020).

La entrada y salida del hipocampo se han caracterizado ampliamente. El hipocampo información de muchas partes del neocórtex, especialmente del neocórtex temporal (Waxman, 2020), recibe la mayor parte de su información de la corteza entorrinal. La corteza entorrinal es un área cortical de múltiples capas que varía regionalmente en complejidad (Amaral et. al., 1987; Insausti y Amaral, 2012; Insausti et. al., 2017). A través de la corteza perirrinal adyacente, mucha información cortical llega a la corteza entorrinal (Van Hoesen y Pandya, 1975; Van Hoesen et. al., 1975). La corteza entorrinal se proyecta topográficamente hacia el hipocampo (Insausti et. al., 1987a; Witter et. al., 1989; Witter y Amaral, 1991; Witter, 2007; Insausti y Amaral, 2008; Insausti y Amaral, 2012).

Todos los campos del hipocampo, excepto el giro dentado, también dan lugar a conexiones extrínsecas. El hipocampo se proyecta hacia los núcleos septales laterales, mientras que el complejo subicular se proyecta hacia el complejo amigdaloides, el complejo septal, el NAc, el tálamo anterior, el complejo mamilar y varios campos corticales (Swanson y Cowan, 1975; Swanson y Cowan, 1977; Amaral, 1987; Amaral e Insausti, 1990).

El fondo de saco es el principal tracto de salida del hipocampo. Es un tracto de fibra blanca arqueado que se extiende desde la formación del hipocampo hasta el diencéfalo y el área septal. Lleva algunos axones entrantes al hipocampo y constituye la principal vía de salida del hipocampo (Waxman, 2020).

La principal proyección hipotalámica a la formación del hipocampo surge de células grandes alrededor de los núcleos mamilares en el área supramamilar (Amaral y Cowan, 1980; Veazey et. al., 1982; Insausti et. al., 1987b). Las fibras conducen a la cara medial del hipocampo y forman la fimbria del fórnix, una banda plana de fibras blancas que asciende por debajo del esplenio del cuerpo caloso y se dobla hacia adelante para seguir un curso por encima del tálamo, formando el pilar (o comienzo del cuerpo) del fórnix (Waxman, 2020). En los humanos, el fórnix contiene alrededor de 1,2 millones de fibras (Powell et. al., 1957).

La activación del hipocampo implica un circuito unidireccional trisináptico, que se origina en la corteza entorrinal. La corteza entorrinal recibe impulsos de las áreas de asociación cortical, estructuras subcorticales, núcleos del tronco encefálico y otras estructuras límbicas y se proyecta para dentar las células granulares a través de la vía perforante. La siguiente estación del circuito es una conexión entre las células granulares dentadas y las células piramidales CA3 a través de las fibras musgosas. Las células piramidales CA3 están a su vez en contacto sináptico a través de las colaterales de Schaffer con las células piramidales CA1, que finalmente envían sus axones al alveus y fimbria (Amaral e Insausti, 1990).

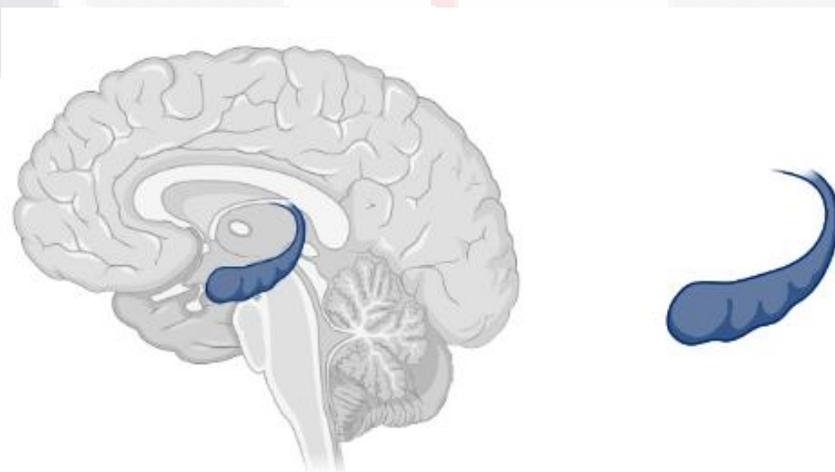


Figura 18. Cerebro humano con vista lateral y corte longitudinal en donde se resalta el hipocampo (Imagen creada a partir del programa BioRender).

1.3 Principios de neurotransmisión

Las neuronas se comunican entre sí en un sitio especializado llamado sinapsis. La neurona promedio forma varios miles de conexiones sinápticas y recibe un número similar de entradas. Sin embargo, este número puede variar ampliamente según el tipo particular de neurona. Mientras que la célula de Purkinje del cerebelo recibe hasta 100.000 entradas sinápticas, las neuronas granulares vecinas, la clase más numerosa de neuronas en el cerebro, reciben sólo alrededor de cuatro entradas excitadoras (Kandel et. al., 2021; Luo, 2020). Aunque muchas de las conexiones sinápticas en los sistemas nerviosos central y periférico son altamente especializadas, todas las neuronas hacen uso de una de las dos formas básicas de transmisión sináptica: eléctrica o química (Kandel et. al., 2021).

Las sinapsis eléctricas permiten la transmisión rápida, estereotipadas y bidireccional de señales eléctricas entre neuronas a través de uniones gap (Luo 2020). Aunque son menos frecuentes que las sinapsis químicas, las sinapsis eléctricas se utilizan ampliamente tanto en invertebrados como en vertebrados en circuitos neuronales que requieren una rápida propagación o sincronización de la información (Luo 2020). En una sinapsis eléctrica, los componentes presinápticos y postsinápticos se colocan en la unión gap, donde la separación entre las dos neuronas (4 nm) es mucho menor que el espacio no sináptico normal entre neuronas (20 nm). Esta estrecha brecha está cubierta por canales de unión gap, estructuras proteicas especializadas que conducen la corriente iónica directamente desde la célula presináptica a la postsináptica (Kandel et. al., 2021).

Un canal de unión gap consta de un par de hemicanales o conexiones, uno en la membrana celular presináptica y el otro en la membrana celular postsináptica. Por tanto, estos hemicanales forman un puente continuo entre las dos células. El poro del canal tiene un diámetro grande de aproximadamente 1,5 nm, mucho mayor que el diámetro de 0,3 a 0,5 nm de los canales activados por voltaje o por ligando selectivo de iones. El gran poro de los canales de unión gap no discrimina entre iones inorgánicos y es incluso lo suficientemente ancho como para permitir que pequeñas moléculas orgánicas y marcadores experimentales, como tintes fluorescentes, pasen entre las dos células (Kandel et. al., 2021; Luo 2020).

Cada conexión está compuesta por seis subunidades idénticas, llamadas conexinas. Las conexinas en diferentes tejidos están codificadas por una gran familia de 21 genes

separados pero relacionados. En los mamíferos, la conexión más común en las neuronas se forma a partir del producto de la conexina 36 (Kandel et. al., 2021; Luo 2020).

La sinapsis eléctrica proporcionar velocidad y/o sincronía en la señalización neuronal, además, también pueden transmitir señales metabólicas entre células. Debido a su poro de gran diámetro, los canales de unión gap conducen una variedad de cationes y aniones inorgánicos (Kandel et. al., 2021).

La transmisión sináptica química se puede dividir en cuatro pasos: (1) síntesis y almacenamiento de una sustancia transmisora, (2) liberación del transmisor, (3) interacción del transmisor con receptores en la membrana postsináptica y (4) eliminación de la sustancia transmisora (Kandel et. al., 2021).

En las sinapsis químicas, las neuronas presinápticas y postsinápticas están completamente separadas por un pequeño espacio, la hendidura sináptica (20 a 40 nm); no hay continuidad entre el citoplasma de una célula y la siguiente. Por el contrario, en las sinapsis eléctricas, las células presinápticas y postsinápticas se comunican a través de canales especiales que conectan directamente el citoplasma de las dos células (Kandel et. al., 2021). El término transmisión se refiere al paso de un impulso a través de una unión sináptica o neuroefectora. La llegada del potencial de acción a las terminales axonales inicia una serie de eventos que desencadenan la transmisión de un mensaje bioquímico excitador o inhibitorio a través de la sinapsis o unión neuroefectora (Brunton et. al., 2017).

Las sinapsis químicas son unidireccionales: la señal eléctrica de la neurona presináptica se transmite a la neurona postsináptica o al músculo mediante la liberación de un intermedio químico, el neurotransmisor (Luo 2020), una sustancia química que se difunde a través de la hendidura sináptica y se une a los receptores de la membrana de la célula diana y los activa (Kandel et. al., 2021). Una vez se creyó que la neurotransmisión en el SNP y el SNC se ajustaba a la hipótesis de que cada neurona contiene solo una sustancia transmisora a esto se le llamo el principio de Dale. Sin embargo, ahora encontramos que la transmisión sináptica puede estar mediada por la liberación de más de un neurotransmisor (Cotransmisión). Péptidos adicionales, como encefalina, sustancia P, neuropéptido Y, polipéptido intestinal vasoactivo y somatostatina; purinas como el adenosín trifosfato (ATP) y adenosina; y se han encontrado pequeñas moléculas como el óxido nítrico (NO) en las

terminaciones nerviosas junto con los neurotransmisores de amina biogénica "clásicos". Estas sustancias adicionales pueden despolarizar o hiperpolarizar terminales nerviosas o células postsinápticas (Brunton et. al., 2017).

La sinapsis química es capaz de una señalización más variable y, por lo tanto, pueden producir interacciones más complejas. Pueden producir acciones excitadoras o inhibitoras en las células postsinápticas e iniciar cambios en la célula postsináptica que duran desde milisegundos hasta horas. Las sinapsis químicas también sirven para amplificar las señales neuronales, por lo que incluso una terminal nerviosa presináptica pequeña puede alterar la respuesta de las células postsinápticas grandes (Kandel et. al., 2021).

En reposo, el interior del axón típico de los mamíferos es aproximadamente -70 mV con respecto al exterior. En respuesta a la despolarización a un nivel umbral, se inicia un potencial de acción en una región local de la membrana. El potencial de acción consta de dos fases. Después de la despolarización que induce una conformación abierta del canal, la fase inicial es causada por un rápido aumento en la permeabilidad y el movimiento hacia adentro del Na^+ a través de los canales de Na^+ sensibles al voltaje, y una rápida despolarización del potencial de reposo continúa hasta un sobre impulso positivo. La segunda fase resulta de la inactivación rápida del canal de Na^+ y la apertura retardada de un canal de K^+ , que permite el movimiento hacia afuera del K^+ para terminar la despolarización (Brunton et. al., 2017).

Los neurotransmisores no peptídicos (moléculas pequeñas), como las aminas biogénicas, se sintetizan en gran medida en la región de las terminales axonales y se almacenan allí en vesículas sinápticas. El transporte de neurotransmisores hacia las vesículas de almacenamiento es impulsado por un gradiente electroquímico generado por la bomba de protones vesicular (ATPasa vesicular). En la terminal presináptica, la liberación de neurotransmisores está mediada por la fusión de la vesícula sináptica con la membrana plasmática presináptica. Las vesículas sinápticas se agrupan en áreas discretas debajo de la membrana plasmática presináptica, denominadas zonas activas, que a menudo se alinean con las puntas de los pliegues postsinápticos. Las proteínas de la membrana vesicular (por ejemplo: Sinapsina, sinaptofisina, sinaptogirina) participan en el desarrollo y tráfico de la vesícula de almacenamiento a la zona activa. La llegada del potencial de acción despolariza la terminal presináptica, abriendo canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje en

la zona activa (Kandel et. al., 2021; Luo 2020; Brunton et. al., 2017). El influjo de Ca^{2+} también sirve como estímulo para iniciar eventos intracelulares (Catterall, 2000), y el influjo de Ca^{2+} es importante en el acoplamiento excitación-exocitosis (liberación del transmisor). La entrada de Ca^{2+} , actúa a través de la sinaptotagmina del sensor de Ca^{2+} asociada a vesículas sinápticas, libera una ruptura en el complejo multiproteico conocido como SNARE la cuales incluye proteínas en la membrana de la vesícula sináptica, proteínas incrustadas en la superficie interna de la membrana plasmática y varios componentes citosólicos parcialmente ensamblados. El ensamblaje completo del complejo SNARE proporciona la fuerza que impulsa la fusión de la membrana y la liberación del transmisor desde el interior de la vesícula sináptica hasta la hendidura sináptica (Kandel et. al., 2021; Luo, 2020; Brunton et. al., 2017). El exceso de neurotransmisores se degrada o recicla rápidamente mediante mecanismos de recaptación. Las vesículas sinápticas se reciclan rápidamente y se rellenan con neurotransmisores, lo que permite una transmisión sináptica continua en respuesta a potenciales de acción futuros (Luo, 2020). Las vesículas sinápticas pueden exocitarse completamente con una fusión completa o formar un poro transitorio de tamaño nanométrico que se cierra después de que el transmisor ha escapado, exocitosis de "kiss and run". En la exocitosis de fusión completa, el hoyo formado por la fusión de la vesícula con la membrana plasmática se recubre con clatrina y se recupera de la membrana mediante endocitosis y se transporta a una endosoma para su reciclaje completo. Durante la exocitosis de kiss and run, el poro se cierra y la vesícula se recicla de forma inmediata y local para su reutilización en el reenvasado de neurotransmisores (Alabi y Tsien, 2013; Südhof, 2014). En la mayoría de las sinapsis químicas, el transmisor se libera de estructuras especializadas del axón presináptico (botones sinápticos) que por lo general contienen de 100 a 200 vesículas sinápticas, cada una de las cuales está llena de varios miles de moléculas de neurotransmisor, incluidas enzimas y otras proteínas (Kandel et. al., 2021; Brunton et. al., 2017).

Los sistemas nerviosos de todo el reino animal utilizan un conjunto común de neurotransmisores. Un neurotransmisor se puede definir como una sustancia que es liberada por una neurona que afecta a un objetivo de una manera específica. Un objetivo puede ser otra neurona o un órgano efector, como un músculo o una glándula. Aunque las acciones de las hormonas y los neurotransmisores son bastante similares, los neurotransmisores generalmente actúan sobre objetivos que están cerca del sitio de

liberación del transmisor, mientras que las hormonas se liberan en el torrente sanguíneo para actuar sobre objetivos distantes (Kandel et. al., 2021).

Aunque una variedad de sustancias químicas actúa como neurotransmisores, que incluyen tanto moléculas pequeñas como péptidos, la acción de un transmisor depende de las propiedades de los receptores postsinápticos que reconocen y se unen al transmisor, no de las propiedades químicas del transmisor (Kandel et. al., 2021; Luo 2020).

Varios factores autocrinos y paracrinos pueden influir en el proceso de exocitosis, incluida la liberación del neurotransmisor. La adenosina, dopamina (DA), glutamato, GABA, prostaglandinas y encefalinas influyen en la liberación de neurotransmisores mediada neuralmente. Los receptores de estos factores existen en las membranas del soma, las dendritas y los axones de las neuronas (Miller, 1998; Westfall, 2004). Los receptores somadendríticos, cuando se activan, modifican principalmente las funciones de la región somadendrítica, como la síntesis de proteínas y generación de potenciales de acción. Los receptores presinápticos, cuando se activan, modifican funciones de la región terminal, como la síntesis y liberación de transmisores (Brunton et. al., 2017).

Se han identificado dos clases principales de receptores presinápticos en la mayoría de las neuronas: Los heteroreceptores son receptores presinápticos que responden a neurotransmisores, neuromoduladores o neurohormonas liberadas por neuronas o células adyacentes y los autorreceptores son receptores ubicados en o cerca de los terminales axónicos de una neurona a través de los cuales el propio transmisor de la neurona puede modificar la síntesis y liberación del transmisor (Brunton et. al., 2017).

Se considera que un neurotransmisor clásico cumple cuatro criterios: (1) Se sintetiza en la neurona presináptica, (2) Se acumula dentro de las vesículas presentes en los sitios de liberación presináptica y se libera por exocitosis en cantidades suficientes para ejercer una acción definida sobre la neurona postsináptica o el órgano efector, (3) Cuando se administra de forma exógena en concentraciones razonables, imita la acción del transmisor endógeno (por ejemplo, activa los mismos canales iónicos o vía del segundo mensajero en la célula postsináptica) y (4) Suele existir un mecanismo específico para eliminar la sustancia del entorno extracelular. Esta puede ser la hendidura sináptica en el caso de la neurotransmisión "cableada" o "privada" (en la que la acción de la sustancia se limita a una

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

sola sinapsis) o el espacio extrasináptico en el caso de la neurotransmisión “volumétrica” o “social” (en el que la sustancia se difunde a múltiples sinapsis) (Kandel et. al., 2021).

El transmisor se difunde a través de la hendidura sináptica o de unión y se combina con receptores especializados en la membrana postsináptica; esto a menudo da como resultado un aumento localizado de la permeabilidad iónica, o conductancia, de la membrana. Con ciertas excepciones, puede ocurrir uno de los tres tipos de cambio de permeabilidad:

1. Aumento generalizado de la permeabilidad a los cationes (notablemente Na^+ pero ocasionalmente Ca^{2+}), dando como resultado una despolarización localizada de la membrana, es decir, un potencial postsináptico excitador.
2. Aumento selectivo de la permeabilidad a los aniones, generalmente Cl^- , que da como resultado la estabilización o hiperpolarización real de la membrana, que constituye un potencial postsináptico inhibitorio.
3. Mayor permeabilidad al K^+ . Debido a que el gradiente de K^+ se dirige fuera de la célula, se produce una hiperpolarización y estabilización del potencial de membrana (un potencial postsináptico inhibitorio) (Brunton et. al., 2017).

En el SNC de los vertebrados, el glutamato es el principal neurotransmisor excitador, mientras que el GABA y la glicina son los principales neurotransmisores inhibitorios. La acetilcolina es el neurotransmisor excitador en la unión neuromuscular de los vertebrados, pero también puede actuar como un neurotransmisor modulador en el SNC. Otros neuromoduladores incluyen monoaminas y neuropéptidos (Luo, 2020). Los neurotransmisores controlan la apertura de los canales iónicos en la célula postsináptica directa o indirectamente. Estas dos clases de acciones transmisoras están mediadas por proteínas receptoras derivadas de diferentes familias de genes (Kandel et. al., 2021).

Los receptores de neurotransmisores son ionotrópicos o metabotrópicos. Todos los receptores de transmisores químicos tienen dos características bioquímicas en común:

1. Son proteínas que atraviesan la membrana. La región expuesta al entorno externo de la célula reconoce y se une al transmisor de la célula presináptica.

2. Llevan a cabo una función efectora dentro de la célula diana. Los receptores suelen influir en la apertura o cierre de los canales iónicos (Kandel et. al., 2021).

Si un potencial postsináptico excitador excede un cierto valor umbral, inicia un potencial de acción propagado en una neurona postsináptica o un potencial de acción muscular en el músculo esquelético o cardíaco mediante la activación de canales sensibles al voltaje en las inmediaciones. En ciertos tipos de músculo liso en los que los impulsos propagados son mínimos, un potencial postsináptico excitador puede aumentar la tasa de despolarización espontánea, provocar la liberación de Ca^{2+} y mejorar el tono muscular; en las células de la glándula, el potencial postsináptico excitador inicia la secreción a través de la movilización de Ca^{2+} . Un potencial postsináptico inhibitorio, que se encuentra en las neuronas y el músculo liso, pero no en el músculo esquelético, tenderá a oponerse a los potenciales excitadores iniciados simultáneamente por otras fuentes neuronales. El que se produzca un impulso propagado u otra respuesta depende de la suma de todos los potenciales. Cuando los impulsos pueden transmitirse a través de uniones a frecuencias de hasta varios cientos por segundo, debe haber un medio eficiente de deshacerse del transmisor después de cada impulso. La actividad y el recambio de las enzimas implicadas en la síntesis e inactivación de neurotransmisores, la densidad de los receptores presinápticos y postsinápticos y otras características de las sinapsis están controladas por las acciones tróficas de los neurotransmisores u otros factores tróficos liberados por la neurona o las células diana (Brunton et. al., 2017).

1.4 Procesos cognitivos dependientes de hipocampo: la memoria declarativa

La memoria "declarativa" o "explícita" ha sido implicada en el aprendizaje, representación y uso del conocimiento sobre hechos ("conocimiento semántico") y eventos ("conocimiento episódico") (Ullman, 2004). La memoria declarativa está adecuada para el rápido aprendizaje de eventos específicos (Eichenbaum, 1999). La memoria declarativa permite comparar y contrastar la información asociada a un evento posterior con respecto a uno nuevo (actualización de la información). Las representaciones almacenadas son flexibles, accesibles al conocimiento y pueden guiar el rendimiento en múltiples contextos diferentes. Las estructuras clave que apoyan la memoria declarativa son el hipocampo y las cortezas entorrinal, perirrinal y parahipocampal adyacentes, que constituyen gran parte del giro parahipocampal (Squire y Zola-Morgan, 1991). Estas estructuras están organizadas

jerárquicamente, y su anatomía sugiere cómo las estructuras podrían contribuir de manera diferente a la formación de la memoria declarativa, por ejemplo, en la codificación de objetos (corteza perirrinal) o escenas (corteza parahipocampal) y en la formación de asociaciones entre ellas (hipocampo) (Squire et. al., 2004; Staresina et. al., 2011).

Las estructuras en la línea media diencefálica (núcleos mamilares, núcleo dorsal medial, núcleos talámicos anteriores, junto con la lámina medular interna y el tracto mamilotalámico) también son importantes para la memoria declarativa (Aggleton et. al., 2011).

La investigación sobre la naturaleza de la memoria declarativa y sobre cuándo y cómo exactamente el hipocampo (y las estructuras relacionadas) está involucrado en el aprendizaje y la memoria ha sido un tema de interés en las últimas décadas (Figura 19).

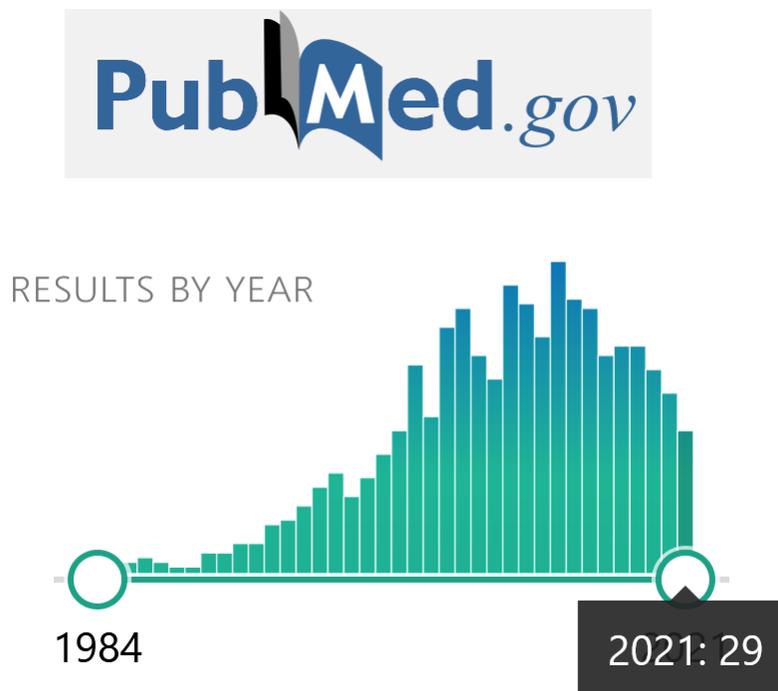


Figura 19. Artículos disponibles

Búsqueda simple usando como palabras clave “declarative memory” + “hippocampus” en PubMed al 1 de octubre de 2021.

La memoria declarativa proporciona una manera de representar el mundo externo. Es el tipo de memoria que normalmente tenemos en mente cuando usamos el término memoria

en el lenguaje cotidiano. La memoria declarativa tiene dos componentes principales, la memoria semántica (hechos sobre el mundo) y la memoria episódica (la capacidad de volver a experimentar un evento específico de lugar y tiempo en su contexto original) (Tulving, 1983). La adquisición de la memoria episódica requiere la participación de sistemas cerebrales además de las estructuras del lóbulo temporal medial, especialmente los lóbulos frontales (Shimamura et. al., 1991).

1.4.1 Memoria de trabajo

La memoria de trabajo o memoria operativa se refiere a la capacidad de mantener una cantidad limitada de información en mente, que luego puede respaldar varias habilidades cognitivas, incluido el aprendizaje y el razonamiento (Baddeley, 2003).

Históricamente, la memoria operativa se ha considerado distinta de la memoria a largo plazo e independiente de las estructuras del lóbulo temporal medial que soportan la formación de la memoria a largo plazo (Milner, 1972). La memoria a largo plazo es necesaria cuando se excede la capacidad de la memoria de trabajo o cuando se interrumpe la memoria de trabajo al desviar la atención a diferentes materiales.

Es importante tener en cuenta que la memoria de trabajo no se puede definir en términos de ningún intervalo de retención en particular (Jeneson y Squire, 2012). Incluso cuando el intervalo de retención se mide en segundos, se puede exceder la capacidad de la memoria de trabajo, por lo que el rendimiento debe depender, en parte, de la memoria a largo plazo.

La capacidad de la memoria de trabajo visual es bastante limitada y, por lo general, incluso los adultos jóvenes sanos pueden mantener solo de tres a cuatro objetos visuales simples en la memoria de trabajo (Fukuda et. al., 2010).

La enfermedad de Alzheimer es la forma más común de demencia, está se caracteriza por un deterioro progresivo en múltiples dominios cognitivos, incluida la memoria episódica y la memoria de trabajo (Huntley y Howard, 2010). Debido a que la memoria de trabajo se limita a solo unos pocos elementos de información (Miller, 1956) los humanos han desarrollado estrategias ejecutivas, como la fragmentación, la cual permite que la memoria de trabajo contenga representaciones mentales complejas. La fragmentación se refiere aquellos procesos para reconocer o imponer patrones sobre la información, y comprimirla en un

estado más eficiente, creando así "complejos" de información con la finalidad de mantenerse dentro del espacio de trabajo de capacidad limitada de la memoria de trabajo. La capacidad de usar la fragmentación se conserva en las primeras etapas de la enfermedad de Alzheimer (Huntley y Howard, 2010), potencialmente proporcionando un objetivo prometedor para un entrenamiento cognitivo efectivo en la enfermedad de Alzheimer (Huntley et. al., 2011). El entrenamiento cognitivo implica el uso de ejercicios teóricos dirigidos a dominios cognitivos específicos para optimizar la función cognitiva (Clare et. al., 2003). El entrenamiento cognitivo puede conducir a mejoras en las tareas cognitivas y dominios específicamente entrenados en personas sanas (Ball et. al., 2002), y existe una creciente evidencia de que el entrenamiento de la memoria de trabajo puede conducir a mejoras generalizadas en tareas no entrenadas (Dahlin et. al., 2008), especialmente tareas que dependen de la memoria de trabajo y control de la atención (Klingberg, 2010).

1.4.2 Bases celulares y moleculares de la memoria

El término "plasticidad", aplicado por primera vez al cerebro en 1890 por William James (James, 1890) y luego utilizado como "plasticidad neuronal" en 1948 por Jerzy Konorski (Konorski, 1968), se ha convertido en una especie de término general que abarca los cambios en la estructura del cerebro y función a lo largo del curso de la vida. La neuroplasticidad (plasticidad cerebral o plasticidad neuronal), una notable capacidad del cerebro para cambiar y adaptarse, implica cambios fisiológicos en el cerebro resultantes de las interacciones del organismo con el entorno. Este proceso dinámico que permite adaptarse a diferentes experiencias y aprender.

La neuroplasticidad se puede observar en múltiples escalas, con el comportamiento adaptativo, el aprendizaje y la memoria en la cima de la jerarquía de neuroplasticidad. La base de esta pirámide está formada por moléculas y sus interacciones, que subyacen a los niveles de red y circuito subcelular/sináptico, celular y neuronal. Un principio fundamental que subyace a la neuroplasticidad es la plasticidad de las conexiones sinápticas que se eliminan o recrean constantemente, y el equilibrio de estos procesos opuestos depende en gran medida de la actividad de las neuronas (Shaw et. al., 1994).

El aprendizaje puede definirse como un cambio relativamente permanente en el comportamiento como resultado de la experiencia. Al igual que con la habituación y la

mayoría de las otras formas de aprendizaje, la práctica hace al maestro. La experiencia repetida consolida la memoria al convertir la forma a corto plazo en una forma a largo plazo. Estas consecuencias fisiológicas del entrenamiento repetido se han estudiado mejor para la sensibilización. En *Aplysia* (un género de molusco), con una sola sesión de entrenamiento (o una sola aplicación de serotonina a las neuronas sensoriales) da lugar a una sensibilización a corto plazo, que dura solo unos minutos, que no requiere nueva síntesis de proteínas. Sin embargo, cinco sesiones de entrenamiento producen una sensibilización a largo plazo, de varios días, que requiere una nueva síntesis de proteínas. Un entrenamiento más espaciado produce una sensibilización que persiste durante semanas. Estos estudios de comportamiento en *Aplysia* (y otros similares en vertebrados) sugieren que la memoria a corto y largo plazo son dos procesos independientes pero superpuestos que se mezclan entre sí. Varios hallazgos apuntan a esta interpretación (Kandel et. al., 2021). A pesar de estas similitudes, la memoria a corto y largo plazo son procesos distintos que pueden distinguirse por varios criterios. En los seres humanos, las convulsiones epilépticas o los traumatismos craneoencefálicos afectan la memoria a largo plazo, pero no la memoria a corto plazo. Se puede demostrar una disociación similar entre la memoria a corto y largo plazo en animales de experimentación utilizando inhibidores de la síntesis de proteínas o ARN mensajero (ARNm) para bloquear selectivamente la memoria a largo plazo (Kandel et. al., 2021).

El cerebro humano contiene alrededor de 86 mil millones de neuronas, específicamente organizadas en áreas y núcleos cerebrales definidos. Las comunicaciones sinápticas entre neuronas en circuitos específicos forman la base de los comportamientos adaptativos, el aprendizaje y la memoria, y están alteradas en los trastornos neurológicos y neuropsiquiátricos. La eficiencia ("fuerza") de la transmisión de señales en cada sinapsis puede modularse en diversas escalas de tiempo que proporcionan diferentes fenómenos de neuroplasticidad (Colbran, 2015).

Se presume que las experiencias modifican la plasticidad sináptica de una manera que se refleja en el comportamiento futuro. Aunque se desconoce exactamente cómo la plasticidad sináptica conduce a la codificación, almacenamiento y recuperación de experiencias (es decir, rastros de memoria), la plasticidad sináptica parece ser necesaria para todo tipo de recuerdos (por ejemplo, hipocampo para memoria declarativa, ganglios basales para aprendizaje de hábitos) (Citri y Malenka, 2008; Kandel et. al., 2014; Mayford et. al., 2012;

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Sweatt, 2016). La revelación de la dependencia de la síntesis de proteínas en la adquisición del cambio de comportamiento fue un descubrimiento influyente en la neuroquímica de la modificación del comportamiento (Sweatt, 2016), mientras que las alteraciones específicas en la expresión de proteínas sinápticas pueden ser marcadores de diferentes patologías cerebrales. Se cree que existe una necesidad específica de síntesis macromolecular normal en un fragmento definido del proceso de aprendizaje, la consolidación de la memoria, que tiene lugar minutos u horas después de la adquisición. Se sugiere que los procesos de consolidación de la memoria están asociados con la proteostasis, es decir, el mantenimiento de la estructura, el contenido y el recambio de las proteínas en la neurona y la sinapsis (Rosenberg et. al., 2014). Dado que los mecanismos subyacentes a los cambios persistentes en la transmisión sináptica y la plasticidad dependen de la síntesis de nuevas proteínas, se cree que dichos cambios están orquestados mediante la activación de las vías de señalización que regulan la traducción del ARNm en las neuronas (Buffington et. al., 2014; Cajigas, 2010). Las moléculas de plasticidad reclutadas en diversas formas de aprendizaje y memoria se superponen y se conservan en todas las especies, incluidas aplysia, drosophila, ratones, ratas y humanos (Citri y Malenka, 2008; Kandel et. al., 2014; Mayford et. al., 2012; Sweatt, 2016).

En un libro publicado en 1949, Donald Hebb describió un modelo de cómo las neuronas del cerebro almacenan información (Hebb, 1949). Propuso que “Cuando un axón de la célula A está lo suficientemente cerca como para excitar una célula B y participa repetida o persistentemente en su activación, se produce algún proceso de crecimiento o cambio metabólico en una o ambas células de tal manera que la eficiencia de A, dispara la actividad de las células B, incrementando su actividad”. Esta propiedad ahora se llama plasticidad sináptica hebbiana en honor a su establecimiento conceptual. Sin embargo, se necesitaron más de 20 años para demostrar experimentalmente la plasticidad hebbiana en un animal.

Un grupo de proteínas llamadas neurotrofinas se consideran poderosos mediadores moleculares de la plasticidad sináptica. La primera neurotrofina descubierta, el factor de crecimiento nervioso (NGF), en la plasticidad cerebral describe los efectos específicos del NGF en el sistema colinérgico (Isaev et. al., 2017). Entre todas las neurotrofinas, el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) destaca por su función principal en el cerebro adulto como regulador de la plasticidad sináptica, sus efectos estructurales y funcionales van desde el corto plazo hasta el de larga duración, sobre las sinapsis excitadoras o

inhibitorias, en muchas regiones del cerebro (Hayley y Litteljohn 2013). Las deficiencias en la señalización del BDNF contribuyen a la patogénesis de varias enfermedades y trastornos importantes como la enfermedad de Huntington, la enfermedad de Alzheimer y la depresión. Los efectos del BDNF están mediados por los receptores TrkB y p75 y están acoplados a la activación de varias vías de señalización. El BDNF regula el transporte de ARNm a lo largo de las dendritas y su traducción en la sinapsis modulando las fases de iniciación y elongación de la síntesis de proteínas y actuando sobre miARN específicos. El efecto del BDNF sobre la regulación de la transcripción puede contribuir aún más a cambios a largo plazo en el proteoma sináptico (Leal et. al., 2014).

Los modelos celulares y moleculares del aprendizaje asociativo y la memoria tienen varios fenómenos bien establecidos, que incluyen, entre otros, (1) estimulación asociativa que activa el receptor del ácido glutamatérgico α -amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-propiónico (AMPA) y receptores NMDA en sinapsis seleccionadas (Citri y Malenka, 2008); (2) entrada de calcio en la célula a través de receptores NMDA; (3) activación de proteínas quinasas persistentes mediante cascadas de señalización (por ejemplo, proteína quinasa A (PKA), proteína quinasa C (PKC), proteína quinasa dependiente de calcio/calmodulina II (CaMKII) (Silva et. al., 1992a; Silva et. al., 1992b); (4) nueva transcripción génica activada por factores de transcripción sensibles al calcio (Un ejemplo: la proteína de unión al elemento de respuesta cAMP (CREB) y síntesis de proteínas (Josselyn et. al., 2001; Kida et. al., 2002); (5) procesos paralelos en potenciación y depresión a largo plazo (Bliss y Collingridge, 1993; Bliss y Lømo, 1973); y (6) remodelación estructural de la sinapsis neuronal de una manera específica de entrada (Bailey et. al., 2015; Bosch et. al., 2014). Interferir con estos cambios neuroplásticos resulta en amnesia.

A finales de la década de 1960, Terje Lømo estaba cursando su doctorado en el laboratorio de Per Andersen en la Universidad de Oslo en Noruega. Parte de la investigación de Lømo consistió en estimular eléctricamente los axones de las neuronas presinápticas que proporcionaban información al hipocampo de un conejo. Simultáneamente registró la actividad eléctrica producida por neuronas postsinápticas dentro del hipocampo. Normalmente, una cierta cantidad de estimulación produce un cierto nivel de respuesta: una sola estimulación débil produciría una respuesta baja en las neuronas del hipocampo, y una fuerte ráfaga de estimulación de alta frecuencia (digamos, 100 estimulaciones en un segundo) produciría una respuesta más robusta. Pero para sorpresa de Lømo, una breve

estimulación fuerte, o estimulación tetánica, de la entrada sináptica (fibras perforantes) potencia persistentemente la transmisión sináptica subsiguiente, un fenómeno ampliamente conocido como potenciación a largo plazo (LTP por sus siglas en inglés), y se observó que las neuronas del hipocampo responderían en exceso a la estimulación débil posterior y este cambio podría durar horas (Bliss y Gardner-Medwin, 1973; Bliss y Lømo, 1973; Lømo, 1966; Bliss y Collingridge, 1993; Nicoll, 2017).

Este efecto, en el que la transmisión sináptica se vuelve más eficaz como resultado de la actividad reciente, se denominó LTP. Los informes de Lømo y sus colaboradores demostraron que la estimulación eléctrica no solo podía usarse para hacer que las neuronas cambiaran su actividad, sino que estos cambios podían durar horas o incluso días (Bliss y Gardner-Medwin, 1973; Bliss y Lømo, 1973).

La identificación de dos clases principales de receptores de glutamato en las sinapsis del hipocampo, los receptores AMPA y NMDA (AMPA-R y NMDA-R), basándose en sus agonistas específicos. Estos dos tipos de receptores desempeñan funciones diferentes. La transmisión basal está mediada por AMPA-R, pero no por NMDA-R (Collingridge et. al., 1983; Muller et. al., 1988). AMPA-R y NMDA-R están regulados dinámicamente y sujetos a una plasticidad a largo plazo dependiente de la actividad (Yokoi et. al., 2012; Hunt y Castillo 2012), siendo la modulación dependiente del BDNF un evento clave. La estimulación tetánica activa NMDA-R e induce un influjo transitorio de Ca^{2+} en el compartimento postsináptico a través del receptor, que inicia el proceso de inducción que conduce a cambios a largo plazo en AMPA-R, pero no en NMDA-R (Kauer et. al., 1990; Muller et. al., 1988). El Ca^{2+} postsináptico es necesario y suficiente para la inducción de LTP (Malenka et. al., 1988; Malenka et. al., 1989), que desencadena el proceso de inducción que conduce al aumento de la transmisión de AMPA-R.

El Ca^{2+} postsináptico es necesario y suficiente para la inducción de LTP (Malenka et. al., 1988; Malenka et. al., 1989), que desencadena el proceso de inducción que conduce al aumento de la transmisión de AMPA-R. La LTP se considera a menudo en tres pasos: "inducción", "expresión" y "mantenimiento". La "inducción" es un proceso de señalización celular que puede desencadenarse directamente por estimulación tetánica. La señalización resultante induce un cambio en la sinapsis que puede detectarse como un aumento en la transmisión sináptica, lo que se denomina "expresión". Una vez que se mejora la

transmisión, el mecanismo de "mantenimiento" perpetúa el estado a pesar de la difusión y el recambio de las moléculas componentes, así como cualquier otro proceso que medie en reacciones bioquímicas inversas, como una fosfatasa para una reacción de quinasa (Hayashi, 2021).

La LTP también puede implicar cambios en las neuronas presinápticas. Esta idea es controvertida, porque no está claro exactamente cómo las señales pueden viajar hacia atrás a través de la sinapsis. Pero quizás algún tipo de sustancia química, un mensajero retrógrado, podría ser liberada por las neuronas postsinápticas y difundirse a través de la sinapsis, provocando un aumento en la cantidad de neurotransmisor que liberan las neuronas presinápticas en el futuro. Estos cambios pueden ocurrir en unos minutos y durar varias horas. Además, sin embargo, la mayoría de los investigadores creen actualmente que hay componentes de LTP que tienen lugar durante varias horas y pueden durar toda la vida. Esto implicaría cambios como el fortalecimiento de las sinapsis existentes o incluso la construcción de nuevas (Chen et. al., 2007). La desintegración de LTP y la despotenciación del hipocampo pueden ser un proceso activo que permita la eliminación de recuerdos conductuales irrelevantes (Rosenzweig et. al., 2002).

Otros enfoques también apoyaron el cambio postsináptico. Un aumento selectivo en AMPA-R, pero no en la respuesta sináptica mediada por NMDA-R apoya el cambio postsináptico más que el cambio presináptico, que afectaría a ambos componentes por igual (Foster y McNaughton, 1991; Kauer et. al., 1988; Kullmann y Nicoll, 1992; Muller et. al., 1988). Un aumento en la capacidad de respuesta al glutamato exógeno (Davies et. al., 1989) así como un aumento miniatura en el tamaño de la corriente postsináptica excitadora después de LTP (Manabe et. al., 1992) sugieren un cambio postsináptico.

Si el sitio del cambio persistente es presináptico, debido a que la inducción inicial de LTP requiere la activación postsináptica de NMDA-R y el influjo de Ca^{2+} resultante, el lado postsináptico necesita comunicarse de alguna manera retrógradamente con el lado presináptico. Se han propuesto varios mensajeros difusibles para desempeñar este papel, incluidos el NO, el monóxido de carbono, el ácido araquidónico y el factor activador de plaquetas (Kato et. al., 1994; O'Dell et. al., 1991; Williams et. al., 1989; Zhuo et. al., 1993).

Las sinapsis excitadoras en las neuronas excitadoras centrales se forman típicamente en las espinas dendríticas, pequeñas protuberancias en forma de hongo en las dendritas (Bosch y Hayashi, 2012; Harris y Kater, 1994; Hayashi y Majewska, 2005; Yuste, 2010). Una sola espina dendrítica normalmente alberga una sinapsis en su cabeza y se conecta al eje dendrítico a través de un cuello delgado, lo que sirve como compartimento bioquímico y eléctrico. Durante el desarrollo, el número y la estructura de las espinas dendríticas maduran gradualmente. Las neuronas inmaduras no tienen espinas o solo tienen estructuras filopodiales que carecen de cabeza (Hayashi y Majewska, 2005). Analizaron el efecto de la estimulación tetánica en la estructura de la columna dendrítica bajo un microscopio electrónico en un animal intacto del giro dentado del hipocampo que se sometió a la inducción de LTP de manera similar a Bliss y Lømo (1973) y descubrieron que la columna dendrítica comienza a expandirse tan pronto como a los 2 min, y dura al menos 23 h después de la estimulación tetánica (Fifková y Anderson, 1981; Fifková y Van Harreveld, 1977; Van Harreveld y Fifková, 1975).

Si bien la LTP se ha considerado durante mucho tiempo como un paso importante en la formación de recuerdos, un creciente cuerpo de evidencia ha demostrado que la LTP progresa a través de varias etapas desde la potenciación a corto plazo y la LTP temprana hasta la LTP tardía (más de 3 o 4 h), un proceso que se propuso ya en la década de 1980 (Reymann y Frey 2007). Estas fases se han asociado con distintos procesos neuronales, y las formas posteriores de LTP dependen de la síntesis de nuevas proteínas (Bliss y Collingridge 1993; Frey et. al., 1988). La transformación de la LTP temprana a la LTP tardía puede ser impulsada por entradas heterosinápticas, donde la activación de las entradas neuromoduladoras transforma la LTP temprana en LTP tardía en las sinapsis "marcadas" a través de la transmisión de glutamato (Frey y Morris 1998; Sajikumar y Frey 2004).

Esta transformación de LTP temprano a tardío puede desempeñar un papel importante en la codificación de recuerdos. Específicamente, los neuromoduladores pueden actuar como una señal de refuerzo de la conducta (Reymann y Frey 2007) para mejorar los recuerdos asociados con importantes resultados conductuales.

En cuanto al sitio de expresión y mantenimiento, existía una gran confusión: si era presináptico (un aumento de la liberación del transmisor) o postsináptico (un aumento de la sensibilidad postsináptica al glutamato). Utilizando glutamato radiomarcado, se demostró

que la inducción de LTP aumenta la posterior liberación de glutamato del tejido del hipocampo (Dolphin et. al., 1982). La falla de la transmisión sináptica, interpretada como la falla en la liberación de vesículas sinápticas, disminuyó después de la inducción de LTP, lo que indica un aumento presináptico en la probabilidad de liberación (Stevens y Wang, 1994). El análisis cuántico del tamaño de la transmisión sináptica también apoya la expresión presináptica (Bekkers y Stevens, 1990; Bolshakov y Siegelbaum, 1994; Malinow y Tsien, 1990). Sin embargo, el mismo enfoque también llevó a conclusiones diferentes, y algunos proponen cambios pre y postsinápticos mixtos o cambios puramente postsinápticos (Edwards, 1991; Kullmann y Nicoll, 1992; Larkman et. al., 1992).

Mediante el uso de imágenes de transferencia de energía por resonancia de Förster (FRET), se encontró que la F-actina se transloca rápidamente dentro de una inducción de LTP, que sirve como fuerza impulsora para expandir la columna dendrítica (Okamoto et. al., 2004). Luego, AMPA-R, proteínas de unión a actina y quinasas se translocan de una manera que sigue a la expansión de la columna dendrítica. Finalmente, las proteínas de andamiaje de PSD como Homer1B y Shank se translocan después de una hora, de una manera que requiere la síntesis de proteínas. Esta translocación retardada de las proteínas de andamiaje de PSD puede ser un mecanismo de LTP de fase tardía, que comparte el requisito de síntesis de proteínas (Bosch et. al., 2014; Meyer et. al., 2014; Panja y Bramham, 2014; Pinho et. al., 2020). Esta translocación escalonada de diferentes proteínas explica el proceso de consolidación sináptica en el que la sinapsis se vuelve más tolerante a la reversión por estimulación depotenciadora (estimulación prolongada de baja frecuencia) después de la inducción de LTP a lo largo del tiempo. La LTP se puede revertir más fácilmente mediante un protocolo de despotenciación si se aplica dentro de un período corto de tiempo después de la inducción de LTP cuando la sinapsis aún es incipiente (Fujii et. al., 1991; Yang et. al., 2008). A medida que el estado potenciado se consolida gradualmente con la translocación retardada de proteínas, las sinapsis se vuelven más resistentes a la despotenciación.

Entre literalmente cientos de moléculas implicadas en LTP (Sanes y Lichtman, 1999), posiblemente, CaMKII es la más estudiada como molécula de señalización que media la LTP (Hell, 2014; Lisman et. al., 2012). CaMKII es muy abundante en el cerebro, especialmente en la sinapsis, y comprende aproximadamente el 10-30% de la proteína total en la fracción de PSD del hipocampo (Erondu y Kennedy, 1985). El aumento de la

concentración postsináptica de Ca^{2+} desencadena la activación de CaMKII. La inhibición postsináptica de la quinasa bloquea la LTP (Malenka et. al., 1989; Malinow et. al., 1988; Malinow et. al., 1989). De manera constante, la ablación genética de CaMKII altera la LTP, así como el aprendizaje y la memoria (Hinds et. al., 1998; Silva et. al., 1992b). La subunidad GluA1 de AMPA-R es fosforilada por CaMKII en la serina 831, que se propone para aumentar la conductancia del canal, contribuyendo así al aumento de la transmisión (Barria et. al., 1997; Derkach et. al., 1999; Diering et. al., 2016; Roche et. al., 1996). Además, la introducción de la forma activa de CaMKII es suficiente para inducir la mejora de la transmisión y la inserción sináptica de AMPA-R (Hayashi et. al., 2000; Lledo et. al., 1995; Pettit et. al., 1994; Poncer et. al., 2002; Shirke y Malinow, 1997). Por tanto, la actividad de CaMKII es necesaria y suficiente para inducir LTP.

CaMKII tiene un dominio quinasa N-terminal, un dominio autoinhibidor/regulador y un dominio de asociación C-terminal. En CaMKII inactivo, el dominio autoinhibidor enmascara el dominio quinasa. La unión de Ca^{2+} /calmodulina al dominio regulador desenmascara la inhibición del dominio catalítico y activa la quinasa. Una vez activada, CaMKII no solo fosforila varios sustratos, sino que también se autofosforila en treonina (T) 286, ubicada en el dominio autoinhibidor (Hanson et. al., 1989; Miller et. al., 1988; Schworer et. al., 1988). Una vez que tiene lugar esta reacción, el dominio autoinhibidor ya no inhibe el dominio catalítico, lo que hace que CaMKII sea constitutivamente activo. La cantidad de CaMKII total en la sinapsis aumenta persistentemente después de la inducción de LTP (Bosch et. al., 2014; Shen y Meyer, 1999).

CaMKII está codificado por cuatro genes CAMK2A-D diferentes, cada uno traducido en subunidades CaMKII α - δ (Tobimatsu y Fujisawa, 1989). Todas las subunidades se expresan en el cerebro, pero los heterooligómeros CaMKII α y β son las subunidades dominantes en el prosencéfalo.

Poco después de los informes originales de Lømo y otros, se descubrió ese proceso (Dunwiddie y Lynch, 1978). La depresión a largo plazo (LTD por sus siglas en inglés), también conocida como depresión sináptica, ocurre cuando la transmisión sináptica se vuelve menos efectiva como resultado de la actividad reciente. Una situación en la que esto sucede es si las neuronas presinápticas están activas repetidamente, pero las neuronas postsinápticas no responden. Las neuronas que se activan juntas se conectan entre sí, pero

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

las conexiones entre las neuronas que no se activan juntas se debilitan, un cambio que se cree que refleja un debilitamiento de las sinapsis. Al igual que con los cambios sinápticos en LTP, los investigadores tienen varias ideas sobre cómo podría ocurrir el debilitamiento: puede haber una disminución en la capacidad de respuesta de las neuronas postsinápticas, una disminución en la liberación de neurotransmisores por las neuronas presinápticas o cambios estructurales a largo plazo en las neuronas y sinapsis (Gluck et. al., 2016).

Las mitocondrias, al generar energía, juegan un papel importante en el control de los fenómenos de neuroplasticidad, incluida la diferenciación neural, el crecimiento de neuritas, la liberación de neurotransmisores y la remodelación dendrítica. Estos orgánulos son muy móviles y se mueven dentro y entre los compartimentos subcelulares implicados en la neuroplasticidad (terminales sinápticas, dendritas, cuerpo celular y axón). Existen datos que sugieren que las mitocondrias emiten señales moleculares (por ejemplo, especies reactivas de oxígeno, proteínas y mediadores lipídicos) que pueden actuar localmente o viajar a objetivos distantes, incluido el núcleo (Cheng et. al., 2010).

El aprendizaje y la memoria y la adicción a las drogas están modulados por los mismos factores neurotróficos, comparten ciertas cascadas de señalización intracelular y dependen de la activación del factor de transcripción CREB. Están asociados con adaptaciones similares en la morfología neuronal, como la formación o pérdida de espinas dendríticas. Aún más convincente, se acompañan de alteraciones en la plasticidad neural en las sinapsis glutamatérgicas (Nestler, 2001b).

Se ha planteado la hipótesis de que las neuronas espinosas medias dentro del NAc son "detectores de coincidencia" en el aprendizaje asociativo en la adicción, de manera similar a eso de células piramidales dentro de la corteza para el aprendizaje y la memoria (Kelley, 2004).

Se ha demostrado que una sola exposición a psicoestimulantes induce LTP (potencia las corrientes de AMPA) en las células de DA del área tegmental ventral (ATV) y este efecto requiere receptores de dopamina tipo 1 (D1) (Ungless et. al., 2001). De hecho, la mayoría de las clases de drogas evocan una plasticidad similar a LTP y LTD en las neuronas de DA en el ATV (Lüscher y Malenka, 2011; Volkow y Morales, 2015).

La plasticidad similar a LTP y LTD inducida por fármacos requiere señalización glutamatérgica a través de receptores NMDA (Russo et. al., 2010; Thomas et. al., 2009). Se han encontrado entradas glutamatérgicas al NAc de la amígdala, el hipocampo y la corteza prefrontal (CPF) (Volkow y Morales, 2015). Mucha evidencia demuestra alteración de la señalización glutamatérgica y dopaminérgica después del abuso crónico de drogas, particularmente en el NAc, CPF y ATV (Hotsenpiller y Wolf, 2003; Kenny et. al., 2003a; Kenny et. al., 2003b; Koob et. al., 1998; Koob y Volkow, 2016; Lovinger et. al., 2003; Pierce et. al., 1996; Pierce y Kalivas, 1997).

A nivel conductual, el bloqueo de la señalización de glutamato y DA interfiere con los efectos de los medicamentos condicionados, que incluyen la preferencia de lugar condicionada (CPP por sus siglas en inglés), restablecimiento inducido por el contexto y la señal e incubación del deseo (Bossert et. al., 2011; Conrad et. al., 2008; Schmidt et. al., 2015; Tzschentke, 2007; Wolf, 1998).

En otro ejemplo, la vía PKA juega un papel importante en el aprendizaje y la memoria (García-Pardo et. al., 2016). La exposición crónica a drogas adictivas aumenta la formación de AMPc en el NAc, que posteriormente activa PKA y CREB (Carlezon et. al., 1998; Nestler, 2004). Interferir con esta vía de señalización tiene profundos efectos en el comportamiento de adicción. La activación tónica de la vía cAMP/PKA promueve la escalada de la autoadministración de drogas (Edwards y Koob, 2010; Self et. al., 1998); El bloqueo de esta vía inhibe la reconsolidación de los recuerdos de la cocaína señalizada (Sánchez et. al., 2010).

La proteína quinasa mTORC1 está implicada en el aprendizaje y la memoria, ya que media la traducción dendrítica de las proteínas sinápticas. Las drogas adictivas activan la vía mTORC1 en el NAc, así como en el hipocampo, CPF y la amígdala (Neasta et. al., 2014). El bloqueo de esta vía interfiere con la reconsolidación de la memoria y bloquea el restablecimiento de la búsqueda de alcohol (Barak et. al., 2013; Ron y Barak, 2016).

El estrés y las hormonas del estrés, los glucocorticoides, ejercen efectos generalizados en el cerebro, que van desde la regulación de la transcripción genética, la señalización celular, la modulación de la estructura sináptica, la transmisión sináptica y la función glial hasta el comportamiento. Las acciones de las hormonas del estrés están mediadas por receptores

de glucocorticoides y mineralocorticoides, que son receptores nucleares/factores de transcripción. El hipocampo, que expresa altos niveles de receptores de esteroides suprarrenales, es una estructura flexible del cerebro predominantemente importante para ciertos tipos de aprendizaje y memoria. Esta estructura también es vulnerable a los efectos de las hormonas del estrés, que se ha informado que aumentan en pacientes deprimidos, en particular en aquellos con depresión severa (McEwen y Chattarji 2004; Vyas et. al., 2016). El estrés repetido en roedores reduce la LTP y perjudica el tráfico de AMPA-R, lo que conduce a un déficit de memoria (Yuen et. al., 2012). La expresión de la subunidad GluA1 de AMPA-R y CaMKII está regulada a la baja en pacientes con trastorno depresivo mayor (Fuchsova et. al., 2015; Tochigi et. al., 2007; Duric et. al., 2013).

1.5 Procesos cognitivos dependientes de núcleos de la base: la memoria de procedimiento

La memoria no declarativa (a veces denominada memoria implícita) se refiere a una colección de habilidades motoras que se expresan a través de la ejecución sin requerir contenido de información consciente. El estudio de la memoria no declarativa comenzó con las habilidades motoras y perceptivas, pero pronto también incluyó habilidades adicionales. Por ejemplo, el aprendizaje de reglas (Simon, 1975; Anderson, 1993) un ejemplo de este tipo de aprendizaje es, para aprender a jugar ajedrez, uno debe aprender un conjunto de reglas. En este ejemplo, las reglas básicas del ajedrez son simples y verbalizables. Sin embargo, ciertamente hay reglas o algoritmos más complejos que han sido aprendidos por jugadores de ajedrez expertos que pueden no ser fáciles de verbalizar, pero que, sin embargo, se han aprendido a través de la experiencia, se obtienen durante el juego y conducen a un rendimiento superior. También se pueden aprender algoritmos para resolver acertijos, como un cubo de Rubik. Aquí, el algoritmo es complejo y difícil de establecer, incluso para personas expertas en resolver el rompecabezas. Por tanto, las reglas de aprendizaje, especialmente las complejas, pueden ser un ejemplo de aprendizaje procedimental. Otro ejemplo, es el aprendizaje de hábitos (Packard y Knowlton, 2002). El aprendizaje de hábitos se refiere a la adquisición gradual de asociaciones de estímulo-respuesta, un ejemplo de este aprendizaje puede ser el conducir por una ruta habitual para ir al trabajo. Cada intersección a lo largo de la ruta (o estímulo) viene a provocar un giro (o respuesta) específico. Los hábitos se caracterizan por una independencia del estado objetivo (Yin y Knowlton, 2006). Esto se puede ver en el caso en el que descubra que ha

realizado su giro a la izquierda habitual para llevarlo al trabajo cuando es sábado y tenía la intención de ir a otro lugar. Cuando se enfrenta al estímulo de intersección, el hábito de respuesta controla la conducta.

La presentación repetida de las características o la ubicación de un objeto en las tareas de búsqueda visual facilita la detección o identificación posterior de ese elemento, un fenómeno conocido como priming (Kristjánsson y Campana, 2010). El priming puede describirse como un estado de activación alterado de representaciones o asociaciones particulares en la memoria. También se puede describir como un procedimiento experimental mediante el cual se utiliza un estímulo para sensibilizar al sujeto a una presentación posterior del mismo o similar estímulo. El priming normalmente se considera un ejemplo de memoria implícita (Schacter y Buckner, 1998), ya que puede dissociarse de la memoria declarativa.

El aprendizaje y la memoria no declarativos consisten en procesos múltiples y disociables, que incluyen: efectos de repetición de priming, la adquisición y retención de habilidades motoras, perceptivas o de resolución de problemas, y formas simples de condicionamiento clásico (Fleischman y Gabrieli, 1998). La memoria no declarativa incluye habilidades y hábitos, formas simples de condicionamiento, preparación y aprendizaje perceptivo, así como formas filogenéticas de plasticidad conductual temprana como la habituación y la sensibilización que están bien desarrolladas en los invertebrados (Squire et. al., 1993; Schacter y Tulving, 1994).

Endel Tulving, Daniel Schacter, Larry Squire y otros han explorado varios paradigmas en los que los sujetos ven listas de palabras, imágenes de objetos o material no verbal como objetos o diseños novedosos (Weiskrantz, 1990; Tulving y Scatcher, 1990). Posteriormente, se evalúa a los sujetos con elementos nuevos y antiguos y se les pide que nombren palabras u objetos lo más rápido posible, que completen fragmentos para formar elementos completos o que tomen decisiones rápidas sobre los elementos. Por ejemplo, cuando se presentan las primeras letras (ELE__) de una palabra recientemente estudiada (ELEFANTE), el priming se evidencia en la tendencia a completar el fragmento de palabra para formar la palabra de estudio en lugar de otras posibles palabras. Los pacientes severamente amnésicos exhiben un priming completamente intacto, a pesar de no poder reconocer familiares, los elementos que se habían presentado anteriormente.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

El término "no declarativo" se introdujo con la idea de que la memoria no declarativa es un término general que se refiere a las múltiples formas de memoria inconscientes (Squire y Zola-Morgan, 1988). Los distintos sistemas de memoria se pueden distinguir en función de los diferentes tipos de información que procesan y los principios por los cuales operan (Squire, 2004).

El priming es como una mejora al acceso a los elementos que se han presentado recientemente o un mejor acceso a los elementos asociados. Esta mejora es inconsciente y se experimenta como parte de la percepción, como fluidez de la percepción, no como una expresión de la memoria. Un hallazgo clave fue que los efectos de priming estaban intactos en pacientes con problemas de memoria (Graf et. al., 1984).

El priming es presumiblemente ventajoso porque los animales evolucionaron en un mundo donde es probable que las cosas que se encuentran una vez se encuentren nuevamente. El priming mejora la velocidad y la eficiencia con la que los organismos interactúan con un entorno familiar y pueden influir en los procesos de atención basados en características (Theeuwes, 2013). Los estudios de potencial evocado son una medida de la conductividad del SNC (Yperman et. al., 2020), indican que la firma electrofisiológica del priming ocurre temprano y mucho antes de la actividad que señala el reconocimiento consciente de un evento pasado (Paller et. al., 2003).

Los cambios en la corteza también subyacen en el fenómeno relacionado con el aprendizaje perceptivo (Gilbert et. al., 2009). El aprendizaje perceptivo se refiere a la mejora gradual en la detección o discriminación de estímulos visuales con la práctica repetida. Los cambios en los circuitos corticales durante el aprendizaje perceptivo son detectables tan pronto como la corteza visual primaria (V1) y pueden depender en parte de los cambios estructurales en las conexiones horizontales de largo alcance formadas por las células piramidales V1 (Gilbert y Li, 2012). Las propiedades funcionales de las neuronas corticales son adaptativas; Las demandas de arriba hacia abajo de las tareas de procesamiento cognitivo de alto orden influyen en su respuesta (Gilbert y Li, 2013).

La información evaluativa, es decir, si un estímulo tiene un valor positivo o negativo, se adquiere en gran parte como memoria no declarativa. El estudio biológico de este tipo de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

memoria se ha centrado especialmente en el aprendizaje asociativo del miedo (LeDoux, 2014). La amígdala tiene un papel crítico en el aprendizaje del miedo, su función, así como su conectividad, parece estar ampliamente conservada en todas las especies. En estudios de neuroimagen humana, la amígdala se activó no solo por el miedo sino también por emociones muy positivas (Hamann et. al., 2002). Por lo tanto, la amígdala parece ser crítica para asociar los estímulos sensoriales con la valencia del estímulo. Normalmente, los animales expresan el aprendizaje del miedo mediante el comportamiento de congelación (inmovilidad). Sin embargo, en una tarea en la que el temor aprendido debe expresarse mediante la ejecución de una respuesta de evitación (un escape), la congelación es inadaptada. En este caso, la CPF inhibe los comportamientos de defensa (como la congelación) que son mediados por la amígdala, lo que permite que el animal escape (Moscarello y LeDoux, 2013). La acción inhibitoria de la CPF sobre la amígdala también se ha producido durante la reversión del aprendizaje del miedo (Milad y Quirk, 2012). Esta acción tiene relevancia para los trastornos clínicos, como las fobias y el trastorno de estrés postraumático (Davis, 2011).

Además de estas funciones, es importante tener en cuenta que la amígdala también ejerce una influencia moduladora tanto en la memoria declarativa como en la no declarativa. Este papel de la amígdala es la base para el hecho de que los eventos que despiertan emociones se recuerdan mejor que los eventos emocionalmente neutros. El mecanismo de este efecto se comprende y depende de la liberación de hormonas del estrés de las glándulas suprarrenales, la función cerebral están mediadas por la activación de los adrenorreceptores ubicados en el nervio vago ascendente que se proyecta a los núcleos del tronco encefálico (al locus coeruleus a través del núcleo del tracto solitario) responsable de la activación noradrenérgica de otras regiones del cerebro (Miyashita y Williams, 2006; McIntyre et. al., 2012). En última instancia, el efecto está mediado por la amígdala a través de su núcleo basolateral (McGaugh y Roozendaal, 2009).

En la década de 1980 se propuso el aprendizaje gradual de prueba y error que conduce a la formación de hábitos, parece ser apoyado por el cuerpo estriado (Mishkin et. al., 1984), y la memoria de hábitos se convirtió posteriormente en un importante foco de estudio (Liljeholm y O'Doherty, 2012). La memoria de hábitos se caracteriza por un comportamiento automatizado y repetitivo y, a diferencia de la memoria declarativa, es insensible a los cambios en el valor de recompensa (Dickinson, 1985).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Este tipo de aprendizaje basado en recompensas depende de las neuronas de DA en el cerebro medio (SN y ATV), que se proyectan al estriado y señalan el valor de información de la recompensa (Schultz, 2013). El cuerpo estriado dorsolateral es crucial para el desarrollo de hábitos en coordinación con otras regiones del cerebro.

Los sistemas de memoria del cerebro de los mamíferos operan de forma independiente y paralela al comportamiento de apoyo, y cómo un sistema u otro obtienen el control es un tema de considerable interés (McDonald y Hong, 2013). En algunas circunstancias, los sistemas de memoria se describen como un trabajo cooperativo para optimizar el comportamiento y en otras circunstancias se describe como un trabajo competitivo. Sin embargo, no es fácil precisar qué debe contar para la cooperatividad, la competencia o la independencia en un caso particular (Schwabe, 2013). Aunque muchas tareas pueden ser adquiridas por más de un sistema de memoria, otras tareas favorecen fuertemente un sistema sobre otro.

La actividad en el lóbulo temporal medio se revela en etapas tempranas durante el aprendizaje (Poldrack y Gabrieli, 2001). A medida que avanzaba el aprendizaje, la actividad disminuía en el lóbulo temporal medial y aumentaba en el cuerpo estriado. Además, cuando se modificó la tarea para fomentar el uso de la memoria declarativa, se observó menos actividad en el cuerpo estriado y más actividad en el lóbulo temporal medio.

1.6 Fisiopatología de las adicciones

La DA se describió como un neurotransmisor en el SNC hace más de medio siglo (Carlsson, 1959), desde entonces se ha descubierto que la DA está fuertemente involucrada en la neurobiología y los síntomas de una muchas de las enfermedades neurológicas y psiquiátricas que actualmente se conocen, por lo que se considera un elemento esencial para la comprensión del sistema de recompensa cerebral y en la acción de muchos fármacos con un potencial de adicción (Ross y Peselow, 2009). Las neuronas dopaminérgicas representan menos del 1% de la población neuronal total del cerebro a pesar de eso estas tienen un efecto profundo en la función cerebral (Arias-Carrion y Poppel, 2007).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

El aprendizaje es un cambio que se da en la capacidad de respuesta ante un estímulo particular, mientras que la memoria resulta de una modificación celular la cual controla ese cambio. De tal manera, esto parece indicar que la DA está relacionada con el aprendizaje de estímulos mediados con la recompensa (Pessiglione et. al., 2006).

Las recompensas la RAE lo define como “Premiar un beneficio, favor, virtud o mérito”, otra manera de definirlo es como aquellos objetivos que se trabajan para adquirir mediante la asignación de tiempo, energía o esfuerzo; es decir, cualquier objeto u objetivo que se busca alcanzar (Schultz, 2010). Las recompensas son algo crucial para aquellos procesos elementales individuales y de apoyo, como beber, comer y reproducirse, es decir, la recompensa se define aquí como cualquier evento que aumente la probabilidad de una respuesta con un componente hedónico positivo (McLellan et. al., 2000). Existen atributos de recompensa las cuales no cumplen funciones alimentarias ni sexuales, como el juego.

Los circuitos de recompensa cerebral están involucrados en numerosos pasos de procesamiento, en lo que corresponde a estímulos biológicamente importantes debe obtenerse una respuesta con valor positivo o negativo, todo esto con el fin de aprender una relación tras una señal de condicionamiento, por lo tanto, se debe indicar la necesidad de una respuesta conductual ya sea positiva o negativa (Berridge et. al., 2009).

El circuito involucrado en el desarrollo de comportamientos reforzados es una parte central de esta red. Los componentes principales del circuito de recompensa mesocorticolímbica incluyen la amígdala, el hipocampo, el NAc (estriado ventral) y el diencefalo ventral (incluido el cerebro anterior basal, el tegmento ventral y el hipotálamo), así como áreas corticales con funciones de modulación y supervisión, tales como las cortices dorsolateral-prefrontal, orbito frontal, temporal, subcallosa y cingulada, los giros parahipocampales y la ínsula (Breiter et. al., 2006).

En este proceso, las neuronas dopaminérgicas que se proyectan desde el ATV hasta el estriado ventral son esenciales para señalar la saliencia, definidas como estímulos que se activan y a los que se redireccionan preferentemente los recursos de atención o comportamiento (Berridge, 2007). La corteza prefrontal medial desempeña un papel importante en la representación del valor y la experiencia de placer (Costa et. al., 2010), mientras que la corteza prefrontal dorsolateral se cree que es fundamental para traducir el

valor alcanzado en un futuro comportamiento dirigido hacia el objetivo (Barch y Dowd, 2010).

Las drogas de abuso se apoderan de la función ejecutiva de estos circuitos, como los circuitos motivacionales y los circuitos de estrés a través de múltiples circuitos de neuroplasticidad con específicos neurotransmisores. Los neurotransmisores claves que están involucrados en estas neuroadaptaciones son la DA, encefalinas, glutamato, GABA, norepinefrina, factor liberador de corticotropina (CRF por sus siglas en inglés), dinorfina, neuropéptido Y y endocannabinoides (Koob y Volkow, 2016).

Las drogas de abuso provocan la activación de los sistemas de recompensa cerebral, y mediante la investigación sobre la adicción a las drogas se ha logrado definir en gran parte los neurocircuitos involucrados en la recompensa. Esto es fundamental conocerlo, ya que estos cambios se llevan a cabo a medida que se activan los neurocircuitos del sistema de recompensa al consumir drogas, lo que ayuda a comprender la manera en que se desarrolla la adicción (Koob y Le Moal, 1997).

En el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM por sus siglas en inglés), en su última edición publicada hasta el momento (5ta edición del 2013) el DMS 5, clasifica a la adicción a las drogas como “trastorno por consumo de sustancias” la cual define como su característica esencial la asociación de síntomas cognitivos, tanto en el comportamiento como sobre otros sistemas que indican que la persona continúa consumiendo la sustancia a pesar de los problemas significativos relacionados con dicha sustancia. Además, define como una particularidad importante “el cambio subyacente en los circuitos cerebrales que persiste tras la desintoxicación y que acontece especialmente en las personas con trastornos graves. Los efectos sobre el comportamiento de estos cambios cerebrales se muestran en las recaídas repetidas y en el deseo intenso de consumo cuando la persona se expone a estímulos relacionados con la droga. Las aproximaciones terapéuticas a largo plazo son beneficiosas para estos efectos persistentes de las drogas.” (American Psychiatric Association, 2013).

La adicción a las drogas se puede definir como un trastorno con recaídas crónicas, caracterizado por la exigencia de buscar y tomar la droga, la pérdida de control para limitar el consumo y la aparición de un estado emocional negativo cuando se consume la droga.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Se previene desde una perspectiva diagnóstica, el término adicción ahora está abarcado por el término trastornos de uso de sustancias (Grant et. al., 2014).

La adicción resultante de una intoxicación recurrente por drogas, siendo ésta una enfermedad regulada por factores genéticos, factores psicológicos, sociales y ambientales que ha provocado directa e indirectamente miles de muertes, ya sea por sobredosis, accidentes, suicidios, narcotráfico, etc. Además de provocar problemas económicos, sociales, laborales y familiares al individuo que llega caer en la adicción de alguna sustancia (Grant et. al., 2014).

La adicción es un fenómeno complejo con importantes causas y las cuales conlleva a consecuencias psicológicas y sociales como se mencionó anteriormente. Sin embargo, todo se debe a un proceso biológico: los efectos causados por la exposición repetitiva y duradera a un agente biológico (fármaco) en un sustrato biológico (cerebro) a lo largo del tiempo. Esto provoca adaptaciones que provoca esta exposición al fármaco en neuronas individuales, alterando el funcionamiento de éstas, lo que provoca una alteración en el funcionamiento de los circuitos neuronales en los que operan esas neuronas (Koob y Le Moal, 1997). Por ejemplo, impulsividad sin control (una incapacidad para inhibir el impulso excesivo) (Bechara, 2005), deficiencia de recompensa (una respuesta dopaminérgica embotada a las recompensas naturales) (Blum et. al., 2012), aprendizaje desadaptativo (la creciente prominencia de incentivos de las señales predictivas de un medicamento con uso crónico) (Berridge, 2007), la aparición de procesos adversos (el poder de los estados motivacionales negativos subyacentes a la retirada) (Koob et. al., 1989), la toma de decisiones defectuosas (cálculo inexacto en la preparación para la acción) (Redish et. al., 2008) o la automaticidad de las respuestas (inflexibilidad de los hábitos de estímulo-respuesta) (Belin et. al., 2009).

Todas las drogas adictivas conocidas activan las regiones de recompensa en el cerebro causando aumentos bruscos en la liberación de DA (Di Chiara, 2002). A nivel de receptor, estos incrementos provocan una señal de recompensa que desencadena el aprendizaje o condicionamiento asociativo. En este tipo de aprendizaje pavloviano, las experiencias repetidas de recompensa se relacionan con aquellos estímulos ambientales que los preceden. Con la exposición constante y repetida a la misma recompensa, las células de DA dejan de descargar, en respuesta a la recompensa en sí misma y, en cambio, descargan

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ante una respuesta anticipada a los estímulos condicionados (denominados "señales") es decir, predicen la entrega de la recompensa (Schultz, 2002). Este proceso implica los mismos mecanismos moleculares que fortalecen las conexiones sinápticas durante el aprendizaje y la formación de la memoria. De esta manera, los estímulos ambientales se combinan con el uso repetido de drogas, incluidos los entornos en los que se ha tomado una droga, las personas con las que convive durante la ingesta de la droga y el estado mental en el que se encuentre la persona antes de que se tomara, pueden llegar a provocar el condicionamiento, las oleadas rápidas de liberación de DA que desencadenan la búsqueda por la droga, motivan conductas de búsqueda de drogas y conducen a un uso excesivo de la droga para saciar su necesidad. Se ha observado que estas respuestas condicionadas se vuelven profundamente arraigadas, lo que puede provocar fuertes deseos por utilizar una droga aun cuando haya pasado mucho tiempo después de que el uso se haya detenido e incluso cuando ya se han llevado tratamientos contra su uso (Volkow et. al., 2006).

Como ocurre con otros tipos de aprendizajes motivacionales, entre más sea el atributo motivacional asociado con una recompensa que se le da a un individuo, mayor será el esfuerzo que el individuo estaría dispuesto a llevar a cabo, y por ende mayores serán las consecuencias negativas que éste estará dispuesto a tolerar con el fin de obtenerlo (Trifilieff et. al., 2013). Sin embargo, mientras que las células de DA dejan de descargar después del consumo repetido de una "recompensa natural" para saciar la necesidad o el impulso de perseguir, las drogas adictivas evitan esta saciedad natural y continúan aumentando directamente los niveles de DA, un factor que permite explicar el por qué es más probable que surjan aquellas conductas compulsivas características de una persona cuando consumen drogas, que aquellas personas cuando buscan una recompensa natural (Di Chiara, 2002).

Esto se debe a que los incrementos rápidos y bruscos de DA activan los receptores D1 de dopamina de baja afinidad, que son necesarios para los efectos gratificantes de las drogas y para desencadenar respuestas condicionadas (Caine et. al., 2007). Por el contrario, la estimulación de DA de los receptores D2 de dopamina de alta afinidad no es suficiente para la recompensa de drogas, y estos receptores podrían incluso limitar la recompensa de drogas (Caine et. al., 2002). Por lo tanto, se podría decir que las drogas producen similares

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

aumentos en la DA desencadenada por la activación fásica de DA, que son las activaciones comunes de las neuronas de DA asociadas con estímulos gratificantes (Covey et. al., 2014).

El DSM-5 enumera en particular a 10 tipos de adicciones a sustancias dentro de esta categoría: el alcohol, la cafeína, el cannabis, los alucinógenos (con categorías independientes para la fenciclidina o las arilciclohexilaminas con acción similar, y otros alucinógenos), los inhalantes, los opiáceos, los sedantes, hipnóticos y ansiolíticos, los estimulantes (sustancias tipo anfetamina, cocaína y otros estimulantes), el tabaco, y otras sustancias o sustancias desconocidas. Estos trastornos se presentan de manera separada mediante diferentes secciones, sin embargo, no son completamente distintas, porque todas estas sustancias que se toman en exceso activan los circuitos de recompensa del cerebro, y su concurrencia es común (American Psychiatric Association, 2013).

El DSM-5 combinó lo que antes se definían como dos trastornos separados y jerárquicos (abuso de sustancias y dependencia de sustancias) en un solo concepto, estableciendo los trastornos por uso de sustancias en un rango de leve, moderado a severo, dependiendo la gravedad de una adicción (American Psychiatric Association, 2013).

En cambio en la Clasificación Internacional de Enfermedades en su onceava edición (CIE-11) de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en los “Trastornos Obsesivo-Compulsivos y Afines” propuso que la categoría de trastornos del control de impulsos se mantenga y defina ampliamente estos trastornos por el fracaso constante de resistir un impulso, manejar un impulso o la necesidad de realizar un acto que es gratificante para la persona (al menos a corto plazo), a pesar del daño que se podría generar a largo plazo, ya sea para el individuo o para otros, dando lugar a entrar en la definición las adicciones por el juego, el sexo, la cleptomanía, las sustancias, entre otros (Grant et. al., 2014).

Es por esto, que las adicciones han sido separadas en las drogodependencias, farmacodependencias o drogadicción (adicción a sustancias psicoactivas) y las adicciones de procesos (adicción al sexo, juegos de azar, pornografía, internet, etc.). (American Psychiatric Association, 2013)

La adicción es un ciclo recurrente del cual se ha clasificado en principalmente tres fases (intoxicación, abstinencia/efecto negativo y preocupación/anticipación; Figura 20), de los

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

cuales se ha observado que, a mayor exposición a la droga, mayores efectos deletéreos, involucrando cambios neuroplásticos en el sistema de recompensa cerebral, el estrés y los sistemas de función ejecutiva (Baumeister et. al., 1994).

El refuerzo positivo (recompensa) aumenta la probabilidad de una respuesta posterior, y las drogas de abuso son al menos tan potentes como los refuerzos naturales (por ejemplo, alimentos) (Volkow y Wise, 2005). Se ha demostrado que aquellos sujetos que llegan a caer en el ciclo de la adicción pasan de un estado de impulsividad a la compulsividad, se ha observado que el impulso que se da en la conducta al consumir drogas es correspondiente a los cambios del refuerzo positivo al negativo. Sin embargo, existen casos en que la impulsividad y la compulsividad pueden coexistir, y usualmente lo hacen en las diferentes fases del ciclo de la adicción (Berlin y Hollander, 2014).

La impulsividad es una conducta de la cual se podría definir como “una tendencia hacia reacciones rápidas no planificadas a estímulos internos y externos sin tener en cuenta las resultantes negativas de estas reacciones que puede ocasionar para ellos mismos o para los demás” (Moeller et. al., 2001), y una definición de compulsividad es la manifestación de “acciones perseverantes, repetitivas, excesivas e inapropiadas”. Los comportamientos impulsivos suelen ir acompañados de sentimientos de placer o gratificación, pero los comportamientos compulsivos se observan en trastornos, como el obsesivo-compulsivo. Los trastornos a menudo se realizan para reducir la tensión o la ansiedad de los pensamientos obsesivos (Berlin y Hollander, 2014).

Mediante la investigación, la comunidad científica ha propuesto los mecanismos neurobiológicos detrás de estas adicciones, demostrando que más que ser un efecto psicológico, la fisiología neuronal toma un papel muy importante en el desarrollo de las adicciones. Esto ha conllevado a que, en la investigación neurobiológica, una de sus principales finalidades ha sido comprender aquellos cambios que se dan a nivel molecular, celular y de neurocircuitos, debido a que intervienen en el cambio de un uso habitual y controlado de sustancias, al tener la pérdida de control en el consumo de fármacos que conlleva a una adicción (Koob y Le Moal, 2008).

Gracias al estudio que se ha dado en modelos animales, ha ayudado a la comprensión de la neurobiología de la adicción, recientemente, a través de estudios de imágenes cerebrales

en individuos con adicción, se ha logrado un progreso en el entendimiento de estas. Aunque ciertamente ningún modelo animal de adicción puede imitar completamente las condiciones que se da en los humanos, estos permiten la investigación de signos o síntomas específicos asociados a esta condición psicopatológica. Si el modelo imita adecuadamente la condición observada en los humanos a medida que pasan de la experimentación a la adicción, entonces es más probable que tenga una validez de construcción o predictiva (Geyer y Markou, 1995).

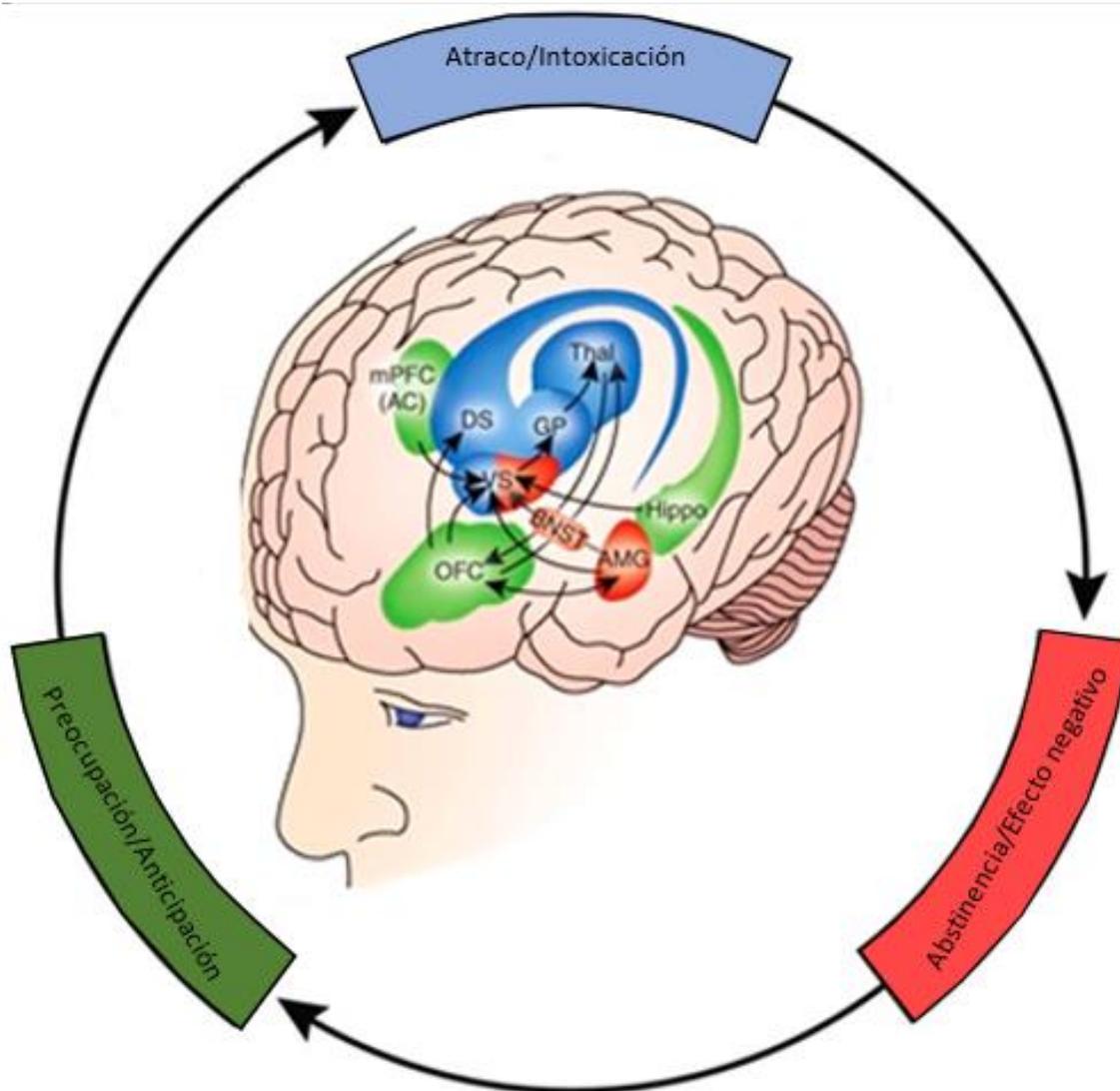


Figura 20. Diferentes etapas de la adicción, así como también las zonas cerebrales que participan en dichas fases

Imagen extraída de Substance Abuse and Mental Health Services Administration (US), (2016)

Estas conductas se pueden estudiar con modelos en diferentes niveles de sistemas (genético, epigenético, de transcripción, celular y red), construcciones psicológicas (refuerzo positivo y negativo), síntomas descritos por la psiquiatría (ansia, hipohedonia y disforia), y fases del ciclo de adicción (intoxicación, abstinencia/efecto negativo y preocupación/anticipación) (Koob y Le Moal, 1997). Los modelos animales utilizados para estudiar los efectos gratificantes de diferentes drogas de abuso en ratones o ratas se han ido desarrollando en los últimos años, aprovechan la diversidad individual y de cepas en las respuestas a las drogas administradas, incorporan entornos complejos con diferentes accesos y opciones que refuerzan las alternativas, y prueban los efectos de los estímulos estresantes, lo que permite la investigación de los procesos neurobiológicos que yace en los procesos de adicción y los factores ambientales que permiten proporcionar resistencia frente a una vulnerabilidad. Recientemente estos modelos animales también han empezado a examinar en cómo se influye la etapa de desarrollo en la que se encuentre al iniciar el consumo y el sexo del animal, en respuesta a las drogas, para entender mejor la vulnerabilidad de los trastornos por abuso de sustancias, por ejemplo, cuando se inicia el uso de drogas en la adolescencia y los distintos rumbos que da el uso de drogas observado en hombres y mujeres. Los mecanismos neurobiológicos envueltos en las diferentes fases del ciclo de las adicciones se podrían definir como dominios, dándoles un enfoque en aquellos circuitos cerebrales específicos, las alteraciones moleculares y neuroquímicas que se pueden observar en esos circuitos durante ese cambio que se da en la toma de drogas provocando una adicción, y la forma en que estos cambios persisten en la vulnerabilidad a la recaída (Koob y Le Moal, 2001).

Las drogas son según la RAE, una “Sustancia o preparado medicamentoso de efecto estimulante, deprimente, narcótico o alucinógeno”, según lo define la OMS “En medicina se refiere a toda sustancia con potencial para prevenir o curar una enfermedad o aumentar la salud física o mental y en farmacología como toda sustancia química que modifica los procesos fisiológicos y bioquímicos de los tejidos o los organismos. De ahí que una droga sea una sustancia que está o pueda estar incluida en la Farmacopea. En el lenguaje coloquial, el término suele referirse concretamente a “las sustancias psicoactivas y, a menudo, de forma aún más concreta, a las drogas ilegales”, estas pueden ser de origen natural o artificial y se puede desarrollar una adicción por estas. Al hablar de drogas se hace referencia a “drogas de abuso” las cuales serían el alcohol, sedantes, hipnóticos, tabaco,

opioides, cannabinoides, cocaína, anfetaminas, éxtasis, solventes volátiles, alucinógenos y cualquier otra sustancia con un efecto psicoactivo y que genere una drogodependencia.

2. Receptores huérfanos GPR35, GPR55 y GPR119

2.1 Expresión en sistema nervioso central

2.1.1 GPCR

Los GPCR constituyen una gran familia de proteínas que actúan como transductores de señales a través de la membrana celular, recibiendo en la parte exterior de la membrana un ligando y activando en el interior de la membrana la proteína G, provocando una cascada de señalización. Los GPCR son proteínas integrales de membrana, distinguidas por un dominio N-terminal extracelular, 7 hélices α transmembrana (7-TM) conectadas por 3 bucles extracelulares (ECL1, ECL2 y ECL3) y 3 bucles intracelulares (ICL1, ICL2 e ICL3), que terminan en un dominio C-terminal intracelular (Venkatakrishnan et. al., 2013). Se agrupan en cinco clases principales en función de su secuencia y su semejanza estructural: parecido a la Rodopsina (clase A), parecido a la Secretina (clase B), parecido al Glutamato metabotrópico (clase C), Adhesión y Frizzled/Taste2 (Audet y Bouvier, 2012).

Estimaciones recientes sugieren que hay entre 19.000 y 20.000 genes de codificación proteica en el genoma humano (Ezkurdia et. al., 2014). De estos, 800 genes codifican GPCR's, lo que corresponde al 4,1% de 24,3% de todos los genes (Venter et. al., 2001; Lv et. al., 2016; Alexander et. al., 2019), lo que hace que estos receptores de membrana sean la familia de genes más abundante en el genoma humano. Estos son los encargados de transformar los estímulos externos de la célula (fotones, neurotransmisores, quimiocinas, mediadores de lípidos, hormonas, etc.), en señales intracelulares la cuales provocan una respuesta biológica. Mediante estas respuestas biológicas se ven reguladas una gran cantidad de funciones fisiológicas como la visión, la mediación de la transducción de señales de neurotransmisores, hormonas, metabolitos, olores, iones, la transducción de fuerzas mecánicas, la proliferación celular, el olfato, el gusto, la presión arterial, las interacciones célula-célula y célula-matriz, etc. (Rosenbaum et. al., 2009; Petersen et. al., 2015; Hamann et. al., 2015; Scholz et. al., 2017; Erdogmus et. al., 2019). Aproximadamente la mitad de estos receptores cumplen una función mediadora sensorial, olfato, visión, gusto y reconocimiento de feromonas (Mombaerts, 2004). Mientras que, en la otra mitad, dos

tercios de estos son reguladores de muchos procesos fisiológicos del sistema nervioso y endocrino, y el resto de los receptores siguen siendo desconocida su función (Kolakowski, 1994).

Debido a su capacidad para modular una gama tan inmensa de señales fisiológicas, los GPCR son el objetivo del 34% de los productos farmacéuticos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA por sus siglas en inglés) de Estados Unidos de América que se utilizan en la actualidad (Overington et. al., 2006; Hauser et. al., 2017).

2.1.2 Receptor GPR35

El receptor acoplado a proteína G 35 (GPR35) se identificó por primera vez en 1998 en el intestino de rata como un receptor acoplado a proteína G de clase A (similar a la rodopsina) que contiene 309 aminoácidos. En humanos, GPR35 se localiza en el cromosoma 2q37.3 (número de acceso de Genbank: AF027957.1). GPR35 tiene una homología de secuencia de aminoácidos con el receptor purinérgico LPA4 (32%), con el receptor GPR23 (32%), los receptores de unión a ácido hidroxicarboxílico HCA2 y HCA3 (30%), el receptor de ácido nicotínico HM74 (30%) (O'Dowd et. al., 1998), y por último con el receptor acoplado a proteína G 55 (GPR55) (aproximadamente 27%) (Sawzdargo et. al., 1999). Se ha descubierto una variante de unión de GPR35 (GPR35b) que tiene una extensión N-terminal de 31 aminoácidos, GPR35b se descubrió a partir de una biblioteca de ADN complementario (ADNc) producida a partir de células cancerosas gástricas humanas (Okumura et. al., 2004). Aunque normalmente en la literatura sobre GPR35 humano se centra en la isoforma corta (GPR35a), es importante tener en cuenta que actualmente existe información limitada disponible sobre si GPR35a y GPR35b están regulados diferencialmente y/o brindan diferentes funcionalidades *in vivo*.

El GPR35 de ratón, tiene un 73,4% de identidad de secuencia de la proteína total con el GPR35a humano, este se traduce en una proteína de 307 aminoácidos del locus cromosómico 1D, mientras que la GPR35 de rata, tiene un 72% de homología general con humanos y 85 % de homología general con el ratón, se codifica una proteína de 306 aminoácidos y su ubicación se encuentra en el cromosoma de 9q36 (Taniguchi et. al., 2006).

Se ha reportado que GPR35 se puede señalar a través de proteínas Gai/o; específicamente, se utilizaron proteínas G promiscuas y quiméricas para la detección de la transducción de señales GPR35 (Wang et. al., 2006). El uso de estas proteínas G quiméricas permite que los GPCR que se acoplan preferencialmente a Gai/o (y/o Gas) se acoplen a Gαq; posibilitando observar la activación del receptor mediante cambios en la vía intracelular de Ca²⁺ (Coward et. al., 1999). GPR35 es un GPCR, 7-transmembrana, que activa su función a través de la interacción con Gai/o, Gα13 y β-arrestina (Wang et. al., 2006; Guo et. al., 2008; Jenkins et. al., 2010; Jenkins et. al., 2011; Fallarini et. al., 2010; Shore y Reggio, 2015).

GPR35 se expresa significativamente en intestino delgado, colon y estómago humano (Imielinski et. al., 2009), también se ha observado su expresión en otros tejidos de rata como pulmón, útero, células gliales, el núcleo caudado en humanos, la médula oblongada, el hipocampo, la médula espinal y altos niveles de expresión en los ganglios de la raíz dorsal (GRD) del ratón (Cosi et. al., 2011), en el bazo y las células blancas de humanos y ratones (Wang et. al., 2006), y astrocitos cultivados (Berlinguer-Palmini et. al., 2013). La expresión de GPR35 también se ha identificado en el cuerpo estriado del ratón e hipotálamo (Hilger et. al., 2013). Además, los mastocitos, basófilos y eosinófilos humanos (Yang et. al., 2010), las células inmunitarias los monocitos y macrófagos primarios (Barth et. al., 2009) también expresan GPR35.

Se ha postulado que el ácido quinurénico (KYNA por sus siglas en inglés) y el ácido 2-acil lisofosfatídico son ligandos naturales para GPR35. Se encontró que el KYNA es capaz de elevar el calcio intracelular en que expresan GPR35 humano y una mezcla de proteínas G promiscuas y quiméricas. El KYNA es un metabolito del triptófano; sin embargo, sus precursores, kinunerina y triptófano, no activan el GPR35, lo que plantea la probable importancia del KYNA (Wang et. al., 2006).

A pesar de que se ha demostrado que el KYNA puede activar GPR35, mostró una potencia muy baja para GPR35 humano en comparación con el GPR35 de rata que mostro una potencia relativamente alta (Milligan, 2011). Esto plantea que el KYNA podría ser un agonista eficaz en ratas, pero no en humanos. Un segundo grupo de ligandos endógenos postulados para los receptores GPR35 son los ácidos lisofosfatídicos, especialmente los ácidos 2-acil lisofosfatídicos (2-acil LPA) (Oka et. al., 2010). A diferencia del KYNA, el 2-acil

LPA activó el GPR35 humano con alta potencia. Por lo tanto, es más probable que el 2-acil LPA sea el ligando endógeno del GPR35 humano en lugar del KYNA.

El primer antagonista para GPR35 descrito fue el metil-5-[(tercbutylcarbamoilhidrazinilideno) metil]-1-(2,4-difluorofenil) pirazol-4-carboxilato (CID2745687), que inhibe tanto el tráfico de β -arrestina como los ensayos de fosforilación de ERK (Zhao et. al., 2010).

Finalmente, recientemente se ha informado que la quimiocina CXCL17, que actualmente solo se señala a través de GPR35 (Maravillas-Montero et. al., 2015).

2.1.3 Receptor GPR55

El GPR55 ha sido uno de los GPCR que ha tenido gran interés debido a que es considerado como un posible tercer receptor de cannabinoides, desde que se descubrió que una gran cantidad de compuestos tipo cannabinoide puede activarlo, se activa de forma endógena por L-lisofosfatidilinositol (LPI) (Oka, et. al., 2007), una molécula de señalización de lípidos, así como también N-Araquidonilglicina (NAGly) y numerosos endo, fito y sintéticos cannabinoides (Fakhouri et. al. 2017), incluidos anandamida (AEA), 2-araquidonoilglicerol (2-AG), delta-9-tetrahidrocannabinol (THC), antagonistas del receptor cannabinoide tipo 1 (CB1): AM251 y SR141716A (Rimonabant®), y los compuestos sintéticos, cannabidiol anormal (Abn- CBD), O-1602 y ML184, entre otros (Henstridge et. al., 2010; Heynen-Genel et. al., 2010) a pesar de que no comparte mucha similitud con los receptores de cannabinoides actualmente descubiertos (CB1 y CB2). El sitio de unión de GPR55 no comparte una "huella digital funcional" con CB1 o CB2 (Petitet et. al., 2006), GPR55 carece del sitio de unión de cannabinoides clásico. El GPR55 en su conformación activa mostró un sitio de unión con muchos residuos hidrófilos (a diferencia de los sitios de unión CB1 y CB2, que son altamente hidrófobos), y que alberga ligandos que tienen formas de L o T invertidas y muestran perfiles largos y delgados (Kotsikorou et. al., 2011). El gen GPR55 humano (hGPR55) se aisló originalmente en 1999 como un GPCR huérfano con altos niveles de expresión en el cuerpo estriado humano (Genbank NM_005683.3), reside en el cromosoma 2q37 y codifica para el receptor GPR55, una proteína de 319 aminoácidos. Se ha demostrado que este receptor tiene una homología de secuencia de aminoácidos relativamente baja con CB1 (13.5%) y CB2 (14.4%) (Elbegdorj et. al., 2013). También se ha observado que los homólogos más cercanos son el receptor purinérgico P2Y5 (29%),

los receptores huérfanos similares a purinoceptores GPR23 (30%) y GPR35 (27%) y el receptor de quimiocinas CCR4 (23%) (Sawzdargo et. al., 1999). Se ha demostrado que la secuencia del gen GPR55 humano comparte aproximadamente de un 75% en ratas y un 78% en ratones de homología (Ryberg et. al., 2007).

El GPR55 es un dominio clásico de siete transmembranas que cuando se da la activación de GPR55, éste incita una vía de liberación sostenida e inestable de Ca^{2+} intracelular que depende de $G\alpha_q/12$ y $G\alpha_{13}$, y se requiere una activación de la proteína RhoA (que participan en la dinámica del citoesqueleto). Un estudio adicional ha sugerido que la unión del ligando a GPR55 también fosforila ERK1/2 (que participan en la proliferación, diferenciación y varios procesos celulares), CREB, activa la ruta NF κ B y transloca NFAT al núcleo, sin embargo, estas respuestas son dependientes de ligandos, lo que complica aún más la farmacología de este receptor (Henstridge et. al., 2010; Sharir y Abood, 2010; Godlewski et. al., 2009; Ross 2009; Yoon y Seger 2006).

Ryberg et. al., 2007 encontraron que el nivel de expresión es más alto en las suprarrenales> corteza frontal> estriado, yeyuno e íleon> hipotálamo, tronco del encéfalo> hipocampo, cerebelo, bazo> médula espinal, pulmón, hígado, útero, vejiga, estómago, riñón> esófago> tejido adiposo (Ryberg et. al., 2007). Existe una amplia distribución de GPR55 en el cuerpo.

2.1.4 Receptor GPR119

La proteína humana del receptor acoplado a proteína G 119 (GPR119) consta de 335 aminoácidos está codificada por un gen intrón ubicado en el cromosoma X (Fredriksson et. al., 2003). Filogenéticamente, GPR119 se ha asignado al grupo de receptores MECA (melanocortina; gen de diferenciación endotelial; cannabinoide; adenosina), que designa los receptores de cannabinoide entre sus parientes más cercanos (Oh et. al., 2006). Aunque presenta poca homología de secuencia global con otros receptores (Overton et. al., 2006). GPR119 muestra un patrón de expresión relativamente estrecho. Las transcripciones de ARNm de humanos y roedores GPR119 se han encontrado predominantemente en tejidos pancreáticos e intestinales (Lauffer et. al., 2009). Los roedores también expresan GPR119 en algunas regiones del cerebro (Lan et. al., 2009; Ray et. al., 2018). Los datos autorradiográficos e inmunohistoquímicos indican que la localización de GPR119 se limita en gran medida a un subconjunto de células en los islotes pancreáticos de Langerhans, donde se co-localiza con insulina (Chu et. al., 2007), aunque

otro estudio indica la localización predominante de GPR119 en células liberadoras de polipéptidos pancreáticos (Sakamoto et. al., 2006).

Las células que expresan GPR119 en niveles altos muestran un aumento constitutivo en el cAMP intracelular (Chu et. al., 2007), lo que implica el acoplamiento de GPR119 a G α s. También se ha informado que los agonistas putativos de GPR119 aumentan el cAMP, estimulan la adenil ciclasa y aumentan la actividad de la PKA en células que expresan GPR119 nativo o recombinante (Overton et. al., 2006).

2.2 Posibles funciones

2.2.1 GPR35

Se ha informado que el KYNA y el zaprinast actúan como agonistas de GPR35 expresados de forma heteróloga en neuronas simpáticas de rata con proteínas G endógenas, y como resultado se observó la inhibición de los canales de calcio de tipo N (Guo et. al., 2008).

Se investigó el acoplamiento de GPR35a humano y GPR35b en vías de señalización neuronales nativas y efectoras, las isoformas de GPR35 humano se transfectaron transitoriamente en neuronas de ganglio cervical superior de rata cultivadas y el efecto en las corrientes de canales de calcio (ICa) de células completas, GPR35 parecía modular la actividad de la subunidad de ICa a G $\beta\gamma$, ya que la inhibición dependiente del voltaje se presentó con una activación prepulso más lenta y alivió parcialmente la inhibición del pulso acondicionador despolarizante después de la aplicación de agonistas GPR35 (Guo et. al., 2008). Parece posible que los agonistas de GPR35 puedan actuar para reducir la frecuencia de los potenciales de acción a través de la inhibición de canales de calcio de tipo N, lo que lleva a una menor afluencia de Ca $^{2+}$, una reducción en la liberación de neurotransmisores y una reducción en la corriente sináptica evocada en la célula postsináptica.

El canal de calcio de tipo N se expresa ampliamente en el SNC y controla la liberación de neurotransmisores, junto con los canales de tipo P/Q y R. Estos canales se localizan en los terminales presinápticos, donde su activación dependiente del voltaje conduce a una entrada de iones de calcio, que a su vez inicia la exocitosis de vesículas sinápticas que contienen varios neurotransmisores (Wheeler et. al., 1994).

2.2.2 GPR55

Fuera del SNC, el GPR55 está implicado en la inflamación gastrointestinal y la colitis (Schicho et. al., 2011), la función de los osteoclastos (Whyte et. al., 2009) y la modulación de las respuestas inmunitarias y la nocicepción (Stancic et. al., 2015). La expresión de GPR55 se ha encontrado en numerosas regiones del cerebro humano y de roedores, incluido el hipocampo (Hurst et. al., 2017). En el SNC, GPR55 está involucrado en neuroprotección (Kallendrusch et. al., 2013), potenciar la liberación vesicular de glutamato en cortes de hipocampo (Sylantyev et. al., 2013), hiperalgesia (Staton et. al., 2008), coordinación motora (Wu et. al., 2013), percepción del dolor (Deliu et. al., 2015). Mediante diferentes investigaciones se ha revelado el papel que juega el receptor GPR55 en el hipocampo demostrando efectos neuroprotectores dependientes de la microglía y aumentos de LTP mediados por LPI en el hipocampo CA1 y CA3 (Hurst et. al., 2017). Recientes estudios muestran que GPR55 tiene un papel regulador en la morfología del cono de crecimiento y la guía de axones (Cherif et. al., 2015).

2.2.3 GPR119

Existe cierta evidencia de la participación de los canales de Ca^{2+} dependientes del voltaje y K^+ sensibles a ATP en las respuestas mediadas por GPR119 (Ning et. al., 2008). Para el GPR119 su función fisiológica sigue sin estar clara (Lauffer et. al., 2009).

Debido a la proximidad filogenética de GPR119 a los receptores de cannabinoides, las sustancias relacionadas con los endocannabinoides (eCB) se consideraron primero como posibles ligandos de GPR119. Se ha demostrado que, entre los cannabinoides, solo las amidas de ácidos grasos indujeron fluorescencia en células transfectadas con GPR119 humano o de ratón, siendo la oleoiletanolamida (OEA) la más activa, seguida de la palmitoiletanolamida (PEA) y la AEA que muestra un efecto muy débil (Overton et. al., 2006).

Los mediadores lipídicos bioactivos, como los lisofosfolípidos, los eicosanoides, los lípidos del éter, los eCB y los ácidos grasos, juegan un papel importante en la fisiología normal de los sistemas vascular, nervioso y metabólico (Borrelli y Izzo, 2009). Entre estos lípidos, la etanolamida de ácido graso endógeno la OEA ha atraído una atención considerable porque la OEA es producida por las células en el intestino delgado en respuesta a la alimentación y regula la saciedad y el peso corporal (Simon y Cravatt, 2008).

Usando el cribado de alto rendimiento, dos grupos identificaron de forma independiente los análogos de oxadizona, tipificados por PSN632408 (Overton et. al., 2006) y AR231453 (Semple et. al., 2008) como pequeños agonistas GPR119 sintéticos. Se encontró que estos compuestos aumentan el cAMP intracelular (Chu et. al., 2008) y la secreción de insulina (Chu et. al., 2007) y GLP-1 (Chu et. al., 2008). El compuesto AR231453 es particularmente notable por su afinidad nanomolar por GPR119, mientras que PSN632408 también puede provocar algunos efectos independientes de GPR119 en concentraciones farmacológicamente relevantes (Ning et. al., 2008).

A pesar de observarse que el receptor GPR119 se expresa de manera importante en el núcleo estriado de roedores (Ray et. al., 2018), no existe en la literatura algún reporte sobre su función.

2.3 Potencial utilidad terapéutica

2.3.1 GPR35

GPR35 se está convirtiendo en un objetivo importante en el dolor (antinocicepción espinal y dolor inflamatorio), enfermedades cardíacas, asma, enfermedad inflamatoria intestinal y cáncer, áreas con necesidades médicas insatisfechas (Zhao y Abood, 2013).

Las supresiones terminales del cromosoma 2q se encuentran entre las anomalías citogenéticas reportadas con mayor frecuencia en individuos con trastornos del espectro autista. La aparición de autismo o características autistas en niños con supresión del cromosoma 2q37.3 se ha observado en diferentes casos (Chong et. al., 2014). Las microdeleciones terminales, de novo, del brazo largo subtelo mérico del cromosoma 2 también se han asociado con el síndrome de osteodistrofia hereditaria de Albright (AHO) y el síndrome de braquidactilia mental. Los pacientes con estos trastornos presentan retraso del desarrollo (con retraso mental leve a grave), anomalías de comportamiento, autismo, obesidad, baja estatura, braquidactilia tipo E, dismorfismo craneofacial, junto con anomalías cardíacas, traqueales, gastrointestinales, del tracto genitourinario y del SNC (Fernández-Rebollo et. al., 2009). La mayoría de los estudios centrados en 2q37.3, no se ha considerado el GPR35 debido a la falta de información sobre su papel, su expresión y

funcionalidad en el sistema nervioso. De descubrir su posible participación éste se podría utilizar para tratar contra este tipo de enfermedades.

Receptor	Potenciales usos terapéuticos	Referencias
GPR35	Antinocicepción espinal	Zhao y Abood, 2013
	Dolor inflamatorio	
	Enfermedades cardíacas	
	Asma	
	Enfermedad inflamatoria intestinal	
	Cáncer	

Tabla 1. Posibles usos terapéuticos para GPR35

2.3.2 GPR55

La función de los receptores GPR55 ha sido ampliamente estudiada e involucrada en diferentes procesos: procesos gastrointestinales (Sanger, 2007), en el tratamiento de la inflamación y dolor (Staton et. al., 2008; Yang et. al., 2016), en la patogénesis de la osteoporosis (Whyte et. al., 2009), la modulación de la migración, orientación y polarización de las células de cáncer de mama (Ford et. al., 2010), proliferación y migración celular (Pérez-Gómez et. al., 2013), equilibrio energético (Liu et. al., 2015), en la lipólisis (Wise y Brown 2001; Brown et. al., 2005) y, en el control de la presión arterial (Sjögren et. al., 2005; Greasley et. al., 2008). En el SNC, algunos estudios sugieren que puede estar modulando la ansiedad y la liberación de glutamato en el hipocampo (Sylantsev et. al., 2013), la coordinación motora (Wu et. al., 2013) y, la memoria del procedimiento (Marichal-Cancino et. al., 2016). Las células madre neurales (NSC por sus siglas en inglés) expresan GPR55 funcional y se ha demostrado que los agonistas de GPR55 selectivos aumentan la proliferación de NSC y la neurogénesis temprana tanto *in vitro* como *in vivo* (Hill et. al., 2018), las NSC tras su diferenciación neuronal se integran en circuitos neuronales funcionales y promueven la plasticidad al hacer conexiones sinápticas con neuronas maduras (Ming y Song, 2011). La integración adecuada de las NSC en los circuitos existentes es fundamental para procesos como el aprendizaje, la memoria y la separación de patrones (Christian et. al., 2014; Deng et. al., 2010; Sahay et. al., 2011a; Sahay et. al., 2011b). Además, PEA un agonista de GPR55, se ha visto tener funciones antiepiléptica y neuroprotectora (Lambert et. al., 2001; Sheerin et. al., 2004), también se ha sugerido que PEA participa en la regulación de los comportamientos relacionados con la recompensa (Fu et. al., 2008; Hansen y Diep, 2009), como los involucrados en comportamientos adictivos

para varias drogas de abuso (Bilbao et. al., 2015; Bystrowska et. al., 2014; Mascia et. al., 2011; Melis et. al., 2008), por lo tanto, GPR55 puede estar involucrado en estos procesos.

Receptor	Potenciales usos terapéuticos	Referencias
GPR55	Procesos gastrointestinales	Sanger, 2007
	Dolor e inflamación	Staton et. al., 2008; Yang et. al., 2016
	La patogénesis de la osteoporosis	Whyte et. al., 2009
	Proliferación y migración celular	Pérez-Gómez et. al., 2013
	Equilibrio energético	Liu et. al., 2015
	Cáncer	Ford et. al., 2010
	La lipólisis	Wise y Brown, 2001; Brown et. al., 2005
	En el control de la presión arterial	Sjögren et. al., 2005; Greasley et. al., 2008
	En la modulación de la ansiedad	Sylantsev et. al., 2013
	La coordinación motora	Wu et. al., 2013
	En la memoria de procedimiento	Marichal-Cancino et. al., 2016

Tabla 2. Posibles usos terapéuticos para GPR55

2.3.3 GPR119

Tiene efectos reguladores sobre el tracto gastrointestinal, regulación del azúcar en sangre y mejora de la resistencia a la insulina, como reducir la ingesta dietética, aumentar la saciedad, aumentar la motilidad gastrointestinal y prolongar el tiempo de vaciado gástrico (Khound et. al., 2017).

Se ha sospechado que GPR119 puede representar un objetivo potencial para el tratamiento de la obesidad debido al hecho de ser receptor de la OEA, además, se ha reportado que el agonista sintético GPR119 el PSN632408 suprime la ingesta de alimentos y el aumento de peso corporal, pero, a diferencia de OEA, éste carece de actividad sobre los receptores activado por proliferadores de peroxisomas alfa (PPAR- α por sus siglas en inglés) (Overton et. al., 2006). Por otro lado, se ha reportado que los efectos tales como la anorexia (Fu et. al., 2003; Lo Verme et. al., 2005; Fu et. al., 2008), la lipólisis (Guzmán et. al., 2004) y la neuroprotección (Sun et. al., 2007; Galán-Rodríguez et. al., 2009) son mediados por PPAR- α , sin embargo, se ha demostrado que la OEA causa varios efectos a través de mecanismos independientes de PPAR- α , como la inhibición de la motilidad intestinal (Cluny et. al., 2008)

o la reducción del dolor visceral e inflamatorio (Suardiaz et. al., 2007), pero aún queda por establecer si dichos efectos pueden o no estar modulados por GPR119.

Receptor	Potenciales usos terapéuticos	Referencias
GPR119	Efectos reguladores sobre el tracto gastrointestinal	Khound et. al., 2017
	Regulación del azúcar en sangre	
	Mejora de la resistencia a la insulina	
	Reducir la ingesta dietética	
	Aumentar la saciedad	
	Aumentar la motilidad gastrointestinal	
	Prolongar el tiempo de vaciado gástrico	

Tabla 3. Posibles usos terapéuticos para GPR119

3. Antecedentes

3.1 GPR35

La administración de KYNA (directamente o a través de su precursor, quinurenina) conduce a una reducción de las concentraciones extracelulares de DA, como se observa en la CPF en la esquizofrenia. El KYNA parece regular negativamente los niveles de DA en el cuerpo estriado ventral (Amori et. al., 2009) y también modula negativamente los niveles de glutamato en el hipocampo (Pocivavsek et. al., 2011). El mecanismo de este efecto no está claro a nivel celular y de red, aunque se ha sugerido que la interacción resulta de un bloqueo por el KYNA del glutamato o del receptor nicotínico de acetilcolina $\alpha 7$ ($\alpha 7nAChR$) en las terminales nerviosas dopaminérgicas o en los astrocitos locales (Wonodi y Schwarcz 2010). Informes anteriores han involucrado acciones sobre el receptor $\alpha 7nACh$, el receptor NMDAR, el GPR35, entre otros (por ejemplo, canales GABAA) (Wonodi y Schwarcz, 2010; Ohshiro et. al., 2008; Mok et. al., 2009). En otro estudio al mejorar los niveles de KYNA en el cerebro con un inhibidor de quinurenina 3-monooxigenasa (KMO) (Ro 61-8048), se atenuó el aumento inducido por cannabinoides en los niveles de DA en la capa del NAc y, por lo tanto, se redujeron los efectos gratificantes de THC y WIN55,212-2 (Justinova et. al., 2013).

El $\alpha 7nAChR$ es inhibido directamente a través de KYNA como lo informaron en primer lugar Hilmas et. al., 2001 y además confirmado por varios informes *in vitro* e *in vivo* (Albuquerque y Schwarcz, 2013). Sin embargo, otros estudios también cuestionaron este efecto (Dobelis et. al., 2012; Mok et. al., 2009). Una revisión corroboró que KYNA puede considerarse un modulador endógeno genuino para $\alpha 7nAChR$, pero establecido como un fenómeno

complejo, dependiendo principalmente de consideraciones metodológicas (Albuquerque y Schwarcz, 2013), es por ello que la reducción de los efectos gratificantes puede estar regulado por alguna otra diana de KYNA.

Otro objetivo del KYNA puede ser el antiguo receptor huérfano acoplado a proteína G GPR35 (Wang et. al., 2006). KYNA ha sido el primer ligando agonista endógeno descrito para GPR35 y es uno de los agonistas endógenos más potentes identificados hasta ahora, modula los canales de calcio a través de este, se expresa en gran medida en las células inmunitarias, el tracto gastrointestinal y el cerebro, e induce la internalización del receptor (Wang et. al., 2006; Guo et. al., 2008). También se ha reportado su expresión en el cerebro de la rata (Taniguchi et. al., 2006; Ohshiro et. al., 2008; Imielinski et. al., 2009) incluido en el NAc la cual es un área cerebral clave en el sistema de recompensa del cerebro, por lo tanto, en las adicciones (Shin et. al. 2017; Nestler 2005; Dani y De Biasi 2001; Di Chiara 2002). Su papel en el SNC es menos claro, aunque la pérdida de GPR35 puede ser la base de al menos una forma de retraso mental (es decir, Albright síndrome hereditario similar a la osteodistrofia) (Shrimpton et. al., 2004).

Un mecanismo intracelular propuesto para este efecto es la disminución del calcio intracelular, mediado por la inhibición del adenilato ciclasa ligada a GPR35 y el cAMP intracelular reducido; Se ha presentado una explicación similar para explicar la reducción de la liberación de glutamato dependiente de calcio de la glía que expresa GPR35 tratada con KYNA (Wang et. al., 2006). KYNA tiene un papel modulador de la neurotransmisión glutamatérgica y, por lo tanto, potencialmente altera varios aspectos de los procesos adictivos (Morales-Puerto et. al., 2021), por lo tanto, la activación de GPR35 contribuir a la disminución de los niveles de glutamato extracelular y, por tanto, a una reducción de la transmisión excitadora (Albuquerque y Schwarcz, 2013). Existe una plétora de evidencia sobre los roles de los canales $\alpha 7nAChR$, NMDA y GABAA en las adicciones, pero no para GPR35.

3.2 GPR55

3.2.1 Memoria

El sistema endocannabinoide (SEC) está implicado en numerosos fenómenos fisiológicos, como la homeostasis emocional, la capacidad de respuesta al estrés, la cognición y la memoria (Iannotti et. al., 2016; Gatta-Cherifi y Cota, 2016; Renard et. al., 2014; Marco y

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Viveros, 2009). La observación de que los cannabinoides pueden producir efectos independientemente de los sistemas canónicos del receptor CB1 y CB2 (CB1/2R) sugiere que otros GPCR pueden interactuar con ligandos cannabinoides (Wu et. al., 2013). Existe evidencia de que los eCB ejercen sus acciones a través del GPR55 (Lauckner et. al. 2008, Marichal-Cancino et. al. 2013; Marichal-Cancino et. al. 2016; Marichal-Cancino et. al. 2017, Yang et. al. 2016). El receptor GPR55, clonado por primera vez en 1999 (Sawzdargo et. al., 1999), ha surgido como un nuevo miembro potencial del SEC (Yang et. al., 2015). El gen que codifica este receptor se encuentra en el cromosoma 2q37, cuya delección se ve implicado en trastornos del comportamiento, autismo o discapacidad intelectual. (Leroy et. al., 2013).

GPR55 se distribuye ampliamente en el cerebro humano (Sawzdargo et. al., 1999) y en varias regiones del cerebro de roedores (Coria et. al., 2014; Serrano et. al., 2012), incluido el hipocampo (Wu et. al., 2013). Los datos sugieren que GPR55 induce la acción opuesta del receptor CB1 sobre la actividad neural (que es predominantemente inhibitoria) (Pertwee, 1997). Este efecto puede explicarse por su capacidad para incrementar el calcio intracelular modulando las reservas Ca^{2+} intracelulares e inhibir las corrientes de potasio (Lauckner et. al., 2008; Henstridge et. al., 2009). GPR55, se ha demostrado que se expresa en terminales presinápticas y está anatómicamente colocalizado con CB1R (Martínez-Pinilla et. al., 2014). GPR55 se expresa potencialmente en diferentes áreas del SNC asociadas con varios comportamientos y procesos fisiológicos como el aprendizaje y la memoria (cuerpo estriado e hipocampo), emociones (el sistema límbico), metabolismo (hipotálamo), control sensorial y funciones cognitivas (corteza frontal), entre otros (Ryberg et. al., 2007; Staton et. al., 2008; Wu et. al., 2013). Este receptor se expresa ampliamente en el cuerpo estriado, una estructura cerebral que participa en la regulación de la memoria procedimental (Ryberg et. al., 2007; Marichal-Cancino et. al., 2016).

GPR55 en el cuerpo estriado dorsolateral parece participar en la formación de memorias procedimentales. El bloqueo de los receptores GPR55 en el cuerpo estriado dorsolateral con CID16020046 (antagonista de GPR55) desplaza la curva de aprendizaje de las ratas en el laberinto en T hacia la derecha, sin alteraciones motoras aparentes (Marichal-Cancino et. al., 2016). Además, la infusión del endocannabinoide noladín-éter durante el bloqueo de CB1 parece facilitar el aprendizaje en este paradigma mediante la activación de GPR55

(Marichal-Cancino et. al., 2016), sin embargo, no se sabe en qué fase participa, es decir, formación, consolidación o evocación de la memoria.

3.2.2 Adicciones

La nicotina es un componente importante del tabaco y es responsable de mantener la conducta de fumar (Benowitz, 2010). Los datos clínicos también muestran que la nicotina es un factor de riesgo para el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y las enfermedades pulmonares, que provocan diversas discapacidades prematuras y la muerte (Jha, 2020). Se han aprobado varios fármacos para dejar de fumar, sin embargo, debido a la baja tasa de abstinencia a largo plazo y la alta tasa de recaídas, todavía hay una falta de medidas terapéuticas para tratar el trastorno por consumo de nicotina de manera eficaz (Hall et. al., 2015; Hughes et. al., 2004). La exposición a la nicotina puede promover la liberación de DA de las neuronas dopaminérgicas ubicadas en el ATV, que se proyecta hacia el NAc. Se ha propuesto que la LTP inducida por la nicotina de las neuronas DA en el ATV es el mecanismo principal de la adicción a la nicotina (Mansvelder y McGehee, 2000).

El SEC es un sistema neuroregulador que regula las emociones, la cognición y los procesos motores. La SEC juega un papel importante en la analgesia, la ansiedad, la depresión y en los mecanismos subyacentes a los efectos gratificantes de varias drogas de abuso, mediada por el receptor CB1 o CB2 (Maldonado et. al., 2006; Di Marzo, 2006; Parsons y Hurd, 2015), incluida la nicotina (Le Foll et. al., 2008; Muldoon et. al., 2013). Estudios recientes demostraron que el LTD inducido por cannabinoides a través de la activación del receptor CB1 podría neutralizar la LTP facilitada por la nicotina para contrarrestar la adicción a la nicotina (Good y Lupica, 2010; Han et. al., 2011; Liu et. al., 2010). Dos proteínas acopladas a G se han clasificado como receptores de cannabinoides (es decir, tipo 1 y 2; CB1 y CB2, respectivamente), pero otros GPCR como GPR3, GPR6, GPR12, GPR18, GPR55 y GPR119 han sido genéticos, farmacológicos y/o molecularmente asociados con el SEC (Allende et. al., 2020; Guerrero-Alba et. al., 2018; Guzmán-Rodríguez et. al., 2021; Marichal-Cancino et. al., 2014; Morales y Reggio, 2017; Ramírez-Orozco et. al., 2019). Entre esos GPCR putativos de cannabinoides, GPR55 ha sido propuesto como el receptor de cannabinoides tipo 3 (CB3) (Yang et. al., 2016). Sin embargo, como también es activado por el lípido no cannabinoide, lisofosfatidilinositol (LPI), permanece sin clasificar

por la Unión Internacional de Farmacología Básica y Clínica, IUPHAR (Pertwee et. al., 2010).

El GPR55 es un receptor cannabinoide atípico, ampliamente expresado en varias regiones del cerebro, incluidas áreas cerebrales involucradas en las acciones reforzadoras de drogas de abuso como núcleos basales, corteza frontal e hipocampo (Ryberg et. al., 2007; Sawzdargo et. al., 1999) y en otras relacionadas con las acciones emocionales negativas (ejemplo, dolor, ansiedad, irritabilidad, etc.) de la ingesta compulsiva de sustancias como el gris periacueductal (PAG) y la amígdala (Deliu et. al., 2015; Marichal-Cancino et. al., 2017; Shi et. al., 2017). Sin embargo, su posible función en los mecanismos que subyacen a los sistemas cerebrales de recompensa y antirecompensa permanece prácticamente inexplorado.

GPR55 está muy relacionado con el sistema endocannabinoide ya que se ha reportado su activación por pitocannabinoides (ejemplo, THC), endocannabinoides (ejemplo, anandamida) y palmitoiletanolamida (PEA) (Marichal-Cancino et. al., 2020; Ryberg et. al., 2007); también, debido a que forma heterodímeros con receptores CB1 y CB2 (Balenga et. al., 2014; Martínez-Pinilla et. al., 2014); de la misma manera, comparte propiedades de señal que son sensibles a la modulación cruzada con CB1 y CB2 (Kargl et. al., 2012); por último, media en múltiples acciones farmacológicas inducidas por cannabinoides exógenos (ejemplo, vasodilatación, ansiedad, dolor, secreción de insulina, aprendizaje y memoria, etc.) (Marichal-Cancino et. al., 2017; Marichal-Cancino et. al., 2018; Marichal-Cancino et. al., 2013; Marichal-Cancino et. al., 2016).

GPR55 es diferente de los receptores cannabinoides clásicos CB1R y CB2R tanto en estructura como en vía de señalización (Ryberg et. al., 2007). El ligando natural endógeno de GPR55 es LPI, que no puede activar CB1R o CB2R (Robertson-Gray et. al., 2019). El GPR55 juega un papel principal en las enfermedades del SNC, como el efecto similar al ansiolítico (Shi et. al., 2017), el deterioro del aprendizaje y la memoria (Marichal-Cancino et. al., 2016) y la adicción a morfina que se evitó con un pretratamiento sistémico de O-1602 (un agonista del receptor GPR55/GPR18) (Alavi et. al., 2016), lo que sugiere que la estimulación de GPR55/GPR18 puede interferir con las acciones de refuerzo de morfina.

3.3 GPR119

Se ha reportado que el cuerpo estriado en roedores expresa el receptor GPR119 (Lan et. al., 2009; Ray et. al., 2018), por lo tanto, se espera que estos receptores cumplan algunas funciones fisiológicas que pueden afectar el comportamiento y hasta donde se tiene conocimiento no existe en la literatura algún reporte sobre su función, teniendo en cuenta que el cuerpo estriado regula la memoria procedimental (Barnes et. al., 2005). También se ha reportado que la N-oleoildopamina (OLDA) la cual tienen actividad agonista para GPR119 (Chu et. al., 2010), se identificó originalmente como una de varias amidas lipídicas detectadas en el cuerpo estriado del SNC y se descubrió que estimulaba la entrada de calcio en células HEK 293 transfectadas con receptor vanilloide (Chu et. al., 2003).

3.4 Compuestos

El dimetilsulfóxido (DMSO; Figura 21) se utilizó como vehículo para los experimentos realizados y se obtuvo a través de Sigma Aldrich®, es un solvente orgánico que es miscible con agua, lípidos y agentes orgánicos (Hanno, 2016), se disolvió con solución salina a la hora de trabajar con este compuesto.

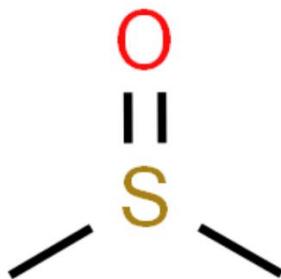


Figura 21. Estructura molecular del DMSO

(<http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.659.html#> Consultado: 23/05/2021).

La nicotina (Figura 22) es un alcaloide vegetal, que se encuentra en la planta del tabaco, y estimulante adictivo del SNC que causa estimulación ganglionar en dosis bajas o bloqueo ganglionar en dosis altas. La nicotina actúa como agonista en los receptores colinérgicos nicotínicos en los ganglios autónomos, en las uniones neuromusculares y en la médula suprarrenal y el cerebro (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nicotine> Consultado: 12/12/2020). Se disolvió en DMSO al momento de trabajar con él en el laboratorio.

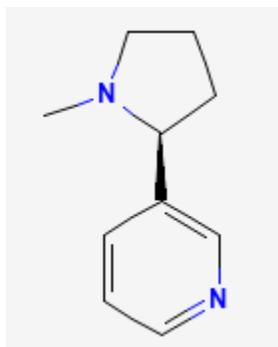


Figura 22. Estructura molecular de la Nicotina

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5284430> Consultado: 17/06/2021).

El CID-1261822 o ML-193 (Figura 23) es una amida aromática y se ha reportado como antagonista del GPR55 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1261822> Consultado: 12/12/2020). Se disolvió en DMSO al momento de trabajar con él en el laboratorio.

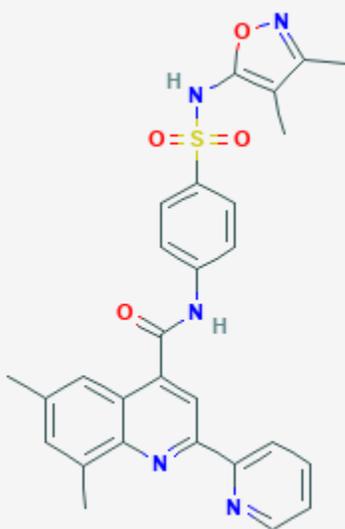


Figura 23. Estructura molecular del ML-193

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1261822> Consultado: 12/12/2020).

ML-184 (Figura 24) es un potente agonista sintético de GPR55 ($EC_{50} = 0,26 \mu M$). No actúa en el receptor de KYNA relacionado GPR35 y es un antagonista débil de CB1 y CB2 (IC_{50} s = 21,8 y 15,1 μM , respectivamente). Al igual que LPI, ML-184 induce la fosforilación de ERK1/2 y la translocación de PKC β II a la membrana plasmática mediante la activación de GPR55 (Kotsikorou et. al., 2011). Se disolvió en DMSO al momento de trabajar con él en el laboratorio.

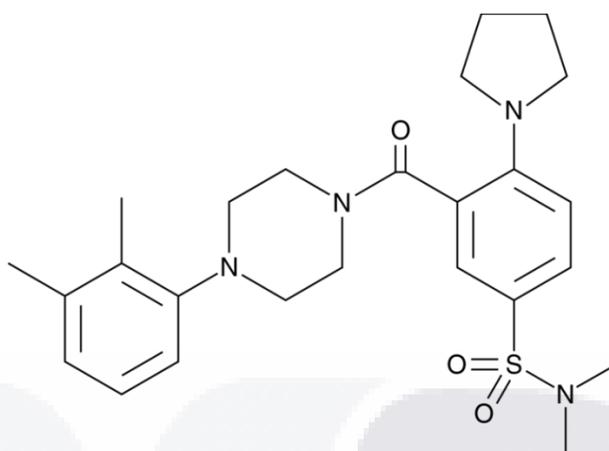


Figura 24. Estructura molecular del ML-184

(<https://www.caymanchem.com/product/17641/ml-184> Consultado:15/09/2021).

La LPI (Figura 25) es un lípido bioactivo generado por la familia de lipasas la fosfolipasa A (PLA) que se cree que juega un papel importante en varios procesos fisiológicos y patológicos (Piñeiro y Falasca, 2012). Se ha propuesto al LPI potencial agonista endógeno del receptor huérfano GPR55 (Oka et. al., 2007). Se disolvió en DMSO al momento de trabajar con él en el laboratorio.

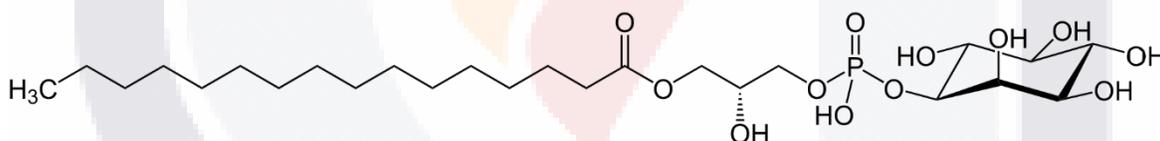


Figura 25. Estructura molecular del LPI
(Piñeiro y Falasca 2012).

La PEA (Figura 26) se obtuvo a través de Sigma Aldrich®, es un mediador lipídico utilizado en la clínica por sus propiedades neuroprotectoras, antineuroinflamatorias y analgésicas (Re et. al., 2007; Esposito y Cuzzocrea, 2013; Mattace-Raso et. al., 2014; Skaper et. al., 2015; Iannotti et. al., 2016), y se disolvió en DMSO al momento de trabajar con él en el laboratorio, este compuesto se une al receptor alfa activado por proliferador de peroxisoma nuclear (PPAR- α), el receptor transitorio potencial vanilloide 1 (TRPV-1) y los GPCR huérfanos GPR55 y GPR119 (Godlewski et. al., 2009; Hansen, 2010).

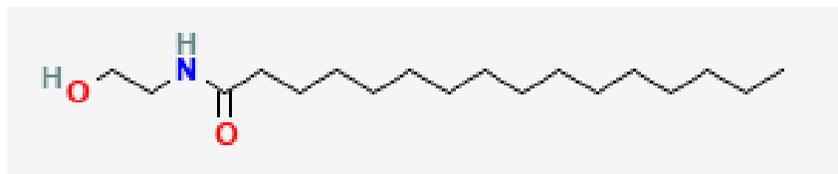


Figura 26. Estructura molecular del PEA

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Palmitoylethanolamide> Consultado: 14/08/2021).

La Iodoxamida (Figura 27) es un fármaco antiinflamatorio estabilizador de mastocitos. Se usa en soluciones oftálmicas para tratar la inflamación ocular (queratitis o conjuntivitis) causada por la respuesta alérgica. La Iodoxamida inhibe la desgranulación de los mastocitos, lo que reduce la liberación de histamina, leucotrienos y otros mediadores inflamatorios implicados en las reacciones de hipersensibilidad. También inhibe la quimiotaxis de eosinófilos (Park et. al., 2018). Se disolvió DMSO al momento de trabajar con él en el laboratorio.

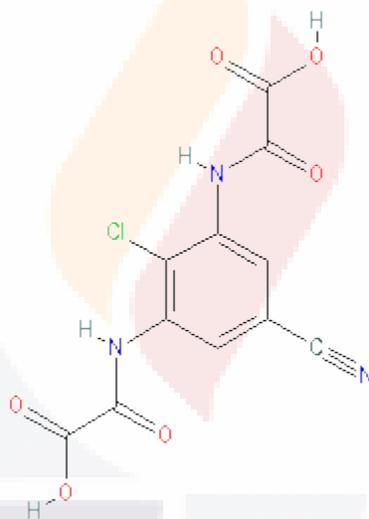


Figura 27. Estructura química de la Iodoxamida

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Iodoxamide> Consultado:23/05/2021).

ML-194 (CID9581011) es un antagonista de GPR35. ML-194 (Figura 28) penetra más la membrana y es más potente que los antagonistas sintéticos anteriores, con una CI_{50} de 160 nM. También se descubrió que ML-194 rescata la expresión de la superficie celular de los receptores GPR35 mutantes, probablemente actuando como un chaperón farmacológico para alterar la estructura del receptor mal plegado

(<https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/product/sigma/sml0423> Consultado: 10/05/2022). Se disolvió en DMSO al momento de trabajar con él en el laboratorio.

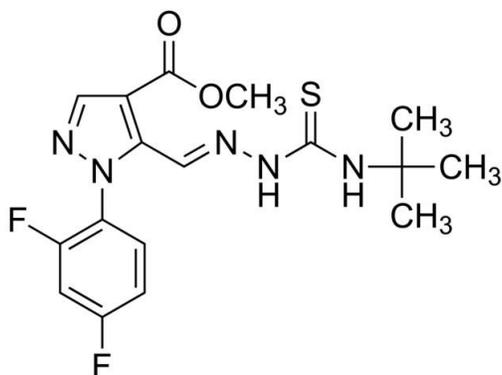


Figura 28. Estructura química de ML-194

(<https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/product/sigma/sml0423> Consultado: 10/05/2022).

BMS-986034 (Figura 29) es una agonista del GPR119 (McNamara et. al., 2017). Se disolvió en DMSO al momento de trabajar con él en el laboratorio.

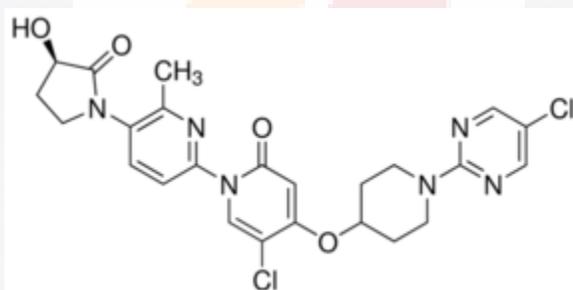


Figura 29. Estructura química del BMS-986034

(<http://www.abmole.com/products/bms-986034.html> Consultado: 30/09/2021).

4. Justificación

Alrededor del mundo aumenta el número de personas en busca de ayuda para los problemas de memoria, la demencia, enfermedades y adicciones a sustancias, las cuales se hacen presente en la población en general repercutiendo en varios trastornos neurodegenerativos.

A nivel mundial la demencia afecta a unos 50 millones de personas, de las cuales, alrededor del 60% viven en países con problemas socioeconómicos. Derivado de este trastorno

mental se registran aproximadamente 10 millones de nuevos casos. Es un trastorno progresivo y neurodegenerativo que afecta principalmente a la población senecta y se considera responsable del 60% de todas las demencias en personas de 65 años o más (OMS, 2020). En México, se ha reportado poco más de 800,000 personas con demencia, de las cuales las mujeres (64%) son las que mayormente sufren este padecimiento ya que, en general, tienen una vida más larga (World Alzheimer Report, 2019).

La enfermedad de Alzheimer es una de las demencias más comunes que se presenta en la población y al igual que muchas otras demencias está relacionado con la edad. Es de naturaleza debilitante, esta es considerada como una enfermedad de afectación social y económica en la sociedad. Actualmente no existe una cura adecuada para el trastorno y muchos de los tratamientos disponibles solo han podido retrasar la progresión de la enfermedad o proporcionar alivio sintomático durante un corto período de tiempo (Gross, 2010).

Las personas con problemas de memoria, con alteración de la concentración, que dejan de lado los objetos, etc., son hallazgos comunes en adultos con deterioro de la memoria, y debido a que la causa no se identifica en la mayoría de los casos el deterioro de memoria tiene diferentes etiologías que incluyen estar en situaciones estresantes, sentirse mal, sentirse deprimido (Blackburn et. al., 2014; Ginó et. al., 2010; Zuniga et. al., 2016), exposición a contaminación atmosférica y acústica (Sunyer et. al., 2015; Tzivian et. al., 2015), los efectos secundarios de algunas drogas y el abuso de sustancias (Terrett et. al., 2014; Thierer, 2001), estilo de vida como el consumo de tabaco, alta consumo de alcohol (Hagger-Johnson et. al., 2013; Nooyens et. al., 2008), baja actividad física (Blondell et. al., 2014) y dieta alta en grasas (Boitard et. al., 2014).

Las enfermedades cognitivas han recibido menos atención en la investigación que otros síntomas funcionales, a pesar de lo anterior, se está desarrollando el interés en el campo. Sin embargo, la gama completa del mecanismo neuroanatómico, neurobiológico, neurofisiológico y psicológico de esta compleja capacidad sigue siendo desconocida y representa un desafío para los psicólogos y neurocientíficos que intentan explicarlo. Por tanto, existe la necesidad de un enfoque para el tratamiento de estas enfermedades.

La adicción a la nicotina, en forma de cigarrillos, causa más daño a la salud pública que cualquier otra droga. En todo el mundo, hay aproximadamente mil millones de fumadores (Drope et. al., 2018). En México se estima que aproximadamente mueren 43 mil personas anualmente debido a enfermedades relacionadas al tabaquismo, es decir, un 8.4% del total de las muertes del país (INEGI, 2017).

La adicción es un problema grave de salud pública que genera un exceso de morbilidad, mortalidad y una carga económica considerable (Instituto Nacional sobre el Abuso de Drogas, 2015). La adicción es resultante de una intoxicación recurrente por drogas, siendo esta una enfermedad regulada por factores genéticos, de desarrollo, experienciales y ambientales, que ha provocado directa e indirectamente miles de muertes, ya sea por sobredosis, accidentes, suicidios, narcotráfico, etc., además de provocar problemas económicos, sociales, laborales y familiares al individuo que llega a caer en la adicción de alguna sustancia. Siendo una problemática a nivel mundial, las Naciones han tomado medidas para su regulación, prohibiendo algunos de ellos para su uso recreativo y dando un gran debate dentro de la población sobre su posible uso. En México ha sido tema que ha tomado gran relevancia debido al aumento del narcotráfico que ha tenido los últimos años. El aprendizaje, la memoria y la adicción a las drogas están modulados por los mismos factores neurotróficos, comparten ciertas cascadas de señalización intracelular y dependen de la activación del factor de transcripción CREB. Están asociados con adaptaciones similares en la morfología neuronal, como la formación o pérdida de espinas dendríticas. Aún más convincente, se acompañan de alteraciones en la plasticidad neural en las sinapsis glutamatérgicas (Nestler 2001a).

El DSM-5 enumera en particular a 10 tipos de adicciones (Usaremos la palabra adicción como trastorno por consumo de alcohol o drogas o dependencia porque reconocemos que los comportamientos de tipo adictivo pueden ocurrir con una variedad de productos y eventos además del alcohol y las drogas) dentro de esta categoría (alcohol, cafeína, cannabis, alucinógenos, inhalantes, opioides, sedantes, hipnóticos y ansiolíticos; estimulantes y tabaco). (American Psychiatric Association, 2013). Reconociendo que la adicción es el resultado de las decisiones que toman las personas con ese trastorno, el campo de la ciencia de la adicción, a partir del siglo XXI, ha centrado cada vez más su atención en los procesos de toma de decisiones.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

En los últimos años, se ha prestado especial atención al SEC. El SEC a través de los receptores CB, y sus interacciones con una multitud de neurotransmisores y receptores están directa e indirectamente involucrados en muchas funciones fisiológicas y físicas (Ameri, 2009). En los últimos años, una gran cantidad de estudios se centraron en los procesos de aprendizaje y memoria. Las sustancias que ejercen su acción a través del SEC, son capaces tanto de alterar como de mejorar las diferentes fases de la formación de la memoria a través de mecanismos directos e indirectos, también múltiples estudios han reconocido el papel crucial del SEC en el sustrato neurobiológico subyacente a la adicción a las drogas

Actualmente el papel que juega el SEC en el aprendizaje, la memoria y las adicciones siguen siendo estudiados y analizados. Sin embargo, muchos de los aspectos siguen siendo un misterio. Por lo tanto, son obligatorios y necesarios más estudios tanto para proporcionar conocimiento de los mecanismos generales de aprendizaje y adicciones, como para desarrollar nuevas herramientas terapéuticas para abordar enfermedades caracterizadas por un procesamiento y almacenamiento inadecuado de la información en el cerebro, y de los problemas adictivos que afecta a un número significativo de personas en la sociedad actual, ya que, actualmente los tratamientos farmacológicos actuales para casi todos los trastornos cognitivos son deficientes y poco selectivos para atender las alteraciones celulares correspondientes a cada patología. El SEC ciertamente constituye una excelente fuente de nuevos posibles objetivos terapéuticos para múltiples enfermedades, incluida la adicción a las drogas, y debido a la proximidad filogenética de GPR35, GPR55 y GPR119 a los receptores de cannabinoides y su expresión en el cerebro en áreas que competen a ciertos trastornos cognitivos estos podrían ser blancos terapéuticos potenciales para el tratamiento de estos, sin embargo, para ello es necesario descifrar sus funciones y su posible participación en dichos trastornos.

Por lo anterior la presente investigación se enfocará en el estudio del receptor huérfano GPR35 para observar su posible participación en los mecanismos de motivación de búsqueda, en el receptor huérfano GPR55 un posible candidato a receptor cannabinoide, en su participación en los mecanismo de consolidación de memoria de procedimiento en el estriado ventral y para explorar su posible participación dentro de los efectos reforzantes de las sustancias adictivas, enfocado en el efecto reforzante de la nicotina, y analizar la

posible participación del receptor huérfano GPR119 en los mecanismo de memoria de procedimiento en núcleo estriado dorsal.

5. Hipótesis

- La activación del receptor GPR35 en el estriado ventral afectará la motivación de búsqueda.
- El bloqueo del receptor GPR55 afectará el proceso de consolidación de la memoria de procedimiento en la rata.
- La activación y bloqueo del receptor GPR55 intracerebroventricular (i.c.v.) afectará los efectos reforzantes de la nicotina en la rata.
- La activación del GPR119 en núcleo estriado dorsal afectará la memoria de procedimiento en la rata.

6. Objetivos

6.1 Objetivo general

Caracterizar los efectos farmacológicos del GPR35, GPR55 y GPR119 sobre aprendizaje, la memoria y la adicción a sustancias.

6.2 Objetivos particulares

- Caracterizar el efecto farmacológico del receptor huérfano GPR55 en estriado dorsal sobre el aprendizaje y memoria de procedimiento.
- Analizar la posible participación del receptor huérfano GPR55 en SNC sobre los efectos reforzantes de la nicotina.
- Estudiar si el receptor huérfano GPR35 del estriado ventral participa en los procesos del sistema de recompensa del cerebro.
- Caracterizar el efecto farmacológico del receptor huérfano GPR119 del estriado dorsal sobre el aprendizaje y memoria de procedimiento.

7. Materiales Y Métodos

7.1 Animales

Se utilizó como modelo animal 153 ratas Wistar macho (250-300 g) del bioterio del Centro de Ciencias Básicas en el Edificio 202, planta baja, de la Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA). Antes de realizar cualquier manipulación de los animales, se le expone a un periodo de 7 días de habituación a las condiciones de nuestro bioterio. Todos los protocolos de experimentación y manipulación fueron aprobados por nuestro Comité de Ética Institucional (CE-UAA) y siguieron la Guía Mexicana para el Cuidado Animal (NOM-062-ZOO-1999) en estricta sintonía con la guía Animal Research: Reporting *In Vivo* Experiments (ARRIVE guide) (McGrath et. al., 2010) y la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio en los EE. UU. (Bayne, 1996). Los animales se mantuvieron bajo un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas (encendido de luces a las 7:00 am), con libre acceso a agua y alimento.

7.2 Métodos generales

7.2.1 Cirugía estereotáctica

Luego del periodo de habituación al bioterio, se realizó la cirugía estereotáctica para la implantación bilateral de cánulas de acero inoxidable de aproximadamente 1cm de largo, con base en Paxinos y Watson (2007), 43 ratas en el estriado dorsal lateral (A0.2, L3.0 y V3.0), 60 ratas en estriado ventral (P1.28, L3.0 y V7.0) y 100 ratas lateralmente en ventrículo lateral (A1.72, L2.6 y V3.4). Los animales fueron profundamente anestesiados con Zoletil® 50 35 mg + Xilazina 8 mg por kilogramo de peso del animal. Luego de la cirugía, los animales estuvieron en una fase de recuperación post-cirugía de, al menos, 7 días (Vázquez-León et. al., 2020; Vázquez-León et. al., 2021).

7.2.2 Drogas y microinyecciones

Los fármacos utilizados en el presente estudio se obtuvieron de Sigma Aldrich® (Saint Louis, Missouri, EE. UU.). Las microinyecciones se realizaron durante un período de 60 s mediante una bomba de jeringa (Sage Instruments, modelo 355); la cánula de inyección se dejó en reposo durante otros 60 s para evitar el reflujo del fármaco. Lodoxamida, 1-(2,4-difluorofenil)-5-[[2-[[[(1,1-dimetiletíl)amino]tioxometil]hidrazinilideno]metil]-1H-pirazol-4-carboxílico éster metílico del ácido, 5-[(de metilo E)-(terc-butylcarbamoilhidrazinilideno)metil]-1-(2,4-difluorofenil)pirazol-4-carboxilato (ML194), L-

lisofofatidilinositol (LPI), palmitoiletanolamida (PEA), 3-[[4-(2,3-Dimetilfenil)-1-piperazinil]carbonil]-N,N-dimetil-4-(1-pirrolidinil)bencenosulfonamida (ML184) y N-[4-[[3,4-dimetil-5 isoxazolil]amino]sulfonil]fenil]-6,8-dimetil-2-(2-piridinil)-4-quinolinacarboxamida (ML193) y 5-cloro-4-[[1-(5-cloro-2-pirimidinil)-4-piperidinil]oxi]-5'-[(3R)-3-hidroxi-2-oxo-1-pirrolidinil]-6'-metil-[1(2H),2'-bipiridin]-2-ona, (R)-5-cloro-4-(1-(5-cloropirimidin-2-il)piperidin-4-iloxi)-1-(5-(3-hidroxi-2-oxopirrolidin-1-il)-6-metilpiridin-2-il)piridin-2(1H)-ona (BMS-986034) se disolvieron en dimetilsulfóxido (DMSO) al 10%. Se prepararon soluciones frescas cada día experimental y se consideró la base libre para calcular las concentraciones reportadas.

Las ratas en el CPP de GPR55 se dividieron en dos grupos: el grupo 1 (n=50) recibió inyecciones subcutáneas (s.c.) de solución salina (s.s.) y bloqueadas 2 (n=50) recibidas s.c. inyecciones de nicotina (0,03 mg/kg). Antes de cada inyección de nicotina (en el grupo de nicotina) o emparejado-s.s. (en el grupo salino), los animales recibieron los pretratamientos (1 µl; i.c.v.): (i) vehículo (VEH; 10% DMSO); (ii) LPI (1 nmol); (iii) PEA (1 nmol); ML184 (1nmol) o (iv) ML193 (1 nmol). Por lo tanto, el grupo de s.s. tenía como objetivo analizar los efectos per se de la i.c.v. pretratamientos, mientras que el grupo de nicotina tenía como objetivo estudiar los efectos de la i.c.v. pretratamientos sobre las acciones de refuerzo de la nicotina en el paradigma CPP. En el presente estudio piloto, las dosis de los tratamientos se seleccionaron a priori en 1 nmol, que se ha informado como una dosis biológicamente activa en paradigmas cognitivos anteriores con i.c.v. inyecciones de LPI, ML193 y PEA (D'Agostino et. al., 2007; Vázquez-León et. al., 2021). Por otro lado, como no hay estudios previos que involucren i.c.v. Se encontraron inyecciones de ML184, decidimos usar también 1 nmol para las comparaciones.

7.2.3 Laberinto en forma de T

El laberinto en T se usa para evaluar la capacidad cognitiva de los roedores se evalúa la memoria de trabajo del roedor al ir completando el laberinto en menor tiempo. El laberinto en T es un aparato cerrado en forma de T colocado horizontalmente. Los animales se inician desde la base de la T y se les permite elegir uno de los brazos para colocar los premios. Esta tendencia puede reforzarse haciendo que el animal tenga hambre y recompensándolo con un alimento preferido. Cada ensayo debe completarse en menos de 2 minutos (Deacon y Rawlins, 2006).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Se forzó al animal a bajar de peso aproximadamente un 10% de su peso previo, permitiendo la ingestión de únicamente 10-12 g de alimento estándar por día durante 7 días, con acceso libre al agua, con la finalidad de realizarles la prueba de laberinto en forma de T para evaluar la memoria operativa. Durante el periodo de habituación se enseñó a la rata que el alimento es la recompensa, entre el cuarto y quinto día se colocó a la rata en el laberinto T durante 15 min, dejando alimento (recompensa) esparcido en todo el laberinto (Deacon y Rawlins, 2006).

Pasado los 7 días de restricción alimenticia parcial se pesó el animal para corroborar la pérdida de un 10% del peso aproximadamente. Se procedió ingresar al animal al laberinto en forma de T encerrando al animal en la parte inferior del laberinto durante 10s y dejando el alimento recompensa ya sea del lado izquierdo o derecho, después se abrió el compartimiento dejando al animal explorar durante 2 min, pasado ese tiempo si el animal aún no ha resuelto la prueba, es decir, haber llegado al alimento recompensa, se procedió a guiar al animal hacia la meta tomándole de forma delicada la cola, y se dejó que comiera el alimento. Al finalizar se tomó nota de los errores cometidos por el animal y el tiempo que tardó en resolverlo, se limpió el laberinto con alcohol y se procedió a realizar de nuevo la prueba, 10 veces por sesión, durante 5 sesiones por 5 días, finalizada cada sesión laberinto en forma de T se le administró el tratamiento correspondiente al animal (Deacon y Rawlins, 2006).

7.2.4 Prueba de preferencia de lugar condicionada

EL CPP es un comportamiento aprendido que se muestra en muchos vertebrados, incluidos los humanos. El CPP ocurre cuando un sujeto llega a preferir un lugar más que otros porque la ubicación preferida se ha emparejado previamente con eventos gratificantes. El paradigma CPP se utiliza ampliamente para explorar los efectos reforzantes de los estímulos naturales y farmacológicos, incluidas las drogas de adicción. Existe una suposición general de que una preferencia de lugar adquirida se basa en la "motivación de incentivo" derivada del condicionamiento clásico (Huston et. al., 2013).

Utilizamos un aparato CPP que consta de dos grandes cámaras laterales (41,5 cm X 32,5 cm X 30,5 cm) y una cámara intermedia entre ambos compartimentos (27,5 cm X 15 cm X 12,5 cm). Las dos cámaras laterales diferían en las texturas del suelo (grueso frente a fino) y señales somatosensoriales (negro frente a blanco). El paradigma CPP constaba de tres

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

fases diferentes: pre-acondicionamiento con una duración de 3 días continuos, acondicionamiento con una duración de 5 días continuos y el día de la prueba (Fig. 1) Los animales fueron tratados en la cámara opuesta preferida durante la fase de pre-acondicionamiento. La diferencia entre el tiempo pasado en el compartimento emparejado con el fármaco durante el día de la prueba y el tiempo pasado en el compartimento emparejado con el fármaco durante el pre-acondicionamiento (cambio de preferencia lateral) se tomó como un grado de condicionamiento. Por lo tanto, un aumento estadísticamente significativo en el tiempo de permanencia en la cámara emparejada con fármacos sugiere un efecto acondicionador inducido por los tratamientos como se informó anteriormente (Liu et. al., 2019).

La línea de base y la preferencia de compartimento se determinaron colocando a cada animal en el pasillo central del aparato de CPP y luego retirando las barreras para permitir el libre acceso a todo el aparato durante 15 min en los días 1 a 3. Se registró la actividad de las ratas y se el tiempo pasado en la cámara no preferida (es decir, la cámara donde los animales pasaron menos tiempo) (Sun et. al., 2018).

Esta fase consistió en 5 días de sesiones de acondicionamiento. Cinco minutos antes de realizar cada sesión de compartimento emparejado, los pretratamientos VEH (DMSO al 10 %), LPI (1 nmol), PEA (1 nmol) o ML-193 (1 nmol) se microinyectaron i.c.v a través de las cánulas en el ventrículo lateral. El acondicionamiento se realizó dos veces al día (7:00 am y 11:00 am) 4 horas entre sesiones con sesiones de 15 min donde se inyectó 1 ml/kg por vía subcutánea con s.s. (compartimento no apareado) o 0,03 mg/kg nicotina (compartimento emparejado). El acceso a otros compartimentos estuvo bloqueado durante esta fase.

Al día siguiente de la fase de acondicionamiento, se llevó a cabo la fase de prueba. Se retiraron las puertas de guillotina y las ratas tuvieron acceso a todo el aparato. Se registró el tiempo que cada rata pasó en los compartimentos durante un período de 15 minutos. La diferencia entre el tiempo pasado en el compartimento emparejado con el fármaco durante el día de la prueba y el tiempo pasado en el compartimento emparejado con el fármaco durante el pre-acondicionamiento (cambio de preferencia lateral), el tiempo en movimiento, la actividad vertical, el número de entradas a las cámaras apareadas, se evaluó también, el tiempo y frecuencia de acicalamiento cefálico, ordenado y total.

7.2.5 Ruedas de actividad física voluntaria

Se evaluó la actividad locomotora a través de las ruedas de actividad física, debido a que, la actividad de correr con ruedas comparte muchas características neuroquímicas y conductuales con estados de recompensa inducidos por fármacos, a través de la modulación de la actividad neuronal tegmental estriatal y ventral (Werme et. al., 2000; Lett et. al., 2001), esto debido a que los altos niveles de ejercicio voluntario pueden considerarse un comportamiento que depende de una recompensa por actividad física, y este comportamiento también depende de los procesos de control locomotor (Garland et. al., 2011; Lightfoot et. al., 2018). Se ha encontrado que la plasticidad cerebral regional molecular, celular y vascular (Gibbons et. al., 2014; Nixon et. al., 2015; Trapnell et. al., 2009) y la neuromorfología (Trapnell et. al., 2012), que involucran la CPF medial, el hipocampo, el cuerpo estriado y la amígdala, están implicadas tanto en conductas adictivas (Robinson et. al., 2010) como en la búsqueda de la actividad física (Robinson y Oshlack, 2010).

Se han informado varios efectos del uso a largo plazo de drogas adictivas y las moléculas clave, por ejemplo, Δ FosB, que es un componente del factor de transcripción AP1, (Nestler 2001b), y el neuropéptido opioide dinorfina (Werme et. al., 2000; Lindholm et. al., 2000) aumentan en el cerebro vías de recompensa y se ha observado que estas moléculas están aumentadas en las mismas regiones del cerebro en ratas que han tenido acceso a ruedas y que han desarrollado un alto nivel de carrera diaria (Werme et. al., 2000; Werme et. al., 2002). Estos hallazgos implican que el correr de las ruedas tiene un efecto gratificante (Sherwin, 1998).

Se colocaron los animales en una jaula con una rueda de entrenamiento de 34.5 cm de diámetro y un contador automatizado mediante imanes. Se les deja previamente antes de la experimentación correr libremente por un periodo de 5 días para su adaptación en la jaula. Pasado ese periodo se les deja correr libremente por un periodo de 5 días contabilizando el número de vueltas en la rueda realizada durante un periodo de 24hrs.

Posteriormente se les administrara 1 μ l del fármaco (ML-193 o PEA) a diferentes concentraciones (ML-193: 0.01nmol, 0.1nmol, 1nmol; y PEA: 0.1nmol, 1nmol, 10nmol) por día al animal 5 minutos previamente para la de acción del fármaco se pasan a la jaula por

un tiempo de 24hrs durante 5 días basándose en un cuadrado latino para el orden de administración del fármaco al animal.

7.2.6 Prueba de campo abierto

Para evaluar la actividad locomotora se lleva a las ratas desde su jaula a la prueba de campo abierto, se les deja a las ratas que se aclimaten en el aparato por un mínimo de 30 minutos antes de comenzar la prueba. Pasado ese tiempo se retira la rata a la jaula agarrando suavemente su cola y colocándolo en el centro del campo abierto mientras se graba para rastrear el movimiento que realice la rata. Es normal que la rata se mueva inmediatamente hacia las paredes del laberinto. Se le permitirá el movimiento libre e ininterrumpido de la rata a través del cuadrante respectivo del laberinto durante un período de 15 minutos durante el cual será grabado en todo momento. Al final del período de prueba, se levanta suavemente a la rata, sacándolo del laberinto y devolviéndolo a su jaula de origen, y se limpiara muy bien con alcohol. Se repetirá el mismo procedimiento con la siguiente rata (Seibenhener y Wooten, 2015).

7.3 Pruebas Estadísticas

Para todas las pruebas, la medida de tendencia central fue la media, mientras que la medida de dispersión fue el error estándar de la media (SEM). Todos los datos mantuvieron una distribución normal. Para las pruebas de CPP se analizaron con un análisis de varianza de dos vías con medidas repetidas (ANOVA-RM de dos vías); mientras que otros comportamientos se analizaron mediante ANOVA de dos vías. Cuando una prueba mostró diferencias significativas, se aplicó una prueba post-hoc de Bonferroni a todas las comparaciones por pares.

Para las pruebas en el laberinto en forma de T, se calculó un índice de respuestas correctas para cada rata (ensayos correctos/ensayos totales). Este índice se analizó para cada estrategia mediante una prueba ANOVA de dos vías (tratamiento × sesión); las diferencias entre tratamientos para cada sesión se evaluaron mediante la prueba post-hoc de Bonferroni solo cuando se detectaron efectos principales e interacciones significativas.

Para las ruedas de actividad física voluntaria se utilizó una prueba ANOVA de una vía. Para todos los experimentos, la significancia estadística se consideró en $P < 0.05$.

8. Resultados

8.1 GPR35

8.1.1 Prueba de preferencia de lugar condicionada

La figura 30A muestra el tiempo empleado en el paradigma CPP en presencia de diferentes concentraciones de lodoxamida inyectadas en el cuerpo estriado intraventral. La concentración de 0.1 nmol de lodoxamida aumentó el tiempo de permanencia en la cámara de acondicionamiento de fármacos durante la prueba [$F(1, 27) = 6,328$, $p = 0,018$] en comparación con el valor inicial, mientras que no se observaron cambios en el tiempo de permanencia en la cámara de acondicionamiento en los grupos de vehículo y 0.056 nmol de lodoxamida ($p > 0,05$; figura 30A).

La Figura 30B muestra los efectos de un antagonista selectivo del receptor GPR35 per se y sobre las acciones de refuerzo de 0.1 nmol de lodoxamida. ML194 per se no modificó el tiempo pasado en la cámara de acondicionamiento durante la prueba en comparación con la línea base. Además, ML194 no logró evitar el incremento del tiempo de permanencia en la cámara de acondicionamiento durante la prueba en los animales que recibieron 0.1 nmol de lodoxamida [$F(1, 18) = 5,198$, $p = 0,035$] (Figura 30B). Además, el tiempo pasado en la cámara de acondicionamiento durante la prueba fue mayor en ML194 (0.3 nmol) + lodoxamida (0.1 nmol) en comparación con ML194 (0.3 nmol) ($P < 0,05$, Figura 30B).

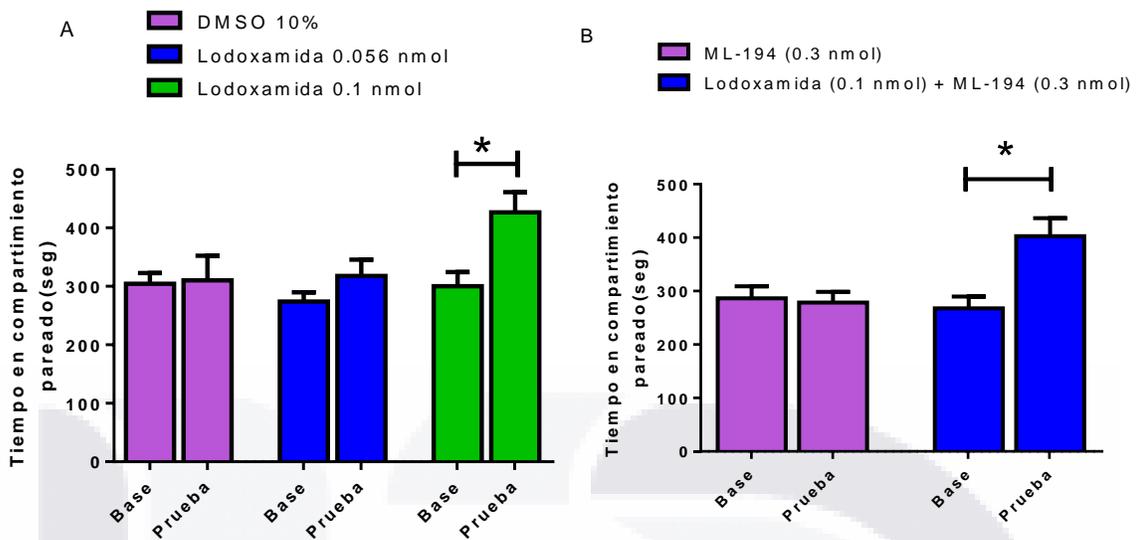


Figura 30. Efectos del vehículo, lodoxomida a diferentes concentraciones (0.056nmol y 0.1nmol), ML-194 (0.3nmol) y una administración conjunta de ML-194 (0.3nmol) con lodoxamida (0.1nmol) (vía intracerebral en el estriado ventral) en el aparato CPP

*, $P < 0,05$ frente a la línea de base correspondiente. Los datos se expresan como la media \pm SEM y se analizan mediante ANOVA de RM de dos vías, $n=10$ en cada tratamiento. Las comparaciones se analizaron mediante una prueba post-hoc de Bonferroni.

8.2 GPR55

8.2.1 Laberinto en Forma de T

La figura 31, muestra que el grupo de control (DMSO 10%) logró más del 80% de las respuestas correctas en la sesión de entrenamiento 2 (11-20 intentos). Los grupos de ML-193 (1 nmol; 5.6nmol) lograron más del 80% de las respuestas correctas en la sesión de entrenamiento 3 (21-30 ensayos), pero no se detectaron efectos significativos de los grupos o la interacción [$F(8, 75) = 0.446, p < 0,05$].

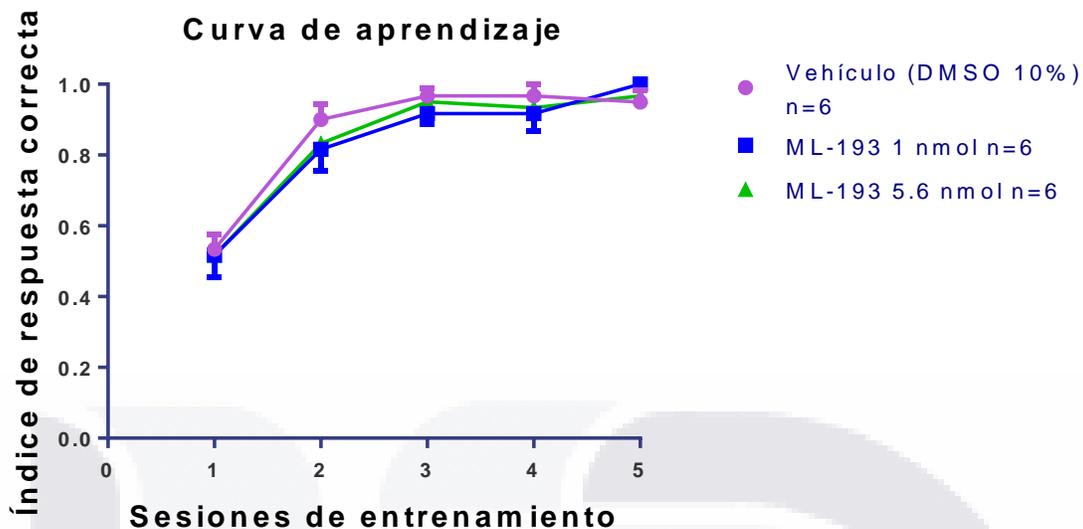


Figura 31. Efecto de los diferentes tratamientos en el rendimiento de las ratas en el laberinto en forma de T

Cada grupo se inyectó bilateralmente en el cuerpo estriado dorsolateral 5 minutos después de cada experimento con: DMSO al 10% representado con una línea rosa, 1 nmol de ML-193 representado de color naranja, y 5.6 nmol de ML-193 representado de color verde, *, $P < 0,05$. Los datos se expresan como la media \pm SEM y se analizan mediante ANOVA de dos vías, $n=6$ cada tratamiento. Las comparaciones se analizaron mediante una prueba post-hoc de Bonferroni.

8.2.2 Prueba de preferencia de lugar condicionada

La figura 32, muestra los efectos reforzantes de la nicotina en el paradigma CPP. La administración s.c. de nicotina (0.03 mg/kg) en ratas pretratadas (i.c.v.) con vehículo (DMSO al 10%) provocó un aumento [$F(1, 81) = 6.220, p < 0,05$] en la preferencia inicial por el compartimento emparejado con nicotina en comparación con el grupo de ratas que fueron tratadas con s.c. solución salina más i.c.v. vehículo (10% DMSO; Figura 32A). La administración de los pretratamientos (i.c.v.) PEA (1 nmol; Figura 32B), LPI (1 nmol; Figura 32C), ML-184 (1 nmol; Figura 32D) y ML-193 (1 nmol; Figura 32E) no demostraron aumentos en la preferencia inicial por el compartimento emparejado de nicotina, sin embargo, el grupo de ratas pretratadas con PEA (1 nmol; Figura 32B), mostro un aumento [$F(1, 81) = 3.730, p = 0,06$] en la preferencia inicial por el compartimento emparejado con solución salina en el grupo de s.s. (es decir, sin nicotina), cosa que no se observó con LPI, ML-184 ni ML-193.

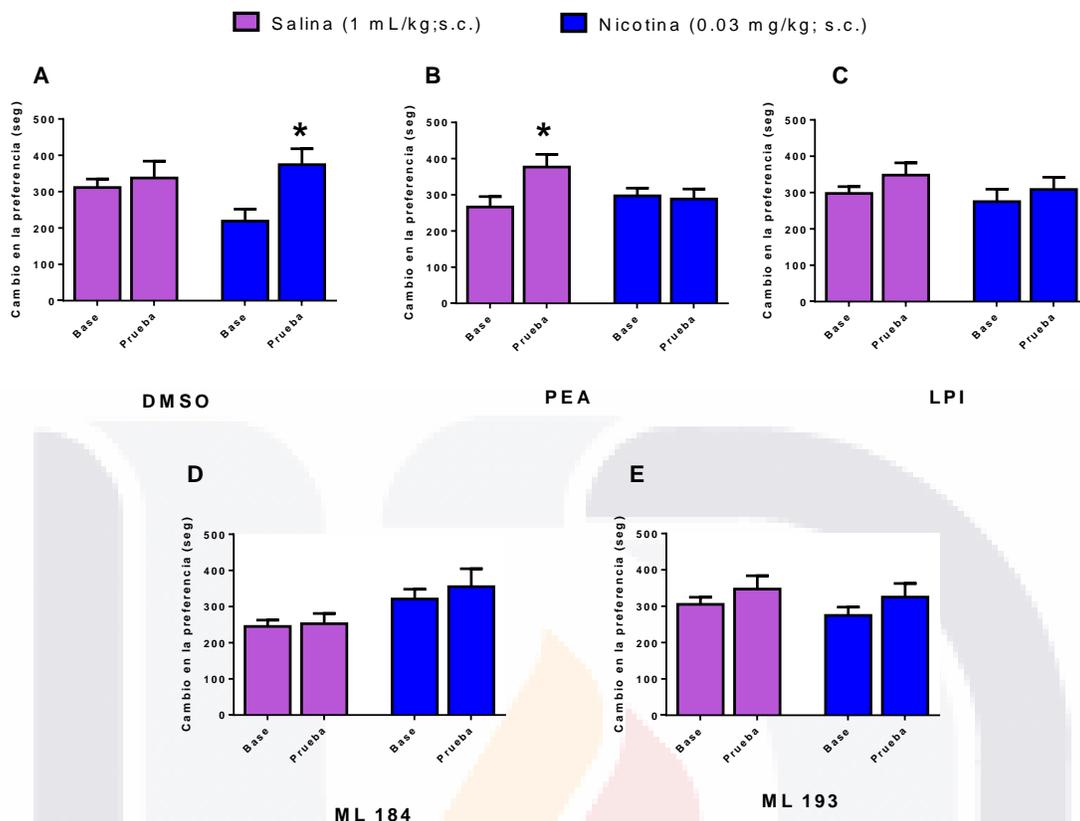


Figura 32. Efecto del vehículo, PEA, LPI, ML184 o ML193 (i.c.v.) sobre los efectos reforzantes de la nicotina (0,03 mg/kg; s.c.) en el paradigma CPP

*, $P < 0,05$ frente a la línea de base correspondiente. Los datos se expresan como la media \pm SEM y se analizan mediante ANOVA de RM de dos vías, $n=20$ en cada tratamiento (es decir, $n=10$ en s.s./ $n=10$ en grupos de nicotina). Las comparaciones se analizaron mediante una prueba post-hoc de Bonferroni.

La figura 33, muestra los efectos posteriores de DMSO, PEA, LPI, ML-184 y ML-193 sobre la actividad motora, la actividad vertical y las entradas a los compartimentos durante la prueba de CPP (sin inyecciones i.c.v. ni s.c.). En el pretratamiento con vehículo, las ratas del grupo de nicotina mostraron más actividad que las de la s.s.; mientras que el pretratamiento con ML184 produjo menor actividad en el grupo de nicotina en comparación con el de s.s. (Figura 33A) [$F(4, 90) = 3.264, p < 0.05$]. Además, el pretratamiento con PEA tuvo una mayor actividad motora en ausencia de nicotina (es decir, en el grupo de s.s.) comparado con el vehículo, mientras que, en el grupo de nicotina, ML184 produjo menos actividad en comparación con el vehículo, PEA y LPI (Figura 33A) [$F(4, 90) = 7.184, p < 0,05$]. No se detectaron diferencias en actividad vertical [$F(3, 72) = 1.365, p = 0.260$] ni entradas a los compartimentos [$F(4, 90) = 2.404, p < 0.05$] (Figura 33B y 33C).

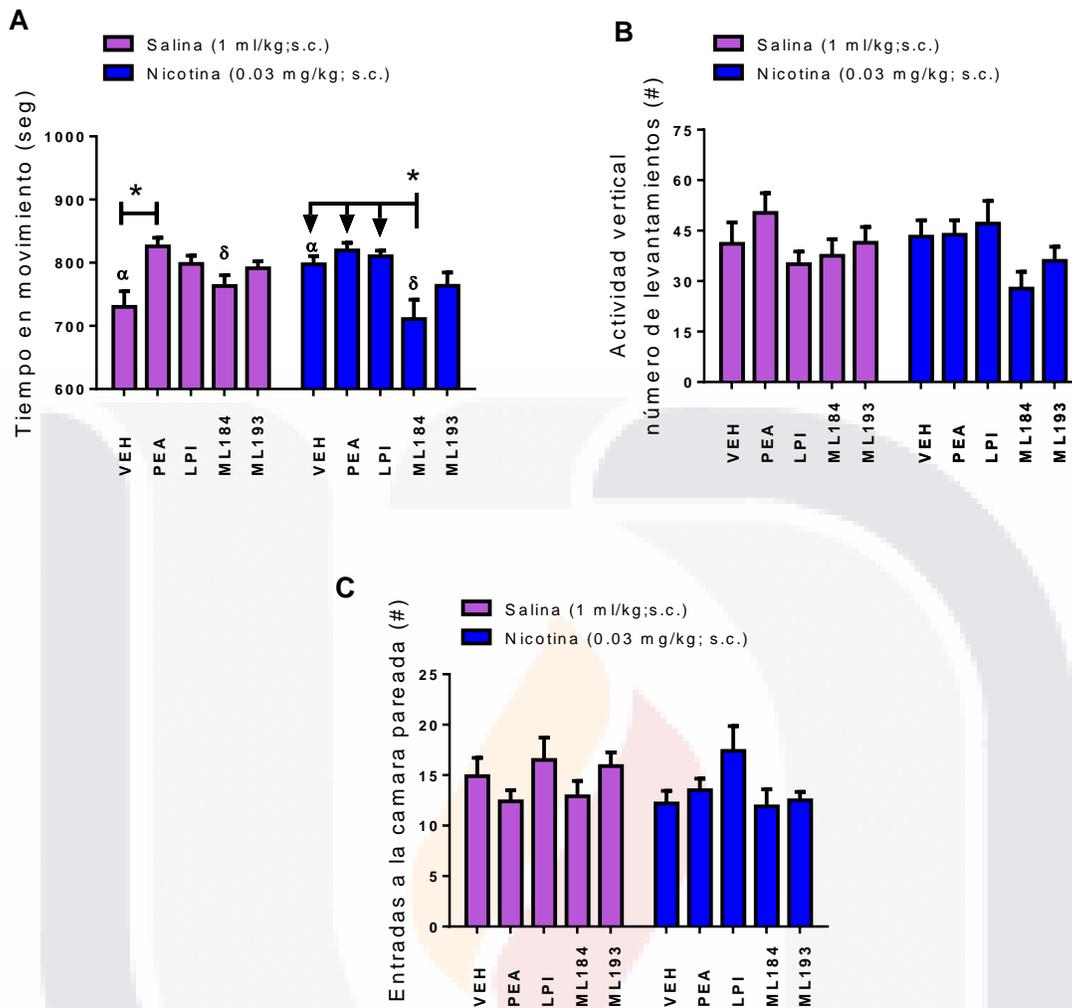


Figura 33. Efecto del vehículo, PEA, LPI, ML184 o ML193 sobre el tiempo de movimiento, actividad vertical y entradas en la cámara pareada en el paradigma CPP-nicotina
*, $P < 0.05$. Los datos se expresan como la media \pm SEM y se analizan mediante ANOVA de dos vías, $n = 20$ cada tratamiento (es decir, $n = 10$ en s.s./ $n = 10$ en grupos de nicotina). Las comparaciones se analizaron mediante una prueba post-hoc de Bonferroni.

En la figura 34, se muestran los animales tratados con vehículo en el grupo de nicotina mostraron menos frecuencia total en el aseo personal en comparación con el grupo de s.s. Además, en presencia de nicotina LPI mostro mayor frecuencia total de aseo personal [$F(4, 90) = 2.967$, $p < 0,05$] (Figura 34C). No se detectaron diferencias en la frecuencia de aseo personal cefálico [$F(4, 90) = 2.269$, $p < 0,05$] y ordenado [$F(4, 90) = 0.864$, $p < 0,05$] (Figura 34A y 34B). También se analizó el tiempo de aseo personal, sin embargo, no se detectó diferencia en el tiempo de aseo cefálico [$F(4, 90) = 1.647$, $p < 0,05$], ordenado [$F(4, 90) =$

0.792, $p < 0,05$] y finalmente los animales tratados con vehículo en el grupo de nicotina mostraron menos tiempo total de aseo personal [F(4, 90) = 3.437, $p < 0,05$] en comparación con el grupo de s.s. y, finalmente, en el grupo de nicotina, LPI produjo un tiempo total de aseo más alto que el vehículo (Figura 34D, 34E y 34F).

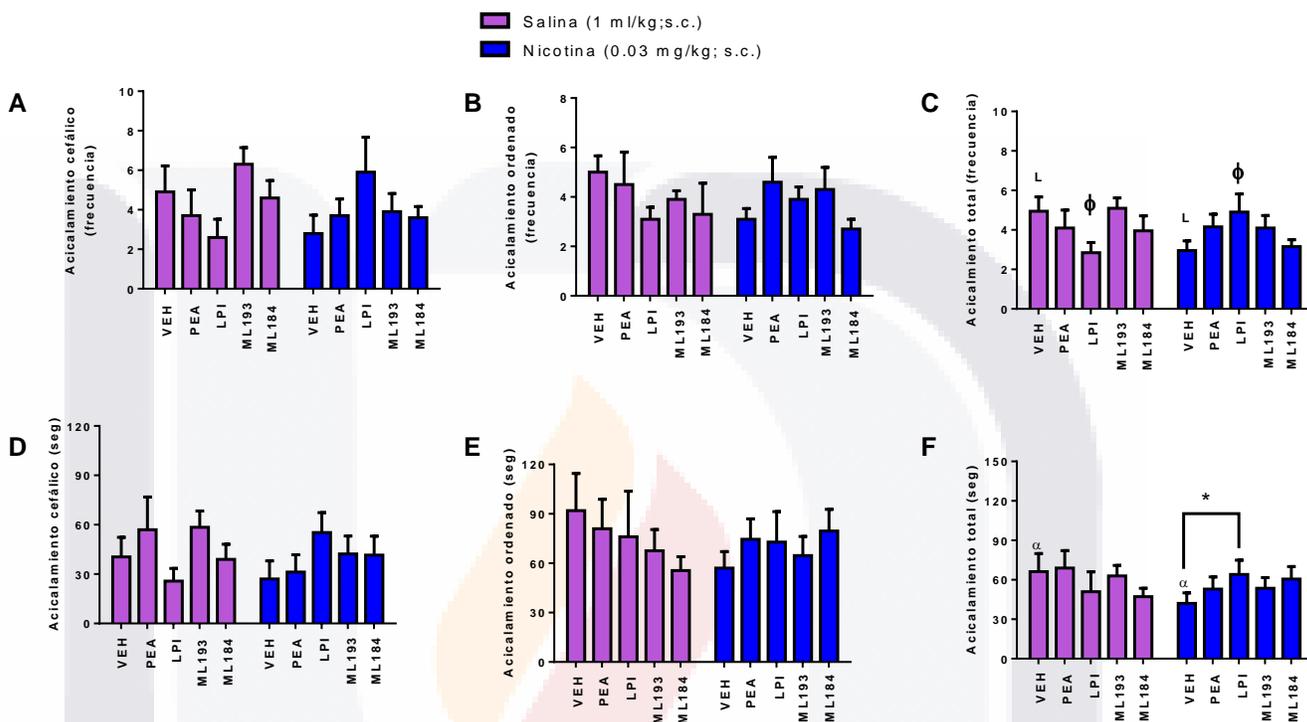


Figura 34. Efecto del vehículo, PEA, LPI, ML184 o ML193 sobre la frecuencia y el tiempo del aseo personal en el paradigma CPP-nicotina

*, $P < 0,05$. Los datos se expresan como la media \pm SEM y se analizan mediante ANOVA de dos vías, $n=20$ cada tratamiento (es decir, $n=10$ en s.s./ $n=10$ en grupos de nicotina). Las comparaciones se analizaron mediante una prueba post-hoc de Bonferroni.

8.2.3 Rueda de actividad física voluntaria

En la figura 35, se evaluó el efecto de GPR55 en la actividad física voluntaria, se introdujeron a los roedores a ruedas de entrenamiento. En la figura 35A, se muestra la actividad física de roedores con un tratamiento (i.c.v.) con DMSO 10% y ML-193 (0.01nmol; 0.1nmol; 1nmol) [F(4, 20) = 1.245, $p < 0,05$], y en la figura 35B, con un tratamiento (i.c.v.) con DMSO 10% y PEA (0.1nmol; 1nmol; 10nmol) [F(4, 28) = 2.471, $p < 0,05$], en ninguno de los grupos se mostró diferencia.

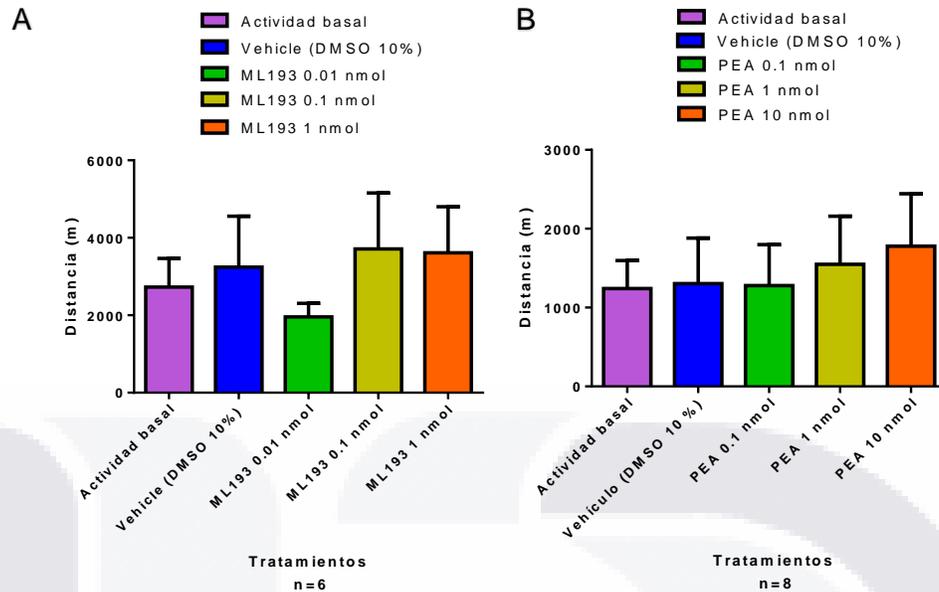


Figura 35. Rueda con actividad física voluntaria en roedores

A) Actividad física voluntaria de roedores bloqueando el GPR55 con el antagonista ML-193 a diferentes concentraciones, incluyendo su actividad basal previo al inicio de tratamientos (n=6), B) Actividad física voluntaria de roedores estimulando el GPR55 con el agonista PEA a diferentes concentraciones, incluyendo su actividad basal previo al inicio de tratamientos (n=8), *, $P < 0,05$. Los datos se expresan como la media \pm SEM y se analizan mediante ANOVA de una vía. Las comparaciones se analizaron mediante una prueba post-hoc de Bonferroni.

8.3 GPR119

8.3.1 Laberinto en forma de T

La figura 36, muestra que el grupo de control (DMSO 10%) y el grupo con BMS-986034 (1nmol) lograron más del 80% de las respuestas correctas en la sesión de entrenamiento 2 (11-20 intentos) y no se detectaron efectos significativos de los grupos o la interacción [$F(4, 45) = 1.208, p < 0,05$].

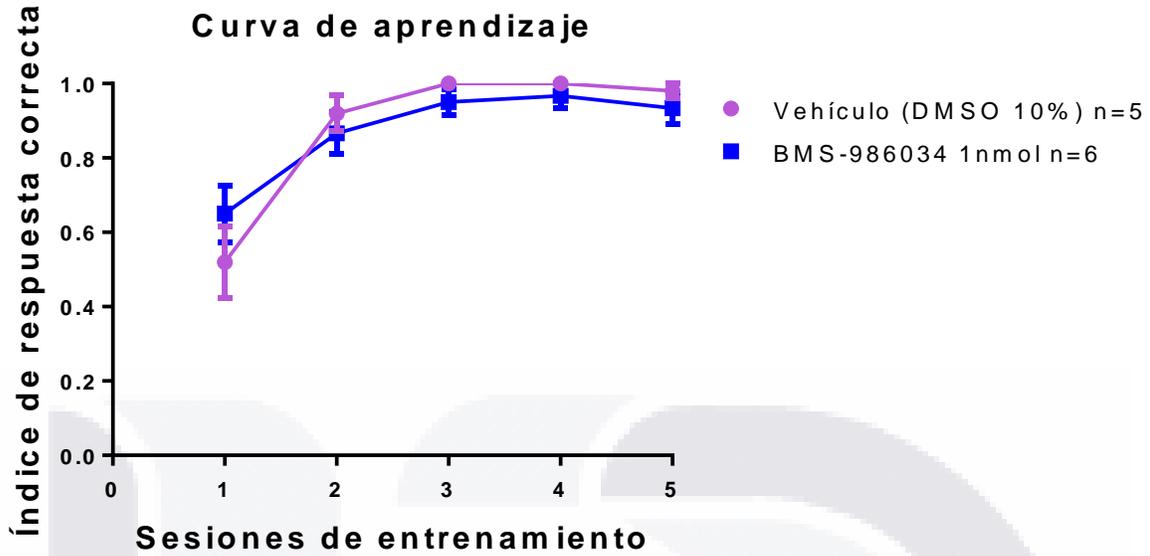


Figura 36. Efecto en las ratas con los tratamientos en el laberinto en forma de T

Cada grupo se inyectó bilateralmente en el cuerpo estriado dorsolateral 5 minutos antes de cada experimento con: DMSO al 10% representado con una línea rosa (n=5), 1nmol de BMS-986034 representado de color amarillo (n=6). *, P<0,05. Los datos se expresan como la media ± SEM y se analizan mediante ANOVA de dos vías. Las comparaciones se analizaron mediante una prueba post-hoc de Bonferroni.

8.3.2 Campo abierto

La figura 37, muestra que no hubo cambio entre el grupo de control (DMSO 10%) y el grupo con BMS-986034 en los diferentes analices que se le realizó, no se encontraron diferencias en el tiempo [F(3, 4) = 2.323, p <0,05] y la distancia que transcurrieron afuera del cuadrante central [F(3, 4) = 1.225, p <0,05], el tiempo [F(4, 3) = 2.071, p <0,05] y la distancia que transcurrieron en el cuadrante central [F(4, 3) = 1.598, p <0,05].

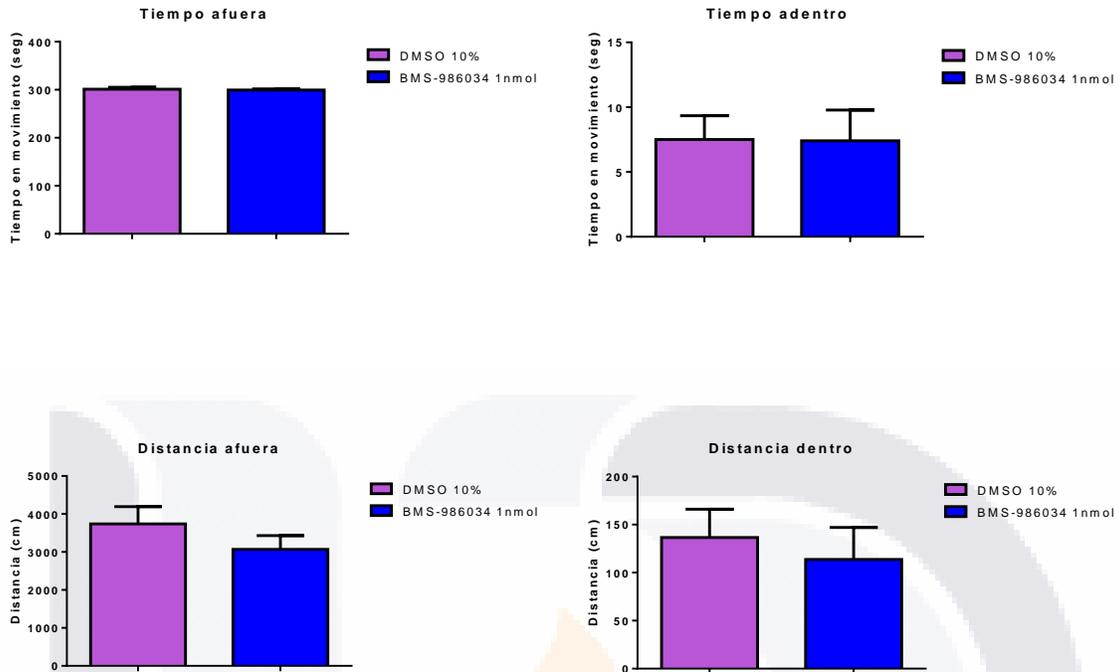


Figura 37. Efectos de distancia (afuera y adentro del cuadrante) y tiempo (afuera y adentro del cuadrante) en la prueba del campo abierto del GPR119

La rata se colocó en el centro de un área cuadrada que estaba fuertemente iluminada en el centro. Se monitorizaron y registraron el tiempo y distancia transcurridos en el cuadrante central y, tiempo y distancia transcurridos fuera del cuadrante central del campo abierto. *, $P < 0,05$. Los datos se expresan como la media \pm SEM y se analizan mediante una prueba T no pareada, $n=9$ cada tratamiento (es decir, $n=4$ grupo control/ $n=5$ grupo BMS-986034).

Otros análisis realizados en la prueba del campo abierto (Figura 38) fueron en la frecuencia de entrada al cuadrante central [$F(4, 3) = 1.209, p < 0,05$], en la frecuencia en el acicalamiento [$F(3, 4) = 1.607, p < 0,05$] y en la distancia total recorrida [$F(3, 4) = 1.197, p < 0,05$] de los cuales tampoco se observó algún cambio entre los grupos de estudio, sin embargo, se observó un aumento en la actividad vertical [$F(3, 4) = 2.630, p < 0,05$] del grupo BMS-986034 comparado con el grupo control.

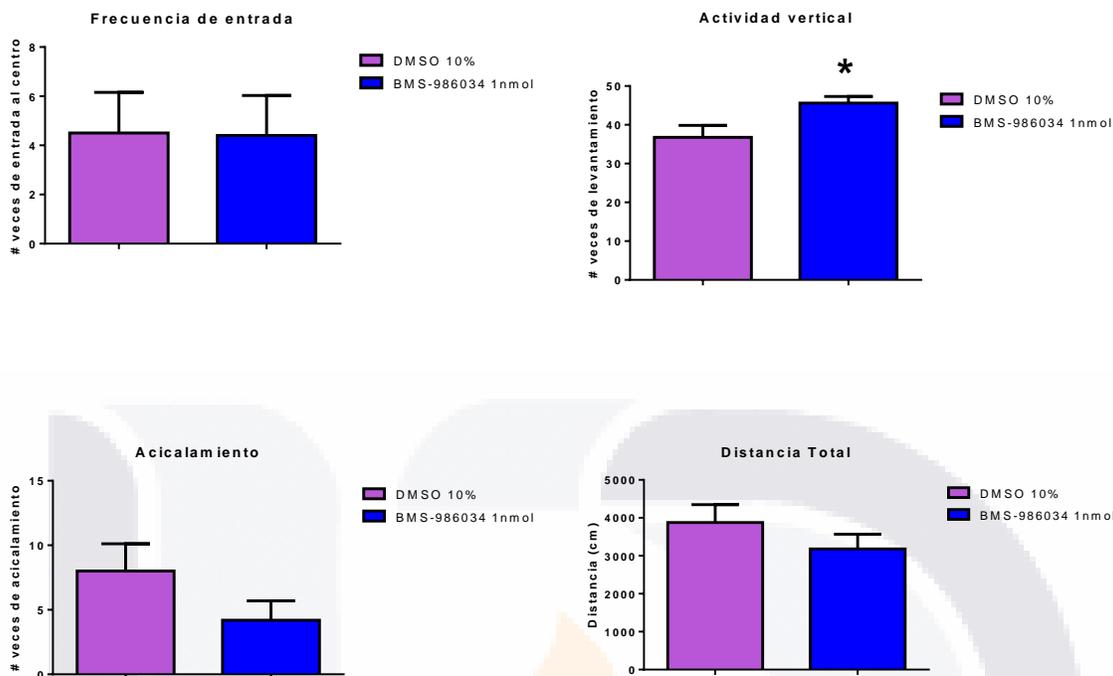


Figura 38. Efectos en la entrada al cuadrante central, frecuencia de acicalamiento, actividad vertical y distancia total de en la prueba del campo abierto del GPR119

La rata se colocó en el centro de un área cuadrada que estaba fuertemente iluminada en el centro. Se monitorizaron y registraron la frecuencia de entrada al cuadrante central, frecuencia de acicalamiento, actividad vertical y distancia total del campo abierto. *, $P < 0,05$. Los datos se expresan como la media \pm SEM y se analizan mediante una prueba T no pareada, $n=9$ cada tratamiento (es decir, $n=4$ grupo control/ $n=5$ grupo BMS-986034).

9. Discusión

9.1 GPR35

9.1.1 Condicionamiento de Preferencia de Lugar

Este receptor se ha observado su expresión en el cerebro de la rata (Taniguchi et. al., 2006; Ohshiro et. al., 2008; Imielinski et. al., 2009) incluido en el NAc la cual es un área cerebral clave en el sistema de recompensa del cerebro, por lo tanto, en las adicciones (Shin et. al., 2017; Nestler, 2004; Dani y De Biasi, 2001; Di Chiara, 2002), además, se cree que el KYNA tiene un papel modulador de la neurotransmisión glutamatérgica y, por lo tanto, potencialmente altera varios aspectos de los procesos adictivos (Morales-Puerto et. al., 2021), KYNA se ha descrito que actúa como ligando del receptor huérfano GPR35 (Wang et. al., 2006), cuya activación puede contribuir a la disminución de los niveles de glutamato

extracelular y, por tanto, a una reducción de la transmisión excitadora (Albuquerque y Schwarcz, 2013). En informes anteriores, las inyecciones sistémicas de KYNA atenuaron los efectos gratificantes de la morfina en el paradigma CPP (Bespalov et. al., 1994). Una dosis baja de KYNA produjo una tendencia a aumentar el tiempo de permanencia en el grupo de medicamentos combinados en el paradigma CPP (no observado con dosis más altas), lo que sugiere un posible efecto de refuerzo del KYNA (Bespalov et. al., 1994). Curiosamente, los efectos preventivos del KYNA sobre las acciones de refuerzo de la morfina se han relacionado con su papel como antagonista de los canales NMDA (Bespalov et. al., 1994). Esta noción puede ser apoyada por el hecho de que el bloqueo de los receptores NMDA impidió tanto los efectos de refuerzo como los aversivos de diversas sustancias en el paradigma CPP (Bespalov, 1996). Ciertamente, se había omitido la evaluación de la participación potencial de GPR35.

Debido a que posiblemente los agonistas de GPR35 puedan actuar para reducir la frecuencia de los potenciales de acción a través de la inhibición de canales de calcio de tipo N, que conducen a una entrada más pequeña de Ca^{2+} , por lo tanto, una reducción en la liberación de neurotransmisores y una reducción en la corriente postsináptica evocada en la célula postsináptica (Guo et. al., 2008), se realizó el experimento utilizando Iodoxamida (agonista del GPR35), que se administra tópicamente para el tratamiento de la queratoconjuntivitis alérgica, a diferentes concentraciones (0.056nmol y 0.1nmol) en el paradigma de CPP ya que originalmente se informó que era el agonista más potente de GPR35 humano y de rata (MacKenzie et. al., 2014), con la finalidad de observar si existía algún cambio en la preferencia del lugar, se logró observar un cambio en la concentración de 0.1nmol aumentando la preferencia de lugar (Figura 30), sin embargo, al realizarse el experimento ahora utilizando ML-194 (1-(2,4-difluorofenil)-5-[[2-[[[(1,1-dimetiletil)amino]tioxometil]hidrazinilideno]metil]-éster metílico del ácido 1H-pirazol-4-carboxílico) un potencial antagonista de GPR35 (Sharmin et. al., 2020; Heynen-Genel et. al., 2011) se observó que no tenía un efecto per se, sin embargo, al usarlo junto con Iodoxamida (0.1nmol), este mantuvo el aumento en la preferencia de lugar (Figura 30), lo que puede sugerir que Iodoxamida tiene un efecto independiente a GPR35, teniendo casos similares por Nam et. al., (2018) y Kim et. al., (2019).

Como GPCR huérfano, la naturaleza de los verdaderos activadores endógenos de GPR35 permanece sin definir. Esto, sin embargo, no refleja una falta de sugerencias, aunque éstas

se han complicado por cuestiones de selectividad de especie, además de si las concentraciones de ligandos sugeridos podrían ser suficientes para activar el receptor *in vivo* y los posibles mecanismos de señalización involucrados por el receptor. El GPR35 quedó nominalmente huérfano cuando se demostró que el metabolito del triptófano, el KYNA, podía activar cada uno de los GPR35 humanos, de rata y de ratón en concentraciones micromolares (Wang et. al., 2006).

Kim et. al., (2019) usaron lodoxamida para evaluar el papel potencial de GPR35 en un modelo de ratón con fibrosis hepática, notaron específicamente la baja potencia de este compuesto en GPR35 de ratón, lo que parece negar su uso. Mackenzie et. al., (2014) no examinaron GPR35 de ratón en este estudio sino, como se señaló anteriormente, el ortólogo de rata. Se deben anticipar los posibles efectos "fuera del objetivo" de muchos ligandos sintéticos poco estudiados, particularmente *in vivo*, y en este caso se pudiera explicar por un perfil farmacológico de ligandos en especies ortólogas apropiadas de un receptor pobremente caracterizado como GPR35 para permitir la validación de oportunidades terapéuticas potenciales, sin embargo, nuestro estudio se realizó con modelo de rata en donde previamente se ha informado de ser un potente agonista de GPR35 rata y es esencialmente equipotente en GPR35 de humano (Mackenzie et. al., 2014), por lo tanto, parece reforzar la idea de que lodoxamida puede tener algún ligando además de GPR35, y esto podría ser un efecto fuera del objetivo, porque el tratamiento conjunto con ML-194 no revirtió el efecto de la lodoxamida (0.1nmol).

9.1.1.1 Mecanismos hipotéticos implicados en las acciones de refuerzo de la lodoxamida

Clínicamente, el uso principal de la lodoxamida en Oftalmología está relacionado con sus acciones antiinflamatorias a través de la disminución de mastocitos, linfocitos T y otras células inmunes (Avunduk et. al., 1998). Además, la lodoxamida ha sido reportada como un fármaco antifibrogénico en un modelo de daño hepático (Kim et. al., 2019). Asimismo, se ha informado que otros agonistas de GPR35, como el ácido pamoico, median acciones neuroprotectoras (Sharmin et. al., 2020). Así, la acción de la lodoxamida va más allá de los receptores GPR35.

Se ha informado ampliamente que los agentes analgésicos y antiinflamatorios pueden producir preferencia de lugar condicionante y otras manifestaciones de acciones de refuerzo (Navratilova et. al., 2013). Por lo tanto, como la lodoxamida puede producir

acciones neuroprotectoras y antiinflamatorias, una idea especulativa lógica es que sus efectos de refuerzo pueden estar relacionados con efectos neuroprotectores y antiinflamatorios. Sin embargo, nuestros animales permanecen de 7 a 10 días en el tiempo de recuperación después de las cirugías, por lo que los procesos inflamatorios posquirúrgicos son poco probables. Como la lodoxamida incluye múltiples vías y modulación en la secreción de diferentes mediadores (histamina, serotonina, adenosina, etc.) (Parenteau y Clark, 1991; MacKenzie et. al., 2014), la participación indirecta de otros compuestos que puedan alterar el sistema dopaminérgico también debe ser considerada y estudiada para encontrar el mecanismo de acción de la lodoxamida.

9.2 GPR55

9.2.1 Laberinto en forma de T

El GPR55 es un GPCR que induce la liberación de calcio intracelular (Lauckner et. al., 2008; Sharir y Abood, 2010), una molécula de señalización clave en la plasticidad neuronal, además, que se encuentra en varias estructuras neurales, incluidas las áreas límbicas como el cuerpo estriado, el prosencéfalo y la CPF (Wu et. al., 2013). Si bien se sabe muy poco sobre la distribución neuroanatómica de GPR55, ni cómo la transmisión de GPR55 puede modular circuitos neuronales específicos, la evidencia reciente ha demostrado la expresión presináptica de GPR55 dentro del hipocampo y el cuerpo estriado (Sylantsev et. al., 2013; Martínez-Pinilla et. al., 2014). El cuerpo estriado expresa los niveles más altos de GPR55 en el cerebro (Ryberg et. al., 2007) así que, es de esperarse que este receptor cumpla ciertas funciones en esta área. Sin embargo, parece que GPR55 podría no estar involucrado en la formación de memoria declarativa normal, sino más bien este podría desempeñar un papel en mejorar el rendimiento de la memoria cuando se activa de manera exógena. Un ejemplo de esto es la aplicación de agonistas de GPR55 antes de una tarea de aprendizaje conductual pudiera mejorar el rendimiento de ésta. De lo cual ya existen reportes que demuestran que al utilizarse un antagonista de GPR55 inyectándolo en el cuerpo estriado, se observó una deficiencia en la memoria de procedimiento utilizando un laberinto en T (Marichal-Cancino et. al., 2016). En cambio, en los resultados no mostró un cambio significativo en el aprendizaje a pesar de utilizar el laberinto en T, y el utilizar un antagonista selectivo para GPR55, sin embargo, existe una diferencia que vale la pena recalcar entre aquel trabajo y el presente, en donde la administración del antagonista en el trabajo de Marichal-Cancino et. al., 2016 es inyectado 5 minutos antes de la realización de la prueba, y en el actual trabajo es inyectado el antagonista 5 minutos después de la

realización de la prueba, lo que uno puede suponer que GPR55 está involucrado en la formación de la memoria. Sin embargo, GPR55 no parece estar involucrado de manera endógena en un grado significativo en la consolidación de la memoria. Estudios han demostrado que la administración periférica de OEA (un agonista de GPR55) (Campolongo et. al., 2009) mejora la consolidación de la memoria en ratas, además, D'Agostino et. al., 2012 demostraron que un tratamiento diario con PEA reduce los déficits de aprendizaje y memoria, a pesar, de que se considera el receptor PPAR- α el principal mecanismo de acción por parte de OEA y PEA, una investigación ha revelado que estos pueden actuar a través de múltiples mecanismos (Iannotti et. al., 2016).

Estudios sobre la neurogénesis en el hipocampo reportan que las NSC expresan GPR55 funcional, además, demostraron con agonistas de GPR55 selectivos que estos aumentan la proliferación de NSC y la neurogénesis temprana tanto *in vitro* como *in vivo*, pero, al irse integrando a los circuitos neuronales las NSC se va reduciendo los niveles de expresión de GPR55 lo que sugiere un papel importante en la formación de la memoria en el hipocampo, sin embargo, este va perdiendo su expresión conforme la memoria se consolida (Hill et. al., 2018), una situación similar a los resultados que hemos obtenido. Si bien, no podemos decir, si el efecto presináptico mediado por GPR55 tiene algún papel en la mejora de la memoria, la explicación más probable es que la GPR55 postsináptica aumenta el Ca^{2+} intracelular para mejorar la LTP, de hecho, la activación de GPR55 presináptica directa o alternativamente GPR55 postsináptica iniciando una señal retrógrada que actúa presinápticamente para mejorar la plasticidad a corto plazo durante la inducción de LTP que conduce a una LTP más grande es una posibilidad. Alternativamente, la mayor liberación del transmisor mediada por GPR55 (Sylantsev et. al., 2013) podría dar lugar a algunos de los LTP.

Los mecanismos de señalización de GPR55 informados varían tanto con la unión del ligando como con el tipo de tejido, lo que puede permitir que este receptor medie varios procesos dentro del cuerpo (Henstridge et. al., 2010). En general, si bien la cuestión de la activación *in vivo* de GPR55 aún no se ha respondido por completo; GPR55 parece estar emergiendo como un interesante receptor de tipo lisofosfolípido novedoso, lo que hace que valga la pena entender su función en la memoria.

9.2.2 Condicionamiento de Preferencia de Lugar

El tabaquismo es una enfermedad adictiva, crónica y recurrente, varias enfermedades son causadas por el tabaquismo y la exposición involuntaria al humo del cigarrillo, incluyendo varios casos de cáncer de pulmón prevenibles (Benowitz, 2008a; Changeux, 2010), causa más de 7 millones de muertes cada año en todo el mundo (OMS, 2017). Este número está aumentando (Prochaska y Benowitz, 2016), lo que la convierte en una de las principales causas de muerte evitable en el mundo (Gowing et. al., 2015).

Los efectos reforzantes, la dependencia y la adicción al tabaquismo son causados principalmente por la sustancia nicotina (Stolerman y Jarvis, 1995; Dani et. al., 2019). La nicotina es un alcaloide natural en muchas plantas donde sirve como insecticida (Dani et. al., 2019), y se une a diversos subtipos de receptor nicotínico de acetilcolina (nAChR), son canales de cationes activados por ligandos que se distribuyen ampliamente por todo el sistema nervioso y el cuerpo (Papke, 2014). En el cerebro de los mamíferos se expresan nueve subunidades α ($\alpha 2$ a $\alpha 10$) y tres subunidades β ($\beta 2$ a $\beta 4$). Los receptores más abundantes son $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 3\beta 4$ y $\alpha 7$, los últimos de los cuales son homoméricos (Maskos et. al., 2005; Mineur y Picciotto, 2008), la nicotina tiene una alta afinidad por la subunidad $\alpha 4$ del nAChR expresado de forma ubicua en el cerebro (Gotti et. al., 2006; Nirogi et. al., 2020), especialmente, el subtipo $\alpha 4\beta 2$ (Benowitz, 2008b; Dani y de Biasi, 2001). La estimulación de nAChR libera una variedad de neurotransmisores en el cerebro (Dajas-Bailador y Wonnacott, 2004; Wonnacott, 1997). La nicotina puede inducir la liberación de DA en la capa de NAc que son críticas en la recompensa inducida por drogas (Shin et. al., 2017; Nestler, 2004; Dani y De Biasi, 2001), lo que explica parcialmente sus acciones de refuerzo (Xiao et. al., 2020). Claramente, el origen de la adicción a la nicotina tiene varios componentes, incluidos factores farmacológicos, genéticos y ambientales (Benowitz, 2009; Benowitz, 2010). Los cannabinoides endógenos, AEA y 2-AG, y los receptores CB1 se han observado estar involucrados en los mecanismos neuronales subyacentes a los efectos gratificantes de la mayoría de las drogas de abuso, incluida la nicotina (Castañe et. al., 2005; Le Foll et. al., 2008). En este contexto, se informó que Win 55212-2 (un agonista completo del receptor CB1), que parece carecer de acciones de GPR55 (Johns et. al., 2007), modula positivamente algunas de las acciones de refuerzo de la nicotina a través de los receptores CB1 (Gamaledin et. al., 2012); mientras que se ha informado que el rimonabant (un antagonista de CB1 y GPR55) es eficaz para mediar el abandono del hábito de fumar (Rigotti et. al., 2009). Recientemente Lui et. al., 2021, informaron en ratones una

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

alta expresión de GPR55 en el NAc también, que las neuronas NAc de animales que recibieron nicotina sistémica + O-1602 produjeron menos corrientes postsinápticas excitatorias espontáneas que los animales que recibieron nicotina sistémica además, que se impidieron los aumentos en los niveles séricos de DA inducidos por la nicotina después del O-1602 sistémico (que no logró modificar los niveles de DA en NAc); y por último, que la activación de GPR55 en NAc parece modular la expresión de los receptores AMPA (Liu et. al., 2021). En particular, una caída parcial de GPR55 (~ 40 %) en NAc no modificó las acciones preventivas del O-1602 sistémico en la CPP inducida por nicotina (Liu et. al., 2021). Los resultados anteriores sugieren un posible papel de GPR55 en las acciones de refuerzo de la nicotina.

El principal hallazgo del presente estudio es que la administración central de PEA (agonista GPR55), LPI (agonista selectivo GPR55), ML-184 (agonista sintético altamente selectivo para GPR55) y ML-193 (antagonista selectivo GPR55) previno las acciones reforzantes de la nicotina en el paradigma CPP. Además, PEA produjo hiperlocomoción en ausencia de nicotina en comparación con el vehículo (Figura 33A). Por otro lado, ML184 disminuyó mucho la actividad en comparación con el vehículo, PEA y LPI en el grupo de nicotina, lo que sugiere un efecto ansiolítico importante; un efecto que no se observa en ausencia de nicotina ($p < 0,05$ ML184 s.s. frente a nicotina; Figura 33A). En el grupo de nicotina, el vehículo mostró una menor frecuencia del comportamiento de aseo personal, lo que se evitó en el grupo LPI (Figura 34). Por último, las inyecciones centrales de PEA produjeron CPP en ausencia de nicotina, lo que puede estar relacionado con su capacidad para modular las áreas estriales y aumentar los niveles de cannabinoides (por ejemplo, 2-AG) (Musella et. al., 2017). Es cierto que nuestro estudio piloto es incapaz de señalar un área específica del cerebro en la que el GPR55 podría estar ejerciendo sus acciones preventivas contra los efectos reforzantes de la nicotina en el paradigma CPP, debido al alcance generalizado en el SNC después de la administración i.c.v. (DeVos y Miller, 2013). Sin embargo, nuestros resultados deberían motivar una mayor investigación sobre la posible participación general de GPR55 en el sistema de recompensa cerebral.

9.2.2.1 Efectos farmacológicos de LPI, PEA y ML-193 sobre la CPP inducida por nicotina

Tanto PEA (agonista no selectivo de GPR55), LPI (agonista de GPR55), ML184 (agonista sintético altamente selectivo de GPR55) como ML-193 (antagonista selectivo) impidieron la adquisición de nicotina (Figura 32). Como esos compuestos fueron administrados por vía

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

i.c.v., y por lo tanto, implica una amplia propagación en el SNC, los resultados anteriores plantean dos posibilidades principales primero, que tanto la estimulación como el bloqueo de GPR55 pueden producir sus efectos preventivos contra las acciones reforzantes de la nicotina a través de diferentes sitios de acción en el SNC; y que los receptores centrales GPR55 que interfieren con las acciones reforzadoras de la nicotina tienen una función fundamental/moduladora.

Apoyando la primera posibilidad, se informó que las inyecciones i.c.v. de ML-193 produjeron efectos ansiogénicos y de deterioro motor (Rahimi et. al., 2015). Como no se detectaron disminuciones en la actividad locomotora en animales inyectados con ML-193 (Figura 33A), el papel preventivo de ML-193 contra la CPP inducida por nicotina puede estar relacionada con su capacidad para producir ansiedad (Rahimi et. al., 2015). Por otro lado, la LPI puede desencadenar un aumento en la concentración de Ca^{2+} intracelular a través de GPR55 (Henstridge et. al., 2009; Henstridge et. al., 2010; Kapur et. al., 2009) que posteriormente podría producir la activación de los grandes canales de potasio dependientes de voltaje y calcio de alta conductancia (BKCa) (Begg et. al., 2003; Hasegawa et. al., 2003; Schilling et. al., 2002). Además, LPI (y quizás PEA) puede activar los canales de BKCa a través de vías dependientes e independientes de GR55 (Bondarenko et. al., 2010; Bondarenko et. al., 2011a; Bondarenko et. al., 2011b). Curiosamente, se informó que la activación de los canales de BKCa puede revertir el comportamiento de búsqueda de nicotina en el paradigma de CPP (Ma et. al., 2013). Por tanto, la activación de GPR55 por LPI y PEA puede prevenir las acciones de refuerzo de la nicotina a través de los canales BKCa (Figura 39).

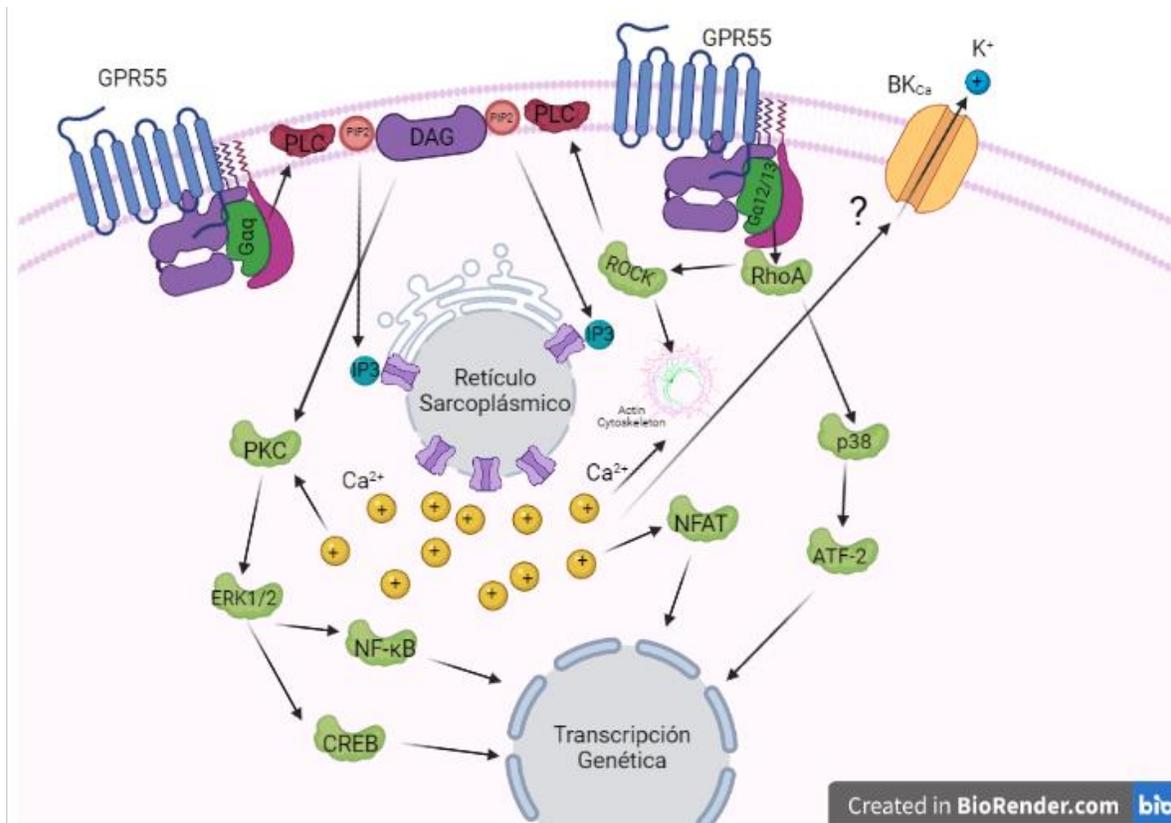


Figura 39. Posible vía que explica el fenómeno observado en el CPP de GPR55 (Imagen creada a partir del programa BioRender).

Con respecto al papel fundamental/modulador de GPR55, un estudio reciente en un modelo de roedor preclínico de la enfermedad de Parkinson, tanto LPI como ML-193, mediante la mejora de las habilidades motoras y sensoriomotoras de las ratas (Fatemi et. al., 2020), sugiere una posible función fundamental de GPR55 estriatal. Además, la promoción en el comportamiento motor tanto de LPI como de ML-193 podría estar involucrada en la disminución de la adquisición de nicotina. Además, las inyecciones intrahipocampales tanto de LPI como de CID16020046 (un antagonista selectivo de GPR55) deterioraron la memoria espacial en una prueba posterior al entrenamiento en el laberinto de Barnes (Marichal-Cancino et. al., 2018). Por lo tanto, el papel fundamental/modulador del GPR55 central sigue siendo una posibilidad. Por otro lado, la potencial disminución de la memoria espacial que podrían inducir LPI y ML-193 en el presente estudio (Figura 32) podría explicar sus acciones preventivas contra la CPP inducida por nicotina. Es cierto que nuestros resultados proporcionan más preguntas que respuestas y se requieren más experimentos, que quedan fuera del alcance del presente estudio piloto, para aclarar la participación de los receptores GPR55 en las acciones de refuerzo de la nicotina.

Por último, se ha informado que la PEA y la OEA tienen un objetivo principal común: el receptor PPAR- α (Mattace-Raso et. al., 2014). Curiosamente, la OEA atenuó la sensibilización conductual (BS por sus siglas en inglés) inducida por la cocaína (Bilbao et. al., 2013); sin embargo, este efecto pareció ser a través de un mecanismo independiente del receptor PPAR- α , ya que la administración de OEA aún podría atenuar la BS a la cocaína en ratones PPAR- α knockout (Bilbao et. al., 2013). También se ha demostrado que la OEA y la PEA difieren en la modulación de algunos estados de ánimo relacionados con la adicción, pudiendo bloquear la anhedonia inducida por el estrés (Sayd et. al., 2014). También se ha demostrado que la inhibición de la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) (Luchicchi et. al., 2010), que aumenta la biodisponibilidad de N-aciletanolaminas (NAE), y la administración exógena de OEA y PEA bloquea la activación de neuronas en la capa del NAc y ATV inducida por nicotina (Melis et. al., 2008). Curiosamente, mediante el uso de URB597 (un inhibidor de FAAH) Scherma et. al., 2008, informaron inhibición de la CPP inducida por nicotina. Así, además de las acciones potenciales mediadas por GPR55, los efectos preventivos de i.c.v. La PEA en la CPP inducida por nicotina puede implicar múltiples vías. Es importante resaltar que ni i.c.v. LPI o ML184 por se produjeron CPP o aversión (Figura 32).

9.2.2.2 Otros efectos conductuales de LPI, PEA y ML193 durante la prueba de nicotina-CPP

Durante la prueba de CPP (es decir, una fase de interrupción de la nicotina a los animales del grupo de nicotina), los animales del grupo de nicotina que recibieron vehículo (i.c.v.) mostraron más actividad ($P < 0.05$) que el vehículo (i.c.v.) del grupo de s.s. (Figura 33A). Estudios anteriores informaron una disminución de la actividad locomotora en ratas después de una administración aguda de nicotina, pero un aumento después de la estimulación nicotínica crónica (Dwoskin et. al., 1999; Stolerman et. al., 1995). En el presente estudio, los animales recibieron un esquema crónico de nicotina, por lo tanto, nuestros resultados son congruentes con los informes anteriormente mencionados. Por otro lado, como no se detectaron diferencias en las entradas a la cámara pareada ni en la actividad vertical (Figuras 33B y 33C), se debe subestimar el comportamiento anhelante y la ansiedad (Bailey y Crawley, 2009; Lever et. al., 2006; Wu et. al., 2016).

Se ha descrito que el consumo de nicotina está relacionado con la modulación de las medidas de ansiedad en los seres humanos y en los roedores, es por ello, que la

adminstración aguda de nicotina provoque efectos ansiolíticos (Brioni et. al., 1993; Brioni et. al., 1994; Szyndler et. al., 2001) y ansiogénicos (Biala et. al., 2006; Biala et. al., 2009; Cheeta et. al., 2001). También se ha informado que, en el consumo crónico, la tolerancia al efecto de la nicotina sobre la ansiedad (Irvine et. al., 2001) y la abstinencia posterior conduce a un aumento de las medidas de ansiedad en roedores (Bhattacharya et. al., 1995; Thakre et. al., 2013). Estos efectos de abstinencia de la nicotina relacionados con la ansiedad se consideran fundamentales para el abuso del tabaco que conduce a una recaída (Brown et. al., 2001) y esto contribuyen progresivamente al mantenimiento del hábito de consumo de productos que contienen nicotina (Arvaniti et. al., 2018; Hughes et. al., 1991; Hughes et. al., 1994). En los seres humanos se ha informado que los aspectos afectivos del síndrome de abstinencia de nicotina también se caracterizan por un aumento de la ansiedad (American Psychiatric Association, 2013; Hughes, 2007). Malin et. al., 1992, describió algo que denomino los signos somáticos que resultaron ser selectivamente elevado durante la fase de abstinencia. Estos signos de comportamiento somático incluyen temblores corporales, aseo, postura abdominal, ptosis (aflojamiento de la mandíbula), masticación de la boca vacía, parloteo, parpadeo de ojos, diarrea. Sin embargo, aún se desconoce los mecanismos neurobiológicos exactos que subyace la ansiedad inducida por la abstinencia de nicotina o los síntomas somáticos aún están en estudio.

El comportamiento de aseo en roedores se basa en patrones de movimiento secuencial específicos y altamente estereotipados, conocido como patrón de cadena sintáctica (Kalueff et. al., 2007), que a menudo ocurre durante la transición entre el aseo facial y corporal. El aseo personal surge como un índice sensible de ansiedad y emocionalidad animal alterada, numerosos estudios han demostrado que las lesiones cerebrales (Berridge 1989; Berridge y Whishaw, 1992; Cromwell y Berridge, 1996), la estimulación farmacogénica (Audet et. al., 2006; Berridge y Aldridge, 2000), la ablación genética de los receptores cerebrales (Cromwell et. al., 1998) y los factores estresantes (Komorowska y Pellis, 2004) conducen a una alteración en el inicio y terminación de esta cadena de forma bidireccional (Kalueff et. al., 2007). Sus análisis complejos, que incluyen la frecuencia, la duración y la microestructura del comportamiento (patrones), se han aplicado en estudios de estados similares al estrés/ansiedad en ratas y ratones (Kalueff y Tuohimaa, 2005a; Kalueff y Tuohimaa, 2005b). Por ejemplo, las ratas exhiben comportamientos de aseo espontáneos de 'comodidad' con una secuencia cefalocaudal relativamente estereotipada en condiciones de bajo estrés, pero aumentan el auto-aseo 'similar a la ansiedad' (con patrones más

'rostrales', frecuentemente interrumpidos y desorganizados) después de un patrón agudo o crónico de exposición al estrés (Van Erp et. al., 1994; Fentress, 1977).

En este estudio, se observaron cambios en el auto-aseo tanto en la frecuencia como en el tiempo de auto-aseo y se analizó por auto-aseo cefálico (no seguía el patrón de cadena sintáctica), ordenado (seguía patrón de cadena sintáctica) y total (la suma de auto-aseo cefálico y ordenado), en la frecuencia total en el grupo de nicotina (Figura 34) se observó un menor comportamiento de aseo personal en el grupo de vehículo comparado con el grupo de s.s., lo que sugiere un cierto nivel de alteración emocional cosa que no se observó en los animales que recibieron LPI, que produjo el mayor comportamiento de aseo personal en el grupo de nicotina (Figura 34C). Además, los animales del grupo de nicotina tratados con vehículo mostraron un menor comportamiento en el tiempo total de aseo personal que los del grupo de s.s., lo que sugiere un cierto nivel de alteración emocional. Esto no se observó en aquellos animales pretratados con LPI, que realizaron un mayor comportamiento del tiempo total del aseo personal en el grupo de nicotina en comparación con el vehículo (Figura 34F). Nuestros hallazgos muestran que, de varios fármacos con afinidad en GPR55, LPI produjo el efecto ansiolítico más evidente. Curiosamente, también se ha informado que la administración central de otros agonistas de GPR55 produce efectos ansiolíticos (Rahimi et. al., 2015). No se observó un cambio significativo en los tiempos de aseo personal, ni tampoco en las frecuencias cefálicas y ordenadas.

9.2.2.3 Los efectos reforzantes per se de PEA (i.c.v.) en el CPP

Se observó una tendencia a aumentar el tiempo en la cámara pareada en el grupo PEA en ausencia de nicotina (Figura 32B). Este efecto podría explicarse por un aumento de las aciletanolamidas (EA), ya que su degradación está mediada por la FAAH (Cravatt et. al., 1996) o la amidasa ácida hidrolizante de N-aciletanolamina (NAAA) en estado inflamatorio (Ueda et. al., 2013). Es importante destacar que NAAA y FAAH hidrolizan preferentemente PEA sobre otros EA, lo que genera un efecto de entorno que consiste en el incremento de compuestos eCB (Ho et. al., 2008; Ueda et. al., 2013). Por lo tanto, las posibles acciones de refuerzo de la PEA en el CPP podrían estar asociadas con aumentos de los niveles de eCB. Es cierto que el presente estudio piloto no midió los niveles de eCB y, por lo tanto, esta posibilidad aún debe caracterizarse.

9.2.3 Rueda de actividad física voluntaria

Múltiples estudios han demostrado correlaciones entre el funcionamiento de la rueda y la actividad locomotora (Novak et. al., 2012). De acuerdo con la actividad locomotora presentada en la figura 35, no hubo cambio significativo entre la actividad física basal y la actividad física con los tratamientos (ML-193 y PEA). Existen estudios de la disminución de la actividad física en ratones GPR55 knockout (Meadows et. al., 2015), por lo tanto, existe la posibilidad de que la eliminación de GPR55 cause un deterioro en el sistema de recompensa cerebral, ya que existen estudios que demuestran que el sistema de cannabinoides está relacionado con la recompensa cerebral (Gardner, 2005; Oleson et. al., 2012; Lupica y Riegel, 2005). Por lo tanto, en nuestro estudio podría ser posible que existiera un problema en el experimento debido a la gran variabilidad a la actividad física que presentan las ratas.

GPR55 se encuentra en el cuerpo estriado del cerebro al igual que el receptor CB1 (Wu et. al., 2013). Y existe evidencia que la eliminación de CB1 conduce a una disminución de la actividad voluntaria de carrera de la rueda en ratones, mientras que la actividad locomotora en general no se vio afectada (Dubreucq et. al., 2010). Se ha postulado que este proceso está mediado por el CB1 sensibilizado por la recompensa en el cuerpo estriado del cerebro (De Chiara et. al., 2010), se ha demostrado que CB1 en terminales tegmentales ventrales GABAérgicos ejerce un control permisivo sobre la actividad de carrera voluntaria de roedores (Dubreucq et. al., 2013). Los circuitos neuronales son importantes en la regulación de la locomoción espontánea y la actividad física activa (Bromberg-Martin, et. al., 2010; Dauer y Przedborski, 2003; Zink et. al., 2014).

Un ejemplo, es la enfermedad de Parkinson, caracterizada por la deficiencia de DA, lo que provoca temblores y movimientos imprecisos. Curiosamente, en un estudio se administró el agonista del receptor de cannabinoides WIN-55,212-2 y se observaron efectos neuroprotectores para la enfermedad de Parkinson, suprimiendo la excitotoxicidad, la activación glial y la lesión oxidativa de las neuronas dopaminérgicas (More y Choi, 2015). Se ha especulado que posiblemente GPR55 ejerza sus efectos en las neuronas dopaminérgicas para regular la actividad física (Meadows et. al., 2015). Sin embargo, esto no se evidenció en el estudio presente.

9.3 GPR119

9.3.1 Laberinto en forma de T

Se sabe que la capacidad para recordar información contextual resulta de suma importancia sobre las fuentes de alimentos, con la finalidad de ubicar y de evaluar los peligros para acceder de forma segura al alimento, resulta beneficioso para los animales en busca de alimento en la naturaleza; y se ha demostrado que las ratas poseen tal habilidad (Roberts et. al., 2008). Estos hallazgos sugieren que las señales hormonales y neurales provocadas por la alimentación también podrían mejorar la consolidación de experiencias recientes. Estudios han evidenciado de que la OEA una molécula que uno, de los receptores en el que actúa es el receptor acoplado a proteína G GPR119 (Lauffer et. al., 2009; Overton et. al., 2006), mejora la consolidación de la memoria (Campolongo et. al., 2009; Berthoud y Morrison 2008; Yang et. al., 2015; Plaza-Zabala et. al., 2010). Además, Hauer et. al., 2013 reportó que la administración sistémica de OEA mejoró la memoria de las experiencias de entrenamiento aversivo (Hauer et. al., 2013).

Se ha reportado que el cuerpo estriado en roedores expresa el receptor GPR119 (Lan et. al., 2009; Ray et. al., 2018), por lo tanto, se espera que estos receptores cumplan algunas funciones fisiológicas que pueden afectar el comportamiento y hasta donde se tiene conocimiento no existe en la literatura algún reporte sobre su función. Teniendo en cuenta que el cuerpo estriado regula la memoria procedimental (Barnes et. al., 2005), se buscó determinar su papel de GPR119 en ese proceso cognitivo. En los resultados se utilizó BMS-986034 un agonista del GPR119, en el cual se observó que al activar este receptor no se notó ningún cambio significativo comparado con el grupo vehículo.

9.3.2 Campo abierto

Hall (1934) describió la prueba de campo abierto como un estudio de la emotividad en ratas. El procedimiento consiste en someter a un animal, en este caso una rata, a un entorno desconocido y novedoso del cual las paredes circundantes impiden su escape (Walsh y Cummins, 1976). Actualmente la prueba de campo abierto es uno de los procedimientos más utilizados en psicología animal (Belzung, 1999). El campo abierto es una prueba neofóbica (miedo a lo nuevo) de ansiedad y cuya base es la tendencia natural de los roedores para evitar los espacios abiertos y deambular cerca de las paredes en un comportamiento llamado tigmotaxis (Kopp et. al., 1997), es por ello que, al evaluar el tiempo que transcurren en el área central del aparato da un indicio el estado de ansiedad de los

roedores (Prut y Belzung, 2003). Este procedimiento también evalúa las respuestas a la novedad y el comportamiento exploratorio de alerta midiendo la actividad vertical también llamado crianza (Brenes et. al., 2006; Blanchard y Blanchard, 2008; Elliot et. al., 1986; Martin et. al., 2013; Blanchard et. al., 2001; Antoniou et. al., 2004; Thiel et. al., 1999), así como la actividad locomotora general midiendo la deambulaci3n (caminar) la cual se ha relacionado con la representaci3n espacial y sensoriomotora del lugar que se explora (Blanchard y Blanchard, 2008) y se ha observado que es m3s prominente durante la primera mitad de la prueba, sin embargo, se va declinando gradualmente a medida que el animal se habitúa al entorno. En el campo abierto, en la evaluaci3n de la actividad locomotora se sabe que un aumento de la locomoci3n central o del tiempo de permanencia en la parte central del aparato sin modificaci3n de la locomoci3n total y de la exploraci3n vertical puede interpretarse como un efecto de tipo ansiol3tico mientras que, por el contrario, es decir una disminuci3n de estas variables, se asocia con efectos ansiog3nicos. El aumento de la locomoci3n puede considerarse un efecto estimulante, mientras que la disminuci3n de la actividad vertical y la locomoci3n est3n relacionadas con la sedaci3n o la postraci3n postictal (Prut y Belzung, 2003). La actividad vertical en respuesta a la novedad se ha utilizado previamente como un factor diferenciador al caracterizar los efectos inducidos por drogas en el comportamiento (Antoniou et. al., 2004). En el presente estudio se observ3 que en la actividad vertical (Figura 37 y 38) fue el 3nico cambio significativo que hubo entre los grupos habiendo un ligero aumento en el grupo en el que se le administro BMS-986034 en comparaci3n con el grupo veh3culo. Hasta al momento no se aprecian antecedentes relacionados a la evaluaci3n del comportamiento de la rata en la administraci3n intracerebral de un agonista selectivo del GPR119 en la prueba de campo abierto, sin embargo, existen estudios en los que se ha analizado el comportamiento de roedores en campo abierto a los que se les administra sist3micamente OEA (agonista de GPR119), Rodr3guez de Fonseca et. al. 2001 informa que, aunque la administraci3n intraperitoneal de OEA reduce la ingesta de alimentos sin causar una aversi3n condicionada al gusto (CTA por sus siglas en ingl3s), se reduce de manera potente la actividad locomotora en ratas. Aunque se menciona que los efectos de la OEA parecen estar mediados por la activaci3n de PPAR- α (Fu et. al., 2003), desconocen los mecanismos por los que reduce la locomoci3n (Rodr3guez de Fonseca et. al. 2001). Romano et. al., 2014 demostr3 que el tratamiento con OEA disminu3a la actividad alimentaria y que tambi3n provoc3 un aumento tard3o del tiempo de descanso en los ratones tratados con la dosis m3s alta. Sin embargo, dicho aumento no fue acompa3ado por ninguna disminuci3n de la actividad motora horizontal (locomoci3n),

vertical (crianza) y total en cualquiera de las dosis probadas (Romano et. al., 2014). Además, en estudios se ha observado que la OEA, suprime el apetito al estimular la saciedad sin alterar la actividad motora total (Sihag y Jones, 2017; Campolongo et. al., 2009), sin embargo, en estos estudios no se especifica el mecanismo por el cual actúa OEA y se ha observado que el metabolismo de la OEA por la FAAH puede dirigirse a los receptores de cannabinoides del cerebro y algunos de los efectos observados podrían estar mediados por estas vías alternativas y justificar una evaluación (Sagar et. al., 2009).

También se midió el acicalamiento (Figura 38) ya que se ha relacionado tradicionalmente con diferentes procesos psicofisiológicos. Por ejemplo, el aseo es un mecanismo conductual bien conocido que contribuye a la termorregulación (Almeida et. al., 2015; Roberts, 1988; Thiessen, 1988). Una explicación alternativa no asociada con la termorregulación o la limpieza es que el acicalamiento puede considerarse una señal de ansiedad y estrés expresado como una especie de comportamiento de desplazamiento, como se ha sugerido en otros lugares (Fentress, 1968; Kalueff y Tuohimaa, 2005b; Kalueff et. al., 2016; Tinbergen, 1952), por lo tanto, el acicalamiento compulsivo de los ratones tiene una importante relevancia etológica, ya que es particularmente sensible al estrés y podría indicar una reactividad emocional alterada del animal (Kalueff y Tuohimaa, 2005b). El comportamiento de aseo sirve para muchos propósitos, que varían según la especie. La limpieza es uno de los propósitos más relevantes del aseo, ya que permite a los organismos eliminar la suciedad acumulada y mantener libres de obstrucciones sus partes motoras y sensoriales (Amador y Hu, 2015). El aseo también está implicado en la termorregulación (Almeida et. al., 2015; Roberts, 1988; Thiessen, 1988), el alivio del dolor (Spradley et. al., 2012), la interacción social (Carter y Wilkinson, 2015; Seyfarth, 1980) y en las respuestas de estrés y ansiedad en contextos naturales (Molesti y Majolo, 2013) y no naturales (Kalueff y Tuohimaa, 2005a; Martin y Réale, 2008; Roth y Katz, 1980). Aunque, en el estudio actual no se vio ninguna diferencia en los acicalamientos de por parte de ambos grupos evaluados.

10. Conclusiones

- Se observó una preferencia de lugar con la lodaxamida a 0.1nmol un agonista del GPR35, sin embargo, al utilizar un antagonista del GPR35 se mantuvo dicha preferencia de lugar, por lo tanto, es posible que lodoxamida tenga una participación en el sistema de recompensa cerebral por una vía independiente a GPR35.

- El GPR55 en estriado dorsal no tiene una participación en la consolidación de la memoria de procedimiento.
- La manipulación con inyecciones i.c.v. de LPI, PEA, ML184 y ML193 en ventrículo lateral interfieren con el cambio en la preferencia de lugar inducido por la nicotina a través de mecanismos que aún no se han identificado, pero que probablemente involucren al GPR55.
- Con inyecciones en estriado dorsal de PEA y ML193 a diferentes concentraciones no se observó cambio en la actividad física voluntaria en las pruebas con las ruedas de entrenamiento.
- GPR119 del estriado dorsal parece no participar en los mecanismos de memoria de procedimiento en la prueba del laberinto en T.
- GPR119 se observó un ligero cambio en la actividad vertical del roedor en el campo abierto, por lo tanto, parece ser que GPR119 está involucrado en los comportamientos exploratorios de alerta.

11. Perspectivas

A partir de los estudios y discusiones presentados en esta Tesis Doctoral, las perspectivas de trabajos futuros deberían ser orientadas:

- En analizar los mecanismos a través de los cuales participa la lodoxamida en el sistema de recompensa cerebral y confirmar si está es por vía independiente a la GPR35, y de ser así cuales son dichos mecanismos por los cuales participa, con la finalidad de que la lodoxamida en un futuro se le pueda dar un uso para algún trastorno cognitivo.
- Describir los mecanismos de la memoria de procedimiento en estriado dorsal en sus diferentes fases y confirma la participación del GPR55 en la fase de formación y descartar su participación en otras fases, desarrollando así fármacos dirigidos para atender afectaciones de la memoria de procedimiento en las diferentes fases (formación, consolidación o evocación).
- Después, describir los mecanismos a través de los cuales se observó el cambio en la preferencia de lugar inducido por la nicotina, y confirmar la participación del receptor GPR55 en dichos mecanismos, para que en un futuro se desarrollen fármacos con mayor eficiencia y más selectivos para tratar los problemas adictivos.

- Analizar la función del GPR119 en estriado dorsal, para comprender mejor su expresión en dicha área, e investigar a fondo la posible participación de este en comportamientos exploratorios de alerta en roedores.

12. Bibliografía

1. AbMole BioScience "AbMole" <http://www.abmole.com/products/bms-986034.html> Consultado: 30/09/2021.
2. Aggleton, J. P., Dumont, J. R., & Warburton, E. C. (2011). Unraveling the contributions of the diencephalon to recognition memory: A review. *Learning & Memory*, 18(6), 384–400.
3. Alabi AA, Tsien RW. (2013) Perspectives on kiss-and-run: role in exocytosis, endocytosis, and neurotransmission. *Annu Rev Physiol*, 75:393–422.
4. Alavi, M. S., Hosseinzadeh, H., Shamsizadeh, A., & Roohbakhsh, A. (2016). The effect of O-1602, an atypical cannabinoid, on morphine-induced conditioned place preference and physical dependence. *Pharmacological Reports*, 68(3), 592–597.
5. Albuquerque, E.X.; Schwarcz, R. (2013) Kynurenic acid as an antagonist of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors in the brain: Facts and challenges. *Biochem. Pharmacol.* 85, 1027–1032.
6. Alexander SPH, Christopoulos A, Davenport AP, Kelly E, Mathie A, Peters JA, Veale EL, Armstrong JF, Faccenda E, Harding SD, et. al.; CGTP Collaborators (2019) The Concise Guide to Pharmacology 2019/20: G protein-coupled receptors. *Br J Pharmacol* 176 (Suppl 1):S21–S141.
7. Allende G, Chávez-Reyes J, Guerrero-Alba R, Vázquez-León P, and Marichal-Cancino BA. (2020) Advances in Neurobiology and Pharmacology of GPR12. *Front Pharmacol* 11:628.
8. Almeida, M. C., Vizin, R. C. L., and Carrettiro, D. C. (2015). Current understanding on the neurophysiology of behavioral thermoregulation. *Temperature*, 2(4), 483-490.
9. Alzheimer's Disease International. (2019) World Alzheimer Report 2019: Attitudes to dementia. London: Alzheimer's Disease International.
10. Am. Psychiatry Assoc. (2013) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Washington, DC: Am. Psychiatry Publ. 5° ed.
11. Amador, G. J., and Hu, D. L. (2015). Cleanliness is next to godliness: Mechanisms for staying clean. *Journal of Experimental Biology*, 218(20), 3164-3174.
12. Amaral DG, Cowan WM (1980) Subcortical afferents to the hippocampal formation in the monkey. *J Comp Neurol* 189: 573–591
13. Amaral DG, Insausti R (1990) Hippocampal formation. In: Paxinos G (ed) The human nervous system. Academic, San Diego, pp 711–755
14. Amaral DG, Insausti R, Cowan WM (1987) The entorhinal cortex in the monkey. I Cytoarchitectonic organization. *J Comp Neurol* 264:326–355
15. Ameri A. (2009) The effects of cannabinoids on the brain. *Prog Neurobiol* 58:315–348
16. Amori L, Wu HQ, Marinozzi M, Pellicciari R, Guidetti P, Schwarcz R. (2009) Specific inhibition of kynurenate synthesis enhances extracellular dopamine levels in the rodent striatum. *Neuroscience*;159(1):196-203.
17. Anderson, J.R., (1993) Rules of the Mind. Erlbaum, Hillsdale, NJ.

18. Antoniou K, Papatouasiou G, Panagis G, Nomikos GG, Hyphantis T, Papadopoulou-Daifoti Z (2004) Individual responses to novelty predict qualitative differences in d-amphetamine-induced open field but not reward-related behaviors in rats. *Neuroscience* 23:613–623.
19. Arias-Carrion O., Poppel E. (2007) Dopamine, learning, and reward-seeking behavior. *Acta neurobiologiae experimentalis*, 67(4):481-488.
20. Arvaniti M., Polli F.S., Kohlmeier K.A., Thomsen M.S., Andreasen J.T., (2018) Loss of *Lypd6* leads to reduced anxiety-like behaviour and enhanced responses to nicotine, *Progress in Neuro Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 82 86-94.
21. Asociación Educar para el Desarrollo Humano “<https://asociacioneducar.com/neurofisiologia-ganglios-basales>” Consultado: 30/09/2021
22. Audet MC, Goulet S, and Doré FY. (2006) Repeated subchronic exposure to phencyclidine elicits excessive atypical grooming in rats. *Behav Brain Res* 167:103-110.
23. Audet, M., and Bouvier, M. (2012). Restructuring G-Protein- Coupled Receptor Activation. *Cell* 151: 14–23.
24. Avunduk AM, Avunduk MC, Dayanir V, Tekelioğlu Y, Dayioğlu YS. (1998) Pharmacological mechanism of topical Iodoxamide treatment in vernal keratoconjunctivitis: a flow-cytometric study. *Ophthalmic Res*;30(1):37-43.
25. Baddeley A. (2003) Double dissociations: Not magic, but still useful. *Cortex* 39: 129–131.
26. Bailey KR, and Crawley JN. (2009) *Frontiers in Neuroscience. Anxiety-Related Behaviors in Mice*. In: Buccafusco JJ, ed. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis
27. Bailey, C.H., Kandel, E.R., Harris, K.M., (2015) Structural components of synaptic plasticity and memory consolidation. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 7, a021758.
28. Balenga NA, Martínez-Pinilla E, Kargl J, Schröder R, Peinhaupt M, Platzer W, Bálint Z, Zamarbide M, Dopeso-Reyes IG, Ricobaraza A, Pérez-Ortiz JM, Kostenis E, Waldhoer M, Heinemann A, and Franco R. (2014) Heteromerization of GPR55 and cannabinoid CB2 receptors modulates signalling. *British Journal of Pharmacology* 171:5387-5406.
29. Ball K, Berch DB, Helmers KF, Jobe JB, Leveck MD, Marsiske M, et. al. (2002) Effects of cognitive training interventions with older adults: a randomized controlled trial. *JAMA*; 288: 2271–81.
30. Barak, S., Liu, F., Hamida, S.B., Yowell, Q.V., Neasta, J., Kharazia, V., Janak, P.H., Ron, D., (2013) Disruption of alcohol-related memories by mTORC1 inhibition prevents relapse. *Nat. Neurosci.* 16, 1111–1117.
31. Barch D.M., Dowd E.C. (2010): Goal representations and motivational drive-in schizophrenia: The role of prefrontal-striatal interactions. *Schizophr Bull* 36:919–934.
32. Barnes, T. D., Kubota, Y., Hu, D., Jin, D. Z., & Graybiel, A. M. (2005). Activity of striatal neurons reflects dynamic encoding and recoding of procedural memories. *Nature*, 437(7062), 1158–1161.
33. Barria, A., Derkach, V., Soderling, T., (1997) Identification of the Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II regulatory phosphorylation site in the α -amino-3-hydroxyl-5-methyl- 4-isoxazole-propionate-type glutamate receptor. *J. Biol.Chem.* 272, 32727–32730.
34. Barth, M. C., Ahluwalia, N., Anderson, T. J., Hardy, G. J., Sinha, S., Alvarez-Cardona, J. A., et. al. (2009). Kynurenic acid triggers firm arrest of leukocytes to vascular endothelium under flow conditions. *J. Biol. Chem.* 284, 19189–19195.

35. Baumeister R.F., Heatherton T.F., Tice D.M. (1994) Losing control: how and why people fail at self-regulation. San Diego: Academic Press.
36. Bayne K. (1996) Revised Guide for the Care and Use of Laboratory Animals available. American Physiological Society. *Physiologist*;39(4):199,208-11.
37. Bechara A. (2005) Decision making, impulse control and loss of willpower to resist drugs: a neurocognitive perspective. *Nat Neurosci.*; 8:1458–1463.
38. Begg M, Mo FM, Offertaler L, Bátkai S, Pacher P, Razdan RK, Lovinger DM, and Kunos G. (2003) G protein-coupled endothelial receptor for atypical cannabinoid ligands modulates a Ca²⁺-dependent K⁺ current. *J Biol Chem* 278:46188-46194.
39. Bekkers, J.M., Stevens, C.F., (1990) Presynaptic mechanism for long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 346, 724–729.
40. Belin D, Jonkman S, Dickinson A, Robbins TW, Everitt BJ. (2009) Parallel and interactive learning processes within the basal ganglia: relevance for the understanding of addiction. *Behav Brain Res.*; 199:89–102.
41. Belzung, C., (1999). Measuring exploratory behavior. In: Crusio, W.E., Gerlai, R.T. (Eds.), *Handbook of Molecular Genetic Techniques for Brain and Behavior Research (Techniques in the Behavioral and Neural Sciences)*. Elsevier, Amsterdam, pp. 739–749.
42. Benowitz NL. (2008a) Clinical pharmacology of nicotine: implications for understanding, preventing, and treating tobacco addiction. *Clin Pharmacol Ther* 83:531-541.
43. Benowitz NL. (2008b) Neurobiology of Nicotine Addiction: Implications for Smoking Cessation Treatment *The American Journal of Medicine* 121:8.
44. Benowitz NL. (2009) Pharmacology of nicotine: Addiction, smoking-induced disease, and therapeutics. *The annual review of pharmacology and toxicology* 49:17.
45. Benowitz NL. (2010) Nicotine Addiction. *The New England Journal of Medicine* 362:9.
46. Berlin G.S., Hollander E. (2014) Compulsivity, impulsivity, and the DSM-5 process. *CNS Spectre* 19: 62–68.
47. Berlinguer-Palmini, R., Masi, A., Narducci, R., Cavone, L., Maratea, D., Cozzi, A., Sili, M., Moroni, F., Mannaioni, G. (2013) GPR35 activation reduces Ca²⁺ transients and contributes to the kynurenic acid-dependent reduction of synaptic activity at CA3-CA1 synapses. *PLoS ONE*, 8: e82180.
48. Berridge K.C. (2007): The debate over dopamine's role in reward: The case for incentive salience. *Psychopharmacology (Berl)* 191:391–431.
49. Berridge K.C., Robinson T.E., Aldridge J.W. (2009): Dissecting components of reward: 'liking', 'wanting', and learning. *Curr Opin Pharmacology* 9:65–73.
50. Berridge KC, and Aldridge JW. (2000) Super-stereotypy I: enhancement of a complex movement sequence by systemic dopamine D1 agonists. *Synapse* 37:194-204.
51. Berridge KC, and Whishaw IQ. (1992) Cortex, striatum and cerebellum: control of serial order in a grooming sequence. *Exp Brain Res* 90:275-290.
52. Berridge KC. (1989) Progressive degradation of serial grooming chains by descending decerebration. *Behav Brain Res* 33:241-253.
53. Berthoud HR, Morrison C (2008) The brain, appetite, and obesity. *Annu Rev Psychol* 59:55–92.
54. Bespalov A, Dumpis M, Piotrovsky L, Zvartau E. (1994) Excitatory amino acid receptor antagonist kynurenic acid attenuates rewarding potential of morphine. *European Journal of Pharmacology*; 264(3):233-9.

55. Beshpalov AY. (1996) The expression of both amphetamine-conditioned place preference and pentylentetrazol-conditioned place aversion is attenuated by the NMDA receptor antagonist (\pm)-CPP. *Drug and Alcohol Dependence*;41(1):85-8.
56. Bhattacharya S.K., Chakrabarti A., Sandler M., Glover V., (1995) Rat brain monoamine oxidase A and B inhibitory (tribulin) activity during drug withdrawal anxiety, *Neuroscience Letters* 199(2) 103-106.
57. Biala G., Budzynska B., (2006) Reinstatement of nicotine-conditioned place preference by drug priming: effects of calcium channel antagonists, *Eur J Pharmacol* 537(1-3) 85-93.
58. Biala G., Kruk M., (2009) Effects of co-administration of bupropion and nicotine or d-amphetamine on the elevated plus maze test in mice, *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 61(4) 493-502.
59. Bilbao, A., Blanco, E., Luque-Rojas, M.J., Suárez, J., Palomino, A., Vida, M., Araos, P., Bermúdez-Silva, F.J., Fernández-Espejo, E., Spanagel, R., Rodríguez de Fonseca, F., (2013) Oleoylethanolamide dose-dependently attenuates cocaine-induced behaviours through a PPAR α receptor-independent mechanism. *Addict. Biol.* 18, 78-87.
60. Bilbao, A., Serrano, A., Cippitelli, A., Pavón, F.J., Giuffrida, A., Suárez, J., García-Marchena, N., Baixeras, E., Gómez de Heras, R., Orio, L., Alén, F., Ciccocioppo, R., Cravatt, B.F., Parsons, L.H., Piomelli, D., Rodríguez de Fonseca, F., (2015) Role of the satiety factor oleoylethanolamide in alcoholism. *Addict. Biol.* 21, 859-872.
61. BioRender "<https://www.biorender.com/>" Consultado: 22/03/2022
62. Blackburn, D.J., Wakefield, S., Shanks, M.F., Harkness, K., Reuber, M., Venneri, A., (2014) Memory difficulties are not always a sign of incipient dementia: A review of the possible causes of loss of memory efficiency. *Br. Med. Bull.*
63. Blanchard, D. C., and Blanchard, R. J. (2008). Defensive behaviors, fear, and anxiety. In R. J. Blanchard, D. C. Blanchard, G. Griebel, & D. J. Nutt (Eds.), *Handbook of anxiety and fear* (pp. 63-79). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier.
64. Blanchard, R. J., Yang, M., Li, C. I., Gervacio, A., and Blanchard, D. C. (2001). Cue and context conditioning of defensive behaviors to cat odor stimuli. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 25(7), 587-595.
65. Bliss TV, Collingridge GL. (1993) A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*; 361:31–39.
66. Bliss, T.V., Gardner-Medwin, A.R., (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol. (London)* 232, 357–374.
67. Bliss, T.V., Lømo, T., (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol.* 232, 331–356
68. Blondell, S.J., Hammersley-Mather, R., Veerman, J.L., (2014) Does physical activity prevent cognitive decline and dementia?: A systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *BMC Public Health* 14, 510.
69. Blum K, Gardner E, Oscar-Berman M, Gold M. (2012) "Liking" and "wanting" linked to Reward Deficiency Syndrome (RDS): hypothesizing differential responsivity in brain reward circuitry. *Curr Pharm Des.*; 18:113–118.
70. Boitard, C., Cavaroc, A., Sauvant, J., Aubert, A., Castanon, N., Layé, S., Ferreira, G., (2014) Impairment of hippocampal-dependent memory induced by juvenile high-fat diet intake is associated with enhanced hippocampal inflammation in rats. *Brain. Behav. Immun.* 40, 9–17.

71. Bolshakov, V.Y., Siegelbaum, S.A., (1994) Postsynaptic induction and presynaptic expression of hippocampal long-term depression. *Science* 264, 1148–1152.
72. Bondarenko A., Waldeck-Weiermair M., Naghdi S., Poteser M., Malli R., Graier W.F. (2010) GPR55-dependent and -independent ion signalling in response to lysophosphatidylinositol in endothelial cells. *Br. J. Pharmacol.* 161(2):308–320.
73. Bondarenko AI, Malli R, and Graier WF. (2011a) The GPR55 agonist lysophosphatidylinositol acts as an intracellular messenger and bidirectionally modulates Ca²⁺-activated large-conductance K⁺ channels in endothelial cells. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* 461:177-189.
74. Bondarenko AI, Malli R, and Graier WF. (2011b) The GPR55 agonist lysophosphatidylinositol directly activates intermediate-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channels. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology* 462:245-255.
75. Borrelli F, Izzo AA. (2009) Role of acylethanolamides in the gastrointestinal tract with special reference to food intake and energy balance. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*; 23(1):33–49.
76. Bosch, M., Castro, J., Saneyoshi, T., Matsuno, H., Sur, M., Hayashi, Y., (2014) Structural and molecular remodeling of dendritic spine substructures during long-term potentiation. *Neuron* 82, 444–459.
77. Bosch, M., Hayashi, Y., (2012) Structural plasticity of dendritic spines. *Curr. Opin. Neurobiol.* 22, 383–388.
78. Bossert, J.M., Stern, A.L., Theberge, F.R.M., Cifani, C., Koya, E., Hope, B.T., Shaham, Y., (2011) Ventral medial prefrontal cortex neuronal ensembles mediate context-induced relapse to heroin. *Nat. Neurosci.* 14, 420–422.
79. Breiter H.C., Gasic G.P., Makris N. (2006): Imaging the neural system for motivated behavior and their dysfunction in neuropsychiatric illness. In: Deisboeck T.S., Kresh J.Y., editors. *Complex Systems Science in Biomedicine*. New York: Springer.
80. Brenes, J. C., Rodríguez, O., and Fornaguera, J. (2006). Factor analysis of forced swimming test, sucrose preference test and open field test on enriched, social and isolated reared rats. *Behavioural Brain Research*, 169, 57-65.
81. Brioni J., O'Neill A., Kim D.J.B., Buckley M., Decker M., Arneric S., (1994) Anxiolytic-like effects of the novel cholinergic channel activator ABT- 418, *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 271 353-61.
82. Brioni J.D., O'Neill A.B., Kim D.J.B., Decker M.W., (1993) Nicotinic receptor agonists exhibit anxiolytic like effects on the elevated plus-maze test, *European Journal of Pharmacology* 238(1) 1-8.
83. Brodal P. (2010). *The Central Nervous System Structure and Function*. 4° edición. Reino Unido: Oxford University Express.
84. Bromberg-Martin ES, Matsumoto M, Hikosaka O. (2010) Dopamine in motivational control: Rewarding, aversive, and alerting. *Neuron*; 68:815-834
85. Brown R.A., Kahler C.W., Zvolensky M.J., Lejuez C.W., Ramsey S.E., (2001) Anxiety sensitivity: relationship to negative affect smoking and smoking cessation in smokers with past major depressive disorder, *Addictive behaviors* 26(6) 887-99.
86. Brown, A., James; Ueno, S.; Suen, K.; Dowell, S. J.; Wise, A. (2005) Molecular identification of GPR55 as a third G protein-coupled receptor responsive to cannabinoid ligands. Symposium on the cannabinoids, Florida, USA, International Cannabinoid Research Society.

87. Brunton, L., Knollman, B., & Hilal-Dandan, R. (2017). Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 13^o edición. Goodman and Gilman'S the Pharmacological Basis of Therapeutics. McGraw-Hill Education / Medical.
88. Buffington, S. A., Huang, W., and Costa_Mattioli, M. (2014) Translational control in synaptic plasticity and cognitive dysfunction, *Annu. Rev. Neurosci.*, 37, 17-38.
89. Bystrowska, B., Smaga, I., Frankowska, M., Filip, M., (2014) Changes in endocannabinoid and N acylethanolamine levels in rat brain structures following cocaine self-administration and extinction training. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 50, 1-10.
90. Caine S.B., Negus S.S., Mello N.K., et. al. (2002) Role of dopamine D2-like receptors in cocaine self-administration: studies with D2 receptor mutant mice and novel D2 receptor antagonists. *J Neurosciences* 22: 2977–88.
91. Caine S.B., Thomsen M., Gabriel K.I., et. al. (2007) Lack of self-administration of cocaine in dopamine D1 receptor knock-out mice. *J Neurosciences* 27: 13140–50.
92. Cajigas, I. J., Will, T., and Schuman, E. M. (2010) Protein homeostasis and synaptic plasticity, *EMBO J.*, 29, 2746-2752.
93. Campolongo P, Roozendaal B, Trezza V, Cuomo V, Astarita G, Fu J, et. al. (2009) Fat-induced satiety factor oleylethanolamide enhances memory consolidation. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*; 106(19), 8027–8031.
94. Carlezon, W.A., Thome, J., Olson, V.G., Lane-Ladd, S.B., Brodtkin, E.S., Hiroi, N., Duman, R.S., Neve, R.L., Nestler, E.J., (1998) Regulation of cocaine reward by CREB. *Science* 282, 2272–2275.
95. Carlsson A. (1959) The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacological reviews* 11(2, Part 2):490-493.
96. Carter, G. G., and Wilkinson, G. S. (2015). Intranasal oxytocin increases social grooming and food sharing in the common vampire bat *Desmodus rotundus*. *Hormones and Behavior*, 75, 150-153.
97. Castañe A, Berrendero F, Maldonado R. (2005) The role of the cannabinoid system in nicotine addiction. *Pharmacol Biochem Behav*; 81:381–6.
98. Catterall WA. (2000) From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron*, 26:13–25.
99. Cayman Biomedical Research Institute (CABRI) “Cayman Chemical” <https://www.caymanchem.com/product/17641/ml-184> Consultado:15/09/2021
100. Changeux JP. (2010) Nicotine addiction and nicotinic receptors: lessons from genetically modified mice. *Nat Rev Neurosci* 11:389-401.
101. Cheeta S., Irvine E., File S.E., (2001) Social isolation modifies nicotine's effects in animal tests of anxiety, *Br J Pharmacol* 132(7) 1389-1395.
102. Chen, L. Y., Rex, C. S., Casale, M. S., Gall, C. M., & Lynch, G. (2007). Changes in synaptic morphology accompany actin signaling during LTP. *Journal of Neuroscience*, 27, 5363–5372.
103. Cheng, A., Hou, Y., and Mattson, M. P. (2010) Mitochondria and neuroplasticity, *ASN Neuro*, 2, e00045.
104. Cherif H., Argaw A., Cécyre B., Bouchard A., Gagnon J., Javadi P., Desgent S., Mackie K., Bouchard J.F. (2015) Role of GPR55 during Axon Growth and Target Innervation (1,2,3). *eNeuro*. 2 pii, ENEURO.0011-15.2015.

105. Chong, W.W., Lo, I.F., Lam, S.T., Wang, C.C., Luk, H.M., Leung, T.Y., Choy, K.W. (2014) Performance of chromosomal microarray for patients with intellectual disabilities/developmental delay, autism, and multiple congenital anomalies in a Chinese cohort. *Mol. Cytogenet.*, 7, 34.
106. Christian KM, Song H, & Ming GL (2014). Functions and dysfunctions of adult hippocampal neurogenesis. *Annual review of neuroscience* 37: 243-262.
107. Chu C. J., Huang S. M., De Petrocellis L., Bisogno T., Ewing S. A., Miller J. D., Zipkin R. E., Daddario N., Appendino G., Di Marzo V, Walker J. M. (2003) N-oleoyldopamine, a novel endogenous capsaicin-like lipid that produces hyperalgesia. *J Biol Chem* 278:13633–13639
108. Chu ZL, Carroll C, Alfonso J, et. al. (2008) A role for intestinal endocrine cell-expressed G protein-coupled receptor 119 in glycemic control by enhancing glucagon-like peptide-1 and glucose-dependent insulinotropic peptide release. *Endocrinology*; 149(5):2038–47.
109. Chu ZL, Jones RM, He H, et. al. (2007) A role for beta-cell-expressed G protein-coupled receptor 119 in glycemic control by enhancing glucose-dependent insulin release. *Endocrinology*; 148(6):2601–9.
110. Chu, Z.L. et. al. (2010) N-Oleoyldopamine enhances glucose homeostasis through the activation of GPR119. *Mol. Endocrinol.* 24, 161–170
111. Citri, A., Malenka, R.C. (2008) Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 33, 18–41.
112. Clare L, Woods RT, Moniz Cook ED, Orrell M, Spector A. (2003) Cognitive rehabilitation and cognitive training for early-stage Alzheimer's disease and vascular dementia. *Cochrane Database Syst Rev*; 4: CD003260.
113. Cluny NL, Keenan CM, Lutz B, Piomelli D, Sharkey KA. (2008) The identification of peroxisome proliferator-activated receptor alpha-independent effects of oleoylethanolamide on intestinal transit in mice. *Neurogastroenterol Motil.*
114. Colbran, R. J. (2015) Molecular mechanisms of synaptic plasticity, *J. Biol. Chem.*, 290, 28594_28595.
115. Collingridge, G.L., Kehl, S.J., McLennan, H., (1983) Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *J. Physiol. (London)* 334, 33–46.
116. Conrad, K.L., Tseng, K.Y., Uejima, J.L., Reimers, J.M., Heng, L.-J., Shaham, Y., Marinelli, M., Wolf, M.E., (2008) Formation of accumbens GluR2-lacking AMPA receptors mediates incubation of cocaine craving. *Nature* 454, 118–121.
117. Coria SM, Roura-Martinez D, Ucha M, Assis MA, Miguens M, Garcia-Lecumberri C, Higuera-Matas A, Ambrosio E. (2014) Strain differences in the expression of endocannabinoid genes and in cannabinoid receptor binding in the brain of Lewis and Fischer 344 rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*; 53:15–22.
118. Cosi, C., Mannaioni, G., Cozzi, A., Carla, V., Sili, M., Cavone, L., et. al. (2011). G-protein coupled receptor 35 (GPR35) activation and inflammatory pain: studies on the antinociceptive effects of kynurenic acid and zaprinast. *Neuropharmacology* 60, 1227–1231.
119. Costa V.D., Lang P.J., Sabatinelli D., Versace F., Bradley M.M. (2010): Emotional imagery: Assessing pleasure and arousal in the brain's reward circuitry. *Hum Brain Mapp* 31:1446 –1457.
120. Covey D.P., Roitman M.F., Garris P.A. (2014) Illicit dopamine transients: reconciling actions of abused drugs. *Trends Neurosciences* 37: 200–10.
121. Coward, P., Chan, S. D., Wada, H. G., Humphries, G. M., and Conklin, B. R. (1999). Chimeric G proteins allow a high-throughput signaling assay of Gi-coupled receptors. *Anal. Biochem.* 270, 242–248.

122. Craig AD (2002) How do you feel? Interoception: the sense of the physiological condition of the body. *Nat Rev Neurosci* 3:665–666
123. Cravatt BF, Giang DK, Mayfield SP, Boger DL, Lerner RA, Gilula NB (1996). Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. *Nature* 384:83-87.
124. Cromwell HC, and Berridge KC. (1996) Implementation of action sequences by a neostriatal site: a lesion mapping study of grooming syntax. *J Neurosci* 16:3444-3458.
125. Cromwell HC, Berridge KC, Drago J, and Levine MS. (1998) Action sequencing is impaired in D1A-deficient mutant mice. *Eur J Neurosci* 10:2426-2432.
126. D'Agostino G, La Rana G, Russo R, Sasso O, Iacono A, Esposito E, Raso GM, Cuzzocrea S, Lo Verme J, Piomelli D, Meli R, and Calignano A. (2007) Acute intracerebroventricular administration of palmitoylethanolamide, an endogenous peroxisome proliferator-activated receptor- α agonist, modulates carrageenan-induced paw edema in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 322:1137-1143.
127. D'Agostino G, Russo R, Avagliano C, Cristiano C, Meli R, Calignano A. (2012) Palmitoylethanolamide protects against the amyloid- β 25-35-induced learning and memory impairment in mice, an experimental model of Alzheimer disease. *Neuropsychopharmacology*; 37:1784–92.
128. Dahlin E, Neely AS, Larsson A, Backman L, Nyberg L. (2008) Transfer of learning after updating training mediated by the striatum. *Science*; 320: 1510–2.
129. Dajas-Bailador F, Wonnacott S. (2004) Nicotinic acetylcholine receptors and the regulation of neuronal signalling. *Trends Pharmacol Sci*; 25(6):317-24.
130. Dani JA, and de Biasi M. (2001) Cellular mechanisms of nicotine addiction. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior* 70:8.
131. Dani JA, Kosten TR, Benowitz NL, (2019) Chapter 14, The Pharmacology of Nicotine and Tobacco In: *The ASAM Principles of Addiction Medicine*. 6^o Edición, Miller SC, Fiellin DA, Rosenthal RN, Saitz R, (Eds), Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, pp. 190–207
132. Dauer W, Przedborski S. (2003) Parkinson's disease: Mechanisms and models. *Neuron*; 39:889-909
133. Davies, S.N., Lester, R.A., Reymann, K.G., Collingridge, G.L., (1989). Temporally distinct pre- and post-synaptic mechanisms maintain long-term potentiation. *Nature* 338, 500–503.
134. Davis M. (2011) NMDA receptors and fear extinction: Implications for cognitive behavioral therapy. *Dialogues Clinical Neuroscience* 13: 463–474.
135. De Chiara V, Errico F, Musella A, Rossi S, Mataluni G, Sacchetti L, et. al. (2010) Voluntary exercise and sucrose consumption enhance cannabinoid cb1 receptor sensitivity in the striatum. *Neuropsychopharmacology*; 35:374-387
136. Deacon, R. M. J., & Rawlins, J. N. P. (2006). T-maze alternation in the rodent. *Nature Protocols*, 1(1), 7–12.
137. Deliu E, Sperow M, Console-Bram L, Carter RL, Tilley DG, Kalamarides DJ, Kirby LG, Brailoiu GC, Brailoiu E, Benamar K, and Abood ME. (2015) The Lysophosphatidylinositol Receptor GPR55 Modulates Pain Perception in the Periaqueductal Gray. *Mol Pharmacol* 88(2):265-272.
138. Deng W, Aimone JB, & Gage FH (2010). New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nature reviews Neuroscience* 11: 339-350.
139. Derkach, V., Barria, A., Soderling, T.R., (1999) Ca^{2+} /calmodulin-kinase II enhances channel conductance of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96,3269–3274.

140. DeVos SL, and Miller TM. (2013) Direct intraventricular delivery of drugs to the rodent central nervous system. *J Vis Exp*:e50326.
141. Di Chiara, G. (2002). Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. *Behavioural Brain Research*, 137(1-2), 75–114.
142. Di Marzo V. (2006) A brief history of cannabinoid and endocannabinoid pharmacology as inspired by the work of British scientists. *Trends Pharmacol Sci* 27:134-140.
143. Dickinson A. (1985) Actions and habits: the development of behavioural autonomy. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B Biology Science* 308: 67–78.
144. Diering, G.H., Heo, S., Hussain, N.K., Liu, B., Haganir, R.L., (2016) Extensive phosphorylation of AMPA receptors in neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, E4920–4927.
145. Dobelis, P.; Staley, K.J.; Cooper, D.C. (2012) Lack of modulation of nicotinic acetylcholine alpha-7 receptor currents by kynurenic acid in adult hippocampal interneurons. *PLoS ONE*, 7, e41108.
146. Dolphin, A.C., Errington, M.L., Bliss, T.V., (1982) Long-term potentiation of the perforant path *in vivo* is associated with increased glutamate release. *Nature* 297,496–498.
147. Donkelaar, H. J., & Brabec, J. (2011). *Clinical neuroanatomy: Brain circuitry and its disorders*. New York: Springer. Chicago (Author-Date, 15° ed.).
148. Drake R. L., Wayne-Vogl A. & Mitchell A. W. M. (2019). *Gray’s Anatomy for Students*. 4° edición. Canadá: Elsevier.
149. Drope J., Schluger N., Cahn Z., Drope J., Hamill S., Islami F., Liber A., Nargis N., Stoklosa M., (2018) *The Tobacco Atlas* (American Cancer Society and Vital Strategies).
150. Dubreucq S, Durand A, Matias I, Benard G, Richard E, Soria-Gomez E, et. al. (2013) Ventral tegmental area cannabinoid type-1 receptors control voluntary exercise performance. *Biological psychiatry*; 73:895-903
151. Dubreucq S, Koehl M, Abrous DN, Marsicano G, Chaouloff F. (2010) CB1 receptor deficiency decreases wheel-running activity: Consequences on emotional behaviours and hippocampal neurogenesis. *Exp Neurol*; 224:106-113
152. Dunwiddie, T., & Lynch, G. (1978). Long-term potentiation and depression of synaptic responses in the rat hippocampus: localization and frequency dependency. *Journal of Physiology*, 276, 353–367.
153. Duric, V., et. al. (2013) Altered expression of synapse and glutamate related genes in post-mortem hippocampus of depressed subjects. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 16, 69–82.
154. Dvoskin LP, Crooks PA, Teng L, Green TA, and Bardo MT. (1999) Acute and chronic effects of normicotine on locomotor activity in rats: altered response to nicotine. *Psychopharmacology* 145:442-451.
155. Edwards, F., (1991) Neurobiology. LTP is a long-term problem. *Nature* 350, 271–272.
156. Edwards, S., Koob, G.F., (2010) Neurobiology of dysregulated motivational systems in drug addiction. *Future Neurol.* 5, 393–401.
157. Eichenbaum, H. (1999). The hippocampus and mechanisms of declarative memory. *Behavioural Brain Research*, 103(2), 123–133
158. Elbegdorj O., Westkaemper R.B., & Zhang Y. (2013). A homology modeling study toward the understanding of three-dimensional structure and putative pharmacological profile of the G-protein coupled receptor GPR55. *Journal of molecular graphics & modelling* 39: 50-60.
159. Elliot PJ, Chan J, Parker YM. (1986) Behavioral effects of neurotensin in the open field: structure–activity studies. *Brain Res*; 381:259–65.

160. Erdogmus S, Storch U, Danner L, Becker J, Winter M, Ziegler N, Wirth A, Offermanns S, Hoffmann C, Gudermann T, et. al. (2019) Helix 8 is the essential structural motif of mechanosensitive GPCRs. *Nat Commun* 10:5784.
161. Eröndu, N.E., Kennedy, M.B., (1985) Regional distribution of type II Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase in rat brain. *J. Neurosci.* 5, 3270–3277.
162. Esposito E, Cuzzocrea S (2013). Palmitoylethanolamide in homeostatic and traumatic central nervous system injuries. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 12:55-61.
163. Ezkurdia I, Juan D, Rodriguez JM, Frankish A, Diekhans M, Harrow J, Vazquez J, Valencia A, & Tress ML (2014) Multiple evidence strands suggest that there may be as few as 19,000 human protein-coding genes. *Hum Mol Genet* 23:5866–5878.
164. Fakhouri, L., Cook C.D., Al-Hunuti M.H., Console-Bram L.M., Hurst D.P., Spano M.B.S., et. al. (2017) 'Design, synthesis and biological evaluation of GPR55 agonists', *Bioorg Med Chem*.
165. Fallarini S, Magliulo L, Paoletti T, de Lalla C, Lombardi G. (2010) Expression of functional GPR35 in human iNKT cells. *Biochem Biophys Res Commun*;398(3):420-5.
166. Fatemi I, Abdollahi A, Shamsizadeh A, Allahtavakoli M, and Roohbakhsh A. (2020) The effect of intra-striatal administration of GPR55 agonist (LPI) and antagonist (ML193) on sensorimotor and motor functions in a Parkinson's disease rat model. *Acta neuropsychiatrica* 33:1-26.
167. Fentress J.C., (1977) The tonic hypothesis and the patterning of behavior, *Ann N Y Acad Sci.* 290 370-395.
168. Fentress, J. C. (1968). Interrupted ongoing behaviour in two species of vole (*Microtus agrestis* and *Clethrionomys britannic*). I. Response as a function of preceding activity and the context of an apparently 'irrelevant' motor pattern. *Animal Behaviour*, 16, 135-153.
169. Fernández-Rebollo, E., Pérez, O., Martínez-Bouzas, C., Cotarelo-Pérez, M.C., Garin, I., Ruibal, J.L., Pérez-Nanclares, G., Castaño, L., de Nanclares, G.P. (2009) Two cases of deletion 2q37 associated with segregation of an unbalanced translocation 2;21: choanal atresia leading to misdiagnosis of CHARGE syndrome. *Eur. J. Endocrinol.*, 160, 711-777.
170. Fifková, E., Anderson, C.L., (1981) Stimulation-induced changes in dimensions of stalks of dendritic spines in the dentate molecular layer. *Exp. Neurol.* 74,621–627.
171. Fifková, E., Van Harrevelde, A., (1977) Long-lasting morphological changes in dendritic spines of dentate granular cells following stimulation of the entorhinal area. *J.Neurocytol.* 6, 211–230.
172. Fleischman, D. A., & Gabrieli, J. D. E. (1998). Repetition priming in normal aging and Alzheimer's disease: A review of findings and theories. *Psychology and Aging*, 13(1), 88–119.
173. Ford, L. A.; Roelofs, A. J.; Anavi-Goffer, S.; Mowat, L.; Simpson, D. G.; Irving, A. J.; Rogers, M. J.; Rajnicek, A. M.; Ross, R. A. (2010) A role for L- α -lysophosphatidylinositol and GPR55 in the modulation of migration, orientation and polarisation of human breast cancer cells. *Br. J. Pharmacol.*
174. Foster, T.C., McNaughton, B.L., (1991) Long-term enhancement of CA1 synaptic transmission is due to increased quantal size, not quantal content. *Hippocampus* 1,79–91.
175. Fredriksson R, Hoglund PJ, Gloriam DE, Lagerstrom MC, Schiöth HB. (2003) Seven evolutionarily conserved human rhodopsin G protein-coupled receptors lacking close relatives. *FEBS Lett*; 554(3):381–8.
176. Frey U, Krug M, Reymann KG, Matthies H. (1988) Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region *in vitro*. *Brain Res*; 452:57–65.
177. Frey U, Morris RG. (1998) Weak before strong: dissociating synaptic tagging and plasticity-factor accounts of late-LTP. *Neuropharmacology*; 37:545–552.

178. Fu J, Gaetani S, Oveisi F, Lo Verme J, Serrano A, Rodriguez De Fonseca F, Rosengarth A, Luecke H, Di Giacomo B, Tarzia G, and Piomelli D. (2003) Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR- α . *Nature* 425(6953): 90–93.
179. Fu J, Kim J, Oveisi F, Astarita G, Piomelli D. (2008) Targeted enhancement of oleylethanolamide production in proximal small intestine induces acrossmeal satiety in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*; 295(1): R45–50.
180. Fuchsova, B., Alvarez Julia, A., Rizavi, H.S., Frasch, A.C., Pandey, G.N., (2015) Altered expression of neuroplasticity-related genes in the brain of depressed suicides. *Neuroscience* 299, 1–17.
181. Fujii, S., Saito, K., Miyakawa, H., Ito, K., Kato, H., (1991) Reversal of long-term potentiation (depotential) induced by tetanus stimulation of the input to CA1 neurons of guinea pig hippocampal slices. *Brain Res.* 555, 112–122.
182. Fukuda K, Awh E, Vogel EK. (2010) Discrete capacity limits in visual working memory. *Current Opinion in Neurobiology* 20: 177–182.
183. Gage F. H., and Muotri A. R., (2012) *Scientific American* Vol. 306, No. 3, pp. 26-31
184. Galán-Rodríguez B, Suarez J, Gonzalez-Aparicio R, et. al. (2009) Oleylethanolamide exerts partial and dose-dependent neuroprotection of substantia nigra dopamine neurons. *Neuropharmacology*; 56(3):653–64.
185. Gamaledin I, Wertheim C, Zhu AZ, Coen KM, Vemuri K, Makryannis A, Goldberg SR, and Le Foll B. (2012) Cannabinoid receptor stimulation increases motivation for nicotine and nicotine seeking. *Addict Biol* 17:47-61.
186. García-Pardo, M.P., Roger-Sanchez, C., Rodríguez-Arias, M., Miñarro, J., Aguilar, M.A., (2016) Pharmacological modulation of protein kinases as a new approach to treat addiction to cocaine and opiates. *Eur. J. Pharmacol.* 781, 10–24.
187. Gardner EL. (2005) Endocannabinoid signaling system and brain reward: Emphasis on dopamine. *Pharmacol Biochem Behav*; 81:263-284
188. Garland T, Schutz H, Chappell MA, Keeney BK, Meek TH, Copes LE, et. al. (2011) The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives. *J Exp Biol*; 214(Pt 2):206±29.
189. Gatta-Cherifi B, Cota D. (2016) New insights on the role of the endocannabinoid system in the regulation of energy balance. *Int J Obes (Lond)*; 40(2):210-9.
190. Geyer M.A., Markou A. (1995) Animal models of psychiatric disorders. In: Bloom F.E., Kupfer D.J., eds. *Psychopharmacology: the fourth generation of progress*. New York: Raven Press.
191. Gibbons TE, Pence BD, Petr G, Ossyra JM, Mach HC, Bhattacharya TK, et. al. (2014) Voluntary wheel running, but not a diet containing (-)-epigallocatechin-3-gallate and β -alanine, improves learning, memory and hippocampal neurogenesis in aged mice. *Behav Brain Res*; 272:131±40.
192. Gilbert CD, Li W, Piech V. (2009) Perceptual learning and adult cortical plasticity. *Journal Physiology* 587: 2743–2751.
193. Gilbert CD, Li W. (2012) Adult visual cortical plasticity. *Neuron* 75: 250–264.
194. Gilbert CD, Li W. (2013) Top-down influences on visual processing. *Nat Rev Neuroscience* 14: 350–363.
195. Ginó, S., Mendes, T., Maroco, J., Ribeiro, F., Schmand, B.A., De Mendonça, A., Guerreiro, M., (2010) Memory complaints are frequent but qualitatively different in young and elderly healthy people. *Gerontology* 56, 272–277.

196. Gluck, M. A., Mercado, E., & Myers, C. E. (2016). Learning and Memory. Macmillan Publishers.
197. Godlewski G., Offertáler L., Wagner J.A., Kunos G. (2009) Receptors for acylethanolamides-GPR55 and GPR119. Prostaglandins Other Lipid Mediat. 89(3-4):105–111.
198. Good CH, Lupica CR (2010) Afferent-specific AMPA receptor subunit composition and regulation of synaptic plasticity in midbrain dopamine neurons by abused drugs. J Neurosci: the Off J Soc Neurosci 30:7900–7909.
199. Gotti C, Zoli M, and Clementi F. (2006) Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance. Trends Pharmacol Sci 27:9.
200. Gowing, L. R., Ali, R. L., Allsop, S., Marsden, J., Turf, E. E., West, R., & Witton, J. (2015). Global statistics on addictive behaviours: 2014 status report. Addiction, 110(6), 904–919.
201. Graf P, Squire LR, Mandler G. (1984) The information that amnesic patients do not forget. Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory and Cognition 10: 164–178.
202. Grant J.E., Atmaca M., Fineberg N.A., et. al. (2014) Impulse control disorders and “behavioural addictions” in the ICD-11. World Psychiatry. 13(2): 125–127.
203. Greasley, P. J.; Åstrand, A.; Linblom, A.; Sjöqvist, P.-O.; Hjort, S.; Sjögren, S. (2008) A role for GPR55 in mediating blood pressure responses. Symposium on the cannabinoids, Aviemore, Scotland, International Cannabinoid Research Society.
204. Gross R. (2010) Psychology: The science of mind and behaviour 6° edición, Hachette UK.
205. Guerrero-Alba R, Barragan-Iglesias P, Gonzalez-Hernandez A, Valdez-Morales EE, Granados-Soto V, Condes-Lara M, Rodriguez MG, and Marichal-Cancino BA. (2018) Some Prospective Alternatives for Treating Pain: The Endocannabinoid System and Its Putative Receptors GPR18 and GPR55. Front Pharmacol 9:1496.
206. Guo J, Williams DJ, Puhl HL, 3rd, Ikeda SR. (2008) Inhibition of N-type calcium channels by activation of GPR35, an orphan receptor, heterologously expressed in rat sympathetic neurons. J Pharmacol Exp Ther;324(1):342-51.
207. Guzmán M, LoVerme J, Fu J, Oveisi F, Blazquez C, Piomelli D. (2004) Oleoylethanolamide stimulates lipolysis by activating the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR-alpha). J Biol Chem; 279(27): 27849–54.
208. Guzmán-Rodríguez S, Chávez-Reyes J, Vázquez-León P, Soriano-Ursúa MA, Rosalez MN, Allende G, and Marichal-Cancino BA. (2021) 1-Boc-Piperidine-4-Carboxaldehyde Prevents Binge-Eating Behaviour and Anxiety in Rats. Pharmacology:1-11.
209. Hagger-Johnson, G., Sabia, S., Brunner, E.J., Shipley, M., Bobak, M., Marmot, M.G., Kivimaki, M., Singh-Manoux, A., (2013) Combined impact of smoking and heavy alcohol use on cognitive decline in early old age: Whitehall II prospective cohort study. Br. J. Psychiatry 203, 120–5.
210. Hall WJ, Chapman MV, Lee KM, Merino YM, Thomas TW, Payne BK, Eng E, Day SH, Coyne-Beasley T. (2015) Implicit Racial/Ethnic Bias Among Health Care Professionals and Its Influence on Health Care Outcomes: A Systematic Review. Am J Public Health; 105(12):e60-76.
211. Hall, C.S., (1934). Emotional behavior in the rat: I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. J. Comp. Psychol. 18, 385–403.
212. Hamann J, Aust G, Araç D, Engel FB, Formstone C, Fredriksson R, Hall RA, Harty BL, Kirchhoff C, Knapp B, et. al. (2015) International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCIV. Adhesion G protein-coupled receptors. Pharmacol Rev 67:338–367.

213. Hamann SB, Ely TD, Hoffman JM, Kilts CD. (2002) Ecstasy and agony: Activation of the human amygdala in positive and negative emotion. *Psychology Science* 13: 135–141.
214. Han J, Liu Z, Ren W, Zhang X (2011) Counteractive effects of cannabinoid and nicotine -addictive behavior. *NeuroReport* 22:181–184.
215. Hanno PM. (2016) Bladder pain syndrome (interstitial cystitis) and related disorders. In: Wein AJ, Kavoussi LR, Partin AW, Peters CA, eds. *Campbell-Walsh Urology*. Philadelphia: Elsevier.
216. Hansen, H.S., (2010) Palmitoylethanolamide and other anandamide congeners. Proposed role in the diseased brain. *Exp. Neurol.* 224, 48-55.
217. Hansen, H.S., Diep, T.A., (2009) N-acylethanolamines, anandamide and food intake. *Biochem. Pharmacol.* 78, 553-560.
218. Hanson, P.I., Kapiloff, M.S., Lou, L.L., Rosenfeld, M.G., Schulman, H., (1989) Expression of a multifunctional Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase and mutational analysis of its autoregulation. *Neuron* 3, 59–70.
219. Harris, K.M., Kater, S.B., (1994) Dendritic spines: cellular specializations imparting both stability and flexibility to synaptic function. *Annu. Rev. Neurosci.* 17,341–371.
220. Hasegawa Y, Erickson JR, Goddard GJ, Yu S, Liu S, Cheng KW, Eder A, Bando K, Aoki J, Jarosz R, Schrier AD, Lynch KR, Mills GB, and Fang X. (2003) Identification of a phosphothionate analogue of lysophosphatidic acid (LPA) as a selective agonist of the LPA3 receptor. *J Biol Chem* 278:11962-11969.
221. Hauer D, Schelling G, Gola H, Campolongo P, Morath J, Roozendaal B, et. al. (2013) Plasma concentrations of endocannabinoids and related primary fatty acid amides in patients with post-traumatic stress disorder. *PLoS One*; 8:627–41.
222. Hauser AS, Attwood MM, Rask-Andersen M, Schiöth HB, and Gloriam DE (2017) Trends in GPCR drug discovery: new agents, targets and indications. *Nat Rev Drug Discov* 16:829–842.
223. Hayashi, Y. (2021). Molecular mechanism of hippocampal long-term potentiation – Towards multiscale understanding of learning and memory. *Neuroscience Research*.
224. Hayashi, Y., Majewska, A.K., (2005) Dendritic spine geometry: functional implication and regulation. *Neuron* 46, 529–532.
225. Hayashi, Y., Shi, S.H., Esteban, J.A., Piccini, A., Poncer, J.C., Malinow, R., (2000) Driving AMPA receptors into synapses by LTP and CaMKII: requirement for GluR1 and PDZ domain interaction. *Science* 287, 2262–2267.
226. Hayley, S., and Litteljohn, D. (2013) Neuroplasticity and the next wave of antidepressant strategies, *Front. Cell. Neurosci.*, 7, 218.
227. Hebb, D.O. (1949) *Organization of Behavior*. Wiley, New York.
228. Hell, J.W., (2014) CaMKII: claiming center stage in postsynaptic function and organization. *Neuron* 81, 249–265.
229. Henstridge CM, Balenga NA, Ford LA, Ross RA, Waldhoer M, and Irving AJ. (2009) The GPR55 ligand L-alpha-lysophosphatidylinositol promotes RhoA-dependent Ca²⁺ signaling and NFAT activation. *Faseb j* 23:183-193.
230. Henstridge CM, Balenga NA, Schröder R, Kargl JK, Platzer W, Martini L, Arthur S, Penman J, Whistler JL, Kostenis E, Waldhoer M, and Irving AJ. (2010) GPR55 ligands promote receptor coupling to multiple signalling pathways. *Br J Pharmacol* 160:604-614.

231. Heynen-Genel S., Dahl R., Shi S., Milan L., Hariharan S., Sergienko E., et. al. (2010). Screening for Selective Ligands for GPR55 - Antagonists. In Probe Reports from the NIH Molecular Libraries Program. National Center for Biotechnology Information (US): Bethesda (MD).
232. Heynen-Genel, S., Dahl, R., Shi, S., Sauer, M., Hariharan, S., Sergienko, E., Dad, S., Chung, T. D. Y., Stonich, D., Su, Y., Zhao, P., Caron, M. G., Abood, M. E. and Barak, L. S. (2011). Selective GPR35 Antagonists - Probe 3. Probe Reports from the NIH Molecular Libraries Program. Bethesda (MD).
233. Hilger A., Schramm C., Pennimpede T., Wittler L., Dworschak G. C., Bartels E., et al. (2013). De novo microduplications at 1q41, 2q37.3, and 8q24.3 in patients with VATER/VACTERL association. *Eur. J. Hum. Genet.* 21 1377–1382
234. Hill, J. D., Zuluaga-Ramirez, V., Gajghate, S., Winfield, M., & Persidsky, Y. (2018). Activation of GPR55 increases neural stem cell proliferation and promotes early adult hippocampal neurogenesis. *British Journal of Pharmacology*, 175(16), 3407–3421.
235. Hilmas, C.; Pereira, E.F.; Alkondon, M.; Rassoulpour, A.; Schwarcz, R.; Albuquerque, E.X. (2001) The brain metabolite kynurenic acid inhibits alpha7 nicotinic receptor activity and increases non-alpha7 nicotinic receptor expression: Physiopathological implications. *J. Neurosci.* 21, 7463–7473.
236. Hinds, H.L., Tonegawa, S., Malinow, R., (1998) CA1 long-term potentiation is diminished but present in hippocampal slices from alpha-CaMKII mutant mice. *Learn. Mem.* 5, 344–354.
237. Hine R. (2019) *A dictionary of biology.* 8^o edición. Oxford University Press
238. Ho WSV, Barrett DA, and Randall MD. (2008) 'Entourage' effects of N-palmitoylethanolamide and N-oleoylethanolamide on vasorelaxation to anandamide occur through TRPV1 receptors. *British Journal of Pharmacology* 155:837-846.
239. Hotsenpiller, G., Wolf, M.E., (2003) Baclofen attenuates conditioned locomotion to cues associated with cocaine administration and stabilizes extracellular glutamate levels in rat nucleus accumbens. *Neuroscience* 118, 123–134.
240. Hughes J.R., (2007) Effects of abstinence from tobacco: valid symptoms and time course, *Nicotine & tobacco research: official journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco* 9(3) 315-27.
241. Hughes J.R., Gust S.W., Skoog K., Keenan R.M., Fenwick J.W., (1991) Symptoms of tobacco withdrawal. A replication and extension, *Archives of general psychiatry* 48(1) 52-9.
242. Hughes J.R., Higgins S.T., Bickel W.K., (1994) Nicotine withdrawal versus other drug withdrawal syndromes: similarities and dissimilarities, *Addiction (Abingdon, England)* 89(11) 1461-70.
243. Hughes ME, Waite LJ, Hawkey LC, Cacioppo JT. (2004) A Short Scale for Measuring Loneliness in Large Surveys: Results From Two Population-Based Studies. *Res Aging*; 26(6):655-672.
244. Hunt, D. L., and Castillo, P. E. (2012) Synaptic plasticity of NMDA receptors: mechanisms and functional implications, *Curr. Opin. Neurobiol.*, 22, 496-508.
245. Huntley J, Bor D, Hampshire A, Owen A, Howard R. (2011) Working memory task performance and chunking in early Alzheimer's disease. *Br J Psychiatry*; 198: 398–403.
246. Huntley JD, Howard RJ. (2010) Working memory in early Alzheimer's disease: a neuropsychological review. *Int J Geriatr Psychiatry*; 25: 121–32.
247. Hurst K., Badgley C., Ellsworth T., Bell S., Friend L., Prince B., et. al. (2017). A putative lysophosphatidylinositol receptor GPR55 modulates hippocampal synaptic plasticity. *Hippocampus* 27(9):985-998.

248. Huston, J. P., Silva, M. A. de S., Topic, B., & Müller, C. P. (2013). What's conditioned in conditioned place preference? *Trends in Pharmacological Sciences*, 34(3), 162–166.
249. Iannotti FA, Di Marzo V, Petrosino S (2016). Endocannabinoids and endocannabinoid-related mediators: Targets, metabolism and role in neurological disorders. *Prog Lipid Res* 62:107-128.
250. Imielinski, M., Baldassano, R. N., Griffiths, A., Russell, R. K., Annese V., Dubinsky, M., et. al. (2009). Common variants at five new loci associated with early-onset inflammatory bowel disease. *Nat. Genet.* 41, 1335–1340. MacKenzie, A. E., Lappin, J. E., Taylor, D. L., Nicklin, S. A., and Milligan, G. (2011). GPR35 as a novel therapeutic target. *Front. Endocrinol. (Lausanne)* 2:68.
251. Insausti R, Amaral DG (2008) Entorhinal cortex of the monkey: IV. Topographical and laminar organization of cortical afferents. *J Comp Neurol* 509:608–641
252. Insausti R, Amaral DG (2012) Hippocampal formation. In: Mai JK, Paxinos G (eds) *The human nervous system*, 3rd edn. Elsevier, Amsterdam, pp 896–942
253. Insausti R, Amaral DG, Cowan WM (1987a) The entorhinal cortex of the monkey. II Cortical afferents. *J Comp Neurol* 264:356–395
254. Insausti R, Amaral DG, Cowan WM (1987b) Ibid. III. Subcortical afferents. *J Comp Neurol* 264:396–408
255. Insausti R, Muñoz-López M, Insausti AM, Artacho-Pérula E (2017) The human periallocortex: layer pattern in presubiculum, parasubiculum and entorhinal cortex. A review. *Front Neuroanat* 11:84
256. Instituto Nacional de Estadística y Geografía <https://www.inegi.org.mx/> (30 noviembre 2021)
257. Irvine E., Cheeta S., File S., (2001) Development of tolerance to nicotine's anxiogenic effect in the social interaction test, *Brain research* 894 95-100.
258. Isaev, N. K., Stelmashook, E. V., and Genrikhs, E. E. (2017) Role of nerve growth factor in plastic reorganizations of forebrain cholinergic neurons, *Biochemistry (Moscow)*, 82, 291 -300.
259. James, W. (1890) Chap. IV, Habits, *The Principles of Psychology*, Henry Holt and Company, New York, pp. 104-127.
260. Jeneson A, Squire LR. (2012) Working memory, long-term memory, and medial temporal lobe function. *Learn Mem* 19: 15–25.
261. Jenkins L, Alvarez-Curto E, Campbell K, de Munnik S, Canals M, Schlyer S, et al. (2011) Agonist activation of the G protein-coupled receptor GPR35 involves transmembrane domain III and is transduced via $G\alpha_{13}$ and β -arrestin-2. *Br J Pharmacol.* 2011;162(3):733-48.
262. Jenkins, L.; Brea, J.; Smith, N.J.; Hudson, B.D.; Reilly, G.; Bryant, N.J.; Castro, M.; Loza, M.I.; Milligan, G. (2010) Identification of novel species-selective agonists of the G-protein-coupled receptor GPR35 that promote recruitment of β -arrestin-2 and activate $G\alpha_{13}$. *Biochem. J.* 432, 451–459.
263. Jha P. (2020) The hazards of smoking and the benefits of cessation: a critical summation of the epidemiological evidence in high-income countries. *Elife*; 9:e49979.
264. Johns DG, Behm DJ, Walker DJ, Ao Z, Shapland EM, Daniels DA, Riddick M, Dowell S, Staton PC, Green P, Shabon U, Bao W, Aiyar N, Yue TL, Brown AJ, Morrison AD, and Douglas SA. (2007) The novel endocannabinoid receptor GPR55 is activated by atypical cannabinoids but does not mediate their vasodilator effects. *Br J Pharmacol* 152:825-831.
265. Josselyn, S.A., Shi, C., Carlezon, W.A., Neve, R.L., Nestler, E.J., Davis, M., (2001) Long-term memory is facilitated by cAMP response element-binding protein overexpression in the amygdala. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 21, 2404–2412.

266. Justinova, Z.; Mascia, P.; Wu, H.Q.; Secci, M.E.; Redhi, G.H.; Panlilio, L.V.; Scherma, M.; Barnes, C.; Parashos, A.; Zara, T.; et. al. (2013) Reducing cannabinoid abuse and preventing relapse by enhancing endogenous brain levels of kynurenic acid. *Nat. Neurosci.* 16, 1652–1661.
267. Kallendrusch S., Kremzow S., Nowicki M., Grabiec U., Winkelmann R., Benz A., Kraft R., Bechmann I., Dehghani F., Koch M. (2013) The G protein-coupled receptor 55 ligand $\text{l-}\alpha\text{-lysophosphatidylinositol}$ exerts microglia-dependent neuroprotection after excitotoxic lesion. *Glia.* 61(11):1822–1831.
268. Kalueff A.V., Tuohimaa P., (2005a) Contrasting grooming phenotypes in three mouse strains markedly different in anxiety and activity (129S1, BALB/c and NMRI), *Behav Brain Res.* 160 1-10.
269. Kalueff A.V., Tuohimaa P., (2005b) The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: Potential utility for neurobehavioural stress research, *Journal of Neuroscience Methods.* 143(2) 169-177.
270. Kalueff AV, Aldridge JW, LaPorte JL, Murphy DL, and Tuohimaa P. (2007) Analyzing grooming microstructure in neurobehavioral experiments. *Nat Protocol* 2:2538-2544.
271. Kalueff, A. V., Stewart, A. M., Song, C., Berridge, K. C., Graybiel, A. M., and Fentress, J. C. (2016). Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(1), 45-59.
272. Kandel, E. R., Koester, J. D., Mack, S. H., & Siegelbaum, S. A. (2021). *Principles of Neural Science*, 6^o edición. McGraw-Hill Education / Medical.
273. Kandel, E.R., Dudai, Y., Mayford, M.R. (2014) *The molecular and systems biology of memory.* Cell 157, 163–186.
274. Kapur A, Zhao P, Sharir H, Bai Y, Caron MG, Barak LS, and Abood ME. (2009) Atypical responsiveness of the orphan receptor GPR55 to cannabinoid ligands. *J Biol Chem* 284:29817-29827.
275. Kargl J, Balenga N, Parzmair GP, Brown AJ, Heinemann A, and Waldhoer M. (2012) The cannabinoid receptor CB1 modulates the signaling properties of the lysophosphatidylinositol receptor GPR55. *J Biol Chem* 287:44234-44248.
276. Kato, K., Clark, G.D., Bazan, N.G., Zorumski, C.F., (1994) Platelet-activating-factor as a potential retrograde messenger in CA1 hippocampal long-term potentiation. *Nature* 367, 175–179.
277. Kauer, J.A., Malenka, R.C., Nicoll, R.A., (1988) A persistent postsynaptic modification mediates long-term potentiation in the hippocampus. *Neuron* 1, 911–917.
278. Kauer, J.A., Malenka, R.C., Perkel, D.J., Nicoll, R.A., (1990) Postsynaptic mechanisms involved in long-term potentiation. *Adv. Exp. Med. Biol.* 268, 291–299.
279. Kelley, A.E., (2004) Memory and addiction. *Neuron* 44, 161–179.
280. KENHUB ["https://www.kenhub.com/es/library/anatomia-es/hemisferios-cerebrales"](https://www.kenhub.com/es/library/anatomia-es/hemisferios-cerebrales) Consultado: 30/09/2021
281. Kenny, P.J., Gasparini, F., Markou, A., (2003a) Group II metabotropic and alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate (AMPA)/kainite glutamate receptors regulate the deficit in brain reward function associated with nicotine withdrawal in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 306, 1068–1076.
282. Kenny, P.J., Paterson, N.E., Boutrel, B., Semenova, S., Harrison, A.A., Gasparini, F., Koob, G.F., Skoubis, P.D., Markou, A., (2003b) Metabotropic glutamate 5 receptor antagonist MPEP decreased nicotine and cocaine self-administration but not nicotine and cocaine-induced facilitation of brain reward function in rats. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1003, 415–418.

283. Khound R, Taher J, Baker C, Adeli K, Su Q. (2017) GLP-1 elicits an intrinsic gut-liver metabolic signal to ameliorate diet-induced VLDL overproduction and insulin resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*;37(12):2252–9.
284. Kida, S., Josselyn, S.A., Peña de Ortiz, S., Kogan, J.H., Chevere, I., Masushige, S., Silva, A.J., (2002) CREB required for the stability of new and reactivated fear memories. *Nat. Neurosci.* 5, 348–355
285. Kim MJ, Park SJ, Nam SY, Im DS. (2019) Lodoxamide Attenuates Hepatic Fibrosis in Mice: Involvement of GPR35. *Biomol Ther (Seoul)*; 28(1):92-7.
286. Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. (2019). PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Res.*, 49(D1), D1388–D1395. “PubChem CID 89594” <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nicotine> Consultado: 12/12/2020.
287. Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. (2019). PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Res.*, 49(D1), D1388–D1395. “PubChem CID 5284430” <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5284430> Consultado: 17/06/2021.
288. Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. (2019). PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Res.*, 49(D1), D1388–D1395. “PubChem CID 1261822” <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1261822> Consultado: 12/12/2020.
289. Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. (2019). PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Res.*, 49(D1), D1388–D1395. “PubChem CID 4671” <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Palmitoylethanolamide> Consultado: 14/08/2021.
290. Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. (2019). PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Res.*, 49(D1), D1388–D1395. “PubChem CID 44564” <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Lodoxamide> Consultado: 23/05/2021.
291. Klingberg T. (2010) Training and plasticity of working memory. *Trends Cogn Sci*; 14: 317–24.
292. Kolakowski, L.F. Jr (1994) GCRDb: a G-protein-coupled receptor database. *Receptors Channels*, 2: 1–7.
293. Komorowska J, and Pellis SM. (2004) Regulatory mechanisms underlying novelty-induced grooming in the laboratory rat. *Behavior Processes* 67:287-293.
294. Konorski, J. (1968) *Conditioned Reflexes and Neuron Organization*, Facsimile reprint of the 1948, Cambridge Biological Studies Series, Cambridge University Press, p. 89.
295. Koob G.F., Le Moal M. (2001) Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology* 24: 97–129.
296. Koob G.F., Le Moal M. (2008) Addiction and the brain antireward system. *Annu Rev Psychol* 59: 29–53.
297. Koob GF, Stinus L, Le Moal M, Bloom FE. (1989) Opponent process theory of motivation: neurobiological evidence from studies of opiate dependence. *Neurosci Biobehav Rev.*; 13:135–140.
298. Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2016) Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *The Lancet Psychiatry*, 3(8), 760–773.
299. Koob, G.F. and Le Moal, M. (1997) Drug Abuse: Hedonic Homeostatic Dysregulation. *Science*, 278: 52-58

300. Koob, G.F., Roberts, A.J., Schulteis, G., Parsons, L.H., Heyser, C.J., Hyytiä, P., Merlo-Pich, E., Weiss, F., (1998) Neurocircuitry targets in ethanol reward and dependence. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 22, 3–9.
301. Kopp, C., Misslin, R., Vogel, E., Rettori, M.C., Delagrangé, P., Guardiola-Lemaître, B., (1997). Effects of day-length variations on emotional responses toward unfamiliarity in Swiss mice. *Behav. Proc.* 41, 151–157.
302. Kotsikorou E., Madrigal K.E., Hurst D.P., Sharir H., Lynch D.L., Heynen-Genel S., et. al. (2011) Identification of the GPR55 agonist binding site using a novel set of high-potency GPR55 selective ligands. *Biochemistry.* 50(25):5633-47.
303. Kristjánsson, Á., & Campana, G. (2010). Where perception meets memory: A review of repetition priming in visual search tasks. *Attention, Perception, & Psychophysics*, 72(1), 5–18.
304. Krolak-Salmon P, Henaff MA, Isnard J, Tallon-Baudry C, Guenot M, Vighetto A et. al. (2003) An attention modulated response to disgust in human ventral anterior insula. *Ann Neurol* 53:446–457
305. Kullmann, D.M., Nicoll, R.A., (1992) Long-term potentiation is associated with increases in quantal content and quantal amplitude. *Nature* 357, 240–244.
306. Lambert, D.M., Vandevoorde, S., Diependaele, G., Govaerts, S.J., Robert, A.R., (2001) Anticonvulsant activity of N-palmitoylethanolamide, a putative endocannabinoid, in mice. *Epilepsia* 42 (3), 321–327.
307. Lan H, Vassileva G, Corona A, et. al. (2009) GPR119 is required for physiological regulation of glucagon-like peptide-1 secretion but not for metabolic homeostasis. *J Endocrinol*; 201(2):219–30.
308. Larkman, A., Hannay, T., Stratford, K., Jack, J., (1992) Presynaptic release probability influences the locus of long-term potentiation. *Nature* 360, 70–73.
309. 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. USA.* 105(7):2699–2704.
310. Lauffer, L. M., Iakoubov, R., and Brubaker, P. L. (2009). GPR119 Is Essential for Oleoylethanolamide-Induced Glucagon-Like Peptide-1 Secretion from the Intestinal Enteroendocrine L-Cell. *Diabetes*, 58(5), 1058–1066.
311. Le Foll B, Forget B, Aubin HJ, and Goldberg SR. (2008) Blocking cannabinoid CB1 receptors for the treatment of nicotine dependence: insights from pre-clinical and clinical studies. *Addict Biol* 13:239-252.
312. Leal, G., Comprido, D., and Duarte, C. B. (2014) BDNF-induced local protein synthesis and synaptic plasticity, *Neuropharmacology*, 76 (Pt. C), 639-656.
313. LeDoux J. (2014) Coming to terms with fear. *Proceedings of the National Academy Science* 111: 2871–2878.
314. Leroy C., Landais E., Briault S., David A., Tassy O., Gruchy N., Delobel B., Grégoire M.J., et. al. (2013) The 2q37-deletion syndrome: an update of the clinical spectrum including overweight, brachydactyly and behavioural features in 14 new patients. *Eur. J. Hum. Genet.* 21(6):602–612.
315. Lett BT, Grant VL, Koh MT. (2001) Naloxone attenuates the conditioned place preference induced by wheel running in rats. *Physiol Behav*; 72:355-358
316. Lever C, Burton S, and O'Keefe J. (2006) Rearing on hind legs, environmental novelty, and the hippocampal formation. *Rev Neurosci* 17:111-133.
317. Lightfoot JT, DE Geus EJC, Booth FW, Bray MS, DEN Hoed M, Kaprio J, et. al. (2018) Biological/Genetic Regulation of Physical Activity Level: Consensus from GenBioPAC. *Med Sci Sports Exerc*; 50(4):863±73.
318. Liljeholm M, O'Doherty JP. (2012) Contributions of the striatum to learning, motivation, and performance: An associative account. *Trends in Cognitive Science* 16: 467–475.

319. Lindholm S, Ploj K, Franck J, Nylander I. (2000) Repeated ethanol administration induces short- and long-term changes in enkephalin and dynorphin tissue concentrations in rat brain. *Alcohol*. 22:165–171.
320. Lisman, J., Yasuda, R., Raghavachari, S., (2012) Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation. *Nat. Rev. Neurosci*. 13, 169–182.
321. Liu B., Song S., Jones P.M., Persaud S.J. (2015) GPR55: from orphan to metabolic regulator? *Pharmacol. Ther.*;145:35–42.
322. Liu J, Tao X, Liu F, Hu Y, Xue S, Wang Q, et al. (2019) Behavior and Hippocampal Epac Signaling to Nicotine CPP in Mice. *Translational neuroscience*; 10:254-9.
323. Liu Z, Han J, Jia L, Maillet JC, Bai G, Xu L, Jia Z, Zheng Q, Zhang W, Monette R, Merali Z, Zhu Z, Wang W, Ren W, Zhang X (2010) Synaptic neurotransmission depression in ventral tegmental dopamine neurons and cannabinoid-associated addictive learning. *PloS one* 5: e15634.
324. Liu, Q., Yu, J., Li, X. et al. (2021) Cannabinoid receptor GPR55 activation blocks nicotine use disorder by regulation of AMPAR phosphorylation. *Psychopharmacology* 238, 3335–3346.
325. Lledo, P.M., Hjelmstad, G.O., Mukherji, S., Soderling, T.R., Malenka, R.C., Nicoll, R.A., (1995) Calcium/calmodulin-dependent kinase II and long-term potentiation enhance synaptic transmission by the same mechanism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92, 11175–11179.
326. Lo Verme J, Fu J, Astarita G, et al. (2005) The nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor- α mediates the anti-inflammatory actions of palmitoylethanolamide. *Mol Pharmacol*; 67(1):15–9.
327. Lømo, T. (1966). Frequency potentiation of excitatory synaptic activity in the dentate area of the hippocampal formation [abstract]. *Acta Physiologica Scandinavica*, 68, 128.
328. Lovinger, D.M., Partridge, J.G., Tang, K.-C., (2003) Plastic control of striatal glutamatergic transmission by ensemble actions of several neurotransmitters and targets for drugs of abuse. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1003, 226–240.
329. Luchicchi A, Lecca S, Carta S, Pillolla G, Muntoni AL, Yasar S, Goldberg SR, and Pistis M. (2010) Effects of fatty acid amide hydrolase inhibition on neuronal responses to nicotine, cocaine and morphine in the nucleus accumbens shell and ventral tegmental area: involvement of PPAR- α nuclear receptors. *Addict Biol* 15:277-288.
330. Luo, L. (2020). *Principles of Neurobiology*. Amsterdam University Press.
331. Lupica CR, Riegel AC. (2005) Endocannabinoid release from midbrain dopamine neurons: A potential substrate for cannabinoid receptor antagonist treatment of addiction. *Neuropharmacology*; 48:1105-1116
332. Lüscher, C., Malenka, R.C., (2011) Drug-evoked synaptic plasticity in addiction: from molecular changes to circuit remodeling. *Neuron* 69, 650–663.
333. Lv X, Liu J, Shi Q, Tan Q, Wu D, Skinner JJ, Walker AL, Zhao L, Gu X, Chen N, et al. (2016) *In vitro* expression and analysis of the 826 human G protein-coupled receptors. *Protein Cell* 7:325–337.
334. Ma L, Wu YM, Guo YY, Yang Q, Feng B, Song Q, Liu SB, Zhao DQ, and Zhao MG. (2013) Nicotine addiction reduces the large-conductance Ca^{2+} -activated potassium channels expression in the nucleus accumbens. *Neuromolecular Med* 15:227-237.
335. MacKenzie, A. E., Caltabiano, G., Kent, T. C., Jenkins, L., McCallum, J. E., Hudson, B. D., Nicklin, S. A., Fawcett, L., Markwick, R., Charlton, S. J. and Milligan, G. (2014). "The antiallergic mast cell stabilizers lodoxamide and bufrolin as the first high and equipotent agonists of human and rat GPR35." *Mol Pharmacol* 85(1): 91-104.

336. Maldonado R, Valverde O, Berrendero F. (2006) Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. *Trends Neurosci*; 29(4):225-32.
337. Malenka, R.C., Kauer, J.A., Perkel, D.J., Mauk, M.D., Kelly, P.T., Nicoll, R.A., Waxham, M.N., (1989) An essential role for postsynaptic calmodulin and protein kinase activity in long-term potentiation. *Nature* 340, 554–557.
338. Malenka, R.C., Kauer, J.A., Zucker, R.S., Nicoll, R.A., (1988) Postsynaptic calcium is sufficient for potentiation of hippocampal synaptic transmission. *Science* 242,81–84.
339. Malin D.H., Lake J.R., Newlin-Maultsby P., Roberts L.K., Lanier J.G., Carter V.A., Cunningham J.S., Wilson O.B., (1992) Rodent model of nicotine abstinence syndrome, *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 43(3) 779-84.
340. Malinow, R., Madison, D.V., Tsien, R.W., (1988) Persistent protein kinase activity underlying long-term potentiation. *Nature* 335, 820–824.
341. Malinow, R., Schulman, H., Tsien, R.W., (1989) Inhibition of postsynaptic PKC or CaMKII blocks induction but not expression of LTP. *Science* 245, 862–866.
342. Malinow, R., Tsien, R.W., (1990) Presynaptic enhancement shown by whole-cell recordings of long-term potentiation in hippocampal slices. *Nature* 346,177–180.
343. Manabe, T., Renner, P., Nicoll, R.A., (1992) Postsynaptic contribution to long-term potentiation revealed by the analysis of miniature synaptic currents. *Nature* 355, 50–55.
344. Mansvelder HD, McGehee DS. (2000) Long-term potentiation of excitatory inputs to brain reward areas by nicotine. *Neuron*; 27(2):349-57.
345. Maravillas-Montero, J. L., Burkhardt, A. M., Hevezi, P. A., Carnevale, C. D., Smit, M. J., and Zlotnik, A. (2015). Cutting edge: GPR35/CXCR8 is the receptor of the mucosal chemokine CXCL17. *J. Immunol.* 194, 29–33.
346. Marco EM, Viveros MP. Implicación funcional del sistema cannabinoide endógeno en la homeostasis emocional [Functional role of the endocannabinoid system in emotional homeostasis]. *Rev Neuro*; 48(1):20-6.
347. Marichal-Cancino B.A., Altamirano-Espinoza A.H., Manrique-Maldonado G., MaassenVanDenBrink A., Villalón C.M. (2014) Role of pre-junctional CB1, but not CB2, TRPV1 or GPR55 receptors in anandamide-induced inhibition of the vasodepressor sensory CGRPergic outflow in pithed rats. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 114(3):240–247.
348. Marichal-Cancino B.A., Sánchez-Fuentes A., Méndez-Díaz M., Ruiz-Contreras A.E., Prospéro-García O. (2016) Blockade of GPR55 in the dorsolateral striatum impairs performance of rats in a T-maze paradigm. *Behav. Pharmacol.*; 27(4):393–396
349. Marichal-Cancino BA, Fajardo-Valdez A, Ruiz-Contreras AE, Mendez-Diaz M, and Prospero-Garcia O. (2017) Advances in the Physiology of GPR55 in the Central Nervous System. *Curr Neuropharmacol* 15:771-778.
350. Marichal-Cancino BA, Fajardo-Valdez A, Ruiz-Contreras AE, Mendez-Diaz M, and Prospero-Garcia O. (2018) Possible role of hippocampal GPR55 in spatial learning and memory in rats. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 78:41-50.
351. Marichal-Cancino BA, González-Hernández A, MaassenVanDenBrink A, Ramírez-San Juan E, and Villalón CM. (2020) Potential Mechanisms Involved in Palmitoylethanolamide-Induced Vasodepressor Effects in Rats. *Journal of Vascular Research*.

352. Marichal-Cancino BA, Manrique-Maldonado G, Altamirano-Espinoza AH, Ruiz-Salinas I, Gonzalez-Hernandez A, Maassenvandenbrink A, and Villalon CM. (2013) Analysis of anandamide- and lysophosphatidylinositol-induced inhibition of the vasopressor responses produced by sympathetic stimulation or noradrenaline in pithed rats. *Eur J Pharmacol* 721:168-177.
353. Marieb E. N., Hoehn K. (2006) *Human Anatomy & Physiology* 7^o edición. Pearson Prentice Hall
354. Marieb, E. N., & Hoehn, K. (2016). *Human Anatomy & Physiology* (Global 10.a ed.). Hallbergmoos, Alemania: Pearson.
355. Martin J. D., (2020) *Neuroanatomy Text and Atlas* 5^o edición, USA, McGraw Hill
356. Martin SA, Dantzer R, Kelley KW, Woods JA. (2013) Voluntary wheel running does not affect lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in young adult and aged mice. *Neuroimmunomodulation*; 21:52–63.
357. Martin, J. G., and Réale, D. (2008). Temperament, risk assessment and habituation to novelty in eastern chipmunks, *Tamias striatus*. *Animal Behaviour*, 75(1), 309-318.
358. Martínez-Pinilla E., Reyes-Resina I., Oñatibia-Astibia A., Zamarbide M., Ricobaraza A., Navarro G., Moreno E., Dopeso-Reyes I.G., Sierra S., Rico A.J., Roda E., Lanciego J.L., Franco R. (2014) CB1 and GPR55 receptors are co-expressed and form heteromers in rat and monkey striatum. *Exp. Neurol.* 261:44–52.
359. Martini, F., & Bartholomew, E. F. (2020). *essetianls of anatomy and physiology* (8.a ed.). Hallbergmoos, Alemania: Pearson.
360. Mascia, P., Pistis, M., Justinova, Z., Panlilio, L.V, Luchicchi, A., Lecca, S., Scherma, M., Fratta, W., Fadda, P., Barnes, C., Redhi, G.H., Yasar, S., Le Foll, B., Tanda, G., Piomelli, D., Goldberg, S.R., (2011) Blockade of nicotine reward and reinstatement by activation of alpha-type peroxisome proliferator-activated receptors. *Biol. Psychiatry* 69, 633-641.
361. Maskos, U., Molles, B. E., Pons, S., Besson, M., Guiard, B. P., et. al. (2005). Nicotine reinforcement and cognition restored by targeted expression of nicotinic receptors. *Nature*, 436(7047), 103–107.
362. Mattace-Raso G, Russo R, Calignano A, and Meli R. (2014) Palmitoylethanolamide in CNS health and disease. *Pharmacological Research* 86:32-41.
363. Mayford, M., Siegelbaum, S.A., Kandel, E.R. (2012) *Synapses and memory storage*. Cold Spring Harb. *Perspect. Biol.* 4
364. McDonald RJ, Hong NS. (2013) How does a specific learning and memory system in the mammalian brain gain control of behavior? *Hippocampus*, 23: 1084–1102.
365. McEwen, B. S., and Chattarji, S. (2004) Molecular mechanisms of neuroplasticity and pharmacological implications: the example of tianeptine, *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 14, S497-502.
366. McGaugh JL, Roozendaal B. (2009) Drug enhancement of memory consolidation: Historical perspective and neurobiological implications. *Psychopharmacology* 1: 3–14.
367. McGrath JC, Drummond GB, McLachlan EM, Kilkenny C, Wainwright CL. (2010) Guidelines for reporting experiments involving animals: the ARRIVE guidelines. *Br J Pharmacol*;160(7):1573-6.
368. McIntyre C. K., McGaugh J. L., Williams C. L., (2012). Interacting brain systems modulate memory consolidation. *Neurosci Biobehav Rev* 36, 1750–1762.
369. McLellan A.T., Lewis D.C., O'Brien C.P., Kleber H.D. (2000) Drug dependence, a chronic medical illness: implications for treatment, insurance, and outcomes evaluation. *JAMA* 284: 1689–95.
370. McNamara, D., Yin, S., Pan, D., Crull, G., Timmins, P., and Vig, B. (2017). Characterization of Phase Separation Propensity for Amorphous Spray Dried Dispersions. *Molecular Pharmaceutics*, 14(2), 377–385.

371. Meadows, A., Lee, J. H., Wu, C.-S., Wei, Q., Pradhan, G., Yafi, M., et. al. (2015). Deletion of G-protein-coupled receptor 55 promotes obesity by reducing physical activity. *International Journal of Obesity*, 40(3), 417–424.
372. Medical gallery of Blausen Medical (2014). *Wiki J Med*. Vol. 1(2).
373. Melis, M., Pillolla, G., Luchicchi, A., Muntoni, A.L., Yasar, S., Goldberg, S.R., Pistis, M., (2008) Endogenous fatty acid ethanolamides suppress nicotine-induced activation of mesolimbic dopamine neurons through nuclear receptors. *J. Neurosci*. 28, 13985-13994.
374. Meyer, D., Bonhoeffer, T., Scheuss, V., (2014) Balance and stability of synaptic structures during synaptic plasticity. *Neuron* 82, 430–443.
375. Milad MR, Quirk GJ. (2012) Fear extinction as a model for translational neuroscience: Ten years of progress. *Annual Review of Psychology* 63: 129–151.
376. Miller GA. (1956) The magical number seven plus or minus two: some limits on our capacity for processing information. *Psychol Rev* 63: 81–97.
377. Miller RJ. (1998) Presynaptic receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 38:201–227.
378. Miller, S.G., Patton, B.L., Kennedy, M.B., (1988) Sequences of autophosphorylation sites in neuronal type II CaM kinase that control Ca²⁺-independent activity. *Neuron* 1, 593–604.
379. Milligan, G. (2011) Orthologue selectivity and ligand bias: translating the pharmacology of GPR35. *Trends Pharmacol. Sci.*, 32, 317-325.
380. Milner B. (1972) Disorders of learning and memory after temporal lobe lesions in man. *Clinical Neurosurgery* 19: 421–466.
381. Mineur, Y. S., & Picciotto, M. R. (2008). Genetics of nicotinic acetylcholine receptors: Relevance to nicotine addiction. *Biochemical Pharmacology*, 75(1), 323–333.
382. Ming GL, & Song H (2011). Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. *Neuron* 70: 687-702.
383. Mishkin M, Malamut B, Bachevalier J. (1984) Memories and habits: Two neural systems. In *Neurobiology of learning and memory*. Guilford, New York.
384. Miyashita T., Williams C. L., (2006). Epinephrine administration increases neural impulses propagated along the vagus nerve: Role of peripheral beta-adrenergic receptors. *Neurobiol Learn Mem* 85, 116–124.
385. Moeller F.G., Barratt E.S., Dougherty D.M., Schmitz J.M., Swann A.C. (2001) Psychiatric aspects of impulsivity. *Am J Psychiatry* 158: 1783–93.
386. Moini, J. (2019). *Anatomy and physiology for health professionals*. USA: Jones & Bartlett Learning.
387. Mok MH, Fricker AC, Weil A, Kew JN. (2009) Electrophysiological characterisation of the actions of kynurenic acid at ligand-gated ion channels. *Neuropharmacology*;57(3):242-9.
388. Molesti, S., and Majolo, B. (2013). Grooming increases self-directed behaviour in wild Barbary macaques, *Macaca sylvanus*. *Animal Behaviour*, 86(1), 169-175.
389. Mombaerts P. (2004) Genes and ligands for odorant, vomeronasal and taste receptors. *Nat. Rev. Neurosciences*, 5: 263–278.
390. Morales P, and Reggio PH. (2017) An Update on Non-CB (1), Non-CB (2) Cannabinoid Related G-Protein-Coupled Receptors. *Cannabis and cannabinoid research* 2:265-273.
391. Morales-Puerto N, Giménez-Gómez P, Pérez-Hernández M, Abuin-Martínez C, Gil de Biedma-Elduayen L, Vidal R, et al. (2021) Addiction and the kynurenine pathway: A new dancing couple? *Pharmacology & therapeutics*; 223:107807.

392. More SV, Choi DK. (2015) Promising cannabinoid-based therapies for parkinson's disease: Motor symptoms to neuroprotection. *Molecular neurodegeneration*; 10:17
393. Moscarello JM, LeDoux JE. (2013) Active avoidance learning requires prefrontal suppression of amygdala-mediated defensive reactions. *Journal Neuroscience* 33:3815–3823.
394. Muldoon PP, Lichtman AH, Parsons LH, and Damaj MI. (2013) The role of fatty acid amide hydrolase inhibition in nicotine reward and dependence. *Life Science* 92:458-462.
395. Muller, D., Joly, M., Lynch, G., (1988) Contributions of quisqualate and NMDA receptors to the induction and expression of LTP. *Science* 242, 1694–1697.
396. Musella A, Freseghna D, Rizzo FR, Gentile A, Bullitta S, De Vito F, Guadalupi L, Centonze D, and Mandolesi G. (2017) A novel crosstalk within the endocannabinoid system controls GABA transmission in the striatum. *Sci Rep* 7:7363.
397. Nam, S.-Y., Park, S.-J., & Im, D.-S. (2018). Protective effect of Iodoxamide on hepatic steatosis through GPR35. *Cellular Signalling*.
398. National Center for Biotechnology Information (NCBI) "National Library of Medicine" "PubMed" "<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>" Consultado: 01/10/2021
399. National Institute on Drug Abuse. (2015, August 20). Trends & Statistics. Retrieved February 13, 2017, from <https://www.drugabuse.gov/related-topics/trends-statistics>
400. Navratilova E, Xie JY, King T, Porreca F. (2013) Evaluation of reward from pain relief. *Ann N Y Acad Sci*; 1282:1-11.
401. Neasta, J., Barak, S., Hamida, S.B., Ron, D., (2014) mTOR complex 1: a key player in neuroadaptations induced by drugs of abuse. *J. Neurochem.* 130, 172–184.
402. Nestler EJ. (2001a) Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat. Rev. Neurosci.* c2:119–128.
403. Nestler, E. (2005) Is there a common molecular pathway for addiction?. *Nat Neurosci* 8, 1445–1449.
404. Nestler, E.J., (2001b) Total recall-the memory of addiction. *Science* 292, 2266–2267.
405. Nestler, E.J., (2004) Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology* 47 (Suppl. 1), 24–32.
406. Nicoll, R.A., (2017) A brief history of long-term potentiation. *Neuron* 93, 281–290.
407. Ning Y, O'Neill K, Lan H, et. al. (2008) Endogenous and synthetic agonists of GPR119 differ in signalling pathways and their effects on insulin secretion in MIN6c4 insulinoma cells. *Br J Pharmacol*; 155(7):1056–65.
408. Nirogi R, Mohammed AR, Shinde AK, Ravella SR, Bogaraju N, Subramanian R, Mekala VR, Palacharla RC, Muddana N, Thentu JB, Bhyrapuneni G, Abraham R, and Jasti V. (2020) Discovery and Development of 3-(6-Chloropyridine-3-yloxymethyl)-2-azabicyclo[3.1.0]hexane Hydrochloride (SUVN-911): A Novel, Potent, Selective, and Orally Active Neuronal Nicotinic Acetylcholine $\alpha 4\beta 2$ Receptor Antagonist for the Treatment of Depression. *Journal of Medicinal Chemistry* 63:2833-2853.
409. Nixon SE, Gonzalez-Pena D, Lawson MA, McCusker RH, Hernandez AG, O'Connor JC, et. al. (2015) Analytical workflow profiling gene expression in murine macrophages. *J Bioinform Comput Biol*; 13 (2):1550010.
410. Nooyens, A.C.J., Van Gelder, B.M., Verschuren, W.M.M., (2008) Smoking and cognitive decline among middle-aged men and women: The Doetinchem Cohort Study. *Am. J. Public Health* 98, 2244–2250.

411. Novak CM, Burghardt PR, Levine JA. (2012) The use of a running wheel to measure activity in rodents: Relationship to energy balance, general activity, and reward. *Neuroscience and biobehavioral reviews*; 36:1001-1014
412. O'Dell, T.J., Hawkins, R.D., Kandel, E.R., Arancio, O., (1991) Tests of the roles of two diffusible substances in long-term potentiation: evidence for nitric oxide as a possible early retrograde messenger. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88,11285–11289.
413. O'Dowd BF, Nguyen T, Marchese A, Cheng R, Lynch KR, Heng HH, et al. (1998) Discovery of three novel G-protein-coupled receptor genes. *Genomics*;47(2):310-3.
414. Oh DY, Kim K, Kwon HB, Seong JY. (2006) Cellular and molecular biology of orphan G protein-coupled receptors. *Int Rev Cytol*; 252:163–218.
415. Ohshiro H, Tonai-Kachi H, Ichikawa K. (2008) GPR35 is a functional receptor in rat dorsal root ganglion neurons. *Biochemical and Biophysical Research Communications*;365(2):344-8.
416. Oka S., Nakajima K., Yamashita A., Kishimoto S., Sugiura T. (2007) Identification of GPR55 as a Lysophosphatidylinositol Receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 362:928–934.
417. Oka, S., Ota, R., Shima, M., Yamashita, A., Sugiura, T. (2010) GPR35 is a novel lysophosphatidic acid receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 395, 232-237.
418. Okamoto, K., Nagai, T., Miyawaki, A., Hayashi, Y., (2004) Rapid and persistent modulation of actin dynamics regulates postsynaptic reorganization underlying bidirectional plasticity. *Nat. Neurosci.* 7, 1104–1112.
419. Okumura, S., Baba, H., Kumada, T., Nanmoku, K., Nakajima, H., Nakane, Y., et. al. (2004). Cloning of a G-protein-coupled receptor that shows an activity to transform NIH3T3 cells and is expressed in gastric cancer cells. *Cancer Sci.* 95, 131–135.
420. Oleson EB, Beckert MV, Morra JT, Lansink CS, Cachope R, Abdullah RA, et. al. (2012) Endocannabinoids shape accumbal encoding of cue-motivated behavior via CB1 receptor activation in the ventral tegmentum. *Neuron*; 73:360-373
421. Organización Mundial de la Salud. (21 de septiembre de 2020). <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/dementia>
422. Overington J.P., Al-Lazikani B., Hopkins A.L., (2006) How many drug targets are there? *Nat. Rev. Drug Discov.*, 5: 993–996.
423. Overton HA, Babbs AJ, Doel SM, et. al. (2006) Deorphanization of a G protein-coupled receptor for oleoylethanolamide and its use in the discovery of small-molecule hypophagic agents. *Cell Metab*; 3(3):167–75.
424. Packard, M.G., Knowlton, B.J., (2002) Learning and memory functions of the basal ganglia. *Annu. Rev. Neurosci.* 25, 563–593.
425. Paller KA, Hutson CA, Miller BB, Boehm SG. (2003) Neural manifestations of memory with and without awareness. *Neuron* 38: 507–516.
426. Panja, D., Bramham, C.R., (2014) BDNF mechanisms in late LTP formation: a synthesis and breakdown. *Neuropharmacology* 76 (Pt C), 664–676.
427. Papke RL, (2014) Merging old and new perspectives on nicotinic acetylcholine receptors. *Biochemical Pharmacology*. Elsevier Inc., pp. 1–11.
428. Parenteau GL, Clark RE. (1991) Prevention of ischemia-reperfusion injury by the allergy drug Iodoxamide tromethamine. *The Annals of Thoracic Surgery*;52(4):832-8.

429. Park, S.-J., Lee, S.-J., Nam, S.-Y., & Im, D.-S. (2017). GPR35 mediates Iodoxamide-induced migration inhibitory response but not CXCL17-induced migration stimulatory response in THP-1 cells; is GPR35 a receptor for CXCL17? *British Journal of Pharmacology*, 175(1), 154–161.
430. Parsons LH, and Hurd YL. (2015) Endocannabinoid signalling in reward and addiction. *Nature Reviews Neuroscience* 16:579-594.
431. Paxinos G, and Watson C. (2007) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, New York 6° ed.
432. Penfield W, Faulk ME (1955) The insula: further observations on its function. *Brain* 78:445–470
433. Pérez-Gómez E., Andradas C., Flores J.M., Quintanilla M., Paramio J.M., Guzmán M., Sánchez C. (2013) The orphan receptor GPR55 drives skin carcinogenesis and is upregulated in human squamous cell carcinomas. *Oncogene*;32(20):2534–2542.
434. Pertwee R.G. (1997) Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacol. Ther.* 74(2):129–180.
435. Pertwee RG, Howlett AC, Abood ME, Alexander SPH, Di Marzo V, Elphick MR, Greasley PJ, Hansen HS, Kunos G, Mackie K, Mechoulam R, and Ross RA. (2010) International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB₁ and CB₂. *Pharmacological reviews* 62:588-631.
436. Pessiglione M., Seymour B., Flandin G., Dolan R.J., Frith C.D. (2006) Dopamine dependent prediction errors underpin reward-seeking behaviour in humans. *Nature* 442(7106):1042-1045
437. Petersen SC, Luo R, Liebscher I, Giera S, Jeong SJ, Mogha A, Ghidinelli M, Feltri ML, Schöneberg T, Piao X, et. al. (2015) The adhesion GPCR GPR126 has distinct, domain-dependent functions in Schwann cell development mediated by interaction with laminin-211. *Neuron* 85:755–769.
438. Petitet F., Donlan M., Michel A. (2006). GPR55 as a new cannabinoid receptor: still a long way to prove it. *Chemical biology & drug design* 67: 252-253.
439. Pettit, D.L., Perlman, S., Malinow, R., (1994) Potentiated transmission and prevention of further LTP by increased CaMKII activity in postsynaptic hippocampal sliceneurons. *Science* 266, 1881–1885.
440. Pierce, R.C., Bell, K., Duffy, P., Kalivas, P.W., (1996) Repeated cocaine augments excitatory amino acid transmission in the nucleus accumbens only in rats having developed behavioral sensitization. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 16, 1550–1560.
441. Pierce, R.C., Kalivas, P.W., (1997) A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 25, 192–216.
442. Pinho, J., Marcut, C., Fonseca, R., (2020) Actin remodeling, the synaptic tag and the maintenance of synaptic plasticity. *IUBMB Life* 72, 577–589.
443. Piñeiro R., Falasca M. (2012) Lysophosphatidylinositol Signalling: New Wine from an Old Bottle. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids.* 1821(4):694–705.
444. Plaza-Zabala, A. et. al. (2010) Effects of the endogenous PPAR- α agonist, oleoylethanolamide on MDMA-induced cognitive deficits in mice. *Synapse* 64, 379–389.
445. Pocivavsek A, Wu HQ, Potter MC, Elmer GI, Pellicciari R, Schwarcz R. (2011) Fluctuations in endogenous kynurenic acid control hippocampal glutamate and memory. *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*;36(11):2357-67.
446. Poldrack RA, Gabrieli JD. (2001) Characterizing the neural mechanisms of skill learning and repetition priming: Evidence from mirror reading. *Brain* 124: 67–82.

447. Poncer, J.C., Esteban, J.A., Malinow, R., (2002) Multiple mechanisms for the potentiation of AMPA receptor-mediated transmission by α -Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II. *J. Neurosci.* 22, 4406–4411.
448. Powell TPS, Guillery RW, Cowan WM (1957) A quantitative study of the fornix-mamillothalamic system. *J Anat (Lond)* 91: 419–437
449. Prochaska JJ, Benowitz NL. (2016) The Past, Present, and Future of Nicotine Addiction Therapy. *Annu Rev Med*; 67:467-86.
450. Prut, L., and Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology*, 463(1-3), 3–33.
451. Rahimi A, Hajizadeh Moghaddam A, and Roohbakhsh A. (2015) Central administration of GPR55 receptor agonist and antagonist modulates anxiety-related behaviors in rats. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 29(2):185-190.
452. Ramírez-Orozco RE, García-Ruiz R, Morales P, Villalon CM, Villafan-Bernal JR, and Marichal-Cancino BA. (2019) Potential metabolic and behavioural roles of the putative endocannabinoid receptors GPR18, GPR55 and GPR119 in feeding. *Curr Neuropharmacol*.
453. Ray, Pradipta; Torck, Andrew; Quigley, Lilyana, et. al.; (2018) Comparative transcriptome profiling of the human and mouse dorsal root ganglia: an RNA-seq-based resource for pain and sensory neuroscience research. *PAIN*, 159(7):1325 - 1345, Wolters Kluwer.
454. Re G, Barbero R, Miolo A, Di Marzo V. (2007) Palmitoylethanolamide, endocannabinoids and related cannabimimetic compounds in protection against tissue inflammation and pain: potential use in companion animals. *Vet J*; 173(1):23–32.
455. Rea P. (2015). *Essential Clinical Anatomy of the Nervous System*. Reino Unido: Elsevier.
456. Rea P. (2016). *Essential Clinically Applied Anatomy of the Peripheral Nervous System in the Head and Neck*. Reino Unido: Elsevier.
457. Real Academia Española. (s.f.). Drogas. En *Diccionario de la lengua española*. Recuperado en 10 de febrero de 2019
458. Real Academia Española. (s.f.). Recompensa. En *Diccionario de la lengua española*. Recuperado en 26 de mayo de 2020
459. Redish AD, Jensen S, Johnson A. (2008) A unified framework for addiction: vulnerabilities in the decision process. *Behav Brain Sci.*; 31:415–437. discussion 437–487.
460. Renard J, Krebs MO, Le Pen G, Jay TM. (2014) Long-term consequences of adolescent cannabinoid exposure in adult psychopathology. *Front Neurosci*; 8:361.
461. Reymann KG, Frey JU. (2007) The late maintenance of hippocampal LTP: requirements, phases, 'synaptic tagging', 'late-associativity' and implications. *Neuropharmacology*; 52:24–40.
462. Rigotti NA, Gonzales D, Dale LC, Lawrence D, and Chang Y. (2009) A randomized controlled trial of adding the nicotine patch to rimonabant for smoking cessation: efficacy, safety and weight gain. *Addiction* 104:266-276.
463. Robert E. Lenga. (1988). *The Sigma-Aldrich library of chemical safety data*. [Milwaukee, Wis., USA]: Sigma-Aldrich Corp. <https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/product/sigma/sml0423> Consultado: 10/05/2022.
464. Roberts WA, Feeney MC, Macpherson K, Petter M, McMillan N (2008) Episodic-like memory in rats: Is it based on when or how long ago? *Science* 320:113–115.
465. Roberts, W. W. (1988). Differential thermosensor control of thermoregulatory grooming, locomotion, and relaxed postural extension. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 525(1), 363-374.

466. Robertson-Gray OJ, Walsh SK, Ryberg E, Jonsson-Rylander AC, Lipina C, Wainwright CL (2019) I-alpha-Lysophosphatidylinositol (LPI) aggravates myocardial ischemia/reperfusion injury via a GPR55/ROCK-dependent pathway. *Pharmacol Res Perspect* 7: e00487.
467. Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. (2010) edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics*; 26(1):139±40.
468. Robinson MD, Oshlack A. (2010) A scaling normalization method for differential expression analysis of RNAseq data. *Genome Biol.* 2010b; 11(3):R25.
469. Roche, K.W., O'Brien, R.J., Mammen, A.L., Bernhardt, J., Huganir, R.L., (1996) Characterization of multiple phosphorylation sites on the AMPA receptor GluR1 subunit. *Neuron* 16, 1179–1188.
470. Rodríguez de Fonseca F, Navarro M, Gomez R, Escuredo L, Nava F, Fu J, Murillo-Rodriguez E, Giuffrida A, LoVerme J, Gaetani S, Kathuria S, Gall C, and Piomelli D. (2001) An anorexic lipid mediator regulated by feeding. *Nature* 414:209–212.
471. Romano, A., Coccorello, R., Giacobazzo, G., Bedse, G., Moles, A., and Gaetani, S. (2014). Oleylethanolamide: A Novel Potential Pharmacological Alternative to Cannabinoid Antagonists for the Control of Appetite. *BioMed Research International*, 2014, 1–10.
472. Ron, D., Barak, S., (2016) Molecular mechanisms underlying alcohol-drinking behaviours. *Nat. Rev. Neurosci.* 17, 576–591.
473. Rosenbaum D.M., Rasmussen S.G.F., Kobilka B.K. (2009). The structure and function of G-protein-coupled receptors. *Nature* 459, 356–363.
474. Rosenberg, T., Gal_Ben_Ari, S., Dieterich, D. C., Kreutz, M. R., Ziv, N. E., Gundelfinger, E. D., and Rosenblum, K. (2014) The roles of protein expression in synaptic plasticity and memory consolidation, *Front Mol. Neurosci.*, 7, 86.
475. Rosenzweig ES, Barnes CA, McNaughton BL. (2002) Making room for new memories. *Nat Neurosci*; 5:6–8.
476. Ross R.A. (2009) The enigmatic pharmacology of GPR55. *Trends Pharmacol. Sci.* 30(3):156–163.
477. Ross S., Peselow E. (2009) The neurobiology of addictive disorders. *Clinical neuropharmacology* 32(5):269-276.
478. Roth, K. A., and Katz, R. J. (1980). Stress, behavioral arousal, and open field activity: A reexamination of emotionality in the rat. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 3(4), 247-263.
479. Royal Society of Chemistry “ChemSpider Search and Share Chemistry” <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.659.html#> (Consultado 21/05/2021)
480. Ruchalski, K., & Hathout, G. M. (2012). A Medley of Midbrain Maladies: A Brief Review of Midbrain Anatomy and Syndromology for Radiologists. *Radiology Research and Practice*, 2012, 1–11.
481. Russo, S.J., Dietz, D.M., Dumitriu, D., Morrison, J.H., Malenka, R.C., Nestler, E.J., (2010) The addicted synapse: mechanisms of synaptic and structural plasticity in nucleus accumbens. *Trends Neurosci.* 33, 267–276.
482. Ryberg E., Larsson N., Sjögren S., Hjorth S., Hermansson N-O., Leonova J., Elebring T., Nilsson K., Drmota T., Greasley P.J. (2007) The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br. J. Pharmacol.* 152(7):1092–1101.
483. Sagar, D. R. et. al. (2009) Dynamic regulation of the endocannabinoid system: Implications for analgesia. *Molecular Pain* 5.

484. Sahay A, Scobie KN, Hill AS, O'Carroll CM, Kheirbek MA, Burghardt NS, et. al. (2011a). Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation. *Nature* 472: 466-470.
485. Sahay A, Wilson DA, & Hen R (2011b). Pattern separation: a common function for new neurons in hippocampus and olfactory bulb. *Neuron* 70: 582-588.
486. Sajikumar S, Frey JU. (2004) Late-associativity, synaptic tagging, and the role of dopamine during LTP and LTD. *Neurobiol Learn Mem*; 82:12–25.
487. Sakamoto Y, Inoue H, Kawakami S, et. al. (2006) Expression and distribution of Gpr119 in the pancreatic islets of mice and rats: predominant localization in pancreatic polypeptide-secreting PP-cells. *Biochem Biophys Res Commun*; 351(2):474–80.
488. Sánchez, H., Quinn, J.J., Torregrossa, M.M., Taylor, J.R., (2010) Reconsolidation of a cocaine-associated stimulus requires amygdalar protein kinase A. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 30, 4401–4407.
489. Sanes, J.R., Lichtman, J.W., (1999) Can molecules explain long-term potentiation? *Nat. Neurosci.* 2, 597–604.
490. Sanger G.J. (2007) Endocannabinoids and the gastrointestinal tract: what are the key questions? *Br. J. Pharmacol.*; 152(5):663–670.
491. Sawzdargo M., Nguyen T., Lee D.K., Lynch K.R., Cheng R., Heng H.H., George S.R. ODowd, 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(2):193–198.
492. Sayd, A., Antón, M., Alén, F., Caso, J.R., Pavón, J., Leza, J.C., Rodríguez de Fonseca, F., García-Bueno, B., Orio, L., (2014) Systemic administration of oleoylethanolamide protects from neuroinflammation and anhedonia induced by LPS in rats. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 18.
493. Schacter, D. L., & Buckner, R. L. (1998). Priming and the brain. *Neuron*, 20, 185-195.
494. Schacter, D.L., and Tulving, E. (1994). What are the memory systems of 1994? In *Memory Systems 1994*, D.L. Schacter and E. Tulving, eds. (Cambridge, MA: the MIT Press) pp. 1–38.
495. Scherma M, Panlilio LV, Fadda P, Fattore L, Gamaledin I, Le Foll B, Justinová Z, Mikics E, Haller J, Medalie J, Stroik J, Barnes C, Yasar S, Tanda G, Piomelli D, Fratta W, Goldberg SR (2008) Inhibition of anandamide hydrolysis by cyclohexyl carbamic acid 3'-carbamoyl-3-ylester (URB597) reverses abuse-related behavioral and neurochemical effects of nicotine in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 327: 482–490.
496. Schicho R., Bashashati M., Bawa M., McHugh D., Saur D., Hu H.M., et. al. (2011). The atypical cannabinoid O-1602 protects against experimental colitis and inhibits neutrophil recruitment. *Inflammatory bowel diseases* 17: 1651-1664.
497. Schilling T, Repp H, Richter H, Koschinski A, Heinemann U, Dreyer F, and Eder C. (2002) Lysophospholipids induce membrane hyperpolarization in microglia by activation of IKCa1 Ca²⁺-dependent K⁺ channels. *Neuroscience* 109:827-835.
498. Schmidt, H.D., Kimmey, B.A., Arreola, A.C., Pierce, R.C., (2015) Group I metabotropic glutamate receptor-mediated activation of PKC gamma in the nucleus accumbens core promotes the reinstatement of cocaine seeking: mGluR1/5 and cocaine addiction. *Addict. Biol.* 20, 285–296.
499. Scholz N, Guan C, Nieberler M, Grottemeyer A, Maiellaro I, Gao S, Beck S, Pawlak M, Sauer M, Asan E, et. al. (2017) Mechano-dependent signaling by Latrophilin/CIRL quenches cAMP in proprioceptive neurons. *eLife* 6:e28360.
500. Schultz W. (2002) Getting formal with dopamine and reward. *Neuron* 36: 241-63.

501. Schultz W. (2010) Subjective neuronal coding of reward: temporal value discounting and risk. *The European journal of neuroscience* 31(12):2124-2135.
502. Schultz W. (2013) Updating dopamine reward signals. *Current Opinion of Neurobiology* 23: 229–238.
503. Schwabe L. (2013) Stress and the engagement of multiple memory systems: Integration of animal and human studies. *Hippocampus* 23: 1035–1043.
504. Schworer, C.M., Colbran, R.J., Keefer, J.R., Soderling, T.R., (1988) Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II. Identification of a regulatory autophosphorylation site adjacent to the inhibitory and calmodulin-binding domains. *J. Biol. Chem.* 263, 13486–13489.
505. Seibenhener, M. L., and Wooten, M. C. (2015). Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *Journal of Visualized Experiments*, (96).
506. Self, D.W., Genova, L.M., Hope, B.T., Barnhart, W.J., Spencer, J.J., Nestler, E.J., (1998) Involvement of cAMP-dependent protein kinase in the nucleus accumbens in cocaine self-administration and relapse of cocaine-seeking behavior. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 18, 1848–1859.
507. Semple G, Fioravanti B, Pereira G, et. al. (2008) Discovery of the first potent and orally efficacious agonist of the orphan G-protein coupled receptor 119. *J Med Chem*; 51(17):5172–5.
508. Serrano A, Rivera P, Pavon FJ, Decara J, Suarez J, Rodriguez de Fonseca F, Parsons LH. (2012) Differential effects of single versus repeated alcohol withdrawal on the expression of endocannabinoid system-related genes in the rat amygdala. *Alcohol Clin Exp Res*; 36(6):984–94.
509. Seyfarth, R. M. (1980). The distribution of grooming and related behaviors among adult female vervet monkeys. *Animal Behaviour*, 28, 798-813.
510. Sharir H., Abood M.E. (2010) Pharmacological characterization of GPR55, a putative cannabinoid receptor. *Pharmacology & therapeutics* 126: 301-313.
511. Sharmin O, Abir AH, Potoi A, Alam M, Banik J, Rahman AFMT, et al. (2020) Activation of GPR35 protects against cerebral ischemia by recruiting monocyte-derived macrophages. *Scientific Reports*;10(1):9400.
512. Shaw, C. A., Lanius, R. A., and Van den Doel, K. (1994) The origin of synaptic neuroplasticity: crucial molecules or a dynamical cascade? *Brain Res. Brain Res. Rev.*, 19, 241-263.
513. Sheerin, A.H., Zhang, X., Saucier, D.M., Corcoran, M.E., (2004) Selective antiepileptic effects of N palmitoylethanolamide, a putative endocannabinoid. *Epilepsia* 45 (10), 1184–1188.
514. Shen, K., Meyer, T., (1999) Dynamic control of CaMKII translocation and localization in hippocampal neurons by NMDA receptor stimulation. *Science* 284, 162–166.
515. Sherwin CM. (1998) Voluntary wheel running: a review and novel interpretation. *Anim Behav* 56:11 ± 27.
516. Shi QX, Yang LK, Shi WL, Wang L, Zhou SM, Guan SY, Zhao MG, and Yang Q. (2017) The novel cannabinoid receptor GPR55 mediates anxiolytic-like effects in the medial orbital cortex of mice with acute stress. *Mol Brain* 10:38.
517. Shimamura AP, Janowsky JS, Squire LR. (1991) What is the role of frontal lobe damage in memory disorders? In *Frontal lobe functioning and dysfunction*. Oxford University Press, New York.
518. Shin JH, Adrover MF, and Alvarez VA. (2017) Distinctive Modulation of Dopamine Release in the Nucleus Accumbens Shell Mediated by Dopamine and Acetylcholine Receptors. *J Neurosci* 37:11166-11180.
519. Shirke, A.M., Malinow, R., (1997) Mechanisms of potentiation by calcium-calmodulin kinase II of postsynaptic sensitivity in rat hippocampal CA1 neurons. *J. Neuro-physiol.* 78, 2682–2692.
520. Shore, D.M., Reggio, P.H. (2015) The therapeutic potential of orphan GPCRs, GPR35 and GPR55. *Front. Pharmacol.*, 6:69.

521. Shrimpton AE, Braddock BR, Thomson LL, Stein CK, Hoo JJ. (2004) Molecular delineation of deletions on 2q37.3 in three cases with an Albright hereditary osteodystrophy-like phenotype. *Clin Genet*; 66(6):537-44.
522. Sihag, J., and Jones, P. J. H. (2017). Oleoylethanolamide: The role of a bioactive lipid amide in modulating eating behaviour. *Obesity Reviews*, 19(2), 178–197.
523. Silva, A.J., Paylor, R., Wehner, J.M., Tonegawa, S., (1992a) Impaired spatial learning in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 257, 206–211.
524. Silva, A.J., Stevens, C.F., Tonegawa, S., Wang, Y., (1992b) Deficient hippocampal long-term potentiation in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science* 257, 201–206.
525. Simon GM, Cravatt BF. (2008) Anandamide biosynthesis catalyzed by the phosphodiesterase GDE1 and detection of glycerophospho-N-acyl ethanolamine precursors in mouse brain. *J Biol Chem*; 283(14):9341–9.
526. Simon, H.A., (1975) The functional equivalence of problem-solving skills. *Cogn. Psychol.* 7 (2), 268–288.
527. Sjögren, S.; Ryberg, E.; Lindblom, A.; Larsson, N.; Åstrand, A.; Hjorth, S.; Andersson, A.-K.; Groblewski, T.; Greasley, P. (2005) A new receptor for cannabinoid ligands. Symposium on the cannabinoids, florida, USA, International Cannabinoid Research Society.
528. Skaper SD, Facci L, Barbierato M, Zusso M, Bruschetta G, Impellizzeri D, et. al. (2015). N-Palmitoylethanolamine and Neuroinflammation: a Novel Therapeutic Strategy of Resolution. *Mol Neurobiol* 52:1034-1042.
529. Spradley, J. M., Davoodi, A., Carstens, M. I., and Carstens, E. (2012). Opioid modulation of facial itch - and pain-related responses and grooming behavior in rats. *Acta Dermato-Venereologica*, 92(5), 515-520.
530. Squire L.R., Knowlton B., Musen G. (1993) The structure and organization of memory. *Annu. Rev. Psychol.*; 44: 453-495
531. Squire LR, Stark CEL, Clark RE. (2004) The medial temporal lobe. *Annual Review of Neuroscience* 27: 279–306.
532. Squire LR, Zola-Morgan S. (1988) Memory: Brain systems and behavior. *Trends Neuroscience* 11: 170–175.
533. Squire LR, Zola-Morgan S. (1991) The medial temporal lobe memory system. *Science* 253: 1380–1386.
534. Squire, L. R. (2004). Memory systems of the brain: A brief history and current perspective. *Neurobiology of Learning and Memory*, 82(3), 171–177.
535. Stancic A., Jandl K., Hasenohrl C., Reichmann F., Marsche G., Schuligoi R., et. al. (2015). The GPR55 antagonist CID16020046 protects against intestinal inflammation. *Neurogastroenterology and motility: the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society* 27(10): 1432-1445.
536. Standring S., Anand N., Birch R., et. al. (2016). *Gray's Anatomy The Anatomical Basis of Clinical Practice*. 41° edición Reino Unido: Elsevier.
537. Staeresina BP, Duncan KD, Davachi L. (2011) Perirhinal and parahippocampal cortices differentially contribute to later recollection of object- and scene-related event details. *Journal Neuroscience* 31: 8739–8747.
538. Staton P.C., Hatcher J.P., Walker D.J., Morrison A.D., Shapland E.M., Hughes J.P., Chong E., Mander P.K., Green P.J., Billinton A., Fulleylove M., Lancaster H.C., Smith J.C., Bailey L.T., Wise A., Brown A.J., Richardson J.C., Chessell I.P. (2008) The putative cannabinoid receptor GPR55 plays a role in mechanical hyperalgesia associated with inflammatory and neuropathic pain. *Pain.*;139(1):225–236.

539. Steiner H., Tseng K. (eds.). (2017). Handbook of Basal Ganglia Structure and Function, 2nd Edn. San Diego, CA: Publisher Elsevier Science Publishing Co Inc; Academic Press Inc.
540. Stevens, C.F., Wang, Y., (1994) Changes in reliability of synaptic function as a mechanism for plasticity. *Nature* 371, 704–707.
541. Stolerman IP, and Jarvis MJ. (1995) The scientific case that nicotine is addictive. *Psychopharmacology* 117:2-10; discussion 14-20.
542. Stolerman IP, Garcha HS, and Mirza NR. (1995) Dissociations between the locomotor stimulant and depressant effects of nicotinic agonists in rats. *Psychopharmacology* 117:430-437.
543. Suardiaz M, Estivill-Torrus G, Goicoechea C, Bilbao A, Rodriguez de Fonseca F. (2007) Analgesic properties of oleoylethanolamide (OEA) in visceral and inflammatory pain. *Pain*; 133(1–3):99–110.
544. Substance Abuse and Mental Health Services Administration (US); Office of the Surgeon General (US). Facing Addiction in America: The Surgeon General's Report on Alcohol, Drugs, and Health [Internet]. Washington (DC): US Department of Health and Human Services; 2016 Nov. Figure 2.3, The Three Stages of the Addiction Cycle and the Brain Regions Associated with Them. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK424849/figure/ch2.f3/>
545. Südhof TC. (2014) The molecular machine of neurotransmitter release. In Grandin K, ed. *The Nobel Prizes, 2013*. Nobel Foundation, Stockholm.
546. Sun Y, Alexander SP, Garle MJ, et. al. (2007) Cannabinoid activation of PPAR alpha; a novel neuroprotective mechanism. *Br J Pharmacol*; 152(5):734–43.
547. Sun, Y., Chen, G., Zhou, K., & Zhu, Y. (2018). A Conditioned Place Preference Protocol for Measuring Incubation of Craving in Rats. *Journal of Visualized Experiments*, (141).
548. Sunyer, J., Esnaola, M., Alvarez-Pedrerol, M., Forn, J., Rivas, I., López-Vicente, M., Suades-González, E., Foraster, M., Garcia-Esteban, R., et. al. (2015) Association between Traffic-Related Air Pollution in Schools and Cognitive Development in Primary School Children: A Prospective Cohort Study. *PLoS Med.* 12.
549. Swanson LW, Cowan WM (1975) Hippocampo-hypothalamic connection: origin in subicular cortex, not Ammon's horn. *Science* 189:303–304
550. Swanson LW, Cowan WM (1977) An autoradiographic study of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *J Comp Neurol* 172:49–84
551. Sweatt, J. D. (2016) Neural plasticity and behavior – sixty years of conceptual advances, *J. Neurochem.*, 139, Suppl. 2, 179-199.
552. Sylantsev S., Jensen T.P., Ross R.A., Rusakov D.A. (2013) Cannabinoid- and lysophosphatidylinositol-sensitive receptor GPR55 boosts neurotransmitter release at central synapses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*;110(13):5193–5198.
553. Szyndler J., Sienkiewicz-Jarosz H., Maciejak P., Siemiątkowski M., Rokicki D., Członkowska A.I., Płaźnik A., (2001) The anxiolytic-like effect of nicotine undergoes rapid tolerance in a model of contextual fear conditioning in rats, *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 69(3) 511-518.
554. Taniguchi Y, Tonai-Kachi H, Shinjo K. (2006) Zaprinast, a well-known cyclic guanosine monophosphate-specific phosphodiesterase inhibitor, is an agonist for GPR35. *FEBS Letters*;580(21):5003-8.
555. Terrett, G., McLennan, S.N., Henry, J.D., Biernacki, K., Mercuri, K., Curran, H.V., Rendell, P.G., (2014) Prospective memory impairment in long-term opiate users. *Psychopharmacology (Berl)*. 231, 2623–2632.
556. Thakre P.P., Tundulwar M.R., Chopde C.T., Ugale R.R., (2013) Neurosteroid allopregnanolone attenuates development of nicotine withdrawal behavior in mice, *Neuroscience Letters* 541 144-149.

557. Theeuwes J. (2013) Feature-based attention: It is all bottomup priming. *Philosophical Transaction of the Royal Society B Biology Science* 368: 20130055.
558. Thiel CM, Muller CP, Huston JP, Schwarting RK (1999) High versus low reactivity to a novel environment behavioural, pharmacological and neurochemical assessments. *Neuroscience* 93:243–251
559. Thierer, D.E., (2001) Drug associated memory impairment. *Vertex* 12, 272–275.
560. Thiessen, D. D. (1988). Body temperature and grooming in the Mongolian gerbil. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 525(1), 27-39.
561. Thomas, M.J., Kalivas, P.W., Shaham, Y., (2009) Neuroplasticity in the mesolimbic dopamine system and cocaine addiction: neuroplasticity and cocaine addiction. *Br. J. Pharmacol.* 154, 327–342.
562. Tinbergen, N. (1952). 'Derived' activities; their causation, biological significance, origin, and emancipation during evolution. *Quarterly Review of Biology*, 27(1), 1-32.
563. Tobimatsu, T., Fujisawa, H., (1989) Tissue-specific expression of four types of rat calmodulin-dependent protein kinase II mRNAs. *J. Biol. Chem.* 264,17907–17912.
564. Tochigi, M., Iwamoto, K., Bundo, M., Sasaki, T., Kato, N., Kato, T., (2007) Gene expression profiling of major depression and suicide in the prefrontal cortex of postmortem brains. *Neurosci. Res.* 60, 184–191.
565. Tortora G. J. & Derrickson B. (2016). *Principios de Anatomía y Fisiología*. 14° edición. Brasil: Guanabara Koogan.
566. Trapnell C, Pachter L, Salzberg SL. (2009) TopHat: discovering splice junctions with RNA-Seq. *Bioinformatics*; 25(9):1105±11.
567. Trapnell C, Roberts A, Goff L, Pertea G, Kim D, Kelley DR, et. al. (2012) Differential gene and transcript expression analysis of RNA-seq experiments with TopHat and Cufflinks. *Nat Protoc*; 7(3):562±78.
568. Trifilieff P., Feng B., Urizar E., et. al. (2013) Increasing dopamine D2 receptor expression in the adult nucleus accumbens enhances motivation. *Mol Psychiatry* 18: 1025-33.
569. Tulving E. (1983) *Elements of episodic memory*. Oxford University Press, Cambridge, MA.
570. Tulving E., Schacter D.L. (1990) Priming and human memory systems. *Science.*; 247: 301-306
571. Tzivian, L., Winkler, A., Dlugaj, M., Schikowski, T., Vossoughi, M., Fuks, K., Weinmayr, G., Hoffmann, B., (2015) Effect of long-term outdoor air pollution and noise on cognitive and psychological functions in adults. *Int. J. Hyg. Environ. Health*.
572. Tzschentke, T.M., (2007) Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade. *Addict. Biol.* 12, 227–462.
573. Ueda N, Tsuboi K, and Uyama T. (2013) Metabolism of endocannabinoids and related N-acylethanolamines: canonical and alternative pathways. *Febs j* 280:1874-1894.
574. Ullman, M. T. (2004). Contributions of memory circuits to language: the declarative/procedural model. *Cognition*, 92(1-2), 231–270.
575. Van Erp A.M., Kruk M.R., Meelis W., Willekens-Bramer D.C., (1994) Effect of environmental stressors on time course, variability and form of self-grooming in the rat: handling, social contact, defeat, novelty, restraint and fur moistening, *Behav Brain Res.* 65 47-55.
576. Van Harrevel, A., Fifková, E., (1975) Swelling of dendritic spines in the fascia den-tata after stimulation of the perforant fibers as a mechanism of post-tetanic potentiation. *Exp. Neurol.* 49, 736–749.
577. Van Hoesen GW, Pandya DN (1975) Some connections of the entorhinal (area 28) and perirhinal (ara 35) cortices of the rhesus monkey. I. Temporal lobe afferents. *Brain Res* 95: 1–24
578. Van Hoesen GW, Pandya DN, Butters N (1975) *Ibid.* II. Frontal lobe afferents. *Brain Res* 95:25–38

579. Vázquez-León P, Miranda-Páez A, Calvillo-Robledo A, and Marichal-Cancino BA. (2021) Blockade of GPR55 in dorsal periaqueductal gray produces anxiety-like behaviors and evokes defensive aggressive responses in alcohol-pre-exposed rats. *Neurosci Lett* 764:136218.
580. Vázquez-León P, Ramírez-San Juan E, Marichal-Cancino BA, Campos-Rodríguez C, Chávez-Reyes J, Miranda-Páez A. (2020) NPY-Y(1) receptors in dorsal periaqueductal gray modulate anxiety, alcohol intake, and relapse in Wistar rats. *Pharmacol Biochem Behav*; 199:173071.
581. Veazey RB, Amaral DG, Cowan WM (1982) The morphology and connections of the posterior hypothalamus in the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). II. Efferent connections. *J Comp Neurol* 207:135–156
582. Venkatakrisnan A.J., Deupi X., Lebon G., Tate C.G., Schertler G.F., Babu M.M. (2013). Molecular signatures of G-protein-coupled receptors. *Nature* 494, 185–194.
583. Venter J.C., Adams M.D., Myers E.W., Li P.W., Mural R.J., Sutton G.G., Smith H.O., Yandell M., Evans C.A., Holt R.A. et al. (2001) The sequence of the human genome. *Science*, 291, 1304–1351.
584. Volkow N.D., Wang G.J., Telang F., et al. (2006) Cocaine cues and dopamine in dorsal striatum: mechanism of craving in cocaine addiction. *J Neuroscience* 26: 6583-8.
585. Volkow ND, Wise RA. (2005) How can drug addiction help us understand obesity? *Nat Neurosci*; 8(5):555-60.
586. Volkow, N.D., Morales, M., (2015) The brain on drugs: from reward to addiction. *Cell* 162, 712–725.
587. Vyas, S., Rodrigues, A. J., Silva, J. M., Tronche, F., Almeida, O. F., Sousa, N., and Sotiropoulos, I. (2016) Chronic stress and glucocorticoids: from neuronal plasticity to neurodegeneration, *Neural Plast.*, 6391686.
588. Walsh, R.N., Cummins, R.A., (1976). The open field test: a critical review. *Psychol. Bull.* 83, 481–504.
589. Wang, J., Simonavicius, N., Wu, X., Swaminath, G., Reagan, J., Tian, H., et al. (2006). Kynurenic acid as a ligand for orphan G protein-coupled receptor GPR35. *J. Biol. Chem.* 281(31), 22021–22028.
590. Waxman S. G., (2020) *Clinical Neuroanatomy* 29ª edición, McGraw Hill
591. Weiskrantz, L. (1990). Some contributions of neuropsychology of vision and memory to the problem of consciousness. In *Consciousness and Contemporary Science*, A. Marcel and E. Bisiach, eds. (New York: Oxford University Press), pp. 183–197.
592. Werme M, Messer C, Olson L, Gilden L, Thoren P, Nestler EJ, Brene S. (2002) Delta FosB regulates wheel running. *J. Neurosci.* 22:8133–8138.
593. Werme M, Thoren P, Olson L, Brene S. (2000) Running and cocaine both upregulate dynorphin Mrna in medial caudate putamen. *The European journal of neuroscience*; 12:2967-2974
594. Westfall TC. (2004) Prejunctional effects of neuropeptide Y and its role as a cotransmitter. In Michel MC, ed. *Neuropeptide Y and Related Peptides, Handbook of Experimental Pharmacology*, vol. 162. Springer, Berlin, 137–183.
595. Wheeler, D.B., Randall, A., Tsien, R.W. (1994) Roles of N-type and Q-type Ca^{2+} channels in supporting hippocampal synaptic transmission. *Science*, 264, 107-111.
596. Whyte L.S., Ryberg E., Sims N.A., Ridge S.A., Mackie K., Greasley P.J., Ross R.A., Rogers M.J. (2009) The putative cannabinoid receptor GPR55 affects osteoclast function *in vitro* and bone mass *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*;106(38):16511–16516.
597. Williams, J.H., Errington, M.L., Lynch, M.A., Bliss, T.V., (1989) Arachidonic acid induces a long-term activity-dependent enhancement of synaptic transmission in the hippocampus. *Nature* 341, 739–742.
598. Wise, A.; Brown, A. J. (2001) Identification of modulators of GPR55 activity. *PCT Int. Appl.* 2001086305.

599. Witter M, Amaral DG (1991) Entorhinal cortex of the monkey. V. Projections to the dentate gyrus, hippocampus and subicular complex. *J Comp Neurol* 307:437–459
600. Witter M, Van Hoesen GW, Amaral DG (1989) Topographical organization of the entorhinal projection to the dentate gyrus of the monkey. *J Neurosci* 9:216–228
601. Witter MP (2007) The perforant path: projections from the entorhinal cortex to the dentate gyrus. *Prog Brain Res* 163:43–61
602. Wolf, M.E., (1998) The role of excitatory amino acids in behavioral sensitization to psychomotor stimulants. *Prog. Neurobiol.* 54, 679–720.
603. Wonnacott S. (1997) Presynaptic nicotinic ACh receptors. *Trends Neurosci.* 20, 92–98.
604. Wonodi, I. and Schwarcz, R. (2010) Cortical kynurenine pathway metabolism: a novel target for cognitive enhancement in schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 36 (2), 211–218
605. Woolsey, T. A., Hanaway, J., & Gado, M. H. (2017). *The Brain Atlas: A Visual Guide to the Human Central Nervous System* (4.a ed.). Hoboken, NJ, Estados Unidos: Wiley.
606. World Health Organization. (2019). ICD-11: International classification of diseases (11th revision). Retrieved from <https://icd.who.int/>
607. Wu X, Zhao N, Bai F, Li C, Liu C, Wei J, Zong W, Yang L, Ryabinin AE, Ma Y, and Wang J. (2016) Morphine-induced conditioned place preference in rhesus monkeys: Resistance to inactivation of insula and extinction. *Neurobiology of Learning and Memory* 131:192-200.
608. Wu, C.-S., Chen, H., Sun, H., Zhu, J., Jew, C. P., Wager-Miller, J., Straiker A., Spencer C., Bradshaw H., Mackie K., Lu H.C. (2013). GPR55, a G-Protein Coupled Receptor for Lysophosphatidylinositol, Plays a Role in Motor Coordination. *PLoS ONE*, 8(4): e60314.
609. Xiao C, Zhou C-y, Jiang J-h, and Yin C. (2020) Neural circuits and nicotinic acetylcholine receptors mediate the cholinergic regulation of midbrain dopaminergic neurons and nicotine dependence. *Acta Pharmacologica Sinica* 41:1-9.
610. Yang H, Zhou J, Lehmann C (2016). GPR55 - a putative "type 3" cannabinoid receptor in inflammation. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 27:297-302.
611. Yang, L. C. et. al. (2015) Chronic oleoylethanolamide treatment improves spatial cognitive deficits through enhancing hippocampal neurogenesis after transient focal cerebral ischemia. *Biochem. Pharmacol.* 94, 257–269.
612. Yang, Y., Lu, J. Y., Wu, X., Summer, S., Whoriskey, J., Saris, C., et. al. (2010). G-protein-coupled receptor 35 is a target of the asthma drugs cromolyn disodium and nedocromil sodium. *Pharmacology* 86, 1–5.
613. Yang, Y., Wang, X.B., Frerking, M., Zhou, Q., (2008) Spine expansion and stabilization associated with long-term potentiation. *J. Neurosci.* 28, 5740–5751.
614. Yin, H.H., Knowlton, B.J., (2006) The role of the basal ganglia in habit formation. *Nat. Rev. Neurosci.* 7 (6), 464–476.
615. Yokoi, N., Fukata, M., and Fukata, Y. (2012) Synaptic plasticity regulated by protein–protein interactions and posttranslational modifications, *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.*, 297, 1-43.
616. Yoon S., Seger R. (2006) The extracellular signal-regulated kinase: multiple substrates regulate diverse cellular functions. *Growth Factors.* 24(1):21-44.
617. Yperman, J., Becker, T., Valkenburg, D., Popescu, V., Hellings, N., Wijmeersch, B. V., & Peeters, L. M. (2020). Machine learning analysis of motor evoked potential time series to predict disability progression in multiple sclerosis. *BMC Neurology*, 20(1).

618. Yuen, E.Y., Wei, J., Liu, W., Zhong, P., Li, X., Yan, Z., (2012) Repeated stress causes cognitive impairment by suppressing glutamate receptor expression and function in prefrontal cortex. *Neuron* 73, 962–977.
619. Yuste, R., (2010) *Dendritic Spines*. The MIT Press, Cambridge.
620. Zhao P, Sharir H, Kapur A, Cowan A, Geller EB, Adler MW, et. al. (2010) Targeting of the orphan receptor GPR35 by pamoic acid: a potent activator of extracellular signal-regulated kinase and beta-arrestin2 with antinociceptive activity. *Mol Pharmacol*. 78: 560–8.
621. Zhao, P. & Abood, M. E. 2013. GPR55 and GPR35 and their relationship to cannabinoid and lysophospholipid receptors. *Life Sci*, 92, 453-7.
622. Zhuo, M., Small, S.A., Kandel, E.R., Hawkins, R.D., (1993) Nitric oxide and carbon monoxide produce activity-dependent long-term synaptic enhancement in hippocampus. *Science* 260, 1946–1950.13
623. Zink AN, Perez-Leighton CE, Kotz CM. (2014) The orexin neuropeptide system: Physical activity and hypothalamic function throughout the aging process. *Frontiers in systems neuroscience*; 8:211
624. Zuniga, K.E., Mackenzie, M.J., Kramer, A., Mcauley, E., (2016) Subjective memory impairment and well-being in community-dwelling older adults. *Psychogeriatrics* 16, 20–26.