

**EVALUACIÓN DEL SISTEMA DEL ÁCIDO LISOFOSFATÍDICO
COMO POTENCIAL BIOMARCADOR EN LOS TRASTORNOS
POR USO DE ALCOHOL Y COCAÍNA**

Tesis doctoral por compendio de publicaciones



María Flores López

Directores:

Antonia Serrano Criado

Francisco Javier Pavón Morón

Programa de Doctorado en Psicología

Facultad de Psicología y Logopedia

Universidad de Málaga, 2024



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA.

Facultad de Psicología y Logopedia.

Programa de Doctorado en Psicología.

Línea de Investigación: Bases biológicas del comportamiento.



Tesis doctoral por compendio de publicaciones

**EVALUACIÓN DEL SISTEMA DEL ÁCIDO LISOFOSFATÍDICO
COMO POTENCIAL BIOMARCADOR EN LOS TRASTORNOS
POR USO DE ALCOHOL Y COCAÍNA**

EVALUATION OF THE LYSOPHOSPHATIDIC ACID SYSTEM AS A
POTENTIAL BIOMARKER FOR ALCOHOL AND COCAINE USE DISORDERS.

Memoria presentada por **María Flores López** para optar al título de Doctor por la
Universidad de Málaga, bajo la dirección de los Doctores Antonia Serrano Criado y

Francisco Javier Pavón Morón.

Málaga, 2024.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AUTORA: María Flores López

 <https://orcid.org/0000-0003-3489-1465>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



Escuela de Doctorado

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR

Dña. **MARÍA FLORES LÓPEZ**, estudiante del programa de doctorado en Psicología de la Universidad de Málaga, autora de la tesis titulada: **EVALUACIÓN DEL SISTEMA DEL ÁCIDO LISOFOSFATÍDICO COMO POTENCIAL BIOMARCADOR EN LOS TRASTORNOS POR USO DE ALCOHOL Y COCAÍNA**, presentada para la obtención del título de doctor por la Universidad de Málaga y realizada bajo la tutorización de **LUIS JAVIER SANTÍN NÚÑEZ** y la dirección de **ANTONIA SERRANO CRIADO** y **FRANCISCO JAVIER PAVÓN MORÓN**, declara que:

La tesis presentada es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, conforme al ordenamiento jurídico vigente (Real Decreto Legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo.

Igualmente asumo, ante a la Universidad de Málaga y ante cualquier otra instancia, la responsabilidad que pudiera derivarse en caso de plagio de contenidos en la tesis presentada, conforme al ordenamiento jurídico vigente.

En Málaga, a 22 de diciembre de 2023

Fdo.: MARÍA FLORES LÓPEZ Doctoranda	Fdo.: LUIS JAVIER SANTÍN NÚÑEZ Tutor
Fdo.: ANTONIA SERRANO CRIADO Directores de tesis	FRANCISCO JAVIER PAVÓN MORÓN

UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



EFQM AENOR



Edificio Pabellón de Gobierno. Campus El Ejido. 29071

Tel.: 952 13 10 28 / 952 13 14 61 / 952 13 71 10

E-mail: doctorado@uma.es





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



FACULTAD DE
PSICOLOGÍA Y LOGOPEDIA
Universidad de Málaga

Programa de Doctorado en Psicología

DECLARACIÓN DE LOS DIRECTORES Y TUTOR

Dña. **ANTONIA SERRANO CRIADO**, Doctora por la Universidad de Málaga e Investigadora Nicolás Monardes del grupo de Neuropsicofarmacología de IBIMA- Plataforma Bionand, junto con D. **FRANCISCO JAVIER PAVÓN MORÓN**, Doctor por la Universidad de Málaga e Investigador Nicolás Monardes del grupo Investigación cardiovascular para la salud de IBIMA-Plataforma Bionand, como directores, y **LUIS JAVIER SANTÍN NÚÑEZ**, Doctor en Psicología y Catedrático del Departamento de Psicobiología y Metodología de las Ciencias del Comportamiento de la Universidad de Málaga, certifican que Dña. **MARÍA FLORES LÓPEZ** ha efectuado la tesis doctoral titulada: **EVALUACIÓN DEL SISTEMA DEL ÁCIDO LISOFOSFATÍDICO COMO POTENCIAL BIOMARCADOR EN LOS TRASTORNOS POR USO DE ALCOHOL Y COCAÍNA.**

La investigación responde a los requisitos de una tesis doctoral y la metodología adoptada es apropiada a los fines de investigación. Por tanto, entienden que reúne los requisitos para optar al grado de Doctor/a según la legislación vigente y, en consecuencia, autorizan su depósito y posterior presentación y defensa ante el tribunal designado para tal fin.

En Málaga, a 22 de diciembre de 2023.

Fdo.: Antonia Serrano Criado

Fdo.: Francisco Javier Pavón Morón

Fdo. Luis Javier Santín

UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



EFQM

AENOR

ISO 14001
BUREAU VERITAS
Certification



Bulevar Louis Pasteur, 25

Campus de Teatinos. 29071. Málaga

952132406/07/08

psicologia@uma.es





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



INFORME DE IDONEIDAD DE LA PRESENTACIÓN POR COMPENDIO DE ARTÍCULOS

El Dr. **LUIS JAVIER SANTÍN NÚÑEZ**, catedrático de Psicobiología de la Universidad de Málaga, como tutor y junto con los directores, la Dra. **ANTONIA SERRANO CRIADO** y el Dr. **FRANCISCO JAVIER PAVÓN MORÓN**, de la tesis doctoral titulada: **EVALUACIÓN DEL SISTEMA DEL ÁCIDO LISOFOSFATÍDICO COMO POTENCIAL BIOMARCADOR EN LOS TRASTORNOS POR USO DE ALCOHOL Y COCAÍNA**, y presentada por la doctoranda **MARÍA FLORES LÓPEZ**, informan de la idoneidad de la presentación por compendio de artículos, dado que cumple con todos los criterios establecidos para ello por la Universidad de Málaga. Los trabajos que la componen, y que no han sido utilizados en tesis anteriores, son los siguientes:

1. **Flores-López M**, García-Marchena N, Pavón FJ, Lara E, Porrás-Perales O, Araos P, Requena-Ocaña N, Torres-Galván S, Mañas-Padilla MC, Rubio G, Suárez J, Santín LJ, Rodríguez de Fonseca F, Castilla-Ortega E, García-Fernández MI, Serrano A. Plasma Concentrations of Lysophosphatidic Acid and Autotaxin in Abstinent Patients with Alcohol Use Disorder and Comorbid Liver Disease. *Biomedicine*. 2021 Sep 13;9(9):1207. doi: 10.3390/biomedicine9091207. PMID: 34572393; PMCID: PMC8469650.
2. **Flores-López M**, García-Marchena N, Araos P, Requena-Ocaña N, Porrás-Perales O, Torres-Galván S, Suarez J, Pizarro N, de la Torre R, Rubio G, Ruiz-Ruiz JJ, Rodríguez de Fonseca F, Serrano A, Pavón-Morón FJ. Sex Differences in Plasma Lysophosphatidic Acid Species in Patients with Alcohol and Cocaine Use Disorders. *Brain Sci*. 2022 Apr 30;12(5):588. doi: 10.3390/brainsci12050588. PMID: 35624975; PMCID: PMC9139721.
3. **Flores-López M**, García-Marchena N, Pavón-Morón FJ, Requena-Ocaña N, Sánchez-Marín L, Martín-Chaves L, García-Medina M, Pedraza C, Castilla-Ortega E, Ruiz JJ, Rodríguez de Fonseca F, Araos P, Serrano A. Plasma concentrations of lysophosphatidic acid and the expression of its receptors in peripheral blood mononuclear cells are altered in patients with cocaine use disorders. *Transl Psychiatry*. 2023 Jun 21;13(1):215. doi: 10.1038/s41398-023-02523-1. PMID: 37344453; PMCID: PMC10284796.

En Málaga, a 22 de diciembre 2023.

Fdo.: Luis J. Santín

Fdo.: Antonia Serrano

Fdo.: Francisco Javier Pavón



EFQM AENOR



Bulevar Louis Pasteur, 25

Campus de Teatinos. 29071. Málaga

952132406/07/08

psicologia@uma.es



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

ENTIDADES FINANCIADORAS

- **Contrato Predoctoral** de Formación en Investigación en Salud (**PFIS**) con número de expediente FI18/00249 del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII).

- Ayudas para la movilidad del personal investigador (**Movilidad M-AES**) con número de expediente MV22/00094 del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII).

- **Ayudas para las estancias** de la convocatoria 2022 del Plan Propio con número de expediente MOV22-006 del Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA).

- **Proyectos financiados** en los que he participado durante la realización de la presente Tesis Doctoral:

1. Título del proyecto: Estudio traslacional del papel del ácido lisofosfatídico en los trastornos por uso de alcohol.

Investigador principal: Pedro Fernando Araos.

Entidad financiadora: Junta de Andalucía.

Duración: 3 años.

Cuantía: 69.000,00 €. Código: PI-0140-2018.

2. Título del proyecto: Evaluación de marcadores inflamatorios y de estrés oxidativo en pacientes de edad avanzada con cardiopatía isquémica. Estratificación pronóstica combinada tras una revascularización coronaria percutánea.

Investigadores principales: Antonio Jesús Muñoz García y Manuel Jiménez Navarro.

Entidad financiadora: Junta de Andalucía.

Duración: 3 años.

Cuantía: 149.960,00 €. Código: PI-0131-2020.

3. Título del proyecto: Papel de la señalización lipídica mediada por monoacilgliceroles y ácido lisofosfatídico en la asociación entre trastornos por uso de alcohol y depresión: identificación de biomarcadores.

Investigador principal: Antonia Serrano Criado.

Entidad financiadora: Instituto de Salud Carlos III.

Duración: 2 años.

Cuantía: 59.215,00 €. Código: PI20/01399.

4. Título del proyecto: Caracterización de marcadores de estrés cardíaco y quimioquinas en pacientes con trastorno por uso de alcohol para evaluar el riesgo de cardiopatía isquémica: biomarcadores específicos.

Investigadores principales: Francisco Javier Pavón Morón y Jorge Rodríguez Capitán.

Entidad financiadora: Instituto de Salud Carlos III.

Duración: 2 años.

Cuantía: 86.878,00 €. Código: PI22/01141.

5. Título del proyecto: Evaluación del riesgo de cardiopatía isquémica en pacientes con trastorno por uso de alcohol en abstinencia: determinación de marcadores de estrés cardíaco e inflamación en plasma.

Investigadores principales: Manuel Jiménez Navarro y Ana Molina Ramos.

Entidad financiadora: Sociedad Española de Cardiología.

Duración: 1 año.

Cuantía: 15.000,00 €. Código: SEC/FEC-INV-BAS 23/18.



UNIÓN EUROPEA

Fondo Europeo de Desarrollo Regional
"Una manera de hacer Europa"



Junta de Andalucía



Sin duda, a vosotros, a mi Javichick y mi Paka.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AGRADECIMIENTOS

Parece mentira que este camino haya llegado a su meta. No ha sido precisamente fácil llegar hasta aquí, pero sin lugar a duda no he podido tener mejor compañía y apoyo en el trascurso de este “largo” viaje.

Como no podía ser de otra forma, comienzo dando las gracias a mis dos directores de tesis, Toñi y Javi, referentes y amigos, ejemplo de saber estar, escuchar, ayudar y regalar su inmenso conocimiento de una forma tan cercana y cálida que hace mucho más sencillo el día a día en la jungla de la investigación, sin duda gracias por acompañarme siempre.

A Fernando Rodríguez de Fonseca, que, aunque no aparezca entre los directores, es una pieza fundamental en este trabajo, realmente eres un motor a reacción, gracias por impulsarme, animarme y regalarnos todas tus maravillosas ideas.

A todos y cada uno de mis compañeros/as del Laboratorio de Medicina Regenerativa del Hospital Regional de Málaga. Trabajar allí ha sido una aventura, gracias por regalarme vuestros conocimientos sobre laboratorio y ayudarme en mi torpeza hasta llegar a hacer que el pipeteo se haya convertido en una actividad relajante para mí... los que empezasteis conmigo sabéis a lo que me refiero. Muchos de vosotros/as os habéis convertido en grandes amigos/as, soy afortunada. GRACIAS POR TODO.

Gracias a todos los profesores y compañeros del departamento de Psicobiología de la Universidad de Málaga (UMA), en especial a Luis Santín, por su cercanía y exquisita atención cómo tutor.

A todos los profesores del departamento de Personalidad Evaluación y Tratamiento Psicológico de la UMA con los que he tenido el placer de compartir docencia y aprendizaje. No hay nada más bonito que poder enseñar aquello que te apasiona.

No me puedo olvidar de las personas que despertaron mi “gusanillo investigador”. Gracias a Rosa Esteve, por ver en mí cualidades y potencial para dedicarme a “esto” posiblemente sin ti y el resto de las compañeras del grupo de dolor crónico de la UMA no hubiera dado el paso de decidirme por este camino. A ti Elena, gracias por todo.

Por supuesto, gracias a Manolo, y a todos los compañeros del grupo de cardiología del Hospital Universitario Virgen de la Victoria, por su amplitud de miras y por entender la psicología como una ciencia transversal y necesaria en el sistema de salud pública.

No puedo dejar de agradecer a Ana Gallegos, la oportunidad que me brindó de estar bajo su supervisión 7 meses en el Observatorio Europeo de las Drogas y las toxicomanías de Lisboa. Experiencia que no pudo ser más enriquecedora ni a nivel laboral ni a nivel personal. Gracias a mis compañeras del día a día, Eilika, Valerie, Fátima, Espe, Sonsoles, fuisteis y sois luz.

Gracias a Alberto Rodríguez y Gabri por hacer que siga amando la psicoterapia de la forma en la que lo hago, el tiempo compartido en soluciones fue maravilloso y tremendamente enriquecedor, haciéndome cuidar una faceta que me asustaba olvidar.

Gracias también a todos los compis con los que coincidí y de los cuales pude aprender muchísimo.

Lucía, tú, fuiste mi barca de salvación, te admiro como profesional y como persona a partes iguales, gracias infinitas por ayudarme a coger las riendas del timón cuando más perdida estaba.

A nivel personal, estos 5 años han sido una vorágine de cambios, pero llego al final de esta etapa feliz y reconfortada de todo lo obtenido. Siempre he tenido mis soportes bien firmes, mis guías y mis compañeros de batalla presentes en cada instante, papá, mamá, gracias por confiar en mí.

Gracias a mi hermana y mi hermano, junto con mis niños, Iker, Victoria, Estefanía y Javier, por existir, acompañar y apoyarme. Abu, gracias por ser y estar. Tita, gracias por ser un soporte en la distancia.

La amistad y el amor siempre han sido dos conceptos muy importantes para mí y he tenido la fortuna de tener ambos, y entender que, aunque las situaciones cambien y los años pasen, seguimos queriéndonos, y estando presentes cada una/o a nuestra manera. Marina, Laura (s), Nerea, Isa, Irene, Esther, Sandra, Nuria, Dina, Ada, Ana, ML, Patri, Jorge, Lucas, Miguel, gracias por haber formado parte de este proceso, por haberme empujado para llegar hasta aquí, sin vosotras/os esto hubiera sido infinitamente más complicado, por no decir imposible.

Cierro esta larga lista de agradecimientos (en la que, seguro que se me pasa alguien, 5 años dan para mucho), resaltando la generosidad de los pacientes que de manera desinteresada nos han regalado su historia de vida con el objetivo de ayudar a encontrar nuevas intervenciones para las mujeres y hombres con trastornos por uso de sustancias, espero que algún día vuestra inmensa generosidad se vea recompensada, GRACIAS.

ÍNDICE

Abreviaturas	21
Índice de figuras y tablas	25
Introducción	29
1. El problema del consumo de sustancias	31
1.1. Epidemiología del consumo de alcohol	32
1.2. Epidemiología del consumo de cocaína	34
2. Los trastornos por uso de sustancias	36
2.1. Trastornos relacionados con el alcohol	38
2.2. Trastornos relacionados con la cocaína	42
3. Principales comorbilidades psiquiátricas y médicas en los trastornos por uso de sustancias	45
3.1. Comorbilidad psiquiátrica y médica en trastornos por uso de alcohol	48
3.2. Comorbilidad psiquiátrica y médica en trastornos por uso de cocaína	49
4. Neurobiología de la adicción	50
4.1. Sistema de recompensa	51
4.2. Circuito cerebral del estrés	53
4.3. Eje HPA y neuroinflamación	54
5. Ciclo de la adicción	54
5.1. Atracón o intoxicación	55
5.2. Abstinencia o síntomas de afecto negativo	56
5.3. Preocupación o anticipación	57
6. Influencia del sexo sobre los mecanismos de la adicción	57
7. Búsqueda de biomarcadores relacionados con la adicción	59



7.1. Características de los biomarcadores moleculares	59
7.2. Sistemas de señalización lipídicos derivados de ácidos grasos	60
8. Sistema endocannabinoide	61
8.1. Componentes del sistema endocannabinoide	62
8.2. Papel del sistema endocannabinoide en las adicciones	63
8.2.1. Alcohol	64
8.2.2. Cocaína	64
8.2.3. Otros trastornos psiquiátricos y comorbilidad	65
9. Sistema del ácido lisofosfatídico	66
9.1. Metabolismo del ácido lisofosfatídico	67
9.1.1. Biosíntesis del ácido lisofosfatídico	67
9.1.2. Degradación e inactivación del ácido lisofosfatídico	69
9.1.3. Receptores del ácido lisofosfatídico	71
9.2. El papel del ácido lisofosfatídico en el comportamiento en modelos animales	73
9.2.1. Ratón maLPA ₁ como modelo de estudio	74
9.3. El papel del ácido lisofosfatídico en las adicciones	74
9.3.1. Alcohol	75
9.3.2. Cocaína	76
Hipótesis y objetivos	79
1. Hipótesis	81
1.1. Hipótesis general	81
1.2. Hipótesis específicas	81
2. Objetivos	82
2.1. Objetivo general	82
2.2. Objetivos comunes	82

2.3. Objetivos específicos	83
Metodología	87
1. Estudios clínicos	89
1.1. Descripción de los participantes	89
1.1.1. Grupo de pacientes con trastorno por uso de sustancias	89
1.1.2. Grupo control de participantes sanos	90
1.2. Criterios de inclusión y exclusión	90
1.2.1. Criterios de participación del grupo trastorno por uso de sustancias	90
1.2.2. Criterios de participación del grupo control	91
1.3. Aspectos éticos en los estudios clínicos	91
1.4. Evaluación clínica	91
1.4.1. Entrevista de investigación psiquiátrica de los trastornos mentales y de sustancias – PRISM	92
1.4.2. Entrevista diagnóstica internacional compuesta – CIDI	93
1.5. Obtención y procesamiento de muestras en los estudios clínicos	94
1.5.1. Plasma	94
1.5.2. Células mononucleares de sangre periférica	95
1.6. Determinación de variables bioquímicas en los estudios clínicos	95
1.6.1. Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas	95
1.6.2. Espectrometría de masas en tándem acoplada a cromatografía líquida ...	96
1.7. Determinación en células mononucleares de sangre periférica	97
1.7.1. Reacción en cadena de la polimerasa con reverso transcripción en tiempo real	97
1.8. Análisis estadísticos en los estudios clínicos	98
1.8.1. Análisis de asociaciones de variables cualitativas	99

1.8.2.	Análisis de asociaciones y distribución de variables cuantitativas	99
1.8.3.	Análisis de covarianza para variables cuantitativas normales	99
1.8.4.	Análisis de correlación entre variables cuantitativas	100
1.8.5.	Análisis de regresión logística binaria y modelos predictivos de estratificación	100
2.	Estudios preclínicos	101
2.1.	Animales	101
2.2.	Modelos preclínicos de exposición a cocaína	101
2.2.1.	Tratamiento agudo	102
2.2.2.	Tratamiento repetido	102
2.3.	Aspectos éticos en los estudios preclínicos	103
2.4.	Recogida y procesamiento de muestras en estudios preclínicos	103
2.5.	Determinación de las concentraciones de ácido lisofosfatídico en plasma	103
2.6.	Análisis estadísticos de los estudios preclínicos	104
	Resultados	105
	Primer bloque experimental	107
	Segundo bloque experimental	123
	Tercer bloque experimental	143
	Discusión	157
1.	El sistema del ácido lisofosfatídico como biomarcador en los trastornos por uso de sustancias	161
2.	Alteraciones en el sistema del ácido lisofosfatídico asociadas a la presencia de comorbilidad hepática en pacientes con trastorno por uso de alcohol	165
3.	Ácido lisofosfatídico y dimorfismo sexual	168



4. Alteraciones del ácido lisofosfatídico inducidas por cocaína en un modelo animal	171
5. Limitaciones y futuras líneas de investigación	173
Conclusiones	175
English summary & conclusions	179
Referencias bibliográficas	203



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

ABREVIATURAS

2-AG: 2- araquidonoilglicerol	CIDI: Entrevista Diagnóstica Internacional Compuesta (del inglés: <i>Composite International Diagnostic Interview</i>)
2-LG: 2- linoleoilglicerol	
2-OG: 2- oleoilglicerol	
5-HT: 5-hidroxitriptamina / serotonina	CIE: Clasificación internacional de enfermedades
ACTH: Hormona adrenocorticotropa	
AEA: Araquidonoiletanolamida / anandamida	COF: Corteza Orbitofrontal
AMPA: Ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico	COX-2: Ciclooxygenasa-2
ANCOVA: Análisis de covarianza	CPD: Centro Provincial de Drogodependencias
ANOVA: Análisis de varianza	CPF: Corteza prefrontal
ARNm: Ácido ribonucleico mensajero	CRF: Factor liberador de corticotropina (del inglés: <i>Corticotropin - releasing factor</i>)
ATV: Área tegmental ventral	
ATX: Autotaxina	CRP: Proteína C reactiva
B2M: β 2-microglobulina	CTA: Centros de Tratamiento Ambulatorio
BDNF: Factor neurotrófico derivado del cerebro (del inglés: <i>Brain - derived neurotrophic factor</i>)	DAG: Diacilglicerol
CCA: Corteza cingulada anterior	DAGL: Diacilglicerol lipasa
	DEA: Docosatetraenoiletanolamida

DGK: Diacilglicerol quinasa (del inglés: <i>Diacylglycerol kinase</i>)	LPA: Ácido lisofosfatídico (del inglés: <i>Lysophosphatidic acid</i>)
DSM: Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (del inglés: <i>Diagnostic and statistical manual of mental disorders</i>)	LPA-AT: Ácido lisofosfatídico-aciltransferasa
ELISA: Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (del inglés: <i>enzyme-linked immunosorbent assays</i>)	LPA-LPL: Ácido lisofosfatídico-lisofosfolipasa (del inglés: <i>LPA-lysophospholipase</i>)
FAAH: Amida hidrolasa de ácido graso (del inglés: <i>Fatty acid amide hydrolase</i>)	LPC: Lisofosfatidilcolina (del inglés: <i>Lysophosphatidylcholine</i>)
GABA: Ácido γ -aminobutírico	LPP: Lípido fosfato fosfatasa (del inglés: <i>Lipid phosphato phosphatase</i>)
HPA: Eje hipotalámico-pituitario-adrenal	MAG: Monoacilglicerol
IL: Interleuquina	MAGL: Monoacilglicerol lipasa
IMC: Índice de masa corporal	NAc: Núcleo accumbens
LC-MS/MS: Espectrometría de masas en tándem acoplada a cromatografía líquida (del inglés, <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry</i>)	NAE: Aciletanolamida / <i>N</i> -aciletanolamina
LOX: Lipoxigenasa	NAPE: <i>N</i> -acil-fosfatidiletanolamina
	NPV: Núcleo paraventricular
	NPY: Neuropeptido Y
	NMDAR: Receptor <i>N</i> -metil- <i>D</i> -aspartato.

OEDA: Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones

OEDT: Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías

OEA: Oleoiletanolamida

OMS: Organización Mundial de la Salud

P450: Citocromo 450

PA: Ácido fosfatídico (del inglés: *Phosphatidic acid*)

PBMC: Células mononucleares de sangre periférica (del inglés: *Peripheral blood mononuclear cell*)

PC: Fosfatidilcolina (del inglés: *Phosphatidylcholine*)

PE: Fosfatidiletanolamina (del inglés: *Phosphatidylethanolamine*)

PG: Fosfoglicerol (del inglés: *Phosphoglycerol*)

PLD: Fosfolipasa D (del inglés: *Phospholipase D*)

POEA: Palmitoleiletanolamida

PPAR: Receptores activados por proliferadores de peroxisomas

PRISM: *Psychiatric Research Interview for Substance and Mental Disorders*

PS: Fosfatidilserina (del inglés: *Phosphatidylserine*)

RT-qPCR: Reacción en cadena de la polimerasa con reverso transcripción en tiempo real (del inglés: *Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction*)

SEC: Sistema endocannabinoide

SNA: Sistema nervioso autónomo

SNC: Sistema nervioso central

TAP: Trastorno antisocial de la personalidad

TDAH: Trastorno por déficit de atención con hiperactividad

TEPT: Trastorno de estrés postraumático

TLP: Trastorno límite de la personalidad

Abreviaturas

TNF α : Factor de necrosis tumoral α

TUS: Trastorno por uso de sustancias

TUA: Trastorno por uso de alcohol

UBE: Unidad de bebida estándar

TUC: Trastorno por uso de cocaína

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

FIGURAS

Figura 1: Prevalencia del consumo de sustancias en España en la población de entre 15 a 64 años. Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones (OEDA, 2022). Plan Nacional sobre Drogas, Ministerio de Sanidad.

Figura 2: Desarrollo de adicción en el marco del refuerzo motivado para la búsqueda y uso de sustancias de abuso. [Imagen tomada de: (Acuña et al., 2017; Koob, 2013)].

Figura 3: Modelo de circuitos y fases de la adicción. En azul: Atracón/Intoxicación (recompensa e incentivo destacados: ganglios basales). En naranja: Abstinencia/ afecto negativo (estados emocionales negativos y estrés: amígdala extendida y habénula). En verde: Preocupación/anticipación (deseo, impulsividad y función ejecutiva: CPF, ínsula y alo corteza). Las flechas representan las principales conexiones de circuitos, y los números se refieren a vías neuroquímicas y específicas de neurocircuitos que se sabe que respaldan los cambios cerebrales que contribuyen al estado alostático de la adicción. CPF=corteza prefrontal. CCA=corteza cingulada anterior. COF=corteza orbitofrontal. NAc-VTA=núcleo accumbens-área tegmental ventral. [Imagen adaptada y tomada de (Koob & Volkow, 2016)].

Figura 4: Principales mecanismos de acción del sistema endocannabinoide (SEC). A. Representación química de los endocannabinoides AEA y 2-AG, y sus receptores cannabinoides CB1y CB2. B. Acción del SEC en el SNC como modulador retrógrado de neurotransmisores [imagen adaptada tomada de Royal Queen Seeds website].

Figura 5: Estructura del ácido lisofosfatídico (LPA) y especies comunes. El LPA consta de 1) una cadena de ácido graso en las posiciones sn-1 o sn-2, 2) un esqueleto de glicerol y 3) un grupo fosfato en la posición sn-3. La cadena de ácido graso puede ser saturada o

insaturada y tener longitudes diferentes, lo que genera diferentes especies de LPA. Las especies más abundantes en el suero de mamíferos están representadas [Imagen adaptada tomada de (Hernández-Araiza et al., 2018)].

Figura 6: Esquema de las diferentes vías de síntesis del ácido lisofosfatídico (LPA) [Imagen adaptada de: (Meduri et al., 2021)].

Figura 7. Esquema de las diferentes vías de degradación del ácido lisofosfatídico (LPA) [Imagen adaptada y tomada de (Lee et al., 2019)].

Figura 8. Representación esquemática de las vías de señalización activadas por los receptores LPA₁₋₆. Los círculos naranja, verde y púrpura representan las subunidades de proteína G: α , β y γ , respectivamente. PLC=fosfolipasa C. PI3K=fosfatidilinositol 3 quinasa. AC=adenilato ciclasa [Imagen adaptada y tomada de (González-Gil et al., 2015)].

Figura 9. Concentraciones plasmáticas de ácido lisofosfatídico (LPA) total y sus especies en la pacientes con trastorno por uso de alcohol (TUA) y controles sin psicopatologías [Imagen adaptada y tomada de (García-Marchena et al., 2020)].

Figura 10: Fases de la muestra sanguínea para la obtención de células mononucleares [Adaptada de: (Eppendorf, Nota de aplicación nº372)].

Figura 11: Representación del experimento de tratamiento agudo con cocaína a diferentes dosis y diferentes tiempos de sacrificio.

Figura 12: Representación del experimento de tratamiento repetido con cocaína (15mg/kg) y vehículo a distintos tiempos de sacrificio.

TABLAS

Tabla 1: Frecuencia del consumo de alcohol en España en la población de entre 15 a 64 años por sexo. Datos adaptados del Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones (OEDA, 2022), Plan Nacional sobre Drogas, Ministerio de Sanidad.

Tabla 2: Frecuencia del consumo de cocaína en España en la población de entre 15 a 64 años por sexo. Datos adaptados del Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones (OEDA, 2021), Plan Nacional sobre Drogas, Ministerio de Sanidad.

Tabla 3: Criterios diagnósticos DSM-5 para el trastorno por uso de alcohol (APA, 2014).

Tabla 4: Criterios diagnósticos DSM-5 para intoxicación por alcohol (APA, 2014).

Tabla 5: Criterios diagnósticos DSM-5 para abstinencia de alcohol (APA, 2014).

Tabla 6: Criterios diagnósticos DSM-5 para trastorno por uso de cocaína (TUC) (APA, 2014).

Tabla 7: Criterios diagnósticos DSM-5 para intoxicación por cocaína (APA, 2014).

Tabla 8: Criterios diagnósticos DSM-5 para abstinencia de cocaína (APA, 2014).

Tabla 9: Principales cambios neuroquímicos según las fases de la adicción y las principales áreas implicadas.

Tabla 10: Referencias de cebadores para ensayos de expresión génica TaqMan®. Se muestra la identificación del ensayo, la referencia de la secuencia y la longitud del amplicón de cada cebador usado en nuestro estudio.

Fuente: <http://bioinfo.appliedbiosystems.com/genome-database/gene-expression.html>.





INTRODUCCIÓN



1. EL PROBLEMA DEL CONSUMO DE SUSTANCIAS

El consumo de sustancias psicoactivas es un problema de salud pública con repercusión a nivel mundial (Lo et al., 2020). Actualmente existen gran variedad de sustancias que son consumidas, pudiendo hacerse una distinción entre aquellas reguladas por la ley (p. ej., alcohol y tabaco) y otras sustancias ilegales (p. ej., cannabis, cocaína y heroína).

Tal y como se observa en la **figura 1**, las sustancias más consumidas en España según el último reporte del Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones (OEDA) son el alcohol y el tabaco, seguidas por el consumo de hipnosedantes con y sin receta médica, el cannabis, los cigarrillos electrónicos y la cocaína (OEDA, 2022).

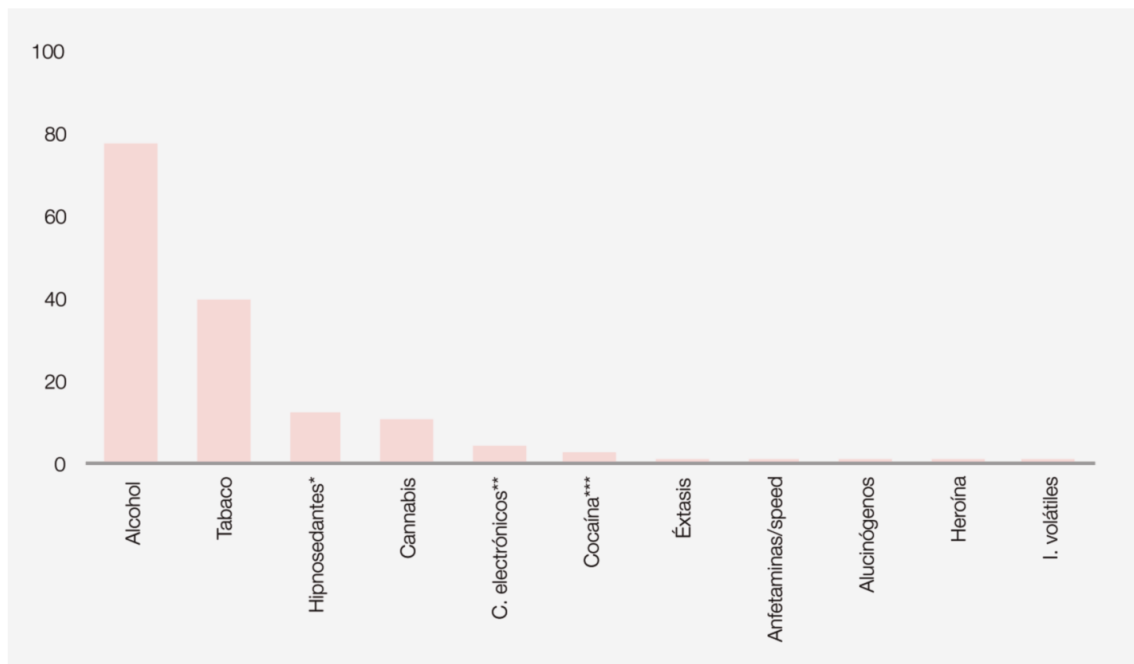


Figura 1: Prevalencia del consumo de sustancias en España en la población de entre 15 a 64 años. Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones (OEDA, 2022). Plan Nacional sobre Drogas, Ministerio de Sanidad.

El consumo patológico de cualquiera de estas sustancias conlleva graves problemas para la salud física y mental del consumidor (Kim & Park, 2019; Moussas & Papadopoulou, 2017; Richert et al., 2020; Yuodelis-Flores & Ries, 2015). La pluripatología que suelen presentar estos pacientes lleva a que finalmente se requiera de una atención médica

especializada que no siempre se adapta a sus necesidades y, además, se traduce en grandes gastos a los distintos sistemas de salud (Galanter et al., 2000; Shepard et al., 2002).

1.1. Epidemiología del consumo de alcohol

Dentro de las sustancias psicoactivas legales, el alcohol es la droga que se consume con mayor prevalencia a nivel mundial. En las bebidas alcohólicas el principal componente es el alcohol etílico o etanol, el cual afecta al funcionamiento del organismo en diferentes grados dependiendo de la frecuencia y la cantidad consumida. El alcohol es una sustancia depresora del sistema nervioso central (SNC), que inhibe progresivamente las funciones cerebrales.

En el informe sobre la situación mundial del alcohol y la salud realizado en 2018 (*Global status report on alcohol and health 2018*) por la Organización Mundial de la Salud (OMS) se estimó que unos 2300 millones de personas eran bebedores activos, por lo que más de la mitad de la población de América (54,1 %), Europa (59,9 %) y Pacífico Occidental (53,8 %) eran consumidores de alcohol de manera cotidiana. Además, a nivel mundial, el 5,3 % de los fallecimientos estaban relacionados con el uso problemático de esta sustancia.

Durante la pandemia de la COVID-19, se han descrito datos contradictorios con respecto al consumo de alcohol. Algunos estudios mostraron un aumento durante el confinamiento, mientras que otros demostraron una disminución (Roberts et al., 2021). En España, se realizó una encuesta para contrastar el consumo de alcohol durante la pandemia de la COVID-19 con el previo, y se observó un descenso estadísticamente significativo del mismo en ambos sexos (66,2 % en hombres y 48,3 % en mujeres) durante el periodo de la crisis sanitaria (OEDA-COVID, 2020).

Introducción

Más recientemente, la encuesta sobre alcohol y otras drogas en España realizada en población de entre 15 a 64 años en 2022, mostró que el alcohol era la sustancia psicoactiva más consumida (EDADES, 2022). Concretamente, el 93,2 % de la población afirmó haber consumido alcohol en algún momento de su vida. El 76 % reconoció haber consumido en los últimos 12 meses y el 64,5 % en el último mes. Además, el 9 % de la población consumió alcohol diariamente. También es importante destacar que la edad de inicio del consumo de alcohol en España es muy temprana. Concretamente, se observó una edad media de inicio de 14 años y un consumo semanal en torno a los 15 años, que coinciden con un periodo de especial vulnerabilidad como es la adolescencia (OEDA, 2022). De hecho, según la encuesta sobre el uso de drogas en enseñanza secundaria en España de 2022 (ESTUDES, 2022), el 70,5 % de los jóvenes entre 14 y 18 años reconocieron haber consumido alcohol en el último año y el 53,6 % en el último mes.

Es importante destacar que existen variables y factores que repercuten de manera directa en el consumo de alcohol como son el sexo biológico, la edad, el estado de salud, el estilo de vida, la situación económica, la legislación relacionada con el acceso a alcohol (regulación de su venta y distribución), los aspectos culturales y religiosos del entorno social, las políticas sociales y sanitarias, etc. (OMS, 2019).

En cuanto a la influencia de las diferencias por sexo, tal y como se mostraba a nivel mundial, las mujeres se muestran abstinentes con mayor frecuencia que los hombres y además, consumen alcohol en menor cantidad (OMS, 2019). En España, se observó un escenario similar, a nivel general como se muestra en la **tabla 1**, el consumo de alcohol es más elevado en hombres con respecto a mujeres. Según la encuesta EDADES del año 2022, el 94,9 % de los hombres y el 91,4 % de las mujeres consumieron alcohol en algún momento de su vida. Aunque estas cifras no parecen muy distintas, si hubo diferencias

más significativas entre ambos cuando hablamos del consumo diario en los últimos 30 días, donde el 14,6 % de hombres consumieron frente al 3,5 % de mujeres.

Tabla 1: Frecuencia del consumo de alcohol en España en la población de entre 15 a 64 años por sexo.

Frecuencia de consumo de alcohol en hombres y mujeres en España		
	Hombres (%)	Mujeres (%)
Alguna vez en la vida	94,9	91,4
Últimos 12 meses	82,1	70,8
Últimos 30 días	73,1	55,7
Diariamente últimos 30 días	14,6	3,5

Datos adaptados del Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones (OEDA, 2022), Plan Nacional sobre Drogas, Ministerio de Sanidad.

En cuanto a la cantidad de alcohol consumida, los hombres consumen más que las mujeres. Por ejemplo, un hombre bebe el doble de unidades de bebidas estándar (UBE) de cerveza que una mujer. Además, los hombres comienzan a consumir antes que las mujeres, con 16 y 17 años, respectivamente (EDADES, 2022).

1.2. Epidemiología del consumo de cocaína

La cocaína es una sustancia psicoestimulante alcaloide obtenida de las hojas de la planta *Erythroxylum Coca*, la cual normalmente se encuentra en el mercado ilegal en forma de clorhidrato de cocaína (cocaína en polvo) o como cocaína en base (*crack*) (Oliveira & Dinis-Oliveira, 2018; WDR, 2021).

La cocaína ha pasado de ser una sustancia ligada a los entornos marginales, a ser una droga que se consume en entornos recreativos. De hecho, muchos de los consumidores de cocaína esporádicos mantienen un entorno laboral, social y familiar estable, si bien puede desembocar en un patrón de consumo problemático (WDR, 2021).

Introducción

En el año 2019, aproximadamente 20 millones de personas en todo el mundo había consumido cocaína en el último año. En la última década, entre el año 2010 y 2019, se ha observado una tendencia creciente en el consumo de cocaína de aproximadamente un 22 % a nivel mundial. No obstante, estos datos presentan ciertas limitaciones debido a que algunas regiones no han aportado una información completa (Karila et al., 2014; WDR, 2021).

Durante la crisis sanitaria ocasionada por la pandemia de la COVID-19, se observó un ligero descenso en el consumo de cocaína en Europa, quizá debido a las propias medidas restrictivas establecidas para salvaguardar la seguridad de la población (EMCDDA, 2022). En España, también se observó un descenso en el consumo de esta sustancia en ambos sexos (OEDA-COVID, 2020).

En el último informe publicado por el Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías (OEDT), se informa que casi 2,3 millones de personas de entre 15 a 34 años (2,3 % de este grupo de edad) consumió cocaína en el último año en los países de la Unión Europea (EMCDDA, 2023).

Respecto al consumo de cocaína en España, se observó una tendencia creciente en el porcentaje de personas que reconocen haber consumido cocaína alguna vez a lo largo de la vida. Concretamente, en el caso de la cocaína en polvo, se pasó de un 3,4 % en 1995 a casi un 10,9 % en el año 2019 (OEDA, 2021). En el último reporte realizado, se mostró que el 2,5 % de la población de entre 15 a 64 años consumió cocaína (polvo y/o base) en el último año y el 1,1 % en los últimos 30 días. Además, el consumo de cocaína en 2019 fue la principal causa de admisión a tratamiento (44,7 % del total) y estuvo presente en el 60,3 % de las muertes por reacción aguda a drogas (OEDA, 2022).

Al igual que sucede con el consumo de alcohol, también existen diferencias entre hombres y mujeres en el consumo de esta sustancia. En el reporte de OEDA de 2022 se muestra que el 80,9 % de los consumidores de cocaína en España son hombres (OEDA, 2022). Tal y como puede observarse en la **tabla 2**, en 2019, el 16,1 % de los hombres habían consumido cocaína a lo largo de la vida en comparación al 5,7 % de las mujeres (OEDA, 2021). Además, estas diferencias en el consumo de cocaína entre ambos sexos seguían siendo significativas si se consideraban las frecuencias únicamente en el último año o en los últimos 30 días.

Tabla 2: Frecuencia del consumo de cocaína en España en la población de entre 15 a 64 años por sexo.

Frecuencia en el consumo de cocaína en hombres y mujeres en España		
	Hombres (%)	Mujeres (%)
Alguna vez en la vida	16,1	5,7
Últimos 12 meses	4,0	0,9
Últimos 30 días	1,9	0,3

Datos adaptados del Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones (OEDA, 2021), Plan Nacional sobre Drogas, Ministerio de Sanidad.

Según la encuesta a estudiantes de enseñanza secundaria en España de 2022, la prevalencia en el consumo de cocaína (polvo y/o base) alguna vez en la vida entre los jóvenes fue de 2,9 % en 2019 (ESTUDES, 2022). En cuanto a la edad media de inicio, se encontró que el consumo de cocaína comenzó a darse en torno a los 15 años, sin existir diferencias significativas en ambos sexos (ESTUDES, 2022).

2. LOS TRASTORNOS POR USO DE SUSTANCIAS

El diagnóstico de trastorno por uso de sustancias (TUS) se aplica a todas aquellas sustancias que, introducidas en el organismo, afectan la homeostasis fisiológica y psicológica causando alteraciones en el estado de ánimo y la conducta. Se experimentan

una serie de síntomas característicos y se pasa por unas etapas concretas: intoxicación, tolerancia, abuso, dependencia y abstinencia. Esto ocasiona alteraciones en las distintas áreas de la vida cotidiana (personal, laboral, social y física) de la persona con TUS (APA, 2000; APA, 2014.).

Los manuales más usados en la práctica clínica en España para establecer el diagnóstico de enfermedades psiquiátricas en la actualidad son: a) el Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM, del inglés: *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*) de la Asociación Americana de Psiquiatría (APA, del inglés: *American Psychiatric Association*), en su quinta versión (DSM-5) (APA, 2014) y b) la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE) de la OMS, en su actual versión CIE-11 (OMS, 2019). Ambos manuales coinciden en la necesidad de que se cumplan ciertos criterios para llegar al establecimiento del diagnóstico de TUS.

Según el DSM-5 (APA, 2014), hablamos de TUS o trastornos adictivos cuando el individuo consume cualquier droga de manera excesiva, produciéndose una activación directa en el sistema de recompensa del cerebro que participa en el reforzamiento y en procesos relacionados con las funciones ejecutivas. Al producirse una activación del sistema de la recompensa por el uso de sustancias psicoactivas, los estímulos naturalmente reforzantes pierden su valor apetitivo. El TUS, se basa en un patrón patológico de comportamientos relacionados con el consumo y está formado por un conjunto de síntomas comportamentales, cognitivos y fisiológicos que llevan a la persona a continuar consumiendo la sustancia a pesar de las repercusiones negativas que ocasiona en su vida cotidiana. El diagnóstico de TUS se puede realizar sobre 10 sustancias diferentes, siendo los síntomas experimentados distintos según la sustancia consumida. En el caso de algunas drogas de abuso, hay síntomas que no llegan a experimentarse (p. ej., bajo el consumo de inhalantes no se experimentan síntomas de abstinencia). Los

manuales diagnósticos organizan todos estos síntomas en una lista de criterios que se evalúan considerando la gravedad y repercusión del consumo en la vida de cada individuo para tomar la decisión más apropiada con respecto al tratamiento.

Los TUS tiene un rango de gravedad, desde leve a grave, dependiendo del número de síntomas que se diagnostiquen. Hablaríamos de TUS leve cuando la persona cumple entre 2 - 3 síntomas, moderado entre 4 - 5 síntomas y grave a partir de 6 síntomas. Los cambios en los criterios de gravedad hacen referencia a la frecuencia, cantidad de sustancia y deterioro que dicho consumo ocasiona en la vida de la persona (APA, 2014).

2.1. Trastornos relacionados con el alcohol

El trastorno por uso de alcohol (TUA) se define como una agrupación de síntomas comportamentales y físicos, entre los que están la abstinencia, la tolerancia y el deseo intenso de consumo (APA, 2014). La abstinencia de alcohol se caracteriza por síntomas que se desarrollan entre 4 y 12 horas después del cese o disminución del consumo, tras la ingesta de alcohol de forma prolongada e intensa. Los síntomas de abstinencia de alcohol son experimentados por los individuos como altamente disfuncionales, esto los lleva a seguir consumiendo a pesar de las consecuencias negativas que después experimentan. Cuando se establece un patrón repetitivo e intenso de consumo, los individuos con TUA pueden emplear gran parte de su tiempo y recursos en tener a su disposición la bebida alcohólica. El deseo intenso de consumo de alcohol o *craving* se muestra como una gran urgencia o necesidad de beber que interfiere de manera abrupta en la vida del individuo. El consumo de alcohol tiene graves repercusiones en el ámbito laboral y académico. De hecho, las personas con TUA continúan consumiendo alcohol a pesar de que dicho comportamiento les ocasiona problemas físicos, psicológicos, sociales o interpersonales, e incluso ponen en peligro su propia vida (APA, 2014; Schuckit, 2009).

Basándonos en el manual DSM-5 (APA, 2014), dentro de los trastornos relacionados con el alcohol nos encontramos: el trastorno por uso de alcohol (TUA) (ver **tabla 3**), la intoxicación por alcohol (ver **tabla 4**), la abstinencia de alcohol (ver **tabla 5**), otros trastornos inducidos por el alcohol y el trastorno relacionado con el alcohol no especificado. Para llegar al establecimiento de un diagnóstico, nos debemos basar en los criterios que se muestran a continuación.

- Trastorno por uso de alcohol (TUA). Para el TUA los criterios diagnósticos según el DSM-5 son los que se muestran en la **tabla 3**.

Tabla 3. Criterios diagnósticos DSM-5 para el trastorno por uso de alcohol (APA, 2014)

Patrón problemático de consumo de alcohol que provoca un deterioro o malestar clínicamente significativo y que se manifiesta al menos por dos de los hechos siguientes en un plazo de 12 meses:

1. Se consume alcohol con frecuencia en cantidades superiores o durante un tiempo más prolongado del previsto.
2. Existe un deseo persistente o esfuerzos fracasados de abandonar o controlar el consumo de alcohol.
3. Se invierte mucho tiempo en las actividades necesarias para conseguir alcohol, consumirlo o recuperarse de sus efectos.
4. Ansias o un poderoso deseo o necesidad de consumir alcohol.
5. Consumo recurrente de alcohol que lleva al incumplimiento de los deberes fundamentales en el trabajo, la escuela o el hogar.
6. Consumo continuado de alcohol a pesar de sufrir problemas sociales o interpersonales recurrentes, provocados o exacerbados por los efectos del alcohol.
7. El consumo de alcohol provoca el abandono o la reducción de importantes actividades sociales, profesionales o de ocio.
8. Consumo recurrente de alcohol en situaciones en las que provoca un riesgo físico
9. Se continua con el consumo de alcohol a pesar de saber que se sufre un problema físico o psicológico persistente o recurrente probablemente causado o exacerbado por el alcohol.
10. Tolerancia, definida por alguno de los siguientes hechos:
 - a. Una necesidad de consumir cantidades cada vez mayores de alcohol para conseguir la intoxicación o efecto deseado.
 - b. Un efecto notablemente reducido tras el consumo continuado de la misma cantidad de alcohol.
11. Abstinencia, manifestada por alguno de los siguientes hechos:
 - a. Presencia del síndrome de abstinencia característico del alcohol.
 - b. Se consume alcohol (o alguna sustancia muy similar, como una benzodiazepina) para aliviar o evitar los síntomas de abstinencia.

- Intoxicación por alcohol. Se caracteriza por la presencia de cambios de comportamiento y/o psicológicos (p. ej., comportamiento inapropiado o agresivo, labilidad emocional, deterioro del juicio, deterioro de la actividad social o laboral) que se desarrollan durante o tras la ingesta de alcohol. Aparecen problemas en las funciones cognitivas y el juicio, e incluso si la intoxicación es aguda, puede ocasionar un riesgo vital para el individuo (APA, 2014; Conner et al., 2014; Jung & Namkoong, 2014).

Los criterios diagnósticos para intoxicación por alcohol según el DSM-5 (APA, 2014), son los que se muestran en la **tabla 4**.

Tabla 4. Criterios diagnósticos DSM-5 para intoxicación por alcohol (APA, 2014)

- A. Ingesta reciente de alcohol.
- B. Comportamiento problemático o cambios psicológicos clínicamente significativos (p. ej., comportamiento sexual inapropiado o agresivo, cambios de humor, juicio alterado) que aparecen durante o poco después de la ingesta de alcohol.
- C. Uno (o más) de los signos o síntomas siguientes aparecen durante o poco después del consumo de alcohol:
 - 1. Habla disártrica.
 - 2. Descoordinación.
 - 3. Marcha insegura.
 - 4. Nistagmo.
 - 5. Alteración de la atención o de la memoria.
 - 6. Estupor o coma.
- D. Los signos o síntomas no se pueden atribuir a otra afección médica y no se pueden explicar mejor por otro trastorno mental, incluida una intoxicación con otra sustancia.

- Abstinencia de alcohol. Se caracteriza por un conjunto de síntomas que se desarrollan tras varias horas o pocos días después de la reducción o retirada del consumo intenso y prolongado de alcohol. El mantenimiento de la abstinencia conlleva grandes cambios en el SNC del individuo con TUA, provocando cambios en la secreción de glutamato (Airagnes et al., 2019). El padecimiento de los síntomas de abstinencia tiene una gran repercusión en las distintas áreas de la vida del individuo (laboral, social, intrapersonal, etc.) (Airagnes et al., 2019; APA, 2014).

Los criterios diagnósticos para abstinencia de alcohol según el DSM-5 (APA, 2014), se muestran en la **tabla 5**.

Tabla 5. Criterios diagnósticos DSM-5 para abstinencia de alcohol (APA, 2014)

- A. Cese (o reducción) de un consumo de alcohol que ha sido muy intenso y prolongado.
- B. Aparecen dos (o más) de los signos o síntomas siguientes a las pocas horas o pocos días de cesar (o reducir) el consumo de alcohol descrito en el Criterio A:
1. Hiperactividad del sistema nervioso autónomo (p. ej. sudoración o ritmo del pulso superior a 100 lpm).
 2. Incremento del temblor de las manos.
 3. Insomnio.
 4. Náuseas o vómitos.
 5. Alucinaciones o ilusiones transitorias visuales, táctiles o auditivas.
 6. Agitación psicomotora.
 7. Ansiedad.
 8. Convulsiones tónico-clónicas generalizadas.
- C. Los signos o síntomas del Criterio B provocan un malestar clínicamente significativo o deterioro en lo social, laboral u otras áreas importantes del funcionamiento.
- D. Los signos o síntomas no se pueden atribuir a otra afección médica y no se explica mejor por otro trastorno mental, incluida la intoxicación o abstinencia por otra sustancia.

- Otros trastornos inducidos por el alcohol. Se describen exhaustivamente en capítulos del manual DSM-5 (APA, 2014) donde se especifican los trastornos mentales, y se identifica si estos son inducidos por sustancias o medicamentos (en este caso, por el consumo de alcohol).

- Trastorno relacionado con el alcohol no especificado. Se diagnostica cuando a pesar de existir un consumo problemático de alcohol, no se cumplen todos los criterios de ningún trastorno específico relacionado con el alcohol y/u otras sustancias, ni de ningún trastorno mental con indicador de inducido por el consumo problemático alcohol (p. ej. trastorno depresivo mayor inducido por consumo problemático de alcohol).

2.2. Trastornos relacionados con la cocaína

Dentro de la gran diversidad de anfetaminas y estimulantes que existen, la cocaína es la sustancia que con mayor prevalencia consumen los individuos que reclaman atención sanitaria en los centros de tratamiento ambulatorio.

La cocaína se puede consumir de diferentes maneras (p. ej. hojas de coca, pasta de coca, clorhidrato de cocaína, y alcaloides de la cocaína, como base libre y *crack*). En todas estas diferentes formas, el principio activo es, la cocaína, pero van a diferir en la potencia dependiendo del grado de pureza y la vía por la que se administre (intravenosa, fumada o esnifada/vía nasal) (Zimmerman, 2012). La tolerancia a esta sustancia se produce con el uso repetido de la misma. Además, pueden aparecer síntomas de abstinencia que intensifican el deseo de consumir la sustancia o *craving* (APA, 2014; Girczys-Poędniok et al., 2016). Según el manual DSM-5 se pueden diagnosticar varios trastornos relacionados con el consumo de psicoestimulantes, entre ellos: trastorno por consumo de estimulantes, intoxicación por estimulantes, abstinencia de estimulantes, otros trastornos inducidos por estimulantes y trastorno relacionado con estimulantes no especificado. Al realizar el diagnóstico, se aclara la clase concreta de sustancia estimulante que se ha consumido. Por lo tanto, y de forma más específica, se muestran los criterios diagnósticos de los trastornos relacionados con la cocaína.

- Trastorno por uso de cocaína (TUC). Los criterios diagnósticos para el TUC según el DSM-5 (APA, 2014) se muestran en la **tabla 6**.

Tabla 6. Criterios diagnósticos DSM-5 para trastorno por uso de cocaína (TUC) (APA, 2014)

Patrón de consumo de cocaína que provoca un deterioro o malestar clínicamente significativo y que se manifiesta al menos por dos de los hechos siguientes en un plazo de 12 meses:

1. Se consume cocaína con frecuencia en cantidades superiores o durante un tiempo más prolongado del previsto.
2. Existe un deseo persistente o esfuerzos fracasados de abandonar o controlar el consumo de cocaína.
3. Se invierte mucho tiempo en las actividades necesarias para conseguir cocaína, consumirla o recuperarse de sus efectos.
4. Ansias o un poderoso deseo o necesidad de consumir cocaína.
5. Consumo recurrente de cocaína que lleva al incumplimiento de los deberes fundamentales en el trabajo, la escuela o el hogar.
6. Consumo continuado de cocaína a pesar de sufrir problemas sociales o interpersonales persistentes o recurrentes, provocados o exacerbados por sus efectos.
7. El consumo de cocaína provoca el abandono o la reducción de importantes actividades sociales, profesionales o de ocio.
8. Consumo recurrente de cocaína en situaciones en las que provocan un riesgo físico.
9. Se continúa con el consumo de cocaína a pesar de saber que se sufre un problema físico o psicológico persistente o recurrente probablemente causado o exacerbado por ellos.
10. Tolerancia, definida por alguno de los siguientes hechos:
 - a. Una necesidad de consumir cantidades cada vez mayores de cocaína para conseguir la intoxicación o el efecto deseado.
 - b. Un efecto notablemente reducido tras el consumo continuado de la misma cantidad de cocaína.
11. Abstinencia, manifestada por alguno de los hechos siguientes:
 - a. Presencia del síndrome de abstinencia característico de la cocaína.
 - b. Se consume cocaína (o alguna sustancia similar) para aliviar o evitar los síntomas de abstinencia.

- Intoxicación por cocaína. Esta ocasiona cambios comportamentales y/o psicológicos que se desarrollan durante o poco tiempo después del consumo, además se asocia con deterioro en las actividades de la vida cotidiana. La intoxicación grave puede llevar a graves repercusiones a nivel físico como: convulsiones, arritmias cardíacas, hipertermia, e incluso, la muerte (APA, 2014; Zimmerman, 2012).

Los criterios diagnósticos para intoxicación por cocaína según el DSM-5 (APA, 2014) se muestran en la **tabla 7.**

Tabla 7. Criterios diagnósticos DSM-5 para intoxicación por cocaína (APA, 2014)

- A. Consumo reciente de cocaína.
- B. Comportamiento problemático o cambios psicológicos clínicamente significativos (p. ej., euforia o embotamiento afectivo, cambios en la sociabilidad, hipervigilancia, sensibilidad interpersonal, ansiedad, tensión o rabia, comportamientos estereotipados, juicio alterado) que aparecen durante o poco después del consumo de cocaína.
- C. Dos (o más) de los signos o síntomas siguientes que aparecen durante o poco después del consumo de cocaína:
 - 1. Taquicardia o bradicardia.
 - 2. Dilatación pupilar.
 - 3. Tensión arterial elevada o reducida.
 - 4. Sudoración o escalofríos.
 - 5. Náuseas o vómitos.
 - 6. Pérdida de peso.
 - 7. Agitación o retraso psicomotores.
 - 8. Debilidad muscular, depresión respiratoria, dolor torácico o arritmias cardíacas.
 - 9. Confusión, convulsiones, discinesias, distonías o coma.
- D. Los signos o síntomas no se pueden atribuir a ninguna otra afección médica y no se explican mejor por otro trastorno mental, incluida una intoxicación con otra sustancia.

- Abstinencia de cocaína. Se desarrolla a las pocas horas o varios días después de la reducción o retirada del consumo de cocaína. Con una frecuencia relativamente alta, se pueden desarrollar ansia de consumo (*craving*) y anhedonia, pero no forman parte de los criterios diagnósticos ya que no es algo que se da en todos los consumidores y parece estar relacionado con otras variables (p. ej. la comorbilidad médica o psiquiátrica, tratamiento farmacológico, etc.) (Pérez de Los Cobos et al., 2021). Todos los síntomas que acompañan a la abstinencia afectan a las distintas áreas que forman parte de la vida del individuo.

Los criterios diagnósticos para la abstinencia de cocaína según el DSM-5 (APA, 2014) se muestran en la **tabla 8**.

Tabla 8. Criterios diagnósticos DSM-5 para abstinencia de cocaína (APA, 2014)

- A. Cese (o reducción) de un consumo prolongado de cocaína.
- B. Humor disfórico y dos (o más) de los siguientes cambios fisiológicos, que aparecen en el plazo de unas horas o varios días tras el Criterio A:
1. Fatiga.
 2. Sueños vívidos y desagradables.
 3. Insomnio o hipersomnia.
 4. Aumento del apetito.
 5. Retraso psicomotor o agitación.
- C. Los signos o síntomas del Criterio B provocan un malestar clínicamente significativo o deterioro en lo social, laboral u otras áreas importantes del funcionamiento.
- D. Los signos o síntomas no se pueden atribuir a ninguna otra afección médica y no se explican mejor por otro trastorno mental, incluidas una intoxicación o abstinencia de otra sustancia.

Al igual que ocurre en el caso del diagnóstico de los trastornos relacionados con el consumo del alcohol en los TUC también podemos diagnosticar:

- Otros trastornos inducidos por cocaína. Se describen exhaustivamente en capítulos del manual DSM-5 (APA, 2014), donde se especifican los trastornos mentales, y se identifica si estos son inducidos por el uso de cocaína.

- Trastorno relacionado con cocaína no especificado. Se diagnostica cuando a pesar de existir un consumo problemático de cocaína, no se cumplen todos los criterios de ningún trastorno específico relacionado con cocaína y/u otras sustancias, ni de ningún trastorno mental con indicador de inducido por el consumo problemático de cocaína (p. ej. trastorno depresivo mayor inducido por consumo de cocaína).

3. PRINCIPALES COMORBILIDADES PSIQUIÁTRICAS Y MÉDICAS EN LOS TRASTORNOS POR USO DE SUSTANCIAS

Los TUS suelen aparecer asociados a la presencia de otras psicopatologías y complicaciones médicas (Dickey et al., 2002). Estos trastornos psiquiátricos y médicos pueden estar relacionados con la adicción, bien siendo la causa de que se origine el proceso adictivo (modelo de la automedicación) o, por el contrario, la consecuencia de este, dando lugar a enfermedades inducidas por el consumo (modelo inducido por

sustancias) (Schuckit, 2006; Vorspan et al., 2015). Esta manifestación conjunta de dos o más trastornos físicos y/o mentales da lugar a lo que denominamos comorbilidad, la cual interfiere de manera directa en la gravedad de los TUS (Dickey et al., 2002). Además, la comorbilidad es clave a la hora de seleccionar y realizar un adecuado tratamiento desde la perspectiva biopsicosocial.

- Comorbilidad psiquiátrica en TUS

Entre las principales comorbilidades asociadas a los TUS, cabe destacar la alta prevalencia de enfermedades psiquiátricas, independientemente de la sustancia consumida (Schuckit, 2006), lo que ha dado lugar al concepto de patología dual o diagnóstico dual (Antai-Otong et al., 2016). Los trastornos psiquiátricos comórbidos que aparecen con mayor frecuencia en los TUS son los trastornos del estado de ánimo, los trastornos de ansiedad, los trastornos psicóticos y los trastornos de la personalidad, como el trastorno antisocial de la personalidad (TAP) (Marín-Navarrete et al., 2013). Algunos autores sostienen que, en función de la sustancia consumida, es más probable el diagnóstico de un trastorno psiquiátrico comórbido u otro. Además, habría que diferenciar entre los trastornos mentales inducidos y primarios (Muñoz et al., 2017):

- a) Trastornos mentales inducidos por el consumo de sustancias. Aparecen tras un patrón de consumo problemático o en la abstinencia de la sustancia, pero los síntomas son considerados como excesivos en relación con los efectos esperados tras el abuso y/o la retirada de la sustancia.
- b) Trastornos mentales primarios. Son aquellos que aparecerían previamente al desarrollo de la adicción, no están relacionados con la misma, ni con ninguna enfermedad física (Muñoz et al., 2017).

Por ejemplo, el uso de estimulantes y cannabis suele estar asociado con episodios psicóticos inducidos por la sustancia, mientras que el consumo de cannabis, alcohol, cocaína y otras sustancias está relacionado con la aparición de trastornos del estado de ánimo, como el trastorno depresivo mayor y el trastorno bipolar. También debemos destacar la alta prevalencia que encontramos entre el consumo de alcohol y/o cocaína y los trastornos de ansiedad, pudiendo ser primarios o inducidos por el consumo de la sustancia (Pasche, 2012; Schuckit, 2006). Otros trastornos psiquiátricos frecuentes entre los individuos con TUS, son aquellos relacionados con altos niveles de impulsividad (Kozak et al., 2019; Verdejo-García & Albein-Urios, 2021) como el trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH), el juego patológico y algunos trastornos de personalidad, como el trastorno límite de la personalidad (TLP) o el TAP (González et al., 2019). Por otra parte, es fundamental hablar del alto riesgo de suicidio que encontramos en la población con TUS, siendo especialmente frecuente cuando existe comorbilidad psiquiátrica. De hecho, el estudio de Yuodelis-Flores y Ries en 2015 demostró que hasta el 40 % de pacientes que buscan atención sanitaria para tratar TUS presentan un historial de intentos autolíticos a lo largo de su vida (Yuodelis-Flores & Ries, 2015).

- Comorbilidad médica en TUS

Los TUS también suele coexistir con enfermedades físicas, que al igual que ocurre con los trastornos mentales, pueden ser ocasionadas por el consumo problemático de las distintas drogas o pueden existir previamente al consumo. Podemos encontrar enfermedades cardiovasculares, digestivas, neurológicas, dolor crónico (Andersson & Vasan, 2018; Kress & Schlesinger, 2023; Singh et al., 2017), y/o cualquier otra afectación de los distintos sistemas del organismo. La posibilidad de que el consumo afecte un sistema fisiológico u otro puede ser diferencial según la cantidad, la frecuencia, la vía de consumo y la sustancia.

3.1. Comorbilidad psiquiátrica y médica en el trastorno por uso de alcohol

Tal y como se ha descrito anteriormente, el TUA aparece asociado con otras enfermedades psiquiátricas (Castillo-Carniglia et al., 2019) pero también con complicaciones médicas como, las hepáticas, cardíacas, infecciosas, neurológicas, etc. (Carvalho et al., 2019; Rocco et al., 2014). Por ello, el consumo de alcohol está relacionado con altas tasas de mortalidad y una alta prevalencia de enfermedades psiquiátricas y médicas.

El TUA suele ir acompañado de algunos síntomas, como problemas de conducta, depresión, ansiedad y/o insomnio. Dentro de las principales comorbilidades psiquiátricas debemos destacar la elevada presencia de trastornos del estado de ánimo, concretamente de los trastornos depresivos (McHugh & Weiss, 2019). En este punto, cabe destacar la influencia que el sexo biológico tiene sobre la manifestación de estas psicopatologías. De este modo, se ha observado que las mujeres suelen desarrollar el TUA tras el padecimiento de un trastorno depresivo mayor, mientras que en los hombres el TUA predeciría la aparición de la sintomatología depresiva (Hanna & Grant, 1997; Moscato et al., 1997; Prescott et al., 2000). Los trastornos de ansiedad también cuentan con una elevada prevalencia en la población con TUA, destacando la presencia de agorafobia, trastorno de ansiedad generalizada y trastorno de estrés postraumático (TEPT) (Flanagan et al., 2018; Vorspan et al., 2015), siendo la aparición de este último más prevalente en mujeres que en hombres (Guinle & Sinha, 2020).

El consumo repetido de grandes cantidades de alcohol puede afectar a casi todos los sistemas del organismo, principalmente por los efectos tóxicos del alcohol y su dosis, ocasionando daños gastrointestinales, cardiovasculares, y/o neurológicos, entre otros.

De esta manera, los efectos físicos más frecuentes entre los consumidores de alcohol son los gastrointestinales, e incluyen afectación de la permeabilidad de la barrera intestinal, enfermedades hepáticas (hepatitis y cirrosis), pancreatitis y diferentes tipos de cáncer, incluyendo de esófago, estómago y otras partes del tracto gastrointestinal (Haber & Kortt, 2021; Pohl et al., 2021).

Si bien es cierto que los daños cardiovasculares son menos frecuentes que los gastrointestinales, también pueden aparecer en los consumidores de grandes cantidades de alcohol. Entre las principales alteraciones nos encontramos: hipertensión arterial, arritmias y en los casos más severos, miocardiopatía alcohólica (Day & Rudd, 2019). Estos efectos cardiovasculares, junto con el incremento de los niveles de triglicéridos y de colesterol LDL, contribuyen a elevar el riesgo de aterosclerosis y enfermedad arterial coronaria (Piano, 2017).

Por último, cabe destacar el impacto que produce el consumo patológico de alcohol a nivel neurológico. El alcohol provoca problemas en la cognición y en la memoria, que pueden dar lugar a distintos estadios de deterioro cognitivo (i.e., leve, moderado o severo) (Mukherjee, 2013), pudiendo incluso llegar a ocasionar demencias, como el trastorno amnésico persistente inducido por el alcohol, o síndrome Wernicke-Korsakoff, en el que se daña gravemente la memoria (Hammoud & Jimenez-Shahed, 2019).

3.2. Comorbilidad psiquiátrica y médica en el trastorno por uso de cocaína

El TUC está relacionado con una alta prevalencia de enfermedades mentales, físicas y la aparición de problemas psicosociales (Duflou, 2020; Kampman, 2019; Ronsley et al., 2020).

El TUC suele aparecer acompañado por el diagnóstico de otros TUS, como el TUA y el trastorno por uso de opioides. Esta comorbilidad de varios TUS, dificulta la

caracterización a nivel clínico de las repercusiones que el consumo de cocaína por sí solo conlleva para la salud mental y física de la persona en tratamiento (Ford et al., 2009; Hammoud & Jimenez-Shahed, 2019). Al igual que ocurría con el consumo de alcohol, los trastornos del estado de ánimo y los trastornos de ansiedad son habitualmente diagnosticados entre los pacientes con TUC, pero son otras psicopatologías como el TDAH las que marcan el curso y pronóstico de los pacientes con TUC por su elevada prevalencia (Fond et al., 2022). Por otra parte, es importante destacar en esta población la presencia de trastornos de personalidad, especialmente el TLP y el TAP (Fernández-Montalvo & Lorea, 2007).

El consumo de cocaína también se relaciona con problemas cardiovasculares, como taquicardia, arritmias e hipertensión, que pueden provocar complicaciones más graves como la enfermedad arterial coronaria y el accidente cerebrovascular (Richards et al., 2016).

Por otro lado, al ser diversas las vías por las que se puede administrar esta sustancia las complicaciones que puede producir en órganos y tejidos son muy variadas, e incluyen lesiones por necrosis en área oronasal, daños en los pulmones, hígado y riñones, así como cambios estructurales en determinadas regiones del SNC (Riezzo et al., 2012).

4. NEUROBIOLOGÍA DE LA ADICCIÓN

La adicción a sustancias es definida como una enfermedad crónica recidivante que se caracteriza por la pérdida de control sobre el consumo de la misma, a pesar de las consecuencias adversas que el individuo pueda estar experimentando en su vida (Koob, 2013; Volkow et al., 2019). La adicción comprende una serie de etapas definidas por los distintos fenómenos que se van desarrollando en cada una de ellas. En la mayoría de los casos, la adicción comienza con un patrón de uso recreativo de la sustancia hasta que

finalmente se produce la pérdida de control y una dependencia de esta (APA, 2014). De este modo, la adicción se asocia con el desarrollo progresivo de dos procesos de aprendizaje motivado bien definidos que se suceden consecutivamente, un refuerzo positivo al inicio y un refuerzo negativo posterior (Solomon & Corbit, 1974) (ver **figura 2**).

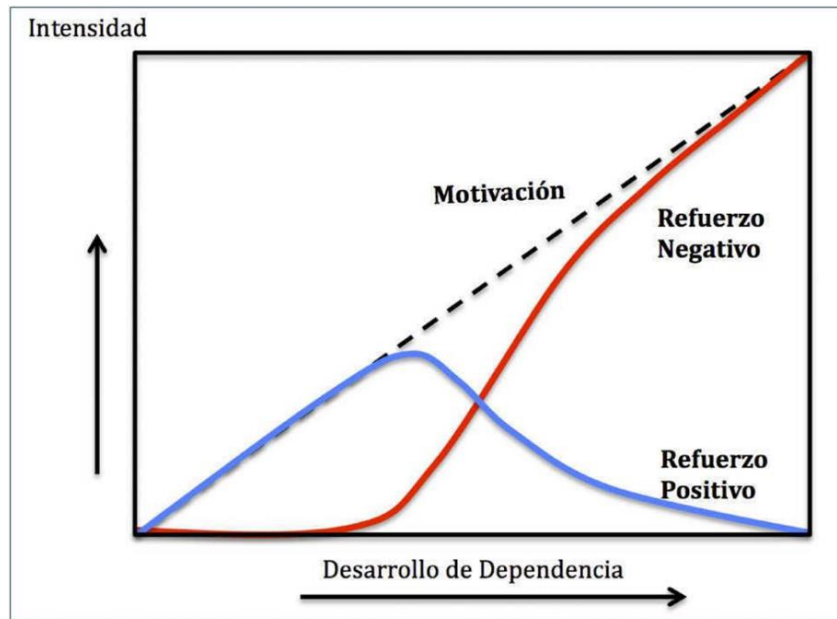


Figura 2. Desarrollo de adicción en el marco del refuerzo motivado para la búsqueda y uso de sustancias de abuso. [Imagen tomada de: (Acuña et al., 2017; Koob, 2013)].

Estos cambios conductuales se asocian a los distintos fenómenos neurobiológicos que se producen durante las etapas de la adicción en el SNC, con la participación de un conjunto de sistemas moleculares que controlan los circuitos involucrados en procesos de recompensa y en la respuesta al estrés. A continuación, se comentarán los principales cambios que el consumo de sustancias ocasiona en circuitos funcionales clave en el SNC, tanto a nivel molecular como anatómico durante las distintas fases de la adicción.

4.1. Sistema de recompensa

El principal circuito cerebral involucrado en la adicción es el sistema mesocorticolímbico dopaminérgico, el cual está formado por un conjunto de vías neuronales con distintas conexiones entre diversas zonas del cerebro, situado en el haz prosencefálico medial.

Introducción

Entre sus principales conexiones destaca la que se establece entre el mesencéfalo y el sistema límbico. Las principales estructuras que lo forman son: el área tegmental ventral (ATV), el núcleo accumbens (NAc) o estriado ventral, hipocampo, corteza prefrontal (CPF), tálamo y amígdala (Ulloque, 1999; Volkow et al., 2019).

La actividad del circuito mesocorticolímbico depende en gran medida de la activación de neuronas dopaminérgicas que liberan dopamina, pero también es fundamental el papel de otros sistemas neuroquímicos como el ácido γ -aminobutírico (GABA), glutamato, acetilcolina, endocannabinoides, péptidos opioides, factores neurotróficos, etc.

Todas las sustancias con propiedades psicoactivas actúan sobre este circuito tras ser consumidas, a través de diferentes mecanismos. Por ejemplo, provocando la liberación de neurotransmisores, activando o bloqueando receptores de estos, modulando segundos mensajeros o bloqueando los sistemas de recaptación de neurotransmisores, de manera diferencial. Así pues, estimulantes como la cocaína actúan aumentando la liberación de dopamina desde neuronas dopaminérgicas, pero también inhibiendo su recaptación por su acción en el NAc y la amígdala. En cambio, el alcohol, actúa de manera indirecta ejerciendo sus acciones a través de la activación del receptor GABA_A, aumentando la transmisión GABAérgica en el NAc y la amígdala (Koob, 2013). Además, el consumo de alcohol provoca cambios en la liberación de opioides endógenos los cuales activan los receptores μ -opioides del ATV y los receptores μ -opioides y/o δ -opioides del NAc, provocando un aumento en la concentración extracelular de dopamina (Gianoulakis, 2009).

4.2. Circuito cerebral del estrés

El circuito de estrés en el cerebro forma parte de un proceso fisiológico más complejo como es la respuesta al estrés, en la que interactúan mecanismos nerviosos, endocrinos e inmunes. De este modo, la respuesta al estrés juega un papel determinante en fenómenos como la ansiedad y los cambios en el estado de ánimo (McEwen et al., 2015). Ante un estresor físico o psicológico, el sistema nervioso autónomo (SNA) se activa y produce un aumento en la liberación de monoaminas (p. ej., adrenalina, noradrenalina y dopamina); y a su vez, la activación del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) produce un aumento en la liberación del factor liberador de corticotropina (CRF) desde el núcleo paraventricular del hipotálamo (NPV) hacia estructuras cerebrales como la amígdala, pero también provoca una liberación de la hormona adrenocorticotropa (ACTH) desde la glándula pituitaria/hipófisis y la liberación de glucocorticoides (p. ej., cortisol) a la sangre desde las glándulas suprarrenales.

Mientras que una exposición a estrés agudo suele tener un valor adaptativo transitorio, la exposición prolongada al estrés es relevante desde el punto de vista de la adicción (Moisan & Le Moal, 2012). De hecho, se produce un descenso en los niveles de dopamina en el estriado ventral que se asocia a una activación del receptor κ opioide en el NAc, llevando a un incremento en la liberación de CRF en el ATV. Estos cambios neuroquímicos tienen un impacto en el estado emocional y son responsables de los síntomas de afecto negativo (anhedonia, tristeza, abulia, ansiedad, etc.) (Koob & Volkow, 2016). Además, debemos considerar el papel del neuropéptido Y (NPY), fundamental en la modulación periférica y central de la respuesta al estrés, en parte por sus propiedades ansiolíticas (Hirsch & Zukowska, 2012). Por lo que, es importante considerar la interacción existente entre CRF y NPY, para entender la regulación del estrés y patologías

como la ansiedad y la depresión en el contexto de la adicción. Por otra parte, el eje HPA, es un circuito neuroendocrino que, tras su activación por un estresor de carácter agudo o crónico, segrega CRF desde el NPV.

4.3. Eje HPA y neuroinflamación

Los circuitos de recompensa y estrés en el cerebro impactan de una u otra forma en sistemas periféricos de señalización neuroquímicos y peptídicos debido a una conectividad neurohormonal e inmunológica que coordina el eje HPA fundamentalmente. Por tanto, trastornos asociados a estrés como la adicción provocan cambios en los niveles circulantes de glucocorticoides (i.e., cortisol y corticosterona) a través de ACTH y de la actividad del SNA que afectan el estado sistémico inflamatorio (Wemm & Sinha, 2019).

La relación entre el eje HPA y la respuesta inflamatoria es bidireccional, ya que los procesos inflamatorios periféricos pueden también ocasionar cambios en el cerebro. Así pues, el aumento en la actividad de macrófagos y linfocitos circulantes puede desencadenar un proceso de neuroinflamación atravesando la barrera hematoencefálica y un incremento de citoquinas y otros mediadores inflamatorios que podrían contribuir a cambios en la microglía, deficiencias en la plasticidad sináptica y alteraciones en la neurogénesis (Koo & Wohleb, 2021).

5. CICLO DE LA ADICCIÓN

En la actualidad, la adicción a drogas se ha modelizado a través de un ciclo de tres fases diferentes (**figura 3**) en el que se producen cambios en la homeostasis química de los circuitos de recompensa y estrés del cerebro (Koob, 2013; Koob & Volkow, 2016):

- 1) Atracón o intoxicación (del inglés: *Binge/ intoxication*).

2) Abstinencia o síntomas de afecto negativo (del inglés: *Withdrawal/negative affect*).

3) Preocupación/anticipación (del inglés: *Preoccupation/anticipation*).

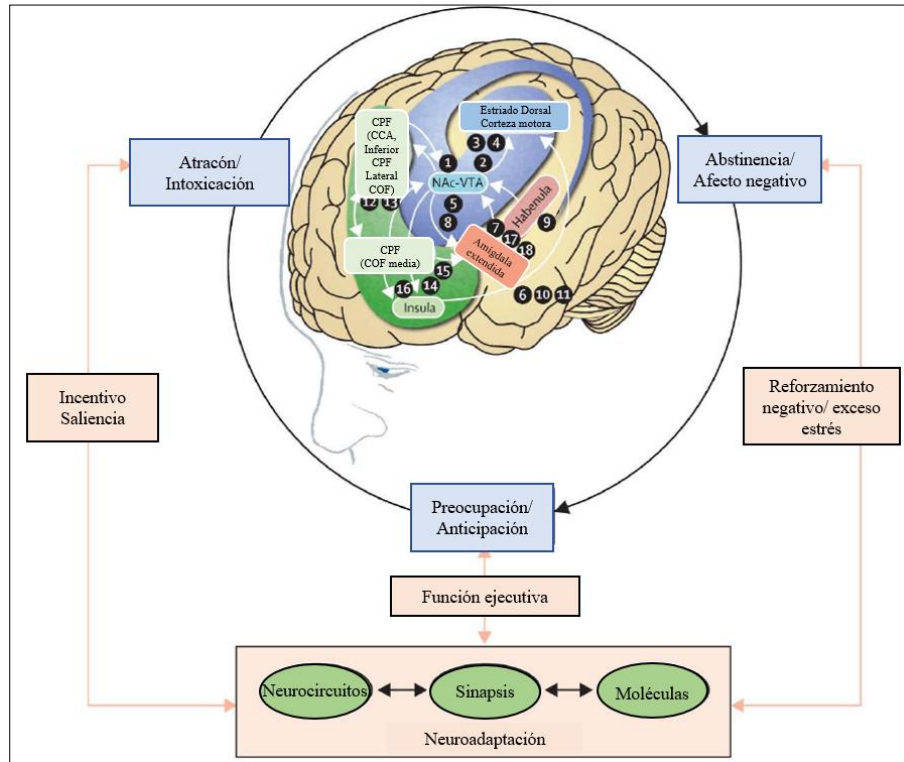


Figura 3. Modelo de circuitos y fases de la adicción. En azul: Atracción/Intoxicación (recompensa e incentivo destacados: ganglios basales). En naranja: Abstinencia/afecto negativo (estados emocionales negativos y estrés: amígdala extendida y hipófisis). En verde: Preocupación/anticipación (deseo, impulsividad y función ejecutiva: CPF, ínsula y corteza prefrontal). Las flechas representan las principales conexiones de circuitos, y los números se refieren a vías neuroquímicas y específicas de neurocircuitos que se sabe que respaldan los cambios cerebrales que contribuyen al estado alostático de la adicción. CPF=corteza prefrontal. CCA=corteza cingulada anterior. COF=corteza orbitofrontal. NAc-VTA=núcleo accumbens-área tegmental ventral. [Imagen adaptada y tomada de (Koob & Volkow, 2016)].

5.1. Atracción o intoxicación

La primera etapa de la adicción se produce como consecuencia del desarrollo de un refuerzo positivo en el que el individuo experimenta las consecuencias apetitivas de la sustancia por su consumo. Este refuerzo positivo normalmente se relaciona con un incremento en la secreción de dopamina desde el ATV hacia el estriado ventral y la CPF (Di Chiara & Imperato, 1988; Nutt, 2014). Además de este incremento de dopamina, se

produce un aumento de los niveles de péptidos opioides en el NAc, así como de GABA en CPF y amígdala (ver **tabla 9**).

5.2. Abstinencia o síntomas de afecto negativo

Cuando el individuo ha consolidado la primera etapa de la adicción, emerge un refuerzo negativo que se desarrolla cuando se experimentan los síntomas negativos de la abstinencia, la preocupación o la anticipación por no tener disponible la sustancia. Esto genera un gran malestar que lleva a la persona a consumir de nuevo, pero en este caso, para evitar el malestar propio de esta segunda etapa del ciclo de la adicción. A nivel neurobiológico, este proceso está relacionado con una inhibición en la liberación de dopamina que se observa fundamentalmente en el NAc tras la exposición crónica a una sustancia. Además, intervienen otras estructuras que convergen en el sistema de la amígdala ampliada, controlando así la respuesta afectiva negativa y los aprendizajes estímulo-respuesta (Koob & Le Moal, 2008). Es fundamental destacar el papel que los sistemas relacionados con la respuesta al estrés tienen en este proceso. Concretamente, el CRF aumenta la secreción de ACTH desde la glándula pituitaria, que a su vez controla la liberación de glucocorticoides como el cortisol a la sangre, responsable de las respuestas de estrés y emociones negativas típicas de esta etapa (p. ej., anhedonia, apatía, ansiedad, agitación) (Koob & Nestler, 1997; Ruisoto & Contador, 2019) (ver **tabla 9**).

Tabla 9: Principales cambios neuroquímicos según las fases de la adicción y las principales áreas implicadas.

Área	Atracón/Intoxicación (Refuerzo positivo)	Abstinencia/afecto negativo (Refuerzo negativo)
NAc	+ Dopamina + Péptidos opioides	- Dopamina - Péptidos opioides
ATV	+ Factores neurotróficos	- Factores neurotróficos
Corteza prefrontal	+ Dopamina + GABA	+ Glutamato + Noradrenalina - Dopamina
Amígdala	+ GABA + NPY	+ CRF + Noradrenalina - GABA - NPY

5.3. Preocupación/anticipación

En la tercera fase del ciclo de la adicción se establece el comportamiento de consumo como una rutina o hábito, produciéndose neuroadaptaciones en los ganglios basales, lo que lleva a un abandono del control ejecutivo que ejerce la CPF (Koob & Volkow, 2016; Lüscher et al., 2020). Además, se producen cambios en las sinapsis, concretamente en las de glutamato, moduladas por los receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) y ácido α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA). En esta etapa de consumo crónico, el SNC trata de buscar una estabilidad adaptativa, lo que se conoce como alostasis.

6. INFLUENCIA DEL SEXO SOBRE LOS MECANISMOS DE LA ADICCIÓN

Hay un número importante de variables que afectan de manera diferencial a estos sistemas neuroquímicos de recompensa y estrés. Entre estos factores podemos destacar los de carácter genético (p. ej., expresión génica de péptidos y neurotransmisores, antecedentes familiares, etc.), ambiental/externo [p. ej., historial de consumo de drogas de abuso

(incluyendo dosis y tipo de consumo) y experiencias traumáticas o estresantes a edad temprana], y fisiológico (p. ej., edad y sexo biológico).

Una de las variables más exploradas actualmente en el contexto de la adicción, es la influencia del sexo biológico, distinguiendo entre hombres y mujeres, por su impacto diferencial en estos sistemas. Distintas investigaciones muestran que las mujeres parecen tener un mayor grado de vulnerabilidad al efecto de las distintas drogas de abuso en comparación con los hombres (Ait-Daoud et al., 2019; Becker, 2016). Además, las mujeres consumen con mayor frecuencia por evitar síntomas de ansiedad, depresión, estrés, etc. (i.e., refuerzo negativo), mientras que los hombres consumirían más por el propio valor apetitivo de la sustancia (i.e., refuerzo positivo), que el consumo que esta ocasiona. Esto se traduce, a nivel neurobiológico, en una mayor liberación de dopamina en el estriado ventral de los hombres frente a las mujeres tras el consumo de sustancias (Becker, 2016).

En las mujeres, es fundamental destacar el papel del ciclo menstrual, el cual interfiere directamente, por ejemplo, en la eliminación y metabolización del alcohol (Wemm & Sinha, 2019). Por otro lado, estudios preclínicos han demostrado la interacción entre las hormonas gonadales y el funcionamiento del eje HPA. En estos estudios preclínicos, se pudo observar cómo en ratas y ratones hembra hay una respuesta del eje HPA más abrupta debido a que los niveles de estradiol circulantes elevan los niveles de corticosterona durante situaciones consideradas como no amenazantes (no ponen en riesgo la supervivencia del individuo), y prolonga la intensidad de la respuesta tras la exposición a un estresor. Además, los cambios hormonales que se dan durante las distintas etapas del ciclo menstrual afectan al desempeño del eje HPA (Oyola & Handa, 2017).

También se encuentran diferencias en la respuesta inflamatoria entre hombres y mujeres tras la exposición a las distintas drogas de abuso. En un estudio de Pascual y colaboradores en 2017, mujeres expuestas a alcohol en forma de atracón o borrachera presentaron mayores niveles de citoquinas y quimioquinas proinflamatorias que los hombres en condiciones similares (Pascual et al., 2018). Otras investigaciones, también resaltan la importancia de tener en cuenta las diferencias por sexo dentro de una cohorte de pacientes con TUC, puesto que los cambios plasmáticos en distintos mediadores inflamatorios (p. ej., IL-1 β , IL-6, IL-10 y TNF α) asociados al historial de consumo de cocaína también se ven afectados por el sexo (Pedraz et al., 2015).

7. BÚSQUEDA DE BIOMARCADORES RELACIONADOS CON LA ADICCIÓN

La alta prevalencia de la comorbilidad entre los TUS y otros trastornos psiquiátricos adicionales, y el elevado número de factores que influyen en todas las etapas del ciclo adictivo, plantean desafíos significativos en su diagnóstico y caracterización, lo cual dificulta enormemente la implementación de intervenciones terapéuticas efectivas. Por ello, es fundamental el desarrollo de nuevas herramientas y enfoques que faciliten el adecuado diagnóstico y la correcta elección de tratamiento para estos pacientes.

7.1. Características de los biomarcadores moleculares

El estudio de potenciales biomarcadores moleculares es una estrategia útil para evaluar de manera objetiva como un proceso biológico puede o no estar alterado (Navarrete et al., 2022). La definición de biomarcador más clásica nos dice que este sería una variable fisiológica con sensibilidad, especificidad, relevancia para el proceso que se está estudiando, y de la cual se puede realizar una medición sencilla y reproducible que nos serviría como indicador de procesos biológicos normales, patológicos o para valorar la efectividad de una determinada intervención (Califf, 2018).

En el caso de los trastornos adictivos, el proceso de búsqueda de biomarcadores se ha centrado en la caracterización de sistemas de señalización moleculares que interactúan directa o indirectamente con los sistemas neuroquímicos de recompensa y estrés descritos anteriormente. Sin embargo, esta identificación de biomarcadores de adicción no está exenta de complejidad, ya que son numerosas las dianas moleculares que se encuentran implicadas según la droga de abuso consumida, su dosis y el tiempo que se lleve expuesto a la misma (Califf, 2018).

Como se comentó previamente, aunque son numerosas las alteraciones estructurales y moleculares que acompañan a los pacientes con TUS, los cambios en los sistemas inflamatorio e inmunológico han despertado un especial interés entre los investigadores que tratan de buscar posibles biomarcadores relacionados con adicción en fluidos biológicos como sangre o saliva (Pascual et al., 2018; Pedraz et al., 2015). Las citoquinas y los factores de crecimiento circulantes han sido las moléculas inflamatorias más estudiadas en las últimas décadas en pacientes con problemas psiquiátricos y neurológicos con el fin de hallar biomarcadores específicos basados en sus concentraciones o sus ratios. Sin embargo, el avance analítico en la detección de lípidos ha permitido identificar sistemas de señalización basados en compuestos derivados de ácidos grasos que actúan como mensajeros y presentan propiedades antiinflamatorias. Por tanto, la investigación en las adicciones también se ha fijado en estas familias de sustancias lipídicas (García-Marchena et al., 2017; García-Marchena et al., 2020).

7.2. Sistemas de señalización lipídicos derivados de ácidos grasos

El interés en estos derivados lipídicos como posibles nuevas dianas terapéuticas en la adicción surge por diferentes razones:

- 1) Presentan una expresión sistémica tanto en el SNC como en el resto del organismo. Además, se han descrito niveles periféricos alterados de sus mediadores en pacientes con enfermedades psiquiátricas y neurológicas.
- 2) Existe la posibilidad de medir estos lípidos endógenos a través de muestras de sangre periférica usando distintas técnicas de laboratorio como son la espectrometría de masas y los inmunoensayos.
- 3) Han sido tradicionalmente muy poco estudiados debido a la enorme diversidad estructural y funcional de estos derivados lipídicos, y su dificultad analítica en comparación con otros posibles biomarcadores peptídicos. Por ello, representa un auténtico desafío para la investigación.

La señalización mediada por lípidos, como los ácidos grasos y sus derivados, juega un papel importante en el procesamiento de la información en el cerebro, ya que están implicados en múltiples procesos como la síntesis y liberación de neurotransmisores, la plasticidad neuronal, la sinaptogénesis, la neurogénesis o la neuroinflamación. Todas estas acciones hacen que estos sistemas resulten de gran interés como nuevas dianas terapéuticas, ya que están involucrados en los principales procesos celulares y moleculares subyacentes a las neuroadaptaciones asociadas a la adicción (Orio et al., 2013). Entre estos sistemas, destacan dos sistemas emparentados entre sí e implicados en la regulación del SNC con implicaciones en el comportamiento: el sistema endocannabinoide (SEC) y el sistema del ácido lisofosfatídico (LPA).

8. SISTEMA ENDOCANNABINOIDE

El SEC es un sistema de señalización complejo y ubicuo que posee funciones reguladoras importantes en todo el organismo. El SEC está formado por receptores cannabinoides,

ligandos endógenos (conocidos como endocannabinoides) y enzimas de síntesis y degradación encargadas de la activación e inactivación de dichos endocannabinoides.

8.1. Componentes del sistema endocannabinoide

Los principales receptores cannabinoides son CB₁ y CB₂, ambos receptores transmembrana acoplados a proteína G de tipo inhibitorio y cuya distribución en el organismo varía. De este modo, el receptor CB₁ se expresa fundamentalmente en el SNC y es responsable de las acciones psicoactivas del cannabis y sus derivados, mientras que CB₂ se expresa fundamentalmente en el sistema inmune y órganos periféricos, si bien también se ha localizado en ciertas regiones cerebrales. Respecto a sus ligandos endógenos, los endocannabinoides mejor caracterizados hasta la fecha son la araquidonoiletanolamida [N-araquidonoiletanolamina, y también conocida como anandamida (AEA)] y el 2-araquidonoilglicerol (2-AG) (Devane et al., 1992; Sugiura et al., 1995), ambos derivados químicos del ácido araquidónico. Estructuralmente, AEA pertenece a la familia de las aciletanolamidas, que incluye, entre otras moléculas, la oleoiletanolamida (OEA) y la palmitoiletanolamida (PEA) sin actividad cannabinoide. Por otro lado, el 2-AG pertenece a otra familia de moléculas de señalización, los monoacilgliceroles, que están presentes en el SNC con concentraciones más abundantes que la AEA (en torno a 100-200 veces) y tienen efectos neuromoduladores (A. Serrano & Natividad, 2022; A. Serrano & Parsons, 2011) (ver **figura 4**).

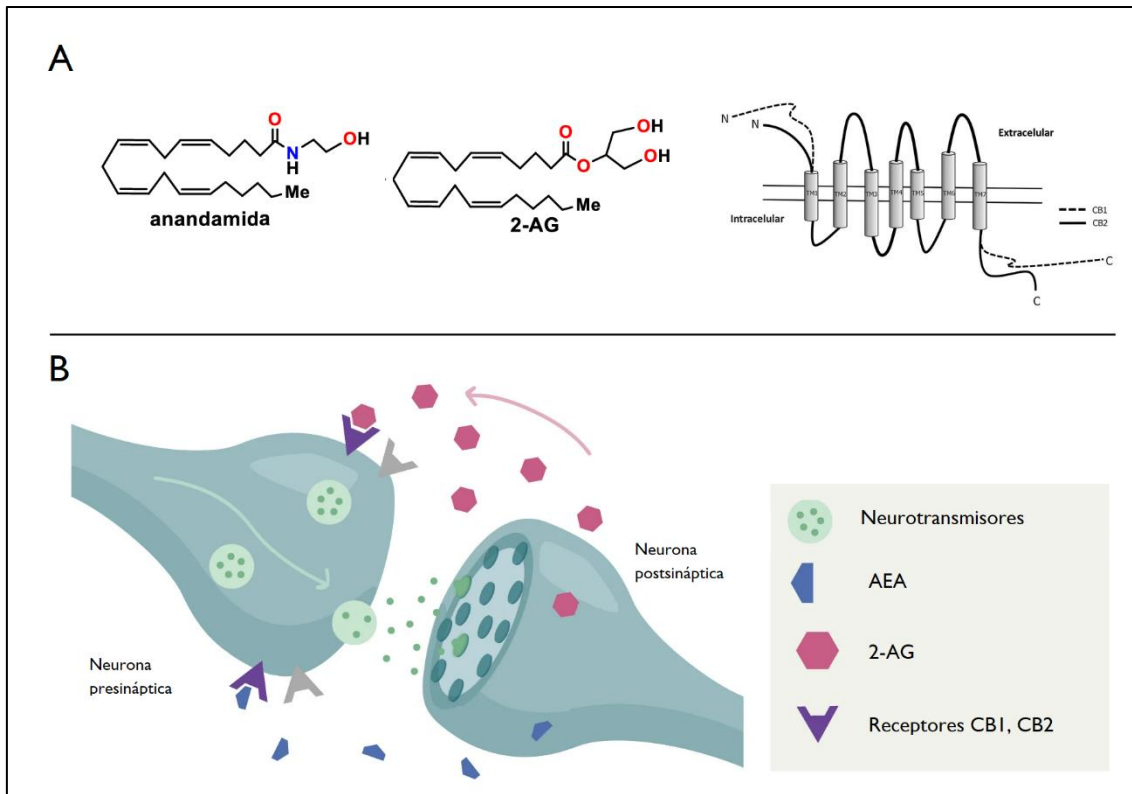


Figura 4. Principales mecanismos de acción del sistema endocannabinoide (SEC). **A.** Representación química de los endocannabinoides AEA y 2-AG, y sus receptores cannabinoides CB₁ y CB₂. **B.** Acción del SEC en el SNC como modulador retrógrado de neurotransmisores [imagen adaptada tomada de Royal Queen Seeds website].

En el SNC, a diferencia de los neurotransmisores clásicos, los endocannabinoides no se almacenan en vesículas, sino que son sintetizados y liberados “a demanda” en respuesta a diferentes estímulos fisiológicos y patológicos actuando como un sistema de señalización retrógrado que inhibe la liberación de neurotransmisores como GABA, glutamato y dopamina desde las neuronas presinápticas al activar los receptores cannabinoides, principalmente CB₁.

8.2. Papel del sistema endocannabinoide en las adicciones

Numerosas investigaciones clínicas y preclínicas han demostrado el papel de los endocannabinoides y sus congéneres en la adquisición y el mantenimiento de las conductas adictivas relacionadas con el consumo de sustancias (para revisión ver Orio et al., 2013; Serrano & Natividad, 2022; Serrano & Parsons, 2011). Esta relación del SEC

con las conductas adictivas, se debe en parte a la presencia del receptor CB₁ en áreas mesocorticolímbicas, fundamentales para la motivación y la recompensa (Manzanares et al., 2018; Moreira et al., 2015). No obstante, una reciente revisión publicada en 2022 ha demostrado que distintas alteraciones genéticas sobre los componentes del SEC están relacionadas con un mayor riesgo de dependencia a las distintas drogas de abuso (para revisión ver Navarrete et al., 2022).

8.2.1. Alcohol

Diversos estudios moleculares en roedores han mostrado que la exposición a alcohol altera las concentraciones de AEA y 2-AG en diferentes regiones cerebrales, así como sus receptores CB₁ (para revisión ver Serrano & Natividad, 2022; Serrano & Parsons, 2011). En humanos, algunos estudios han descrito variaciones en las concentraciones plasmáticas de endocannabinoides en pacientes con TUS, incluyendo los TUA y TUC (García-Marchena et al., 2017; Navarrete et al., 2022; Pavón et al., 2013). Además, estudios *post-mortem* muestran una alteración en la expresión de los receptores CB₁ en regiones corticales y en el estriado ventral (Vinod et al., 2010). Por otra parte, en estudios *in vivo* se observa una disminución en la disponibilidad de estos receptores en pacientes con un consumo abusivo de alcohol (Ceccarini et al., 2014; Hirvonen et al., 2013).

8.2.2. Cocaína

En cuanto a las alteraciones en el SEC por el consumo de psicoestimulantes como la cocaína, estudios en roedores han destacado cómo el receptor CB₁ tiene un papel fundamental como mediador en los niveles de dopamina en el NAc tras la ingesta de cocaína (Orio et al., 2013). De hecho, el bloqueo farmacológico o genético del receptor CB₁ se asocia con una mayor vulnerabilidad a consumir cocaína (Tanda, 2007; Orio et al., 2013). Respecto a los endocannabinoides, la exposición aguda y crónica a cocaína

produce alteraciones en las concentraciones de 2-AG, pero no en las concentraciones de AEA, en las distintas áreas del sistema límbico (Justinova et al., 2008; Orio et al., 2013). Sin embargo, nuestro grupo ha encontrado variaciones en las concentraciones circulantes de monoacilgliceroles y aciletanolamidas en pacientes con TUC e incluso la existencia de un dimorfismo sexual en algunas de estas moléculas (Pedraz et al., 2015).

8.2.3. Otros trastornos psiquiátricos y comorbilidad

En los últimos años, numerosas investigaciones con pacientes con TUS y otras patologías psiquiátricas, como los trastornos de ansiedad y del estado de ánimo, muestran alteraciones en las concentraciones plasmáticas de endocannabinoides (Pavón et al., 2013). En un reciente estudio, se han descrito cambios en las concentraciones de AEA en individuos adultos que fueron expuestos a maltrato durante su infancia (Perini et al., 2023). Otros estudios, han comparado las concentraciones de aciletanolamidas entre pacientes con TUS y esquizofrenia mostrando como las concentraciones de aciletanolamidas están reducidas en pacientes con TUS, pero no se han observado diferencias entre pacientes diagnosticados con esquizofrenia y controles sanos (Desfossés et al., 2012). Por otra parte, centrándonos en estudios llevados a cabo por nuestro grupo de investigación, se ha descrito una disminución en las concentraciones de monoacilgliceroles circulantes en pacientes con TUA y un trastorno de ansiedad comórbido frente a pacientes diagnosticados con trastorno de ansiedad únicamente o pacientes con TUA sin comorbilidad psiquiátrica (García Marchena et al., 2016).

En conjunto, todas estas investigaciones profundizan en el papel del SEC como potencial biomarcador y su relación con los TUS, abriendo potenciales vías para el desarrollo de terapias específicas.

9. SISTEMA DEL ÁCIDO LISOFOSFATÍDICO

El 1-acil-sn-glicerol-3-fosfato o ácido lisofosfatídico (LPA, del inglés *lysophosphatidic acid*) es una familia de lípidos bioactivos endógenos formados por un grupo fosfato y una molécula de glicerol unida a un ácido graso que puede presentar distintos grados de saturación y longitud, mediante uniones de tipo éster, que determina las diferentes especies de LPA (ver **figura 5**) (Aoki, 2004; Hernández-Araiza et al., 2018).

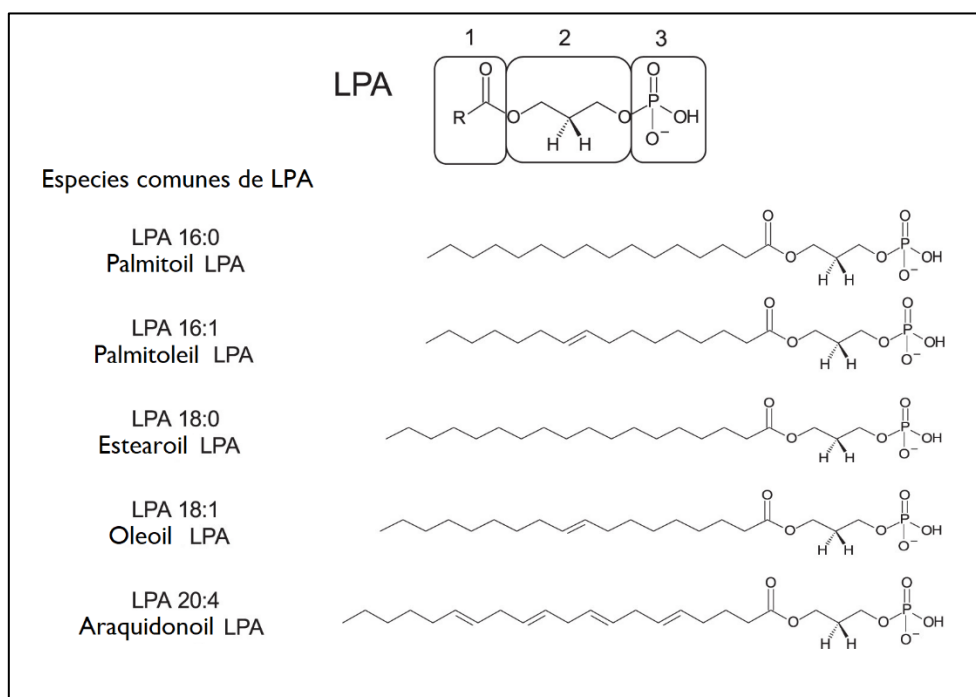


Figura 5. Estructura del ácido lisofosfatídico (LPA) y especies comunes. El LPA consta de **1**) una cadena de ácido graso en las posiciones sn-1 o sn-2, **2**) un esqueleto de glicerol y **3**) un grupo fosfato en la posición sn-3. La cadena de ácido graso puede ser saturada o insaturada y tener longitudes diferentes, lo que genera diferentes especies de LPA. Las especies más abundantes en el suero de mamíferos están representadas [Imagen adaptada tomada de (Hernández-Araiza et al., 2018)].

El LPA ejerce funciones de señalización extracelular a través de seis receptores acoplados a proteína G (LPA₁₋₆) que se expresan en muchos tejidos y tipos celulares incluyendo el SNC (Yung et al., 2014). Estos mediadores lipídicos participan en la proliferación, diferenciación, migración y supervivencia celular, así como en múltiples procesos biológicos como la neurogénesis, la mielinización, la formación de vasos sanguíneos, la

reproducción, la inducción de dolor neuropático y la progresión tumoral (Choi et al., 2010).

9.1. Metabolismo del ácido lisofosfatídico

El suero y el plasma son las principales fuentes de LPA en mamíferos, aunque también se encuentra en otros fluidos biológicos, como la saliva, las lágrimas, el semen y el líquido cefalorraquídeo, a concentraciones biológicamente relevantes (Riaz et al., 2016; Yung et al., 2014). El LPA se sintetiza a partir de fosfolípidos de membrana a través de diferentes rutas metabólicas, siendo la autotaxina (ATX) la principal enzima implicada en la síntesis de LPA y la responsable de mantener la concentración de LPA en sangre (Choi et al., 2010; Riaz et al., 2016). Como resultado de los diferentes procesos de síntesis, existen diferentes especies de LPA en función de la longitud y saturación de su cadena de ácidos grasos, por lo que estas especies de LPA presentan distinta afinidad por los receptores y por tanto, poseen una actividad biológica diferente (Baker et al., 2000; Bandoh et al., 2000). Las especies de LPA más abundantes en suero y plasma son: palmitoil-LPA (16:0), estearoil-LPA (18:0), oleoil-LPA (18:1), linoleoil-LPA (18:2) y araquidonoil-LPA (20:4) (Baker et al., 2000; Sano et al., 2002).

9.1.1. Biosíntesis del ácido lisofosfatídico

El LPA es producido tanto extracelular como intracelularmente a partir de fosfolípidos de membrana a través de diferentes rutas con la participación de diferentes enzimas (ver **figura 6**).

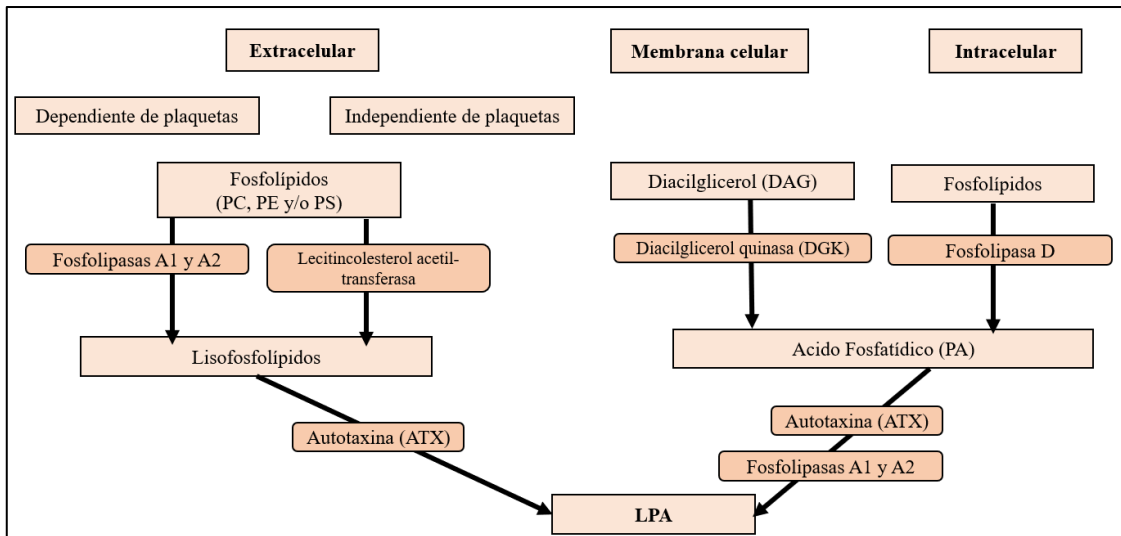


Figura 6. Esquema de las diferentes vías de síntesis del ácido lisofosfatídico (LPA) [Imagen adaptada de: (Meduri et al., 2021)].

- Biosíntesis extracelular

La biosíntesis extracelular del LPA puede ocurrir en diferentes tejidos y células del organismo, lo que contribuye a la presencia de LPA en diversos fluidos biológicos, como el suero, el plasma y otros fluidos mencionados anteriormente. La biosíntesis extracelular se puede dar a través de dos vías diferentes, una dependiente de plaquetas y otra independiente (Aoki, 2004; Aoki et al., 2008).

La biosíntesis extracelular dependiente de plaquetas se produce cuando estas células sanguíneas están activadas y liberan fosfolípidos como la fosfatidilcolina (PC, del inglés *phosphatidylcholine*), la fosfatidiletanolamida (PE, del inglés *phosphatidylethanolamine*) y la fosfatidilserina (PS, del inglés *phosphatidylserine*) que por acción de las fosfolipasas A₁ y A₂ se convierten en lisofosfolípidos y estos son convertidos a LPA por la acción de la ATX (Aoki, 2004).

En cuanto a la vía independiente de plaquetas, los lisofosfolípidos son producidos por la acción de la enzima lecitin colesterol acetil-transferasa u otras enzimas similares a la fosfolipasa A₁ y luego transformados a LPA por la ATX (Aoki, 2004; Aoki et al., 2008).

Además de estas vías, también existe un mecanismo de producción de LPA en las membranas celulares a través de la enzima diacilglicerol quinasa (DGK, del inglés *diacylglycerol kinase*) se pasa de diacilglicerol a ácido fosfatídico (PA, del inglés *Phosphatidic acid*) o bien, a través de la fosfolipasa D se produce PA desde los fosfolípidos. Este PA se transporta por la bicapa lipídica de la célula y por acción de las fosfolipasas A₁ y A₂ obtenemos las distintas especies de LPA (Aoki et al., 2008).

- Biosíntesis intracelular

En esta vía, el LPA es sintetizado de manera intracelular y suele actuar como facilitador para la biosíntesis de otros fosfolípidos. La enzima clave en este proceso es de nuevo la ATX, que se trata de una glucoproteína con actividad lisofosfolipasa D que convierte lisofosfatidilcolina (LPC, del inglés, *lysophosphatidylcholine acid*) en LPA (Tokumura et al., 2002).

9.1.2. Degradación e inactivación del ácido lisofosfatídico

Las principales vías de degradación y/o inactivación de LPA son tres, y en algunos casos se tratan de pasos de síntesis reversos controlados por enzimas diferentes (ver **figura 7**) (Lee et al., 2019; Tigyi & Parrill, 2003):

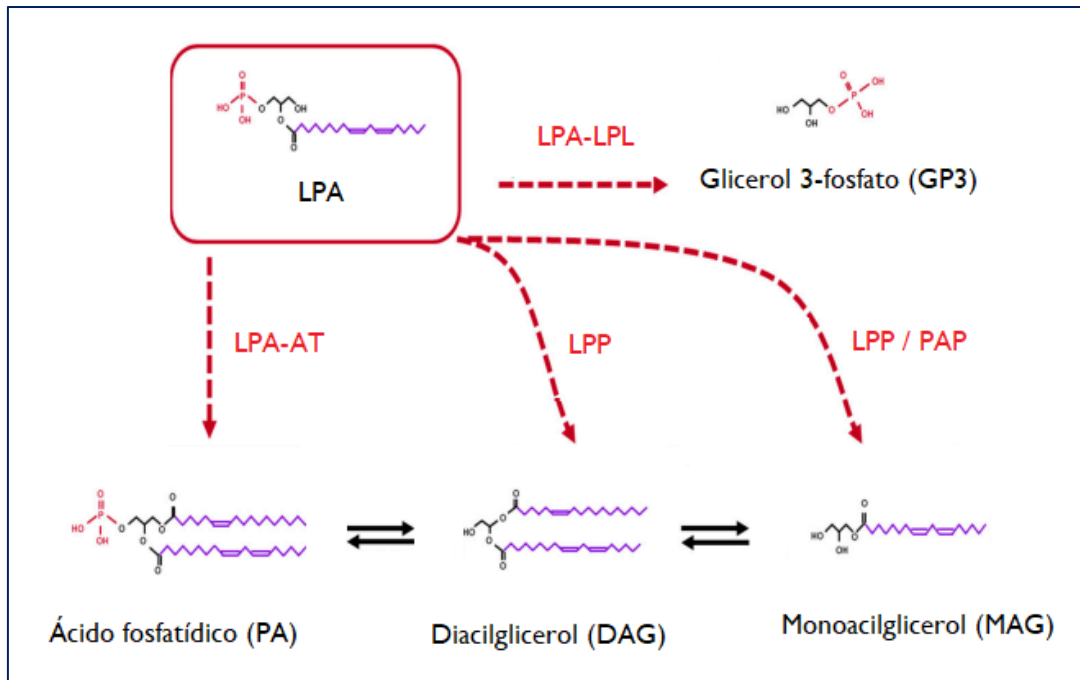


Figura 7. Esquema de las diferentes vías de degradación del ácido lisofosfatídico (LPA) [Imagen adaptada y tomada de (Lee et al., 2019)].

- Vía de fosfatasas de fosfolípidos (LPP)

El LPA es convertido en monoacilglicerol (MAG) por la acción de diferentes isoformas de LPP (del inglés *lipid phosphate phosphatase*), pero también es posible a través de la enzima fosfatasa fosfatidato (PAP) (Meyer zu Heringdorf & Jakobs, 2007).

- Vía de la enzima LPA-aciltransferasa (LPA-AT)

En este caso, el LPA es transformado en PA revirtiendo la acción de las fosfolipasas A₁ y A₂.

- Vía de la enzima LPA-lisofosfolipasa (LPA-LPL)

La enzima LPA-LPL transforma el LPA en glicerol fosfato (PG, en inglés *phosphatoglycerol*).

9.1.3. Receptores del ácido lisofosfatídico

El LPA está implicado en multitud de procesos celulares como la proliferación celular, la diferenciación, la migración y supervivencia de las células, funciones que desempeña a través de sus receptores específicos acoplados a proteínas G (LPA₁₋₆), que se encuentran distribuidos por distintos tejidos y células del organismo (González-Gil et al., 2020; Meduri et al., 2021). Los receptores de LPA pueden clasificarse en dos grupos en función de su composición química siendo los receptores LPA₁₋₃ los que poseen mayor similitud entre ellos (Aoki et al., 2008) (ver **figure 8**):

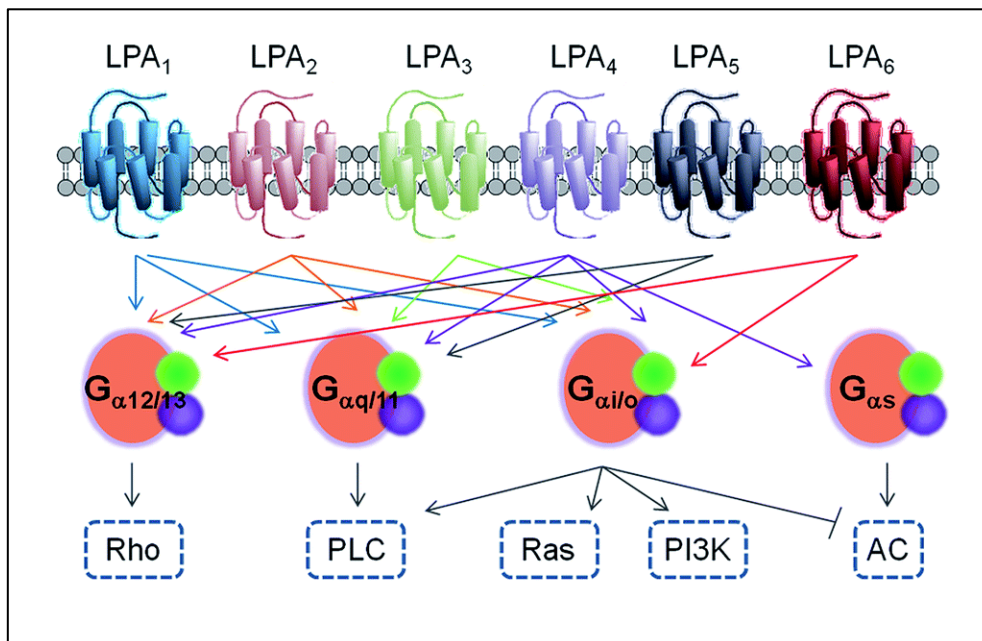


Figura 8. Representación esquemática de las vías de señalización activadas por los receptores LPA₁₋₆. Los círculos naranja, verde y púrpura representan las subunidades de proteína G: α , β y γ , respectivamente. PLC=fosfolipasa C. PI3K=fosfatidilinositol 3 quinasa. AC=adenilato ciclasa [Imagen adaptada y tomada de ((González-Gil et al., 2015))].

A continuación, se describen brevemente las características básicas y funciones de los distintos receptores (LPA₁₋₆) (Meduri et al., 2021):

- Receptor LPA₁

Ha sido uno de los más estudiados en modelos clínicos y preclínicos por ser el más abundante tanto en el SNC, como en la periferia, expresándose en las células gliales,

neuronas, riñón, corazón, aparato digestivo y reproductor (Choi et al., 2010; Goldshmit et al., 2010). Posee una alta afinidad por las distintas especies de LPA, sin considerar si son saturadas o insaturadas (Bandoh et al., 2000; Choi et al., 2010). Posee un importante papel en el desarrollo y está implicado en diversidad de enfermedades y psicopatologías (Choi et al., 2010; Meduri et al., 2021).

- Receptor LPA₂

Muy similar estructuralmente al receptor LPA₁. En humanos parece tener una elevada presencia en los leucocitos y en los testículos. Ambos receptores (LPA₁₋₂) se expresan en el SNC embrionario y su expresión es menos prevalente en el SNC adulto, lo que destaca el papel de ambos receptores en el neurodesarrollo (Choi et al., 2010; Meduri et al., 2021).

- Receptor LPA₃

Muy similar estructuralmente a los receptores LPA₁₋₂. Posee mayor afinidad por los ácidos grasos insaturados (18:1, 18:2 y 18:3). En humanos, está presente principalmente en corazón, órganos reproductores, próstata y páncreas (Bandoh et al., 2000; Choi et al., 2010).

- Receptor LPA₄

Menos relacionado estructuralmente con los receptores LPA₁₋₃. Se expresa principalmente en ovario y en menor medida, en el cerebro embrionario, corazón y timo (Choi et al., 2010; Meduri et al., 2021).

- Receptor LPA₅

Homologo al receptor LPA₄ en un 35 %. Presente en el cerebro embrionario, corazón, hígado y linfocitos B. Parece tener un importante papel en la percepción del dolor (Choi et al., 2010; Meduri et al., 2021).

Receptor LPA₆

Posee mayor afinidad con las formas saturadas de LPA. Se encuentra en cerebro y epidermis. Implicado en la formación del folículo piloso (Choi et al., 2010; Meduri et al., 2021).

Como se observa, la distribución de los receptores de LPA se da en gran variedad de tejidos y órganos, lo que se traduce en la intervención de este lípido bioactivo endógeno en gran cantidad de procesos biológicos fundamentales para la supervivencia y el desarrollo del individuo, como la neurogénesis, la mielinización, la formación de vasos sanguíneos, la reproducción, el desempeño de las funciones cognitivas, entre otros (Birgbauer, 2021; Fukushima et al., 2002; García-Marchena et al., 2020).

9.2. El papel del ácido lisofosfatídico en el comportamiento en modelos animales

En este sentido, estudios empleando diferentes modelos preclínicos han descrito la implicación del LPA en el comportamiento bajo condiciones psicopatológicas. Por ejemplo, estudios de modulación farmacológica, han demostrado que la administración aguda de 18:1-LPA incrementa las conductas de ansiedad (Castilla-Ortega et al., 2014; Yamada et al., 2015) pero, sin embargo, favorece la función cognitiva potenciando la consolidación de la memoria a largo plazo (Dash et al., 2004). Por otra parte, cuando la administración es repetida o crónica, los agonistas del LPA promueven fenómenos de plasticidad cerebral como la neurogénesis hipocampal adulta, favorecen la neuroprotección, potencian la memoria y reducen el comportamiento depresivo (Hwang et al., 2015; Rosell-del-Valle, 2014). Por el contrario, el bloqueo de la señalización mediada por LPA mediante la administración aguda de antagonistas de sus receptores como el Ki16425 (antagonista de LPA₁) deteriora el aprendizaje (Pedraza et al., 2014) y,

de manera crónica, aumenta las conductas de ansiedad, depresión y reduce la plasticidad hipocampal (Rosell-del-Valle, 2014).

9.2.1. Ratón maLPA₁ como modelo de estudio

Otra fuente de evidencia sobre la función del LPA en el comportamiento, proviene del desarrollo de ratones manipulados genéticamente. Los primeros ratones nulos carentes del receptor *Lpar1*, se caracterizaban por presentar una mortalidad perinatal muy elevada y los supervivientes mostraban características morfológicas y funcionales deficitarias (Contos et al., 2000). Sin embargo, nuestro grupo de investigación cuenta con una variante viable y estable que surgió de manera espontánea durante la expansión de la colonia original nula para *Lpar1* a la que se denominó variante Málaga (maLPA₁) (Estivill-Torrús et al., 2008). Los ratones maLPA₁-nulos presentan características morfológicas similares a los de la colonia original, además de alteraciones en el neurodesarrollo, en la mielinización y una reducción de la neurogénesis hipocampal adulta (Estivill-Torrús et al., 2008; García-Díaz et al., 2015; Matas-Rico et al., 2008). Además, la evaluación comportamental de estos animales ha revelado un fenotipo conductual caracterizado por la presencia de déficit cognitivos (especialmente en tareas de memoria a largo plazo o tareas que implican cierta dificultad) y un incremento en conductas de ansiedad y miedo, de manera que son altamente vulnerables a los efectos negativos del estrés (Blanco et al., 2012; Castilla-Ortega et al., 2010, 2011, 2013; Pedraza et al., 2014; Rosell-del-Valle, 2014; Santin et al., 2009).

9.3. El papel del sistema del ácido lisofosfatídico en las adicciones

Como anteriormente se indicó, nuevos sistemas de señalización de naturaleza lipídica han sido implicados en la neuromodulación del SNC y parecen estar involucrados en el

desarrollo de trastornos adictivos y fenómenos como la tolerancia. Entre estos sistemas, el LPA es un sistema de señalización implicado en procesos de plasticidad cerebral y en el comportamiento que interactúa con otros sistemas de neurotransmisión relevantes (p. ej., dopaminérgicos, glutamatérgicos, GABAérgicos y endocannabinoides) en áreas cerebrales asociadas con los procesos de recompensa y memoria. Por tanto, alteraciones en el sistema LPA podrían ayudar a diferenciar entre un estado de homeostasis en el organismo y una posible condición patológica o alostática.

Los estudios preclínicos descritos empleando herramientas farmacológicas y ratones carentes $maLPA_1$ sugieren la implicación del LPA, a través de su receptor LPA_1 , en procesos emocionales, motivacionales y cognitivos, los cuales son fundamentales en el proceso de la adicción. Por tanto, la señalización mediada por LPA podría estar implicada en la aparición de psicopatología y de comportamientos asociados al consumo y a la adicción a drogas de abuso.

9.3.1. Alcohol

En este sentido, estudios preclínicos de nuestro grupo de investigación han descrito un papel del LPA y su receptor LPA_1 en la modulación de comportamientos asociados con el consumo de alcohol (Castilla-Ortega et al., 2016; Sánchez-Marín et al., 2018). Concretamente, estos estudios han descrito que los ratones $maLPA_1$ -nulos muestran un mayor consumo voluntario de alcohol y una mayor tolerancia a los efectos sedantes del mismo que ratones silvestres, y efectos similares se han observado por la administración sistémica de Ki16425 en roedores (Castilla-Ortega et al., 2016; Sánchez-Marín et al., 2018). Además de esos estudios con modelos animales, nuestro grupo también ha encontrado alteraciones en las concentraciones plasmáticas de LPA en pacientes con consumo problemático de alcohol. Concretamente, hemos observado que pacientes con

TUA en abstinencia presentaban concentraciones más bajas de LPA total, 16:0-LPA, 18:0-LPA y 18:1-LPA en comparación a una muestra de participantes controles sin psicopatologías, incluyendo los TUS. Además, estas alteraciones en las especies de LPA se asociaban con la presencia de déficit cognitivo (García-Marchena et al., 2020) (ver **figura 9**).

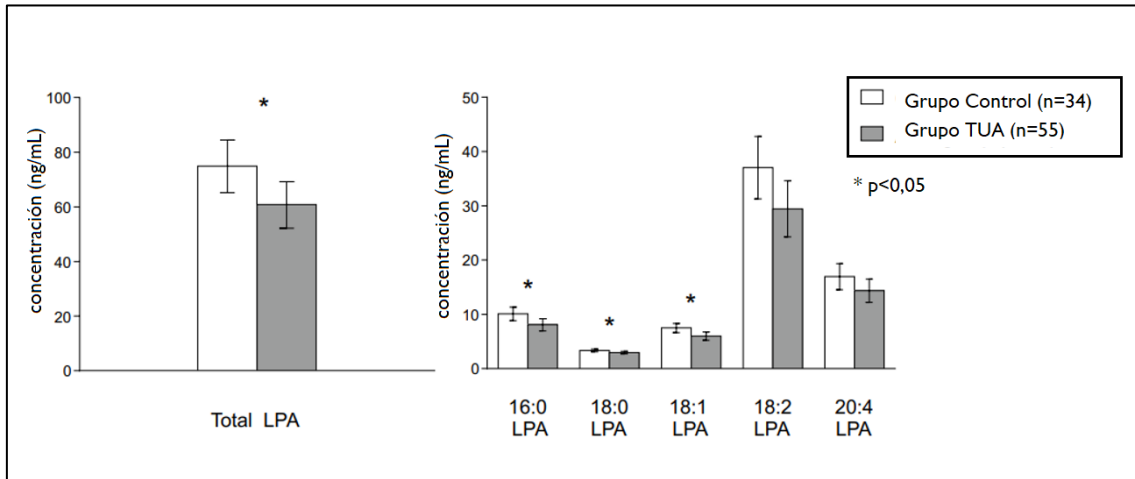


Figura 9. Concentraciones plasmáticas de ácido lisofosfatídico (LPA) total y sus especies en la pacientes con trastorno por uso de alcohol (TUA) y controles sin psicopatologías [Imagen adaptada y tomada de (García-Marchena et al., 2020)].

9.3.2. Cocaína

Además del alcohol, existen numerosas evidencias que sugieren un papel del LPA en la adicción a otras drogas de abuso, como es el caso de la cocaína. Estudios preclínicos han descrito la implicación de los receptores LPA₁ en la respuesta condicionada a cocaína a través de la regulación de la transmisión glutamatérgica en el hipocampo (Blanco et al., 2012). Además, ratones tratados con LPA vía intracerebroventricular mostraron una reducción de la preferencia de lugar inducida por cocaína debido a una mejora de la neurogénesis hipocampal adulta. Sin embargo, este efecto no se observó en los ratones maLPA₁-nulos tratados con LPA, sugiriendo un papel crucial de este receptor en la neurogénesis adulta (Ladrón de Guevara-Miranda et al., 2019). Por otra parte, es importante resaltar que, hasta el momento, hay un desconocimiento sobre lo que ocurre

con las concentraciones plasmáticas de las distintas especies de LPA en los pacientes con TUC, si bien presentan un elevado consumo de otras sustancias de abuso, especialmente de alcohol, y de comorbilidad psiquiátrica que complican la investigación del LPA en estos pacientes (Ford et al., 2009; Hammoud & Jimenez-Shahed, 2019).

Como ya se refirió en apartados previos, se conoce la relación que existe entre el SEC, sus principales ligandos y el sistema del LPA, ya que ambos son sistemas lipídicos con una distribución soportada en muchas regiones del SNC que comparten vías de síntesis y degradación de algunos de sus ligandos (González de San Román et al., 2019). Además, ambos sistemas están implicados en los comportamientos asociados a la adicción por la evidencia que arrojan estudios clínicos y preclínicos (García-Marchena et al., 2017; Orio et al., 2013; Pavón et al., 2013). Por ende, nos planteamos la importancia de seguir indagando en el papel que el LPA desempeña en los TUS, así como la posibilidad de que pueda convertirse en un potencial biomarcador que permita una mejora en la estratificación de pacientes que demandan ayuda terapéutica por trastornos adictivos y el desarrollo de nuevos tratamientos clínicos y farmacológicos.





HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



Como se ha descrito en la introducción, los trastornos adictivos (i.e., TUS) son psicopatologías especialmente complejas que se dan con gran prevalencia a nivel mundial (Lo et al., 2020). Además, las personas que sufren TUS suelen presentar una alta comorbilidad con otras patologías, tanto médicas (p. ej., enfermedades digestivas, cardiovasculares y neurológicas), como psiquiátricas (p. ej., trastornos de ansiedad, trastornos del estado del ánimo, trastornos psicóticos y TDAH) que complican su diagnóstico y tratamiento (Dickey et al., 2002). Desafortunadamente, la coexistencia del TUS con otros trastornos psiquiátricos dificulta el diagnóstico e intervención de estos pacientes debido a que en ocasiones se produce una interacción patofisiológica y un solapamiento de sus síntomas.

Por esta razón, la investigación en el ámbito de las adicciones se ha centrado en la identificación de biomarcadores y nuevas dianas terapéuticas. Este enfoque tiene como objetivo facilitar una estratificación e intervención adecuadas, basadas en criterios objetivos y personalizadas. Con este fin, se están caracterizando sistemas de señalización moleculares que se asocian con componentes de los circuitos de estrés y recompensa, fundamentales en las conductas de refuerzo, motivación y aprendizaje (Koob & Nestler, 1997; Volkow et al., 2019).

Numerosas evidencias clínicas y preclínicas sugieren la participación de diferentes sistemas de señalización lipídicos en los TUS, tales como el sistema endocannabinoide (SEC) y el sistema del ácido lisofosfatídico (LPA), (Castilla-Ortega et al., 2016; Garcia-Marchena et al., 2017; Ladrón de Guevara-Miranda et al., 2019; Pavón et al., 2013; Sánchez-Marín et al., 2018; A. Serrano & Parsons, 2011). Concretamente, el LPA y sus especies moleculares presentan un conjunto de actividades fisiológicas que comprenden la neurogénesis y plasticidad, así como la comunicación, diferenciación y migración celular, fenómenos que son cruciales en el desarrollo de la adicción.

Recientemente, hemos descrito que pacientes diagnosticados con TUA presentan alteraciones en las concentraciones circulantes de diferentes especies de LPA, y que dichas alteraciones se podrían asociar a la presencia de deterioro cognitivo (García-Marchena et al., 2020). Por tanto, considerando este estudio previo, en la presente Tesis Doctoral nos hemos planteado profundizar en el papel del LPA como potencial biomarcador en pacientes diagnosticados con TUS.

1. HIPÓTESIS

1.1. Hipótesis general

La hipótesis general de esta Tesis Doctoral plantea que la vía de señalización mediada por el LPA podría desempeñar un papel en el desarrollo de los TUS y/o con la presencia de comorbilidades psiquiátricas asociadas. Un mayor conocimiento del papel de estos mediadores lipídicos en el contexto de los TUS podría conllevar beneficios diagnósticos y terapéuticos para estos pacientes.

1.2. Hipótesis específicas

Las hipótesis específicas se presentan a continuación:

H1: Pacientes diagnosticados con TUS presentarían alteraciones en las concentraciones circulantes de las diferentes especies de LPA durante la abstinencia.

H2: Las alteraciones en la expresión del sistema del LPA podrían ser específicas según el tipo de droga de abuso consumida.

H3: Variables sociodemográficas y antropométricas podrían estar asociadas con la expresión de LPA en pacientes con TUS. La existencia de un dimorfismo sexual en este sistema de señalización podría contribuir en las diferencias entre hombres y mujeres en susceptibilidad y vulnerabilidad a desarrollar TUS y trastornos psiquiátricos comórbidos.

H4: Características relacionadas con el inicio y desarrollo del TUS (p. ej., la edad de inicio del consumo, la cantidad de sustancia consumida, la gravedad de la adicción, el tiempo de abstinencia, la presencia de comorbilidades, etc.) podrían estar relacionadas con la expresión de LPA en pacientes en tratamiento.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

El objetivo principal de esta Tesis Doctoral consiste en evaluar las alteraciones en las concentraciones plasmáticas de las diversas especies de LPA en pacientes diagnosticados con TUS, y analizar la asociación de estas alteraciones con variables relacionadas con el inicio y desarrollo de la adicción. La finalidad de estos estudios es conseguir una mejora en el diagnóstico y la intervención de estos pacientes mediante la identificación de posibles biomarcadores moleculares y la caracterización del sistema de LPA como posible diana farmacológica.

El objetivo general de esta Tesis Doctoral se ha organizado en torno a los tres bloques experimentales que dan forma al presente trabajo mediante una serie de objetivos comunes y otros específicos.

2.2. Objetivos comunes

O1: Reclutamiento y aplicación de los criterios de participación de pacientes en abstinencia diagnosticados con TUS y que acuden a tratamiento ambulatorio para abandonar el consumo de alcohol y/o cocaína. Simultáneamente, reclutar participantes controles sanos cuyas características antropométricas sean equiparables a las de los pacientes en estudio.

O2: Diagnóstico y evaluación clínica de los participantes mediante entrevistas personales y semiestructuradas que permitan obtener sus características sociodemográficas y

clínicas, fundamentalmente aquellas relacionadas con los TUS y sus comorbilidades psiquiátricas.

O3: Recogida de muestras de sangre venosa en ayuno para la obtención de plasma y células mononucleares de sangre periférica de los participantes para las determinaciones bioquímicas y moleculares.

2.3. Objetivos específicos

A continuación, se detallan los objetivos específicos de cada bloque experimental:

Primer bloque experimental:

O4: Determinación de las concentraciones de LPA total y de la enzima de síntesis autotaxina (ATX) en muestras de plasma de pacientes abstinentes con TUA y participantes controles sanos evaluados clínicamente.

O5: Análisis y caracterización de la asociación entre las posibles alteraciones en la expresión del sistema de LPA y variables relevantes asociadas al TUA, incluyendo enfermedades gastrointestinales en órganos accesorios y psiquiátricas con mayor prevalencia.

Segundo bloque experimental:

O6: Determinación de las concentraciones de LPA total y de sus especies moleculares (16:0 palmitil, 18:0 esterail, 18:1 oleoil, 18:2 linoleil y 20:4 araquidonil) en muestras de plasma de pacientes abstinentes con TUS por consumo de alcohol y/o cocaína y participantes controles sanos evaluados clínicamente.

O7: Análisis y caracterización de la asociación entre las posibles alteraciones en las concentraciones plasmáticas de LPA y el sexo biológico de los participantes.

Tercer bloque experimental:

O8: Determinación de las concentraciones de LPA y sus especies en muestras de plasma y determinación de la expresión génica de los receptores de LPA₁ y LPA₂ en células mononucleares de sangre periférica de pacientes abstinentes con TUC.

O9: Análisis y caracterización de la asociación entre las posibles alteraciones en la expresión del sistema de LPA y variables relevantes asociadas al TUC.

O10: Evaluación en ratas Wistar de ambos sexos de los efectos de la administración aguda y repetida de cocaína sobre las concentraciones de LPA en muestras de sangre.





METODOLOGÍA



1. ESTUDIOS CLÍNICOS

El marco metodológico de la presente Tesis Doctoral se fundamenta en estudios descriptivos observacionales de carácter transversal, abordando una cohorte de pacientes que acuden a tratamiento ambulatorio para abandonar el consumo problemático de sustancias (Centro Provincial de Drogodependencias de Málaga y sus centros de tratamiento ambulatorios, y Hospital 12 de Octubre de Madrid) y que son diagnosticados con TUS. Los participantes con TUS son mujeres y hombres que, en el momento del reclutamiento, se encontraban en abstinencia. Como grupo control se incluyó una muestra de individuos sanos, sin historial de TUS ni de trastornos psiquiátricos, que fueron reclutados entre el personal sanitario de los centros participantes en este estudio y familiares. Todos los datos sociodemográficos, antropométricos, clínicos, y moleculares de los participantes en los estudios realizados se recogieron a partir de sus antecedentes médicos, entrevistas clínicas y cuantificaciones en sangre.

1.1. Descripción de los participantes

1.1.1. Grupo de pacientes con trastorno por uso de sustancias

El reclutamiento se llevó a cabo en diferentes centros de drogodependencias de la provincia de Málaga, concretamente en los recursos destinados al tratamiento ambulatorio [Centro Provincial de Drogodependencias (CPD) (distrito Bailén-Miraflores), CTA-Málaga (distrito Carretera de Cádiz de Málaga) y CTA-Mijas-Costa]. Además, se realizó otro reclutamiento en los servicios de psiquiatría del Hospital 12 de Octubre de Madrid. Los participantes eran pacientes que demandaban atención sanitaria por consumo problemático de sustancias y cumplían los criterios diagnósticos del DSM para TUA y/o TUC.

1.1.2. Grupo control de participantes sanos

Este grupo estuvo formado por participantes sanos equiparables en edad, sexo biológico e índice de masa corporal (IMC) al grupo de pacientes diagnosticado con TUS y que no presentaban historial de consumo de sustancias psicoactivas, ni trastornos psiquiátricos.

1.2. Criterios de inclusión y exclusión

Todos los participantes debían firmar un consentimiento informado para otorgar su conformidad al equipo de investigación tras una descripción de los estudios. Además, los participantes para formar parte de los grupos objeto de estudio debían cumplir una serie de criterios de participación obligatorios: blancos caucásicos, mayores de edad (≥ 18 años) y participación voluntaria. Por otro lado, todos los participantes debían estar exentos de padecer enfermedades infecciosas activas (p. ej. VIH, hepatitis B - C, y COVID), problemas cognitivos o neurológicos que pudieran afectar la realización de evaluaciones clínicas, o un historial de cáncer no relacionado con TUS. Tampoco se incluyeron mujeres embarazadas o en período de lactancia.

Los distintos grupos de estudio contaban con una serie de criterios de inclusión y exclusión específicos que se detallan a continuación.

1.2.1. Criterios de participación del grupo trastorno por uso de sustancias

Los participantes de este grupo debían cumplir los criterios diagnósticos para TUA y/o TUC, según los criterios establecidos en los manuales diagnósticos DSM-IV-TR y DSM-5. Los pacientes con TUS elegibles debían formar parte de un programa de tratamiento ambulatorio para abandonar el consumo alcohol y/o cocaína, y presentar un período de abstinencia a la/las sustancias de dos semanas como mínimo (excepto para cafeína, tabaco y medicación psiquiátrica).

1.2.2. Criterios de participación del grupo control

En este caso, los participantes controles de este grupo no presentaban un historial de consumo problemático de sustancias, enfermedad psiquiátrica que hubiera requerido tratamiento y/o condición médica grave (fundamentalmente de tipo metabólico o inflamatorio). Finalmente, los sujetos controles sanos debían de no estar sometidos a ningún tratamiento farmacológico en los últimos 12 meses.

1.3. Aspectos éticos en los estudios clínicos

Los estudios fueron supervisados por el Comité de Ética de Investigación (CEI) Málaga Nordeste, a través del Portal de Ética de la Investigación Biomédica de Andalucía (<https://www.juntadeandalucia.es/salud/portaldeetica/>), para su autorización. De este modo, los participantes del estudio fueron informados del objetivo de la investigación y de la confidencialidad de los datos obtenidos. Para dar constancia de ello, cada participante firmó un consentimiento informado y se le contestaron a todas las posibles dudas que pudieran tener. Todos los procedimientos y protocolos fueron llevados a cabo de acuerdo con los principios actualizados de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, basada en el Acta de los Derechos Humanos de 1998 (AMA, Fortaleza, Brasil). Los datos e información recogidos estuvieron sujetos al Reglamento General de Protección de Datos (RGPD): (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos. En España el RGPD se aplicó mediante la Ley Orgánica 3/2018 de 5 de diciembre. De este modo, las bases de datos y las muestras biológicas fueron codificadas alfanuméricamente y anonimizadas.

1.4. Evaluación clínica

La evaluación clínica en estos estudios consistió en la aplicación de entrevistas semiestructuradas como herramientas diagnósticas de psicopatologías comunes en

población con consumo problemático de sustancias y que poseen una elevada fiabilidad y validez. Estas entrevistas diagnósticas fueron realizadas por psicólogos/as general sanitarios con formación especializada y acreditada en este tipo de evaluaciones.

1.4.1. Entrevista de investigación psiquiátrica de los trastornos mentales y de sustancias – PRISM

La entrevista de investigación psiquiátrica de los trastornos mentales y de sustancias (PRISM, del inglés: *Psychiatric Research Interview for Substance and Mental Disorders*) (Hasin et al., 1996), es una entrevista semiestructurada utilizada principalmente en el ámbito de la investigación psiquiátrica para evaluar los TUS y los trastornos mentales más prevalentes en esta población. Esta herramienta se empleó para la evaluación clínica de los participantes diagnosticados con TUS.

La PRISM está basada en los criterios diagnósticos del manual DSM-IV-TR (APA, 2000), y evalúa hasta 20 trastornos mentales pertenecientes al eje I (*Trastornos clínicos. Otros problemas que pueden ser objeto de atención clínica*) y 2 trastornos mentales pertenecientes al eje II (*Trastornos de la personalidad. Retraso mental*). PRISM permite diferenciar los trastornos mentales primarios, de aquellos que pueden ser inducidos por el consumo de sustancias y por los efectos que puede causar la intoxicación y la abstinencia. Existe una gran variedad de cuadros clínicos que comparten sintomatología (p. ej. insomnio, alucinaciones y dificultades cognitivas) siendo especialmente difícil diferenciar los efectos causados por la intoxicación y/o abstinencia, de un trastorno mental primario e independiente del uso de sustancias. Por esta razón, PRISM establece criterios específicos para el diagnóstico de un trastorno inducido por sustancias: a) el cumplimiento de los criterios del DSM-IV-TR para el trastorno correspondiente; b) el episodio debe ocurrir durante un periodo de consumo de sustancias excesivo o en las cuatro semanas posteriores al cese en su consumo; c) la sustancia consumida debe tener

el suficiente potencial para provocar los síntomas idénticos a los del trastorno evaluado; y d) los síntomas resultan excesivos respecto a los esperados por la intoxicación y/o abstinencia (Hasin et al., 1996; Torrens et al., 2004). Actualmente esta herramienta está siendo adaptada al DSM-5 y a un formato digital que facilitara el uso de la misma.

Por otra parte, es fundamental comentar que la entrevista PRISM cuenta con una adecuada fiabilidad test-retest, validez y fiabilidad inter-examinadores (coeficiente Kappa oscila entre 0,66 y 1,00) a nivel internacional (Morgello et al., 2006). Para la validación en español, PRISM también ha demostrado una buena fiabilidad y validez para los trastornos del eje I (D. Serrano et al., 2001).

1.4.2. Entrevista Diagnóstica Internacional Compuesta - CIDI

La entrevista diagnóstica internacional compuesta (CIDI, del inglés: *Composite International Diagnostic Interview*) (OMS, 1997), es una entrevista estructurada que asigna los síntomas que el paciente reporta durante la misma a los criterios diagnósticos de los manuales DSM-IV-TR (APA, 2000) y CIE-10 (OMS, 1992). Es una herramienta que se usa con frecuencia en el ámbito clínico y en la investigación. En estos estudios se aplicó para descartar la presencia de psicopatologías y consumo problemático de sustancias en participantes sanos del grupo control.

La CIDI evalúa los siguientes trastornos: trastornos relacionados con el consumo de tabaco, alcohol y otras sustancias psicoactivas; trastornos somatomorfos y disociativos; trastornos del estado de ánimo; trastornos de ansiedad; trastornos psicóticos y demencia; amnesia y otros trastornos cognitivos. Es una entrevista que posee una adecuada fiabilidad y validez (Andrews & Peters, 1998) y cuenta con una versión reducida, la CIDI-SF, que alcanza a unas conclusiones similares a la CIDI convencional con adecuadas propiedades psicométricas (Kessler et al., 1998).

1.5. Obtención y procesamiento de muestras en los estudios clínicos

Las muestras de los estudios se han centrado en la obtención de sangre periférica. De este modo, la extracción de muestras de los participantes se realizó exclusivamente por la mañana tras 8 - 12 horas de ayuno y previamente a la evaluación clínica. Se extrajeron 15-20 mL de sangre venosa utilizando dos tubos BD Vacutainer® (Becton Dickinson, Thermo Fisher Scientific, Alcobendas, España) con K2 EDTA por personal de enfermería colaborador. Inmediatamente después de la extracción, las muestras fueron procesadas combinando etapas de centrifugación y el uso de tubos de gradiente para la obtención de plasma y el aislamiento de células mononucleares de sangre periférica (PBMC, del inglés: *peripheral blood mononuclear cell*). A continuación, se describen estos protocolos de forma general.

1.5.1. Plasma

El plasma se obtuvo siguiendo un protocolo simple de centrifugación a partir de un tubo de 10 mL de sangre. Concretamente, la muestra se centrifugó a una temperatura de 4 °C y una velocidad de 2200 ×g durante 15 minutos. La fase superior correspondiente al plasma fue repartida en volúmenes de 200 y 500 µL en criotubos Nunc™ registrados y etiquetados alfanuméricamente y se almacenaron a -80 °C para su posterior análisis. Para descartar la presencia de enfermedades infecciosas activas (p. ej., VIH, hepatitis B, C, y COVID) se emplearon pruebas rápidas de detección en sangre o plasma mediante kits comerciales (Master Labor, Madrid, España). En caso positivo, las muestras se desechaban siguiendo protocolos estandarizados para minimizar riesgo biológico empleando hipoclorito sódico en cabina de bioseguridad, quedando registrado en la base de datos.

1.5.2. Células mononucleares de sangre periférica

Para la obtención de PBMC, se empleó un segundo tubo de sangre de 10 mL. En este caso, la sangre se diluyó con salino (1:1, v/v) en un tubo Falcon™ y se vertió lentamente en nuevos tubos conteniendo el medio Ficoll-Paque™. Los tubos fueron centrifugados a 22 °C y una velocidad de 800 ×g durante 20 minutos para crear un gradiente (**figura 10**):

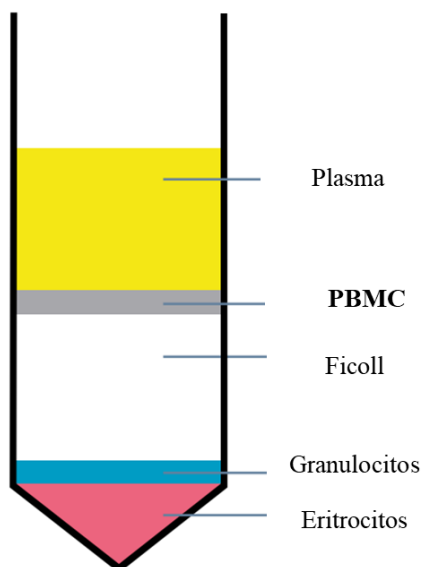


Figura 10. Fases de la muestra sanguínea para la obtención de células mononucleares [Adaptada de: (Eppendorf, Nota de aplicación n°372)].

A continuación, se recogió el halo de PBMC y se vertió en un tubo de 2 mL al que se añadió salino y se centrifugó a 22 °C y 800 ×g durante 5 minutos. En este caso, el sobrenadante conteniendo salino e impurezas se eliminó apareciendo precipitado un pellet con PBMC. Este último paso de lavado se repitió en tres ocasiones para obtener PBMC. Finalmente, los tubos con PBMC se almacenaron a -80 °C para su posterior análisis.

1.6. Determinación de variables bioquímicas en los estudios clínicos

1.6.1. Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas

En el primer bloque experimental, las concentraciones plasmáticas de LPA y de ATX (principal enzima de síntesis de LPA) se midieron mediante kits de ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, del inglés: *enzyme-linked immunosorbent*

assays) siguiendo las instrucciones específicas del fabricante en placas de 96 pocillos. Las concentraciones totales de LPA se cuantificaron utilizando el *kit Human LPA* Elisa (CSB-EQ028005HU) (Cusabio Technology, Houston, TX, EE.UU.) con una sensibilidad de 3,9 ng/mL y un rango de detección de 3,9 a 250,0 ng/mL sin considerar la dilución de muestras (recomendado 1:200, v/v). En cambio, las concentraciones de ATX se determinaron utilizando el kit ELISA *Sandwich Autotaxin* (K-5600) (Echelon Biosciences, Salt Lake, UT, EE.UU.) con una sensibilidad de 1,56 ng/ mL y un rango de detección de 1,56 a 100,0 ng/mL sin considerar la dilución de muestras (recomendado: 1:50, v/v).

Para la lectura de las placas se utilizó un espectrofotómetro con un lector de microplacas *VersaMaxTunable* (Molecular Devices, San José, CA, EE.UU.), con un rango de lectura de absorbancia visible entre 340 y 850 nm. Los datos sin procesar se leyeron a 450 nm y se analizaron utilizando el programa *SoftMax Pro Software 5.4* (Molecular Devices, San José, CA, EE.UU.). En todos los casos, las muestras se prepararon en las placas por duplicado y se incluyeron controles internos con blancos junto con una curva estándar con concentraciones conocidas para cada prueba ELISA.

1.6.2. Espectrometría de masas en tándem acoplada a cromatografía líquida

En el segundo y tercer bloque experimental, la determinación del LPA y sus especies en plasma se realizó mediante un protocolo de extracción y su concentración se cuantificó utilizando la técnica espectrometría de masas en tándem acoplada a cromatografía líquida (LC-MS/MS, del inglés, *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry*), basado en un método utilizado y descrito previamente en otros estudios de nuestro grupo (García-Marchena et al., 2020). Específicamente, la detección de

especies de LPA se realizó utilizando un sistema ACQUITY UPLC (*Waters Associates, Milford, MA, EE. UU.*) para cromatografía y un espectrómetro de masas micro triple cuadrupolo Xevo TQ-S (*Waters Associates, Milford, MA, EE. UU.*) con una interfaz ortogonal *Z-spray-electrospray* (ESI). La gestión de datos se realizó con la aplicación *TargetLynx XS en Waters MassLynx Software v4.1.*

Estas determinaciones con LC-MS/MS se realizaron gracias a la colaboración con el grupo liderado por del Dr. Rafael de la Torre (Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas IMIM, Barcelona).

1.7. Determinación en células mononucleares de sangre periférica

1.7.1. Reacción en cadena de la polimerasa con reverso transcripción en tiempo real

En el tercer bloque experimental, se realizaron técnicas moleculares basadas en la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción reversa en tiempo real (RT-qPCR, del inglés: *Real-Time Reverse Transcription Quantitative Polymerase Chain Reaction*) para determinar la expresión génica de los receptores LPA₁ (*LPAR1*) y LPA₂ (*LPAR2*) en PBMC mediante la detección de los niveles relativos de ácido ribonucleico mensajero (ARNm).

Para ello, primero se extrajo el ARN total utilizando el reactivo Trizol™ (Gibco BRL Life Technologies, Baltimore, MD, EE.UU.) y las concentraciones resultantes de ARNm se cuantificaron con un espectrofotómetro (Nanodrop 1000, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.) para garantizar su pureza con relaciones de absorbancia a A260/A280 entre 1,8-2,0. Posteriormente, la transcripción se realizó utilizando el kit *Transcriptor Reverse Transcriptase* y cebadores hexámeros aleatorios (Roche Diagnostic, Mannheim, Alemania). La RT-qPCR se llevó a cabo utilizando un ABI

PRISMR Sistema de PCR en tiempo real 7300 (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.) y los ensayos de expresión genética con una sonda TaqMan™ con un marcaje FAM (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE.UU.). Los valores absolutos de cada muestra se normalizaron respecto a un gen de referencia, en este caso β 2-microglobulina (*B2M*). La expresión relativa se calculó utilizando el método $\Delta\Delta C_t$ y normalizado al grupo control. Los cebadores para los genes de interés se obtuvieron a partir de la base de datos del genoma de *Applied Biosystems* con referencias del ARNm humano (ver **tabla 10**).

Tabla 10. Referencias de cebadores para ensayos de expresión génica TaqMan®.

Gen	Identificación	Referencia de la secuencia	Longitud del amplicón
<i>B2M</i>	Hs00187842_m1	NM_004048.2	64
<i>LPAR1</i>	Hs00173500_m1	NM_001401.3	73
<i>LPAR2</i>	Hs01109356_m1	NM_004720.5	83

Se muestra la identificación del ensayo, la referencia de la secuencia y la longitud del amplicón de cada cebador usado en nuestro estudio. Fuente: <http://bioinfo.appliedbiosystems.com/genome-database/gene-expression.html>. Abreviaturas: *B2M*: Beta-2-microglobulina; *LPAR1*: receptor LPA₁; *LPAR2*: receptor LPA₂.

1.8. Análisis estadísticos en los estudios clínicos

Los análisis de datos clínicos se realizaron principalmente con dos programas estadísticos, GraphPad prism versión 5.04 (GraphPad Software, San Diego, CA, EE. UU.) y SPSS IBM Versión estadística 23 (IBM, Armonk, NY, EE. UU.). Un valor $p < 0,05$ se consideró como estadísticamente significativo.

Todos los datos de las tablas y gráficos fueron expresados como número y porcentaje de sujetos [N (%)], como media y desviación estándar [media (SD)] de variables cuantitativas con una distribución normal o como mediana y rango intercuartil [mediana (IQR, 25-75 %)] de variables cuantitativas con una distribución no normal.

1.8.1. Análisis de asociaciones de variables cualitativas

Para determinar la asociación entre dos variables cualitativas o categóricas se emplearon pruebas estadísticas que comparan frecuencias esperadas y observadas. Concretamente, la prueba de chi-cuadrado (χ^2) y el test exacto de Fisher. Este último, es computacionalmente más intensivo y puede ser preferible en muestras pequeñas o cuando se sospecha que las frecuencias esperadas son bajas.

1.8.2. Análisis de asociaciones y distribución de variables cuantitativas

Respecto a las variables cuantitativas (discretas y continuas), se valoró la normalidad en su distribución mediante pruebas como Shapiro Wilk, Kolmogorov Smirnov y ómnibus D'Agostino-Pearson.

Para la comparación de dos grupos, si las distribuciones cumplían criterios de normalidad, se aplicó la prueba t de Student para comparar las medias y determinar si las diferencias observadas entre ellas eran estadísticamente significativas. En el caso de distribuciones que no cumplían criterios de normalidad, se aplicó la prueba U de Mann-Whitney para comparar rangos asignados a los valores.

Para la comparación de más de dos grupos, se empleó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para aquellas variables con distribuciones normales. Cuando no se cumplían los criterios de normalidad se realizaba la prueba de Krushal-Wallis. Las comparaciones múltiples entre los grupos se llevaron a cabo con diferentes tests *post hoc* similares a Bonferroni (p. ej., Tukey).

1.8.3. Análisis de covarianza para variables cuantitativas normales

El análisis de covarianza (ANCOVA) permitió un análisis de asociación para variables cuantitativas normales considerando un factor o más de agrupación, la interacción de estos factores y la inclusión de variables de confusión (covariables). Comúnmente, las

covariables consisten en características sociodemográficas y antropométricas. ANCOVA permite calcular una matriz con los valores del estadístico F teniendo en cuenta los grados de libertad (n° de datos y de niveles de los factores) y su significatividad para cada variable independiente. En nuestros estudios, los distintos modelos de ANCOVA proporcionaron las medias marginales ajustadas/estimadas de las variables cuantitativas para cada grupo de los distintos factores junto con el 95 % de intervalo de confianza (95 % IC). Estas medias también pudieron compararse con pruebas múltiples *post hoc*.

Cuando las variables cuantitativas no presentaron una distribución normal, pudieron ser transformadas para poder cumplir con las premisas estadísticas del ANCOVA. Concretamente, la asimetría positiva de la distribución de variables cuantitativas permitió su transformación logarítmica en base 10 de tal modo que los datos resultantes fueron expresados como valores logarítmicos o transformados a su forma original.

1.8.4. Análisis de correlación entre variables cuantitativas

Para los análisis de correlación de dos variables cuantitativas y continuas se empleó el coeficiente de correlación de Pearson (r). Para aquellas variables en las que una de ellas pudiera ser discreta o no cumplir con las premisas de normalidad, se empleó el coeficiente de Spearman (ρ). En caso necesario, los datos pudieron ser transformados para cumplir los criterios de normalidad y asegurar la validez del análisis de correlación de Pearson.

1.8.5. Análisis de regresión logística binaria y modelos predictivos de estratificación

Diferentes variables pudieron ser utilizadas para desarrollar modelos predictivos que permitieran diferenciar entre dos grupos de estudio de interés. Para ello, se realizaron análisis de regresión logística binaria que incluyeron variables independientes de interés (predictores o variables explicativas) permitiendo obtener las probabilidades individuales para cada participante. La inclusión de estas variables en el modelo logístico se estimó

mediante la prueba de Hosmer Lemeshow. Las probabilidades obtenidas permitieron calcular el poder discriminativo del modelo mediante un análisis ROC (del inglés: *receiver operating characteristics*) que proporcionó un área bajo la curva, así como la sensibilidad y la especificidad del modelo.

2. ESTUDIOS PRECLÍNICOS

2.1. Animales

Los estudios preclínicos se llevaron a cabo en ratas Wistar macho y hembra (Laboratorio Charles River España, Barcelona, España) con una edad de 5 a 8 semanas y un peso de 200-250 gramos al comienzo de los experimentos. Los animales fueron mantenidos en las instalaciones del Centro de Experimentación Animal y Conducta Animal (CECA) de la Universidad de Málaga e IBIMA Plataforma BIONAND, bajo unas condiciones controladas de humedad y temperatura, y con un ciclo de 12 horas de luz/oscuridad. A la llegada de los animales, se les permitió que se aclimataran al nuevo entorno durante al menos 7 días, antes de realizar cualquier procedimiento experimental por parte de personal cualificado con la correspondiente acreditación para trabajar con animales de experimentación. El agua y el alimento estuvieron disponibles *ad libitum* durante el estudio que se presenta en el tercer bloque experimental.

2.2. Modelos preclínicos de exposición a cocaína

Para desarrollar los modelos preclínicos de exposición a cocaína, se prepararon diferentes concentraciones de cocaína en forma de clorhidrato (Merck, Darmstadt, Alemania) en solución de salina (0,9 % NaCl). De este modo, distintas dosis de cocaína y solución vehículo (suero fisiológico) fueron administradas por vía intraperitoneal (i.p.) en un volumen de 1 mL/kg de peso corporal. Se realizaron dos tratamientos diferentes con cocaína en ratas.

2.2.1. Tratamiento agudo

Los animales fueron asignados de forma aleatoria a los diferentes grupos, control y cocaína (ver **figura 11**). En el grupo control, las ratas macho (N=6 por grupo) y hembra (N=6 por grupo) recibieron una inyección de vehículo. En los grupos de cocaína (N=7 machos/grupo y N=7 hembras/grupo), los animales recibieron una inyección de diferentes dosis de cocaína (5, 15 ó 30 mg/kg). Todos los animales fueron sacrificados por decapitación empleando anestésico a los 30 y 240 minutos tras la administración.

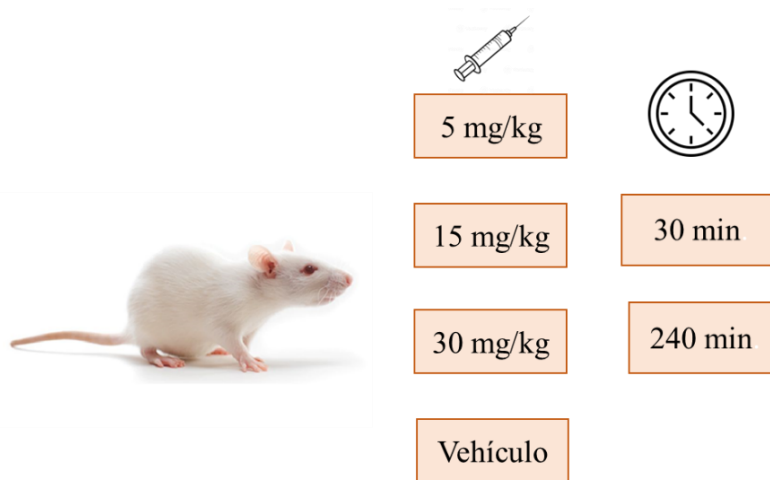


Figura 11. Representación del experimento de tratamiento agudo con cocaína a diferentes dosis y diferentes tiempos de sacrificio.

2.2.2. Tratamiento repetido

En el tratamiento repetido, las ratas recibieron diariamente inyecciones de vehículo o cocaína (dosis de 15 mg/kg, i.p.) durante dos semanas. Posteriormente, los animales fueron sacrificados por decapitación empleando anestésico a las 2, 72 y 240 horas tras la última administración (N=8 machos/grupo y N=8 hembras/grupo) (ver **figura 12**).

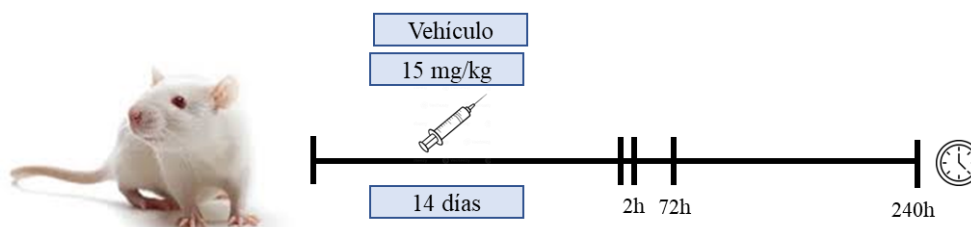


Figura 12. Representación del experimento de tratamiento repetido con cocaína (15mg/kg) y vehículo a distintos tiempos de sacrificio.

2.3. Aspectos éticos en los estudios preclínicos

En los estudios realizados con animales los protocolos y procedimientos fueron aprobados por el Comité de Ética e Investigación de la Universidad de Málaga (CEUMA) en cumplimiento con las recomendaciones ARRIVE (*Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments*) (McGrath et al., 2010), y aplicando la normativa vigente para la experimentación animal recogida en la directiva europea 2010/63/EU y en la legislación española (Real Decreto 53/2013, BOE 34/11370-11421, 2013) para la regulación del cuidado y uso de los animales de laboratorio. Todos los esfuerzos fueron encaminados a minimizar el sufrimiento innecesario de los animales y siguiendo los principios de las 3 R: reemplazo, reducción y refinamiento. Los investigadores responsables de los diferentes procedimientos estaban capacitados adecuadamente para la realización de las diferentes tareas descritas en experimentación animal.

2.4. Recogida y procesamiento de muestras en estudios preclínicos

Los animales que recibieron los tratamientos agudo o repetido fueron sacrificados por decapitación, previa anestesia con pentobarbital sódico (50 mg/kg vía i.p.). Inmediatamente después, se recogieron muestras de sangre periférica troncal en tubos BD Vacutainer conteniendo K2 EDTA que se centrifugaron inmediatamente a una velocidad de 2000 ×g durante 15 minutos para la obtención de plasma a partir del sobrenadante. Diferentes alícuotas de plasma (220 y 500 µL) se distribuyeron en criotubos (Nunc™) codificados convenientemente y se almacenaron a -80 °C para su posterior análisis.

2.5. Determinación de las concentraciones de ácido lisofosfatídico en plasma

La cuantificación de las concentraciones de LPA total en las muestras de plasma de ratas Wistar expuestas a cocaína o vehículo tras un tratamiento agudo y repetido, se llevó a cabo por inmunoensayos mediante el kit *Rat* LPA Elisa (MBS2612504) (MyBioSource, San Diego, CA, EE.UU). Esta ELISA presentó una sensibilidad de hasta 0,6 ng/mL y un

rango de detección de 200 ng/mL a 3,2 ng/mL. Tal y como se describió anteriormente, las placas se leyeron con el espectrofotómetro *VersaMaxTunable* (Molecular Devices, San José, CA, EE.UU.). Todas las muestras se prepararon por duplicado y se incluyeron controles internos con blancos y una curva estándar con concentraciones conocidas.

2.6. Análisis estadísticos en estudios preclínicos

Al igual que en los estudios clínicos, los análisis se realizaron principalmente con dos programas estadísticos, GraphPad prism versión 5.04 (GraphPad Software, San Diego, CA, EE.UU.) y SPSS IBM Versión estadística 23 (IBM, Armonk, NY, EE.UU.). Un valor $p < 0,05$ se consideró como estadísticamente significativo.

Las diferentes pruebas estadísticas fueron descritas previamente.

RESULTADOS





PRIMER BLOQUE EXPERIMENTAL



TÍTULO

“Plasma Concentrations of Lysophosphatidic Acid and Autotaxin in Abstinent Patients with Alcohol Use Disorder and Comorbid Liver Disease”.

REFERENCIA

Flores-López M, García-Marchena N, Pavon FJ, Lara E, Porrás-Perales O, Araos P, Requena-Ocaña N, Torres-Galván S, Mañas-Padilla MC, Rubio G, Suárez J, Santín LJ, Rodríguez de Fonseca F, Castilla-Ortega E, García-Fernández MI, Serrano A. Plasma Concentrations of Lysophosphatidic Acid and Autotaxin in Abstinent Patients with Alcohol Use Disorder and Comorbid Liver Disease. *Biomedicines*. 2021 Sep 13;9(9):1207. doi: 10.3390/biomedicines9091207. PMID: 34572393; PMCID: PMC8469650.

ABSTRACT

Lysophosphatidic acid (LPA) is an endogenous lysophospholipid and a bioactive lipid that is synthesized by the enzyme autotaxin (ATX). The ATX-LPA axis has been associated with cognitive dysfunction and inflammatory diseases, mainly in a range of nonalcoholic liver diseases. Recently, preclinical and clinical evidence has suggested a role of LPA signaling in alcohol use disorder (AUD) and AUD-related cognitive function. However, the ATX-LPA axis has not been sufficiently investigated in alcoholic liver diseases. An exploratory study was conducted in 136 participants, 66 abstinent patients with AUD seeking treatment for alcohol (alcohol group), and 70 healthy control subjects (control group). The alcohol group was divided according to the presence of comorbid liver diseases (i.e., fatty liver/steatosis, alcoholic steatohepatitis, or cirrhosis). All participants were clinically evaluated, and plasma concentrations of total LPA and ATX were measured using enzyme-linked immunosorbent assays. Data were primarily

analyzed using analysis of covariance (ANCOVA) while controlling for age, body mass index, and sex. Logistic regression models were created to assess the association of the ATX-LPA axis and AUD or liver disease. LPA and ATX were \log_{10} -transformed to fit the assumptions of parametric testing. The main results were as follows: total LPA and ATX concentrations were dysregulated in the alcohol group, and patients with AUD had significantly lower LPA ($F_{(1,131)} = 10.677, p = 0.001$) and higher ATX ($F_{(1,131)} = 8.327, p = 0.005$) concentrations than control subjects; patients with AUD and liver disease had significantly higher ATX concentrations (post hoc test, $p < 0.05$) than patients with AUD but not liver disease; significant correlations between AUD-related variables and concentrations of LPA and ATX were only found in the non-liver disease subgroup (the duration of alcohol abstinence with LPA and ATX ($r = +0.33, p < 0.05$); and the severity of AUD with ATX ($\rho = -0.33, p < 0.05$)); and a logistic regression model with LPA, ATX, and AUD-related variables showed an excellent discriminative power (area under the curve (AUC) = 0.915, $p < 0.001$) for distinguishing patients with AUD and comorbid liver disease. In conclusion, our data show that the ATX-LPA axis is dysregulated in AUD and suggest this lipid signaling, in combination with relevant AUD-related variables, as a reliable biomarker of alcoholic liver diseases.

Keywords: alcohol use disorder; autotaxin; comorbidity; liver disease; lysophosphatidic acid.



SEGUNDO BLOQUE EXPERIMENTAL



TÍTULO

“Sex Differences in Plasma Lysophosphatidic Acid Species in Patients with Alcohol and Cocaine Use Disorders”.

REFERENCIA

Flores-López M, García-Marchena N, Araos P, Requena-Ocaña N, Porrás-Perales O, Torres-Galván S, Suarez J, Pizarro N, de la Torre R, Rubio G, Ruiz-Ruiz JJ, Rodríguez de Fonseca F, Serrano A, Pavón-Morón FJ. Sex Differences in Plasma Lysophosphatidic Acid Species in Patients with Alcohol and Cocaine Use Disorders. *Brain Sci.* 2022 Apr 30;12(5):588. doi: 10.3390/brainsci12050588. PMID: 35624975; PMCID: PMC9139721.

ABSTRACT

Preclinical evidence suggests a main role of lysophosphatidic acid (LPA) signaling in drug addiction. Recently, we reported alterations in the plasma concentrations of LPA species in patients with alcohol use disorder (AUD). As there are sex differences in drug addiction, the main aim of the present study was to investigate whether relevant LPA species (16:0-LPA, 18:0-LPA, 18:1-LPA, 18:2-LPA and 20:4-LPA) were associated with sex and/or substance use disorder (SUD). This exploratory study was conducted in 214 abstinent patients with lifetime SUD, and 91 healthy control subjects. The SUD group was divided according to the diagnosis of AUD and/or cocaine use disorder (CUD). Participants were clinically assessed, and plasma samples were collected to determine LPA species and total LPA. We found that LPA concentrations were significantly affected by sex, and women showed higher concentrations than men. In addition, there were significantly lower 16:0-LPA, 18:2-LPA and total LPA concentrations in patients with SUD than in controls. Namely, patients with CUD and AUD + CUD showed lower

LPA concentrations than controls or patients with AUD. In conclusion, our data suggest that LPA species could be potential biomarkers for SUD in women and men, which could contribute to a better stratification of these patients in treatment programs.

Keywords: alcohol; biomarker; cocaine; lysophosphatidic acid; sex; substance use disorder.

TERCER BLOQUE EXPERIMENTAL



TÍTULO

“Plasma concentrations of lysophosphatidic acid and the expression of its receptors in peripheral blood mononuclear cells are altered in patients with cocaine use disorders”.

REFERENCIA

Flores-López M, García-Marchena N, Pavón-Morón FJ, Requena-Ocaña N, Sánchez-Marín L, Martín-Chaves L, García-Medina M, Pedraza C, Castilla-Ortega E, Ruiz JJ, Rodríguez de Fonseca F, Araos P, Serrano A. Plasma concentrations of lysophosphatidic acid and the expression of its receptors in peripheral blood mononuclear cells are altered in patients with cocaine use disorders. *Transl Psychiatry*. 2023 Jun 21;13(1):215. doi: 10.1038/s41398-023-02523-1. PMID: 37344453; PMCID: PMC10284796.

ABSTRACT

We have recently reported alterations in the plasma concentrations of lysophosphatidic acid (LPA) in patients with substance use disorders. In order to further explore the potential role of the LPA signaling system as biomarker in cocaine use disorders (CUD) we conducted a cross-sectional study with 105 patients diagnosed with CUD and 92 healthy controls. Participants were clinically evaluated and blood samples were collected to determine plasma concentrations of total LPA and LPA species (16:0-, 18:0-, 18:1-, 18:2-, and 20:4-LPA), and the gene expression of LPA₁ and LPA₂ receptors in peripheral blood mononuclear cells. We found that patients with CUD had significantly lower plasma concentration of the majority of LPA species, while the mRNA expression of LPA₁ receptor was found to be higher than controls. Moreover, we found a positive association between plasma concentration of 20:4-LPA and relevant CUD-related variables: age of onset cocaine use and length of cocaine abstinence. The statistical analysis revealed sex differences in concentrations of total LPA and LPA species, and

women showed higher LPA concentrations than men. Furthermore, studies in rats of both sexes showed that plasma concentrations of total LPA were also altered after acute and chronic cocaine administration, revealing a sexual dimorphism in these effects. This study found alterations on the LPA signaling system in both, patients with CUD and rats treated with cocaine. Our results demonstrate that LPA signaling is impacted by CUD and sex, which must be taken into consideration in future studies evaluating LPA as a reliable biomarker for CUD.

Subject terms: Diagnostic markers, Addiction.



DISCUSIÓN



El consumo de sustancias se da con una elevada prevalencia en la población mundial y, además, un número significativo de personas llegan a desarrollar TUS. En nuestro entorno, los individuos con TUS que con mayor frecuencia acuden a centros de tratamiento ambulatorio son aquellos que presentan TUA y TUC, trastornos que comúnmente coexisten en la misma persona. Los TUS son altamente incapacitantes y no solo afectan la salud física y mental de quienes lo padecen, sino que influyen negativamente en diversos aspectos de la vida cotidiana, como lo son los ámbitos social, familiar, laboral, económico, entre otros. Esta amplia afectación lleva a los pacientes a buscar recursos para su tratamiento; sin embargo, en la actualidad, aún existen muchas limitaciones en el diagnóstico e intervención de los trastornos adictivos por la complejidad médica y sus consecuencias. Entre los principales factores que influyen negativamente en el curso de un tratamiento adecuado de estos pacientes, cabe destacar una alta comorbilidad psiquiátrica y médica al TUS que complica una adecuada caracterización sintomatológica, los escasos recursos asistenciales destinados a esta población en los sistemas públicos de salud y la ausencia de dianas farmacológicas y terapéuticas específicas que resulten eficaces. Otros factores que se deben tener en cuenta son de naturaleza social, destacando el estigma que rodea a los pacientes con TUS, lo que a menudo lleva a estas personas a buscar ayuda en estadios muy avanzados de la enfermedad que dificulta enormemente su abordaje terapéutico. Este fenómeno de estigmatización se manifiesta de forma más evidente en el caso de las mujeres. La sociedad a menudo tiende a imponer expectativas y normas específicas sobre el comportamiento de las mujeres en roles como el de madre y esposa, generando una presión adicional para aquellas que se enfrentan a problemas de adicción. Esto no solo afecta la percepción que la sociedad tiene de estas mujeres, sino que también influye en su autoimagen, acentuando la carga emocional y psicológica que ya conlleva la lucha

contra un TUS. Por todo ello, las mujeres tienden a acudir menos a los centros de tratamiento ambulatorio, y cuando finalmente acceden a los programas y terapias para abandonar el consumo presentan una elevada prevalencia de comorbilidad psiquiátrica, mayor número de prescripciones de psicofármacos, y menor apoyo social y familiar en comparación con los hombres con TUS en tratamiento.

Tal y como se ha comentado, entre las limitaciones terapéuticas más importantes del TUS destaca la no disponibilidad de soluciones farmacológicas específicas y eficaces. Una de las razones principales es la ausencia de biomarcadores fiables que actúen como herramientas complementarias para las entrevistas psiquiátricas y guías diagnósticas, y que permitan dilucidar mecanismos moleculares e identificar posibles dianas terapéuticas. Por ello, la identificación y caracterización de biomarcadores relacionados con la adicción a partir de sistemas de señalización moleculares ayudaría a un abordaje integral del TUS mediante una mejor estratificación de los pacientes que requieran tratamiento atendiendo a su comorbilidad y otros factores fisiológicos importantes como pueden ser la edad y las diferencias por sexo.

El sistema del LPA conforma un mecanismo de transmisión lipídica involucrado en la neuromodulación del SNC, a través de la regulación de procesos celulares relacionados con la neurogénesis como son: la proliferación, la diferenciación, la migración y la supervivencia celular. Además, numerosas evidencias clínicas y preclínicas sugieren que la señalización mediada por LPA podría estar implicada en los comportamientos asociados al consumo y a la adicción a drogas (Castilla-Ortega et al., 2016; García-Marchena et al., 2020; Ladrón de Guevara-Miranda et al., 2019; Orio et al., 2013). Sin embargo, este sistema también se expresa periféricamente en la sangre, donde las diferentes especies de LPA y su principal enzima de síntesis ATX pueden ser

cuantificadas. Por ello, los componentes del sistema del LPA podrían ser explorados como potenciales biomarcadores de lo que sucede en el SNC.

Por tanto, el objeto de estudio principal en esta Tesis Doctoral es la caracterización de las alteraciones del sistema del LPA asociadas a los TUS, con el objetivo de identificar potenciales biomarcadores específicos y dianas terapéuticas que puedan ayudar al desarrollo de tratamientos más personalizados para estos pacientes.

1. El sistema del ácido lisofosfatídico como biomarcador en los trastornos por uso de sustancias.

Los resultados de esta Tesis Doctoral muestran alteraciones en las concentraciones plasmáticas de LPA en muestras de pacientes con TUS por alcohol y/o cocaína en comparación a sujetos controles sanos de una población general no clínica.

Concretamente, entre los principales hallazgos que encontramos en los tres bloques experimentales, están los siguientes: a) las concentraciones plasmáticas de LPA están disminuidas en pacientes con TUA; b) las concentraciones plasmáticas de LPA se alteran de manera diferencial según la sustancia/s que se consumen; c) el consumo problemático de cocaína está asociado con concentraciones reducidas de LPA en comparación con controles sanos y pacientes con TUA.

Estudios previos llevados a cabo por nuestro grupo ya han descrito el papel del LPA y su receptor LPA₁ en la modulación de comportamientos asociados al consumo de alcohol en modelos animales (Castilla-Ortega et al., 2016; Sánchez-Marín et al., 2018). Estas investigaciones muestran que la ausencia del receptor LPA₁ o el uso de antagonistas para este receptor (Ki16425), se asocia con un incremento en el consumo voluntario de alcohol y una mayor tolerancia a los efectos sedantes en roedores (Castilla-Ortega et al., 2016;

Sánchez-Marín et al., 2018). Además de estudios con modelos animales, nuestro grupo también ha llevado a cabo estudios clínicos que demuestran alteraciones en las concentraciones plasmáticas de LPA en pacientes diagnosticados con TUA, y dichas alteraciones se asocian con la presencia de déficit cognitivo en estos pacientes (García-Marchena et al., 2020). Concretamente, en el primer bloque experimental, se observó que pacientes con TUA en abstinencia presentan una concentración en plasma de LPA disminuida respecto a la sujetos controles, resultados que se asemejan con el estudio previamente mencionado (García-Marchena et al., 2020).

Puesto que investigaciones preclínicas también han demostrado la implicación del sistema LPA en la adicción a cocaína (Blanco et al., 2012; Ladrón de Guevara-Miranda et al., 2019), en los estudios del segundo y tercer bloque experimental, se exploró el papel de este sistema lipídico en una muestra de pacientes con TUC. En ambos casos se observó que los pacientes diagnosticados con TUC presentaban concentraciones plasmáticas de las especies de LPA disminuidas en comparación con participantes controles sanos.

Además, en el estudio del segundo bloque experimental, se exploró el papel del sistema del LPA en una muestra más amplia de pacientes con TUS, incluyendo un grupo de pacientes con TUA, un grupo de pacientes con TUC y un grupo de pacientes con el diagnóstico comórbido de ambos TUS. Los resultados obtenidos mostraron que los pacientes con TUA presentaban concentraciones de las especies 16:0-LPA y 18:1-LPA reducidas, mientras que los pacientes con TUC presentaban alteraciones en 16:0-LPA, 18:1-LPA, 18:2-LPA y 20:4-LPA. Finalmente, pacientes con TUA y TUC comórbidos mostraron una disminución en las especies 16:0-LPA y 18:2-LPA. Estos resultados demuestran que el tipo de TUS por alcohol y/o cocaína está relacionado con cambios diferenciales en la expresión plasmática de las especies de LPA; sin embargo, se

desconoce la causalidad por la propia naturaleza exploratoria del estudio. Además del posible efecto que puede causar la dieta (p. ej., la especie 18:2-LPA es derivada de un ácido graso esencial que se obtiene a través de la alimentación), una explicación de estas diferencias podría ser que el consumo de cocaína y/o alcohol estaría afectando a la concentración de ácidos grasos y, por tanto, a la producción de mediadores lipídicos derivados de ácidos grasos. En este sentido, investigaciones previas de nuestro grupo, han descrito alteraciones en las concentraciones de otras familias lipídicas derivadas de ácidos grasos, como son las aciletanolamidas y los monoacilgliceroles, en pacientes con TUC y/o TUA en abstinencia (García Marchena et al., 2016; Garcia-Marchena et al., 2017; Pavón et al., 2013). Junto a este posible efecto por el historial de alcohol y cocaína sobre las especies de LPA en plasma, también se observó una disminución más pronunciada en las concentraciones circulantes de las especies de LPA en pacientes con TUC o con ambos TUS respecto a aquellos pacientes con TUA. Sin embargo, aunque no se sabe la razón por la que un uso patológico de la cocaína, sola o junto al alcohol, tiene un mayor efecto sobre las concentraciones plasmáticas de LPA, numerosos estudios preclínicos han descrito que el consumo de cocaína tiene un impacto en la vía LPA/LPA₁ (Blanco et al., 2012; Ladrón de Guevara-Miranda et al., 2019; Orio et al., 2013). Por lo tanto, explorar las concentraciones de LPA en el plasma podría ser un buen indicador de consumo patológico de psicoestimulantes como cocaína en pacientes con diagnóstico de varios TUS.

Puesto que el historial de consumo de cocaína estaba relacionado con alteraciones en las concentraciones plasmáticas de LPA, en el tercer bloque experimental, se investigó la posible asociación entre variables relacionadas con el inicio y desarrollo de la adicción y las concentraciones de LPA en nuestra cohorte de pacientes con TUC. Aunque en ningún caso se observaron correlaciones con la comorbilidad psiquiátrica, los resultados

mostraron una correlación positiva y significativa entre las concentraciones de la especie 20:4-LPA y la edad de inicio de consumo de cocaína en pacientes con TUC. Una posible explicación a esta asociación (i.e., menor concentración de 20:4-LPA se asocia con edad de inicio más temprana) es que una disminución en la concentración de ácido araquidónico podría relacionarse con una mayor susceptibilidad a desarrollar algún tipo de trastorno psiquiátrico, puesto que este ácido graso juega un papel determinante en procesos neuronales básicos (Yehuda et al., 1999). En este sentido, el inicio temprano del uso de cocaína se relaciona con una mayor gravedad en el TUC y una mayor prevalencia de comorbilidad psiquiátrica (Buydens-Branchey et al., 2003). Además de la asociación con la edad de inicio del consumo, también se observó una asociación positiva y significativa entre esa misma especie 20:4-LPA y el tiempo de abstinencia. Si bien no se sabe el significado de esta asociación, un estudio previo de nuestro grupo también ha descrito una correlación entre las concentraciones de un endocannabinoide derivado de ácido araquidónico (anandamida) y el tiempo de abstinencia en pacientes con TUA (García-Marchena et al., 2017). Todo ello, podría reflejar una normalización de las concentraciones de mediadores derivados de este ácido graso durante la abstinencia incluyendo el 20:4-LPA en el caso de la adicción a la cocaína. La determinación de las concentraciones circulantes de ácido araquidónico no conjugado podría resultar de interés para la interpretación de estos resultados en el contexto de la adicción.

Además de la evaluación de las concentraciones plasmáticas de LPA total y sus especies en pacientes con TUS y sujetos controles, en el tercer bloque experimental, también se analizó la expresión génica de dos de los receptores de este sistema de señalización, los receptores LPA₁ y LPA₂ en células PBMC. Los resultados obtenidos mostraron cambios significativos en la expresión génica del receptor LPA₁, de tal modo que los pacientes con TUC presentaban concentraciones de ARNm de *LPA1* más elevados que los controles

sanos. Estos resultados confirman el papel de este receptor en la adicción a sustancias, algo que diversos estudios preclínicos ya han descrito tanto en consumo problemático de alcohol como de cocaína (Blanco et al., 2012; Castilla-Ortega et al., 2016; Ladrón de Guevara-Miranda et al., 2019; Sánchez-Marín et al., 2018).

En resumen, los resultados obtenidos en los tres bloques experimentales muestran alteraciones del sistema del LPA asociadas a un historial de adicción al alcohol y/o cocaína. Además, el padecimiento del TUC tiene un mayor impacto sobre las concentraciones circulantes de LPA que el del TUA, aunque se desconoce la razón de esta diferencia. Por tanto, estos resultados sugieren que las especies de LPA circulantes en plasma podrían ser evaluadas como potenciales biomarcadores de adicción en estudios longitudinales con otras cohortes de pacientes, y que el sistema del LPA podría ser explorado como una nueva diana terapéutica que facilite el diagnóstico y el tratamiento de los pacientes con TUS.

2. Alteraciones en el sistema del ácido lisofosfatídico asociadas a la presencia de comorbilidad hepática en pacientes con trastorno por uso de alcohol

Tal y como se ha indicado en la introducción, son numerosas las enfermedades médicas y psiquiátricas asociadas a los TUS. Las enfermedades gastrointestinales en órganos accesorios, y en particular las enfermedades hepáticas, como la esteatosis hepática, la hepatitis alcohólica o la cirrosis, son muy frecuentes en pacientes con TUA (Rocco et al., 2014). Dada esta alta prevalencia, en el primer bloque experimental, se exploró el efecto de la presencia de esta comorbilidad médica sobre las concentraciones circulantes de LPA y ATX, una enzima soluble clave en la síntesis de LPA que estudios previos han propuesto como posible biomarcador de enfermedad hepática no alcohólica (Kaffe et al., 2019; Papadopoulos et al., 2022).

Entre los principales hallazgos de este primer bloque experimental, nos encontramos: a) las concentraciones plasmáticas de LPA y ATX están desreguladas en pacientes con TUA frente a sujetos controles sanos; b) los pacientes con TUA y enfermedad hepática comórbida tienen concentraciones plasmáticas de ATX más elevadas que los pacientes con TUA sin comorbilidad hepática; c) existen correlaciones entre variables relacionadas con el inicio y desarrollo del TUA (tiempo de abstinencia y criterios de gravedad del TUA basados en el DSM-IV-TR) y las concentraciones plasmáticas de LPA y ATX en el grupo de pacientes con TUA sin comorbilidad hepática; y d) un modelo de regresión en el que se integran las concentraciones de LPA y ATX y las variables relacionadas con el inicio y desarrollo del TUA (abstinencia y criterios de gravedad del TUA) muestra un excelente poder discriminativo para diferenciar pacientes con TUA con y sin comorbilidad hepática.

Los resultados mostraron que los pacientes con TUA presentaban en plasma concentraciones de LPA disminuidas y concentraciones ATX aumentadas en comparación con sujetos controles. Estos resultados pueden parecer contradictorios, ya que la ATX es la enzima responsable de la síntesis extracelular del LPA, pero es posible que este incremento de ATX sea una respuesta compensatoria ante la disminución de LPA en plasma y el resultado de una condición patológica que lleva a desregular este eje ATX-LPA al igual que ocurre en otras enfermedades (Kaffe et al., 2019).

Puesto que el 35 % de los pacientes con TUA mostraban enfermedad hepática comórbida en este estudio, se exploró si las alteraciones observadas en las concentraciones plasmáticas de LPA y ATX se asociaban o no a la presencia de estas enfermedades. De este modo, aunque no se observaron cambios en las concentraciones de LPA, los resultados mostraron una mayor concentración plasmática de ATX en pacientes con TUA y enfermedad hepática respecto a aquellos pacientes sin comorbilidad hepática. En línea con estos resultados, estudios previos en pacientes con hígado graso no alcohólico han

descrito concentraciones elevadas de ATX en sangre, posiblemente debido a alteraciones en la eliminación de ATX por parte de los hepatocitos (Honda et al., 2019).

Existen factores, como la cantidad de alcohol consumido o el tiempo de consumo, que se relacionan directamente con la posibilidad de desarrollar daño hepático o digestivo (Bellentani et al., 1997; Roerecke et al., 2019). Puesto que se observaron concentraciones de ATX aumentadas en los pacientes con TUA y comorbilidad hepática, se examinó la posible asociación entre la expresión circulante del eje ATX-LPA y variables relacionadas con el inicio y desarrollo de la adicción, como el tiempo de abstinencia y los criterios de gravedad del TUA, en los subgrupos de pacientes abstinentes con TUA, de acuerdo con la existencia o no de comorbilidad hepática. Mientras que los pacientes con TUA y enfermedad hepática no presentan ninguna correlación significativa entre las concentraciones de componentes del sistema del LPA y las variables relacionadas con el inicio y curso de la adicción analizadas, los pacientes sin enfermedad hepática presentaban una correlación positiva entre las concentraciones del sistema LPA y el tiempo de abstinencia, y una correlación negativa entre las concentraciones de ATX y la gravedad del TUA. De acuerdo con estos resultados, un estudio previo en una cohorte de pacientes con TUA y sin enfermedad hepática ha demostrado que concentraciones más bajas de LPA predicen un deterioro en la función cognitiva (García-Marchena et al., 2020). Por lo tanto, aunque el deterioro cognitivo relacionado con el consumo de alcohol parece estar asociado con una disminución en las concentraciones plasmáticas de LPA, nuestros datos sugieren que la abstinencia prolongada del alcohol puede restablecer las concentraciones de LPA, y esto podría reflejar fenómenos favorables de neuroplasticidad con repercusiones en el desempeño cognitivo de estos pacientes (Rosell-del-Valle, 2014). Curiosamente, el padecimiento de una enfermedad hepática grave, relacionada o no con el consumo de alcohol, se ha asociado con un mayor riesgo de desarrollar problemas

cognitivos a través de diferentes mecanismos, principalmente por alteraciones cerebrovasculares y respuestas inflamatorias que alcanzan el SNC (Brodersen et al., 2014; Edwin et al., 1999). Por lo tanto, aunque los resultados presentados sugieren que ATX podría ser un marcador para diferenciar pacientes con y sin comorbilidad hepática en el contexto del TUA, la ausencia de correlaciones significativas entre la expresión del sistema del LPA y variables relacionadas con la adicción al alcohol sugiere que también sería necesario contar con medidas de desempeño cognitivo para poder llegar a conclusiones más sólidas sobre la dirección de los cambios en este sistema de señalización.

Se puede concluir que el eje ATX-LPA, podría ser considerado como un posible biomarcador para la estratificación de pacientes con TUA de acuerdo con la presencia o no de comorbilidad hepática. Por otro lado, las asociaciones descritas para LPA y ATX indican que se debe tener en cuenta variables relacionadas con el inicio y desarrollo del TUA y el estado cognitivo para un abordaje integral de estos pacientes.

3. Ácido lisofosfatídico y dimorfismo sexual.

Estudios previos llevados a cabo en muestras de población sana y pacientes con TUA, han mostrado que variables sociodemográficas, fundamentalmente aquellas relacionadas con características fisiológicas basales como la edad, el índice de masa corporal (IMC) o el sexo biológico, tienen un impacto sobre las concentraciones de LPA (García-Marchena et al., 2020; Michalczyk et al., 2017).

Concretamente, entre los principales hallazgos de los tres bloques experimentales, nos encontramos: a) las concentraciones de LPA aparecen más elevadas en mujeres que en hombres, independientemente del grupo de estudio (TUS o control sano); b) existen correlaciones positivas entre la edad y las concentraciones plasmáticas de las distintas

especies de LPA, las cuales no se observan cuando evaluamos pacientes diagnosticados con TUC; c) alteraciones en las concentraciones plasmáticas de LPA total y de las especies 16:0-LPA y 18:2-LPA están asociadas por el diagnóstico de TUS y el sexo biológico, sin existir interacción entre estos dos factores.

Puesto que estudios previos llevados a cabo en muestras de población sana han mostrado resultados inconsistentes sobre la asociación entre el sistema del LPA y variables sociodemográficas, como la edad y el IMC (Hosogaya et al., 2008; Kulkarni & Getzenberg, 2009; Michalczyk et al., 2017), los tres estudios incluidos en esta Tesis Doctoral incluyen grupos pareados en edad e IMC y los análisis ANCOVA para estos analitos fueron realizados controlando la posible influencia de estas variables.

De hecho, en el segundo bloque experimental se observó una correlación positiva entre la edad y las concentraciones plasmáticas de LPA, tanto en la cohorte de pacientes con TUS como en sujetos controles sanos. De la misma manera, en el tercer bloque experimental, también se observaron estas asociaciones positivas entre la edad y la concentración plasmática de las diferentes especies de LPA en controles sanos; si bien, no se observaron asociaciones significativas en los pacientes con TUC. A este respecto, se sabe que el sistema del LPA juega un papel en los procesos de envejecimiento, con efectos anti-envejecimiento y antioxidantes (Sun et al., 2017); además de que alteraciones en la señalización del LPA podrían estar vinculadas con la depresión en la tercera edad (Moreno-Fernandez et al., 2018). Por tanto, la ausencia de correlación entre la edad y las concentraciones de LPA en pacientes con TUC podría sugerir un impacto del consumo patológico de cocaína sobre esta asociación existente en condiciones fisiológicas normales, que se agravaría por la posible influencia de la comorbilidad psiquiátrica, en particular por la alta prevalencia de depresión comórbida.

En cuanto a la influencia del sexo biológico, es importante destacar que cuando se iniciaron los estudios que conforman la presente Tesis Doctoral, se pudo comprobar un menor número de mujeres que acudían a los programas de tratamiento ambulatorio para abandonar el consumo de sustancias respecto a los hombres (16 % mujeres, 83 % hombres, aproximadamente). Otros aspectos relevantes eran que las mujeres llegaban a los centros presentando una mayor tasa de comorbilidad psiquiátrica, un consumo de medicación psiquiátrica muy elevado y un escaso apoyo social y familiar en comparación con los hombres. Además de estas diferencias entre mujeres y hombres, estudios anteriores en muestras de población sana han sugerido la existencia de un dimorfismo sexual en la expresión y funcionalidad del sistema del LPA, reportando concentraciones de LPA elevadas en mujeres (Michalczyk et al., 2017). Por todo esto, se decidió investigar el impacto que esta variable (sexo biológico) tiene sobre el sistema del LPA en el contexto de las adicciones. Con el fin de explorar si estas diferencias sexuales se observan en diferentes TUS, en los estudios del segundo y tercer bloque experimental, se evaluó la influencia del sexo biológico en pacientes diagnosticados con TUA y/o TUC durante su abstinencia. Los resultados obtenidos volvieron a mostrar concentraciones más elevadas de las diferentes especies de LPA en mujeres con respecto a hombres, independientemente del grupo de estudio al que pertenecieran. Además, las mujeres con algún TUS presentaron menores concentraciones plasmáticas de LPA total y de las especies 16:0-LPA y 18:0-LPA que las mujeres controles sanas. Estas diferencias se podrían asociar con la elevada presencia de trastornos afectivos y de ansiedad en mujeres con TUS, puesto que el sistema del LPA juega un papel esencial en el control del comportamiento emocional (Requena-Ocaña et al., 2023; Santin et al., 2009).

En definitiva, los resultados obtenidos en estos estudios muestran la existencia de un claro dimorfismo sexual en las concentraciones plasmáticas de LPA tanto en participantes

controles sanos como en pacientes diagnosticados con TUS. Por lo tanto, las alteraciones en las concentraciones de LPA asociadas al consumo de sustancias tienen que considerar la existencia de un dimorfismo sexual, por lo que su papel como posibles biomarcadores de adicción contribuiría a una mejor estratificación de los hombres y mujeres que acuden a tratamiento por TUS.

4. Alteraciones del ácido lisofosfatídico inducidas por cocaína en un modelo animal

Algunas investigaciones previas ya habían reportado el impacto del consumo problemático de alcohol y/o cocaína sobre el sistema del LPA en modelos animales (Blanco et al., 2012; Castilla-Ortega et al., 2016; Ladrón de Guevara-Miranda et al., 2019; Sánchez-Marín et al., 2018). Esto nos condujo a emplear modelos preclínicos de exposición a cocaína para investigar de forma complementaria el efecto sobre las concentraciones de LPA teniendo en cuenta variables relacionadas con el inicio y el desarrollo de la adicción como son el sexo biológico, la dosis consumida y el tiempo de abstinencia.

Entre los principales resultados obtenidos encontramos: a) las ratas hembra presentan concentraciones de LPA total más elevadas en comparación con las ratas macho, independientemente del grupo experimental al que pertenecieran (i.e., vehículo o cocaína); b) alteraciones en las concentraciones plasmáticas de LPA se producen en función del sexo, la dosis de cocaína a la que se expone al animal y la duración de la abstinencia.

Este estudio preclínico realizado con animales concuerda con los estudios en humanos (García-Marchena et al., 2020; Michalczyk et al., 2017; Requena-Ocaña et al., 2023) puesto que confirma la existencia de un dimorfismo sexual en las concentraciones de

LPA. De este modo, se observó que las ratas hembra presentaban concentraciones plasmáticas de LPA más elevadas, y esto sucedía sin importar el grupo al que pertenecieran. Hasta la fecha, no parecen existir estudios previos centrados en describir las diferencias sexuales en la expresión del sistema de LPA en modelos animales, por lo que puede resultar interesante seguir profundizando en ello a través de la caracterización de los distintos componentes de este sistema lipídico, incluyendo sus enzimas y receptores.

Por otra parte, tras el tratamiento con cocaína se observaron alteraciones significativas en la expresión de LPA atendiendo al sexo de los animales, la dosis de cocaína administrada y el tiempo de abstinencia transcurrido tras la última administración. En ratas macho, el tratamiento agudo con una dosis baja de cocaína se asociaba con concentraciones plasmáticas de LPA reducidas en comparación con aquellas ratas macho tratadas con vehículo; y estos efectos sólo fueron observados a los 30 minutos de la administración de cocaína. Por el contrario, los efectos sobre las concentraciones de LPA en las ratas hembra, eran opuestos a los observados en machos. Por otro lado, se observó un aumento significativo en las concentraciones de LPA en ratas hembra tratadas con la dosis más alta de cocaína, y este efecto se mantenía incluso después de 240 minutos de la administración. En cuanto al tratamiento repetido con cocaína, las concentraciones de LPA eran significativamente más bajas durante las primeras etapas de abstinencia en ratas macho tratadas con cocaína que en las tratadas con vehículo; si bien después de varios días de abstinencia, las concentraciones de LPA se normalizaban a las concentraciones observadas en ratas vehículo. Nuevamente se evidenció un dimorfismo sexual en estos resultados puesto que no hubo efectos por la duración de la abstinencia en ratas hembra. Esto demuestra, al igual que en otros estudios preclínicos previos de exposición a la cocaína en ratas, que las hormonas sexuales pueden tener un papel relevante en los efectos

del consumo de cocaína sobre la expresión del sistema de LPA (Algallal et al., 2020; Becker & Koob, 2016; Calipari et al., 2017).

En el ámbito de los estudios clínicos, resultaría por tanto interesante contar con muestras más amplias de mujeres, así como con mediciones hormonales o información sobre el ciclo menstrual. Esto permitiría profundizar en la posible existencia de un dimorfismo sexual en el sistema del LPA con una mayor evidencia.

5. Limitaciones y futuras líneas de investigación

Una vez descritos y discutidos los principales hallazgos de esta Tesis Doctoral, es importante destacar que existen una serie de limitaciones inherentes a los tres estudios que conforman este trabajo. Futuras investigaciones en este ámbito serán requeridas para dar respuesta a estas limitaciones.

Entre las principales limitaciones comunes a los tres bloques experimentales podemos enumerar las siguientes:

1) El número de mujeres participantes en los estudios clínicos fue mucho más bajo que el de los hombres. Sin embargo, esto es un reflejo realista de lo que sucede en los programas de tratamiento ambulatorio para abandonar el consumo de sustancias. Sería necesario planificar estudios con un mayor número de mujeres para confirmar las diferencias sexuales observadas en los estudios presentados.

2) El reclutamiento de los pacientes se realizó en programas de tratamiento ambulatorio para las adicciones. La inclusión de pacientes ambulatorios conlleva la existencia de numerosas variables desconocidas, tales como hábitos alimenticios, nivel de actividad física, medicación no psiquiátrica, etc., que pueden influir enormemente en la validez de los resultados obtenidos. Por tanto, la ampliación de estos estudios a pacientes

hospitalizados con TUS permitirían controlar estas posibles variables que no se han controlado hasta el momento.

3) Los resultados presentados fueron obtenidos a partir de pacientes diagnosticados con TUS en período de abstinencia. Sería recomendable la incorporación de grupos experimentales adicionales que incluyeran individuos con un consumo activo de alcohol y/o cocaína para poder caracterizar el sistema de LPA en presencia de dichas drogas de abuso o sus metabolitos.

4) En estos estudios se han examinado las especies de LPA más abundantes en sangre humana y su principal enzima de síntesis. Sin embargo, el metabolismo del LPA implica un equilibrio dinámico de numerosas enzimas y metabolitos que precisarían ser examinados y caracterizados para establecer el mecanismo de regulación del sistema de LPA en pacientes con TUS y controles sanos. Además, sería necesario caracterizar otras especies de LPA que no han sido medidas (p. ej., 18:2-LPA) y cuyas actividades podrían ser relevantes en el contexto de las adicciones y sus comorbilidades.

5) Finalmente, hay que tener en cuenta que todos estos hallazgos surgen a partir de estudios exploratorios y transversales. Sería interesante llevar a cabo estudios longitudinales para hacer un seguimiento de los pacientes y explorar el efecto de diferentes variables asociadas a los TUS, como la duración del período de abstinencia, sobre expresión de los componentes del sistema del LPA. Además, estos otros estudios podrían ayudarnos a encontrar la causalidad de las alteraciones descritas.

CONCLUSIONES



Conclusiones

- I. Las concentraciones plasmáticas de ácido lisofosfatídico están reducidas en pacientes abstinentes con trastorno por uso de alcohol respecto a sujetos controles sanos.
- II. Las concentraciones plasmáticas de autotaxina, la principal enzima de síntesis del ácido lisofosfatídico, están incrementadas en pacientes abstinentes con trastorno por uso de alcohol en comparación con controles sanos. Este incremento en la expresión de autotaxina es aún mayor cuando existe enfermedad hepática comórbida.
- III. Las concentraciones plasmáticas de ácido lisofosfatídico y autotaxina correlacionan con variables relacionadas con el inicio y desarrollo de la adicción, como son la duración de la abstinencia y los criterios de gravedad del trastorno por uso de alcohol en pacientes abstinentes con trastorno por uso de alcohol sin comorbilidad hepática. Esto, ha permitido desarrollar modelos predictivos que podrían ayudar en la estratificación de pacientes con trastorno por uso de alcohol atendiendo a la presencia o no de enfermedades hepáticas comórbidas.
- IV. Las concentraciones plasmáticas de ácido lisofosfatídico total y de algunas de sus especies se encuentran disminuidas en pacientes abstinentes con trastorno por uso de sustancias respecto a sujetos controles sanos.
- V. Las alteraciones en las concentraciones de ácido lisofosfatídico total y de sus diferentes especies van a depender del tipo de sustancia consumida. Primero, los pacientes abstinentes con trastorno por uso de cocaína, bien diagnosticado solo o en combinación con un trastorno por uso de alcohol, presentan concentraciones de ácido lisofosfatídico relativamente más bajas que aquellos pacientes abstinentes con un diagnóstico de trastorno por uso de alcohol. Segundo, las especies de ácido lisofosfatídico también aparecen alteradas de forma diferencial en función del tipo de trastorno por uso de sustancia diagnosticado en los diferentes grupos de pacientes.

Conclusiones

- VI. En pacientes abstinentes con trastorno por uso de cocaína se observa una correlación positiva entre las concentraciones plasmáticas de ácido lisofosfatídico 20:4 y tanto la edad de inicio del consumo de cocaína como la duración del período de abstinencia.
- VII. Las concentraciones relativas de ARNm de los receptores LPA₁ en células mononucleares de sangre periférica de pacientes abstinentes con trastorno por uso de cocaína aparecen incrementados en comparación con sujetos controles sanos. Estas alteraciones en la expresión génica de estos receptores respaldan la implicación del sistema del ácido lisofosfatídico en el trastorno por uso de cocaína.
- VIII. Las características etiopatológicas del trastorno por uso de sustancia difieren en hombres y mujeres; por tanto, el abordaje terapéutico debe ser distinto atendiendo al sexo biológico. Sin embargo, las mujeres con trastornos por uso de sustancias acuden menos a programas tratamiento ambulatorio, presentan mayor comorbilidad psiquiátrica y toman más medicación psiquiátrica.
- IX. Existe un dimorfismo sexual en la expresión de sistema de ácido lisofosfatídico, y es independiente del trastorno por uso de sustancias que se padezca. De este modo, las mujeres presentan concentraciones más elevadas de ácido lisofosfatídico total y de sus especies que los hombres. Además, estos cambios no se asocian a variables relacionadas con el inicio y desarrollo de la adicción, como la duración de la abstinencia, los criterios de gravedad o comorbilidad psiquiátrica, entre otras.
- X. Por último, los estudios llevados a cabo en ratas Wistar de ambos sexos también muestran alteraciones inducidas por cocaína en las concentraciones plasmáticas de ácido lisofosfatídico. Estas alteraciones son dependientes de la dosis de cocaína administrada, la duración del tratamiento, el tiempo de abstinencia y el sexo del animal.



ENGLISH SUMMARY & CONCLUSIONS



ENGLISH SUMMARY

The consumption of psychoactive substances is a global public health issue with repercussion worldwide (Lo et al., 2020). Currently, there is a wide variety of substances being consumed, with a distinction between those regulated by the law (e.g., alcohol and tobacco) and other illegal substances (e.g., cannabis, cocaine, and heroin).

Among legal psychoactive substances, alcohol is the most widely consumed drug globally. According to the World Health Organization (WHO), in its latest 2018 report, it was estimated that around 2.3 billion people were active drinkers (WHO, 2019). Among illegal psychoactive substances, one of the most widely consumed worldwide is cocaine. Over the last decade (2010 and 2019), there has been an observed increasing trend in the global consumption of this substance, approximately by 22 % (Karila et al., 2014; WDR, 2021).

There are specific factors that directly influence the development of addiction and the formation of consumption patterns of various psychoactive substances, with biological sex being one of them. In fact, men have a higher prevalence of both alcohol and cocaine consumption compared to women. On the other hand, women are less likely to seek outpatient treatment to quit consumption, and when they do, they are often prescribed a higher quantity of psychotropic medications and have more associated psychiatric illnesses.

The pathological consumption of various substances of abuse leads to the diagnosis of substance use disorders (SUD) (APA, 2000; APA, 2014). SUD are characterized by a pattern of excessive and uncontrolled consumption of psychoactive substances, such as alcohol or cocaine, resulting in adverse consequences for physical or mental health, social functioning, and overall well-being. In fact, SUD often occur with high frequency in

association with other psychiatric and medical conditions, a phenomenon known as comorbidity. In the diagnosis and intervention of these patients, acknowledging this comorbidity is essential, given its substantial influence on the course of addiction.

The treatment of SUD faces numerous limitations, including high psychiatric and medical comorbidity that complicates accurate symptomatic characterization, limited healthcare resources allocated to this population in public health systems, and a lack of specific pharmacological and therapeutic targets that have proven effective. Other important factors to consider are of a social nature, with the stigma surrounding individuals with SUD often leading them to seek help at advanced stages of the disease, significantly hindering therapeutic intervention.

In recent years, efforts have been made to find new tools that facilitate the diagnosis and intervention of these patients. Among these new tools, the identification of potential biomarkers could help objectively assess disruptions in a biological process (Navarrete et al., 2022). A biomarker is defined as a physiological variable that must meet certain requirements, such as sensitivity, specificity, relevance to the studied process, and the ability to be measured in a simple and reproducible manner (Califf, 2018).

Regarding addiction, the search for biomarkers has focused on characterizing molecular signaling systems involved in reward mechanisms and stress response, which are altered due to the consumption of substances of abuse. In recent years, lipid signaling systems have attracted special interest among researchers seeking possible biomarkers associated with addiction. Interest in this lipid signaling systems as potential new therapeutic targets arises for several reasons: 1) they exhibit systemic expression in both the central nervous system (CNS) and the rest of the body, 2) they can be measured peripherally from blood samples, and 3) lipid signaling systems have traditionally been understudied, posing a real challenge for biomarker research.

In recent years, numerous clinical and preclinical studies have revealed a significant breakthrough in identifying new lipid signaling systems implicated in the neuromodulation of the CNS and involved in the development of addictive disorders and tolerance to various drugs of abuse. Among these systems is the 1-acyl-sn-glycerol-3-phosphate or lysophosphatidic acid (LPA), a family of endogenous bioactive lipids that exert extracellular signaling functions through six G protein-coupled receptors (LPA₁₋₆) expressed in many tissues and cell types, including the CNS (Yung et al., 2014). These lipid mediators play roles in cell proliferation, differentiation, migration, and survival, as well as in various biological processes such as neurogenesis, myelination, blood vessel formation, reproduction, induction of neuropathic pain, and tumor progression (Choi et al., 2010). Thus, LPA is a signaling system involved in brain plasticity and behavior, interacting with other neurotransmission systems relevant to brain areas associated with reward and memory processes. Therefore, alterations in this signaling system could help to differentiate between a state of organismic homeostasis and a potential pathological condition, such as that resulting from an addictive process. This makes LPA a potential candidate biomarker contributing to improved patient stratification seeking therapeutic assistance for SUD and the development of new clinical and pharmacological treatments.

Considering this background, the **general hypothesis** of this Doctoral Thesis proposes that the LPA-mediated signaling pathway could play a role in the development of SUD and/or the presence of associated psychiatric comorbidities. A better understanding of the role of these lipid mediators in the context of SUD could lead to diagnostic and therapeutic benefits for these patients.

As a **general objective**, the aim is to assess alterations in plasma concentrations of various LPA species in patients diagnosed with SUD and analyze their association of these alterations with variables related to the initiation and development of addiction. The

purpose of these studies is to improve the diagnosis and intervention for these patients by identifying potential molecular biomarkers and characterizing the LPA system as a possible pharmacological target.

The Doctoral Thesis is organized into three experimental blocks, each one corresponding to a published study, with **common objectives** outlined below:

O1: Recruitment and application of participation criteria for patients in abstinence diagnosed with SUD who attend outpatient treatment to quit alcohol and/or cocaine consumption. Simultaneously, recruitment of healthy control participants with anthropometric characteristics comparable to those of patients with SUD.

O2: Diagnosis and clinical evaluation of participants through personal and semi-structured interviews to obtain their sociodemographic and clinical characteristics, focusing on those related to SUD and psychiatric comorbidities.

O3: Collection of fasting venous blood samples to obtain plasma and peripheral blood mononuclear cells from participants for biochemical and molecular determinations.

In addition to these common objectives, each experimental block has **specific objectives** detailed below:

First Experimental Block:

O4: Determination of total LPA concentrations and autotaxin (ATX) synthesis enzyme in plasma samples from abstinent patients with alcohol use disorder (AUD) and clinically evaluated healthy control participants.

O5: Analysis and characterization of the association between potential alterations in the LPA system expression and relevant variables associated with AUD, including

gastrointestinal diseases in accessory organs and psychiatric disorders with higher prevalence.

Second Experimental Block:

O6: Determination of total LPA concentrations and its molecular species (16:0 palmitoyl, 18:0 stearoyl, 18:1 oleoyl, 18:2 linoleoyl, and 20:4 arachidonoyl) in plasma samples from abstinent patients with SUD due to alcohol and/or cocaine consumption and clinically evaluated healthy control participants.

O7: Analysis and characterization of the association between potential alterations in plasma LPA concentrations and the biological sex of the participants.

Third Experimental Block:

O8: Determination of LPA concentrations and its molecular species (16:0 palmitoyl, 18:0 stearoyl, 18:1 oleoyl, 18:2 linoleoyl, and 20:4 arachidonoyl) in plasma samples and determination of the gene expression of LPA₁ and LPA₂ receptors in peripheral blood mononuclear cells from abstinent patients with Cocaine Use Disorder (CUD).

O9: Analysis and characterization of the association between potential alterations in the expression of the LPA system and relevant variables associated with CUD.

O10: Evaluation of the effects of acute and repeated cocaine administration on LPA concentrations in blood samples in both male and female Wistar rats.

The **general methodology** for conducting the work in the three experimental blocks involved the voluntary participation of patients with SUD and healthy controls with similar sociodemographic characteristics. Patients with SUD underwent evaluation using the Psychiatric Research Interview for Substance and Mental Disorders (PRISM) (Hasin et al., 1996), while healthy control participants were assessed using the Composite

International Diagnostic Interview (CIDI) (WHO, 1997). Blood samples were collected from all participants under similar conditions: in the morning, after an 8 to 12-hour fast, and prior to clinical evaluation. These samples were obtained using BD Vacutainer® tubes with K2 EDTA by collaborating nursing staff, and subsequently, plasma and mononuclear cells were extracted.

For the determination of total LPA concentrations, its species, and its main synthetic enzyme, ATX, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits and liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) were employed. Relative messenger RNA (mRNA) levels of LPA receptors LPA₁ (*LPAR1*) and LPA₂ (*LPAR2*) in peripheral mononuclear cells of study participants were determined using real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR).

In addition to clinical studies, this Doctoral Thesis includes research involving animal models. Specifically, the third experimental block comprises a preclinical study using different cocaine exposure models in male and female Wistar rats. These animals received various doses of cocaine, administered acutely or repeatedly, and were sacrificed at different intervals after intraperitoneal cocaine administration to obtain blood samples. Once plasma was obtained, total LPA concentrations were determined using ELISA.

Following are the most relevant **results** for each experimental block:

First experimental block (O4 y O5): “*Plasma concentrations of lysophosphatidic acid and Autotaxin in abstinent patients with alcohol use disorder and comorbid liver disease*”. *Biomedicines*, **2021**, 9, 1207.

Lysophosphatidic Acid (LPA) is a bioactive lipid produced both extracellularly and intracellularly from membrane phospholipids, resulting in various LPA species. In serum and plasma, a key synthesis pathway involves the enzyme autotaxin (ATX). The ATX-

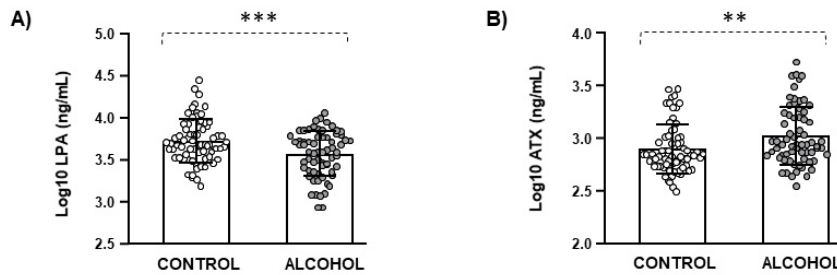
LPA axis has been associated with various pathological processes, including deficits in cognitive function, inflammatory diseases, and various non-alcoholic liver diseases. Recently, clinical, and preclinical studies have suggested the role of LPA signaling in alcohol use disorder (AUD) (Castilla-Ortega et al., 2016; Sánchez-Marín et al., 2018; García-Marchena et al., 2020). However, the ATX-LPA axis has not been sufficiently investigated in alcoholic liver diseases.

In this first experimental block, an exploratory study was conducted with 136 participants, including 66 abstinent patients with AUD seeking treatment (alcohol group) and 70 healthy controls (control group). The alcohol group was further divided based on the presence of associated liver diseases (fatty liver/steatosis, alcoholic steatohepatitis, or cirrhosis), as 35 % of participants with AUD in this first experimental block had comorbidity with gastrointestinal diseases in accessory organs. All participants underwent clinical evaluation, and plasma concentrations of total LPA and ATX were measured using ELISA kits. Data were primarily analyzed using analysis of covariance (ANCOVA), controlling for age, body mass index, and biological sex. Associations between variables related to the onset and development of addiction (abstinence time and severity criteria of AUD) were studied through correlation analysis. Logistic regression models were created to assess the association of the ATX-LPA axis with AUD or liver disease. Concentration data of LPA and ATX were log₁₀-transformed to adhere to parametric test assumptions.

The main **results** were as follows:

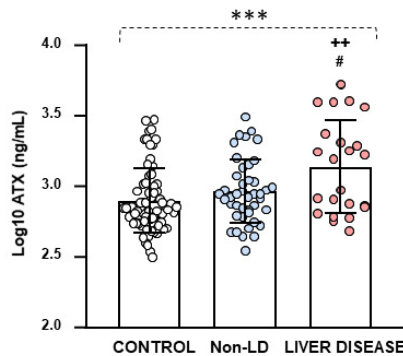
- a) Total concentrations of LPA and ATX were altered in the alcohol group. Specifically, patients with AUD had significantly lower LPA concentrations and higher ATX concentrations than healthy control subjects (see **Figure 1, A and B**).

Figure 1



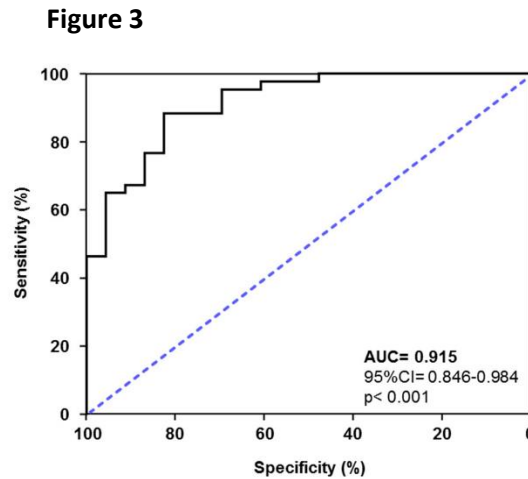
b) Patients with AUD and associated liver disease had higher concentrations of ATX compared to patients with AUD without liver disease and the control group (see **Figure 2**).

Figure 2



c) Significant correlations between variables related to AUD (abstinence time and severity criteria of AUD) and concentrations of LPA and ATX were found only in the AUD subgroup without liver disease. A statistically significant correlation was observed between abstinence time and concentrations of LPA ($r = +0.325$, $p < 0.05$) and ATX ($r = +0.326$, $p < 0.05$). Additionally, a statistically significant correlation was observed between severity criteria of AUD and concentrations of ATX ($\rho = -0.327$, $p < 0.05$).

- d) The logistic regression model created with variables related to the onset and development of AUD (abstinence time, duration of AUD, and severity criteria), including concentrations of LPA and ATX, showed excellent discriminative power to distinguish patients with AUD and comorbid liver disease (see **Figure 3**).



In conclusion, our data demonstrate that the ATX-LPA axis is altered in patients diagnosed with AUD. These findings suggest that this lipid signaling system, in combination with relevant variables related to the onset and development of AUD, could potentially serve as a biomarker for liver diseases associated with problematic alcohol consumption.

Second experimental block (O6 y O7): “*Sex differences in plasma lysophosphatidic acid species in patients with alcohol and cocaine use disorders*” *Brain Sciences*, **2022**, 12, 588.

Preclinical studies from our group have suggested the involvement of the LPA system in modulating alcohol-related behaviors (Castilla-Ortega et al., 2016; Sánchez-Marín et al., 2018) and cocaine addiction processes (Blanco et al., 2012; Ladrón de Guevara-Miranda et al., 2019). In addition to these observations in animal models, we have recently linked LPA signaling with AUD in humans (Flores-López et al., 2021; García-Marchena et al.,

2020), suggesting a potential role as a biomarker for cognitive impairment or liver disease in patients with AUD.

However, despite the potential value of LPA as a biomarker, plasma concentrations of this lipid mediator can be affected by numerous factors, such as sex (García-Marchena et al., 2020; Michalczyk et al., 2017). Additionally, studies have shown that healthy women have higher LPA concentrations than men (Hosogaya et al., 2008; Michalczyk et al., 2017). Furthermore, we are aware of differences in substance use between men and women, with the percentage of women seeking treatment much lower than that of men. When women do seek treatment, they often have high psychiatric comorbidity and limited social support.

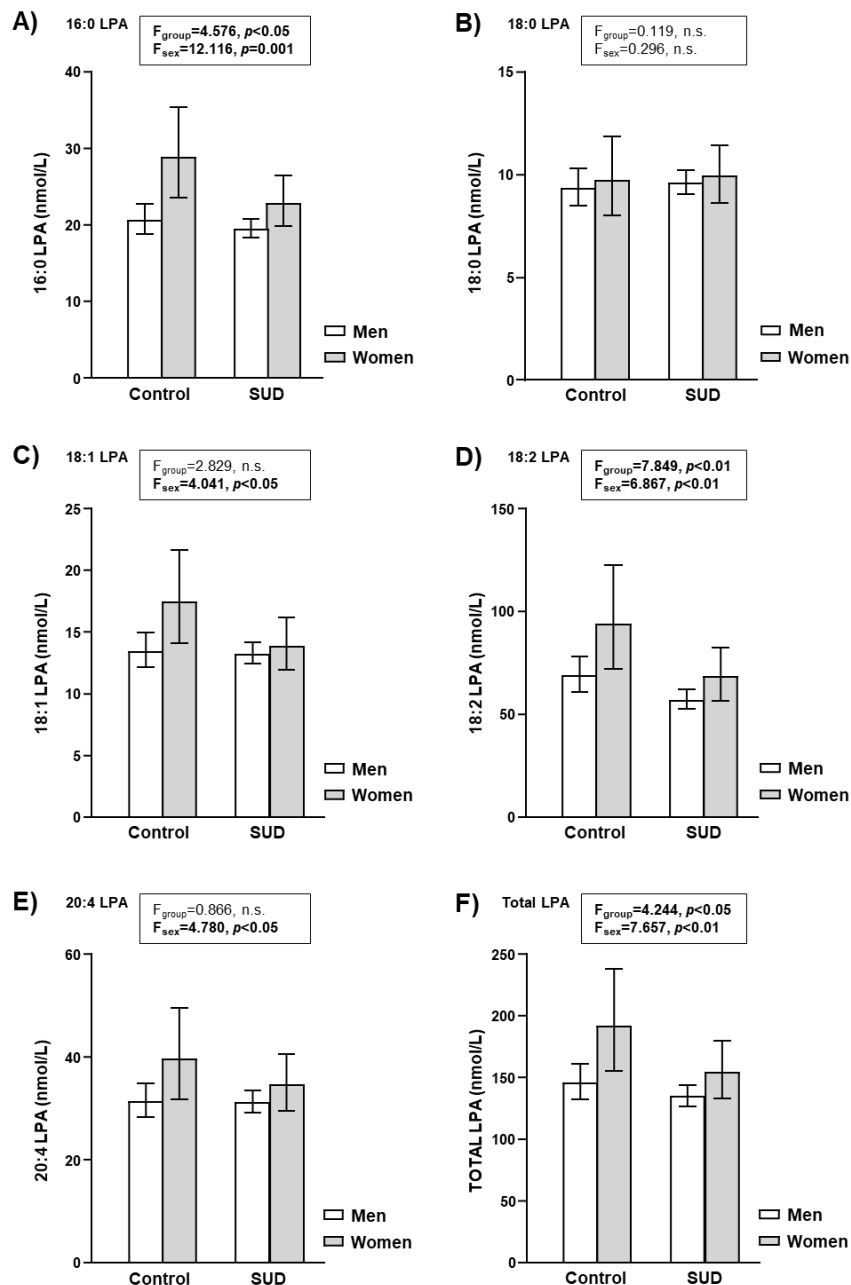
Although the LPA system has been linked to AUD, the potential role of this system as a biomarker for other SUD is unknown. Therefore, the main objective of this second experimental block was to investigate whether the most abundant LPA species in plasma (16:0-LPA, 18:0-LPA, 18:1-LPA, 18:2-LPA, and 20:4-LPA) could be altered by the presence of a SUD. Additionally, as mentioned earlier, given that plasma concentrations of LPA are influenced by biological sex, we also aimed to explore differences in LPA species between men and women with SUD.

This exploratory study involved 214 abstinent patients with SUD and 91 healthy controls. The SUD group was divided based on the diagnosis of AUD and/or cocaine use disorder (CUD), as these were the two most sought-after types of assistance in the provincial addiction centers where recruitment took place. Participants were evaluated, and plasma samples were collected to determine LPA species and total LPA. In this case, plasma determinations were made using LC-MS/MS.

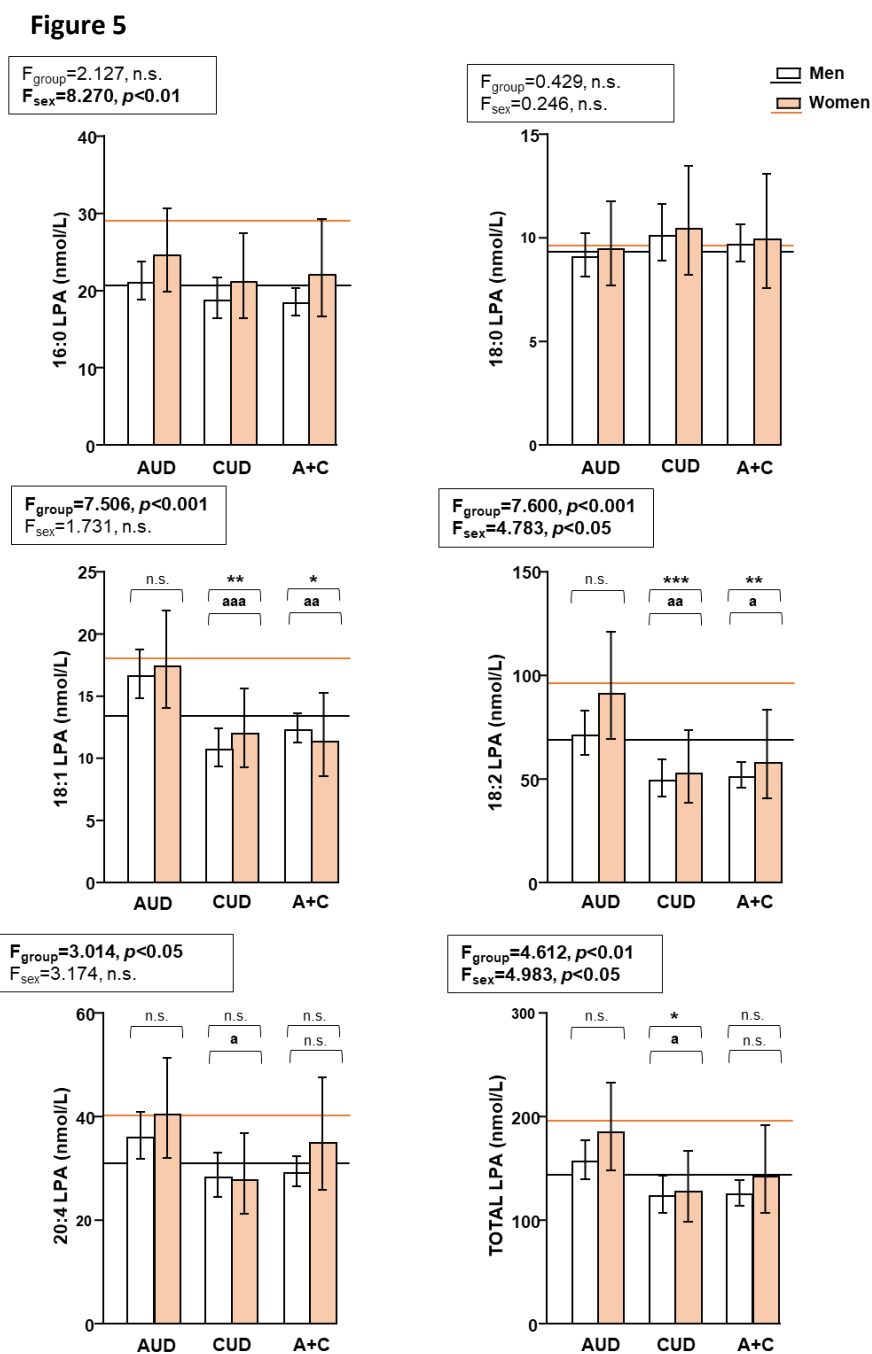
Among the main **results** of this second experimental block are:

- a) Total LPA concentrations and most of the analyzed LPA species were significantly affected by sex. Specifically, women showed significantly higher concentrations in the species 16:0-LPA, 18:1-LPA, 18:2-LPA, 20:4-LPA, and total LPA, compared to men (see **Figure 4 A-F**).
- b) Concentrations of 16:0-LPA, 18:2-LPA, and total LPA were significantly lower in the group of patients with SUD compared to the healthy control group (see **Figure 4 A-F**).

Figure 4



- c) When the group of patients with SUD was subdivided based on the diagnostic criteria of AUD, CUD, or comorbidity of both (AUD and CUD), patients consuming cocaine, with or without comorbid AUD, showed lower concentrations of the species 18:1-LPA, 18:2-LPA, 20:4-LPA, and total LPA than healthy control participants or patients with only AUD (see **Figure 5**).



- d) Regarding sex, when the analyses were performed considering the subgroups, differences in some of the LPA species between men and women persist. LPA

concentrations, regardless of the subgroup, were significantly higher in women than in men for the species 16:0-LPA, 18:2-LPA, and total LPA (see **Figure 5**).

In general, these results indicate that variations in the plasma concentrations of different species of LPA in patients with SUD are associated with the type of substance consumed (alcohol and/or cocaine). However, as this is an exploratory study, we still do not know the causes of this association. One possible explanation for these differences could be that the consumption of cocaine and/or alcohol might be affecting the concentration of fatty acids and, therefore, the production of lipid mediators derived from these fatty acids.

Alongside this potential effect of alcohol and cocaine history on plasma LPA species, a more pronounced decrease in circulating concentrations of LPA species was observed in patients with CUD or with both AUD and CUD compared to those with only AUD. However, although the reason why pathological cocaine use, alone or alongside alcohol, has a greater effect on plasma LPA concentrations is unknown, numerous preclinical studies have described that cocaine consumption impacts the LPA/LPA₁ pathway (Blanco et al., 2012; Ladrón de Guevara-Miranda et al., 2019; Orio et al., 2013). Therefore, exploring LPA concentrations in plasma could be a good indicator of pathological stimulant use such as cocaine in patients diagnosed with various SUD.

On a similar note, in agreement with other clinically published studies, the present results also demonstrate differences in plasma concentrations of LPA between men and women, regardless of the study group they belonged to.

In conclusion, our data suggest that LPA species could be potential biomarkers for SUD in both women and men, contributing to a better stratification of these patients in treatment programs.

Third experimental block (O8, O9 y O10): “*Plasma concentrations of lysophosphatidic acid and the expression of its receptors in peripheral blood mononuclear cells are altered in patients with cocaine use disorders*”. *Translational Psychiatry*, **2023**, 13:215

Problematic cocaine use is becoming one of the main issues in outpatient treatment centers in Spain. In addition to the increase in the consumption of this substance, CUD often coexists with other psychopathologies and medical problems that complicate its diagnosis and intervention.

As presented in the second experimental block and in previous studies (Blanco et al., 2012; Flores-López et al., 2022), the LPA system is altered in various SUD. Furthermore, the results of the second experimental block showed a significant role of cocaine consumption in plasma LPA concentrations and the existence of possible sexual dimorphism in this pathway, suggesting that this lipid system could be a potential therapeutic target.

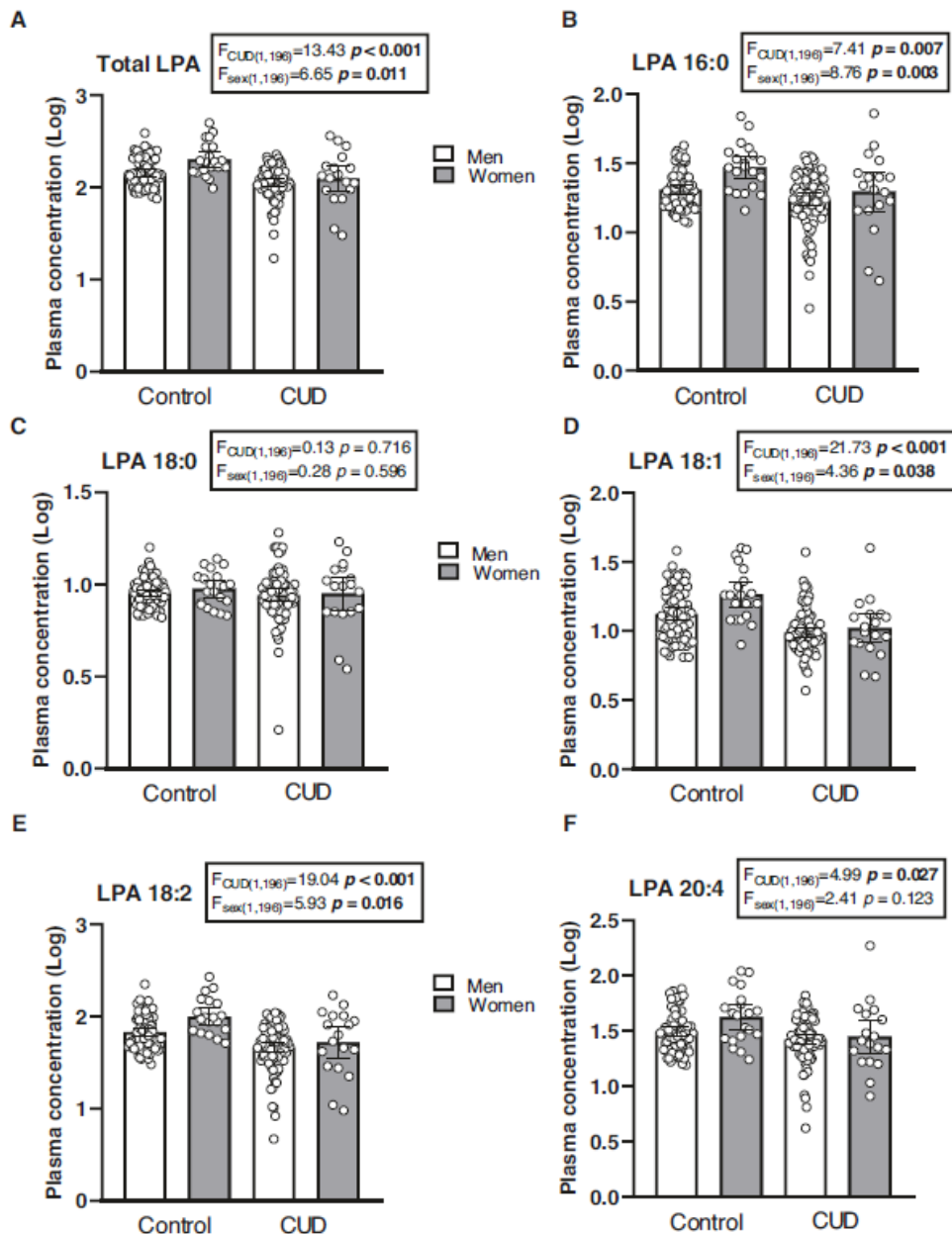
To explore further the role of the LPA signaling system as a biomarker in CUD, an investigation was conducted, consisting of an exploratory clinical study in patients with CUD and a study in animal models of cocaine exposure. For the clinical study, a total of 197 voluntary participants were involved, including 105 patients diagnosed with CUD and 92 healthy controls. Participants were evaluated, and blood samples were collected to determine plasma concentrations of total LPA and various LPA species (16:0-LPA, 18:0-LPA, 18:1-LPA, 18:2-LPA, and 20:4-LPA) using LC-MS/MS. Additionally, the gene expression of LPA₁ and LPA₂ receptors in peripheral blood mononuclear cells was determined using RT-qPCR.

On the other hand, a preclinical study was conducted in male and female Wistar rats to investigate the impact of different doses of cocaine and various withdrawal times on plasma concentrations of LPA total, determined using ELISA kits.

Among the main **results** of this third experimental block, we find:

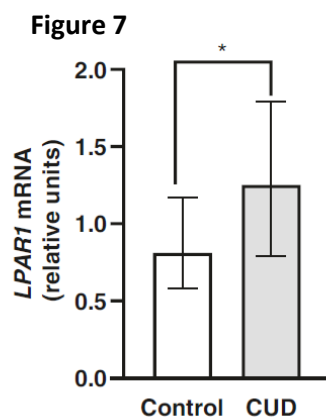
a) Patients with CUD showed significantly lower plasma concentrations in the species 16:0-LPA, 18:1-LPA, 18:2-LPA, 20:4-LPA, and total LPA compared to healthy controls (see **Figure 6 A-F**).

Figure 6



b) Regarding the influence of sex, a significant impact of this variable on plasma concentrations of 16:0-LPA, 18:1-LPA, and 18:2-LPA, and total LPA was observed. Specifically, these LPA species and total LPA were significantly higher in women compared to men (see **Figure 6 A-F**).

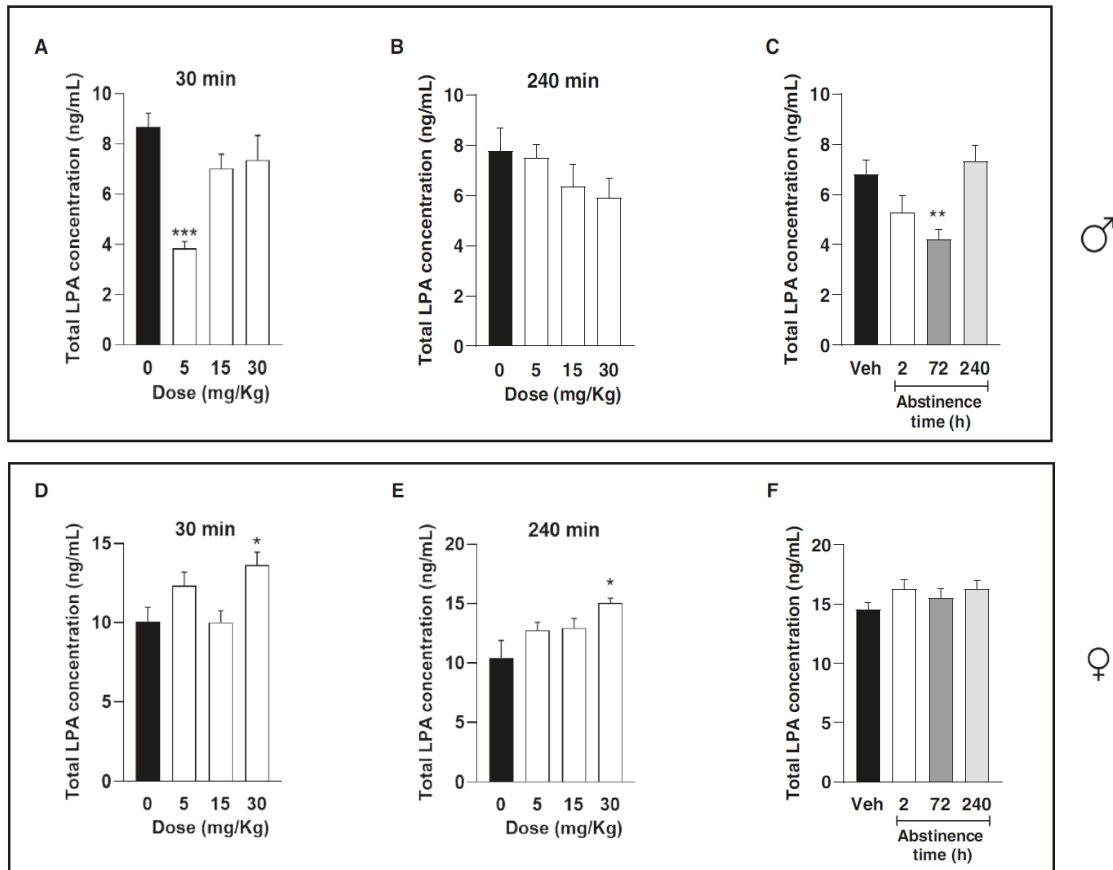
c) Regarding the analysis of mRNA expression of LPA receptors in peripheral blood mononuclear cells, a significant increase in the mRNA expression of the LPA₁ receptor was observed in patients with CUD compared to healthy controls (see **Figure 7**).



d) When correlation analyses were conducted to determine associations between different LPA species and addiction-related variables, a positive association was found between the plasma concentration of 20:4-LPA and the age of onset of cocaine use ($r = +0.283$; $p = 0.003$) and the duration of cocaine abstinence ($r = +0.277$; $p = 0.004$).

e) Finally, the study in animal models confirmed the existence of sexual dimorphism in plasma LPA concentrations, as well as alterations associated with cocaine consumption. Specifically, female rats had higher total LPA concentrations compared to male rats, regardless of the experimental group to which they belonged (i.e., vehicle or cocaine). Additionally, this study revealed that plasma LPA concentrations were altered after acute or repeated cocaine administration based on the dose or withdrawal time, indicating the presence of sexual dimorphism in these effects (see **Figure 8 A-F**).

Figure 8



In line with the second experimental block, these results demonstrate that LPA signaling system is affected by CUD and biological sex. Furthermore, species such as 20:4-LPA show a positive correlation with variables related to the onset and development of CUD. One possible explanation for this association (lower concentration of 20:4-LPA is associated with an earlier onset age) could be that, since arachidonic acid plays a role in basic neuronal processes (Yehuda et al., 1999), a decrease in its concentration might be linked to a higher susceptibility to developing some form of psychiatric disorder. In this regard, early onset of cocaine use is associated with greater severity in CUD and a higher prevalence of psychiatric comorbidity (Buydens-Branchey et al., 2003). In addition to the association with the age of onset of use, a positive and significant association was also observed between the 20:4-LPA species and abstinence time. Although the meaning of this association is not well understood, a previous study has described a correlation between anandamide (AEA) (another lipid mediator derived from arachidonic acid 20:4)

and abstinence time in patients with AUD (Garcia-Marchena et al., 2017), suggesting that maintaining prolonged abstinence may be reflected in the restoration of concentrations of the studied lipids, thus showing improvement in functions modulated by them, such as neural plasticity and synaptogenesis, among others.

Similar to the data in clinical studies, the results obtained in Wistar rats showed sex dimorphism in plasma LPA concentrations. While current clinical results and other previous studies have reported sex differences in plasma LPA concentrations (Flores-López et al., 2022; García Marchena et al., 2020; Hosogaya et al., 2008; Michalczyk et al., 2017), we believe this study is the first to evaluate sexual dimorphism in LPA in animal models. Additionally, after cocaine treatment in rats, we found significant changes based on sex, cocaine dose, and duration of abstinence. Previous preclinical studies have described differences in the response to cocaine in rats of both sexes, and these differences could be associated with the influence of sex hormones, as well as differences in the brains of male and female rats.

In summary, these results support the importance of evaluating alterations in this lipid signaling system, considering sex, to explore the future role of LPA as a reliable and valid biomarker to improve the stratification of men and women seeking treatment for CUD. In addition to these clinical findings, preclinical data has also shown alterations in total LPA in plasma after acute and repeated exposure to cocaine, and these alterations were related to sexual dimorphism.

Limitations and future lines of research

After describing and discussing the main results of this Doctoral Thesis, it is important to highlight some inherent limitations in the three studies that constitute this work. Future research in this field will be required to address these limitations.

Among the main limitations common to the three experimental blocks, the following can be enumerated:

- a) The number of female participants in the clinical studies was much lower than that of males. However, this is a realistic reflection of what occurs in outpatient treatment programs for SUD. Future studies with a larger number of women would be necessary to confirm the observed sex differences in the presented studies.
- b) Patient recruitment was carried out in outpatient addiction treatment programs. The inclusion of outpatient patients involves the existence of numerous unknown variables, such as diet habits, level of physical activity, non-psychotropic medication, etc., which can greatly influence the validity of the obtained results. Therefore, expanding these studies to hospitalized patients with SUD would allow control of these possible variables that have not been controlled so far.
- c) The presented results were obtained from patients diagnosed with SUD in a period of abstinence. It would be recommended to incorporate additional experimental groups that include individuals with active alcohol and/or cocaine consumption to characterize the LPA system in the presence of these drugs of abuse or their metabolites.
- d) These studies have examined the most abundant LPA species in human blood and its main synthesis enzyme. However, LPA metabolism involves a dynamic balance of numerous enzymes and metabolites that need to be examined and characterized to establish the regulation mechanism of the LPA system in patients with SUD and healthy controls. Additionally, it would be necessary to characterize other LPA species that have not been measured (e.g., 18:2-LPA) and whose activities could be relevant in the context of addictions and their comorbidities

- e) Finally, it is important to consider that all these findings arise from exploratory and cross-sectional studies. It would be interesting to conduct longitudinal studies to follow up on patients and explore the effect of different variables associated with SUD, such as the duration of the abstinence period, on the expression of components of the LPA system. Moreover, these additional studies could help uncover the causality of the described alterations.

CONCLUSIONS

I. The plasma concentrations of lysophosphatidic acid are lower in abstinent patients with alcohol use disorder compared to healthy control subjects.

II. The plasma concentrations of autotaxin, the principal enzyme for lysophosphatidic acid synthesis, are increased in abstinent patients with alcohol use disorder compared to healthy controls. This increase in autotaxin expression is even greater in the presence of comorbid liver disease.

III. The plasma concentrations of lysophosphatidic acid and autotaxin correlate with variables related to the onset and development of addiction, such as the duration of abstinence and severity criteria of alcohol use disorder in abstinent patients without hepatic comorbidity. This has allowed the development of predictive models that could assist in stratifying patients with alcohol use disorder based on the presence or absence of comorbid liver diseases.

IV. The total plasma concentrations of lysophosphatidic acid and some of its species are lower in abstinent patients with substance use disorder compared to healthy control subjects.

V. Alterations in total lysophosphatidic acid concentrations and its different species depend on the type of substance consumed. Firstly, abstinent patients diagnosed with cocaine use disorder, either alone or in combination with alcohol use disorder, exhibit relatively lower lysophosphatidic acid concentrations compared to those with a diagnosis of alcohol use disorder. Secondly, lysophosphatidic acid species also appear differentially altered depending on the type of substance use disorder diagnosed in different patient groups.

VI. In abstinent patients with cocaine use disorder, there is a positive correlation between the plasma concentrations of lysophosphatidic acid 20:4 and both the age of onset of cocaine consumption and the duration of the abstinence period.

VII. The relative mRNA concentrations of LPA₁ receptors in peripheral blood mononuclear cells from abstinent patients with cocaine use disorder are increased compared to healthy control subjects. These gene expression alterations support the involvement of the lysophosphatidic acid system in cocaine use disorder.

VIII. Etiopathological characteristics of substance use disorder differ between men and women; therefore, therapeutic approaches should be different based on biological sex. However, women with substance use disorders tend to attend outpatient treatment programs less frequently, exhibit higher psychiatric comorbidity, and use more psychiatric medication.

IX. There is sexual dimorphism in the expression of the lysophosphatidic acid system, and this dimorphism is independent of the substance use disorder being experienced. Thus, women exhibit higher concentrations of total lysophosphatidic acid and its species compared to men. Moreover, these changes are not associated with variables related to the onset and development of addiction, such as the duration of abstinence, severity criteria, or psychiatric comorbidity, among others.

X. Finally, studies conducted in both male and female Wistar rats also demonstrate cocaine-induced alterations in plasma concentrations of lysophosphatidic acid. These alterations depend on factors such as the dose of administered cocaine, treatment duration, abstinence time, and the sex of the animal.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



Referencias bibliográficas

- Acuña, J. P., Álvarez, J. P., & Cánepa, P. (2017). SANANDO AL SANADOR. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 28(5), 756-769. <https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2017.08.009>
- Airagnes, G., Ducoutumany, G., Laffy-Beaufils, B., Le Faou, A.-L., & Limosin, F. (2019). Alcohol withdrawal syndrome management: Is there anything new? *La Revue De Medecine Interne*, 40(6), 373-379. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2019.02.001>
- Ait-Daoud, N., Blevins, D., Khanna, S., Sharma, S., Holstege, C. P., & Amin, P. (2019). Women and Addiction: An Update. *The Medical Clinics of North America*, 103(4), 699-711. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2019.03.002>
- Algallal, H., Allain, F., Ndiaye, N. A., & Samaha, A.-N. (2020). Sex differences in cocaine self-administration behaviour under long access versus intermittent access conditions. *Addiction Biology*, 25(5), e12809. <https://doi.org/10.1111/adb.12809>
- Andersson, C., & Vasan, R. S. (2018). Epidemiology of cardiovascular disease in young individuals. *Nature Reviews. Cardiology*, 15(4), 230-240. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2017.154>
- Andrews, G., & Peters, L. (1998). The psychometric properties of the Composite International Diagnostic Interview. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 33(2), 80-88. <https://doi.org/10.1007/s001270050026>
- Antai-Otong, D., Theis, K., & Patrick, D. D. (2016). Dual Diagnosis: Coexisting Substance Use Disorders and Psychiatric Disorders. *The Nursing Clinics of North America*, 51(2), 237-247. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2016.01.007>
- Aoki, J. (2004). Mechanisms of lysophosphatidic acid production. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 15(5), 477-489. <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2004.05.001>
- Aoki, J., Inoue, A., & Okudaira, S. (2008). Two pathways for lysophosphatidic acid production. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1781(9), 513-518. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2008.06.005>
- APA, 2000. (s. f.). *DSM-IV-TR: Diagnostic and statistical manual of mental disorders, text revision*. (Washington, DC: American Psychiatric Association).
- APA, 2014. (s. f.). *DSM-5: Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales*.

Referencias bibliográficas

- Baker, D. L., Umstot, E. S., Desiderio, D. M., & Tigyi, G. J. (2000). Quantitative analysis of lysophosphatidic acid in human blood fractions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 905, 267-269. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06557.x>
- Bandoh, K., Aoki, J., Taira, A., Tsujimoto, M., Arai, H., & Inoue, K. (2000). Lysophosphatidic acid (LPA) receptors of the EDG family are differentially activated by LPA species. Structure-activity relationship of cloned LPA receptors. *FEBS Letters*, 478(1-2), 159-165. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(00\)01827-5](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(00)01827-5)
- Becker, J. B. (2016). Sex differences in addiction. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 18(4), 395-402. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2016.18.4/jbecker>
- Becker, J. B., & Koob, G. F. (2016). Sex Differences in Animal Models: Focus on Addiction. *Pharmacological Reviews*, 68(2), 242-263. <https://doi.org/10.1124/pr.115.011163>
- Bellentani, S., Saccoccio, G., Costa, G., Tiribelli, C., Manenti, F., Sodde, M., Saveria Crocè, L., Sasso, F., Pozzato, G., Cristianini, G., & Brandi, G. (1997). Drinking habits as cofactors of risk for alcohol induced liver damage. The Dionysos Study Group. *Gut*, 41(6), 845-850. <https://doi.org/10.1136/gut.41.6.845>
- Birgbauer, E. (2021). Lysophosphatidic Acid Signalling in Nervous System Development and Function. *Neuromolecular Medicine*, 23(1), 68-85. <https://doi.org/10.1007/s12017-020-08630-2>
- Blanco, E., Bilbao, A., Luque-Rojas, M. J., Palomino, A., Bermúdez-Silva, F. J., Suárez, J., Santín, L. J., Estivill-Torrús, G., Gutiérrez, A., Campos-Sandoval, J. A., Alonso-Carrión, F. J., Márquez, J., & de Fonseca, F. R. (2012). Attenuation of cocaine-induced conditioned locomotion is associated with altered expression of hippocampal glutamate receptors in mice lacking LPA1 receptors. *Psychopharmacology*, 220(1), 27-42. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2446-6>
- Brodersen, C., Koen, E., Ponte, A., Sánchez, S., Segal, E., Chiapella, A., Fernández, M., Torres, M., Tripodi, V., & Lemberg, A. (2014). Cognitive function in patients with alcoholic and nonalcoholic chronic liver disease. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 26(3), 241-248. <https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.12040091>

- Buydens-Branchey, L., Branchey, M., McMakin, D. L., & Hibbeln, J. R. (2003). Polyunsaturated fatty acid status and relapse vulnerability in cocaine addicts. *Psychiatry Research*, *120*(1), 29-35. [https://doi.org/10.1016/s0165-1781\(03\)00168-9](https://doi.org/10.1016/s0165-1781(03)00168-9)
- Califf, R. M. (2018). Biomarker definitions and their applications. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, *243*(3), 213-221. <https://doi.org/10.1177/1535370217750088>
- Calipari, E. S., Juárez, B., Morel, C., Walker, D. M., Cahill, M. E., Ribeiro, E., Roman-Ortiz, C., Ramakrishnan, C., Deisseroth, K., Han, M.-H., & Nestler, E. J. (2017). Dopaminergic dynamics underlying sex-specific cocaine reward. *Nature Communications*, *8*, 13877. <https://doi.org/10.1038/ncomms13877>
- Carvalho, A. F., Heilig, M., Perez, A., Probst, C., & Rehm, J. (2019). Alcohol use disorders. *Lancet (London, England)*, *394*(10200), 781-792. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)31775-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)31775-1)
- Castilla-Ortega, E., Escuredo, L., Bilbao, A., Pedraza, C., Orio, L., Estivill-Torrús, G., Santín, L. J., de Fonseca, F. R., & Pavón, F. J. (2014). 1-Oleoyl lysophosphatidic acid: A new mediator of emotional behavior in rats. *PloS One*, *9*(1), e85348. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085348>
- Castilla-Ortega, E., Hoyo-Becerra, C., Pedraza, C., Chun, J., Rodríguez De Fonseca, F., Estivill-Torrús, G., & Santín, L. J. (2011). Aggravation of chronic stress effects on hippocampal neurogenesis and spatial memory in LPA₁ receptor knockout mice. *PloS One*, *6*(9), e25522. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025522>
- Castilla-Ortega, E., Pavón, F. J., Sánchez-Marín, L., Estivill-Torrús, G., Pedraza, C., Blanco, E., Suárez, J., Santín, L., Rodríguez de Fonseca, F., & Serrano, A. (2016). Both genetic deletion and pharmacological blockade of lysophosphatidic acid LPA₁ receptor results in increased alcohol consumption. *Neuropharmacology*, *103*, 92-103. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.12.010>
- Castilla-Ortega, E., Rosell-Valle, C., Blanco, E., Pedraza, C., Chun, J., Rodríguez de Fonseca, F., Estivill-Torrús, G., & Santín, L. J. (2013). Reduced wheel running and blunted effects of voluntary exercise in LPA₁-null mice: The importance of assessing the amount of

- running in transgenic mice studies. *Neuroscience Research*, 77(3), 170-179.
<https://doi.org/10.1016/j.neures.2013.09.004>
- Castilla-Ortega, E., Sánchez-López, J., Hoyo-Becerra, C., Matas-Rico, E., Zambrana-Infantes, E., Chun, J., De Fonseca, F. R., Pedraza, C., Estivill-Torrús, G., & Santin, L. J. (2010). Exploratory, anxiety and spatial memory impairments are dissociated in mice lacking the LPA1 receptor. *Neurobiology of Learning and Memory*, 94(1), 73-82.
<https://doi.org/10.1016/j.nlm.2010.04.003>
- Castillo-Carniglia, A., Keyes, K. M., Hasin, D. S., & Cerdá, M. (2019). Psychiatric comorbidities in alcohol use disorder. *The Lancet. Psychiatry*, 6(12), 1068-1080.
[https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(19\)30222-6](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(19)30222-6)
- Ceccarini, J., Hompes, T., Verhaeghen, A., Casteels, C., Peuskens, H., Bormans, G., Claes, S., & Van Laere, K. (2014). Changes in cerebral CB1 receptor availability after acute and chronic alcohol abuse and monitored abstinence. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 34(8), 2822-2831.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0849-13.2014>
- Choi, J. W., Herr, D. R., Noguchi, K., Yung, Y. C., Lee, C.-W., Mutoh, T., Lin, M.-E., Teo, S. T., Park, K. E., Mosley, A. N., & Chun, J. (2010). LPA receptors: Subtypes and biological actions. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 50, 157-186.
<https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.010909.105753>
- Conner, K. R., Bagge, C. L., Goldston, D. B., & Ilgen, M. A. (2014). Alcohol and suicidal behavior: What is known and what can be done. *American Journal of Preventive Medicine*, 47(3 Suppl 2), S204-208. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2014.06.007>
- Contos, J. J., Fukushima, N., Weiner, J. A., Kaushal, D., & Chun, J. (2000). Requirement for the lpA1 lysophosphatidic acid receptor gene in normal suckling behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(24), 13384-13389.
<https://doi.org/10.1073/pnas.97.24.13384>

Referencias bibliográficas

- Dash, P. K., Orsi, S. A., Moody, M., & Moore, A. N. (2004). A role for hippocampal Rho-ROCK pathway in long-term spatial memory. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 322(3), 893-898. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.08.004>
- Day, E., & Rudd, J. H. F. (2019). Alcohol use disorders and the heart. *Addiction (Abingdon, England)*, 114(9), 1670-1678. <https://doi.org/10.1111/add.14703>
- Desfossés, J., Stip, E., Bentaleb, L. A., Lipp, O., Chiasson, J.-P., Furtos, A., Venne, K., Kouassi, E., & Potvin, S. (2012). Plasma Endocannabinoid Alterations in Individuals with Substance Use Disorder are Dependent on the «Mirror Effect» of Schizophrenia. *Frontiers in Psychiatry*, 3, 85. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2012.00085>
- Devane, W. A., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R. G., Stevenson, L. A., Griffin, G., Gibson, D., Mandelbaum, A., Etinger, A., & Mechoulam, R. (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science (New York, N.Y.)*, 258(5090), 1946-1949. <https://doi.org/10.1126/science.1470919>
- Di Chiara, G., & Imperato, A. (1988). Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(14), 5274-5278. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.14.5274>
- Dickey, B., Normand, S.-L. T., Weiss, R. D., Drake, R. E., & Azeni, H. (2002). Medical Morbidity, Mental Illness, and Substance Use Disorders. *Psychiatric Services*, 53(7), 861-867. <https://doi.org/10.1176/appi.ps.53.7.861>
- Dufloy, J. (2020). Psychostimulant use disorder and the heart. *Addiction (Abingdon, England)*, 115(1), 175-183. <https://doi.org/10.1111/add.14713>
- EDADES, 2022. (s. f.). *Encuesta sobre alcohol y otras drogas en España. EDADES (1995-2022)*.
- Edwin, D., Flynn, L., Klein, A., & Thuluvath, P. J. (1999). Cognitive impairment in alcoholic and nonalcoholic cirrhotic patients. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 30(6), 1363-1367. <https://doi.org/10.1002/hep.510300605>

Referencias bibliográficas

- EMCDDA, 2022. (s. f.). *Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías (2022), Informe Europeo sobre Drogas 2022: Tendencias y novedades, Oficina de Publicaciones de la Unión Europea, Luxemburgo.*
- EMCDDA, 2023. (s. f.). *European Drug Report 2023: Trends and Developments*, https://www.emcdda.europa.eu/publications/european-drug-report/2023_en.
- Estivill-Torrús, G., Llebreg-Zayas, P., Matas-Rico, E., Santín, L., Pedraza, C., De Diego, I., Del Arco, I., Fernández-Llebreg, P., Chun, J., & De Fonseca, F. R. (2008). Absence of LPA1 signaling results in defective cortical development. *Cerebral Cortex (New York, N.Y.: 1991)*, 18(4), 938-950. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhm132>
- ESTUDES, 2022. (s. f.). *Encuesta sobre uso de drogas en Enseñanzas Secundarias en España (ESTUDES), 1994-2021.*
- Fernández-Montalvo, J., & Lorea, I. (2007). [Comorbidity between cocaine addiction and personality disorders]. *Anales Del Sistema Sanitario De Navarra*, 30(2), 225-231. <https://doi.org/10.23938/ASSN.0218>
- Flanagan, J. C., Jones, J. L., Jarnecke, A. M., & Back, S. E. (2018). Behavioral Treatments for Alcohol Use Disorder and Post-Traumatic Stress Disorder. *Alcohol Research: Current Reviews*, 39(2), 181-192.
- Fond, G., El-Maamar, M., Korchia, T., Richieri, R., Lacoste, J., Boyer, L., & Lancon, C. (2022). ADHD and addictive behavior in crack-cocaine users. *L'Encephale*, S0013-7006(22)00047-1. <https://doi.org/10.1016/j.encep.2022.01.008>
- Ford, J. D., Gelernter, J., DeVoe, J. S., Zhang, W., Weiss, R. D., Brady, K., Farrer, L., & Kranzler, H. R. (2009). Association of psychiatric and substance use disorder comorbidity with cocaine dependence severity and treatment utilization in cocaine-dependent individuals. *Drug and Alcohol Dependence*, 99(1-3), 193-203. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2008.07.004>
- Fukushima, N., Ye, X., & Chun, J. (2002). Neurobiology of lysophosphatidic acid signaling. *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing Neurobiology, Neurology and Psychiatry*, 8(6), 540-550. <https://doi.org/10.1177/1073858402238513>

Referencias bibliográficas

- Galanter, M., Keller, D. S., Dermatis, H., & Egelko, S. (2000). The impact of managed care on substance abuse treatment: A report of the American Society of Addiction Medicine. *Journal of Addictive Diseases, 19*(3), 13-34. https://doi.org/10.1300/J069v19n03_02
- García Marchena, N., Araos, P., Pavón, F. J., Ponce, G., Pedraz, M., Serrano, A., Arias, F., Romero-Sanchiz, P., Suárez, J., Pastor, A., De la Torre, R., Torrens, M., Rubio, G., & Rodríguez de Fonseca, F. (2016). Psychiatric comorbidity and plasma levels of 2-acylglycerols in outpatient treatment alcohol users. Analysis of gender differences. *Adicciones, 29*(2), 83-96. <https://doi.org/10.20882/adicciones.728>
- García-Díaz, B., Riquelme, R., Varela-Nieto, I., Jiménez, A. J., de Diego, I., Gómez-Conde, A. I., Matas-Rico, E., Aguirre, J. Á., Chun, J., Pedraza, C., Santín, L. J., Fernández, O., Rodríguez de Fonseca, F., & Estivill-Torrús, G. (2015). Loss of lysophosphatidic acid receptor LPA1 alters oligodendrocyte differentiation and myelination in the mouse cerebral cortex. *Brain Structure & Function, 220*(6), 3701-3720. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0885-7>
- García-Marchena, N., Pavon, F. J., Pastor, A., Araos, P., Pedraz, M., Romero-Sanchiz, P., Calado, M., Suarez, J., Castilla-Ortega, E., Orio, L., Boronat, A., Torrens, M., Rubio, G., de la Torre, R., Rodriguez de Fonseca, F., & Serrano, A. (2017). Plasma concentrations of oleoylethanolamide and other acylethanolamides are altered in alcohol-dependent patients: Effect of length of abstinence. *Addiction Biology, 22*(5), 1366-1377. <https://doi.org/10.1111/adb.12408>
- García-Marchena, N., Pizarro, N., Pavón, F. J., Martínez-Huélamo, M., Flores-López, M., Requena-Ocaña, N., Araos, P., Silva-Peña, D., Suárez, J., Santín, L. J., de la Torre, R., Rodríguez de Fonseca, F., & Serrano, A. (2020). Potential association of plasma lysophosphatidic acid (LPA) species with cognitive impairment in abstinent alcohol use disorders outpatients. *Scientific Reports, 10*(1), 17163. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74155-0>

- Gianoulakis, C. (2009). Endogenous opioids and addiction to alcohol and other drugs of abuse. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 9(11), 999-1015. <https://doi.org/10.2174/156802609789630956>
- Girczys-Poledniok, K., Pudlo, R., Jarzab, M., & Szymlak, A. (2016). [Cocaine—Characteristics and addiction]. *Medycyna Pracy*, 67(4), 537-544. <https://doi.org/10.13075/mp.5893.00291>
- Goldshmit, Y., Munro, K., Leong, S. Y., Pébay, A., & Turnley, A. M. (2010). LPA receptor expression in the central nervous system in health and following injury. *Cell and Tissue Research*, 341(1), 23-32. <https://doi.org/10.1007/s00441-010-0977-5>
- González de San Román, E., Manuel, I., Ledent, C., Chun, J., Rodríguez de Fonseca, F., Estivill-Torrús, G., Santín, L. J., & Rodríguez Puertas, R. (2019). CB1 and LPA1 Receptors Relationship in the Mouse Central Nervous System. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 12. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnmol.2019.00223>
- González, E., Arias, F., Szerman, N., Vega, P., Mesias, B., & Basurte, I. (2019). Coexistence between personality disorders and substance use disorder. Madrid study about prevalence of dual pathology. *Actas Espanolas De Psiquiatria*, 47(6), 218-228.
- González-Gil, I., Zian, D., Vázquez-Villa, H., Hernández-Torres, G., Martínez, R. F., Khiar-Fernández, N., Rivera, R., Kihara, Y., Devesa, I., Mathivanan, S., Del Valle, C. R., Zambrana-Infantes, E., Puigdomenech, M., Cincilla, G., Sanchez-Martinez, M., Rodríguez de Fonseca, F., Ferrer-Montiel, A. V., Chun, J., López-Vales, R., ... Ortega-Gutiérrez, S. (2020). A Novel Agonist of the Type 1 Lysophosphatidic Acid Receptor (LPA1), UCM-05194, Shows Efficacy in Neuropathic Pain Amelioration. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(5), 2372-2390. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b01287>
- González-Gil, I., Zian, D., Vázquez-Villa, H., Ortega-Gutiérrez, S., & L. López-Rodríguez, M. (2015). The status of the lysophosphatidic acid receptor type 1 (LPA 1 R). *MedChemComm*, 6(1), 13-23. <https://doi.org/10.1039/C4MD00333K>

Referencias bibliográficas

- Guinle, M. I. B., & Sinha, R. (2020). The Role of Stress, Trauma, and Negative Affect in Alcohol Misuse and Alcohol Use Disorder in Women. *Alcohol Research : Current Reviews*, 40(2), 05. <https://doi.org/10.35946/arcr.v40.2.05>
- Haber, P. S., & Kortt, N. C. (2021). Alcohol use disorder and the gut. *Addiction (Abingdon, England)*, 116(3), 658-667. <https://doi.org/10.1111/add.15147>
- Hammoud, N., & Jimenez-Shahed, J. (2019). Chronic Neurologic Effects of Alcohol. *Clinics in Liver Disease*, 23(1), 141-155. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2018.09.010>
- Hanna, E. Z., & Grant, B. F. (1997). Gender differences in DSM-IV alcohol use disorders and major depression as distributed in the general population: Clinical implications. *Comprehensive Psychiatry*, 38(4), 202-212. [https://doi.org/10.1016/s0010-440x\(97\)90028-6](https://doi.org/10.1016/s0010-440x(97)90028-6)
- Hasin, D. S., Trautman, K. D., Miele, G. M., Samet, S., Smith, M., & Endicott, J. (1996). Psychiatric Research Interview for Substance and Mental Disorders (PRISM): Reliability for substance abusers. *The American Journal of Psychiatry*, 153(9), 1195-1201. <https://doi.org/10.1176/ajp.153.9.1195>
- Hernández-Araiza, I., Morales-Lázaro, S. L., Canul-Sánchez, J. A., Islas, L. D., & Rosenbaum, T. (2018). Role of lysophosphatidic acid in ion channel function and disease. *Journal of Neurophysiology*, 120(3), 1198-1211. <https://doi.org/10.1152/jn.00226.2018>
- Hirsch, D., & Zukowska, Z. (2012). NPY and stress 30 years later: The peripheral view. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 32(5), 645-659. <https://doi.org/10.1007/s10571-011-9793-z>
- Hirvonen, J., Zanotti-Fregonara, P., Umhau, J. C., George, D. T., Rallis-Frutos, D., Lyoo, C. H., Li, C.-T., Hines, C. S., Sun, H., Terry, G. E., Morse, C., Zoghbi, S. S., Pike, V. W., Innis, R. B., & Heilig, M. (2013). Reduced cannabinoid CB1 receptor binding in alcohol dependence measured with positron emission tomography. *Molecular Psychiatry*, 18(8), 916-921. <https://doi.org/10.1038/mp.2012.100>
- Honda, Y., Imajo, K., Kobayashi, T., Kessoku, T., Ogawa, Y., Tomeno, W., Yoneda, M., Kobayashi, N., Saito, S., & Nakajima, A. (2019). Autotaxin is a valuable biomarker for

- the prediction of liver fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatology Research: The Official Journal of the Japan Society of Hepatology*, 49(10), 1136-1146. <https://doi.org/10.1111/hepr.13382>
- Hosogaya, S., Yatomi, Y., Nakamura, K., Ohkawa, R., Okubo, S., Yokota, H., Ohta, M., Yamazaki, H., Koike, T., & Ozaki, Y. (2008). Measurement of plasma lysophosphatidic acid concentration in healthy subjects: Strong correlation with lysophospholipase D activity. *Annals of Clinical Biochemistry*, 45(Pt 4), 364-368. <https://doi.org/10.1258/acb.2008.007242>
- Hwang, S.-H., Lee, B.-H., Choi, S.-H., Kim, H.-J., Jung, S.-W., Kim, H.-S., Shin, H.-C., Park, H. J., Park, K. H., Lee, M. K., & Nah, S.-Y. (2015). Gintonin, a novel ginseng-derived lysophosphatidic acid receptor ligand, stimulates neurotransmitter release. *Neuroscience Letters*, 584, 356-361. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.11.007>
- Jung, Y.-C., & Namkoong, K. (2014). Alcohol: Intoxication and poisoning - diagnosis and treatment. *Handbook of Clinical Neurology*, 125, 115-121. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62619-6.00007-0>
- Justinova, Z., Mangieri, R. A., Bortolato, M., Chefer, S. I., Mukhin, A. G., Clapper, J. R., King, A. R., Redhi, G. H., Yasar, S., Piomelli, D., & Goldberg, S. R. (2008). Fatty acid amide hydrolase inhibition heightens anandamide signaling without producing reinforcing effects in primates. *Biological Psychiatry*, 64(11), 930-937. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.08.008>
- Kaffe, E., Magkrioti, C., & Aidinis, V. (2019). Deregulated Lysophosphatidic Acid Metabolism and Signaling in Liver Cancer. *Cancers*, 11(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/cancers11111626>
- Kampman, K. M. (2019). The treatment of cocaine use disorder. *Science Advances*, 5(10), eaax1532. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax1532>
- Karila, L., Zarmadini, R., Petit, A., Lafaye, G., Lowenstein, W., & Reynaud, M. (2014). Addiction à la cocaïne: Données actuelles pour le clinicien. *La Presse Médicale*, 43(1), 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2013.01.069>

Referencias bibliográficas

- Kessler, R. C., Andrews, G., Mroczek, D., Ustun, B., & Wittchen, H.-U. (1998). The World Health Organization Composite International Diagnostic Interview short-form (CIDI-SF). *International Journal of Methods in Psychiatric Research*, 7(4), 171-185. <https://doi.org/10.1002/mpr.47>
- Kim, S. T., & Park, T. (2019). Acute and Chronic Effects of Cocaine on Cardiovascular Health. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), 584. <https://doi.org/10.3390/ijms20030584>
- Koo, J. W., & Wohleb, E. S. (2021). How Stress Shapes Neuroimmune Function: Implications for the Neurobiology of Psychiatric Disorders. *Biological Psychiatry*, 90(2), 74-84. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.11.007>
- Koob, G. F. (2013). Addiction is a Reward Deficit and Stress Surfeit Disorder. *Frontiers in Psychiatry*, 4, 72. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2013.00072>
- Koob, G. F., & Le Moal, M. (2008). Addiction and the brain antireward system. *Annual Review of Psychology*, 59, 29-53. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.59.103006.093548>
- Koob, G. F., & Nestler, E. J. (1997). The neurobiology of drug addiction. *The Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, 9(3), 482-497. <https://doi.org/10.1176/jnp.9.3.482>
- Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2016). Neurobiology of addiction: A neurocircuitry analysis. *The Lancet. Psychiatry*, 3(8), 760-773. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)00104-8](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)00104-8)
- Kozak, K., Lucatch, A. M., Lowe, D. J. E., Balodis, I. M., MacKillop, J., & George, T. P. (2019). The neurobiology of impulsivity and substance use disorders: Implications for treatment. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1451(1), 71-91. <https://doi.org/10.1111/nyas.13977>
- Kress, C. B., & Schlesinger, S. (2023). The Prevalence of Comorbidities and Substance Use Disorder. *The Nursing Clinics of North America*, 58(2), 141-151. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2023.02.007>

- Kulkarni, P., & Getzenberg, R. H. (2009). High-fat diet, obesity and prostate disease: The ATX-LPA axis? *Nature Clinical Practice. Urology*, 6(3), 128-131. <https://doi.org/10.1038/ncpuro1311>
- Ladrón de Guevara-Miranda, D., Moreno-Fernández, R. D., Gil-Rodríguez, S., Rosell-Valle, C., Estivill-Torrús, G., Serrano, A., Pavón, F. J., Rodríguez de Fonseca, F., Santín, L. J., & Castilla-Ortega, E. (2019). Lysophosphatidic acid-induced increase in adult hippocampal neurogenesis facilitates the forgetting of cocaine-contextual memory. *Addiction Biology*, 24(3), 458-470. <https://doi.org/10.1111/adb.12612>
- Lee, J. H., Kim, D., Oh, Y. S., & Jun, H.-S. (2019). Lysophosphatidic Acid Signaling in Diabetic Nephropathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(11), 2850. <https://doi.org/10.3390/ijms20112850>
- Lo, T. W., Yeung, J. W. K., & Tam, C. H. L. (2020). Substance Abuse and Public Health: A Multilevel Perspective and Multiple Responses. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(7), 2610. <https://doi.org/10.3390/ijerph17072610>
- Lüscher, C., Robbins, T. W., & Everitt, B. J. (2020). The transition to compulsion in addiction. *Nature Reviews. Neuroscience*, 21(5), 247-263. <https://doi.org/10.1038/s41583-020-0289-z>
- Manzanares, J., Cabañero, D., Puente, N., García-Gutiérrez, M. S., Grandes, P., & Maldonado, R. (2018). Role of the endocannabinoid system in drug addiction. *Biochemical Pharmacology*, 157, 108-121. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.09.013>
- Marín-Navarrete, R., Benjet, C., Borges, G., Eliosa-Hernández, A., Nanni-Alvarado, R., Ayala-Ledesma, M., Fernández-Mondragón, J., & Medina-Mora, M. E. (2013). Comorbilidad de los trastornos por consumo de sustancias con otros trastornos psiquiátricos en Centros Residenciales de Ayuda-Mutua para la Atención de las Adicciones. *Salud Mental*, 36(6), 471-479.
- Matas-Rico, E., García-Díaz, B., Llebreg-Zayas, P., López-Barroso, D., Santín, L., Pedraza, C., Smith-Fernández, A., Fernández-Llebreg, P., Tellez, T., Redondo, M., Chun, J., De Fonseca, F. R., & Estivill-Torrús, G. (2008). Deletion of lysophosphatidic acid receptor

Referencias bibliográficas

- LPA1 reduces neurogenesis in the mouse dentate gyrus. *Molecular and Cellular Neurosciences*, 39(3), 342-355. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2008.07.014>
- McEwen, B. S., Bowles, N. P., Gray, J. D., Hill, M. N., Hunter, R. G., Karatsoreos, I. N., & Nasca, C. (2015). Mechanisms of stress in the brain. *Nature Neuroscience*, 18(10), 1353-1363. <https://doi.org/10.1038/nn.4086>
- McGrath, J. C., Drummond, G. B., McLachlan, E. M., Kilkenny, C., & Wainwright, C. L. (2010). Guidelines for reporting experiments involving animals: The ARRIVE guidelines. *British Journal of Pharmacology*, 160(7), 1573-1576. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.00873.x>
- McHugh, R. K., & Weiss, R. D. (2019). Alcohol Use Disorder and Depressive Disorders. *Alcohol Research : Current Reviews*, 40(1), arcr.v40.1.01. <https://doi.org/10.35946/arcr.v40.1.01>
- Meduri, B., Pujar, G. V., Durai Ananda Kumar, T., Akshatha, H. S., Sethu, A. K., Singh, M., Kanagarla, A., & Mathew, B. (2021). Lysophosphatidic acid (LPA) receptor modulators: Structural features and recent development. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 222, 113574. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113574>
- Meyer zu Heringdorf, D., & Jakobs, K. H. (2007). Lysophospholipid receptors: Signalling, pharmacology and regulation by lysophospholipid metabolism. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1768(4), 923-940. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2006.09.026>
- Michalczyk, A., Budkowska, M., Dołęgowska, B., Chlubek, D., & Safranow, K. (2017). Lysophosphatidic acid plasma concentrations in healthy subjects: Circadian rhythm and associations with demographic, anthropometric and biochemical parameters. *Lipids in Health and Disease*, 16(1), 140. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0536-0>
- Moisan, M.-P., & Le Moal, M. (2012). [Overview of acute and chronic stress responses]. *Medicine Sciences: M/S*, 28(6-7), 612-617. <https://doi.org/10.1051/medsci/2012286014>
- Moreira, F. A., Jupp, B., Belin, D., & Dalley, J. W. (2015). Endocannabinoids and striatal function: Implications for addiction-related behaviours. *Behavioural Pharmacology*, 26(1-2), 59-72. <https://doi.org/10.1097/FBP.000000000000109>

Referencias bibliográficas

- Moreno-Fernandez, R. D., Tabbai, S., Castilla-Ortega, E., Perez-Martin, M., Estivill-Torrus, G., Rodriguez de Fonseca, F., Santin, L. J., & Pedraza, C. (2018). Stress, Depression, Resilience and Ageing: A Role for the LPA-LPA1 Pathway. *Current Neuropharmacology*, *16*(3), 271-283. <https://doi.org/10.2174/1570159X15666170710200352>
- Morgello, S., Holzer, C. E., Ryan, E., Young, C., Naseer, M., Castellon, S. A., Frol, A. B., Atkinson, J. H., Gelman, B. B., Grant, I., & Singer, E. J. (2006). Interrater reliability of the Psychiatric Research Interview for Substance and Mental Disorders in an HIV-infected cohort: Experience of the National NeuroAIDS Tissue Consortium. *International Journal of Methods in Psychiatric Research*, *15*(3), 131-138. <https://doi.org/10.1002/mpr.189>
- Moscato, B. S., Russell, M., Zielezny, M., Bromet, E., Egri, G., Mudar, P., & Marshall, J. R. (1997). Gender Differences in the Relation between Depressive Symptoms and Alcohol Problems: A Longitudinal Perspective. *American Journal of Epidemiology*, *146*(11), 966-974. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a009224>
- Moussas, G. I., & Papadopoulou, A. G. (2017). Substance abuse and cancer. *Psychiatrike = Psychiatriki*, *28*(3), 234-241. <https://doi.org/10.22365/jpsych.2017.283.234>
- Mukherjee, S. (2013). Alcoholism and its effects on the central nervous system. *Current Neurovascular Research*, *10*(3), 256-262. <https://doi.org/10.2174/15672026113109990004>
- Muñoz, J. T., Farré, A., Mestre-Pintó, J., Szerman, N., & Torrens, M. (2017). Patología dual en Depresión: Recomendaciones en el tratamiento. *Adicciones*, *30*(1), Article 1. <https://doi.org/10.20882/adicciones.868>
- Navarrete, F., García-Gutiérrez, M. S., Gasparyan, A., Navarro, D., López-Picón, F., Morcuende, Á., Femenía, T., & Manzanares, J. (2022). Biomarkers of the Endocannabinoid System in Substance Use Disorders. *Biomolecules*, *12*(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/biom12030396>

Referencias bibliográficas

- Nutt, D. J. (2014). The role of the opioid system in alcohol dependence. *Journal of Psychopharmacology* (Oxford, England), 28(1), 8-22.
<https://doi.org/10.1177/0269881113504017>
- OEDA, 2021, C. (s. f.). *Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones. Estadísticas 2021. Alcohol, tabaco y drogas ilegales en España.*
- OEDA, 2022. (s. f.). *INFORME 2022. Alcohol, tabaco y drogas ilegales en España.*
- OEDA-COVID, 2020. (s. f.). *Observatorio Español de las Drogas y las Adicciones. Encuesta OEDA-COVID: Impacto de la pandemia por Covid-19 durante el año 2020 en el patrón de consumo de sustancias psicoactivas y otros comportamientos con potencial adictivo. Madrid: Ministerio de Sanidad. Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas; 2021. 42 p.*
- Oliveira, N. G., & Dinis-Oliveira, R. J. (2018). Drugs of abuse from a different toxicological perspective: An updated review of cocaine genotoxicity. *Archives of Toxicology*, 92(10), 2987-3006. <https://doi.org/10.1007/s00204-018-2281-1>
- OMS, 1992. (s. f.). *CIE-10: CIE-10. Trastornos Mentales y del Comportamiento. Décima Revisión de la Clasificación Internacional de las Enfermedades. Descripciones Clínicas y pauta.*
- OMS, 1997. (s. f.). *Entrevista Diagnóstica Internacional Compuesta (CIDI).*
- OMS, 2019. (s. f.). *ICD-11: International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems.*
- OMS, 2019. (2019). *Global status report on alcohol and health 2018.*
- Orio, L., Pavón, F. J., Blanco, E., Serrano, A., Araos, P., Pedraz, M., Rivera, P., Calado, M., Suárez, J., & de Fonseca, F. R. (2013). Lipid transmitter signaling as a new target for treatment of cocaine addiction: New roles for acylethanolamides and lysophosphatidic acid. *Current Pharmaceutical Design*, 19(40), 7036-7049.
<https://doi.org/10.2174/138161281940131209143421>

- Oyola, M. G., & Handa, R. J. (2017). Hypothalamic-pituitary-adrenal and hypothalamic-pituitary-gonadal axes: Sex differences in regulation of stress responsivity. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 20(5), 476-494. <https://doi.org/10.1080/10253890.2017.1369523>
- Papadopoulos, C., Tentes, I., Papazoglou, D., & Anagnostopoulos, K. (2022). Lysophospholipid Metabolism and Signalling in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Folia Medica*, 64(1), 7-12. <https://doi.org/10.3897/folmed.64.e59297>
- Pasche, S. (2012). Exploring the comorbidity of anxiety and substance use disorders. *Current Psychiatry Reports*, 14(3), 176-181. <https://doi.org/10.1007/s11920-012-0264-0>
- Pascual, M., Montesinos, J., & Guerri, C. (2018). Role of the innate immune system in the neuropathological consequences induced by adolescent binge drinking. *Journal of Neuroscience Research*, 96(5), 765-780. <https://doi.org/10.1002/jnr.24203>
- Pavón, F. J., Araos, P., Pastor, A., Calado, M., Pedraz, M., Campos-Cloute, R., Ruiz, J. J., Serrano, A., Blanco, E., Rivera, P., Suárez, J., Romero-Cuevas, M., Pujadas, M., Vergara-Moragues, E., Gornemann, I., Torrens, M., de la Torre, R., & Rodríguez de Fonseca, F. (2013). Evaluation of plasma-free endocannabinoids and their congeners in abstinent cocaine addicts seeking outpatient treatment: Impact of psychiatric co-morbidity. *Addiction Biology*, 18(6), 955-969. <https://doi.org/10.1111/adb.12107>
- Pedraz, M., Araos, P., García-Marchena, N., Serrano, A., Romero-Sanchiz, P., Suárez, J., Castilla-Ortega, E., Mayoral-Cleries, F., Ruiz, J. J., Pastor, A., Barrios, V., Chowen, J. A., Argente, J., Torrens, M., de la Torre, R., Rodríguez De Fonseca, F., & Pavón, F. J. (2015). Sex differences in psychiatric comorbidity and plasma biomarkers for cocaine addiction in abstinent cocaine-addicted subjects in outpatient settings. *Frontiers in Psychiatry*, 6, 17. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2015.00017>
- Pedraza, C., Sánchez-López, J., Castilla-Ortega, E., Rosell-Valle, C., Zambrana-Infantes, E., García-Fernández, M., Rodríguez de Fonseca, F., Chun, J., Santín, L. J., & Estivill-Torrús, G. (2014). Fear extinction and acute stress reactivity reveal a role of LPA(1) receptor in regulating emotional-like behaviors. *Brain Structure & Function*, 219(5), 1659-1672. <https://doi.org/10.1007/s00429-013-0592-9>

- Pérez de Los Cobos, J., Alcaraz, S., Verdejo-García, A., Muñoz, L., Siñol, N., Fernández-Serrano, M. J., Fernández, P., Martínez, A., Duran-Sindreu, S., Batlle, F., & Trujols, J. (2021). Factors associated with the absence of cocaine craving in treatment-seeking individuals during inpatient cocaine detoxification. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, 47(1), 127-138. <https://doi.org/10.1080/00952990.2020.1833340>
- Perini, I., Mayo, L. M., Capusan, A. J., Paul, E. R., Yngve, A., Kampe, R., Gauffin, E., Mazurka, R., Ghafouri, B., Stensson, N., Asratian, A., Hamilton, J. P., Kastbom, Å., Gustafsson, P. A., & Heilig, M. (2023). Resilience to substance use disorder following childhood maltreatment: Association with peripheral biomarkers of endocannabinoid function and neural indices of emotion regulation. *Molecular Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/s41380-023-02033-y>
- Piano, M. R. (2017). Alcohol's Effects on the Cardiovascular System. *Alcohol Research: Current Reviews*, 38(2), 219-241.
- Pohl, K., Moodley, P., & Dhanda, A. D. (2021). Alcohol's Impact on the Gut and Liver. *Nutrients*, 13(9), 3170. <https://doi.org/10.3390/nu13093170>
- Prescott, C. A., Aggen, S. H., & Kendler, K. S. (2000). Sex-specific genetic influences on the comorbidity of alcoholism and major depression in a population-based sample of US twins. *Archives of General Psychiatry*, 57(8), 803-811. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.57.8.803>
- Requena-Ocaña, N., Flores-López, M., García-Marchena, N., Pavón-Morón, F. J., Pedraza, C., Wallace, A., Castilla-Ortega, E., Rodríguez de Fonseca, F., Serrano, A., & Araos, P. (2023). Plasma Lysophosphatidic Acid Concentrations in Sex Differences and Psychiatric Comorbidity in Patients with Cocaine Use Disorder. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(21), 15586. <https://doi.org/10.3390/ijms242115586>
- Riaz, A., Huang, Y., & Johansson, S. (2016). G-Protein-Coupled Lysophosphatidic Acid Receptors and Their Regulation of AKT Signaling. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(2), 215. <https://doi.org/10.3390/ijms17020215>

- Richards, J. R., Garber, D., Laurin, E. G., Albertson, T. E., Derlet, R. W., Amsterdam, E. A., Olson, K. R., Ramoska, E. A., & Lange, R. A. (2016). Treatment of cocaine cardiovascular toxicity: A systematic review. *Clinical Toxicology (Philadelphia, Pa.)*, 54(5), 345-364. <https://doi.org/10.3109/15563650.2016.1142090>
- Richert, T., Anderberg, M., & Dahlberg, M. (2020). Mental health problems among young people in substance abuse treatment in Sweden. *Substance Abuse Treatment, Prevention, and Policy*, 15(1), 43. <https://doi.org/10.1186/s13011-020-00282-6>
- Riezzo, I., Fiore, C., De Carlo, D., Pascale, N., Neri, M., Turillazzi, E., & Fineschi, V. (2012). Side effects of cocaine abuse: Multiorgan toxicity and pathological consequences. *Current Medicinal Chemistry*, 19(33), 5624-5646. <https://doi.org/10.2174/092986712803988893>
- Roberts, A., Rogers, J., Mason, R., Siriwardena, A. N., Hogue, T., Whitley, G. A., & Law, G. R. (2021). Alcohol and other substance use during the COVID-19 pandemic: A systematic review. *Drug and Alcohol Dependence*, 229(Pt A), 109150. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2021.109150>
- Rocco, A., Compare, D., Angrisani, D., Sanduzzi Zamparelli, M., & Nardone, G. (2014). Alcoholic disease: Liver and beyond. *World Journal of Gastroenterology*, 20(40), 14652-14659. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i40.14652>
- Roerecke, M., Vafaei, A., Hasan, O. S. M., Chrystoja, B. R., Cruz, M., Lee, R., Neuman, M. G., & Rehm, J. (2019). Alcohol Consumption and Risk of Liver Cirrhosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The American Journal of Gastroenterology*, 114(10), 1574-1586. <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000000340>
- Ronsley, C., Nolan, S., Knight, R., Hayashi, K., Klimas, J., Walley, A., Wood, E., & Fairbairn, N. (2020). Treatment of stimulant use disorder: A systematic review of reviews. *PLoS One*, 15(6), e0234809. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234809>
- Rosell-del-Valle, C. (2014). *Nuevas aproximaciones terapéuticas mediante las vías de señalización del ácido lisofosfatídico: Regulación farmacológica y trasplante neuronal*. <https://riuma.uma.es/xmlui/handle/10630/7349>

- Ruisoto, P., & Contador, I. (2019). The role of stress in drug addiction. An integrative review. *Physiology & Behavior*, 202, 62-68. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.01.022>
- Sánchez-Marín, L., Ladrón de Guevara-Miranda, D., Mañas-Padilla, M. C., Alén, F., Moreno-Fernández, R. D., Díaz-Navarro, C., Pérez-Del Palacio, J., García-Fernández, M., Pedraza, C., Pavón, F. J., Rodríguez de Fonseca, F., Santín, L. J., Serrano, A., & Castilla-Ortega, E. (2018). Systemic blockade of LPA1/3 lysophosphatidic acid receptors by ki16425 modulates the effects of ethanol on the brain and behavior. *Neuropharmacology*, 133, 189-201. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.01.033>
- Sano, T., Baker, D., Virag, T., Wada, A., Yatomi, Y., Kobayashi, T., Igarashi, Y., & Tigyi, G. (2002). Multiple mechanisms linked to platelet activation result in lysophosphatidic acid and sphingosine 1-phosphate generation in blood. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(24), 21197-21206. <https://doi.org/10.1074/jbc.M201289200>
- Santín, L. J., Bilbao, A., Pedraza, C., Matas-Rico, E., López-Barroso, D., Castilla-Ortega, E., Sánchez-López, J., Riquelme, R., Varela-Nieto, I., de la Villa, P., Suardíaz, M., Chun, J., De Fonseca, F. R., & Estivill-Torrús, G. (2009). Behavioral phenotype of maLPA1-null mice: Increased anxiety-like behavior and spatial memory deficits. *Genes, Brain, and Behavior*, 8(8), 772-784. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2009.00524.x>
- Schuckit, M. A. (2006). Comorbidity between substance use disorders and psychiatric conditions. *Addiction*, 101(s1), 76-88. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.2006.01592.x>
- Schuckit, M. A. (2009). Alcohol-use disorders. *Lancet (London, England)*, 373(9662), 492-501. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60009-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60009-X)
- Serrano, A., & Natividad, L. A. (2022). Alcohol-Endocannabinoid Interactions: Implications for Addiction-Related Behavioral Processes. *Alcohol Research: Current Reviews*, 42(1), 09. <https://doi.org/10.35946/arcr.v42.1.09>
- Serrano, A., & Parsons, L. H. (2011). Endocannabinoid influence in drug reinforcement, dependence and addiction-related behaviors. *Pharmacology & Therapeutics*, 132(3), 215-241. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.06.005>

Referencias bibliográficas

- Serrano, D., Pérez, G., Astals, M., Martín-Santos, R., Castillo, C., & Torrens, M. (2001). Validación de la versión española de la psychiatric research interview for substance and mental disorders (PRISM). *Trastornos Adictivos*, 3(4), 293. [https://doi.org/10.1016/S1575-0973\(01\)78587-X](https://doi.org/10.1016/S1575-0973(01)78587-X)
- Shepard, D. S., Daley, M., Ritter, G. A., Hodgkin, D., & Beinecke, R. H. (2002). Managed care and the quality of substance abuse treatment. *The Journal of Mental Health Policy and Economics*, 5(4), 163-174.
- Singh, S., Osna, N. A., & Kharbanda, K. K. (2017). Treatment options for alcoholic and non-alcoholic fatty liver disease: A review. *World Journal of Gastroenterology*, 23(36), 6549-6570. <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i36.6549>
- Solomon, R. L., & Corbit, J. D. (1974). An opponent-process theory of motivation. I. Temporal dynamics of affect. *Psychological Review*, 81(2), 119-145. <https://doi.org/10.1037/h0036128>
- Sugiura, T., Kondo, S., Sukagawa, A., Nakane, S., Shinoda, A., Itoh, K., Yamashita, A., & Waku, K. (1995). 2-Arachidonoylglycerol: A possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 215(1), 89-97. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1995.2437>
- Sun, Y., Wang, Y., Wang, G., Xiang, L., & Qi, J. (2017). A New Anti-Aging Lysophosphatidic Acid from *Arabidopsis thaliana*. *Medicinal Chemistry (Shariqah (United Arab Emirates))*, 13(7), 641-647. <https://doi.org/10.2174/1573406413666170209124934>
- Tanda, G. (2007). Modulation of the endocannabinoid system: Therapeutic potential against cocaine dependence. *Pharmacological Research*, 56(5), 406-417. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.09.001>
- Tigyi, G., & Parrill, A. L. (2003). Molecular mechanisms of lysophosphatidic acid action. *Progress in Lipid Research*, 42(6), 498-526. [https://doi.org/10.1016/s0163-7827\(03\)00035-3](https://doi.org/10.1016/s0163-7827(03)00035-3)
- Tokumura, A., Majima, E., Kariya, Y., Tominaga, K., Kogure, K., Yasuda, K., & Fukuzawa, K. (2002). Identification of human plasma lysophospholipase D, a lysophosphatidic acid-

- producing enzyme, as autotaxin, a multifunctional phosphodiesterase. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(42), 39436-39442. <https://doi.org/10.1074/jbc.M205623200>
- Torrens, M., Serrano, D., Astals, M., Pérez-Domínguez, G., & Martín-Santos, R. (2004). Diagnosing comorbid psychiatric disorders in substance abusers: Validity of the Spanish versions of the Psychiatric Research Interview for Substance and Mental Disorders and the Structured Clinical Interview for DSM-IV. *The American Journal of Psychiatry*, 161(7), 1231-1237. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.161.7.1231>
- Ulloque, R. A. (1999). Reward system and drug dependence. *Biomédica*, 19(4), Article 4. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v19i4.1037>
- Verdejo-García, A., & Albein-Urios, N. (2021). Impulsivity traits and neurocognitive mechanisms conferring vulnerability to substance use disorders. *Neuropharmacology*, 183, 108402. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108402>
- Vinod, K. Y., Kassir, S. A., Hungund, B. L., Cooper, T. B., Mann, J. J., & Arango, V. (2010). Selective alterations of the CB1 receptors and the fatty acid amide hydrolase in the ventral striatum of alcoholics and suicides. *Journal of Psychiatric Research*, 44(9), 591-597. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2009.11.013>
- Volkow, N. D., Michaelides, M., & Baler, R. (2019). The Neuroscience of Drug Reward and Addiction. *Physiological Reviews*, 99(4), 2115-2140. <https://doi.org/10.1152/physrev.00014.2018>
- Vorspan, F., Mehtelli, W., Dupuy, G., Bloch, V., & Lépine, J.-P. (2015). Anxiety and Substance Use Disorders: Co-occurrence and Clinical Issues. *Current Psychiatry Reports*, 17(2), 4. <https://doi.org/10.1007/s11920-014-0544-y>
- WDR, 2021. (s. f.). *World Drugs Reports United Nations publication*.
- Wemm, S. E., & Sinha, R. (2019). Drug-induced stress responses and addiction risk and relapse. *Neurobiology of Stress*, 10, 100148. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100148>
- Yamada, M., Tsukagoshi, M., Hashimoto, T., Oka, J.-I., Saitoh, A., & Yamada, M. (2015). Lysophosphatidic acid induces anxiety-like behavior via its receptors in mice. *Journal of*

Referencias bibliográficas

- Neural Transmission* (Vienna, Austria: 1996), 122(3), 487-494.
<https://doi.org/10.1007/s00702-014-1289-9>
- Yehuda, S., Rabinovitz, S., & Mostofsky, D. I. (1999). Essential fatty acids are mediators of brain biochemistry and cognitive functions. *Journal of Neuroscience Research*, 56(6), 565-570.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19990615\)56:6<565::AID-JNR2>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19990615)56:6<565::AID-JNR2>3.0.CO;2-H)
- Yung, Y. C., Stoddard, N. C., & Chun, J. (2014). LPA receptor signaling: Pharmacology, physiology, and pathophysiology. *Journal of Lipid Research*, 55(7), 1192-1214.
<https://doi.org/10.1194/jlr.R046458>
- Yuodelis-Flores, C., & Ries, R. K. (2015). Addiction and suicide: A review. *The American Journal on Addictions*, 24(2), 98-104. <https://doi.org/10.1111/ajad.12185>
- Zimmerman, J. L. (2012). Cocaine intoxication. *Critical Care Clinics*, 28(4), 517-526.
<https://doi.org/10.1016/j.ccc.2012.07.003>



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

