

**5ª REUNION NACIONAL
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE INVESTIGACION
SOBRE CANNABINOIDES**



**HOTEL FERNANDO III
Sevilla, 26-28 de Noviembre de 2004**

5ª Reunión Nacional

Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides

Sevilla, 26-28 de Noviembre de 2004

Programa científico de la reunión

Día 26 de Noviembre

- 12:00** **Entrega de la documentación**
- 12:30** **Inauguración:**
- Emilio Fernández Espejo (Comité Organizador)
 - Saturio Ramos Vicente (Vicerrector de Investigación de la Universidad de Sevilla)
 - José Antonio Ramos Atance (Presidente de la SEIC)
- 13:00** **Conferencia Invitada** (presentada por Emilio Fernández Espejo)
 THE ENDOCANNABINOID AND ENDOVANILLOID SIGNALLING SYSTEMS: TWO SIDES OF THE SAME COIN?. Vincenzo Di Marzo, Institute of Biomolecular Chemistry, Pozzuoli (NA), Italia
- 14:00** **Comida**
- 16:00-18:30** **1ª Sesión de comunicaciones: "CANNABINOIDES: QUÍMICA, BIOQUÍMICA Y FISIOLÓGIA"** (moderadores: Sara González y Diego Clemente)
- 16:00 O-1.1
 SÍNTESIS DE PIRAZOLCARBOXAMIDA DERIVADOS DE FENTANILO CON POTENCIAL ACTIVIDAD CANNABINOIDE Y OPIOIDE
Cristina Fernández-Fernández, Nadine Jagerovic, Pilar Goya, Luis F. Callado, J. Javier Meana
- 16:15 O-1.2
 ESTUDIO DE LAS ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE LOS NUEVOS ANTAGONISTAS DEL TRPV-1; IODO-ARVANIL y IODO-OLVANIL
Nieves Márquez, Luciano De Petrocellis, Antonio Macho, Nives Daddario, Giovanni Appendino, Eduardo Muñoz, Vincenzo Di Marzo

16:30 O-1.3

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE MIEMBROS DE LA FAMILIA DE LA IL-12 POR ANANDAMIDA

F. Correa, F. Docagne, L. Mestre, D. Clemente, C. Guaza

16:45 O-1.4

EXPRESIÓN Y FUNCIÓN DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE EN PROGENITORES NEURALES MULTIPOTENTES

Tania Aguado, Krisztina Monory, Javier Palazuelos, Nephi Stella, Benjamin Cravatt, Beat Lutz, Giovanni Marsicano, Zaal Kokaia, Manuel Guzmán, Ismael Galve-Roperh

17:00 O-1.5

MODULACIÓN DE LA OLIGODENDROGÉNESIS POR CANNABINOIDES.

A. Rubio-Araiz, A. Arévalo-Martín, J.M. Vela, C. Sánchez-Caro, F. Molina-Holgado, E. Molina-Holgado.

17:15 O-1.6

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE CICLOOXIGENASA-2 POR CANNABINOIDES EN CÉLULAS ENDOTELIALES CEREBRALES MURINAS.

L. Mestre, F. Docagne, F. Correa, D. Clemente, J. Borrell, C. Guaza

17:30 O-1.7

IMPLICACIÓN DE LOS SISTEMAS OPIOIDE Y SEROTONINÉRGICO EN CIERTOS EFECTOS DE LOS CANNABINOIDES RELACIONADOS CON ANSIEDAD Y RESPUESTA AL ESTRÉS.

EM Marco, L Pérez-Álvarez, B Fernández, N de Pedro, MP Viveros

17:45 O-1.8

MODULACION POR VENLAFAXINA DE LA TRANSDUCCION POR RECEPTORES CANNABINOIDES EN LA CORTEZA FRONTAL DE RATA: INFLUENCIA DE LA DOSIS Y DE LA VIA DE ADMINISTRACION.

E.M. Valdizán, E. Castro y A. Pazos

18:00 O-1.9

EL ANTAGONISTA *IN VIVO* DEL RECEPTOR CANNABINOIDE CB1 5-(4-CLOROFENIL)-1-(2,4-DICLOROFENIL)-3-HEXIL-1H-1,2,4-TRIAZOL (LH-21) REDUCE LA INGESTA DE COMIDA CON MAYOR POTENCIA QUE LA AUTOADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL.

Javier Pavón, Laura Hernández-Folgado, Ainhoa Bilbao, Andrea Cippitelli, Nadine Jagerovic, Antonia Serrano, Raquel Gómez, Miguel Navarro, Pilar Goya y Fernando Rodríguez de Fonseca

18:15 *Discusión General*

18:30 Pausa (café)

19:00-20:00 2ª Sesión de comunicaciones: "CANNABINOIDES: TOLERANCIA/DEPENDENCIA/ABSTINENCIA" (moderadores: Olga Valverde y Juan Antonio Flores)

19:00 O-2.1

MODULACIÓN DE MIEMBROS DE LA FAMILIA DE LAS MAP QUINASAS EN RESPUESTA AL TRATAMIENTO CRÓNICO Y LA ABSTINENCIA A Δ^9 -TETRAHIDROCANNABINOL.

A. Ozaita, A.M. Helbok, R. Maldonado

19:15 O-2.2

MODULACIÓN DE LA VÍA DE LAS MAPK POR TRATAMIENTOS AGUDO Y CRÓNICO CON CANNABINOIDES EN LA CORTEZA FRONTAL DE RATA *IN VIVO*

D. Moranta, S. Esteban, J.A. García Sevilla

19:30 O-2.3

PARTICIPACIÓN DE LOS RECEPTORES DE DOPAMINA D2 EN LOS EFECTOS AGUDOS Y CRÓNICOS DEL THC

C. Touriño, O. Ortiz, A Martín, R. Maldonado, O. Valverde y R. Moratalla

19:45 *Discusión General*

21:00 Cena

Día 27 de Noviembre

9:15-11:45 3ª Sesión de comunicaciones: "CANNABINOIDES: INTERACCION CON OTRAS DROGAS" (moderadores: Susana Ramiro y Fernando Berrendero)

9:15 O-3.1

LA INFUSIÓN LOCAL DEL LIGANDO CANNABINOIDE SR141716A EN EL NÚCLEO ACCUMBENS ROSTRAL INCREMENTA LOS EFECTOS REFORZADORES Y SENSIBILIZADORES DE LA MORFINA

S. Ramiro, J.A. Flores, B. Galán-Rodríguez, E. Fernández-Espejo

9:30 O-3.2

EFFECTOS DE UN TRATAMIENTO CRÓNICO CON EL AGONISTA CANNABINOIDE CP 55,940 EN RATAS JÓVENES, SOBRE AUTOADMINISTRACIÓN DE OPIÁCEOS Y OTRAS VARIABLES PSICOFISIOLÓGICAS, EN EDAD ADULTA

M. Biscaia, B. Fernández, C. García-Lecumberri, M.J. Delgado, M.P. Nava, E. Ambrosio, M.P. Viveros

9:45 O-3.3

LA AUSENCIA DE RECEPTORES CANNABINOIDES CB1 ALTERA LA AUTOADMINISTRACIÓN DE COCAÍNA

Soria G, Mendizábal V, Touriño C, Robledo P, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O

10:00 O-3.4

EL Δ^9 -TETRAHYDROCANNABINOL DISMINUYE LAS MANIFESTACIONES SOMÁTICAS Y MOTIVACIONALES DE LA ABSTINENCIA A LA NICOTINA EN RATÓN

Graciela N. Balerio, Ester Aso, Fernando Berrendero, Patricia Murtra, Rafael Maldonado

10:15 O-3.5

WIN 55,212-2, AGONISTA CANNABINOIDE DEL RECEPTOR CB₁ INCREMENTA Y MANTIENE LA RECAÍDA AL CONSUMO DE ALCOHOL

Lopez-Moreno J.A., González-Cuevas G., Rodríguez De Fonseca F., Gómez R., Crespo I., Trigo-Díaz J.M., Moreno Sanz G., Navarro M.

10:30 O-3.6

LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE ETANOL REDUCE LOS NIVELES DE ANANDAMIDA Y PALMITILETANOLAMIDA EN CEREBRO: CONTRIBUCIÓN DE LA AMIDOHIDROLASA DE ÁCIDOS GRASOS

Belén Ferrer, Francisco Javier Bermúdez-Silva, Ainhoa Bilbao, Irene Sanchez-Vera, Andrea Giuffrida, Antonia Serrano, Satish Khaturia, Miguel Navarro, Daniele Piomelli y Fernando Rodríguez de Fonseca

10:45 O-3.7

EFFECTOS DEL RIMONABANT (SR141716) SOBRE LA ABSTINENCIA A ALCOHOL EN RATAS WISTAR

Marina Rubio, Begoña Maestro, Rosario de Miguel, Maribel Cebeira, Javier Fernández-Ruiz, José A. Ramos

11:00 O-3.8

EL CORTEX PREFRONTAL PARTICIPA EN LA MODULACIÓN MEDIADA POR ENDOCANNABINOIDES DE LA INGESTA DE ALCOHOL EN LAS RATAS GENETICAMENTE PREDISPUESAS "AA"

A.C. Hansson, F.J. Bermúdez-Silva, H. Malinen, P. Hyytiä, I. Sanchez-Vera, R. Rimondini, F. Rodríguez de Fonseca, W. Sommer, M. Heilig

11:15 O-3.9

MODULACIÓN DEL SISTEMA INMUNE EN USUARIOS DE CANNABIS: COMPARACIÓN CON CONSUMIDORES CONCOMITANTES DE MDMA Y CONTROLES NO CONSUMIDORES DE DROGAS

S. Abanades, M. Farré, R. Pacifici, S. Poudevida, E. Menoyo, P. Zuccaro, S. Pichini, R. de la Torre

11:30 Discusión General

11:45 Pausa (café)

12:00 Visita guiada a Sevilla

14:00 Comida

16:00-18:00 4ª Sesión de comunicaciones: "CANNABINOIDES: APLICACIONES TERAPEUTICAS I" (moderadores: Marta Durán y Silvia Ortega)

16:00 O-4.1

CALIDAD CIENTÍFICA DE LOS ARTÍCULOS DE PERIÓDICO SOBRE EL USO TERAPÉUTICO DEL CANNABIS

E. Montané, M. Duran, D Capellà, A Figueras

16:15 O-4.2

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN ESPINAL DE UCM707 EN LA RESPUESTA A UN ESTÍMULO MECÁNICO DE NEURONAS DEL ASTA DORSAL DE LA MEDULA ESPINAL

Eva de Lago, Devi R. Sagar, Silvia Ortega, Mariluz López-Rodríguez, José A. Ramos, Javier Fernández-Ruiz, Victoria Chapman

16:30 O-4.3

ACTIVIDAD ANALGÉSICA DEL WIN 55212,2 EN UN MODELO DE DOLOR OROFACIAL EN RATA.

M.I. Martín, L. Navas, C. Goicoechea, D. Pascual

16:45 O-4.4

MECANISMOS DE INHIBICIÓN DEL VIH-1 POR EL ENDOVANILLOIDE/
ENDOCANNABINOIDE N-ARAQUIDONOIL-DOPAMINA

Rocío Sancho, Laureano de La Vega, Nives Daddario, Giovanni Appendino, Vincenzo Di Marzo y Eduardo Muñoz

17:00 O-4.5

CAMBIOS EN EL PATRÓN DE EXPRESIÓN DEL RECEPTOR CB₂ Y LA AMIDO
HIDROLASA DE ÁCIDOS GRASOS (FAAH) EN UN MODELO ANIMAL DE
ENCEFALITIS

C.Benito, W.K. Kim, I. Chavarria, M.R. Pazos, E. Núñez, C.J. Hillard, K. Mackie, R.M. Tolón, K. Williams, J. Romero

17:15 O-4.6

DEFICIT DE LA ACTIVIDAD ENDOCANNABINOIDE CEREBRAL Y POTENCIAL
TERAPÉUTICO DE LOS INHIBIDORES DEL TRANSPORTE DE
ENDOCANNABINOIDES EN RATAS CON ESCLEROSIS MULTIPLE

Ana Cabranes, Katerina Venderova, Eva de Lago, Filomena Fezza, Antonio Sánchez, Marta Valenti, Antonio García-Merino, José A. Ramos, Vincenzo Di Marzo, Javier Fernández-Ruiz

17:30 O-4.7

EL EFECTO NEUROPROTECTOR DE LOS CANNABINOIDES SOBRE LA MUERTE
NEURONAL INDUCIDA POR AMPA REQUIERE LA ACTIVACIÓN CONJUNTA DE
LOS RECEPTORES CB₁ Y CB₂. ¿IMPLICACIÓN EN LOS EFECTOS TERAPÉUTICOS
DE LOS CANNABINOIDES EN EL MODELO DE THEILER?

F. Docagne, E. Romero-Muñoz, D. Clemente-López, L. Mestre, F. Correa, C. Guaza

17:45 *Discusión General*

18:00 **Pausa (café)**

18:30 **Presentación del premio a la mejor publicación sobre cannabinoides
en el año 2004**

19:00 **Asamblea de la SEIC**

21:00 **Cena**

Día 28 de Noviembre

9:30-11:45 **5ª Sesión de comunicaciones: "CANNABINOIDES: APLICACIONES TERAPEUTICAS II"** (Moderadores: Beatriz Galán y José Martínez Orgado)

9:30 O-5.1

CARACTERIZACION DEL EFECTO NEUROPROTECTOR DEL WIN-55212 EN UN MODELO *IN VITRO* DE ENCEFALOPATIA HIPOXICO-ISQUEMICA NEONATAL
D. Fernández-López, A. Cárdenas, JC Leza, P. Lorenzo, MA. Moro, I. Lizasoain, J. Martínez Orgado

9:45 O-5.2

EL LIGANDO CANNABINOIDE AM404 (INHIBIDOR DE LA RECAPTACIÓN Y DEGRADACIÓN DE ANANDAMIDA Y AGONISTA VANILLOIDE) POSEE EFICACIA ANTIPARKINSONIANA, AUNQUE PRESENTA ACCIÓN "PSICÓTICA" ALTERANDO EL NORMAL FILTRADO SENSORIAL E INDUCE REFUERZO ADICTIVO EN RATAS

E. Fernández Espejo, F. El Banoua, I. Caraballo, J.A. Flores, B. Galán-Rodríguez, S. Ramiro

10:00 O-5.3

POTENCIAL NEUROPROTECTOR DE LOS CANNABINOIDES EN MODELOS ANIMALES DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON: IMPLICACION DE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE LOS CANNABINOIDES

Moisés García-Arencibia, Sara González, Eva de Lago, María Gómez, Mariluz Hernández, Raphael Mechoulam, José A. Ramos, Javier Fernández-Ruiz

10:15 O-5.4

INDUCCION DE RECEPTORES CB₂ CON FUNCION NEUROPROTECTORA EN RATAS CON ATROFIA ESTRIATAL INDUCIDA POR ADMINISTRACION DE MALONATO

Sara González, Estefanía Nuñez, Simone Finetti, Cristina Benito, Onintza Sagredo, Julián Romero, José Antonio Ramos, Javier Fernández-Ruiz

10:30 O-5.5

MECANISMO DE APOPTOSIS INDUCIDA POR THC EN UN MODELO DE CÉLULAS LEUCÉMICAS

Blanca Herrera, Arkaitz Carracedo, María Diez, Teresa Gómez del Pulgar, Manuel Guzmán, Guillermo Velasco

10:45 O-5.6

EXPRESIÓN GÉNICA DIFERENCIAL EN CÉLULAS DE GLIOMA CON DISTINTA SENSIBILIDAD A APOPTOSIS POR CANNABINOIDES

A. Carracedo, A. Egia, R. Villuendas, C. Blázquez, M.A. Piris, M. Guzmán, G. Velasco

11:00 O-5.7

CONTROL DEL CICLO CELULAR POR CANNABINOIDES: POSIBLES IMPLICACIONES TERAPÉUTICAS EN EL CÁNCER DE MAMA

M. M. Caffarel, D. Sarrió, J. Palacios, M. Guzmán y C. Sánchez

11:15 O-5.8

PROTOCOLO DEL ENSAYO CLÍNICO PILOTO, ALEATORIZADO, DOBLE CIEGO, DE GRUPOS PARALELOS, CONTROLADO CON PLACEBO, PARA EVALUAR LA EFICACIA PRELIMINAR Y SEGURIDAD DE UN EXTRACTO ESTANDARIZADO DE CANNABIS ADMINISTRADO POR VÍA SUBLINGUAL (SATIVEX) AÑADIDO AL TRATAMIENTO DE REFERENCIA PARA LA PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LAS NÁUSEAS Y LOS VÓMITOS TARDÍOS INDUCIDOS POR LA QUIMIOTERAPIA MODERADAMENTE EMETÓGENA

Duran M, Abanades S, de la Torre R, Farré M, Vidal X, Roca JM, Vázquez S, Cortés J, Rams R, Capellà D

11:30 *Discusión General*

12:00 **Pausa (café)**

12:30 **Clausura**

THE ENDOCANNABINOID AND ENDOVANILLOID SIGNALLING SYSTEMS: TWO SIDES OF THE SAME COIN?

Vincenzo Di Marzo

Endocannabinoid Research Group, Institute of Biomolecular Chemistry, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pozzuoli (NA), Italy, www.e-r-g.it

The major psychoactive component of *Cannabis sativa*, (-) Δ^9 -tetra-hydrocannabinol, activates two G-protein-coupled receptors, the cannabinoid CB₁ and CB₂ receptors, whose major function is to mediate the neuro- and immune-modulatory action, respectively, of endogenous compounds known as the “endocannabinoids”. While CB₁ receptors are widespread in mammalian tissues, CB₂ receptors appear to be restricted to the immune system, at least in healthy animals. Some endocannabinoids, such as *N*-arachidonylethanolamine (anandamide) and *N*-arachidonoyldopamine (NADA), activate not only CB₁ receptors but also the receptor for another plant-derived compound, capsaicin, the pungent principle of *Capsicum* sp. hot chilli peppers. This receptor, named vanilloid receptor type 1 (VR1), or transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) channel, is a six-transmembrane, non-selective cation channel activated also by other plant natural products. Its function in sensory unmyelinated fibers is that of a molecular transducer of nociceptive stimuli such as noxious heat ($T > 43^\circ\text{C}$) and protons ($\text{pH} < 6$). However, a wider role for TRPV1 in many other conditions, i.e. in the control of smooth muscle tone in the cardiovascular, respiratory and urinary systems, is emerging from recent studies that have demonstrated its presence also in non-neuronal cells.

It was recently shown that TRPV1 is expressed not only in sensory neurons, where it can be co-localized with CB₁ receptors, but also in brain areas containing high levels of CB₁ receptors and endocannabinoids. Since conditions such as $T \geq 43^\circ\text{C}$ and low pH are unlikely to occur in the CNS, the finding of TRPV1 in the brain supports the hypothesis that “endovanilloids” such as anandamide and NADA, and some of their congeners, could act as “central” physiological modulators for these channels. The potential co-localization of TRPV1 and CB₁ in the same or in neighbouring neurons opened several possibilities for the cross-talk between CB₁ and TRPV1, with functional consequences on functions such as neurotransmitter release and neuronal plasticity. Indeed, both receptors, often activated by the same endogenous substances, have been implicated not only in pain perception but also in the control of locomotion, memory, satiety and body temperature, as well as during pathological conditions such as neuronal damage, degeneration and death. Recent examples of how endogenously elevated anandamide levels activate TRPV1 instead of CB₁ receptors will be provided. Work carried out by my group revealed functional interactions between CB₁ and TRPV1 at the level of their intracellular signal transduction pathways when the two receptors are co-expressed in the same cell. Indeed, preliminary immunohistochemical data obtained in my laboratory indicate the co-localization of CB₁ and TRPV1 in several rat brain areas. Finally, data showing that anandamide behaves as an intracellular signal acting at TRPV1 before its release from sensory neurons will be discussed.

Although it met originally with the scepticism of some researchers in the field, the idea that TRPV1 receptors can be activated by fatty acid amides such as anandamide and NADA as efficaciously as CB₁ receptors under both physiological and pathological conditions, is gaining more and more support from several studies carried out independently in many laboratories. This new concept opens the possibility that CB₁ and TRPV1 act as metabotropic and ionotropic receptors for the same class of endogenous neuromodulators, and are therefore “two sides of the same coin”.

Further reading: Di Marzo, V., *Trends Pharmacol. Sci.*, 2001; Ross, R. *Br. J. Pharmacol.*, 2003; Ralevic, V. *Eur. J. Pharmacol.*, 2003; van der Stelt, M. and Di Marzo, V. *Eur. J. Biochem.*, 2004.

SÍNTESIS DE PIRAZOLCARBOXAMIDA DERIVADOS DE FENTANILO CON POTENCIAL ACTIVIDAD CANNABINOIDE Y OPIOIDE

Cristina Fernández-Fernández^a, Nadine Jagerovic^a, Pilar Goya^a, Luis F. Callado^b, J. Javier Meana^b

^a Instituto de Química Médica, C.S.I.C., C/ Juan de la Cierva 3, 28006, Madrid.

e-mail: cfdezjdez@iqm.csic.es

^b Dpto. Farmacología, Facultad Farmacia, Universidad del País Vasco, Campus Leioa, 48940 Leioa, Bizkaia.

Gracias a los esfuerzos realizados en el campo de los cannabinoides en los últimos años, se ha puesto de manifiesto la presencia de interacciones entre los dos sistemas: opioide y cannabinoide¹. A pesar de los numerosos años de investigación los opiodes continúan siendo reconocidos como los mejores analgésicos para el dolor fuerte en el campo de la clínica. Sin embargo, sus múltiples efectos secundarios, cuando son utilizados crónicamente, como la dependencia y la tolerancia han restringido su uso.

Así pues, conseguir disminuir el efecto de dependencia y tolerancia tiene un considerable interés en el campo de la analgesia. Estudios realizados en ratas han puesto de manifiesto la disminución del efecto de dependencia provocada por la administración de morfina gracias a la coadministración con SR141617A, un antagonista cannabinoide del receptor CB₁ exento de efecto analgésico².

La estrategia que proponemos consiste en incorporar en una misma molécula una antagonista cannabinoide y un derivado opioide con el fin de que se unan a dos tipos de receptores, en este caso concreto, al opioide μ y al cannabinoide CB₁. Este tipo de compuestos híbridos se denominan fármacos de acción dual. Basándonos en esta estrategia, se ha llevado a cabo la síntesis de los pirazolcarboxamida derivados de fentanilo cuya estructura se encuentra reflejada en la Figura 1. Para la unión de ambos motivos farmacofóricos se proponen diversos tipos de espaciadores: espaciador aromático, metilbencílico y cadenas alifáticas.

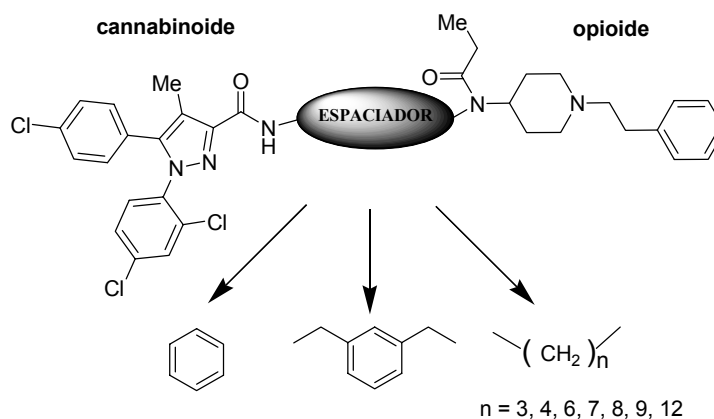


Figura 1

Aunque los resultados farmacológicos son todavía muy preliminares, se han encontrado compuestos que se unen a ambos tipos de receptores, el CB₁ y el μ . Se ha demostrado que la combinación de ambos motivos farmacofóricos no impide su unión a estos receptores

¹ Manzanares, Corchero, Romero, Fernandez-Ruiz, Ramos and Fuentes Pharmacological and biochemical interactions between opioids and cannabinoids. *Trends in Pharmacological Sciences* **1999**, *20*, 287-294.

² Mas-Nieto, Pommier, Tzavara, Caneparo, Da Nascimento, Le Fur, Roques and Noble. Reduction of opioid dependence by the CB(1) antagonist SR141716A in mice: evaluation of the interest in pharmacotherapy of opioid addiction. *Br J Pharmacol* **2001**, *132*, 1809-1816.

ESTUDIO DE LAS ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE LOS NUEVOS ANTAGONISTAS DEL TRPV-1; IODO-ARVANIL y IODO-OLVANIL

Nieves Márquez, Luciano De Petrocellis*, Antonio Macho, Nives Daddario[‡], Giovanni Appendino[‡], Eduardo Muñoz, Vincenzo Di Marzo*.

Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología, Facultad de Medicina. Avda. de Menendez Pidal s/n, 14004, Universidad de Córdoba; *Istituto di Chimica Biomolecolare y Istituto di Cibernetica, CNR, Pozzuoli (NA), Italia; [‡]Università degli Studi del Piemonte Orientale, Novara, Italia.

El sistema cannabinoide está compuesto por mediadores lipídicos (endocannabinoides y endovanilloides), por enzimas que regulan su metabolismo, y por receptores que median sus acciones biológicas (CB1, CB2 y TRPV-1). Estos mediadores lipídicos ejercen sus múltiples acciones biológicas tanto por mecanismos dependientes como independientes de su unión a receptores conocidos, lo cual es de especial importancia en diferentes situaciones patológicas como es el caso de la inflamación neurogénica.

Las N-Acyl-vanillamidas, como el Arvanil y el Olvanil, son un grupo de compuestos híbridos con actividad agonista sobre los receptores CB1 y TRPV-1, que inicialmente fueron desarrollados como inhibidores del elusivo transportador de Anandamida. Recientemente se ha descrito que la estrategia de modificar químicamente la estructura vanilloide cambia por completo la actividad biológica sobre el TRPV-1, convirtiendo los agonistas Nonivamide y Resiniferatoxina, en potentes antagonistas del TRPV-1. Esta estrategia de modificación es por tanto aplicable a estructuras del tipo N-acyl-vanillamidas que presentan actividades biológicas dependientes e independientes de los receptores TRPV-1 y CB1.

En este trabajo hemos estudiado el efecto de la modificación mediante iodinación del anillo vanilloide del Arvanil y el Olvanil sobre la activación del TRPV-1 humano, la ruta de activación de NF- κ B y sobre la proliferación y el ciclo celular de linfocitos T. Los resultados obtenidos indican que la iodinación del Arvanil y el Olvanil cambian radicalmente su actividad sobre el TRPV-1 siendo el I-Olvanil más potente que el I-Arvanil como antagonista del TRPV-1 (IC_{50} = 35 nM vs 51 nM, respectivamente, contra la capsaicina 100 nM). Sin embargo, la iodinación del Arvanil no afectó ni a su capacidad de inhibir la activación dependiente de antígeno en linfocitos T primarios, ni a su capacidad de inhibir la ruta canónica de activación de NF- κ B. En líneas T tumorales tanto el Arvanil como su análogo iodinado son capaces de inducir apoptosis por mecanismos independientes de TRPV1 y CB1. A diferencia del I-Arvanil, el I-Olvanil es bastante menos potente para ejercer efectos biológicos independientes de receptor. Por último es de resaltar que el efecto antagonista de estos análogos iodinados sobre el TRPV-1 es detectable a concentraciones del orden nanomolar mientras que el resto de sus actividades biológicas son observables con concentraciones en el rango micromolar.

El efecto antagonista sobre TRPV-1 sumado a su efecto sobre la respuesta inmune específica de antígeno hace que este tipo de compuestos sean muy interesantes a la hora de desarrollar nuevas moléculas con actividad terapéutica en patologías que cursan con inflamación y en donde el TRPV-1 juega un papel crucial.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE MIEMBROS DE LA FAMILIA DE LA IL-12 POR ANANDAMIDA

F. Correa, F. Docagne, L. Mestre, D. Clemente, C. Guaza.

Grupo de Neuroinmunología, Departamento de Plasticidad Neural, Instituto Cajal (CSIC), Madrid

Las citoquinas juegan papeles críticos en la regulación de las respuestas inmunes, incluyendo el desarrollo linfoide, homeostasis, diferenciación, tolerancia y memoria. IL-12, IL-23 e IL-27 forman parte de una nueva familia de citoquinas heterodiméricas con importantes funciones en la activación del sistema inmune en situaciones de inflamación. Estas citoquinas actúan de manera secuencial: IL-27 preactiva a linfocitos T vírgenes, IL-12 estimula a linfocitos vírgenes preactivados hacia una respuesta de tipo Th1 e IL-23 activa fundamentalmente a linfocitos T memoria. Muchas de las funciones de estas citoquinas pro-inflamatorias se solapan, y se cree que la disregulación de las mismas puede conducir a diferentes patologías, entre ellas algunas de carácter autoinmune. Así, se ha asociado a IL-12, y más recientemente a IL-23, con el desarrollo y mantenimiento de la respuesta autoinmune en el caso de la encefalomiелitis experimental aguda, la artritis reumatoide, o la enfermedad granulomatosa crónica.

Anandamida es un cannabinoide endógeno, cuya síntesis se activa en condiciones de inflamación, y que posee, como otros cannabinoide, algunas propiedades anti-inflamatorias. Nuestro grupo viene años trabajando en un modelo viral de esclerosis múltiple y hemos comprobado la expresión de mRNAs que codifican para citoquinas de la familia de la IL-12 en la médula espinal de animales infectados con el virus de Theiler. En el presente estudio se ha investigado si anandamida puede modular la inducción de estas citoquinas frente al estímulo inflamatorio de LPS/IFN γ en células microgliales. Para ello, se realizaron estudios de expresión de mRNA en presencia del estímulo con o sin anandamida. Además se han llevado a cabo estudios de la actividad del promotor de la subunidad p40 (compartida por IL-12 e IL-23) mediante ensayos de actividad luciferasa en células Raw.264.7.

Los resultados obtenidos indican que anandamida es capaz de regular la expresión de las distintas subunidades de estas citoquinas, y que el mecanismo de acción sería independiente de receptor.

EXPRESIÓN Y FUNCIÓN DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE EN PROGENITORES NEURALES MULTIPOTENTES

Tania Aguado¹, Krisztina Monory², Javier Palazuelos¹, Nephi Stella³, Benjamin Cravatt⁴, Beat Lutz², Giovanni Marsicano², Zaal Kokaia⁵, Manuel Guzmán¹, Ismael Galve-Roperh¹.

¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid.

²Max-Planck Institute of Psychiatry, Munich (Germany)

³Washington University, Seattle, (USA)

⁴The Skaggs Institute for Chemical Biology and Department of Cell Biology, The Scripps Research Institute, La Jolla, (USA)

⁵Laboratory of Neural Stem Cell Biology, Lund Strategic Research Center for Stem Cell Biology and Cell Therapy, University Hospital, Lund (Sweden)

La existencia de neurogénesis en el cerebro adulto, tanto en la zona subgranular del giro dentado del hipocampo como en la zona subventricular, viene condicionada por la existencia de progenitores neurales multipotentes así como por los sistemas de señalización responsables de regular su capacidad de proliferación y diferenciación. Estos progenitores se caracterizan por su capacidad de autopropagación y diferenciación en los principales linajes celulares del sistema nervioso.

En el presente trabajo hemos analizado la expresión y funcionalidad del sistema endocannabinoide en progenitores neurales. Empleando cultivos de progenitores neurales no adherentes (neurosferas) observamos que éstos expresan el receptor CB₁, son capaces de producir los endocannabinoides anandamida y 2-araquidonoilglicerol, así como la enzima responsable de su degradación FAAH. De modo similar, se detectó la expresión de CB₁ y FAAH en progenitores neurales (nestina⁺) de la zona subgranular del giro dentado.

In vitro, el tratamiento con cannabinoides estimula la proliferación de los progenitores neurales como ponen de manifiesto las medidas de incorporación de BrdU, timidina tritiada o la expresión de Ki-67. Este aumento en la proliferación va acompañado de una mayor generación de neuroesferas. Además, el tratamiento continuado con cannabinoides durante pases sucesivos favorece el crecimiento exponencial de los progenitores neurales a través de un mecanismo dependiente del receptor CB₁. Así, la tasa de formación de neuroesferas primarias a partir de ratones CB₁^{-/-} es significativamente menor que la de ratones CB₁^{+/+}, y el SR141716 previene el efecto proliferativo de los cannabinoides.

In vivo, en los ratones CB₁^{-/-} se observó una reducción de la proliferación de los progenitores del giro dentado, así como una disminución de su diferenciación a células de astrogliá. De modo complementario, ratones *knock-out* para la FAAH (con elevados niveles de endocannabinoides) presentan un aumento en la proliferación que va acompañada de un aumento en la gliogénesis.

En conclusión, nuestros datos demuestran que el sistema endocannabinoide constituye un nuevo sistema endógeno de señalización implicado en la regulación de la proliferación y diferenciación de los progenitores neurales del hipocampo.

MODULACIÓN DE LA OLIGODENDROGÉNESIS POR CANNABINOIDES.

A. Rubio-Araiz, A. Arévalo-Martín, J.M. Vela, C. Sánchez-Caro, F. Molina-Holgado*, E. Molina-Holgado.

Unidad de Neurología Experimental, Hospital Nacional de Parapléjicos, Toledo, 45071.

*GKT School of Biomedical Sciences, King's College, London, UK.

Resultados previos han mostrado que los precursores de oligodendrocitos expresan el receptor cannabinoide CB1 y que su activación favorece la supervivencia celular en situaciones de privación de soporte trófico. Además, su administración a animales con una lesión inflamatoria desmielinizante potencia la remielinización. Dado que ésta sólo es posible a partir de precursores de oligodendrocitos y que estos se originan desde células indiferenciadas (precursores neurales) que expresan el receptor CB1, nuestro grupo está estudiando el papel de estos receptores en el proceso de oligodendrogénesis. Así, estamos evaluando las acciones que los compuestos cannabinoideos ejercen sobre el control de la supervivencia, proliferación, migración y diferenciación de los precursores neurales tanto *in vitro* como *in vivo*.

In vitro hemos observado que el tratamiento de neuroesferas potencia la proliferación de estas células e *in vivo* estamos evaluando los efectos del tratamiento con agonistas y antagonistas cannabinoideos en ratas durante el periodo clave de la oligodendrogénesis (desde el día 1 hasta el 15 post-natal).

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE CICLOOXIGENASA-2 POR CANNABINOIDES EN CÉLULAS ENDOTELIALES CEREBRALES MURINAS

L. Mestre, F. Docagne, F. Correa, D. Clemente, J. Borrell, C. Guaza
Grupo de Neuroinmunología, Dpto. Plasticidad Neural, Instituto Cajal (CSIC), Madrid.

Diversas enfermedades neuroinflamatorias del tipo de la esclerosis múltiple (EM) cursan con alteraciones de la barrera hematoencefálica (BHE). En este tipo de trastornos ha sido descrito un incremento en la expresión de la enzima ciclooxigenasa 2 (COX-2), implicada en la biosíntesis de prostaglandinas (PGs). Aunque COX-2, se expresa constitutivamente en poblaciones neuronales específicas en situaciones fisiológicas normales, es una proteína altamente inducible especialmente en respuesta a estímulos inmunoinflamatorios y puede jugar un papel crítico a nivel de la BHE regulando el flujo sanguíneo hacia el cerebro. En los últimos años ha aumentado el interés sobre la relación entre el sistema cannabinoide y la regulación de COX-2 y la producción de prostanoïdes. La inoculación intracraneal del virus de Theiler (TMEV) induce una encefalopatía aguda seguida de una infección persistente del sistema nervioso central dando lugar a una inflamación crónica desmielinizante que se considera como modelo de EM progresiva. En este trabajo hemos querido analizar la regulación por cannabinoïdes de la enzima COX-2 en células endoteliales cerebrales infectadas con TMEV.

Los resultados obtenidos muestran que los cultivos de células endoteliales cerebrales murinas (b.End 5) expresan niveles bajos de COX-2, pero la infección con TMEV (2×10^6 PFU/ml) genera un incremento significativo en la expresión de la proteína COX-2, y consecuentemente de PGE₂. El tratamiento pre-infección con el agonista cannabinoïde no selectivo Win 55,212-22 (25nM-1µM) modificó esta respuesta y a una dosis de 100nM, potenció significativamente la expresión de COX-2 inducida por TMEV.

Además, se ha observado que en células endoteliales (b.End5) en reposo, el tratamiento con Win 55,212-22 (100nM) induce un incremento *per se* de la expresión de la enzima COX-2. Estos efectos parecen ser independientes de la activación de receptores CB1 y CB2 por Win 55,212-22. Por otra parte, otros tipos de cannabinoïdes como el abnormal cannabidiol o los endocannabinoïdes, anandamida y 2-araquidonil-glicerol no inducían cambios en la expresión de COX-2 en células endoteliales cerebrales tanto en situación de quiescencia como en el caso de la infección con TMEV. Hay que señalar sin embargo, que en ausencia de cambios en la expresión de COX-2, la adicción de dosis altas de anandamida (20µM) aumentó la producción de PGE₂.

Resulta preliminar valorar el significado fisiológico de los resultados anteriores en situaciones de neuroinflamación, para ello, se están realizando experimentos in vivo en el modelo de Theiler. Aunque es clásico el papel pro-inflamatorio de la COX-2 sobre la permeabilidad vascular y por tanto, la extravasación leucocitaria, la PGE₂ es capaz de regular algunas funciones inmunes como la regulación a la baja de la activación de macrófagos y microglía limitando por tanto la progresión de del proceso inflamatorio.

IMPLICACIÓN DE LOS SISTEMAS OPIOIDE Y SEROTONINÉRGICO EN CIERTOS EFECTOS DE LOS CANNABINOIDES RELACIONADOS CON ANSIEDAD Y RESPUESTA AL ESTRÉS

EM Marco, L Pérez-Álvarez, B Fernández, N de Pedro, MP Viveros
Departamento de Fisiología (Fisiología Animal II). Facultad de Biología. Universidad Complutense. 28040 Madrid.

Los numerosos estudios llevados a cabo en cuanto a los efectos psicofisiológicos de los cannabinoides muestran un panorama complejo e incluso, a veces, contradictorio, en particular, en lo que se refiere a los efectos sobre el estado emocional de los individuos.

En animales de experimentación se ha observado un perfil bidireccional en relación con los efectos de los cannabinoides sobre las respuestas de ansiedad: dosis bajas producen efectos de tipo ansiolítico, mientras que dosis altas se encuentran relacionadas con comportamientos de tipo ansiogénico. Es necesario mencionar la importancia del contexto y de la historia previa de cada individuo en la manifestación de las diversas respuestas comportamentales. Los mecanismos neurobiológicos subyacentes a este patrón bifásico de acción no han sido del todo esclarecidos. Sin embargo, los efectos de los agonistas cannabinoides sobre las respuestas relacionadas con ansiedad parecen implicar mecanismos mediados no sólo por receptores cannabinoides (CB₁ y no-CB₁), sino también, según nuestros datos y los de otros autores, por otros sistemas de neurotransmisión tales como el sistema opioide y/o el serotoninérgico. Por otro lado, existen datos concluyentes acerca de la implicación de los compuestos cannabinoides en la activación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA) en roedores. En concreto, los agonistas cannabinoides producen un incremento dependiente de dosis de los niveles séricos de corticosterona. Se ha visto además que los ratones mutantes que carecen del gen que codifica para el receptor CB₁ presentan un fenotipo ansiogénico así como profundas alteraciones del eje HHA. En consecuencia, parece plausible pensar que el sistema endocannabinoide juegue un papel crucial en la regulación de los estados emocionales, así como en los fenómenos de respuesta al estrés. Determinadas regiones cerebrales directamente implicadas en el control emocional contienen una elevada densidad de receptores CB₁, de manera que estas acciones de los agonistas cannabinoides podrían residir, al menos en parte, en localizaciones cerebrales concretas. En este sentido, hemos estudiado la posible relación entre determinados efectos comportamentales y endocrinos de una dosis ansiogénica del agonista cannabinoide CP 55,940 y los cambios del contenido de serotonina en determinadas regiones límbicas. En los últimos años ha surgido un interés creciente en cuanto a posibles aplicaciones terapéuticas de agentes cannabinoides. Un conocimiento más profundo acerca de las implicaciones funcionales del sistema cannabinoide puede contribuir a dilucidar las posibles alteraciones del mismo en condiciones patológicas y a facilitar terapias alternativas, basadas en la manipulación de este sistema, y útiles en el tratamiento de ciertas patologías. Entre dichas patologías podrían ocupar un papel relevante los desórdenes de ansiedad, tanto primarios como asociados a otras situaciones clínicas tales como el dolor crónico.

Agradecimientos: Los experimentos realizados por los autores han sido subvencionados por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (BFI2003-03101). EM Marco es becaria predoctoral del Ministerio de Educación y Cultura.

MODULACION POR VENLAFAXINA DE LA TRANSDUCCION POR RECEPTORES CANNABINOIDES EN LA CORTEZA FRONTAL DE RATA: INFLUENCIA DE LA DOSIS Y DE LA VIA DE ADMINISTRACION

E.M. Valdizán, E. Castro y A. Pazos.

Universidad de Cantabria, Facultad de Medicina. C/ Cardenal Herrera Oria, 39011, Santander.

A pesar de que las bases patogénicas de la depresión mayor no están totalmente resueltas, distintos estudios sugieren que los trastornos depresivos se asocian a un déficit en la neurotransmisión monoaminérgica cerebral. De hecho, la terapia antidepresiva actual se basa en la inhibición de la recaptación de serotonina (5-HT) y/o noradrenalina (NA). Además, el tratamiento crónico con antidepresivos en animales, demuestran que estos fármacos modifican los mecanismos de transducción acoplados a los receptores para 5-HT y NA.

La venlafaxina es un fármaco antidepresivo que inhibe la recaptación de 5-HT y NA, aunque el mecanismo de su acción antidepresiva no está totalmente aclarado. En estudios clínicos la venlafaxina ha mostrado una alta eficacia, incluso en depresiones resistentes al tratamiento y un menor periodo de latencia que los antidepresivos clásicos.

El sistema cannabinoide endógeno modula la actividad de varios sistemas de neurotransmisión, entre ellos el serotoninérgico y noradrenérgico. En relación con los trastornos depresivos, los receptores para cannabinoides (CB) han sido implicados en el mantenimiento del estado de ánimo. Datos de nuestro laboratorio sugieren que la capacidad funcional de los receptores CB₁ se encuentra incrementada en la corteza frontal *postmortem* de sujetos deprimidos libres de tratamiento antidepresivo. Sin embargo, hasta el momento los estudios sobre el estado de los receptores CB₁ tras tratamiento crónico con antidepresivos son escasos.

El presente estudio analiza el estado del mecanismo de transducción acoplado a los receptores CB₁ en la corteza frontal de ratas tratadas crónicamente con venlafaxina (10 y 40 mg/kg día, 14 días, minibombas osmóticas y 10 mg/kg/día 21 días, intraperitoneal). Para ello hemos valorado la inhibición de la adenililciclasa (AC) en respuesta a la estimulación de los receptores CB₁ con WIN55,212-2 (1 nM-100 μM).

La venlafaxina administrada durante 14 días en administración continua mediante minibombas osmóticas, incrementó de forma dosis dependiente y significativa la inhibición de la AC acoplada a receptores CB₁ ($E_{max} = 25.5 \pm 2.0$, 32.9 ± 2.4 y 35.4 ± 1.8 , respectivamente para 0, 10 y 40 mg/kg/día, $F = 6.1 \pm 0.1$, $p < 0.01$; ANOVA). Igualmente, la administración intraperitoneal durante 21 días de 10 mg/kg/día de venlafaxina, también incrementó de forma significativa la inhibición de la AC acoplada a receptores CB₁ ($E_{max} = 23.8 \pm 1.8$ y 35.6 ± 3.2 respectivamente para 0 y 10 mg/kg/día; $p < 0.01$; t de Student).

Por otro lado, el tratamiento con venlafaxina durante 14 en administración por minibombas osmóticas días incrementó de forma dosis dependiente y significativa los niveles basales de AMPc en la corteza (24.5 ± 4.5 , 42.8 ± 6.8 y 44.8 ± 4.5 respectivamente para 0, 10 y 40 mg/kg/día; $F = 4.4$; $p < 0.05$, ANOVA). Por el contrario, el tratamiento durante 21 días con 10 mg/kg/día ip, no modificó los niveles del AMPc basal. Tampoco se observaron diferencias en el estímulo de la AC por forskolina tras la administración de venlafaxina, independientemente de la vía o dosis estudiada.

Estos resultados indican que el tratamiento crónico con venlafaxina provoca modificaciones en la funcionalidad de los receptores CB₁, y que por lo tanto, la neurotransmisión cannabinoide podría participar en la instauración de los efectos a largo plazo de los fármacos antidepresivos.

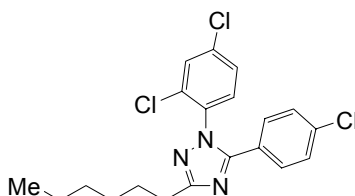
Proyecto financiado por Plan Nacional sobre Drogas, Ministerio de Sanidad y Consumo

EL ANTAGONISTA *IN VIVO* DEL RECEPTOR CANNABINOIDE CB1 5-(4-CLOROFENIL)-1-(2,4-DICLOROFENIL)-3-HEXIL-1*H*-1,2,4-TRIAZOL (LH-21) REDUCE LA INGESTA DE COMIDA CON MAYOR POTENCIA QUE LA AUTOADMINISTRACIÓN DE ALCOHOL.

Javier Pavón¹, Laura Hernández-Folgado², Ainhoa Bilbao¹, Andrea Cippitelli¹, Nadine Jagerovic², Antonia Serrano¹, Raquel Gómez³, Miguel Navarro³, Pilar Goya² y Fernando Rodríguez de Fonseca¹.

[1] Fundación IMABIS, Hospital Carlos Haya (Málaga); [2] Instituto de Química Médica Lora-Tamayo, CSIC (Madrid); [3] Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología UCM (Madrid).

En el presente trabajo hemos estudiado las acciones farmacológicas del antagonista *in vivo* del receptor cannabinoide CB1, 5-(4-Clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-3-hexil-1*H*-1,2,4-triazol (LH-21) sobre la actividad motora, la ingesta de comida y la autoadministración de alcohol. LH-21 (0.3 a 10 mg/kg, i.p.) no produjo cambios importantes en la actividad motora, pero redujo la ingesta de comida en animales privados durante 24 horas a partir de 3 mg/kg, mostrando una potencia similar a la del antagonista cannabinoide de referencia SR141716A. A dosis bajas (0.3 mg/kg) este fármaco produjo un incremento en la ingesta, por lo que aparentemente muestra un perfil de agonista parcial. Cuando se estudió la autoadministración de alcohol, el LH-21 redujo sólo ligeramente la autoadministración a partir de dosis de 10 mg/kg, siendo menos potente que el SR141716A. En resumen, este fármaco mantiene propiedades similares al SR141716A respecto a la inhibición de la ingesta pero no respecto a la de alcohol, lo que sugiere perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos diferentes para ambos compuestos.



Este trabajo esta financiado por las redes FIS C03/08, G03/028 y G03/05

MODULACIÓN DE MIEMBROS DE LA FAMILIA DE LAS MAP QUINASAS EN RESPUESTA AL TRATAMIENTO CRÓNICO Y LA ABSTINENCIA A Δ^9 -TETRAHIDROCANNABINOL

A. Ozaita, A.M. Helbok, R. Maldonado

Departamento de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universidad Pompeu Fabra, 08003-Barcelona

Los receptores para cannabinoides median las acciones psicoactivas de las preparaciones de la planta *Cannabis sativa*. El Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC), principal componente psicoactivo de estas preparaciones, activa los receptores cannabinoides, lo que pone en marcha varios mecanismos de señalización intracelular. Entre ellos, la activación de las rutas de las quinasas activadas por mitógenos (MAP quinasas) juega un papel especialmente interesante ya que éstas han sido involucradas en la regulación de la plasticidad sináptica.

El objeto de este estudio es el análisis de los procesos de señalización intracelular activados por la estimulación de receptores cannabinoides a nivel de las áreas cerebrales que han sido vinculadas al fenómeno de tolerancia y abstinencia a cannabinoides: cerebelo e hipocampo. La administración crónica de THC (20 mg/kg, dos veces diarias i.p.) durante cinco días resultó en una disminución de la actividad de las quinasas ERK1/2 (Extracellular signal-Regulated Kinase 1/2), miembros de la familia de las MAP quinasas, en cerebelo mientras que no se observaron cambios de la actividad de esta ruta de señalización en el hipocampo. Por otro lado, la administración aguda del antagonista cannabinoide SR 141716A en animales dependientes de THC, resultó en un incremento significativo de la actividad ERK1/2 tanto en cerebelo (51% incremento, $p < 0.01$) como en hipocampo (20% incremento, $p < 0.05$). Estos resultados contrastaron con el efecto del antagonista SR 141716A administrado de forma aguda en animales tratados crónicamente con vehículo, en el que se observó un decremento de la actividad de esta cascada de señal en el cerebelo (32% decremento, $p < 0.01$) y ningún cambio en el hipocampo. Estos resultados fueron específicos del sistema de señalización de las ERKs, ya que el análisis de activación de p38, otro miembro de la familia de las MAP quinasas, no mostró ninguna modulación en estas áreas. El presente estudio sugiere la existencia de una modulación tanto a corto como a largo plazo de la vía de señalización de las MAP quinasas por la administración de compuestos que actúan sobre los receptores cannabinoides.

MODULACIÓN DE LA VÍA DE LAS MAPK POR TRATAMIENTOS AGUDO Y CRÓNICO CON CANNABINOIDES EN LA CORTEZA FRONTAL DE RATA *IN VIVO*

D. Moranta, S. Esteban, J.A. García Sevilla

Laboratorio de Neurofarmacología. Instituto Universitario de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS) Universidad de las Islas Baleares. 07122 Palma de Mallorca

La mayoría de los efectos centrales que producen los cannabinoides están mediados a través del receptor cannabinoide CB₁. Este receptor pertenece a la familia de receptores acoplados a proteínas G y su activación puede afectar a varios sistemas de transducción de señales. Estudios recientes han demostrado que los cannabinoides modulan la activación de MAPK (proteínas cinasas activada por mitógenos) de la subfamilia ERK (cinasas reguladas por señales extracelulares). Sin embargo es poco conocida la modulación de estas vías por los cannabinoides *in vivo*. Por todo esto, el objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto de tratamientos agudos y crónicos, así como de la abstinencia a cannabinoides, sobre la vía de las MAPK en corteza frontal de rata. Ratas macho Sprague-Dawley (200-250 g) fueron tratadas (i.p.) de forma aguda con el vehículo (1 ml/kg) en el que fueron disueltas el resto de sustancias (mezcla de etanol, Cremophor EL y agua; 1:1:18), el agonista cannabinoide sintético WIN 55,212-2 (WIN, 8 mg/kg), el antagonista selectivo del receptor cannabinoide CB₁ SR 141716A (SR, 10 mg/kg), o una combinación de ambos (el SR administrado 10 min antes del WIN). Los animales fueron sacrificados una hora después de cada uno de estos tratamientos. Además, se realizaron tratamientos crónicos con dosis crecientes del agonista cannabinoide sintético WIN (4-16 mg/kg día, i.p.) durante 5 días. El quinto día, el grupo de animales tratados crónicamente con WIN, se sacrificaron una hora después de la última administración; mientras que al grupo abstinentes, se le administró el antagonista SR 4 horas después de la última administración de WIN y se sacrificaron una hora después. Este esquema de tratamiento provocó la aparición del síndrome de abstinencia a cannabinoides característico. Los cerebros fueron diseccionados, congelados inmediatamente en nitrógeno líquido y guardados a -80 °C. Las proteínas MEK1/2, fosfo-MEK1/2 (Ser217/221), ERK1/2 y fosfo-ERK1/2 (Tyr204) fueron inmunodetectadas con anticuerpos específicos mediante técnicas de "western-blot". Los resultados no mostraron diferencias significativas en la cascada de las MAPK entre ratas tratadas con vehículo y ratas tratadas con salino. No se observó modulación en los niveles totales de las proteínas MEK1/2 y ERK1/2 con ninguno de los tratamientos realizados. Sin embargo, la administración aguda de WIN produjo un aumento significativo de la forma fosforilada activa tanto de ERK1 y ERK2, como de MEK1/2. Por su parte, la administración aguda de SR produjo una ligera reducción (aunque no significativa) en la fosforilación de estas proteínas y la combinación de ambos tratamientos, produjo un aumento en la fosforilación de dichas proteínas, incluso superior a la que ocurría con el tratamiento agudo de WIN. Tras el tratamiento crónico y la abstinencia a cannabinoides no se puso de manifiesto la activación de las proteínas MEK1/2 y ERK1/2 observada durante el tratamiento agudo con WIN.

PARTICIPACIÓN DE LOS RECEPTORES DE DOPAMINA D2 EN LOS EFECTOS AGUDOS Y CRÓNICOS DEL THC

C. Touriño¹, O. Ortiz², A. Martín², R. Maldonado¹, O. Valverde¹ y R. Moratalla².

¹Laboratori de Neurofarmacologia, Facultat de Ciències de la Salut i de la Vida, Universitat Pompeu Fabra, C/ Doctor Aiguader 80, 08003 Barcelona.

²Instituto Cajal, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Avda Dr Arce 37, 28002 Madrid.

La estimulación de la vía dopaminérgica mesolímbica está implicada en los efectos reforzantes de las drogas de abuso. En particular, los receptores de dopamina D2 son requeridos para la manifestación de los efectos reforzantes de drogas como los opiáceos (Maldonado et al. 97). En el presente estudio hemos investigado la participación de los receptores de dopamina D2 en los efectos agudos y crónicos producidos por el Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC). Para ello hemos utilizado animales deficientes en el receptor D2.

La administración aguda de THC (20 mg/kg ip) en el ratón indujo hipolocomoción, efectos antinociceptivos en los modelos de inmersión de cola y placa caliente, así como disminución de la temperatura rectal. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre animales D2 WT y KO.

Además, los efectos reforzantes y aversivos de la droga se evaluaron mediante los paradigmas de preferencia de plaza condicionada (THC 1 mg/kg ip) y aversión de plaza condicionada (THC 5 mg/kg ip). No se observaron diferencias entre genotipos en ninguno de los dos estudios.

Por último, se investigó la expresión de la dependencia física de THC. Para la inducción de la dependencia, los ratones fueron tratados crónicamente con THC (20 mg/kg ip x 2) durante 5 días. El sexto día el síndrome de abstinencia se precipitó mediante la administración del antagonista cannabinoide SR141716A (10 mg/kg ip) y se evaluaron los diferentes signos de abstinencia. Los resultados mostraron una disminución significativa de la severidad del síndrome de abstinencia en los animales deficientes de los receptores D2.

En conclusión, la presencia de los receptores D2 es requerida para la completa expresión de la dependencia física del THC. Sin embargo, estos receptores no resultan esenciales para la manifestación de los efectos motivacionales del THC ni para las respuestas comportamentales agudas observadas.

Referencias:

Maldonado, R. *et al.* Absence of opiate rewarding effects in mice lacking dopamine D2 receptors. *Nature* **388**, 586-589 (1995).

LA INFUSIÓN LOCAL DEL LIGANDO CANNABINOIDE SR141716A EN EL NÚCLEO ACCUMBENS ROSTRAL INCREMENTA LOS EFECTOS REFORZADORES Y SENSIBILIZADORES DE LA MORFINA

S. Ramiro, J.A. Flores, B. Galán-Rodríguez, E. Fernández-Espejo.

Departamento de Fisiología Médica y Biofísica, Universidad de Sevilla, 41009 Sevilla.

El núcleo accumbens rostral está involucrado en los efectos de recompensa a opiáceos, a través de un aumento de la actividad GABAérgica mediada por receptores GABA(A) (Reynolds y Berridge, 2002). Además, la sensibilización motora a drogas opiáceas parece estar mediada por fenómenos de LTP que se asocian a un incremento de la actividad glutamatérgica y dopaminérgica en el núcleo accumbens (Reynolds y Wickens, 2002). El antagonista cannabinoide SR141716A bloquea receptores CB1 (además de actuar como agonista inverso) facilitando la neurotransmisión GABAérgica, glutamatérgica y dopaminérgica, por lo que podría influir en los fenómenos de recompensa y sensibilización motora tras opiáceos, dos aspectos claves de la capacidad adictiva de estas drogas. Estos hechos se integran en la modulación de fenómenos adictivos por el sistema cannabinoide endógeno.

Se ha investigado el efecto de la infusión local bilateral de SR141716A en el accumbens rostral (1.5 µg/µL, 0.5 µL) en ratas, tanto sobre la recompensa (medida mediante el paradigma de condicionamiento de lugar) como la sensibilización motora (medida por medio del incremento progresivo de la actividad locomotora) al opiáceo morfina. El SR141716A (o vehículo en grupo control) se ha inyectado tanto durante la fase de inducción de la sensibilización como durante la expresión. La morfina se ha empleado a una dosis que en ratas normales no induce ni sensibilización motora ni recompensa (1 mg/kg, S.C.). Los resultados indican que la infusión local de SR141716A antes de la morfina induce una recompensa condicionada significativa ($U=2$, $p<0.05$), mientras que la morfina sola no induce recompensa. Además, se ocasiona sensibilización motora al opiáceo ($Z=2,4$, $p<0.05$), la cual no se desarrolla en ratas del grupo control.

Los resultados indican que la inyección intraaccumbica del SR141716A (antagonista y agonista inverso CB1) facilita la adicción a morfina. A este respecto, la actividad cannabinoide en el núcleo accumbens tras morfina es dual: se incrementa la liberación de anandamida (AEA) pero disminuye la de 2-araquidonilglicerol (2-AG), cambios que se detectan durante los primeros contactos con la droga (Vigano et al., 2004). Por tanto, su efecto neto sobre la adicción opiácea dependería de la relación de la actividad AEA/2-AG, lo que requiere investigación.

Financiado a EFE por Ministerio de Ciencia y Tecnología (SAF2002-1689), Plan Nacional sobre drogas, y RED de trastornos adictivos (Instituto Carlos III, G03/005).

Reynolds SM, Berridge KC (2002) J. Neurosci. 22: 7308-7320.

Reynolds JN, Wickens JR (2002) Neural Netw. 15: 507-521.

Vigano D, Valenti M, Cascio MG, Di Marzo V, Parolaro D, Rubino T (2004) Eur. J. Neurosci. 20: 1849-1857.

EFFECTOS DE UN TRATAMIENTO CRÓNICO CON EL AGONISTA CANNABINOIDE CP 55,940 EN RATAS JÓVENES, SOBRE AUTOADMINISTRACIÓN DE OPIÁCEOS Y OTRAS VARIABLES PSICOFISIOLÓGICAS, EN EDAD ADULTA

M. Biscaia¹, B. Fernández¹, C. García-Lecumberri¹, M.J. Delgado², M.P. Nava², E. Ambrosio¹,
M.P. Viveros².

¹Departamento de Psicobiología. Facultad de Psicología. UNED. 28040 Madrid. ² Departamento de Fisiología (Fisiología Animal II), Facultad de Biología, UCM

Hemos analizado las consecuencias a largo plazo de la administración crónica del agonista cannabinoide CP 55,940 (CP) durante el período prepuberal (35–45 días de edad), en ratas Wistar de ambos sexos. En edad adulta se analizaron: comportamiento espontáneo, corticosterona basal, conducta sexual y hormonas sexuales, autoadministración de morfina y densidad y funcionalidad de receptores mu opioides cerebrales. El tratamiento con CP indujo cambios significativos, dependientes del sexo, en actividad motora y exploración y disminuyó el nivel de emotividad/ansiedad de los animales. Estas alteraciones comportamentales no se vieron acompañadas de cambios significativos en los niveles de corticosterona. En relación con la conducta sexual, observamos que, en el grupo tratado con CP, hubo un porcentaje relativamente elevado de animales (en relación con los controles), que no desplegaron conducta sexual durante el tiempo de prueba (30 min), aunque no descartamos un posible efecto camada. De hecho, en los animales tratados que sí desplegaron pautas sexuales, no se apreciaron efectos del tratamiento. No se observaron efectos significativos del tratamiento con el cannabinoide sobre los niveles plasmáticos de las hormonas determinadas (estradiol en hembras, testosterona en machos, FSH y LH en ambos sexos). Las hembras mostraron unos niveles de LH significativamente más altos que los de los machos. Aunque no hemos encontrado un efecto consistente del tratamiento, el agonista CP parece afectar de forma diferencial la conducta de autoadministración intravenosa de morfina en función del sexo. Considerando el promedio total de inyecciones de morfina que se autoadministraron los animales, los machos tratados con CP mostraron un promedio significativamente superior al de los que recibieron el vehículo, bajo un programa de reforzamiento de razón fija 1. Sin embargo, el agonista cannabinoide no afectó la conducta de autoadministración bajo un programa de razón progresiva. Respecto a los resultados obtenidos mediante la autorradiografía de receptores mu opioides, encontramos una interacción significativa entre el sexo y el tratamiento en varias de las regiones cerebrales estudiadas, de forma que los machos tratados con CP tendieron de forma general a mostrar niveles disminuidos de estos receptores. El tratamiento con CP también afectó de forma diferencial a la funcionalidad de los receptores mu según el sexo. Dicha funcionalidad pareció verse disminuida en los machos tratados con CP en algunas regiones cerebrales, aunque la disminución sólo resultó significativa en el núcleo accumbens (*shell*).

Agradecimientos: Comunidad Autónoma de Madrid (CAM 08.8-004.97-02); Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS 001-005-01) y (G03/05 FIS; RDTA); Ministerio de Ciencia y Tecnología (BFI2003-03101). Beatriz Fernández es Becaria postdoctoral y Miguel Biscaia predoctoral del Ministerio de Educación y Cultura.

LA AUSENCIA DE RECEPTORES CANNABINOIDES CB1 ALTERA LA AUTO-ADMINISTRACIÓN DE COCAÍNA

Soria G, Mendizábal V, Touriño C, Robledo P, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O

Laboratorio de Neurofarmacología, Departamento de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universitat Pompeu Fabra, 08003-Barcelona

Las propiedades reforzantes agudas de la cocaína son esenciales para el establecimiento de la adicción a esta droga de abuso y múltiples procesos neuroquímicos participan en este comportamiento complejo. En el presente estudio, se empleó el paradigma de auto-administración endovenosa para evaluar el papel de los receptores cannabinoides CB1 en varios aspectos del refuerzo a cocaína, incluyendo la adquisición, el mantenimiento y la motivación para buscar la droga. Para ello, se entrenaron ratones deficientes en el receptor CB1 (KO) y sus correspondientes animales control (WT) en diferentes programas de auto-administración de cocaína. En los estudios de adquisición de la conducta de auto-administración se emplearon varias dosis de entrenamiento (0.32, 1 y 3.2 mg/kg/infusión). Sólo un 25% de los animales KO contra un 75% de los WT adquirieron una respuesta operante confiable para auto-administrarse la dosis más efectiva de cocaína (1 mg/kg/infusión) y el número de sesiones que requirieron para alcanzar esta conducta fue mayor en el grupo KO. Los animales que alcanzaron el criterio de adquisición fueron evaluados bajo un programa de razón progresiva para estudiar la fuerza motivacional de la cocaína como reforzante. El máximo esfuerzo para obtener una infusión de cocaína realizado por los animales KO fue significativamente menor cuando se lo comparó con el grupo WT. Por otra parte, la curva dosis-respuesta de cocaína fue aplanada en el grupo KO, sugiriendo que las diferencias observadas entre los genotipos estaban relacionadas con cambios en la eficacia reforzante de la dosis de entrenamiento de cocaína. La auto-administración de agua y comida no se encontró modificada en los ratones KO en ninguno de los programas de refuerzo empleados, lo cual apoya la idea de que la alteración de la conducta operante observada es selectiva del refuerzo de cocaína. Finalmente, se evaluaron los efectos de la cocaína en la neurotransmisión dopaminérgica mediante la técnica de microdiálisis *in vivo* en ambos grupos de animales. La administración aguda de cocaína indujo incrementos similares en los niveles extracelulares de dopamina en el núcleo accumbens de animales de ambos genotipos. Este trabajo demuestra claramente que los receptores cannabinoides CB1 son esenciales para la consolidación del refuerzo de la cocaína, a pesar de que no son requeridos para sus efectos agudos en la transmisión dopaminérgica mesolímbica.

EL Δ^9 -TETRAHYDROCANNABINOL DISMINUYE LAS MANIFESTACIONES SOMÁTICAS Y MOTIVACIONALES DE LA ABSTINENCIA A LA NICOTINA EN RATÓN

Graciela N. Balerio, Ester Aso, Fernando Berrendero, Patricia Murtra, Rafael Maldonado
Laboratori de Neurofarmacologia. Facultat de Ciències de la Salut i de la Vida. Universitat
Pompeu Fabra . C/ Dr. Aiguader, 80. 08003-Barcelona.

Las posibles interacciones entre el Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC) y la nicotina no han sido estudiadas con profundidad, a pesar de la asociación habitual entre cannabis y tabaco en el consumo humano. El propósito de este estudio fue investigar las posibles interacciones entre estas dos drogas de abuso evaluando las consecuencias de la administración de THC sobre las manifestaciones somáticas y el estado motivacional aversivo asociados a la abstinencia a la nicotina en ratón. La administración aguda de THC disminuyó la intensidad de varios signos somáticos inducidos por la precipitación de la abstinencia a la nicotina por mecamilamina o naloxona, tales como sacudidas de tronco, temblores de pata e intentos de escapada. En ambas condiciones experimentales, la administración aguda de THC también disminuyó la puntuación global de la abstinencia. Este efecto del THC no se debió a posibles cambios adaptativos en los receptores cannabinoides CB1 inducidos por la exposición crónica a la nicotina ya que la estimulación de la unión de GTP γ S por el agonista cannabinoide WIN 55,212-2 y la densidad de los receptores cannabinoides CB1 marcados con [3 H] CP-55,940 no fueron modificadas en las diferentes áreas cerebrales estudiadas. Por otra parte, se evaluaron las consecuencias de la administración de THC en la expresión de c-Fos en varias estructuras cerebrales después del tratamiento crónico de nicotina y la abstinencia. La expresión de c-Fos disminuyó en el caudado putamen y en el giro dentado durante la abstinencia a la nicotina. Sin embargo, la administración aguda de THC tampoco modificó la expresión de c-Fos en esas condiciones experimentales. Finalmente, se investigó el efecto del THC sobre la disforia asociada a la abstinencia a la nicotina. La administración de THC revirtió la aversión de plaza condicionada a la abstinencia a la nicotina inducida por naloxona. Estos resultados indican que la administración de THC atenúa los signos somáticos de la abstinencia a la nicotina y que estos efectos no están asociados con cambios compensatorios en los receptores cannabinoides CB1 durante la administración de nicotina. Además, el THC revierte las consecuencias motivacionales aversivas de la abstinencia a la nicotina.

WIN 55,212-2, AGONISTA CANNABINOIDE DEL RECEPTOR CB₁ INCREMENTA Y MANTIENE LA RECAÍDA AL CONSUMO DE ALCOHOL

Lopez-Moreno J.A. (1), González-Cuevas G. (1), Rodríguez De Fonseca F. (2), Gómez R. (1), Crespo I. (1), Trigo-Díaz J.M. (1) Moreno Sanz G. & Navarro M. (1)
(1) Laboratorio de Psicobiología de la Universidad Complutense, 28223 - Madrid
(2) Unidad de Investigación Hospital Carlos Haya, 29010 - Málaga

El alcoholismo está caracterizado por sucesivas recaídas. El efecto de privación alcohólica (Alcohol Deprivation Effect – ADE -) es caracterizado por un incremento temporal en el consumo de alcohol. El ADE ha demostrado ser útil para el estudio de la recaída en el consumo de alcohol. Por otro lado, recientemente se ha demostrado la interacción entre el sistema endocannabinoide y el alcohol.

En el presente estudio, se usaron ratas macho Wistar (N=44) con una historia de auto-administración operante (AaO) de alcohol, de al menos 6 semanas. Los animales entraban en las cajas de AaO 5 días por semana, en sesiones de 30 minutos. Una vez que los animales alcanzaron un consumo estable de alcohol, se les privó de éste durante dos periodos de una semana. Un periodo de privación fue “simple”, en contraste con el otro periodo de privación, en que los animales fueron tratados con el agonista cannabinoide WIN 55,212-2 (WIN) (0, 0.4, 2.0 y 10.0 mg/kg) durante 5 días. Este tratamiento se realizó bajo el paradigma de Condicionamiento a Lugar Preferencial (CLP). Después de cada periodo de privación, la recaída al consumo de alcohol se evaluó durante las dos semanas siguientes en las cajas de AaO.

Los resultados mostraron: 1) Todas las dosis de WIN produjeron aversión en el CLP. 2) Las dosis de 2.0 y 10.0 mg/kg redujeron importantemente la actividad motora espontánea de las ratas. 3) La recaída y el incremento en el consumo de alcohol se hizo persistente en el tiempo tras la privación de alcohol contingente con WIN. 4.) El patrón de consumo de alcohol se invirtió en la primera semana entre el grupo vehículo y la dosis de WIN más alta utilizada. Y 5) Hubo una significativa pérdida de peso en los animales que persistió durante las dos semanas posteriores al tratamiento con WIN.

En conclusión, se ha demostrado que la exposición al agonista cannabinoide WIN durante un periodo de privación alcohólica, potencia en el tiempo (al menos durante dos semanas) el mayor consumo de alcohol, eliminando la particular temporalidad del ADE. Estos resultados sugieren que cambios funcionales en el receptor para cannabinoides CB₁, desempeñan un papel importante en regulación del consumo, vulnerabilidad y recaída al alcohol.

Financiado por MCYT, Plan Nacional Sobre Drogas, Red RTA y Proyecto Europeo QL64-CT-2001-01691

LA ADMINISTRACIÓN AGUDA DE ETANOL REDUCE LOS NIVELES DE ANANDAMIDA Y PALMITILETANOLAMIDA EN CEREBRO: CONTRIBUCIÓN DE LA AMIDOHIDROLASA DE ÁCIDOS GRASOS.

Belén Ferrer, Francisco Javier Bermúdez-Silva, Ainhoa Bilbao, Irene Sanchez-Vera, Andrea Giuffrida, Antonia Serrano, Satish Khaturia, Miguel Navarro, Daniele Piomelli y Fernando Rodríguez de Fonseca.

Fundación IMABIS, Hospital Carlos Haya, 29010, Málaga

La anandamida participa en las neuroadaptaciones asociadas con la exposición crónica a etanol. Sin embargo, ningún estudio describe las acciones agudas del etanol sobre la producción y degradación de anandamida. En este estudio investigamos los efectos a lo largo del tiempo de la administración periférica de etanol (4 gr/kg) sobre los niveles endógenos de anandamida en tejidos centrales y periféricos. La administración aguda de etanol disminuye los niveles de anandamida en el cerebelo, hipocampo y estriado ventral, así como en el plasma y el tejido adiposo. De forma paralela, una segunda aciletanolamida, la palmitiletanolamida también disminuye en el cerebro. Los efectos se observaron 45-90 minutos tras la administración de etanol, normalizándose posteriormente. Estudios *in vivo* revelaron que la disminución de anandamida estaba asociada con una remarcable inhibición de la expresión génica y actividad enzimática de la amidohidrolasa de ácidos grasos (FAAH) en el hipocampo, así como se observó una pequeña activación transitoria de FAAH en el cerebelo. La administración aguda de etanol no cambia ni la actividad de la n-aciltransferasa, la enzima que cataliza la síntesis del precursor de anandamida, ni la expresión de la NAPE-PLD, la enzima que libera anandamida a partir de precursores fosfolipídicos de membrana. Estos resultados sugieren que la liberación mediada por receptor de aciletanolamidas es inhibida por etanol. La desaparición de la mayoría de las acciones del etanol sobre la liberación de anandamida 4 horas después de su inyección, mientras existen niveles sostenidos de etanol en sangre y tejidos periféricos, sugiere una rápida inducción de tolerancia.

EFFECTOS DEL RIMONABANT (SR141716) SOBRE LA ABSTINENCIA A ALCOHOL EN RATAS WISTAR

Marina Rubio, Begoña Maestro, Rosario de Miguel, Maribel Cebeira, Javier Fernández-Ruiz, José A. Ramos

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid

Entre los procesos neurobiológicos en los que se ha postulado que el sistema endocannabinoide podría desempeñar un papel regulador, se pueden destacar aquellos que están relacionados con la adicción a drogas de abuso. Se ha visto que el sistema endocannabinoide podría participar en los fenómenos de vulnerabilidad, inicio del consumo, dependencia y recaída al abuso de diversas sustancias como el alcohol, los opioides o la nicotina. Incluso, de forma reciente, se ha propuesto que el bloqueo de los receptores CB₁ podría ser de utilidad para reducir la motivación para el consumo de sustancias como la nicotina o el alcohol. Sin embargo, se dispone de menos datos acerca de los efectos que el bloqueo de los receptores CB₁ produce en la abstinencia generada por la interrupción del consumo de estas sustancias, lo que tiene su fundamento en los cambios observados en la intensidad del síndrome de abstinencia a diferentes sustancias en ratones deficientes en el receptor CB₁. En nuestro laboratorio, hemos estudiado el potencial del rimonabant (SR141716) para reducir la abstinencia provocada por la retirada de alcohol en ratas sometidas a alcoholización a través del agua de bebida. Hemos visto que la abstinencia a alcohol en ratas se caracteriza por la aparición de signos como ansiedad o hiperactividad motora. La administración de rimonabant, sin embargo, redujo el efecto ansiogénico provocado por la abstinencia alcohólica, efecto que ocurre exclusivamente en las ratas alcohólicas y asociado a la aparición de este síndrome, ya que en ratas no-alcohólicas el rimonabant produjo el esperado efecto ansiogénico que otros estudios han descrito previamente. Este efecto positivo sobre la ansiedad asociada a la interrupción del consumo crónico de alcohol en ratas podría tener que ver con una atenuación de algunos de los cambios que a nivel molecular produce la abstinencia alcohólica, sobre todo aquellos que ocurren a nivel de los sustratos neurobiológicos implicados en las respuestas de ansiedad y estrés, y entre los que incluiríamos ciertos neurotransmisores, el neuropéptido CRF, algunas hormonas del eje de estrés y otros. En resumen, rimonabant podría ser eficaz para reducir los síntomas de ansiedad asociados con la abstinencia alcohólica a través de influir en los sustratos neurobiológicos que median en estas respuestas.

(Financiado con una ayuda del Plan Nacional sobre Drogas)

EL CORTEX PREFRONTAL PARTICIPA EN LA MODULACIÓN MEDIADA POR ENDOCANNABINOIDES DE LA INGESTA DE ALCOHOL EN LAS RATAS GENETICAMENTE PREDISPUESAS “AA”

A.C. Hansson^{1,4*}, F.J. Bermúdez-Silva^{2*}, H. Malinen^{3*}, P. Hyytiä³, I. Sanchez-Vera², R. Rimondini¹, F. Rodríguez de Fonseca², W. Sommer^{1,4}, and M. Heilig^{1,4}

Consortio europeo TARGALC: ¹Department of NEUROTEC, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden; ²Fundación IMABIS, Malaga, España, ³National Public Health Institute, Helsinki, Finland y ⁴National Institute of Health, Bethesda, USA.

(*A.C. Hansson, F.J. Bermúdez-Silva y H. Malinen contribuyeron en igual medida a este estudio)

Cada vez hay más evidencias sobre la participación del sistema endocannabinoide en la adicción al alcohol. En el presente trabajo se estudió el papel funcional del sistema endocannabinoide en un modelo establecido de alto consumo voluntario de etanol, las ratas genéticamente seleccionadas AA (Alcohol-Accepting) y su línea control, las ratas ANA (Alcohol-Non-Accepting). Se pretendían buscar diferencias, específicas de línea, en la señalización a través del receptor cannabinoide CB1 en regiones cerebrales claves para la recompensa y la dependencia, así como la expresión diferencial de genes relacionados con el sistema endocannabinoide. Además se comprobó el efecto del antagonista CB1, SR 141716A en la ingesta de alcohol.

Encontramos diferencias específicas de región en la organización cerebral del sistema endocannabinoide en ratas AA y ANA, sugiriendo una hiperactividad y desensibilización de la transmisión cannabinoide, especialmente en el cortex prefrontal de las ratas AA. Además, demostramos que el cortex prefrontal es una importante región para la supresión, mediada por SR141716A (antagonista CB1), del consumo de alcohol.

Estos resultados sugieren que una de las diferencias genéticas en las ratas AA es la existencia de un sistema endocannabinoide alterado en el cortex prefrontal con potenciales implicaciones funcionales para la preferencia por alcohol.

**MODULACIÓN DEL SISTEMA INMUNE EN USUARIOS DE CANNABIS:
COMPARACIÓN CON CONSUMIDORES CONCOMITANTES DE MDMA Y
CONTROLES NO CONSUMIDORES DE DROGAS**

S. Abanades¹, M. Farré¹, R. Pacifici², S. Poudevida¹, E. Menoyo¹, P. Zuccaro², S. Pichini², R de la Torre¹

¹Unidad de Farmacología, IMIM, CEXS-UPF, UAB, Barcelona 08003, España

²Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia

Aunque es conocida la presencia de receptores cannabinoideos en células inmunitarias y la consiguiente relación del cannabis con el sistema inmune, son escasas las investigaciones de tipo clínico que establezcan claramente esta relación y sus posibles consecuencias.

Objetivos: Realizar una evaluación de la respuesta inmunológica humoral y celular y de algunas citocinas importantes en la respuesta inmune en un grupo de usuarios de cannabis (THC) y comparar los resultados con los de un grupo de consumidores concomitantes de MDMA (THC+MDMA) y un grupo control (CONT), no consumidor de drogas de abuso.

Material y Métodos: Se realizó un estudio de tipo transversal. Se reclutaron un total de 117 sujetos (THC=24, THC+MDMA=39, CONT=34). Se realizaron entrevistas estructuradas sobre hábitos tóxicos, y control del consumo mediante la detección de drogas de abuso en orina. Se obtuvieron muestras de sangre para el análisis del perfil inmunológico.

Resultados: No se encontraron diferencias en la inmunidad humoral de los sujetos. Se encontraron diferencias significativas en cuanto al número total de linfocitos CD4 y de las células NK, con un descenso significativo para los grupos THC+MDMA y THC con respecto al control. Además se observó una disminución de la respuesta funcional de los linfocitos estimulados con mitógenos (SIPHA y SIconA) para los grupos THC y THC+MDMA acompañado de un aumento de las citocinas TGFβ1 e IL-10, y una disminución en la citocina pro-inflamatoria IL-2.

Conclusiones: El THC ejerce efectos inmunomoduladores, con una reducción de la respuesta inmune mediada por células. La combinación del THC con la MDMA produce efectos más marcados. Se desconocen las repercusiones clínicas a largo plazo de estos cambios.

Agradecimientos: FIS 00/0777, PNSD 2002, INT/2012/2002 y FIS G03/005

CALIDAD CIENTÍFICA DE LOS ARTÍCULOS DE PERIÓDICO SOBRE EL USO TERAPÉUTICO DEL CANNABIS

E. Montané, M. Duran, D Capellà, A Figueras.

Fundació Institut Català de Farmacologia. Universitat Autònoma de Barcelona. Hospitals Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: Los medios de comunicación son una fuente importante de información del conocimiento médico. Estudios recientes han criticado la prensa por publicar información inadecuada, incompleta así como por exagerar los beneficios y minimizar los riesgos. Objetivos: analizar la calidad de los artículos de periódico (AsP) relacionados con el uso terapéutico de los cannabinoides publicados en la prensa española. Métodos: se pasó un cuestionario preliminar del Index of Scientific Quality (cuya puntuación va de 0 [no hay engaños] a 14 [hay engaños en cada ítem]). Resultados: De 29 AsP analizados, 16 (55.2%) tuvieron una puntuación ≤ 4 , y seis (20.7%) puntuaron ≥ 7 . En 23 de ellos (79.3%), la información científica sobre el campo de los cannabinoides no fue adecuada, 20 (69%) dieron un mensaje sensacionalista, 11 (37.9%) contenían información confusa para la toma de decisiones clínicas y 8 (27.6%) omitieron conceptos médicos relevantes. Conclusión: A pesar de las limitaciones metodológicas, los resultados sugieren que la calidad científica de los AsP sobre el uso terapéutico del cannabis no es óptima. La calidad de los AsP podría mejorar si en los comunicados de prensa de las revistas científicas se especificaran las limitaciones de los estudios.

EFFECTOS DE LA ADMINISTRACION ESPINAL DE UCM707 EN LA RESPUESTA A UN ESTÍMULO MECÁNICO DE NEURONAS DEL ASTA DORSAL DE LA MEDULA ESPINAL

Eva de Lago, Devi R. Sagar*, Silvia Ortega**, Mariluz López-Rodríguez**, José A. Ramos, Javier Fernández-Ruiz, Victoria Chapman*

Dto. Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid,

*School of Biomedical Sciences, Universidad de Nottingham, UK, **Dto. Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense, Madrid.

Nuestro laboratorio ha sintetizado un derivado del ácido araquidónico conocido como UCM707, que es el inhibidor del transportador de endocannabinoides más potente y selectivo desarrollado hasta la fecha (López-Rodríguez et al., J. Med. Chem. 46, 1512-1522, 2003). Este hecho, junto con el progreso de los estudios sobre el potencial terapéutico de los cannabinoides, sugiere que el UCM707 podría ser eficaz en diversos tipos de patologías, entre ellas diversas formas de dolor. Tanto los derivados de la *Cannabis Sativa*, como los cannabinoides endógenos y los agonistas sintéticos del receptor CB₁, producen analgesia o efectos antihiperalgésicos (Iversen and Chapman, Curr. Opin. Pharmacol. 2, 50-55, 2002). En este trabajo, hemos querido analizar los efectos del UCM707, de la anandamida, y de la combinación de ambos en la respuesta producida por un estímulo mecánico en neuronas del asta dorsal de la médula espinal que se sabe que están implicadas en los circuitos nociceptivos espinales. Tanto la administración espinal de anandamida como la de UCM707 inhiben las respuestas producidas por un estímulo mecánico (10-100g) en neuronas del asta dorsal. Ya que la anandamida es agonista tanto CB₁ como VR₁, interpretamos que su efecto, y también el del UCM707 elevando los niveles de anandamida, pueden deberse a la activación de los receptores CB₁ (analgésicos) o a la desensibilización de los receptores VR₁ (hiperalgésicos). Para identificar la posible implicación del receptor VR₁ en los efectos del UCM707, hemos realizado estudios de bloqueo de este receptor. El pretratamiento con I-RTX no altera de forma significativa los efectos producidos por el UCM707. En ensayos *in vivo*, hemos observado que el UCM707 potencia los efectos analgésicos de una dosis subefectiva de anandamida (de Lago et al., Eur. J. Pharmacol. 449, 99-103, 2002). Teniendo en cuenta estos datos, estudiamos los efectos de la co-administración espinal de anandamida y UCM707. Observamos que, lejos de producirse una potenciación del efecto inhibitor de la respuesta de las neuronas del asta dorsal, se observa una tendencia a la facilitación. La razón de este efecto paradójico no está clara, pero debido a la capacidad de la anandamida para activar tanto CB₁ (inhiben la respuesta) como VR₁ (facilitan la respuesta), puede que el efecto que observamos sea una combinación de la activación de ambos receptores con un efecto neto cero. Por otra parte, también hemos evaluado la acción del UCM707 en ratas con dolor neuropático por la ligadura de los nervios espinales a nivel de L5 y L6 (Chapman et al., Pain 75, 261-272, 1998). A los 14-17 días de la cirugía, se hicieron registros de neuronas del asta dorsal (lamina V y VI) sometidas a un estímulo periférico mecánico tras la administración de anandamida sola o con UCM707. La anandamida produce una inhibición de la respuesta producida por el estímulo mecánico, sin embargo, al igual que observamos en los experimentos anteriores la combinación de los dos compuestos produce una pérdida del efecto inhibitorio producido por la anandamida, lo que parece estar producido por el balance en la activación de receptores CB₁ y VR₁. En resumen, el inhibidor del transporte de endocannabinoides, UCM707, podría servir como una sustancia analgésica aunque su actuación a través de la elevación de los niveles de anandamida podría en algunos casos facilitar la activación por este endocannabinoide de los receptores VR₁ de forma que podrían aparecer efectos hiperalgésicos o perderse los efectos analgésicos de la anandamida producidos por la activación del receptor CB₁.

ACTIVIDAD ANALGÉSICA DEL WIN 55212,2 EN UN MODELO DE DOLOR OROFACIAL EN RATA.

M.I. Martín, L. Navas, C. Goicoechea, D. Pascual.

Unidad de Farmacología, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Rey Juan Carlos. Alcorcón 28922, Madrid.

INTRODUCCIÓN: El dolor es un mecanismo de protección para el organismo. Entre las diversas y variadas presentaciones de este síntoma en el organismo, el dolor orofacial posee unas connotaciones especiales. La considerable prevalencia del dolor orofacial en la población está haciendo que aumente la investigación en dicho campo tanto de su fisiopatología como de posibles analgésicos más selectivos y eficaces que los actuales que existen.

Los cannabinoides han demostrado en diversos modelos animales su capacidad analgésica. Los cannabinoides modulan procesos nociceptivos en modelos de dolor agudo, inflamatorio y dolor neuropático. Los receptores cannabinoides CB1 están expresados en áreas involucradas en la nocicepción.

OBJETIVO: Comprobar si el agonista cannabinoide WIN55-212,2 tiene actividad analgésica en un modelo de dolor orofacial en rata.

MATERIAL Y MÉTODOS: El modelo utilizado fue el test de la formalina. La formalina (2.5%) se administra por vía subcutánea en las vibrisas de la rata. Se valora el tiempo que el animal está tocándose la zona de la administración durante un periodo de 45 minutos. Se estudiaron los siguientes grupos: Suero salino, Formalina, WIN55-212,2 (0.5, 1 y 1.5 mg/kg) i.p., SR 141716 A (1mg/kg) y WIN55-212,2 (1mg/kg) (i.p.). El WIN55-212,2 se administró quince minutos antes de la administración de formalina. El SR 141716 A se administró quince minutos antes del WIN55-212,2.

RESULTADO: La formalina produce respuestas en dos fases. Una aguda, en los tres primeros minutos, y otra tónica o sub-crónica, que tiene su máximo a los veinticinco minutos. El suero salino no produce ninguna de estas dos fases.

El WIN55-212,2 fue capaz de reducir de manera significativa el tiempo que la rata se tocaba la zona donde se había administrado la formalina. Se redujeron tanto la fase aguda como la fase sub-crónica. El efecto analgésico del WIN55-212,2 fue dosis dependiente. Este efecto analgésico fue antagonizado por el SR 141716 A.

CONCLUSIÓN: Aunque sería necesario realizar más estudios, estos datos muestran que el WIN55-212,2, agonista cannabinoide, posee actividad analgésica en el modelo de la formalina de dolor orofacial en rata. Esto abre una alternativa en el tratamiento del dolor orofacial.

MECANISMOS DE INHIBICIÓN DEL VIH-1 POR EL ENDOVANILLOIDE/ ENDOCANNABINOIDE N-ARAQUIDONOIL-DOPAMINA

Rocío Sancho, Laureano de La Vega, Nives Daddario[‡], Giovanni Appendino[‡], Vincenzo di Marzo* y Eduardo Muñoz.

Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología, Facultad de Medicina. Avda. de Menendez Pidal s/n, 14004, Universidad de Córdoba; *Istituto di Chimica Biomolecolare y Istituto di Cibernetica, CNR, Pozzuoli (NA), Italia; [‡]Università degli Studi del Piemonte Orientale, Novara, Italia.

Una vez que la infección primaria por el VIH-1 ha tenido lugar, el virus rápidamente penetra en el SNC aunque los mecanismos por los cuales el VIH-1 penetra en el SNC en fases tan tempranas de la infección y los mecanismos neuropatogénicos que conducen a la demencia asociada al SIDA (HAD) son poco conocidos. Una de las hipótesis propuestas para explicar la penetración viral en el SNC implica a las células endoteliales de la microvasculatura del cerebro como la ruta principal de entrada viral, seguido de la infección de células del parénquima cerebral como neuronas, astrocitos y células de la microglía. Una segunda hipótesis, y que no es incompatible con el mecanismo antes descrito, se basa en la capacidad de transmigración de células CD4⁺ y monocitos infectados desde sangre periférica al SNC a través de la barrera hematoencefálica.

Las N-acyl dopaminas endógenas, como N-araquidonoil-dopamina (NADA), han sido recientemente identificadas como una nueva clase de neurotransmisores que comparten actividad endovanilloide y endocannabinoide, y nuestro grupo había demostrado previamente que el NADA es un potente inhibidor de la activación inducida por antígeno de los linfocitos T. Estas células representan la potencial diana de la infección por VIH-1, el cual se encuentra regulado por la maquinaria transcripcional de la célula. Así, nos hemos interesado en estudiar el efecto del NADA y otros endocannabinoides sobre la replicación del VIH-1 en distintas líneas celulares.

Nuestros resultados demuestran que específicamente el NADA es un potente inhibidor de la replicación viral tanto en linfocitos T como en la línea celular astrocítica U373-MG a través de un mecanismo que afecta a la transcripción del LTR y es independiente a los receptores CB1, CB2 y de la enzima FAAH. El NADA inhibe la transcripción del LTR inducida tanto por el TNF α como por la proteína viral Tat, aunque la interacción Tat/TAR no se ve afectada al menos *in vitro*, lo cual sugiere que el NADA actúa inhibiendo un mecanismo de regulación transcripcional compartido por ambos inductores. Nuestros resultados indican que este elemento común en la interacción de señales inducidas por TNF α y Tat puede ser el coactivador transcripcional p300, que tiene actividad histona acetilasa y que se ha descrito que regula la actividad transcripcional de la subunidad p65 del factor de transcripción NF- κ B.

Estos datos plantean un interesante campo de estudio donde el NADA y quizás otros endocannabinoides/endovanilloides podrían servir como base para el desarrollo de nuevas estrategias antivirales.

CAMBIOS EN EL PATRÓN DE EXPRESIÓN DEL RECEPTOR CB₂ Y LA AMIDO HIDROLASA DE ÁCIDOS GRASOS (FAAH) EN UN MODELO ANIMAL DE ENCEFALITIS

C.Benito¹, W.K. Kim², I. Chavarria^{1,3}, M.R. Pazos¹, E. Núñez¹, C.J. Hillard⁴, K. Mackie⁵, R.M. Tolón¹, K. Williams², J. Romero^{1,3}

¹Laboratorio de Apoyo a la Investigación, Fundación Hospital Alcorcón, 28922, Madrid. ²División de Patogénesis Viral, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School, Boston, MA 02215, USA. ³ Departamento de Bioquímica, Universidad Francisco de Vitoria, Pozuelo de Alarcón, 28223, Madrid. ⁴Departamento de Farmacología y Toxicología., Medical College of Wisconsin, Milwaukee, WI 53226, USA. ⁵Departamento de Anestesiología, Universidad de Washington, Seattle, WA 98195, USA.

Datos recientes ponen de manifiesto el importante papel que parece desempeñar el Sistema Cannabinoide Endógeno (SCE) en procesos neuroinflamatorios asociados a enfermedades neurodegenerativas. El estudio de los componentes del SCE que hemos realizado en un modelo animal de encefalitis así parece confirmarlo. Los resultados que presentamos se han obtenido mediante el empleo de anticuerpos específicos, dirigidos contra los receptores CB₁ y CB₂ y la enzima amido hidrolasa de ácidos grasos (FAAH), en secciones de corteza cerebral de simio de la especie *Macaca mulatta* con SIVE (Encefalitis inducida por el Virus de la Inmunodeficiencia en Simios) y controles. Este modelo es una buena aproximación experimental de los cambios neuropatológicos que caracterizan la llamada “demencia asociada a VIH-1” en humanos.

Los datos muestran que la expresión del receptor CB₂ y de la FAAH se modifican como consecuencia de la infección viral en el cerebro, mientras que el patrón de expresión del receptor CB₁ permanece sin cambios. Así, en los animales infectados se observa un aumento selectivo de expresión de CB₂, en linfocitos T y células de la microglía, y de la enzima FAAH en astroglia.

Estos resultados concuerdan con datos previos de nuestro laboratorio obtenidos en muestras de tejido humano de pacientes con enfermedad de Alzheimer, y ponen de manifiesto la importancia del SCE en el proceso de activación glial bajo condiciones patológicas. Dichas observaciones también sugieren la implicación del SCE en el desarrollo de la encefalitis viral y en la entrada del virus al SNC.

**DEFICIT DE LA ACTIVIDAD ENDOCANNABINOIDE CEREBRAL Y POTENCIAL
TERAPEUTICO DE LOS INHIBIDORES DEL TRANSPORTE DE
ENDOCANNABINOIDES EN RATAS CON ESCLEROSIS MULTIPLE**

Ana Cabranes, Katerina Venderova*, Eva de Lago, Filomena Fezza*, Antonio Sánchez**, Marta Valenti*, Antonio García-Merino**, José A. Ramos, Vincenzo Di Marzo*, Javier Fernández-Ruiz
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid; *Istituto di Chimica Biomolecolare, Consiglio Nazionale delle Ricerche, 80078-Pozzuoli, Nápoles (Italia); ** Servicio de Neurología, Hospital Universitario Puerta de Hierro, 28035-Madrid

Algunos estudios recientes han examinado el estado de la neurotransmisión endocannabinoide en modelos animales de la esclerosis múltiple (Baker et al., *FASEB J.* 15 : 300-302, 2001; Berrendero et al., *Synapse* 41 : 195-202, 2001) con el objetivo de explicar el potencial que los agonistas cannabinoideos han demostrado tener para el tratamiento de algunos de los síntomas (espasticidad, dolor, temblor, etc) que se producen en los enfermos de esclerosis múltiple. En el presente estudio, hemos examinado las concentraciones de endocannabinoideos en varias regiones del cerebro de ratas Lewis con encefalomiелitis alérgica experimental (EAE), un modelo experimental de esclerosis múltiple generado por inoculación de proteína básica de mielina de cobaya. Tras la inoculación, los animales fueron examinados diariamente para detectar la aparición de síntomas neurológicos, síntomas que aparecieron a partir del día 10 post-inoculación, alcanzando un valor máximo en el día 13, día en el que los animales fueron sacrificados para proceder al análisis de los niveles de endocannabinoideos. Nuestros datos indicaron que se produce una importante reducción de los niveles de endocannabinoideos (anandamida y 2-araquidonilglicerol) en diversas estructuras cerebrales, como el cuerpo estriado, mesencéfalo, tallo cerebral, diencéfalo, hipocampo, área límbica anterior y corteza cerebral, de las ratas con EAE, aunque el patrón de cambios fue levemente diferente para cada endocannabinoide. En base a esta observación, como segundo objetivo de este estudio, quisimos evaluar si una elevación de los niveles cerebrales de endocannabinoideos producida por el bloqueo del mecanismo de recaptación de estas sustancias en el cerebro, podría reducir el deterioro neurológico característico de estas ratas. Nuestros resultados demostraron que algunos inhibidores de la recaptación de endocannabinoideos, como el AM404, el OMDM2 y el arvanilo, fueron capaces de reducir el deterioro neurológico en ratas con EAE, mientras que otros inhibidores como el UCM707 o el VDM11 no fueron efectivos. Razones de tipo farmacodinámico (AM404 y arvanilo tienen afinidad por el receptor vanilloide VR1 mientras que el UCM707 y el VDM11 no la tienen) o bien de tipo farmacocinético (OMDM2 parece ser más estable desde un punto de vista metabólico que el UCM707 y que el VDM11) podrían explicar estas diferencias de eficacia. Para clarificar este punto, estamos actualmente realizando experimentos con agonistas directos y/o antagonistas de los receptores CB₁ y VR1. Por tanto, nuestros datos apoyan que la transmisión endocannabinoide está reducida en diversas regiones cerebrales de ratas con EAE, lo que podría explicar varios de los signos neurológicos que se observan en estas ratas, y por extensión en los pacientes, y justificar que la “recuperación” de esta transmisión mediante la administración de agonistas indirectos reduzca el deterioro neurológico experimentado por estos animales. En ese contexto, nuestros datos apuntan a que el receptor VR1 podría representar una nueva diana para atenuar el deterioro neurológico en la EAE.

EL EFECTO NEUROPROTECTOR DE LOS CANNABINOIDES SOBRE LA MUERTE NEURONAL INDUCIDA POR AMPA REQUIERE LA ACTIVACIÓN CONJUNTA DE LOS RECEPTORES CB1 Y CB2. ¿IMPLICACIÓN EN LOS EFECTOS TERAPÉUTICOS DE LOS CANNABINOIDES EN EL MODELO DE THEILER?

F. Docagne, E. Romero-Muñoz, D. Clemente-López, L. Mestre, F. Correa, C. Guaza.
Grupo de Neuroinmunología; Depto. de Plasticidad Neural, Instituto Cajal, CSIC, Madrid

Los cannabinoides (CB) producen mejoría de los síntomas característicos de los modelos animales de esclerosis múltiple (EM). Además, se han sugerido sus posibles propiedades neuroprotectoras frente a la muerte neuronal por excitotoxicidad. En el presente trabajo, se postula que los efectos beneficiosos de los CB en modelos de EM podrían deberse, al menos en parte, a su posible actividad anti-excitotóxica.

Primero, hemos mostrado que la administración crónica de NBQX, un antagonista del receptor AMPA, mejora la actividad motora en ratones infectados con el virus de Theiler (TMEV). Esta observación sugiere una participación de procesos excitotóxicos en el desarrollo de la patología en este modelo de EM. Segundo, utilizando cultivos mixtos de neuronas y células gliales, hemos observado que el agonista no-selectivo HU-210 es neuroprotector en un modelo de excitotoxicidad inducida por AMPA. Interesantemente, este efecto fue revertido tanto por antagonistas del receptor CB1 como por antagonistas del receptor CB2. A pesar de que la adición por separado de ACEA (agonista específico de CB1) o de JWH133 (agonista específico de CB2) no mostró efecto neuroprotector, el tratamiento combinado de ambos tipos de agonistas cannabinoides produjo un efecto neuroprotector comparable al observado con el uso de HU210.

La sobre-activación de los receptores AMPA ha sido claramente implicada en patologías agudas del sistema nervioso central por diversos estudios, considerándose particularmente implicada en procesos de daño axonal. Sin embargo, en modelos de patologías crónicas como el modelo del TMEV utilizado en el presente trabajo, donde se han detectado lesiones axonales en la medula espinal, queda por esclarecer si el efecto beneficioso del bloqueo de los receptores AMPA se debe a una posible reducción del daño axonal. En este contexto, el efecto neuroprotector de los cannabinoides frente a la toxicidad inducida por AMPA podría representar uno de los posibles mecanismos que contribuyen a los efectos terapéuticos de los cannabinoides en los modelos de esclerosis múltiple.

CARACTERIZACION DEL EFECTO NEUROPROTECTOR DEL WIN-55212 EN UN MODELO *IN VITRO* DE ENCEFALOPATIA HIPOXICO-ISQUEMICA NEONATAL

D. Fernández-López, A. Cárdenas, JC Leza, P. Lorenzo, MA. Moro, I. Lizasoain, J. Martínez Orgado (*)

Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense (Madrid); y (*) Area de Pediatría y Neonatología, F. Hospital Alcorcón (Madrid).

Antecedentes: el agonista cannabinoide WIN-55212 ha demostrado un potente efecto neuroprotector en modelos experimentales de encefalopatía hipóxico-isquémica neonatal (EHIN) (Martínez-Orgado et al, *Mol Brain Res* 2003; 114:132-139).

Objetivo: caracterizar los mecanismos implicados en este efecto neuroprotector, empleando un modelo *in vitro* de EHIN en el que se preserva al máximo la anatomía funcional del cerebro: la Privación de Oxígeno y Glucosa (POG).

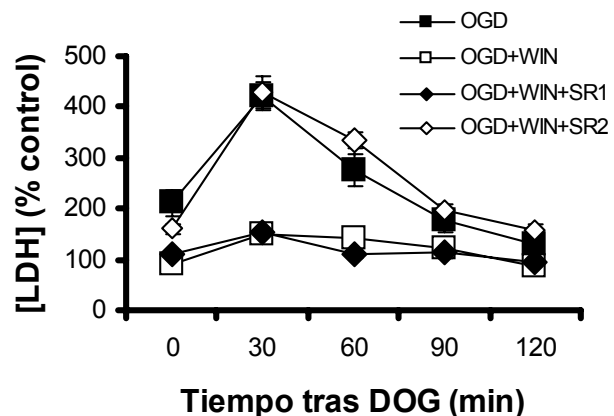
Métodos: se dispusieron secciones de cerebro de 500 μm de grosor, obtenidas de crías de rata Wistar de 7 días de vida, en viales conteniendo solución de Krebs-Henseleit modificada, calentada a 37 °C y burbujeada con 95% O₂ + 5% CO₂ (carbógeno). Tras un período de estabilización, en unos viales la solución de incubación se cambió por otra idéntica pero sin glucosa, y el carbógeno se reemplazó por una mezcla de 95% N₂ + 5% CO₂ para disponer las secciones en un medio sin oxígeno ni glucosa (POG) durante 10 min (grupo POG, n=26), para posteriormente recuperar las condiciones normales durante 3 horas; otras secciones permanecieron en condiciones estándar (control, n=30). En unas secciones la POG se repitió en presencia de WIN-55212 (50 μM) (WIN, n=28), sólo o junto con el antagonista de CB1 SR141716 (50 μM) (SR1, n=12) o el de CB2 SR 144528 (50 μM) (SR2, n=14). En todos los grupos se determinó mediante espectrofotometría la lactato deshidrogenasa (LDH) liberada al medio por las células dañadas, como marcador cuantitativo de necrosis tisular cerebral; la concentración de glutamato (Glu) y de TNF α liberados en el medio, mediante HPLC y ELISA, respectivamente; y la expresión de iNOS, mediante Western-Blot en homogeneizado de secciones.

Resultados: la POG indujo un aumento de la liberación de LDH, que se inhibió completamente con WIN (Fig.1) El efecto del WIN no se modificó por SR1, pero se anuló con SR2 (Fig.2). La POG se asoció a un aumento de la expresión de iNOS, que no se modificó por WIN (intensidad de bandas en W-B, en % de control: 220 \pm 40, y 230 \pm 10 % para POG y WIN, respect., ANOVA p<0.01 vs control).

La POG se asoció a un aumento de la liberación de Glu, que se redujo con WIN ([Glu] 21.6 \pm 3.1, 127.9 \pm 18.7 y 57.2 \pm 9.8 ng/mL para control, POG y WIN, respect., ANOVA p<0.01), así como de TNF α , que se inhibió por WIN ([TNF α] 51.1 \pm 2.91, 93.4 \pm 4.4 y 15.5 \pm 1.5 pg/mL para control, POG y WIN, respect., ANOVA p<0.01). El efecto del WIN sobre la liberación de TNF α no se modificó con SR2.

Conclusiones: 1) el efecto neuroprotector del WIN55212 en nuestro modelo *in vitro* de EHIN está relacionado con la disminución de la liberación de Glu y TNF α . 2) Este efecto parece independiente de CB1, estando involucrados los CB2 y otros receptores no-CB1-no-CB2.

Financiado con becas Soc.Esp.Neonatología 2000,FIS-PI021540 y SAF2002-04487-C02-01.



O-5.2

EL LIGANDO CANNABINOIDE AM404 (INHIBIDOR DE LA RECAPTACIÓN Y DEGRADACIÓN DE ANANDAMIDA Y AGONISTA VANILLOIDE) POSEE EFICACIA ANTIPARKINSONIANA, AUNQUE PRESENTA ACCIÓN “PSICÓTICA” ALTERANDO EL NORMAL FILTRADO SENSORIAL E INDUCE REFUERZO ADICTIVO EN RATAS

E. Fernández Espejo, F. El Banoua, I. Caraballo, J.A. Flores, B. Galán-Rodríguez, S. Ramiro.
Departamento de Fisiología Médica y Biofísica, Universidad de Sevilla, 41009 Sevilla.

El ligando cannabinoide N-(4-hidroxifenil)-araquidonamida (AM404) es un modulador de la función de la anandamida aumentando su biodisponibilidad en la biofase mediante el bloqueo de su recaptación y de su degradación por la amidohidrolasa de ácidos grasos. Además activa receptores vanilloides VR1, y aumenta la biodisponibilidad del 2-araquidonilglicerol (2-AG), otro cannabinoide endógeno. La modulación del sistema cannabinoide podría ser útil para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, por lo que en el presente estudio se ha investigado la acción motora del AM404 en ratas parkinsonianas (modelo de la 6-OHDA). Se ha observado que el empleo sistémico de AM404 ejerce efectos antiparkinsonianos en un rango de dosis (1-5 mg/kg), reduciendo la asimetría motora, la acinesia y el déficit sensoriomotor. Estos efectos se bloquean con SR141716A, confirmando la participación de los receptores CB1. Las inyecciones locales de AM404 en el estriado denervado indican que su acción motora se basa en la estimulación de la funcionalidad de receptores 5-HT1B de serotonina, además de inhibir la funcionalidad de receptores D2 de dopamina.

Por otra parte, se ha postulado que la hiperactividad cannabinoide endógena podría relacionarse con fenómenos “psicóticos”. Por dicho motivo se ha investigado la posible acción “psicótica” del AM404 mediante el test de inhibición por prepulso o PPI, que evalúa el filtrado sensorial y es un paradigma aceptado para evaluar anomalías “psicóticas” en modelos animales. El AM404 se inyectó de modo agudo (0, 2.5 y 5 mg/kg IP) o crónico (5 mg/kg diarios, 7 días). El protocolo de PPI se basó en metodología estándar con estímulo acústico (pulso, 120 dB; prepulsos de 70 y 80dB). El AM404 agudo (5 mg/kg) alteró el PPI a 70 dB ($p<0.05$), y el tratamiento crónico alteró el PPI con ambos prepulsos (70dB, $p<0.01$; 80dB, $p<0.05$). Estos efectos se bloquearon con SR141716A. Por tanto, parece ser que el AM404 induce un cuadro “psicótico” alterando el normal filtrado sensorial, a través de la estimulación de receptores CB1.

Finalmente se ha valorado el posible efecto reforzante del AM404, pues incrementa la actividad cannabinoide endógena. Para ello se ha administrado de modo sistémico (0, 1 y 3 mg/kg IP) en un paradigma de preferencia condicionada de lugar con tres compartimentos (3 días de condicionamiento). Los resultados indican que la administración del AM404 induce preferencia de lugar en las ratas, pues aumenta significativamente el tiempo de estancia en el compartimento asociado al ligando cannabinoide ($p<0.05$). El efecto reforzante se bloquea con SR141716A. Esto indica que el aumento de la biodisponibilidad de anandamida induce recompensa a través de receptores CB1, sugiriendo que posee capacidad adictiva.

En resumen, el ligando cannabinoide AM404 ejerce efectos antiparkinsonianos en un modelo animal de Parkinson, pero su posible utilidad terapéutica se ve comprometida por su capacidad “psicótica” y de recompensa.

Financiado a EFE por Ministerio de Ciencia y Tecnología, Laboratorios Dr. Esteve (Barcelona), Plan Nacional sobre drogas, y RED de trastornos adictivos (G03/005).

POTENCIAL NEUROPROTECTOR DE LOS CANNABINOIDES EN MODELOS ANIMALES DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON: IMPLICACION DE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE LOS CANNABINOIDES

Moisés García-Arencibia, Sara González, Eva de Lago, María Gómez, Mariluz Hernández, Raphael Mechoulam*, José A. Ramos, Javier Fernández-Ruiz

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid; *Department of Medicinal Chemistry and Natural Products, Medical Faculty, Hebrew University, Jerusalem 91120, Israel

En estudios recientes, hemos observado que el Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC) es capaz de reducir la neurodegeneración de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales producida por la administración unilateral de 6-hidroxidopamina en el fascículo prosencefálico medial de ratas, un modelo habitual para generar hemiparkinsonismo. El hecho de que este efecto protector sea también producido por el cannabidiol (CBD), que no posee afinidad por los receptores CB₁ o CB₂ pero comparte con el Δ^9 -THC una notoria actividad antioxidante, ha sugerido que esta propiedad podría ser la razón del efecto protector observado en las ratas hemiparkinsonianas, aunque esto no descarta la implicación de otros posibles mecanismos. Con objeto de estudiar con mayor detalle el mecanismo por el que se produce esta acción neuroprotectora, hemos examinado en el modelo de ratas lesionadas unilateralmente con 6-hidroxidopamina los efectos de diversos compuestos con mayor selectividad por las diferentes proteínas que forman parte del sistema cannabinoide comparando con los efectos producidos por el CBD. Hemos visto que la administración de un agonista selectivo de los receptores CB₁ (a los que se ha implicado preferentemente en los efectos anti-excitotóxicos de los cannabinoides), como el ACEA, no originó ningún efecto beneficioso en el deterioro dopaminérgico que produce la administración de la toxina. Tampoco resultó beneficiosa la administración de WIN55,212-2, un agonista con afinidad tanto por los receptores CB₁ como por los CB₂ (a los que se ha implicado preferentemente en los efectos antiinflamatorios de los cannabinoides). Por el contrario, la administración de metanandamida, un análogo más estable de la anandamida con un perfil farmacodinámico similar al del WIN55,212-2 pero susceptible de activar mecanismos eicosanoides, sí que resultó efectiva. Lo mismo se observó al administrar el AM404, que actúa a través del bloqueo del transportador de endocannabinoides, pero que también posee propiedades antioxidantes por la presencia de un resto hidroxifenilo en su molécula. Sin embargo, otro inhibidor de este transporte, como el UCM707, que carece de este tipo de actividad antioxidante no redujo la deplección dopaminérgica producida por la 6-hidroxidopamina, indicando que el efecto del AM404 se debería sobre todo a su potencial antioxidante. Por otro lado, también hemos estudiado si los efectos neuroprotectores que se derivan del potencial antioxidante que posee el CBD y algunos otros cannabinoides, tendrían relación con un incremento de las defensas antioxidantes endógenas. Hemos observado que la reducción en la expresión de la enzima superóxido-dismutasa 1 que provoca la lesión con la toxina era significativamente atenuada por el tratamiento con CBD, aunque no podemos establecer si este podría ser el mecanismo que permite que se desarrolle el efecto protector de ciertos cannabinoides como el CBD o es una consecuencia derivada de este efecto protector. En resumen, ciertos cannabinoides con propiedades antioxidantes podrían ejercer una acción neuroprotectora en modelos animales de la enfermedad de Parkinson, efectos que podrían ser desarrollados a través de potenciar las defensas endógenas antioxidantes del organismo. No obstante, algunas otras observaciones sugieren que existen mecanismos adicionales y distintos al potencial antioxidante por el que los cannabinoides también pueden ofrecer neuroprotección en esta enfermedad.

Financiado por una ayuda de investigación del MCYT (SAF2003-08269)

INDUCCION DE RECEPTORES CB₂ CON FUNCION NEUROPROTECTORA EN RATAS CON ATROFIA ESTRIATAL INDUCIDA POR ADMINISTRACION DE MALONATO

Sara González, Estefanía Nuñez*, Simone Finetti, Cristina Benito*, Onintza Sagredo, Julián Romero*, José Antonio Ramos, Javier Fernández-Ruiz
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid, *Laboratorio de Investigación, Fundación Hospital Alcorcón, 28922-Madrid

En un estudio reciente realizado en ratas con atrofia estriatal producida por la administración unilateral de malonato, un inhibidor del complejo II de la cadena respiratoria utilizado para generar modelos animales de la enfermedad de Huntington (ver reunión de la SEIC del año 2003), examinamos el potencial neuroprotector del agonista CB₁, araquidonil-2-cloroetilamida, del agonista CB₂, HU308, y del cannabidiol, un fitocannabinoide con muy baja afinidad por los receptores cannabinoideos pero que posee una considerable capacidad antioxidante. Nuestros resultados mostraron que solo el HU308 fue capaz de atenuar la magnitud de la depleción GABAérgica provocada por el malonato en el caudado-putamen y en otros ganglios basales, lo que indicaba que podría estar ejerciendo un efecto protector de las neuronas de proyección estriatal frente a la muerte inducida por la toxina. Este efecto debería estar relacionado con la activación de receptores CB₂ que habitualmente están ausentes de los ganglios basales en condiciones no-patológicas pero que podrían inducirse en respuesta al daño causado por la toxina. El presente estudio se ha realizado para evaluar en profundidad el papel de este subtipo de receptor cannabinoide en la neuroprotección que los cannabinoideos pueden ejercer en este modelo. Hemos observado que: (i) el bloqueo del receptor CB₂ con SR144528 revierte los efectos neuroprotectores ejercidos por el HU308; (ii) se detecta inmunoreactividad para el receptor CB₂ en el cuerpo estriado de ratas lesionadas con malonato frente a lo que ocurre en los animales controles donde no aparece ninguna señal; y (iii) la localización de la inmunoreactividad para el receptor CB₂ es preferentemente glial y, por las características morfológicas de las células que se marcan con el anticuerpo anti-CB₂, se podría decir que se trata de células de microglia reactiva. Por otro lado, también hemos visto que la activación del receptor CB₂ con HU308 no es capaz de revertir el descenso que la lesión con malonato provoca sobre la superóxido dismutasa, lo que sugiere que la neuroprotección que proporciona este receptor no se ejercería a través de inducir uno de los elementos claves en la defensa frente al estrés oxidativo. En la actualidad, realizamos estudios para evaluar si el efecto neuroprotector asociado a la activación del receptor CB₂ podría tener que ver con la reducción de la actividad caspasa 3 (acción antiapoptótica) o con la reducción de la liberación de citoquinas proinflamatorias por parte de la microglia (acción antiinflamatoria). En resumen, los resultados obtenidos sugieren que el receptor CB₂ podría desempeñar un papel neuroprotector frente a la neurodegeneración causada por la administración de malonato, respuesta que incluiría su inducción en células de microglia reactiva y su participación en el control de algunas de las acciones que la microglia ejerce en los procesos neurodegenerativos. Por tanto, este subtipo de receptor cannabinoide podría representar una nueva diana farmacológica susceptible de retrasar o detener el deterioro estriatal típico de la enfermedad de Huntington.

(financiado con una ayuda del Plan Regional de Investigación de la Comunidad de Madrid, ref. 08.5/0063/2001)

MECANISMO DE APOPTOSIS INDUCIDA POR THC EN UN MODELO DE CÉLULAS LEUCÉMICAS

Blanca Herrera, Arkaitz Carracedo, María Díez, Teresa Gómez del Pulgar, Manuel Guzmán,
Guillermo Velasco

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I; Facultad de Biología, Universidad
Complutense, 28040 Madrid

Durante los últimos años, diversos estudios han demostrado que los cannabinoides ejercen efectos antiproliferativos en diferentes tipos de células tumorales. Estos efectos han sido atribuidos a la estimulación de distintos tipos de receptores de cannabinoides y en parte son debidos a la capacidad de estos compuestos de inducir apoptosis en las células transformadas. Sin embargo, los mecanismos moleculares implicados en dicha inducción de apoptosis no han sido completamente elucidados. En el presente estudio, utilizamos la línea celular de leucemia Jurkat para estudiar el mecanismo de apoptosis inducida por THC a través del receptor CB₂.

Nuestros resultados muestran que:

- (i) La incubación con un antagonista selectivo del receptor CB₂ previene completamente la apoptosis inducida por THC
- (ii) La incubación con THC lleva a: una caída del potencial de membrana mitocondrial, la liberación de citocromo c al citosol y la activación de la caspasa-3, siendo todos estos eventos dependientes del receptor CB₂.
- (iii) La incubación con THC induce una acumulación de ceramida intracelular que se ve acompañada de un aumento de la actividad serina palmitoiltransferasa (SPT), enzima que cataliza la etapa limitante de la ruta de síntesis *de novo* de ceramida.
- (iv) La inhibición farmacológica de la ruta de síntesis *de novo* de ceramida atenúa la apoptosis inducida por THC, la caída del potencial de membrana mitocondrial, la liberación del citocromo c y la activación de la caspasa-3.
- (v) La apoptosis inducida por THC se ve acompañada por la activación de diferentes quinasas de estrés especialmente p38 MAPK.
- (vi) La inhibición farmacológica de p38 MAPK previene parcialmente la apoptosis inducida por THC pero no afecta a los eventos mitocondriales.

En suma, los datos presentados en este estudio indican que, en este modelo celular, el tratamiento con THC induce apoptosis por un mecanismo dependiente del receptor CB₂, y en el que están implicados la generación de ceramida por la ruta de síntesis *de novo* y la mitocondria.

EXPRESIÓN GÉNICA DIFERENCIAL EN CÉLULAS DE GLIOMA CON DISTINTA SENSIBILIDAD A APOPTOSIS POR CANNABINOIDES

Arkaitz Carracedo, Ainara Egia, Raquel Villuendas*, Cristina Blázquez, M.A. Piris*, Manuel Guzmán, Guillermo Velasco

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Facultad de Biología, Universidad Complutense, 28040 Madrid

Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas, 28029 Madrid*

Durante los últimos años, diversos resultados de nuestro grupo han mostrado que los cannabinoides ejercen una acción antiproliferativa en gliomas debido a su capacidad de inducir apoptosis en las células de estos tumores así como de inhibir la angiogénesis tumoral. Sin embargo, una de las razones por las que el glioblastoma multiforme es uno de los tumores con peor pronóstico es su notable resistencia a la quimioterapia. Así, diversos fármacos que han resultado prometedores en investigaciones con modelos animales no han sido efectivos cuando se han ensayado en la clínica. En consecuencia, la estrategia para conseguir un salto cualitativo en el tratamiento de estos tumores deberá pasar por la utilización de terapias combinadas y sobre todo, por un aumento de la selectividad de los tratamientos que permita utilizar cada fármaco o combinación de fármacos sólo en aquellos tumores que sean sensibles al mismo.

Así, con el fin de mejorar la selectividad de una posible terapia con cannabinoides en tumores cerebrales, en este trabajo nos planteamos investigar qué características se encuentran asociadas a una mayor sensibilidad de las células de glioma a estos compuestos. Para ello, utilizamos dos subclones de glioma de rata C6: uno sensible (C6.9) y otro resistente (C6.4) al tratamiento con THC, y estudiamos su patrón de expresión génica mediante “arrays” de DNA en una situación control -con el fin de comparar el patrón de expresión en ambos tipos celulares en condiciones basales- y tras tratamiento con THC.

Un primer análisis de los resultados obtenidos reveló que: (i) Existen una serie de genes que presentan una gran diferencia de expresión entre células sensibles y resistentes al THC ya en condiciones basales y (ii) la respuesta al tratamiento con cannabinoides es muy diferente en ambos tipos celulares, existiendo un mayor número de genes cuya expresión se ve modificada en las células sensibles (C6.9).

A partir de estos datos, hemos identificado una serie de genes candidatos: (i) que pueden asociarse con la resistencia o sensibilidad de las células a apoptosis por THC (genes que presentan una diferencia de expresión de más de 10 veces entre las células sensibles y las resistentes) y (ii) que podrían estar implicados en el mecanismo de la acción antitumoral del THC en las células de glioma (genes que tras el tratamiento con THC cambian 2 veces o más en las células sensibles pero no en las resistentes). En la actualidad estamos tratando de confirmar la función de esos genes candidatos en varios modelos de glioma “in vitro” e “in vivo”.

En resumen, estos resultados constituyen un primer paso en la identificación de un patrón de expresión génica en respuesta a cannabinoides que permita predecir la efectividad de estos compuestos en el tratamiento de gliomas.

CONTROL DEL CICLO CELULAR POR CANNABINOIDES: POSIBLES IMPLICACIONES TERAPÉUTICAS EN EL CÁNCER DE MAMA

M. M. Caffarel¹, D. Sarrió², J. Palacios², M. Guzmán¹ y C. Sánchez¹

¹ Dept. Bioquímica y Biología Molecular I, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid, Ciudad Universitaria, 28040 Madrid

² CNIO, Melchor Fernández Almagro 3, 28029 Madrid

Está bien descrito en la bibliografía que los cannabinoides participan en el control del destino celular. Así, estos compuestos son capaces de inducir muerte, supervivencia o diferenciación en función del tipo celular y su contexto fisiopatológico. Sin embargo, muy poco se sabe hasta el momento del efecto que los cannabinoides tienen directamente sobre los elementos que regulan el ciclo celular, control por excelencia del destino celular. Utilizando como modelo líneas celulares de tumor de mama, hemos observado que distintos cannabinoides producen un descenso significativo de la proliferación celular, efecto mediado por un arresto celular en fase G0/G1. Este arresto, que no va acompañado de muerte celular, parece no ser dependiente de receptores CB ya que: i) no se previene con antagonistas selectivos ni de CB₁ ni de CB₂; ii) no se correlaciona en términos cuantitativos con la potencia de los cannabinoides analizados. Por otro lado, concentraciones mayores de THC inducen un arresto en una fase distinta del ciclo celular (G2/M), que en este caso sí conlleva muerte celular por apoptosis. Este último efecto, dependiente de caspasa-3, parece estar mediado por el receptor CB₂.

Hemos analizado además la expresión tanto de los mensajeros como de las proteínas de los receptores de cannabinoides en muestras de tumores humanos. Resultados preliminares indican que: i) los tumores expresan tanto CB₁ como CB₂; ii) la expresión de CB₁, mucho menor que la de CB₂, es muy similar en todos los tumores analizados, independientemente de su grado de malignidad; iii) la expresión de CB₂, en cambio, sí parece correlacionarse con la malignidad de los tumores, siendo los niveles tanto de mensajero como de proteína mayores en los tumores menos diferenciados, es decir, más agresivos.

Estos datos en conjunto parecen confirmar la hipótesis de que los cannabinoides poseen efecto antiproliferativo en células tumorales de mama, efecto que está mediado por alteraciones en la regulación del ciclo celular. Con esta información se podría construir la base de una nueva terapia para el tratamiento de estos tumores que, aunque tienen índices de curación moderadamente elevados con las terapias convencionales, siguen presentando recidivas de carácter letal.

PROTOCOLO DEL ENSAYO CLÍNICO PILOTO, ALEATORIZADO, DOBLE CIEGO, DE GRUPOS PARALELOS, CONTROLADO CON PLACEBO, PARA EVALUAR LA EFICACIA PRELIMINAR Y SEGURIDAD DE UN EXTRACTO ESTANDARIZADO DE CANNABIS ADMINISTRADO POR VÍA SUBLINGUAL (SATIVEX) AÑADIDO AL TRATAMIENTO DE REFERENCIA PARA LA PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LAS NÁUSEAS Y LOS VÓMITOS TARDÍOS INDUCIDOS POR LA QUIMIOTERAPIA MODERADAMENTE EMETÓGENA

Duran M,^{1,2,3} Abanades S⁵, de la Torre R,⁵ Farré M,⁵ Vidal X,^{1,2,3} Roca JM,^{3,4} Vázquez S,^{4,6} Cortés J,^{3,4} Rams R,⁷ Capellà D.^{1,2,3}

1 Fundació Institut Català de Farmacologia. 2 Universitat Autònoma de Barcelona. 3 Hospitals Vall d'Hebron. 4 Servicio de Oncología. 5 Institut Municipal d'Investigació Mèdica. 6 Institut Català d'Oncologia. 7 Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya. Barcelona.

Introducción: Se desconoce actualmente si el Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC) y el cannabidiol (CBD) pueden aportar algún beneficio en el control de las náuseas y los vómitos de los pacientes que no responden a los tratamientos disponibles.¹ **Objetivos:** presentar el protocolo de un ensayo clínico que tiene como objetivo principal evaluar la eficacia preliminar de una pauta individual de un extracto estandarizado de cannabis (Sativex) que contiene 2,5 mg de THC y 2,5 mg de CBD por 100 μ l administrado por vía sublingual añadido al tratamiento de referencia para la prevención de náuseas y vómitos tardíos inducidos por la quimioterapia moderadamente emetógena. **Método:** Se propone un ensayo clínico piloto con 60 pacientes, aleatorizado, doble ciego, de grupos paralelos y comparado placebo. Se incluirán pacientes con náuseas y/o vómitos de más de 24 h de duración tras un primer ciclo de quimioterapia moderadamente emetógena a pesar del tratamiento antiemético habitual, con o sin factores de riesgo emetógenos. La variable principal del estudio será el porcentaje de pacientes con ausencia de náuseas y/o vómitos durante las 120 horas posteriores a la quimioterapia. Entre las variables secundarias se evaluará la tolerabilidad del tratamiento, variables de calidad de vida, cambios en la necesidad de tratamiento con opioides, parámetros farmacocinéticos y la satisfacción por parte del médico y del paciente. Se realizará un seguimiento diario telefónico de los pacientes, según un horario fijo previamente convenido y se monitorizarán los efectos adversos y clínicos y el cumplimiento de la medicación durante los días 1, 2, 3, 4 y 5. La duración del estudio será de un año. **Resultados:** Al tratarse de un estudio piloto no se realiza un cálculo formal de la hipótesis. A partir de los datos obtenidos en estudios observacionales y ensayos clínicos realizados con THC y nabilona¹ es esperable que la eficacia en el control de las náuseas y los vómitos sea superior en el grupo tratado con Sativex respecto a placebo. Asimismo se espera una buena tolerabilidad al tratamiento. **Conclusión:** es esperable que los resultados obtenidos sirvan de referencia para un futuro ensayo clínico de fase III.

1. Med Clin (Barc) 2004; 122; 390-8.