



Consumo de Cannabis y su relación con los accidentes de tránsito

Silvina Danisa García

ESPECIALIZACIÓN EN CRIMINALÍSTICA Y ACTIVIDADES PERICIALES

Córdoba, 2020



Consumo de Cannabis y su relación con los accidentes de tránsito © 2020 por Silvina Danisa García
se distribuye bajo una licencia [Attribution-NonCommercial 4.0 International](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)



Universidad
Nacional
de Córdoba



Facultad
de Matemática,
Astronomía, Física
y Computación

El Trabajo Final Integrador (TFI) “**Consumo de Cannabis y su relación con los accidentes de tránsito**”, desarrollado por la Bioq. Silvina Danisa García, alumna de la ESPECIALIZACIÓN EN CRIMINALÍSTICA Y ACTIVIDADES PERICIALES, ha sido dirigido por:

.....
Bioquímico Especialista en Toxicología y Bioquímica Legal
Héctor Andrés Suarez
Director del Proyecto Integrador

El presente Trabajo Final Integrador de la Especialización en
Criminalística y Actividades Periciales ha sido aprobado el día/...../.....
mereciendo la calificación de (.....)

Firmas Tribunal Evaluador

Dr. Manuel Calderón

Bioq. Inés González

Ing. Ramiro Ojeda

Agradecimientos

A mi familia por acompañarme en este proceso y por su apoyo incondicional.

A mi director, Andrés Suarez por su confianza y colaboración.

A Dios, por darme la paciencia y sabiduría suficientes para resolver los inconvenientes que se presentaron a lo largo de este trabajo.

RESUMEN

La asociación entre el consumo de cannabis y los accidentes de tránsito es un parámetro de suma importancia en la evaluación de la seguridad vial. Sin embargo, pese a la existencia a nivel mundial de gran cantidad de información tanto científica como estadística, en nuestro país se carece aún de evidencias de aplicación de protocolos establecidos con respecto a este tema.

Mediante el presente trabajo se realizó una revisión bibliográfica con el objetivo de explorar los estudios que avalan la peligrosidad del consumo de cannabis y el riesgo que conlleva en materia de accidentes viales, fundamentalmente para la población adolescente. También evaluamos la importancia del estudio toxicológico de consumo de cannabis en el tránsito vehicular, considerando las matrices biológicas y los métodos analíticos relativos a este procedimiento de *screening*, en vistas de la importancia de incorporar dicho procedimiento junto al control de consumo de alcohol que actualmente se lleva a cabo como medida de rutina.

Con un enfoque centrado en el accionar a nivel mundial con respecto a este tema, se sugiere instaurar políticas públicas y de salubridad para atenuar el impacto del consumo de cannabis sobre la seguridad vial.

Palabras claves: cannabis, seguridad vial, fluido oral, principio activo

SUMMARY

The association between cannabis consumption and traffic accidents is a central parameter in the evaluation of road safety. However, in our country, and despite the existence at a global level of a large amount of scientific and statistical evidence, there is a lack of evidence about application of established protocols to address this issue.

This study comprises a bibliographic review including studies that provide evidence about the danger of cannabis consumption and the risk it entails regarding road safety, particularly in adolescent population. Furthermore, regarding road safety controls, we discuss the importance of adding screening procedures for cannabis consumption to the already operating alcohol screening procedures. We also analyze the biological matrices and analytic methods relevant to this procedure.

Focusing primarily on global action with respect to this issue, we suggest that public and health policies be established to mitigate the impact of cannabis consumption on road safety.

Keywords: cannabis, road safety, oral fluid, active substance

ÍNDICE GENERAL

Agradecimientos.....	V
Resumen.....	VI
Summary.....	VI
Índice General.....	VII
Índice de Abreviaturas.....	VIII
Índice de Figuras.....	X
Introducción.....	1
Objetivos.....	2
Materiales y Métodos.....	2
Neurobiología del consumo de Cannabis.....	3
Evidencias científicas del impacto del consumo de Cannabis en la adolescencia.....	14
Influencia de los patrones de consumo de Cannabis sobre la probabilidad de iniciación con otras drogas ilícitas(OID).....	20
Cuantificación del principio activo de Cannabis en muestras biológicas.....	22
Cannabis y seguridad vial.....	27
Implicancias legales en Europa.....	33
Conclusión.....	35
Referencias.....	37

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

2-AG	2-araquidonoilglicerol
AC-cAMP-PKA	vía de la adenilato ciclasa - proteína kinasa A dependiente del adenosin monofosfato cíclico
AEA	anandamida (<i>N</i> -araquidonoiletanolamina)
CB₁	receptor de cannabinoides tipo 1 (por sus siglas en inglés, <i>cannabinoid receptor type 1</i>)
CB₂	receptor de cannabinoides tipo 2 (por sus siglas en inglés, <i>cannabinoid receptor type 2</i>)
CBF	flujo sanguíneo cerebral (por sus siglas en inglés, <i>cerebral blood flow</i>)
DAG	sn-1,2-diacilgliceroles
DAGL	sn-1-diacilglicerol lipasa
DRUID	conducir bajo la influencia de drogas, alcohol y medicinas (por sus siglas en inglés, <i>driving under the influence of drugs, alcohol and medicines</i>)
DUI	conducir bajo la influencia (por sus siglas en inglés, <i>driving under the influence</i>)
DWI	conducir mientras se está intoxicado (por sus siglas en inglés, <i>driving while intoxicated</i>)
FAAH	amida hidrolasa de ácidos grasos (por sus siglas en inglés, <i>fatty acid amide hydrolase</i>)
FDA	Administración Federal de Medicamentos y Alimentos (por sus siglas en inglés, <i>Food and Drug Administration</i>)
GABA	ácido- gamma-aminobutírico
GC-MS/MS	cromatografía gaseosa acoplada a un detector selectivo de masas en tándem (por sus siglas en inglés, <i>gas chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry</i>)
GT	Teoría de Puerta de Enlace (por sus siglas en inglés, <i>the Gateway Theory</i>)
HU-210	cannabinoide sintético
ICH	conferencia internacional para la armonización de los requisitos técnicos para el registro de productos farmacéuticos de uso humano (por sus siglas en inglés, <i>International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use</i>)
iR	receptores ionotrópicos
LAT	lesiones por accidentes de tráfico
LC-MS/MS	cromatografía líquida acoplada a un detector selectivo de masas en tándem (por sus siglas en inglés, <i>liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry</i>)
MAGL	monoacilglicerol lipasa
MDA	tenanfetamina

MDEA	3,4- metilendioxi-etilamfetamina
MDMA	3,4- metilendioxi-metanfetamina (éxtasis)
MGlur5	receptor metabotrópico de glutamato 5 (por sus siglas en inglés, <i>metabotropic glutamate receptor</i>)
mR	receptores metabotrópicos
MSM	modelos de múltiples estados (por sus siglas en inglés, <i>multi-state model</i>)
NAc	núcleo accumbens
NAPE	N- acil-fosfatidiletanolamina
NIDA	Instituto Nacional sobre el Abuso de Drogas (por sus siglas en inglés, <i>National Institute on Drug Abuse</i>)
NMDA	N-metil-D-aspartato
NSP	nuevas sustancias psicoactivas
NT	Neurotransmisores
OID	otras drogas ilícitas (por sus siglas en inglés, <i>other illicit drugs</i>)
OF	fluido oral (por sus siglas en inglés, <i>Oral fluid</i>)
OMS	Organización Mundial de la Salud
Pka	magnitud que cuantifica la tendencia de las moléculas a disociarse en solución acuosa
PLCβ	fosfolipasa Cβ
PLD	fosfolipasa D
RIM-1α	molécula que interacciona con Rab3 1α (<i>Rab3-interacting molecule-1α</i>)
THC	delta-9-tetrahidrocannabinol
THC-COOH	11-Nor-9-carboxi-delta-9-tetrahidrocannabinol
UE	Unión Europea
VSCC	canales de Ca ²⁺ sensibles al potencial (por sus siglas en inglés, <i>voltage-sensitive Ca²⁺ channels</i>)
WIN-55,212-2	cannabinoide sintético

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1	Estructura química de los principales cannabinoides	3
Fig. 2	Cannabinoides y sus receptores	4
Fig. 3	Expresión del receptor CB1 cannabinoides en distintas partes del sistema nervioso central	5
Fig. 4	Papel neuromodulador de la anandamida	6
Fig. 5	Papel neuromodulador del 2-araquinoilglicerol	7
Fig. 6	Expresión de receptores Cannabinoides en distintas localizaciones celulares del sistema nervioso central	9
Fig. 7	Los receptores CB1 de Cannabinoides en el cerebro humano están menos regulados en los usuarios que abusan de Marihuana	10
Fig. 8	Las drogas producen adicción porque aumentan la dopamina	12
Fig. 9	Vulnerabilidad adolescente	15
Fig. 10	El consumo precoz y prolongado de marihuana antes de los 18 años disminuye la conectividad de las fibras de los axones	16
Fig. 11	Asociación de Cannabis con enfermedades mentales	17

INTRODUCCIÓN

En el año 1948 la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1) llegó a la conclusión de que el uso del cannabis era peligroso física, mental y socialmente. Pese a ello, actualmente nos encontramos ante un fenómeno de tolerancia social en el que el consumo se ha desdramatizado.

En nuestro país los análisis para detectar consumo de cannabis no forman parte del procedimiento judicial ordinario de un accidente, ni siquiera en los casos fatales -generalmente surgen por pedido expreso de un juez en base a alguna sospecha-, por lo que es imposible conocer el número cierto de consumidores de cannabis que participan en siniestros (2). A pesar de la gran cantidad de estudios realizados en la última década, el vacío estadístico en esta área es considerable (2) y los organismos gubernamentales con injerencia en esta área reconocen en sus informes que no se tienen aún datos exactos acerca de la cantidad de accidentes en los que el cannabis podría estar implicado. Las estadísticas que se manejan -provisorias- devienen mayoritariamente de la lenta compilación de estudios hechos a tal efecto, y de la extrapolación de los porcentajes de aparición de cannabis en los controles de carretera (2).

En este trabajo se realizó una revisión exhaustiva de la literatura que aborda la temática de consumo de cannabis y sus efectos relacionados principalmente con el desarrollo del cerebro adolescente y con los accidentes de tránsito. También evaluamos la importancia del estudio toxicológico de consumo de cannabis en el tránsito vehicular, considerando las matrices biológicas y los métodos analíticos relativos a este procedimiento de *screening*, en vistas de la importancia de incorporar dicho procedimiento junto al control de consumo de alcohol que actualmente se lleva a cabo como medida de rutina. Esto nos permitió conocer herramientas que sería necesario implementar y establecer con propósitos preventivos como políticas de salubridad y seguridad en nuestro medio, como así también evaluar los recursos de que hoy se dispone para tal fin.

OBJETIVO GENERAL

Analizar los efectos potenciales del consumo de cannabis y su causalidad en los accidentes de tránsito.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Considerar los efectos a corto y largo plazo del consumo de cannabis en la población adolescente y adulta.
2. Examinar la asociación del consumo de cannabis con otras drogas ilegales.
3. Evaluar la utilidad de la cuantificación del principio activo de cannabis en muestras biológicas como herramienta de pesquisa en el consumo de la misma.
4. Describir los métodos de *screening* propuestos a nivel internacional como herramientas de pesquisa en el tráfico vehicular.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una exhaustiva revisión bibliográfica sobre el tema de interés en las bases de datos de Pubmed, Elsevier, Scielo y Science Direct, con un análisis crítico de la temática, sustentado principalmente en aquellos trabajos abordados desde la toxicología básica y clínica. Se utilizaron como palabras clave: *THC, fluido oral, cannabis, conducir bajo la influencia, cannabinoides, adicción, dopamina, imágenes cerebrales*.

El plan de trabajo fue diseñado con el fin de abordar la temática de manera integral, partiendo desde la neurobiología y patología del consumo de cannabis, considerando las implicancias de su consumo y sus efectos a nivel del sistema nervioso central, accidentología vial y efectos del consumo concomitante de otras drogas, para luego abordar el análisis bioquímico del principio activo y la utilidad de las distintas matrices biológicas como métodos de pesquisa en el área del control vehicular.

NEUROBIOLOGIA DEL CONSUMO DE CANNABIS

Cannabis sativa L. es la única especie del reino vegetal de la cual se sabe con certeza que produce cannabinoides, una familia de moléculas bioactivas de la cual se conocen más de setenta representantes diferentes, siendo el delta-9-tetrahidrocannabinol (THC; Figura 1) el más importante tanto por su alta abundancia en la planta como por su elevada potencia de acción (3). Otros cannabinoides como el cannabinal y el cannabidiol pueden aparecer así mismo en niveles significativos en la planta y sus preparados, pero su potencia de acción es muy reducida (3).

Desde 1990 (3) se sabe que el THC ejerce una gran variedad de efectos, tanto en el sistema nervioso central como en distintas localizaciones periféricas del organismo, debido a que es similar a una familia de moléculas producida por numerosos animales, incluido el ser humano, cuya acción imita. Estas moléculas se denominan por ello cannabinoides endógenos o endocannabinoides (3). Químicamente hablando, se trata de derivados del ácido

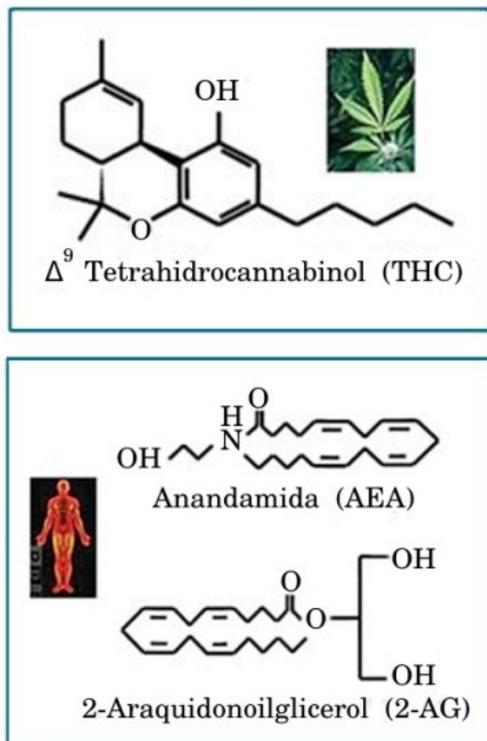


Figura 1. Estructura química de los principales cannabinoides. Estructura química del Δ^9 tetrahidrocannabinol (principal fitocanabinoide) y la anandamida y el 2-araquidonoilglicerol (principales endocannabinoides). Fuente: (3).

araquidónico; y la anandamida (*N*-araquidonoiletanolamina, AEA) y el 2-araquidonoilglicerol (2-AG) son sus principales representantes (Figura 1). Se han obtenido además en laboratorio muy diversos análogos sintéticos de los cannabinoides naturales, tanto de los provenientes de la planta (fitocannabinoides) como de los endocannabinoides, estos análogos muestran una especificidad y potencia de acción mucho más elevadas. Entre sus representantes, el WIN55,212-2 y el HU-210 son quizás actualmente los más empleados como herramientas farmacológicas en la investigación sobre cannabinoides (3).

Al ser compuestos estrechamente relacionados entre sí, los cannabinoides tanto endógenos como de *Cannabis sativa* y sintéticos actúan en el organismo mediante las mismas dianas moleculares. Se trata de receptores específicos localizados en la membrana plasmática

de las células que se denominan receptores de cannabinoides o receptores CB (Figura 2) y de los cuales se conocen hoy dos tipos bien caracterizados molecular y farmacológicamente: el receptor de tipo 1 o receptor CB₁ y el receptor de tipo 2 o receptor CB₂ (3). Tanto CB₁ como el CB₂ pertenecen a la principal familia de receptores que se encuentran en el organismo (los receptores acoplados a proteínas G) y se acoplan principalmente a proteínas G_{i/o}, aunque también se ha descrito que en algunas situaciones pueden señalar vía proteínas G_q. A través de ambas, estos receptores modulan rutas de señalización intracelular de gran importancia (3).

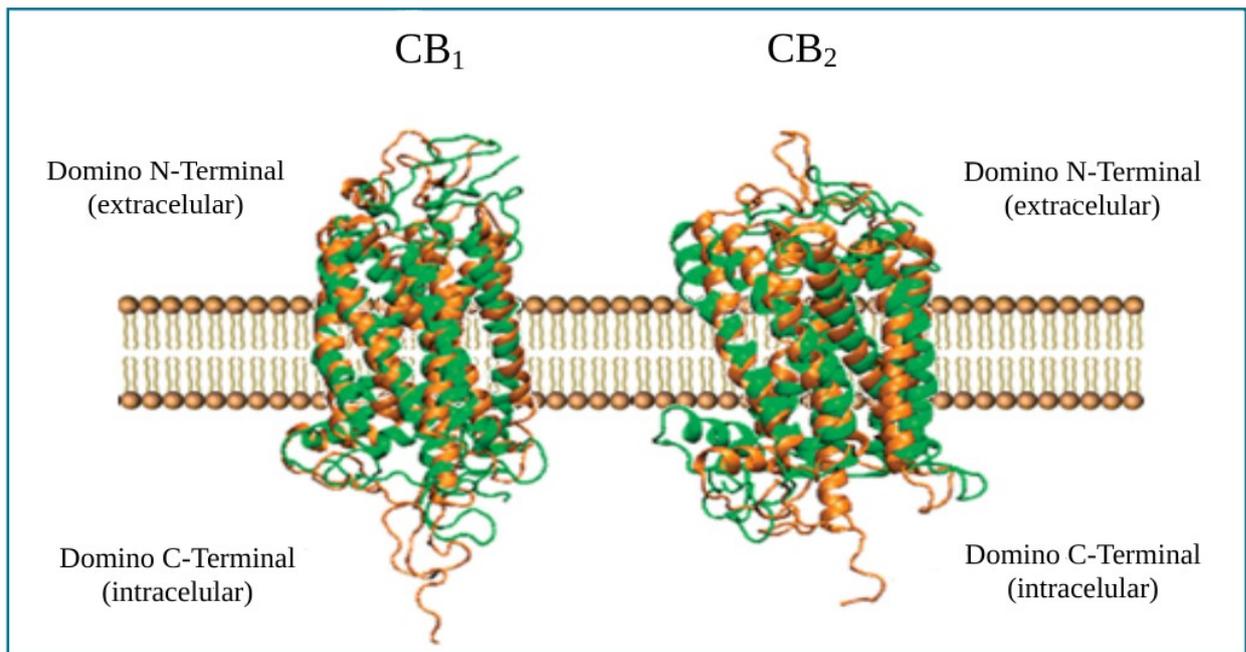


Figura 2. Estructura de los receptores CB₁ y CB₂. Fuente: (100).

Como parece lógico suponer, únicamente los tejidos del organismo que poseen receptores específicos para cannabinoides son blanco de la acción de estos compuestos (3). En concreto, la mayor parte de los efectos de los cannabinoides, tanto sobre el sistema nervioso central como sobre diversas localizaciones periféricas, están mediados por el receptor CB₁, inicialmente denominado «receptor central de cannabinoides» pero que actualmente sabemos posee una localización muy ubicua. Este receptor es especialmente abundante en áreas del sistema nervioso central implicadas en el control de la actividad motora (ganglios basales, cerebelo), memoria y aprendizaje (corteza, hipocampo), emociones (amígdala), percepción sensorial (tálamo) y diversas funciones autónomas y endócrinas (hipotálamo, médula), lo que lógicamente explica que los endocannabinoides modulen estos procesos y que el consumo de marihuana interfiera en ellos. El receptor CB₁ está presente también en las terminales nerviosas periféricas que inervan tanto la piel como el tracto digestivo, circulatorio y

respiratorio, así como numerosos tejidos y órganos, entre ellos endotelio vascular, hueso, testículo, útero, ojo, hígado y tejido adiposo (3, 4, 5).

El receptor CB₂, inicialmente denominado «receptor periférico de cannabinoides», muestra una distribución más restringida que receptor CB₁, y está fundamentalmente presente en el sistema inmune, tanto en células (por ejemplo, linfocitos y macrófagos) como en tejidos (por ejemplo, bazo, apéndice y ganglios). Se piensa por ello que este receptor está implicado en la modulación de la respuesta inmune por el sistema endocannabinoide (3, 4).

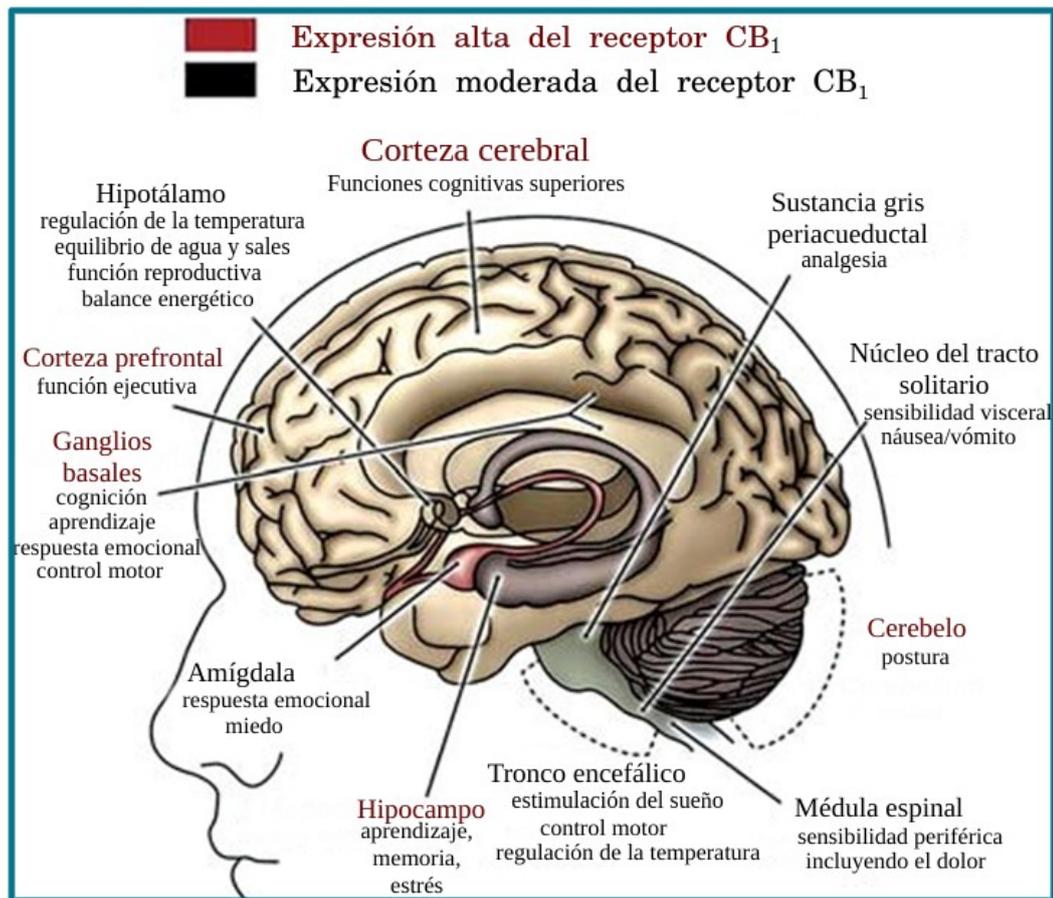


Figura 3. Expresión del receptor CB₁ cannabinoide en distintas regiones del sistema nervioso central. El receptor CB₁ cannabinoide constituye uno de los receptores más abundantes del sistema nervioso central, y se halla expresado en muy distintos tipos de neuronas de prácticamente todas sus regiones. Fuente: (3).

Los endocannabinoides, junto con sus receptores y sistemas específicos de síntesis y degradación constituyen en el organismo el denominado sistema endocannabinoide o sistema cannabinoide endógeno (3). Este sistema (o al menos parte de sus componentes) aparece de forma altamente conservada en la gran mayoría de los animales, y su función hasta ahora mejor establecida es la de constituir un mecanismo de neuromodulación en el sistema

nervioso central de los mamíferos. Así, cuando se activan receptores de neurotransmisores en la membrana plasmática de una neurona postsináptica, esta sintetiza precursores de endocannabinoides y los escinde para liberar a la hendidura sináptica endocannabinoides funcionalmente activos. Esto acontece, por ejemplo, tras la unión de algunos neurotransmisores como el glutamato a sus receptores ionotrópicos o metabotrópicos. Los endocannabinoides actúan entonces como mensajeros químicos retrógrados, esto es, se unen a receptores CB₁ de la neurona presináptica, lo que conlleva por ejemplo que se dificulte la entrada de iones Ca²⁺ por cierre de canales de Ca²⁺ sensibles a potencial (VSCC, *voltage-sensitive Ca²⁺ channels*) y se facilite la salida de iones K⁺ por la apertura de canales rectificadores de K⁺ sensibles a proteínas G. Ello impide la despolarización de la membrana y los procesos de exocitosis, y así se bloquea la liberación de neurotransmisores como el glutamato o el ácido gama-aminobutírico (GABA). La acción neuromoduladora de los endocannabinoides finaliza mediante su recaptura celular a través de sistemas de transporte de membrana plasmática y su posterior degradación intracelular, que corre a cargo de una variada familia de lipasas entre las cuales la amidahidrolasa de ácidos grasos (FAAH, *fatty acid amide hydrolase*) y la monoacilglicerol lipasa (MAGL) son las mejor caracterizadas para

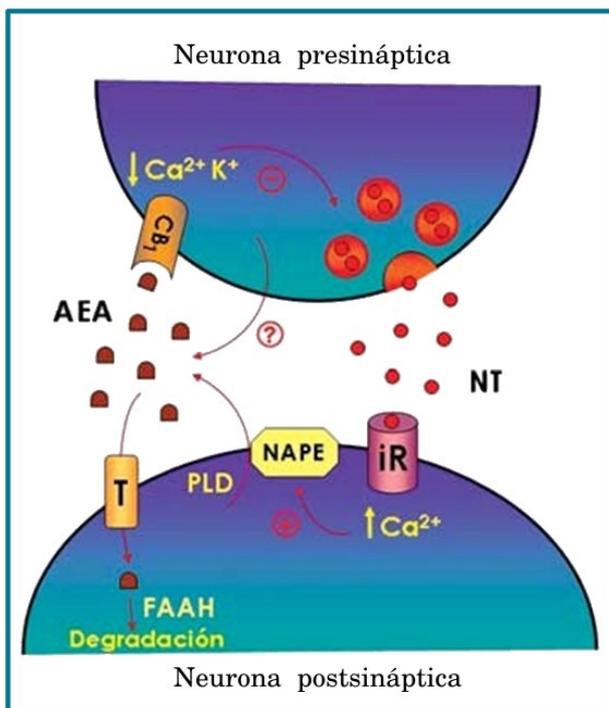


Figura 4. Papel neuromodulador de la anandamida.

Fuente: (3).

Nota. + : activación; - : inhibición.

la AEA y el 2-AG, respectivamente. En las Figuras 4 y 5 se detallan las características de los procesos de señalización retrógrada en los que participan la AEA y el 2-AG (3).

La Figura 4 detalla el papel neuromodulador de la anandamida. La ocupación de receptores postsinápticos de diversos neurotransmisores (NT), particularmente receptores ionotrópicos (iR) de glutamato, eleva la concentración citoplasmática de Ca²⁺ libre, lo cual induce: (a) la activación de nucleotransferasas que generan precursores fosfolipídicos de anandamida (AEA) como la N-acilfosfatidiletanolamina (NAPE) y (b) la subsecuente hidrólisis de NAPE por diversas lipasas, entre las que destaca una

fosfolipasa D (PLD) de NAPE. Se ha descrito asimismo la localización presináptica de la NAPE-PLD, lo que implicaría la posible generación presináptica de AEA (señalada en la Figura 4 con signo de interrogación). La AEA actúa sobre receptores CB_1 presinápticos que están acoplados al cierre de canales de Ca^{2+} sensibles a potencial y a la apertura de canales rectificadores de K^+ . Ello hiperpolariza la membrana plasmática e inhibe la secreción de NT. La acción de la AEA finaliza mediante la recaptura por un sistema de transporte de membrana (T) aún no completamente caracterizado y una familia de enzimas intracelulares entre las que destaca la amidohidrolasa de ácidos grasos (FAAH), de localización preferentemente postsináptica y que degrada la AEA a ácido araquidónico y etanolamina.

En la Figura 5 puede observarse el papel neuromodulador del 2-araquidonoilglicerol. La ocupación de receptores post-sinápticos de diversos NT, particularmente receptores metabotrópicos (mR) de glutamato, induce (a) la disociación de proteínas G_q heterotriméricas y (b) la activación de la fosfolipasa $C\beta$ (PLC β), que hidroliza precursores fosfolipídicos de membrana como el fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato, para rendir sn-1,2-diacilgliceroles (DAG),

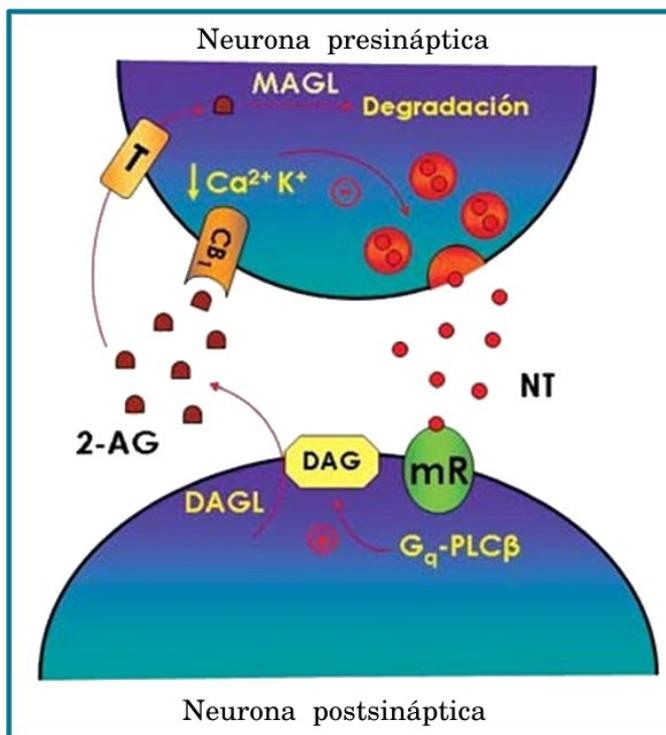


Figura 5. Papel neuromodulador del 2-araquidonoilglicerol. Fuente: (3).

Nota. +, activación; -, inhibición.

entre ellos los que poseen un grupo araquidonoilo en posición sn-2. Estos son hidrolizados por la sn-1-diacilglicerol lipasa (DAGL) para generar 2-araquidonoilglicerol (2-AG). El 2-AG actúa sobre receptores CB_1 presinápticos, que están acoplados al cierre de canales de Ca^{2+} sensibles a potencial y a la apertura de canales rectificadores de K^+ . Ello hiperpolariza la membrana plasmática e inhibe la secreción de NTs. La acción del 2-AG finaliza mediante la recaptura por un sistema de transporte de membrana (T) aún no caracterizado y una familia de enzimas intracelulares entre las que destaca la monoacilglicerol lipasa

(MAGL), de localización preferentemente presináptica y que degrada 2-AG a ácido araquidónico y glicerol.

El receptor CB₁ cannabinoide es en general uno de los tipos de receptores más altamente expresados en el sistema nervioso central y, en concreto, es el receptor presináptico acoplado a proteínas G más abundante en el cerebro adulto, se halla presente en muy distintos tipos de neuronas de prácticamente todas las regiones de este órgano (Figura 3) (3). La localización presináptica del receptor CB₁ cannabinoide fue mostrada por vez primera en terminales axonales de interneuronas hipocampales, y hoy en día se conocen numerosos ejemplos de otras neuronas GABAérgicas (por ejemplo, corticales y estriatales), así como glutamatérgicas (por ejemplo, corticales, hipocampales, hipotalámicas y cerebelares) o de vías subcorticales ascendentes (por ejemplo, terminales colinérgicas, noradrenérgicas y serotoninérgicas), que expresan altas cantidades de receptores CB₁ presinápticos.

Aunque el resultado global de la activación de dichos receptores es la retroinhibición de la liberación de neurotransmisores y la consiguiente atenuación de la transmisión sináptica, el curso temporal en el que tiene lugar este proceso divide los efectos de los endocannabinoides sobre la plasticidad sináptica en dos grandes tipos, que pueden además poseer distintas implicaciones patofisiológicas. Así, la depresión sináptica a corto plazo se inicia muy rápidamente y su duración es muy corta, mientras que la depresión sináptica a largo plazo requiere períodos más largos de inducción y su duración es más larga. Aunque ambos procesos están mediados por la activación de receptores CB₁ presinápticos, los mecanismos señalizadores responsables de cada uno de ellos son diferentes. Así, la depresión a corto plazo suele implicar la inhibición de canales de Ca²⁺ y la apertura de canales de K⁺ en la membrana plasmática (Figuras 4 y 5), mientras que la depresión a largo plazo depende de la inhibición de la vía AC-cAMP-PKA y consecuentemente de la inactivación de algunas proteínas blanco de esta ruta como RIM-1α (molécula que interacciona con Rab3 1α; *Rab3-interacting molecule-1α*) (3, 6).

Los endocannabinoides actúan como mensajeros retrógrados y controlan a través de receptores CB₁ presinápticos la liberación de neurotransmisores como el glutamato (ver más detalles en las Figuras 4 y 5). Se ha descrito además la existencia de receptores CB₁ postsinápticos, cuya activación inhibiría la actividad de canales de Ca²⁺ sensibles a potencial (VSCC) y de receptores ionotrópicos de glutamato (tipo N-metil-D-aspartato, NMDA). En el cerebro, los receptores CB₁ se expresan también en astrocitos, donde podrían controlar el aporte de nutrientes a las neuronas y mediar procesos de intercomunicación sináptica entre

ambos tipos de células, así como en células del endotelio vascular, donde su activación induce vasodilatación. Por último, los receptores CB₂ cannabinoides se expresan en células de microglía, donde median la inactivación de dichas células y por tanto un descenso en la liberación de citoquinas proinflamatorias y especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, lo que conlleva a su vez una atenuación de los procesos neuroinflamatorios (Figura 6).

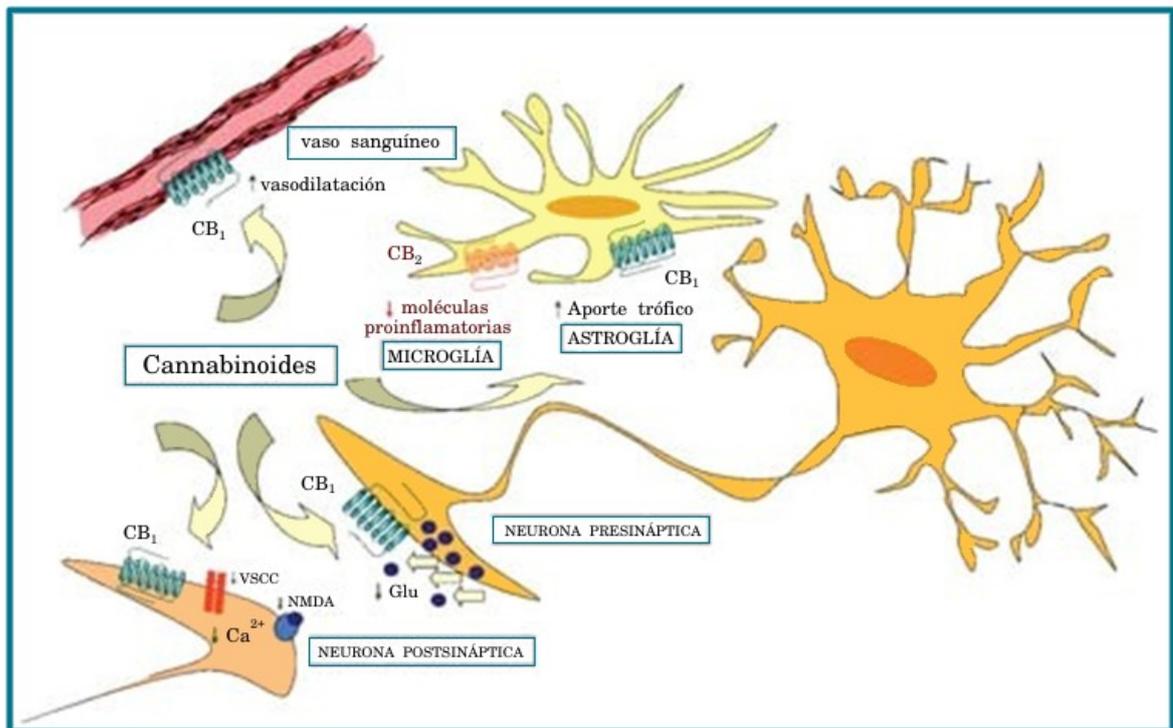


Figura 6. Expresión de receptores cannabinoides en distintas localizaciones celulares del sistema nervioso central. Fuente: (3).

Todos estos efectos complementan la acción de mensajeros retrógrados que ejercen los cannabinoides sobre la plasticidad sináptica y la funcionalidad neuronal (3, 4). El sistema endocannabinoide no solo se expresa en el sistema nervioso adulto, sino que también lo hace en el cerebro en desarrollo, en el cual evidencia un patrón de distribución «atípico», ya que, por ejemplo, durante etapas prenatales los receptores CB₁ abundan en células progenitoras neurales y en proyecciones axonales que conforman áreas de sustancia blanca. Estudios recientes sugieren que, durante el desarrollo cerebral, el sistema endocannabinoide controla procesos esenciales como la proliferación, migración, diferenciación y supervivencia de células neurales, así como la elongación y fasciculación de axones y la formación de

conexiones sinápticas durante el establecimiento de los patrones morfogenéticos del sistema nervioso. Una reminiscencia de ese papel del sistema endocannabinoide durante el desarrollo podría ser su presencia y actividad funcional en células progenitoras residentes en regiones neurogénicas del cerebro adulto como la zona subventricular y el giro dentado del hipocampo (3).

Como podemos ver, el trabajo de investigación de los últimos 20 años ha esclarecido

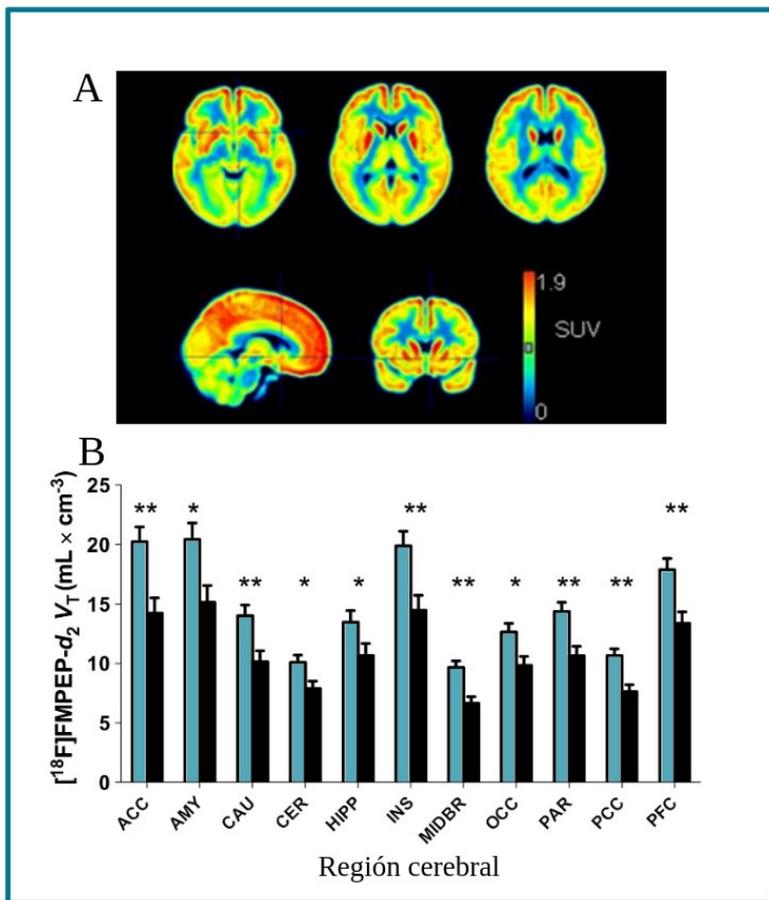


Figura 7. Los receptores CB₁ de cannabinoides en el cerebro humano están menos regulados en los usuarios que abusan de cannabis. Fuente: A, (13), B, (101).

Notas. A. Imagen cerebral (por tomografía emisora de positrones) de la concentración de Cannabis en los distintos tejidos del cerebro. En azul y verde, zonas de menor actividad, en rojo y amarillo, zonas de mayor actividad. B. Concentración de receptores CB₁ de cannabinoides en distintas regiones cerebrales en sujetos consumidores crónicos de cannabis versus concentración de receptores CB₁ de cannabinoides en sujetos no consumidores. En azul, controles, en negro, consumidores de cannabis.

muchísimo nuestro conocimiento sobre los efectos del cannabis en el cerebro humano y también en la fisiología de nuestros cuerpos. En particular, es esencial destacar los estudios llevados a cabo por la Dra. Nora Volkow (7, 8, 9, 10, 11), destacada neurocientífica, actualmente directora del Instituto Nacional sobre el Abuso de Drogas (NIDA) de los Estados Unidos; quien ha sido pionera en el uso de imágenes del cerebro y pruebas de medicina nuclear para investigar los efectos tóxicos de las drogas y sus propiedades adictivas.

Ahora bien, para poder entender con más detalle, debemos preguntarnos qué sucede con nuestro sistema de endocannabinoides interno cuando se consume delta-9-

THC. Comentamos previamente que el delta-9-THC se une a receptores CB₁. Lo que sabemos es que cuando sucede esta unión, la producción o señalamiento de tales receptores disminuye

(12). En la Figura 7 podemos observar imágenes tomadas mediante tomografía emisora de positrones, donde se muestra la densidad de receptores CB_1 (aquellos a los cuales se une el delta-9-THC, pero también a través de los cuales se produce el señalamiento de los cannabinoides endógenos). Cuando se han realizado estudios que comparan la concentración de estos receptores en sujetos de control y sujetos que consumen cannabis se ha detectado que los sujetos de control manifiestan una mayor cantidad de estos receptores que los sujetos que consumen cannabis. Esto se relaciona con el hecho de que como resultado de un sistema endocannabinoide hiperestimulado, como consecuencia de este estímulo el organismo responde disminuyendo el señalamiento interno, de modo que cuando la persona no está intoxicada presenta un déficit muy notorio en este sistema fisiológico (12, 14).

Todas las drogas de abuso que producen adicción, legales o ilegales, tienen en común su capacidad de provocar un aumento de los niveles de dopamina (Figura 8), especialmente en una estructura denominada núcleo accumbens (NAc), ya sea de manera directa o indirecta (15, 16).

Las vías dopaminérgicas son rutas de neuronas que transmiten dopamina de una región del cerebro a otra. Las neuronas de las rutas dopaminérgicas tienen axones que recorren todo el trayecto de la vía. El citoplasma neuronal o soma produce dopamina, la cual es transportada a través de los axones que se proyectan hasta los distintos destinos sinápticos.

Básicamente el sistema dopaminérgico conecta con el núcleo accumbens (principal centro de placer) así como con los centros de la corteza frontal que nos permiten ejercer acciones y tomar decisiones. Como mencionamos antes, las drogas de abuso aumentan los niveles de dopamina en esta área del placer y generan una motivación para tratar de tomar las drogas en subsecuentes ocasiones. Por lo tanto, los efectos de las drogas son mucho más poderosos que otros estímulos fisiológicos como la presentación de la comida, la actividad sexual o inclusive el estrés (actualmente se sabe que una situación de estrés puede aumentar la actividad del sistema dopaminérgico en los centros de placer) (16).

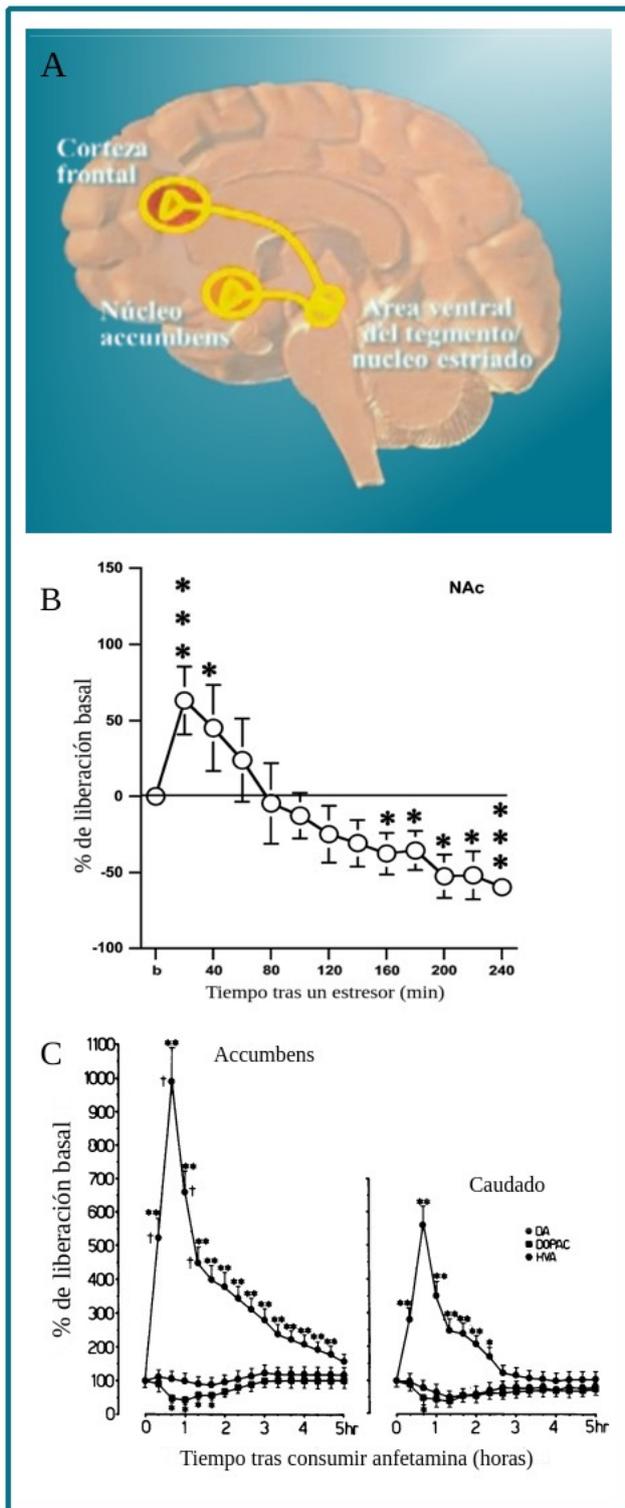


Figura 8. Las drogas producen adicción porque aumentan la dopamina. Fuentes: A, (13), B, (102), C, (103).

Notas. A. Sistema dopaminérgico. B. Liberación de dopamina en el núcleo accumbens tras un estresor. C. Liberación de dopamina en el núcleo accumbens tras consumir amfetamina.

Uno de los neurotransmisores afectados por la actuación de los cannabinoides en el cerebro es, entonces, la dopamina. Por un lado, se ha descrito (17) la presencia de los componentes del sistema endocannabinoide en las mismas regiones cerebrales en las que se ha localizado el sistema dopaminérgico. Por el otro lado, se conoce la existencia de interacciones funcionales entre ambos sistemas (17). En la corteza cerebral se ha detectado la presencia de anandamida y 2-araquidonilglicerol, así como de receptores CB₁, situados en interneuronas GABAérgicas. El que estas neuronas regulen la actividad dopaminérgica sugiere un papel para el sistema endocannabinoide en actividades relacionadas con dicha área cerebral, en las cuales participa la dopamina. Entre ellas podemos citar el control del sueño, la realización de tareas cognitivas complejas, la memoria de trabajo, la organización temporal del comportamiento, la adaptación de estrategias comportamentales y la percepción sensorial. La participación del sistema endocannabinoide en la regulación de la actividad dopaminérgica podría ayudarnos a comprender el hecho de que el consumo agudo de cannabis pueda desacoplar de una manera reversible las funciones cognitivas. También podría explicar por qué el consumo crónico puede conducir a déficit irreversibles en la función cognitiva. Los efectos del consumo agudo sobre la

neurotransmisión tendrían un carácter transitorio, mientras que una actuación persistente podría incidir negativamente sobre la capacidad de recuperación del sistema dopaminérgico (17).

Se ha demostrado que los cannabinoides no afectan directamente la actividad de las terminales axónicas de las neuronas dopaminérgicas, ya que los cannabinoides controlarían indirectamente la actividad dopaminérgica mediante la regulación de la liberación de otros neurotransmisores como el GABA y el glutamato. Así, se ha descrito que receptores CB_1 localizados presinápticamente regulan la liberación de glutamato y GABA en el área ventral tegmental, lo que sugiere que los agonistas cannabinoides actuarían a nivel presináptico inhibiendo la liberación de GABA de las terminales axónicas que inervan el área ventral tegmental y produciendo un incremento en la liberación de dopamina (18). Por otra parte, se ha postulado un mecanismo postsináptico adicional que involucraría interacciones directas entre los receptores dopaminérgicos D_2 y cannabinoides CB_1 (19). De manera que, en los consumidores de cannabis persistentes, al producirse una reducción de los receptores dopaminérgicos D_2 , se daría una reducción del funcionamiento del área cerebral involucrada (17). Un dato de sustancial importancia es que esta reducción no solo ocurre en la corteza frontal donde hay conexión con el sistema límbico, sino que también ocurre en la corteza dorsolateral, que es un área crucial para la toma de decisiones y el juicio. El interés particular de este trabajo es analizar las implicaciones del uso de cannabis a nivel forense, en lo que respecta a los accidentes de tránsito, partiendo de estos resultados científicos.

EVIDENCIAS CIENTÍFICAS DEL IMPACTO DEL CONSUMO DE CANNABIS EN LA ADOLESCENCIA

El consumo y la aceptación del cannabis ha aumentado entre los adolescentes de todo el mundo. Actualmente el cannabis es la droga ilícita más utilizada en la mayoría de los países de habla inglesa, como Canadá, Nueva Zelanda, Australia y los Estados Unidos. A pesar de ser una droga ilícita en Canadá, uno de cada 7 adultos y uno de cada 3 estudiantes, según los informes, consumen cannabis (20). Aunque el cannabis para uso recreativo sigue siendo ilegal en Francia, el 44,2% de la población de 15 a 24 años ha experimentado el consumo de cannabis, lo que coloca a este país primero en las clasificaciones europeas según el Boletín Estadístico del Centro Europeo de Monitoreo de Drogas y Drogadicción (21).

En nuestro país, cannabis es la droga ilícita de mayor consumo. El 7,8% de la población declaró su uso en el año 2017; lo que incluye al 10,7% de los varones y el 5,2% de las mujeres. Entre 2010 y 2017 el consumo creció en todos los grupos de edad, tanto en varones como en mujeres. Sin embargo, son los varones y los jóvenes comprendidos entre los 18 y 24 años los que presentan las mayores tasas de consumo. Mientras tanto, el 2,7% de los adolescentes de 12 a 17 años consumió cannabis durante el año 2017 (22).

Actualmente se sabe que el consumo de cannabis en la adolescencia está asociado con un déficit cognitivo (23). Está demostrado que los usuarios persistentes de cannabis muestran deterioro neuropsicológico de la niñez a la vida adulta. Prueba de ello son estudios actuales que en forma prospectiva evalúan el coeficiente intelectual de usuarios de cannabis antes de consumir y posteriormente en la vida adulta (14, 24, 25). En la Figura 9 se observa el cambio en el coeficiente intelectual a gran escala (en unidades de SD) desde la infancia hasta la edad adulta entre los miembros de un estudio con 1, 2 o más de 3 diagnósticos de dependencia del cannabis en función de la edad de inicio de la dependencia del cannabis. Las personas con dependencia del cannabis de inicio en la adolescencia (barras negras) experimentaron una mayor disminución del coeficiente intelectual que las personas con dependencia del cannabis de aparición en adultos (barras grises). La disminución del coeficiente intelectual de aproximadamente -0,55 unidades SD entre los individuos con dependencia del cannabis de inicio en la adolescencia en el grupo 3+ representa una disminución de 8 puntos de CI.

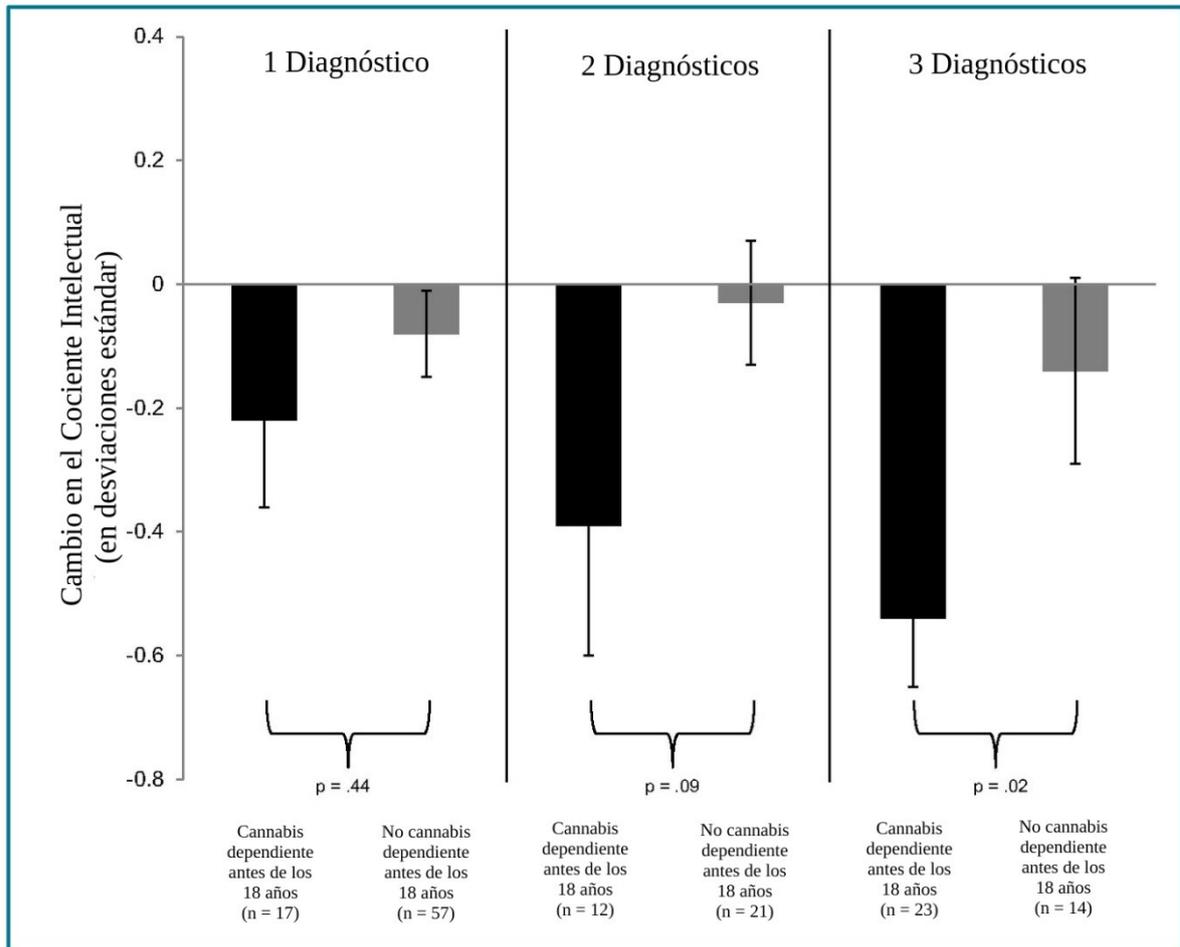


Figura 9. Vulnerabilidad adolescente. Cambios en el coeficiente intelectual de usuarios de cannabis con 1, 2, y 3 o más diagnósticos de dependencia de cannabis. Fuente: (24).

Por lo tanto, a través de estos estudios vemos como el cannabis interfiere en el desarrollo del cerebro adolescente de tal manera que resulta en una capacidad cognitiva menor. Examinando el siguiente estudio (Figura 10) con imágenes obtenemos una perspectiva de cómo puede el cannabis interferir a nivel cerebral (15).

Los hallazgos en la investigación muestran que aquellos individuos que consumieron cannabis durante la adolescencia tienen una conexión inadecuada en ciertas áreas cruciales del cerebro relacionadas con la memoria. Por ejemplo, hay fibras axonales que están disminuidas en un 80% en los consumidores de cannabis antes de los 18 años de edad, durante la adolescencia; y también en el precuneo, que es un área que coordina la información que llega de todas partes del cerebro. Por lo tanto, esta disminución de las fibras de conexión, que es la manera en la cual nuestro cerebro se comunica, es probablemente una de las razones por las cuales el consumo de cannabis durante la adolescencia está asociado a la disminución de las capacidades cognitivas del individuo (26).

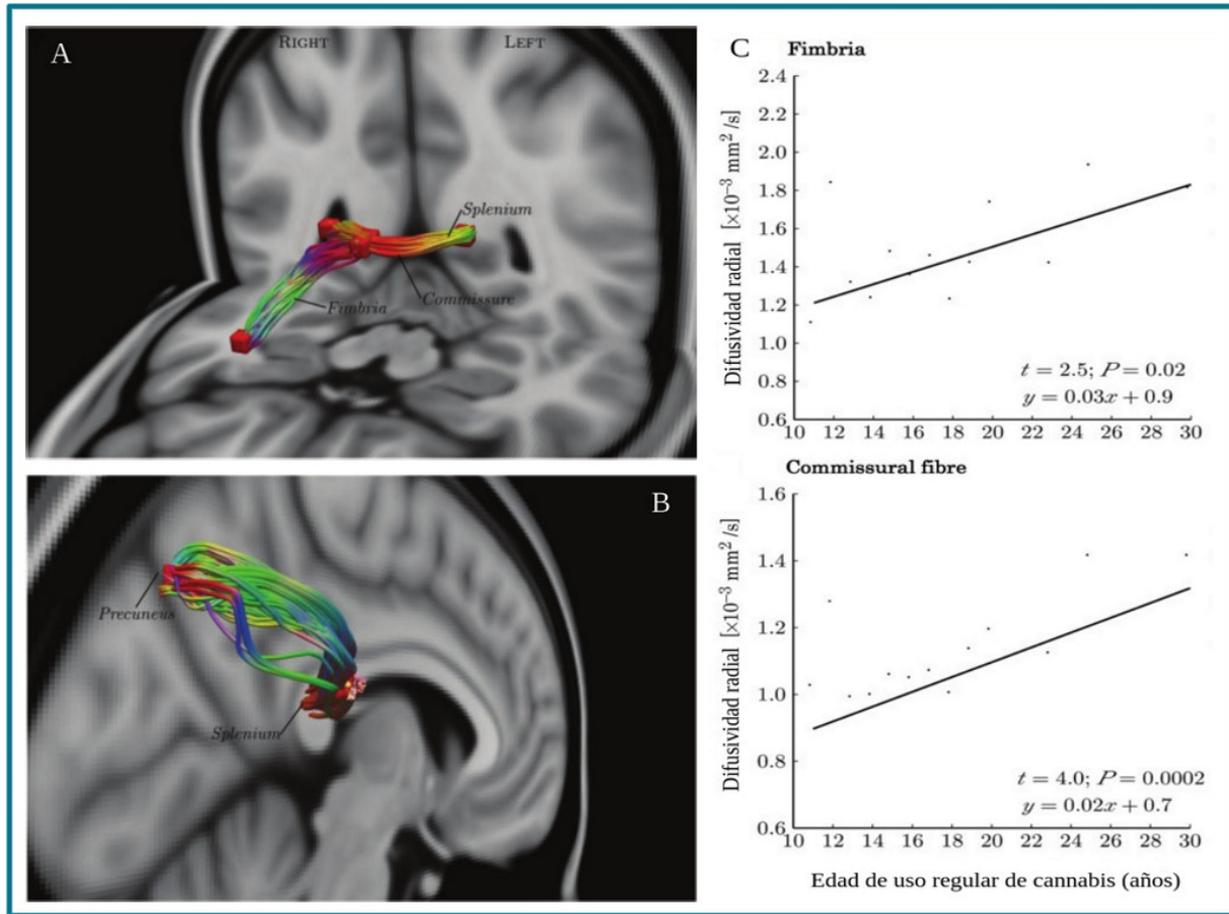


Figura 10. El consumo precoz y prolongado de marihuana antes de los 18 años disminuye la conectividad de las fibras de los axones. Fuente: (26).

Notas. A y B, vistas oblicuas del hipocampo, comisura hipocampal y *splenium*. C, correlación entre edad de comienzo de uso de cannabis y difusividad axial y radial en la fimbria.

La evidencia sugiere que, junto con otros daños, el cannabis es un factor de riesgo significativo en la etiología de la psicosis. Los adolescentes son más vulnerables al uso de cannabis, y debido a su etapa de desarrollo mental, los efectos cognitivos son más pronunciados. Se piensa que el mecanismo para este cambio es neuroquímico con un efecto más fuerte en aquellos con una predisposición para la psicosis (20).

Numerosos estudios, como los que se muestran a continuación (Figura 11), avalan esta asociación del cannabis con enfermedades mentales teniendo en cuenta factores determinantes como la frecuencia de consumo, la edad de inicio, factores genéticos y el contenido de THC.

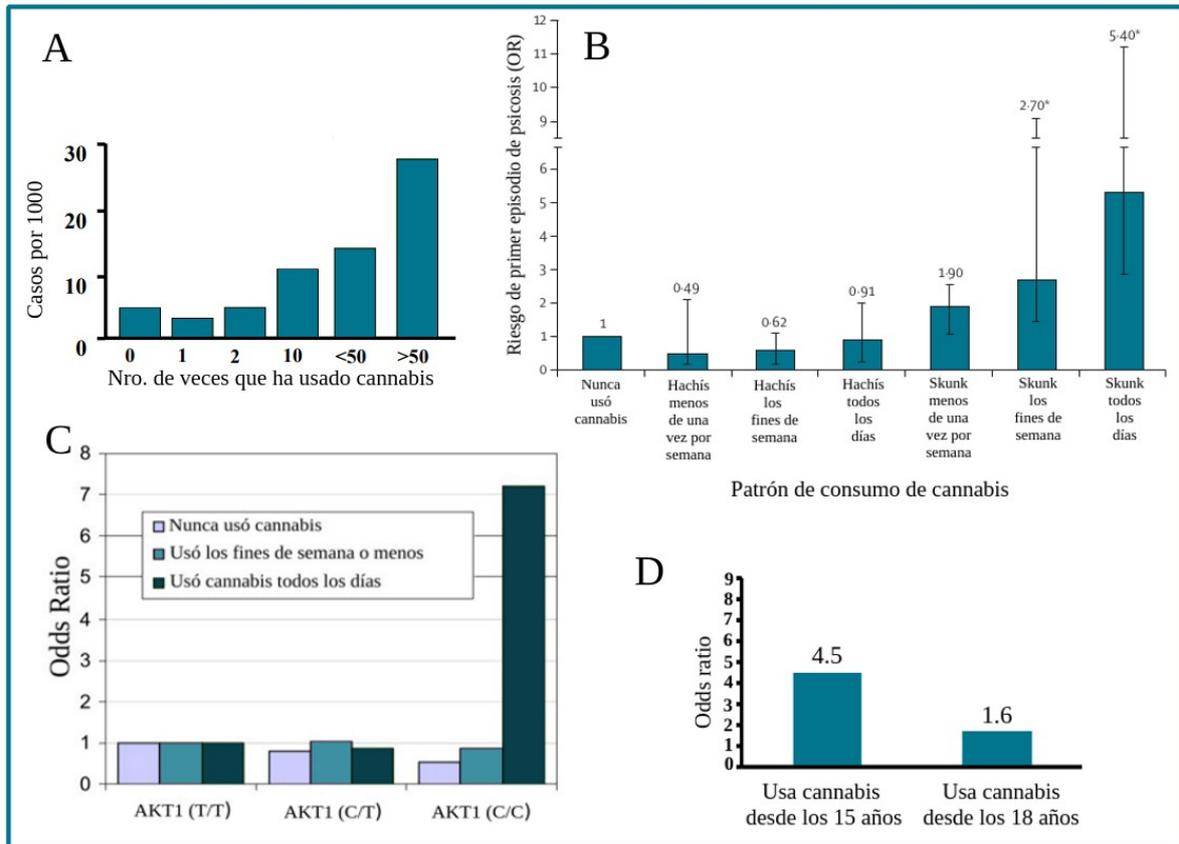


Figura 11. Asociación del cannabis con enfermedades mentales. Fuente: (27, 28, 29, 30).

Notas. A, correlación entre uso de cannabis y casos de psicosis, B, riesgo de primer episodio de psicosis según patrón de consumo de cannabis, C, una variación genética de AKT1 influiría el riesgo de psicosis a causa del consumo de cannabis, D, incremento en el riesgo de psicosis en relación con el uso temprano de cannabis.

Por un lado, la investigación preclínica ha sido útil para confirmar los datos epidemiológicos que proporcionan evidencia de un vínculo entre la exposición adolescente al cannabis y el riesgo de desarrollar síntomas psicóticos más tarde en la vida, y por otro lado el verdadero desafío para la investigación preclínica es comprender por qué la exposición adolescente al cannabis representa un factor de riesgo para el inicio de la esquizofrenia (es un síndrome en el que múltiples factores genéticos y ambientales operan juntos, llevando al individuo al umbral de expresión del cuadro clínico característico) (31).

Para poder responder a este planteamiento es primordial centrarnos en la peculiaridad del cerebro adolescente. Durante la adolescencia, la tarea principal del cerebro es crear una ruta neuronal eficiente a través del refinamiento neuronal. Este proceso implica la pérdida masiva de sinapsis en las regiones neocorticales, la remodelación de la corteza prefrontal y los cambios de maduración en el hipocampo (31).

Se puede hipotetizar que la exposición de los adolescentes a los cannabinoides alteraría de alguna manera estos acontecimientos de maduración, lo que conduciría a un

cerebro adulto con modificación de la conectividad neuronal en áreas específicas del cerebro. De hecho, hay un acuerdo general de que los pacientes con esquizofrenia muestran anomalías del hipocampo y de la corteza prefrontal. Así las investigaciones que relacionan tales alteraciones con la exposición de los adolescentes a los cannabinoides podrían explicar los mecanismos que conducen al desarrollo de trastornos psicóticos inducidos por el cannabis (31).

Para comprender esta ruptura de los eventos madurativos dentro del sistema endocannabinoide durante la adolescencia como consecuencia del consumo de cannabis, se han desarrollado modelos animales, los cuales pueden ser sometidos a las manipulaciones ambientales y/o farmacológicas necesarias para identificar los vínculos causales (31). Estos estudios en animales por lo general apoyan los resultados obtenidos en la investigación con seres humanos, proporcionando evidencia directa de una relación causal entre la exposición a cannabinoides en los adolescentes y las anomalías en el desarrollo y el comportamiento. Así, en diferentes trabajos se da a conocer que la exposición de ratas macho adolescentes al THC indujo cambios duraderos en los perfiles de expresión de la proteína del hipocampo relacionados con cambios oxidativos y degenerativos, así como un deterioro en la plasticidad funcional y estructural concertada tanto en las neuronas como en la glía, en esta región del cerebro. Además, se presentaron en estos animales reducciones en la longitud y complejidad de la dendrita y en el número de espinas dendríticas en la circunvolución dentada del hipocampo (31).

Así mismo, ratas machos expuestas a Win-55,212-2 (cannabinoide sintético) durante la adolescencia exhibieron en la vida adulta una reducción en mGluR5 (receptor metabotrópico de glutamato 5) del hipocampo y niveles aumentados de MAGL (lipasa) y FAAH (aminohidrolasa de ácidos grasos); lo cual sugiere un aumento en la captación y degradación de endocannabinoides. En conjunto, estos datos sugieren que la exposición de los adolescentes a los cannabinoides afecta la red y la funcionalidad del hipocampo en la vida adulta, al menos en animales machos. Cuando se utilizaron ratas hembras, la exposición adolescente al THC indujo una significativa proliferación celular en la circunvolución dentada del hipocampo, así como también una menor longitud de sinapsis y menor eficiencia en toda la corteza prefrontal; lo que podría sugerir un efecto más profundo en este género (31).

Ahora bien, deberíamos preguntarnos por qué la exposición adolescente a cannabinoides es capaz de producir tales consecuencias de larga duración, mientras que no afecta a un cerebro adulto de manera similar. La explicación más concebible a este

planteamiento podría residir en el hecho de que el sistema endocannabinoide sufre procesos madurativos durante la adolescencia, y esta remodelación podría desempeñar un papel en la puesta a punto del refinamiento final de varios sistemas de neurotransmisores. Si este es el caso, una fuerte exposición en la adolescencia a los cannabinoides podría afectar profundamente las trayectorias de desarrollo de los diferentes componentes del sistema endocannabinoide, tales como los receptores (CB₁ y CB₂) y los niveles de endocannabinoides (anandamida y glicerol-2 araquinoil), provocando su desregulación e interfiriendo indirectamente en la conectividad final del cerebro (31).

Un biomarcador importante de la función cerebral en adolescentes consumidores de cannabis es el flujo sanguíneo cerebral (CBF). El *arterial spin labeling* es una técnica de imagen no invasiva que caracteriza el estado neurovascular y el CBF, lo que puede revelar factores contribuyentes a las alteraciones neuropatológicas (19). Una cuantificación del CBF puede ayudar a interpretar la señalización neuronal y el funcionamiento cognitivo y cualquier patología neurovascular asociada con el consumo de cannabis (32).

En distintos trabajos se menciona una disminución del CBF en las regiones de la circunvolución frontal medial, la ínsula izquierda, la circunvolución supramarginal izquierda y las regiones temporales izquierdas mientras el THC se está eliminando del cuerpo. Esto despierta una preocupación particular con respecto al neurodesarrollo adolescente, ya que la disminución de la perfusión puede corresponder a un mayor potencial de complicaciones neurofisiológicas y a un desarrollo obstaculizado. El flujo sanguíneo adecuado es probablemente crítico para los sutiles procesos de desarrollo en curso que continúan hasta la adolescencia tardía, incluyendo la poda sináptica y la mielinización (33).

INFLUENCIA DE LOS PATRONES DE CONSUMO DE CANNABIS SOBRE LA PROBABILIDAD DE INICIACIÓN CON OTRAS DROGAS ILÍCITAS (OID)

El concepto según el cual el uso de sustancias psicoactivas lícitas podría conducir al uso de drogas ilícitas se introdujo en la década de 1970. La teoría de puerta de enlace (*The Gateway Theory*, GT) sugiere que el tabaco y el alcohol podrían considerarse sustancias de entrada al uso de ciertas drogas ilícitas como el cannabis, la heroína o la cocaína (34, 35). Esta teoría se basa en una secuencia temporal que considera el inicio en el consumo de diferentes sustancias y la asociación estadística entre patrones de uso, y propone que la experimentación con sustancias al principio de la secuencia aumenta el riesgo de uso posterior de otras sustancias al final de la secuencia (36). Esto apunta a la existencia de trayectorias de uso definidas, también llamadas secuencias de acceso, que podrían constituir un factor de riesgo independiente para el uso creciente: un sujeto que ha consumido una sustancia dada tiene un mayor riesgo de uso posterior de otra sustancia, y este uso posterior es mejor explicado por la secuencia por la cual ha ingresado que por la oportunidad de uso (37). La GT está respaldada por dos tipos de evidencia: Por un lado, una secuencia temporal observada entre usos, el uso de drogas lícitas antes del uso de cannabis, que a su vez precede al uso de otras drogas ilícitas (OID) en la mayoría de los casos (38), y por el otro, la fuerza de las asociaciones entre el uso de drogas lícitas, el consumo de cannabis y el uso de OID (39, 40, 41).

Dado que la mayoría de las investigaciones sobre la GT solo han estudiado parte del fenómeno, en los últimos años se realizó un enfoque más global para describir la secuencia de uso de drogas y reforzar esta teoría. Para integrar las variables de uso de sustancias como un todo, teniendo en cuenta las influencias recíprocas entre el uso de diferentes sustancias y el desarrollo de trastornos de uso, los modelos de múltiples estados (MSM) aparecieron como las mejores herramientas para describir estos fenómenos (36). El MSM se puede definir como una generalización del proceso de supervivencia, en el que un evento final es el resultado, pero donde se identifican estados intermedios (42, 43). Se han aplicado modelos multiestado a los itinerarios de uso de sustancias entre adolescentes franceses y se ha publicado un estudio con un MSM para describir las transiciones entre el consumo de tabaco y cannabis y desde el inicio hasta el uso diario. Luego, utilizando los mismos datos, se probó una etapa adicional del proceso de uso de acuerdo con la GT: la transición del uso de cannabis al uso de OID. El objetivo de tal estudio fue describir las transiciones desde las diferentes etapas de consumo de

cannabis hasta la iniciación con OID, después del ajuste en el consumo de tabaco y alcohol (36).

Con una muestra final de 29363 adolescentes franceses y por medio de un exhaustivo análisis estadístico se llegó a la conclusión de que el riesgo de iniciación de OID pareció ser 21 veces mayor entre quienes experimentaron con cannabis y 124 veces mayor entre los consumidores diarios de cannabis que entre los no usuarios (36). El consumo de tabaco y alcohol se asoció con un mayor riesgo de pasar al inicio con cannabis. Los resultados de este estudio proporcionaron una confirmación de un proceso por etapas en el uso de drogas, mediado por el cannabis y que puede conducir a la experimentación con OID. Estos datos son compatibles con la literatura sobre la teoría de la puerta de enlace, pero van más allá al modelar toda la secuencia de uso. El experimentar con OID podría ser una consecuencia de la oportunidad inicial de consumir la droga ilícita más accesible, el cannabis (36).

CUANTIFICACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO DE CANNABIS EN MUESTRAS BIOLÓGICAS

El principal componente activo de *Cannabis Sativa* es el isómero 1-delta-9-tetrahidrocannabinol (THC). Después de fumar, el THC se absorbe rápidamente, se distribuye en los tejidos y posteriormente se acumula en la grasa corporal. El THC se metaboliza rápidamente, pero los metabolitos se eliminan lentamente. El THC circula unido mayoritariamente a fracciones de lipoproteínas y albúmina y desaparece con cierta rapidez del plasma, lo que dificulta su identificación en sangre como THC; se transforma en el hígado por metabolismo de primer paso al ácido 11-Nor-Delta-9 Tetrahidrocannabinol-9- Carboxílico y se elimina de manera conjugada con el ácido glucurónico. Aproximadamente 80-90% de la dosis se excreta en 5 días, 65-80% en heces y 20-35% en orina (44).

Las variaciones en la vía de administración y el vehículo de administración del fármaco pueden afectar el curso del tiempo y la magnitud de sus efectos, incluida la absorción y disponibilidad del fármaco en los fluidos biológicos.

Hay un tema de relevancia en estos últimos años, que es la aparición de nuevas sustancias psicoactivas (NSP), las llamadas “drogas de diseño”, caracterizadas por su heterogeneidad geográfica, su naturaleza de carácter transitorio y otras particularidades que no satisfacen los criterios requeridos por el control internacional (45). No obstante, los cannabinoides no son una excepción a esta regla. Se conocen varios cientos de compuestos que pertenecen al menos a 14 familias químicas distintas con estructuras totalmente diferentes entre sí y del THC, respecto al que también presentan diferente metabolismo y a veces mucha mayor toxicidad. Por lo tanto, estas nuevas sustancias significan nuevos riesgos toxicológicos sobre diversos órganos, nuevos retos analíticos para identificarlos y nuevos interrogantes para los toxicólogos para determinar su potencial identificación en los casos forenses (45, 46).

La matriz para la identificación de los compuestos cannabinoides es generalmente un espécimen biológico como un fluido corporal o un tejido sólido. El agente de interés debe existir en la matriz en una solución simple o debe estar unido a proteínas y otros constituyentes celulares. El reto es separar el agente tóxico con suficiente pureza y cantidad para permitir que sea caracterizado y cuantificado. Actualmente, las pruebas de drogas en la orina siguen siendo el método forense primario para detectar el consumo de cannabis. Sin embargo, la detección precisa del consumo reciente de cannabis es cada vez más importante. Con los avances en la tecnología analítica y la nueva investigación que informa la

interpretación de resultados, las pruebas de fluidos orales (OF) han ganado aceptación en las últimas décadas como una matriz biológica alternativa para detectar drogas en entornos forenses y clínicos (47). La prueba del fluido oral (OF) ofrece una recolección de muestras simple, rápida y no invasiva (47).

Las secreciones de las glándulas salivales se denominan saliva, mientras que el fluido oral (OF) consiste en saliva y otros desechos y productos alimenticios en la cavidad oral. Los adultos sanos producen entre 0,5 y 1,5 litros de saliva por día (48). El pH del fluido oral varía de 6,2 a 7,4, y se vuelve más alcalino cuando se estimula la secreción de saliva debido al aumento de la excreción de bicarbonato y posiblemente a una pérdida de dióxido de carbono disuelto (48, 49). La composición del fluido oral y la velocidad de flujo están influenciadas por el ritmo circadiano, los estímulos sensoriales, los cambios hormonales, la estimulación mecánica, el estado psicológico, la genética, la higiene bucal, los fármacos simpaticomiméticos y parasimpaticolíticos (anticolinérgicos) y las enfermedades sistémicas (50, 51). A su vez, la transferencia del fármaco de la sangre al fluido oral se ve afectada por la composición del mismo, la velocidad de flujo y el pH, así como por el pKa del fármaco, la unión a proteínas, la lipofilia, la configuración espacial y el peso molecular (52, 53). Después del tabaquismo, la insuflación, la administración sublingual y/u oral de fármacos, la mucosa oral se expone directamente a los fármacos, lo que produce concentraciones relativamente altas de fluido oral (54, 55, 56)

El proceso de capturar iones en el OF de los medicamentos que circulan en sangre produce concentraciones más altas de drogas en el OF. Este fenómeno ocurre debido al menor pH del OF en comparación con el de la sangre (~7,4): una vez en la sangre, las bases libres y no cargadas se difunden a través de las membranas hacia el OF y se ionizan a un pH más bajo, lo que reduce la difusión hacia la sangre y produce concentraciones del compuesto más altas en el OF que en la sangre (47).

Se ha investigado los cannabinoides y sus metabolitos de cannabis después de la administración de varios tipos de cannabis, aunque la mayor parte de la literatura científica se centra en el cannabis fumado (57, 58, 59, 60, 61). El THC en el humo o el vapor de cannabis contamina rápidamente la mucosa oral, lo que lleva a altas concentraciones del compuesto en el OF. Esto sugiere que el THC en OF está presente predominantemente por la contaminación de la mucosa oral en lugar de deberse a la transferencia desde la sangre (47).

Los daños asociados al consumo de drogas de comercio ilegal y otras sustancias psicoactivas incluyen de manera significativa las lesiones por accidentes de tráfico (LAT)

(62). Las pruebas de OF se han mostrado en los últimos años como un medio biológico útil tanto para mejorar el conocimiento del problema como para iniciar intervenciones preventivas de tipo disuasorio. A nivel de la UE existe cierta evidencia de su uso para estos fines. En España, asimismo, hay experiencia en el uso del OF para la detección de drogas y medicamentos en carretera (62).

Los dispositivos de colección de saliva se componen de un sistema colector y un tubo de transporte. El algodón colector recoge aproximadamente un máximo de 1 mililitro de fluido oral (en las mejores condiciones de salivación, ausencia de sustancias que impidan la secreción salivar...) y la muestra se deposita, una vez recogida, en el tubo de transporte que a su vez contiene una solución para preservar en óptimas condiciones la muestra de fluido oral hasta su llegada al laboratorio (63). Las muestras biológicas obtenidas durante el procedimiento deben mantener en todo momento los principios de conservación y custodia (62).

El traslado de las muestras debe realizarse normalmente de forma inmediata a laboratorios designados y homologados. Como norma general, las muestras deben conservarse a una temperatura de entre 2 y 8 °C. Si el envío se va a retrasar más de 36 horas, la muestra puede ser congelada a -20 °C, manteniendo la cadena de frío durante el transporte. La opción de utilizar metanol y evitar la cadena de frío es una alternativa con ventajas e inconvenientes (62). Existen ciertos dispositivos de colección de OF que no incorporan un tampón de conservación de la muestra en su fabricación. En estos casos la adición de un disolvente como el metanol puede mejorar tanto la conservación de las sustancias durante el transporte, como su posterior liberación del dispositivo en el laboratorio (64).

En cuanto a la prueba de confirmación, la reforma de la Ley de Enjuiciamiento Criminal en España (65) establece que debe ser realizada por laboratorios homologados. Es preciso que los laboratorios que participen en la confirmación de la prueba indiciaria o de cribado posean unos requisitos mínimos. En la experiencia de las pruebas realizadas en España, algunos de los criterios básicos que deberían incluirse son los siguientes:

a) Poseer instrumentación adecuada a los objetivos del análisis. En el caso de las drogas en saliva, el laboratorio debe contar con Cromatografía Gaseosa o Líquida acoplada a un detector selectivo de Masas en Tándem, es decir GC-MS/MS o LC-MS/MS.

b) Poseer medios humanos cualificados e infraestructuras adecuadas a los fines toxicológicos y legales de los análisis.

c) Disponer de métodos analíticos validados en muestras de saliva de acuerdo a los criterios normalizados de validación (ICH, FDA, etc.) y con límites de detección iguales o inferiores a los establecidos para los dispositivos, usando un volumen de muestra igual o inferior a 500 microlitros.

d) Utilizar métodos analíticos para cuantificar los niveles de, al menos, las siguientes sustancias: THC; cocaína y benzoilecgonina; anfetamina, metanfetamina, MDA, MDMA, y MDEA; 6-acetilmorfina (6-AM), morfina, y codeína.

e) Participar, al menos, en dos controles de calidad externos anuales de drogas en saliva a nivel cualitativo y cuantitativo, y obtener resultados adecuados (62).

Un aspecto relevante es que los laboratorios deberán cuantificar las sustancias enviadas en OF, así como los metabolitos activos u otras sustancias que sean precisas para una adecuada interpretación de los resultados y del consumo reciente de las sustancias investigadas. Dicha interpretación, además, podría incluirse en un informe toxicológico enviado a las policías actuantes (62).

En cuanto a la determinación analítica, toda prueba con fines forenses realizada con una técnica de cribado (prueba indiciaria) ha de ser confirmada siempre con otro método, generalmente más sensible y más específico, que emplee un sistema de detección diferente al anterior y generalmente de tipo cromatográfico. Con este análisis, desde un resultado positivo para un grupo o familia de droga de abuso obtenido en un sistema de *screening*, se concreta el tipo de droga del que se trata y se puede cuantificar la concentración hallada (62).

La técnica más empleada para este segundo análisis es la espectrometría de masas con un sistema previo de separación mediante cromatografía de líquidos o de gases. La espectrometría de masas es generalmente considerada como el *gold standard* gracias a su capacidad de proporcionar información estructural de las moléculas y de la información obtenida por el tiempo de retención. El tiempo de retención hace referencia a la coincidencia de los picos cromatográficos obtenidos en una muestra “problema” y los patrones reales del compuesto que se está investigando. La capacidad de un detector selectivo de masas para discriminar entre las diferentes moléculas depende del tipo de detector y tipo de ionización empleados, y de los propios compuestos que están siendo analizados. Pueden acoplarse dos espectrómetros de masa en serie para aumentar la sensibilidad y especificidad. El acoplamiento cromatografía de gases- espectrometría de masas (GC-MS) ha sido el método más utilizado hasta el momento para la determinación de drogas en diferentes medios

biológicos. Sin embargo, este procedimiento presenta diferentes limitaciones para acometer satisfactoriamente los análisis de un cierto número de drogas (y metabolitos) en muestras de saliva: es necesaria la derivatización de la muestra (lo que conlleva un mayor tiempo de análisis), no permite evaluar un gran número de moléculas en un solo análisis, y tiene dificultades para llegar a detectar niveles muy bajos de las sustancias presentes en el OF.

Es por ello que la cromatografía de líquidos-espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) se postula como la técnica de elección para este tipo de análisis (63). La extracción de las drogas de abuso de la muestra de OF es una etapa importante de cara a obtener unos resultados fiables en la confirmación del laboratorio. La situación habitual es que la cantidad de OF recolectada en sujetos bajo los efectos de drogas de abuso sea inferior a 0,5 ml. Es por ello que lo ideal es llevar a cabo un solo proceso extractivo para la totalidad de las sustancias. Existen dos métodos generales de extracción: extracción líquido-líquido y extracción en fase sólida (66). Cada una de ellas tiene sus ventajas y sus inconvenientes, así que cada laboratorio ha de realizar el tipo que más se adecue a sus posibilidades (62).

CANNABIS Y SEGURIDAD VIAL

Los accidentes de tráfico constituyen una importante carga sanitaria en todo el mundo. Este problema fue destacado en un informe de la OMS en 2004 (67). En 2012, Colorado y Washington se convirtieron en los primeros estados en legalizar las ventas minoristas de productos recreativos de marihuana para adultos mayores de 21 años (68). Estas tendencias en la adopción de la marihuana recreativa legal y la adopción previa de la marihuana medicinal legal han generado preocupaciones sobre las consecuencias no deseadas en la salud pública y la seguridad (68). Una posible consecuencia primaria no deseada de legalizar la marihuana recreativa es el aumento de la incapacidad de conducción relacionada con la misma (68).

Estudios epidemiológicos revisados en todo el mundo muestran que los cannabinoides están presentes en una proporción significativa de conductores muertos y heridos en accidentes de tráfico (69, 70). Datos recopilados entre los conductores en las carreteras nacionales de Estados Unidos muestran que las pruebas positivas para delta 9-tetrahidrocannabinol (THC) aumentaron de 8,6% en 2007 a 12,6% en 2013 y 2014, lo que representa un aumento relativo del 47% (71). Según estos datos, el aumento en los resultados positivos para consumo de marihuana corresponde al mayor aumento de entre todas las drogas probadas en controles de carretera. Investigaciones previas también sugieren enfáticamente que el consumo de marihuana perjudica la capacidad de conducir, particularmente entre usuarios ocasionales de marihuana, quienes pueden ser menos tolerantes al THC (72).

Ante problemas de este mismo tenor, en Europa se fijó el objetivo de reducir significativamente las muertes en accidentes de tráfico (50% menos muertes en la carretera en el período 2002-2010) (73). Para lograrlo, se han implementado diversas iniciativas. Como uno de los principales factores que afectan el rendimiento en la conducción es el consumo de sustancias psicoactivas, en la UE era necesario evaluar la prevalencia de conducción bajo la influencia del alcohol y otras drogas y medicamentos psicoactivos. El proyecto DRUID (conducir bajo la influencia de drogas, alcohol y medicamentos), financiado por la Unión Europea, se inició en 2006 e incluyó el uso de equipos de prueba de drogas en la carretera por parte de la policía (73).

Se han publicado numerosos estudios en las últimas décadas que tienen como objetivo examinar los efectos del cannabis tanto en la conducción simulada como en la carretera. Los recientes estudios en carretera y en simuladores han establecido un punto de corte en cuanto al cannabis y su efecto en las conductas de conducción. Investigaciones recientes continúan

demostrando que el cannabis, solo y acompañado de alcohol (74), perjudica una serie de medidas de rendimiento en la conducción (75). La forma predominante de alteración observada después de fumar cannabis sin otras sustancias es una variación en el comportamiento de los conductores en la carretera. Esta medida de comportamiento también es sensible al deterioro asociado con la fatiga y el consumo de alcohol. El uso de cannabis sin otras sustancias también se ha asociado con una mayor variabilidad en las conductas de acercamiento a un vehículo que va más adelante. Este es un hallazgo importante porque comúnmente se interpreta como un reflejo de la capacidad de percibir cambios en las velocidades relativas de otros vehículos y la capacidad de ajustar la propia velocidad en consecuencia, y sugiere una capacidad perceptiva deficiente. También se ha encontrado que el cannabis conduce a un mayor tiempo de reacción para responder en una tarea de toma de decisiones de emergencia (69).

Si bien se ha descubierto que el cannabis tiene una serie de efectos negativos en el rendimiento de conducción, se ha sugerido que las personas que experimentan los efectos del cannabis parecen ser conscientes de su deterioro y, cuando es posible, compensan, por ejemplo, disminuyendo la velocidad, centrando la atención y no toman riesgos (como adelantar). Sin embargo, los conductores no pueden compensar completamente la cantidad de efectos adversos en el comportamiento de conducción. Estos supuestos efectos compensatorios tienen un costo para el conductor, ya que el aumento del esfuerzo percibido después de fumar cannabis, tal vez al concentrar su atención, conduciría a una reducción de la capacidad de reserva. La seguridad se vería comprometida, particularmente en situaciones en las que el conductor se encuentra con eventos inesperados y/o cuando el conductor se encuentra en situaciones que requieren mayor carga mental o atención continua (69).

En términos generales, hay dos enfoques que se están investigando y utilizando en todo el mundo para detectar el consumo de drogas, incluido el consumo de cannabis, en la carretera. El primero, que se está incorporando más activamente, es la detección de drogas de abuso en muestras corporales. Las principales muestras bajo investigación son sangre, orina, sudor y saliva. El muestreo de sangre representa el medio más preciso para realizar análisis de drogas, sin embargo, no es un medio práctico para evaluar el uso de estas en la carretera. Aparte de los problemas prácticos de los controladores de detección masiva y la extracción de sangre en el campo, se necesitan al menos 24 horas para obtener una prueba de detección de drogas en la sangre, que no es adecuada para fines de detección en la carretera. Si bien se consideran muestras alternativas, la mayor parte del esfuerzo está dirigido hacia el desarrollo

de una medida del consumo de drogas basada en la saliva. La saliva ha sido identificada como el espécimen preferido por las fuerzas policiales y expertos en toda la Unión Europea. El segundo enfoque es determinar el deterioro relacionado con las drogas mediante la medición del desempeño en pruebas estandarizadas (69). Con respecto al primer enfoque, hay que tener en claro algunos lineamientos generales que definen al cannabis en cada espécimen.

Análisis de orina

Si bien la detección de drogas en la orina es un medio eficaz para detectar el uso reciente de drogas como la heroína (76), no es una buena medida del consumo reciente de cannabis. Aunque muchos otros metabolitos se excretan en la orina, es el carboximetabolito inactivo (THC-COOH) el que sirve como un objetivo para las pruebas de detección de drogas en la orina. La presencia de THC-COOH en la orina es útil como marcador para el uso previo de cannabis, pero no como un indicador de uso y deterioro (77, 78, 79, 80, 81). Por ejemplo, el uso crónico de cannabis puede detectarse durante más de 30 días después del consumo (82). También hay una variación sustancial en los niveles de THC-COOH en la orina entre los sujetos y entre las dosis (83). Actualmente se encuentran disponibles varios análisis de orina que proporcionan resultados en cuestión de minutos. Sin embargo, como se ha indicado, estos dispositivos aún no pueden detectar de manera confiable el consumo reciente de cannabis, y es probable que esto no sea posible a través del análisis de la orina.

Análisis del cabello

Muchos estudios han examinado la eficacia del análisis del cabello como medio para medir el uso de drogas (por ejemplo, 84, 85, 86, 87, 88). Si bien este método puede ser útil para las pruebas forenses *post mortem*, es poco probable que las pruebas de cabello sean un medio útil para evaluar el consumo de drogas en la carretera (69). Aparte de los problemas prácticos del análisis del cabello que se realiza en el camino, el análisis del uso de drogas en muestras de cabello solo indica la exposición o el consumo de drogas a largo plazo (89). También es difícil determinar los detalles del tiempo de uso y la dosis utilizada mediante este procedimiento (81). Por lo tanto, la presencia de un fármaco en una muestra de cabello no necesariamente será indicativo de un deterioro relacionado con el fármaco. Además, hay un

retraso de seis a ocho horas entre el uso de un medicamento y la aparición de rastros de ese medicamento en el cabello.

La mayor parte del fármaco detectable en el cabello no aparece hasta una o dos semanas después de su uso, después de que el tallo del cabello que contiene el fármaco crece más allá de la superficie de la piel (89). Tampoco se sabe cómo la edad, el sexo, la etnia y los diversos tratamientos capilares afectan los niveles de drogas en el cabello (81). La combinación de estos factores sugiere que no es probable que el análisis de drogas en el cabello sea una medida práctica y válida del consumo de drogas en el campo (69).

Análisis del sudor

Mientras que los fármacos detectables en la superficie de la piel pueden ser excretados de las glándulas sudoríparas, también pueden ser excretados a través de las glándulas sebáceas o el transporte de líquido transdérmico (90). Hay dos procedimientos generales de prueba de sudor. En el primero, el sudor se recoge típicamente con parches de sudor que permanecen en contacto con la piel durante 1-7 días, y luego se extrae el sudor para el análisis toxicológico (69). La segunda forma de prueba implica el análisis de muestras a través del uso de dispositivos en el sitio, como Drugwipe, que puede detectar drogas en sudor en minutos (69).

Se ha publicado una revisión de las aplicaciones del dispositivo de detección Drugwipe para pruebas de sudor (91). Drugwipe se ha utilizado para recoger el sudor de la frente, la palma, la axila y el cuello o la espalda. Se informó una falta de sensibilidad para las cuatro clases de drogas examinadas (opiáceos, cannabis, anfetaminas, cocaína). La proporción de falsos negativos fue del 27% para los opiáceos, del 75% para los cannabinoides, del 37% para las anfetaminas y del 24% para la cocaína. En menor medida, también se han encontrado falsos positivos para los cannabinoides (11%) y la cocaína (10%), pero esto se asoció con la recolección de sudor de la axila (91); y se ha sugerido que, hasta que se desarrollen nuevos anticuerpos con una mayor sensibilidad para el THC u opiáceos, Drugwipe no debe considerarse como una buena herramienta para la detección *in situ* de drogas de abuso en el sudor.

Las drogas pueden permanecer presentes durante hasta tres semanas en el sudor, por lo que no es posible determinar el momento del consumo de drogas y el período de deterioro. Se ha sugerido que, si bien las pruebas de sudoración pueden ser un medio apropiado de

detección de drogas para los presos con permiso de fin de semana, es probable que sea poco útil para las pruebas en el camino (90).

Análisis de fluido oral y evolución de los dispositivos

El fluido oral ha sido identificado como el tipo de muestra preferido para la detección de drogas en el camino en la Unión Europea hace varios años (92) y sigue siendo el medio preferido (93). Preferiblemente, los dispositivos deben proporcionar resultados de prueba claros e inequívocos dentro de cinco minutos. Los cinco tipos de drogas identificados en Europa, en orden de prioridad decreciente, fueron el cannabis, las benzodiazepinas, las anfetaminas, la cocaína y los opiáceos. Se prefirió un dispositivo que pudiera detectar estos cinco tipos de fármacos como parte de la prueba (92).

Hasta hace unos años, había pocos estudios de evaluación publicados de dispositivos de detección de OF (por ejemplo, 93, 94). Un modelo inicial del dispositivo RapiScan se evaluó en Melbourne mediante la comparación de tres mecanismos de examen del uso de drogas por parte de usuarios de drogas inyectables, que se sabe que son consumidores de una variedad de drogas (95). Los tres métodos examinados fueron: (1) autoinforme; (2) análisis de drogas en la sangre y (3) detección de saliva mediante el uso de un dispositivo de muestreo de saliva. El dispositivo RapiScan producido por Cozart Bioscience Limited se utilizó para analizar muestras de saliva con paneles de 5 medicamentos (número de catálogo CZR500, número de lote 19471, Exp. 07/2000). Estos paneles de medicamentos permitieron la detección de los siguientes cinco tipos de medicamentos como parte de la prueba: opiáceos, benzodiazepinas, cannabis (THC), cocaína y anfetaminas. Si bien se encontró THC en la sangre de 10 de los 13 participantes que informaron haber consumido cannabis recientemente (seis horas antes), no se obtuvieron resultados positivos de saliva con el dispositivo RapiScan (69). En el momento de realizar este estudio, el corte del dispositivo para THC era de 600 ng/ml. Se recomendó realizar trabajo adicional para refinar el dispositivo para mejorar la sensibilidad al THC. Los datos europeos también sugirieron que los primeros modelos de este dispositivo carecían de la sensibilidad para detectar de manera confiable el THC en el OF (96). Cabe señalar que la sensibilidad de estos dispositivos está mejorando constantemente.

Los primeros modelos de la prueba de detección Drugwipe también han sido evaluados en varios estudios realizados a finales de los años 90. Si bien se encontraron muy

pocos falsos positivos o negativos en las pruebas de cocaína y anfetaminas, se encontró una alta tasa de falsos positivos para los opiáceos (35%). Los resultados para los cannabinoides fueron los más pobres, con altas proporciones de falsos negativos (40%) y una tasa de falsos positivos tan alta como 28% (91). Sin embargo, no se especificaron los límites de detección del dispositivo para THC. Nuevamente, utilizando un modelo de dispositivo Drugwipe, en otro estudio (97) se tomó una muestra de 27 participantes que mostraban signos de intoxicación, de los cuales 15 informaron haber consumido cannabis recientemente. La sensibilidad superficial indicada del dispositivo fue de 50 ng/ml para THC, y se informaron tres falsos positivos y nueve falsos negativos entre los 15 participantes que informaron sobre el consumo reciente de cannabis. Se sugirió en ese momento que se requerían nuevos anticuerpos con una mayor sensibilidad al THC para mejorar la prueba de Drugwipe para el cannabis (91, 97). La mayoría de las investigaciones se han realizado en Europa como parte de un gran programa de investigación que se centra en las pruebas de drogas en la carretera. Este trabajo forma parte del proyecto ROSITA (Road Site Testing Assessment, traducido al más comprensible y familiar Rosita), un programa europeo coordinado por la Universidad de Gante y subvencionado por la UE. En él participan, además de las Policías de Tráfico española, alemana, holandesa y belga, investigadores forenses y de medicina legal de varios países. En el mismo se examinó la relación entre los niveles de fármacos en sangre, orina y saliva, utilizando una gama de dispositivos de detección de fármacos, en casi 3.000 muestras (96, 98). Esta investigación confirmó que las pruebas de OF son la alternativa más prometedora a los análisis de sangre para los medicamentos, pero concluyeron que las pruebas disponibles en ese momento no eran satisfactorias (70).

Actualmente y mediante estudios realizados en España (2015), como continuación del monitoreo del proyecto DRUID en toda Europa en el borde de la carretera, el dispositivo Dräger DrugTest® 5000 (Dräger Safety AG & Co, Lübeck, Alemania) se usa para la detección de fármacos utilizando concentraciones de corte para cannabinoides de 5 ng/ml, con una sensibilidad del 90% y una especificidad del 77%. Si bien en estos estudios se puede llegar a discutir una especificidad baja en relación a la sensibilidad, la confiabilidad de este dispositivo se considera altamente probada (73).

IMPLICANCIAS LEGALES EN EUROPA

Debido al impacto de “conducir bajo la influencia de las drogas” (DUI), uno de los riesgos de mortalidad en el mundo, varios países han adoptado legislaciones relativas a DUI basadas en el nivel de deterioro o en los límites analíticos (99). Vale aclarar que manejar mientras se está intoxicado (DWI) y manejar bajo la influencia de sustancias (DUI) en algunos estados son delitos separados. Generalmente, DWI es un delito más grave que involucra a una persona que se encuentra bajo una gran cantidad de intoxicación.

Aunque tanto las leyes como los procedimientos legales relacionados con DUI varían en todo el mundo, la mayoría comienza con una observación de signos externos de deterioro o presunto uso reciente de drogas por parte de un oficial de la policía (99). Varias jurisdicciones también proporcionan pruebas en el camino usando pruebas inmunológicas rápidas para detectar posibles sospechosos de DUI; por lo general, esta prueba en el sitio se realiza mediante OF (99). Sin embargo, generalmente las medidas judiciales finales solo se toman después de la confirmación posterior de estos resultados preliminares de detección mediante el análisis de un espécimen secundario del sospechoso (99). Esta muestra adicional se analiza mediante una técnica de laboratorio más específica; por lo general, la cromatografía líquida se utiliza en combinación con la espectrometría de masas. En la mayoría de los países, se extrae una muestra de sangre con el propósito de realizar este estudio confirmatorio (99).

Sin embargo, existen algunas variaciones: por ejemplo, el caso de Australia, que reemplazó el protocolo de confirmación por análisis de sangre por uno basado en un espécimen de líquido oral. Bélgica también ha seguido este ejemplo y recientemente ha aprobado una ley para permitir también la confirmación mediante líquido oral. Según la ley belga actual, el conductor será sancionado si el d9-tetrahidrocannabinol (THC) se detecta en el fluido oral en concentraciones más altas que los valores de corte especificados. Sin embargo, la legislación belga ha elegido una concentración de corte de THC de 5 ng/mL para la detección y 10 ng/mL para la confirmación en líquido oral puro, para asegurar la detección del consumo reciente de cannabis y para disminuir la posibilidad de procesamiento de un conductor debido a una contaminación pasiva de THC humo o THC residual en fumadores crónicos (99). Por lo tanto, para los conductores belgas, actualmente se aplica el siguiente procedimiento: una vez que la sospecha inicial de consumo reciente de drogas ha sido establecida por un oficial de la policía (basado en una lista de verificación de signos externos), el conductor es detenido en la carretera y se realiza una prueba de detección oral

inicial de fluidos (Drugwipe 5+, Securetec, Alemania) (99). Si la pantalla es positiva, se toman medidas administrativas inmediatas (inhabilitación de la conducción durante un mínimo de 12 horas hasta 15 días) y se recoge la muestra confirmatoria. Hasta hace unos años, este espécimen era sangre, sin embargo, debió ser reemplazado por OF a fines del 2012. Aunque el OF era un espécimen confirmatorio permitido en Bélgica, hasta el 2013 no se estaba utilizando oficialmente, ya que la legislación belga aún debía especificar un dispositivo de recolección de OF oficial (99). El OF es ahora obligatorio, en lugar de la recolección a través de la expectoración, debido a consideraciones prácticas respecto al entorno de carretera. Además, para un procedimiento legal, se debe usar un solo tipo de colector para todas las personas analizadas, ya que este colector tendrá un impacto en la concentración final del fármaco debido a los parámetros específicos del dispositivo, como la estabilidad del fármaco y los problemas de adsorción.

Es importante, en términos legales, aclarar que es necesaria una reforma del código penal en cada país, para que dicha prueba se encuentre reglamentada. En la ciudad de Córdoba, a la fecha, no se tienen registros de una reglamentación que se aplique de manera uniforme para controlar y sancionar el consumo de marihuana en conductores de vehículos.

CONCLUSIÓN

El objetivo fundamental de este trabajo fue abordar el problema del consumo de cannabis, clave para la identificación de sus efectos potenciales y su causalidad en los accidentes de tránsito, y observar cuáles son los lineamientos generales a nivel mundial con respecto a la relación entre consumo de cannabis y las políticas de seguridad vial. La presente revisión permite arribar a algunas conclusiones sobre el tipo de acciones convenientes en nuestro ámbito en materia de políticas de prevención y abordaje de problemas en la seguridad vial relacionados con el consumo de cannabis.

Durante la adolescencia, la tarea principal del cerebro es crear una ruta neuronal eficiente a través del refinamiento neuronal. Este proceso implica la pérdida de sinapsis, remodelación y cambios de maduración. La exposición de la población adolescente al cannabis altera acontecimientos de maduración, lo que conduce a un cerebro adulto con modificaciones de la conectividad neuronal en áreas específicas del cerebro, fundamentalmente áreas relacionadas con la memoria y aquellas que coordinan la información que llega de todas partes del cerebro (toma de decisiones y juicio). Por lo tanto, esta modificación de la conectividad neuronal, que es la manera en la cual nuestro cerebro se comunica, es probablemente una de las razones por las cuales el consumo de cannabis durante la adolescencia está asociado a la disminución de las capacidades cognitivas del individuo (31).

Sustancias psicoactivas como el tabaco y el alcohol pueden considerarse sustancias de entrada al uso de ciertas drogas ilícitas como el cannabis, la heroína o la cocaína. La existencia de trayectorias de uso definido (secuencias de acceso) podría constituir un factor de riesgo independiente para el uso creciente: un sujeto que ha consumido una sustancia dada tiene un mayor riesgo de uso posterior de otra sustancia; y este uso posterior es mejor explicado por la secuencia por la cual ha ingresado que por la oportunidad de uso (34, 35, 36, 37).

La detección precisa del consumo reciente de cannabis es cada vez más importante. Con los avances en la tecnología analítica y la nueva investigación que informa la interpretación de resultados, las pruebas de OF han ganado aceptación en las últimas décadas como una matriz biológica alternativa para detectar drogas en entornos forenses y clínicos;

ofreciendo una recolección de muestra simple, rápida y no invasiva. Así, el OF se ha convertido en el tipo de muestra preferido para la detección de drogas en la carretera (47).

Estudios epidemiológicos revisados en todo el mundo muestran que los cannabinoides están presentes en una proporción significativa de conductores muertos y heridos en accidentes de tráfico (69, 70). La forma predominante de alteración observada después de fumar cannabis sin otras sustancias, es una variación en el comportamiento del conductor en la carretera. Asimismo, el cannabis incrementa el tiempo de reacción para responder en una tarea de toma de decisiones de emergencia (69).

La implementación de protocolos a seguir, basados en la detección de drogas en la carretera, ya es un hecho en países de la U.E., así como en los Estados Unidos. Sería interesante realizar el estudio de la prevalencia en la población argentina (y más específicamente en nuestra provincia) de la presencia de cannabis en los conductores, con los dispositivos necesarios, constatando la utilidad de la muestra de OF para el THC. Por otro lado, vale destacar la necesidad de un protocolo a seguir cuando se detecta una conducción temeraria o cuando en un control de tráfico el conductor presenta signos de conducción bajo la influencia de sustancias, en los casos en que los tests de alcohol y de drogas rutinarios presentan resultados negativos.

Aunque el riesgo para la conducción en nuestro país no está establecido debido a la falta de estudios específicos para el cannabis, ya disponemos de datos clínicos y forenses que avalan su peligrosidad para la salud, con efectos que también pueden originar una conducción peligrosa (15, 17, 26, 31, 74, 75).

Es de público conocimiento la disponibilidad de cannabis en el mercado, y se sabe que es considerado como una sustancia inocua por gran parte de la población, en especial por los jóvenes (22). Esto facilita, junto con otros factores, niveles de consumo elevados, que constituyen un problema de salud pública preocupante que, en el caso de la conducción bajo su influencia, se extrapola a la seguridad vial, y supone también un peligro para los no consumidores.

REFERENCIAS

- 1 WORLD HEALTH ORGANIZATION, PROGRAMME ON SUBSTANCE ABUSE. *Cannabis: A health perspective and research agenda*. Ginebra, 1948.
- 2 UNIDAD DE SEGUIMIENTO DE POLÍTICAS PÚBLICAS EN ADICCIONES. *Sobre el control vial de drogas en muestras de saliva*. Buenos Aires, 2010.
- 3 GUZMÁN, M., and GALVE-ROPERH, I. Endocannabinoides: un nuevo sistema de comunicación en el cerebro. In MIRAS-PORTUGAL, M. T. and RODRÍGUEZ-ARTALEJO, A. (Eds.) *Avances en neurociencia: Neurotransmisores y patologías nerviosas*. Madrid: Instituto de España, 2009, p. 177-194. ISBN: 978-84-936890-2-5
- 4 KATONA, I., and FREUND, T. F. Multiple functions of endocannabinoid signaling in the brain. *Annual Review of Neuroscience* [en línea]. Julio 2012, vol. 35, n° 1 [citado 16 Diciembre 2019], p. 529-558. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062111-150420>>
- 5 HURD, Y. L., MICHAELIDES, M., MILLER, M. L., et al. Trajectory of adolescent cannabis use on addiction vulnerability. *Neuropharmacology* [en línea]. Enero 2014, vol. 76, part B [citado 16 Diciembre 2019], p. 416-424. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.07.028>>
- 6 VOLKOW, N. D., BALER, R. D., COMPTON, W. M., et al. Adverse health effects of marijuana use. *New England Journal of Medicine* [en línea]. Junio 2014, vol. 370, n° 23 [citado 16 Diciembre 2019], p. 2219-2227. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1056/nejmra1402309>>
- 7 HIRVONEN, J., GOODWIN, R. S., LI, C. T., et al. Reversible and regionally selective downregulation of brain cannabinoid CB1 receptors in chronic daily cannabis smokers. *Molecular Psychiatry* [en línea]. Junio 2012, vol. 17, n° 6 [citado 16 Diciembre 2019], p. 642-649. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1038/mp.2011.82>>
- 8 VOLKOW, N. D., SWANSON, J. M., EVINS, A. E., et al. Effects of cannabis use on human behavior, including cognition, motivation, and psychosis: A review. *Jama Psychiatry* [en línea]. Marzo, 2016, vol. 73, n° 3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 292-297. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2015.3278>>
- 9 VOLKOW, N. D., HAMPSON, A. J., and BALER, R. Don't worry, be happy: Endocannabinoids and cannabis at the intersection of stress and reward. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* [en línea]. Enero, 2017, vol. 57, n° 1 [citado 16 Diciembre 2019], p. 285-308. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010716-104615>>
- 10 VOLKOW, N. D., and BALER, R. Emergency department visits from edible versus inhalable cannabis. *Annals of Internal Medicine* [en línea]. Abril, 2019, vol. 170, n° 8 [citado 16 Diciembre 2019], p. 569-570. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.7326/M19-0542>>
- 11 MANZA, P., YUAN, K., SHOKRI-KOJORI, E., et al. Brain structural changes in cannabis dependence: Association with MAGL. *Molecular Psychiatry* [en línea]. Noviembre, 2019 [citado 16 Diciembre 2019]. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1038/s41380-019-0577-z>>
- 12 BLOOMFIELD, M. A. P., ASHOK, A. H., VOLKOW, N. D., et al. The effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol on the dopamine system. *Nature* [en línea]. Noviembre, 2016, vol. 539, n° 7629 [citado 16 Diciembre 2019], p. 369-377. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1038/nature20153>>
- 13 NATIONAL INSTITUTE ON DRUG ABUSE. *La dopamina y los sensores de placer* [en línea]. Presentación por N. Volkow. Noviembre, 2012 [citado 16 Diciembre 2019]. Disponible en Internet: <<https://youtu.be/EIsw-kC5yN8>>. Disponible también como parte de la página ¿Qué sabemos

- de la adicción? <<https://www.drugabuse.gov/es/node/4288>>. Página actualizada en septiembre de 2013.
- 14 HALL, W., and DEGENHARDT, L. The adverse health effects of chronic cannabis use. *Drug Testing and Analysis* [en línea]. Enero, 2014, vol. 6, n° 1-2 [citado 16 Diciembre 2019], p. 39-45. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1002/dta.1506>>
- 15 VOLKOW, N. D., WANG, G. J., FOWLER, J. S., et al. Addiction circuitry in the human brain. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* [en línea]. Febrero, 2012, vol. 52, n° 1 [citado 16 Diciembre 2019], p. 321-336. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010611-134625>>
- 16 VOLKOW, N. D., MICHAELIDES, M., and BALER, R. The neuroscience of drug reward and addiction. *Physiological Reviews* [en línea]. Octubre, 2019, vol. 99, n° 4 [citado 16 Diciembre 2019], p. 2115-2140. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1152/physrev.00014.2018>>
- 17 RAMOS-ATANCE, J. A., RUBIO-GÓMEZ, M., and DE MIGUEL-FERNANDEZ, R. Efectos producidos por el consumo de cannabis: Aspectos neuroquímicos. In RAMOS-ATANCE, J. A. (Ed.), *Aspectos psiquiátricos del consumo de cannabis*. Madrid: SEIC, 2007, p. 11-24. ISBN: 978-84-690-3742-3.
- 18 SCHLICKER, E., and KATHMANN, M. Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends in Pharmacological Sciences* [en línea]. Noviembre, 2001, vol. 22, n° 11 [citado 16 Diciembre 2019], p. 565-572. Disponible en Internet: <[https://doi.org/10.1016/s0165-6147\(00\)01805-8](https://doi.org/10.1016/s0165-6147(00)01805-8)>
- 19 GIUFFRIDA, A., PARSONS, L. H., KERR, T. M., et al. Dopamine activation of endogenous cannabinoid signalin in dorsal striatum. *Nature Neuroscience* [en línea]. Abril, 1999, vol. 2, n° 4 [citado 16 Diciembre 2019], p. 358-363. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1038/7268>>
- 20 SHAPIRO, G. K., and BUCKLEY-HUNTER, L. What every adolescent needs to know: Cannabis can cause psychosis. *Journal of Psychosomatic Research* [en línea]. Diciembre, 2010, vol. 69, n° 6 [citado 16 Diciembre 2019], p. 533-539. . Disponible en Internet: <<https://10.1016/j.jpsychores.2010.04.002>>
- 21 GUIDET, C., GREGOIRE, M., LE DREAU, A., et al. Cannabis intoxication after accidental ingestion in infants: Urine and plasma concentrations of Δ -9-tetrahydrocannabinol (THC), THC-COOH and 11-OH-THC in 10 patients. *Clinical Toxicology* [en línea]. Marzo, 2019, short communication [citado 16 Diciembre 2019], p. 1-3. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1080/15563650.2019.1655569>>
- 22 SEDRONAR. *Estudio Nacional en población de 12 a 65 años, sobre Consumo de Sustancias Psicoactivas. Informe de Resultados N° 1: Magnitud del consumo de sustancias a nivel nacional* [en línea]. Argentina: Presidencia de la Nación, 2017 [citado 16 Diciembre 2019]. Disponible en Internet: <<https://www.observatorio.gov.ar>>.
- 23 JACOBUS, J., and TAPERT, S. Effects of cannabis on the adolescent brain. *Current Pharmaceutical Design* [en línea]. Mayo, 2014, vol. 20, n° 13 [citado 16 Diciembre 2019], p. 2186-2193. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.2174/13816128113199990426>>
- 24 MEIER, M. H., CASPI, A., AMBLER, A., et al. Persistent cannabis users show neuropsychological decline from childhood to midlife. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [en línea]. Octubre, 2012, vol. 109, n° 40 [citado 16 Diciembre 2019], p. E2657-E2664. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1073/pnas.1206820109>>
- 25 VOLKOW, N. D., SWANSON, J. M., EVINS, A. E., et al. Effects of cannabis use on human behavior,

- including cognition, motivation, and psychosis: A review. *JAMA Psychiatry* [en línea]. Marzo, 2016, vol. 73, n° 3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 292-297. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2015.3278>>
- 26 ZALESKY, A., SOLOWIJ, N., YUCEL, M., et al. Effect of long-term cannabis use on axonal fibre connectivity. *Brain* [en línea]. Julio, 2012, vol. 135, n° 7 [citado 16 Diciembre 2019], p. 2245-2255. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1093/brain/aws136>>
- 27 ANDRÉASSON, S., ALLEBECK, P., ENGSTRÖM, A., et al. Cannabis and schizophrenia. A longitudinal study of Swedish conscripts. *Lancet* [en línea]. Diciembre, 1987, vol. 330, n° 8574 [citado 16 Diciembre 2019], p. 1483-6. Disponible en Internet: <[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(87\)92620-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(87)92620-1)>
- 28 DI FORTI, M., IYEGBE, C., SALLIS, H., et al. Confirmation that the AKT1 (rs2494732) genotype influences the risk of psychosis in cannabis users. *Biological Psychiatry* [en línea]. Noviembre, 2012, vol. 72, n° 10 [citado 16 Diciembre 2019], p. 811-816. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2012.06.020>>
- 29 ARSENAULT, L., CANNON, M., POULTON, R., et al. Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: Longitudinal prospective study. *BMJ* [en línea]. Noviembre, 2002, vol. 325, n° 7374 [citado 16 Diciembre 2019], p. 1212-1213. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1136/bmj.325.7374.1212>>
- 30 DI FORTI, M., MARCONI, A., CARRA, E., et al. Proportion of patients in south London with first-episode psychosis attributable to use of high potency cannabis: A case-control study. *The Lancet Psychiatry* [en línea]. Marzo, 2015, vol. 2, n° 3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 233-238. Disponible en Internet: <[https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(14\)00117-5](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(14)00117-5)>
- 31 RUBINO, T., and PAROLARO, D. Cannabis abuse in adolescence and the risk of psychosis: A brief review of the preclinical evidence. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* [en línea]. Julio, 2014, vol. 52 [citado 16 Diciembre 2019], p. 41-44. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.07.020>>
- 32 JACOBUS, J., GOLDENBERG, D., WIERENGA, C. E., et al. Altered cerebral blood flow and neurocognitive correlates in adolescent cannabis users. *Psychopharmacology* [en línea]. Agosto, 2012, vol. 222, n° 4 [citado 16 Diciembre 2019], p. 675-684. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1007/s00213-012-2674-4>>
- 33 TAKAHASHI, T., SHIRANE, R., SATO, S., et al. Developmental changes of cerebral blood flow and oxygen metabolism in children. *American Journal of Neuroradiology* [en línea]. Mayo, 1999, vol. 20, n° 5 [citado 16 Diciembre 2019], p. 917-922. Disponible en Internet: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10369366>>
- 34 KANDEL, D. Stages in adolescent involvement in drug use. *Science* [en línea]. Diciembre, 1975, vol. 190, n° 4217 [citado 16 Diciembre 2019], p. 912-914. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1126/science.1188374>>
- 35 KANDEL, D., and FAUST, R. Sequence and stages in patterns of adolescent drug use. *Archives of General Psychiatry* [en línea]. Agosto, 1975, vol. 32, n° 7 [citado 16 Diciembre 2019], p. 923-932. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1001/archpsyc.1975.01760250115013>>
- 36 MAYET, A., LEGLEYE, S., FALISSARD, B., et al. Cannabis use stages as predictors of subsequent initiation with other illicit drugs among French adolescents: Use of a multi-state model. *Addictive Behaviors* [en línea]. Febrero, 2012, vol. 37, n° 2 [citado 16 Diciembre 2019], p. 160-166. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2011.09.012>>

- 37 KANDEL, D. Drug policies: Improving the quality of the relevant debate. *Addiction* [en línea]. Junio, 2002, vol. 97, n° 6 [citado 16 Diciembre 2019], p. 655-657. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1046/j.1360-0443.2002.t01-2-00070.x>>
- 38 GUXENS, M., NEBOT, M., AND ARIZA, C. Age and sex differences in factors associated with the onset of cannabis use: A cohort study. *Drug and Alcohol Dependence* [en línea]. Mayo, 2007, vol. 88, n° 2-3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 234-243. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2006.10.018>>
- 39 GUXENSA, M., NEBOT, M., ARIZA, C. et al. Factors associated with the onset of cannabis use: a systematic review of cohort studies. *Gaceta Sanitaria* [en línea]. Mayo, 2007, vol. 21, n° 3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 252-260. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1157/13106811>>
- 40 KORHONEN, T., VAN LEEUWEN, A., REIJNEVELD, S., et al. Externalizing behavior problems and cigarette smoking as predictors of cannabis use: The TRAILS study. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry* [en línea]. Enero, 2010, vol. 49, n° 1 [citado 16 Diciembre 2019], p. 61-69. Disponible en Internet: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20215927>>
- 41 LESSEM, J. M., HOPFER, C. J., BRETT, C. H., et al. Relationship between adolescent marijuana use and young adult illicit drug use. *Behavior Genetics* [en línea]. Julio, 2006, vol. 36, n° 4 [citado 16 Diciembre 2019], p. 498-506. Disponible en Internet: <<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10519-006-9064-9>>
- 42 LANCAR, R., and FUNCK-BRENTANO, C. Exemple d'utilisation d'un modèle d'histoire de vie pour l'analyse d'un essai clinique en cardiologie [Survival analysis example based on an event history model from a clinical trial in cardiology]. *Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique* [en línea]. Diciembre, 1999, vol. 47, n° 6 [citado 16 Diciembre 2019], p. 613-618. Disponible en Internet: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10673595>>
- 43 MEIRA-MACHADO, L. F., CADARSO-SUÁREZ, C., and DE UÑA-ÁLVAREZ, J. tdc.msm: An R library for the analysis of multi-state survival data. *Computer Methods and Programs in Biomedicine* [en línea]. Junio, 2007, vol. 86, n° 2 [citado 16 Diciembre 2019], p. 131-140. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2007.01.010>>
- 44 ELKASHEF, A., VOCCI, F., HUESTIS, M., et al. Marijuana neurobiology and treatment. *Substance Abuse* [en línea]. Agosto, 2008, vol. 29, n° 3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 17-29. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1080/08897070802218166>>
- 45 SORIA, M. L. Conducción bajo la influencia de las nuevas sustancias psicoactivas. *Revista Española de Medicina Legal* [en línea]. Octubre, 2018, vol. 44, n° 43 [citado 16 Diciembre 2019], p. 169-175. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1016/j.reml.2017.11.001>>
- 46 RICHEVAL, C., WILLE, S. M. R., NACHON-PHANITHAVONG, M., et al. New psychoactive substances in oral fluid of French and Belgian drivers in 2016. *International Journal of Drug Policy* [en línea]. Julio, 2018, vol. 57 [citado 16 Diciembre 2019], p. 1-3. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1016/j.drugpo.2018.03.013>>
- 47 DESROSIERS, N. A., and HUESTIS, M. A. Oral fluid drug testing: Analytical approaches, issues and interpretation of results. *Journal of Analytical Toxicology* [en línea]. Julio, 2019, vol. 43, n° 6 [citado 16 Diciembre 2019], p. 415-443. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1093/jat/bkz048>>
- 48 PEDERSEN, A. M., BARDOW, A., BEIER-JENSEN, S., et al. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Diseases* [en línea]. Mayo, 2002, vol. 8, n° 3

- [citado 16 Diciembre 2019], p. 117-129. Disponible en Internet:
<<https://doi.org/10.1034/j.1601-0825.2002.02851.x>>
- 49 LEE, D., and HUESTIS, M. A. Current knowledge on cannabinoids in oral fluid. *Drug Testing and Analysis* [en línea]. Enero-Febrero, 2014, vol. 6, n° 1-2 [Special Issue: Cannabinoids part II: The current situation with cannabinoids] [citado 16 Diciembre 2019], p. 88-111. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1002/dta.1514>>
- 50 APS, J. K. M., and MARTENS, L. C. Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. *Forensic Science International* [en línea]. Junio, 2005, vol. 150, n° 2-3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 119-131. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.10.026>>
- 51 HUMPHREY, S. P., and WILLIAMSON, R. T. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *The Journal of Prosthetic Dentistry* [en línea]. Febrero, 2001, vol. 85, n° 2 [citado 16 Diciembre 2019], p. 162-169. Disponible en Internet:
<<https://doi.org/10.1067/mpr.2001.113778>>
- 52 CROUCH, D. J. Oral fluid collection: The neglected variable in oral fluid testing. *Forensic Science International* [en línea]. Junio, 2005, vol. 150, n° 2-3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 165-173. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.02.028>>
- 53 CHOO, R. E., and HUESTIS, M. A. Oral fluid as a diagnostic tool. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* [en línea]. Septiembre, 2011, vol. 42, n° 11 [citado 16 Diciembre 2019], p. 1273-1287. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1515/CCLM.2004.248>>
- 54 CONCEIRO, M., JONES, H. E., JOHNSON, R. E., et al. Preliminary buprenorphine sublingual tablet pharmacokinetic data in plasma, oral fluid, and sweat during treatment of opioid-dependent pregnant women. *Therapeutic Drug Monitoring* [en línea]. Octubre, 2011, vol. 33, n° 5 [citado 16 Diciembre 2019], p. 619-626. Disponible en Internet:
<<https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e318228bb2a>>
- 55 JENKINS, A. J., OYLER, J. M., and CONE, E. J. Comparison of heroin and cocaine concentrations in saliva with concentrations in blood and plasma. *Journal of Analytical Toxicology* [en línea]. Octubre, 1995, vol. 19, n° 6 [citado 16 Diciembre 2019], p. 359-374. Disponible en Internet:
<<https://doi.org/10.1093/jat/19.6.359>>
- 56 CONE, E. J., OYLER, J., and DARWIN, W. D. Cocaine disposition in saliva following intravenous, intranasal, and smoked administration. *Journal of Analytical Toxicology* [en línea]. Octubre, 1997, vol. 21, n° 6 [citado 16 Diciembre 2019], p. 465-475. Disponible en Internet:
<<https://doi.org/10.1093/jat/21.6.465>>
- 57 MILMAN, G., BARNES, A. J., SCHWOPE, D. M., et al. Cannabinoids and metabolites in expectorated oral fluid after 8 days of controlled around-the-clock oral THC administration. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [en línea]. Agosto, 2011, vol. 401, n° 2 [citado 16 Diciembre 2019], p. 599-607. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1007/s00216-011-5066-4>>
- 58 MILMAN, G., BARNES, A. J., SCHWOPE, D. M., et al. Disposition of cannabinoids in oral fluid after controlled around-the-clock oral THC administration. *Clinical Chemistry* [en línea]. Agosto, 2003, vol. 56, n° 8 [citado 16 Diciembre 2019], p. 1261-1269. Disponible en Internet:
<<https://doi.org/10.1373/clinchem.2009.141853>>
- 59 NEWMAYER, M. N., SWORTWOOD, M. J., ANDERSSON, M., et al. Cannabis edibles: Blood and oral fluid cannabinoid pharmacokinetics and evaluation of oral fluid screening devices for predicting Delta9-tetrahydrocannabinol in blood and oral fluid following cannabis brownie administration. *Clinical Chemistry* [en línea]. Marzo, 2017, vol. 63, n° 3 [citado 16 Diciembre

- 2019], p. 647-662. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1373/clinchem.2016.265371>>
- 60 HUESTIS, M. A., and CONE, E. J. Relationship of Delta 9-tetrahydrocannabinol concentrations in oral fluid and plasma after controlled administration of smoked cannabis. *Journal of Analytical Toxicology* [en línea]. Septiembre, 2004, vol. 28, n° 6 [citado 16 Diciembre 2019], p. 394-399. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1093/jat/28.6.394>>
- 61 MILMAN, G., SCHWOPE, D. M., GORELICK, D. A., et al. Cannabinoids and metabolites in expectorated oral fluid following controlled smoked cannabis. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry* [en línea]. Abril, 2012, vol. 413, n° 7-8 [citado 16 Diciembre 2019], p. 765-770. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1016/j.cca.2012.01.011>>
- 62 GONZÁLEZ-LUQUE, J. C., and QUINTELA-JORGE, O. La determinación de drogas en fluido oral en conductores de vehículos: ¿Se abre el camino a la intervención preventiva? *Revista Española de Drogadependencias* [en línea]. 2011, vol. 36, n° 3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 341-350. Disponible en Internet: <<https://www.aesed.com/es/revista>>
- 63 CONCHEIRO, M., DE CASTRO, A., QUINTELA, O., et al. Determination of illicit and medicinal drugs and their metabolites in oral fluid and preserved oral fluid by Liquid Chromatography-tandem Mass Spec-trometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [en línea]. Julio, 2008, vol. 391, n° 6 [citado 16 Diciembre 2019], p. 2329-2338. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1007/s00216-008-2135-4>>
- 64 KAUERT, G., IWERSEN-BERGMANN, S., and TOENNES, S. Assay of delta9-tetrahydro-cannabinol (THC) in oral fluid-evaluation of the Orasure oral specimen collection device. *Journal of Analytical Toxicology* [en línea]. Mayo, 2006, vol. 30, n° 4 [citado 16 Diciembre 2019], p. 274-277. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1093/jat/30.4.274>>
- 65 GOBIERNO DE ESPAÑA, MINISTERIO DE LA PRESIDENCIA, RELACIONES CON LAS CORTES E IGUALDAD, MINISTERIO DE GRACIA Y JUSTICIA. Decreto por el que se aprueba la Ley de Enjuiciamiento Criminal. *Boletín Oficial del Estado* [en línea]. España, Septiembre, 1882, n° 260 [citado 16 Diciembre 2019]. [Última actualización publicada el 06/10/2015]. Disponible en Internet: <<https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-1882-6036>>
- 66 BOSKER, W. M., and HUESTIS, M. A. Oral fluid testing for drugs of abuse. *Clinical Chemistry* [en línea]. Noviembre, 2009, vol. 55, n° 11 [citado 16 Diciembre 2019], p. 1910-1931. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.108670>>
- 67 ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. *Resumen: Informe mundial sobre prevención de los traumatismos causados por el tránsito* [en línea]. Editado por M. Peden et al. Ginebra, 2004 [citado 16 Diciembre 2019]. Disponible en Internet: <https://www.who.int/violence_injury_prevention/publications/road_traffic/world_report/summary_es.pdf>
- 68 DAVIS, K. C., ALLEN, J., DUKE, J., et al. Correlates of marijuana drugged driving and openness to driving while high: Evidence from Colorado and Washington. *PLOS ONE* [en línea]. Enero, 2016, vol. 11, n° 1 [citado 16 Diciembre 2019], p. e0146853. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146853>>
- 69 LENNE, M. G., TRIGGS, T. J., REGAN, M. A., and MONASH UNIVERSITY. *Cannabis and road safety: A review of recent epidemiological, driver impairment and drug screening literature* [en línea]. Clayton, Vic.: Monash University, Accident Research Centre, 2004, Report #231 [citado 16 Diciembre 2019]. Disponible en Internet: <<https://www.monash.edu/muarc/archive/our-publications/reports/muarc231>>
- 70 LEGRAND S. A., SILVERANS, P., DE PAEPE P., et al. Presence of psychoactive substances in injured

- Belgian drivers. *Traffic Injury Prevention* [en línea]. Julio, 2013, vol. 14, n° 5 [citado 16 Diciembre 2019], p. 461-468. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1080/15389588.2012.716881>>
- 71 BERNING, A., COMPTON, R., and WOCHINGER, K. *Results of the 2013-2014 National Roadside Survey of Alcohol and Drug Use by Drivers. Report DOT HS 812-118*. Washington, DC: National Highway Traffic Safety Administration, Office of Behavioral Safety Research, 2015.
- 72 HARTMAN, R. L., and HUESTIS, M. A. Cannabis effects on driving skills. *Clinical Chemistry* [en línea]. Marzo, 2013, vol. 59, n° 3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 478-492. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1373/clinchem.2012.194381>>
- 73 DOMINGO-SALVANY, A., HERRERO, M. J., FERNANDEZ, B., et al. Prevalence of psychoactive substances, alcohol and illicit drugs, in Spanish drivers: A roadside study in 2015. *Forensic Science International* [en línea]. Septiembre, 2017, vol. 278 [citado 16 Diciembre 2019], p. 253-259. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.07.005>>
- 74 LEGRAND, S. A., ISALBERTI, C., DER LINDEN, T. V., et al. Alcohol and drugs in seriously injured drivers in six European countries. *Drug Testing and Analysis* [en línea]. Marzo, 2013, vol. 5, n° 3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 156-165. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1002/dta.1393>>
- 75 DOWNEY, L. A., KING, R., PAPAFOOTI, K., et al. The effects of cannabis and alcohol on simulated driving: Influences of dose and experience. *Accident Analysis & Prevention* [en línea]. Enero, 2013, vol. 50 [citado 16 Diciembre 2019], p. 879-886. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1016/j.aap.2012.07.016>>
- 76 CONE, E. J., WELCH, P., MITCHELL, J. M., et al. Forensic drug testing for opiates: I. Detection of 6-acetylmorphine in urine as an indicator of recent heroin exposure; drug and assay considerations and detection times. *Journal of Analytical Toxicology* [en línea]. Enero, 1991, vol. 15, n° 1 [citado 16 Diciembre 2019], p. 1-7. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1093/jat/15.1.1>>
- 77 CROUCH, D. J., FRANK, J. F., FARRELL, L. J., et al. A multiple-site laboratory evaluation of three on-site urinalysis drug-testing devices. *Journal of Analytical Toxicology* [en línea]. Octubre, 1998, vol. 22, n° 6 [citado 16 Diciembre 2019], p. 493-502. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1093/jat/22.6.493>>
- 78 REBEKAH, K. H., CROUCH, D. J., and COOK, R. F. *Field test of on-site drug detection devices. Report DOT HS 809-192*. Washington, DC: National Highway Traffic Safety Administration, 2000.
- 79 SAMYN, N. *The place of saliva for roadside testing*. Trabajo presentado en la 15 Conferencia Internacional sobre Alcohol, Drogas y Seguridad Vial. Estocolmo, Suecia, 2000.
- 80 TOWT, J., TSAI, S. C., HERNANDEZ, M. R., et al. Ontrack Testcup: a novel, on-site, multi-analyte screen for the detection of abused drugs. *Journal of Analytical Toxicology* [en línea]. Octubre, 1995, vol. 19, n° 6 [citado 16 Diciembre 2019], p. 504-510. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1093/jat/19.6.504>>
- 81 WENNIG, R. Potential problems with the interpretation of hair analysis results. *Forensic Science International* [en línea]. Enero, 2000, vol. 107, n° 1-3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 5-12. Disponible en Internet: <[https://doi.org/10.1016/S0379-0738\(99\)00146-2](https://doi.org/10.1016/S0379-0738(99)00146-2)>
- 82 CONE, E. J. Saliva testing for drugs of abuse. *Annals of the New York Academy of Sciences* [en línea]. Septiembre, 1993, vol. 694, n° 1 [citado 16 Diciembre 2019], p. 91-127. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1993.tb18346.x>>

- 83 HUESTIS, M. A., MITCHELL, J. M., and CONE, E. J. Urinary excretion profiles of 11-nor-9-carboxy-delta 9- tetrahydrocannabinol in humans after single smoked doses of marijuana. *Journal of Analytical Toxicology* [en línea]. Octubre, 1996, vol. 20, n° 6 [citado 16 Diciembre 2019], p. 441-452. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1093/jat/20.6.441>>
- 84 COOPER, G. A., ALLEN, D. L., SCOTT, K. S., et al. Hair analysis: Self-reported use of "speed" and "ecstasy" compared with laboratory findings. *Journal of Forensic Sciences* [en línea]. Marzo, 2000, vol. 45, n° 2 [citado 16 Diciembre 2019], p. 400-406. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1520/jfs14694j>>
- 85 MONTAGNA, M., STRAMESI, C., VIGNALI, C., et al. Simultaneous hair testing for opiates, cocaine, and metabolites by GC-MS: A survey of applicants for driving licenses with a history of drug use. *Forensic Sciences International* [en línea]. Enero, 2000, vol. 107, n° 1-3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 157-167. Disponible en Internet: <[https://doi.org/10.1016/s0379-0738\(99\)00160-7](https://doi.org/10.1016/s0379-0738(99)00160-7)>
- 86 QUINTELA, O., BERMEJO, A. M., TABERNERO, M. J., et al. Evaluation of cocaine, amphetamines and cannabis use in university students through hair analysis: preliminary results. *Forensic Sciences International* [en línea]. Enero, 2000, vol. 107, n° 1-3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 273-279. Disponible en Internet: <[https://doi.org/10.1016/s0379-0738\(99\)00170-x](https://doi.org/10.1016/s0379-0738(99)00170-x)>
- 87 RICOSSA, M. C., BERNINI, M., and FERRAIR, F. Hair analysis for driving licence in cocaine and heroin users. An epidemiological study. *Forensic Sciences International* [en línea]. Enero, 2000, vol. 107, n° 1-3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 301-308. Disponible en Internet: <[https://doi.org/10.1016/s0379-0738\(99\)00173-5](https://doi.org/10.1016/s0379-0738(99)00173-5)>
- 88 TAGLIARO, F., VALENTINI, R., MANETTO, G., et al. Hair analysis by using radioimmunoassay, high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis to investigate chronic exposure to heroin, cocaine and/or ecstasy in applicants for driving licences. *Forensic Sciences International* [en línea]. Enero, 2000, vol. 107, n° 1-3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 121-128. Disponible en Internet: <[https://doi.org/10.1016/s0379-0738\(99\)00157-7](https://doi.org/10.1016/s0379-0738(99)00157-7)>
- 89 SPIEHLER, V. Hair analysis by immunological methods from the beginning to 2000. *Forensic Sciences International* [en línea]. Enero, 2000, vol. 107, n° 1-3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 249-259. Disponible en Internet: <[https://doi.org/10.1016/s0379-0738\(99\)00168-1](https://doi.org/10.1016/s0379-0738(99)00168-1)>
- 90 SACHS, H. *Place of sweat in drugs of abuse testing*. Trabajo presentado en la 15 Conferencia Internacional sobre Alcohol, Drogas y Seguridad Vial. Estocolmo, Suecia, 2000.
- 91 MURA, P., KINTZ, P., SAMYN, N., et al. *Applications of drugwipe in alternative specimens*. Trabajo presentado en la 15 Conferencia Internacional sobre Alcohol, Drogas y Seguridad Vial. Estocolmo, Suecia, 2000.
- 92 MOELLER, M., STEINMEYER, S., and ABERL, F. Operational, user, and legal requirements across EU member states for roadside drug testing equipment. In *Project Deliverable D2, ROSITA* [Contract DG VII PL98-3032] [en línea]. Germany: Institute for Legal Medicine, Saarland University, 1999 [citado 16 Diciembre 2019]. Disponible en Internet: <<https://trimis.ec.europa.eu/sites/default/files/project/documents/rositarep.pdf>>
- 93 VERSTRAETE, A. G. *Recent developments in roadside drug testing*. Trabajo presentado en la 17 Conferencia Internacional sobre Alcohol, Drogas y Seguridad Vial. Glasgow, Escocia, 2004.
- 94 WALSH, J. M., DE GIER, J. J., CHRISTOPHERSON, A. S., et al. Drugs and driving. *Traffic Injury Prevention* [en línea]. Septiembre, 2004, vol. 5, n° 3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 241-253. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1080/15389580490465292>>
- 95 LENNÉ, M., DIETZE, P., and DRUMMER, O. *An evaluation of a saliva-based drug screening device in*

Melbourne. Trabajo presentado en la Conferencia de Investigación, Políticas y Educación en Seguridad Vial. Brisbane, Australia, 2000.

- 96 VERSTRAETE, A., and PUDDU, M. Evaluation of Different Roadside Drug Tests. In *Project Deliverable D4, ROSITA Project* [Contract DG VII RO 98-SC.3032] [en línea]. Germany: Institute for Legal Medicine, Saarland University, 1999 [citado 16 Diciembre 2019]. Disponible en Internet: <<https://trimis.ec.europa.eu/sites/default/files/project/documents/rositarep.pdf>>
- 97 SAMYN, N., and VAN HAEREN, C. On-site testing of saliva and sweat with Drugwipe and determination of concentrations of drugs of abuse in saliva, plasma and urine of suspected users. *International Journal of Legal Medicine* [en línea]. Mayo, 2000, vol. 113, n° 3 [citado 16 Diciembre 2019], p. 150-154. Disponible en Internet: <<https://doi.org/10.1007/s004140050287>>
- 98 VERSTRAETE, A. G. *Roadside Drug Testing: The Results of the ROSITA Project*. Trabajo presentado en la 16 Conferencia Internacional sobre Alcohol, Drogas y Seguridad Vial. Montreal, Canadá, 2002.
- 99 WILLE, S. M. R., DI FAZIO, V., RAMÍREZ-FERNANDEZ, M., et al. Driving under the influence of cannabis: Pitfalls, validation, and quality control of a UPLC-MS/MS method for the quantification of tetrahydrocannabinol in oral fluid collected with StatSure, Quantisal, or Certus collector. *Therapeutic Drug Monitoring* [en línea]. Febrero, 2013, vol. 35, n° 1 [citado 16 Diciembre 2019], p. 101-111. Disponible en Internet: <[10.1097/ftd.0b013e318278dbe4](https://doi.org/10.1097/ftd.0b013e318278dbe4)>
- 100 FRAGUAS-SÁNCHEZ, A. I., FERNÁNDEZ-CARBALLIDO, A. M., and TORRES-SUÁREZ, A. I. Cannabinoides: Una prometedora herramienta para el desarrollo de nuevas terapias. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia* [en línea]. Septiembre, 2014, vol. 80, n° 3 [citado 16 Marzo 2020], p. 555-577. Disponible en Internet: <<https://anales.ranf.com/2014/vol3/HTML/files/assets/basic-html/index.html#1>>
- 101 HIRVONEN, J., ZANOTTI-FREGONARA, P., UMHAU, J. C., et al. Reduced cannabinoid CB1 receptor binding in alcohol dependence measured with positron emission tomography. *Molecular Psychiatry* [en línea]. Agosto, 2013, vol. 18, n° 8 [citado 16 de marzo 2020], p. 926-921. Disponible en internet: <<https://www.nature.com/mp>>
- 102 PASCUCCI, T., VENTURA, R., LATAGLIATA, E. C., et al. The medial prefrontal cortex determines the accumbens dopamine response to stress through the opposing influences of norepinephrine and dopamine. *Cerebral Cortex* [en línea]. Diciembre, 2007, vol. 17, n° 12, p. 2796-2804 [citado 16 Marzo 2020]. Disponible en internet: <<https://doi.org/10.1093/cercor/bhm008>>
- 103 DI CHIARA, G., and IMPERATO, A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats (amphetamine/cocaine/ethanol/nicotine/opiates). *Proceedures of the National Academy of Sciences USA* [en línea]. Julio, 1988, vol. 85, n° 14 [citado 16 Marzo 2020], p. 5274-5278. Disponible en internet: <<https://doi.org/10.1073/pnas.85.14.5724>>

