

2ª REUNION NACIONAL SOCIEDAD ESPAÑOLA DE INVESTIGACIÓN SOBRE CANNABINOIDES

Fundación Hospital Alcorcón, 23 de Noviembre de 2001

PROGRAMA CIENTIFICO

9:00 Inauguración

Luis Carretero Alcántara (Gerente de la Fundación Hospital Alcorcón)
José Antonio Ramos (Presidente de la SEIC)

9:10-10:00 Conferencia invitada (presentada por Julián Romero)

Recent advances in the pharmacology of cannabinoid receptors and their ligands.
R.G. Pertwee, Department of Biomedical Sciences, University of Aberdeen, Scotland

10:00-12:45 Comunicaciones orales I (los cannabinoides como medicamentos) (moderadores: Carmen Guaza y Julián Romero)

10:00 O-1

Inhibición de la diferenciación neuronal por endocannabinoides.

D. Rueda, M. Guzmán, I. Galve-Roperh. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid.

10:15 O-2

Implicación de la vía PI3K/AKT en la supervivencia de los oligodendrocitos inducida por cannabinoides.

E. Molina-Holgado, A. Arévalo-Martín, J.M. Vela, F. Molina-Holgado, G. Almazán, J. Borrell y C. Guaza. Departamento de Plasticidad Neural, Instituto Cajal, CSIC, Madrid

10:30 O-3

Papel biológico de los receptores CB₁ y CB₂ en las interacciones neuroinmunes de los cannabinoides.

F. Molina-Holgado, E. Molina-Holgado, C. Guaza, N. J. Rothwell. Neurology Unit, Department of Clinical Veterinary Medicine, University of Cambridge (Reino Unido)

10:45 O-4

Caracterización fenotípica de las células estriatales que expresan el receptor cannabinoide CB1 en la rata.

A.B. Martín, B. Cuéllar, C. Grande, I. Alberti, F. Rodríguez de Fonseca, M. Navarro y R. Moratalla. Instituto Cajal, CSIC, Madrid.

11:00-11:30 Descanso (café en la antesala del aula de reuniones)

11:30 O-5

Los receptores CB₁ y CB₂ se expresan en la piel y su activación inhibe el crecimiento de tumores de piel.

C. Blázquez, M.L. Casanova, M.J. Fernández-Aceñero, C. Villanueva, J.L. Jorcano y M. Guzmán. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid.

11:45 O-6

Papel de la oleiletanolamida en la ingesta de comida en ratas.

R. Gómez, L. Escuredo, J.M. Trigo, M. Navarro, F. Rodríguez de Fonseca. Laboratorio de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid.

12:00 O-7

El tratamiento con cannabinoides disminuye los déficits neurológicos, la desmielinización y el grado de inflamación en la encefalomiелitis murina por infección con el virus de Theiler.

A. Arévalo-Martín, J.M. Vela, E. Molina-Holgado, J. Borrell y C. Guaza. Departamento de Plasticidad Neural; Instituto Cajal, CSIC; Madrid.

12:15 O-8

Efectos de los cannabinoides en la enfermedad de Huntington: ¿toxinas o neuroprotectores?

I. Lastres-Becker, E. Brouillet, N. Bizat, F. Boyer, O. Sagredo, P. Hantraye, J.A. Ramos y J.J. Fernández-Ruiz. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.

12:30 Discusión General

12:45-14:00 Visita a la zona de paneles (antesala del aula de reuniones)

P-1 Diseño y síntesis de nuevos triazoles y análogos de anandamida como potenciales ligandos cannabinoides.

I. Alkorta, C. Cano, P. Goya, N. Jagerovic, L. Hernández, J. A. Páez. Instituto de Química Médica, CSIC, Madrid.

P-2 Modelización y análisis de los receptores cannabinoides CB₁ y CB₂

N. Campillo, J. A. Páez y P. Goya. Instituto de Química Médica, CSIC, Madrid.

- P-3 Utilización de las propiedades fluorescentes de los cannabinoides para analizar su interacción con membranas lipídicas.
D. Martínez-Pérez, C. Agulló, V. Micol y C.R. Mateo. Centro de Biología Molecular y Celular. Universidad Miguel Hernández, Elche.
- P-4 Efectos de los tratamientos crónicos con CP55,940 y WIN55,212-2 en diferentes respuestas de ansiedad en la rata.
C. Arévalo, R. Fernández, R. Hernández-Tristán. Departamento de Biología Animal II (Fisiología Animal), Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid
- P-5 Efecto neuroprotector del agonista cannabinoide WIN 55212 en un modelo en rata de encefalopatía hipóxico-isquémica neonatal.
J. Martínez Orgado, B. Fernández de Frutos, R. González, D. Fernández, E.M. Romero Muñoz, L. Urigüen, M.P. Viveros. Area de Pediatría-Neonatología. Fundación Hospital Alcorcón. Madrid.
- P-6 Nuevos datos sobre la implicación de los receptores CB₁ en los ganglios basales en algunos síntomas neurológicos de la esclerosis múltiple.
A. Cabranes, A. Sánchez, M. Cebeira, C. Puerta, E. de Lago, J.A. Ramos, A. García-Merino, J.J. Fernández-Ruiz. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.
- P-7 Receptores CB₁ y enfermedad de Parkinson: estudios en humanos y monos tratados con MPTP
I. Lastres-Becker, M. Cebeira, M.L. de Ceballos, B.-Y. Zeng, P. Jenner, J.A. Ramos, J.J. Fernández-Ruiz. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.
- P-8 Sensibilización ante el desafío con agonistas D1 y D2 tras la exposición perinatal a Δ^9 -tetrahidrocannabinol en ratas.
M. Moreno, J.M. Trigo, L. Escuredo, B. Ferrer, F. Rodríguez de Fonseca y M. Navarro. Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid.
- P-9 Eficacia de los cannabinoides en la prevención de las náuseas y vómitos secundarios al tratamiento citostático en pacientes oncológicos.
M. Duran, M. Sabaté, D. Capella, J.R. Laporte. Fundació Institut Català de Farmacologia
- P-10 Proyecto de investigación clínica sobre el uso terapéutico del cannabis y cannabinoides.
M. Duran, D. Capella, J.R. Laporte. Fundació Institut Català de Farmacologia.
- P-11 Relevancia clínica y pronóstica del consumo de cannabis en la esquizofrenia.
F. Arias, S. Sánchez. Unidad de Psiquiatría. Fundación Hospital Alcorcón, Madrid.

- P-12 Efectos del hachís en la población joven del distrito de Majadahonda.
M.D. Baño, V.de Antonio, M.L. López, A. Fernández. Programa Municipal de Drogas, Majadahonda.
- P-13 El inhibidor de la recaptación de anandamida, AM 404, no modifica la autoadministración de morfina en ratas Wistar macho.
J.M. Trigo-Díaz, J.A. López-Moreno, B. Merino, F. Rodríguez de Fonseca, M. Navarro. Laboratorio de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid.
- P-14 Los cambios del sistema endocannabinoide en el cerebro de ratas consumidoras de alcohol parecen explicar la reducción de su ingesta tras el bloqueo de los receptores CB₁
S. González, M.G. Cascio, F. Fezza, J.J. Fernández-Ruiz, V. Di Marzo, J.A. Ramos. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.
- P-15 Estudio autorradiográfico del desarrollo ontogenético de los receptores cannabinoides CB₁ en cerebro humano.
S. Mato, E. del Olmo, A. Pazos. Departamento de Fisiología y Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Cantabria.

14:00-16:00 Comida (restaurante de la Fundación Hospital Alcorcón)

16:00-17:30 Comunicaciones orales II (los cannabinoides como drogas de abuso)
(moderadores: Angel Pazos y Alberto Rábano)

16:00 O-9

Neurolépticos atípicos en patología dual esquizofrenia-consumo de cannabis.

L.A. Núñez Domínguez. Clínica San Francisco Javier, Pamplona.

16:15 O-10

Programa de educación para la salud, con jóvenes consumidores de hachís: “de como quitarse una multa o hacer prevención”.

V. de Antonio Pérez, M.C. Mendina, D. Baño. Programa Municipal de Drogas, Majadahonda.

16:30 O-11

Perfil factorial de personalidad en pacientes consumidores habituales de cannabis. Estudio preliminar.

S. Anglada, M. Quiroga. Servicio de Psiquiatría, Hospital Militar de Melilla.

16:45 O-12

Participación del sistema opioide endógeno en los procesos de dependencia de cannabinoides.

R. Maldonado, S. Ghosland, H.W.D. Matthes, F. Simonin, D. Filliol, B.L. Kieffer. Laboratori de Neurofarmacologia, Facultat de Ciencies de la Salut i de la Vida, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona.

17:00 O-13

Nuevas evidencias sobre los cambios comportamentales y neuroquímicos asociados al síndrome de abstinencia a cannabinoides inducido por la administración de SR141716.

S. González, M.L. Hernández, C. Arévalo, M. Gómez, R. de Miguel, J.J. Fernández-Ruiz, J.A. Ramos. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid.

17:15 Discusión General

17:30-18:00 Descanso (café en la antesala del aula de reuniones)

18:00-19:00 Asamblea de la SEIC

Conferencia Invitada:**RECENT ADVANCES IN THE PHARMACOLOGY OF CANNABINOID RECEPTORS AND THEIR LIGANDS**R.G. Pertwee

Department of Biomedical Sciences, Institute of Medical Sciences, University of Aberdeen, Foresterhill, Aberdeen AB25 2ZD, Scotland, UK

There are at least two types of cannabinoid receptor, CB₁ and CB₂, both coupled through G proteins, negatively to adenylate cyclase and positively to mitogen-activated protein kinase (see Ross & Pertwee, 2001). CB₁ receptors are also coupled through G proteins to several types of calcium and potassium channel. Endogenous agonists for cannabinoid receptors (endocannabinoids) have also been discovered, the most important being arachidonoyl ethanolamide (anandamide), 2-arachidonoyl glycerol and 2-arachidonoyl glyceryl ether (see Ross & Pertwee, 2001). CB₁ receptors exist primarily on central and peripheral neurons. One function of these receptors is to inhibit neurotransmitter release and there is now good evidence that endocannabinoid molecules serve as retrograde synaptic messengers, at least in the hippocampus and cerebellum (see Ross & Pertwee, 2001). CB₂ receptors are present mainly on immune cells. Their roles are proving more difficult to establish but seem to include the modulation of cytokine release. The discovery of the system of cannabinoid receptors and endocannabinoids that constitutes the "endocannabinoid system" has prompted the development both of CB₁ and CB₂-selective agonists and of agents that can modulate extracellular concentrations of endocannabinoids by inhibiting their tissue uptake or enzymic hydrolysis. It has also led to the development of selective antagonists (see Pertwee, 2000). The most notable of these are the CB₁-selective SR141716A and the CB₂-selective SR144528, each of which behaves as an inverse agonist. "Silent" cannabinoid receptor antagonists are not yet available. However, one compound that is close to being a silent cannabinoid receptor antagonist, albeit at both CB₁ and CB₂ receptors, is 6'-azidohept-2'-yne- Δ -8-tetrahydrocannabinol (O-1184; Ross et al., 1999b), and 6-iodopravadoline (AM-630) appears to have less inverse efficacy at CB₂ receptors than SR144528 (Ross et al., 1999a; 1999b). Pharmacological evidence for the existence of other types of cannabinoid receptor is emerging (see Ross & Pertwee, 2001). In addition, it is now generally accepted that although anandamide can act through CB₁ and CB₂ receptors, it is also a vanilloid receptor agonist. Indeed, there is evidence that the inhibitory effect of anandamide on electrically-evoked transmitter release in the mouse isolated vas deferens is mediated by both CB₁ and vanilloid receptors (Ross et al., 2001). There is also evidence that some anandamide metabolites have pharmacological activity. For example, the contractile effect of anandamide on the guinea-pig isolated bronchus appears to depend to a significant extent on the conversion of this fatty acid amide by lipoxygenase to metabolites that are vanilloid receptor agonists (Craib et al., 2001).

References

- Craib, S.J., Ellington, H.C., Pertwee, R.G. & Ross, R.A. (2001) *Br. J. Pharmacol.* 134, 30-37.
 Pertwee, R.G. (2000) *Expert Opin. Invest. Drugs* 9, 1553-1571.
 Pertwee, R.G. & Ross, R.A. (2001) *Prostaglandins Leukotrienes & Essential Fatty Acids*, in press.
 Ross, R.A., Brockie, H.C., Stevenson, L.A., Murphy, V.L., Templeton, F., Makriyannis, A. & Pertwee, R.G. (1999a) *Br. J. Pharmacol.* 126, 665-672.
 Ross, R.A., Gibson, T.M., Brockie, H.C., Leslie, M., Pashmi, G., Craib, S.J., Di Marzo, V. & Pertwee, R.G. (2001) *Br. J. Pharmacol.* 132, 631-640.
 Ross, R.A., Gibson, T.M., Stevenson, L.A., Saha, B., Crocker, P., Razdan, R.K. & Pertwee, R.G. (1999b) *Br. J. Pharmacol.* 128, 735-743.

INHIBICIÓN DE LA DIFERENCIACIÓN NEURONAL POR ENDOCANNABINOIDES

O-1

D. Rueda, M. Guzmán, I. Galve-Roperh

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

Recientemente se ha propuesto que los cannabinoides participan en el control del destino celular en el sistema nervioso. Así, los cannabinoides pueden ejercer un efecto protector en diferentes modelos de daño neuronal o por el contrario inducir apoptosis en células neurales transformadas. Sin embargo, se desconoce en la actualidad el posible papel del sistema endocannabinoide en el proceso de diferenciación neuronal. Utilizando como modelo de diferenciación neuronal células PC12, hemos estudiado el efecto de diferentes cannabinoides sobre la diferenciación inducida por NGF. El tratamiento con AEA, 2-AG, MetaAEA y HU-210 inhibe de modo significativo la formación de neuritas, siendo este efecto dependiente de CB₁ ya que se bloquea con el antagonista SR141716. Análogamente, el tratamiento con cannabinoides disminuye la aparición de marcadores neuronales inducidos por NGF como β -tubulina III. Se ha descrito que la diferenciación de células PC12 por NGF es debida a una activación prolongada de la vía ERK mediada por la ruta de señalización Rap1/B-Raf/MEK. Nuestros datos muestran que el efecto de los cannabinoides sobre la diferenciación neuronal es debido a su acción inhibitoria de la activación sostenida de ERK inducida por el NGF. Este mecanismo de acción de los cannabinoides se ve corroborado por experimentos de transfección, en los que una forma constitutivamente activa de Rap1, pero no de Ras, es capaz de prevenir el efecto de los cannabinoides. Además, el efecto de los cannabinoides sobre la diferenciación de células PC12 se observa igualmente en cultivos primarios de neuronas corticales. En estos cultivos, la presencia de AEA disminuye la aparición de marcadores neuronales, siendo este efecto dependiente del receptor CB₁. En resumen, los cannabinoides ejercen un efecto inhibitorio de la diferenciación de células PC12 y neuronas corticales primarias interfiriendo en la activación sostenida de ERK dependiente de Rap1 y B-Raf.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido subvencionado por MCYT (PM 98/0079), CAM (08.1/0079/2000), Proyecto Complutense (PR 48/01-9846) y Fundación Ramón Areces.

IMPLICACIÓN DE LA VÍA PI3K/AKT EN LA SUPERVIVENCIA DE LOS OLIGODENDROCITOS INDUCIDA POR CANNABINOIDES.

E. Molina-Holgado, A. Arévalo-Martín, J.M. Vela¹ F. Molina-Holgado³, G. Almazán² J. Borrell y C. Guaza.

Departamento de Plasticidad Neural; Instituto Cajal; CSIC, Madrid. ¹Unidad de Histología; Facultad de Medicina; UAB, Bellaterra, Barcelona; ²Department of Pharmacology & Therapeutics, Mc Gill University; Montreal, Canadá. ³School of Biological Sciences, University of Manchester; UK.

Tanto en condiciones patológicas de desmielinización del SNC como en el neurodesarrollo normal se produce la pérdida de oligodendrocitos, fundamentalmente por apoptosis. Resultados previos de nuestro grupo han mostrado la expresión de receptores CB1 en células de linaje oligodendroglial, tanto en precursores como en oligodendrocitos diferenciados así como una acción protectora de agonistas cannabinoides sobre la citotoxicidad inducida por estímulos inflamatorios.

En el presente trabajo se ha investigado la capacidad protectora de los cannabinoides en la muerte celular de oligodendrocitos inducida por falta de soporte trófico, y se ha tratado de caracterizar las vías de señalización a través de las cuales los cannabinoides favorecen la supervivencia oligodendroglial.

Se han empleado cultivos primarios puros de precursores de oligodendrocitos con capacidad proliferativa. Se ha estudiado los efectos que el tratamiento con agonistas cannabinoides, (Win 55,212-2; HU210 y ACEA) tiene en la supervivencia de precursores de oligodendrocitos en condiciones de falta de soporte trófico, y las vías de señalización activadas por los mismos.

Los resultados obtenidos indican que los cannabinoides activan la cascada PI3K/Akt en progenitores de oligodendrocitos. Además, tienen un importante efecto protector favoreciendo la supervivencia celular. Los cannabinoides reducen la muerte celular en un 40-50% durante un periodo de 16 h, y este efecto se inhibe parcialmente por LY294002, un inhibidor de PI3-K. La activación de Akt (fosfoAkt) por ACEA, se bloquea por el antagonista CB1, SR1141716A. Sin embargo, las acciones de HU-210 y de Win 55-212-2, no se antagonizan completamente por dicho antagonista, sugiriendo la participación de otro receptor CB. Finalmente estamos tratando de caracterizar la presencia de receptores CB2 en oligodendrocitos y sus posibles acciones biológicas.

Los datos presentados sugieren que los cannabinoides pueden promover la supervivencia de progenitores, y por tanto favorecer la remielinización en situaciones patológicas.

Financiado por CAM (8.5 0039/98) y CICYT (PB 94-0098)

PAPEL BIOLÓGICO DE LOS RECEPTORES CB₁ Y CB₂ EN LAS INTERACCIONES NEUROIMMUNES DE LOS CANNABINOIDES

F. Molina-Holgado¹, E. Molina-Holgado², C. Guaza², N. J. Rothwell³.

¹Neurology Unit, Dept. of Clinical Veterinary Medicine, University of Cambridge, Madingley Road, Cambridge CB3 0ES (Reino Unido) ²Instituto Cajal (CSIC), Avda. Dr. Arce n.37. 28002 Madrid (España). ³Division of Neuroscience, School of Biological Sciences, University of Manchester 1.124 Stopford Building, Oxford Road, M13 9 PT Manchester (Reino Unido)

En el Sistema Nervioso Central (SNC) los cannabinoides (CB), a través de sus receptores CB₁ y CB₂, pueden ejercer acciones inmunomoduladoras y neuroprotectoras. Las citocinas pro-inflamatorias son responsables de diversas formas de neurodegeneración, mientras que las citocinas anti-inflamatorias son neuroprotectoras en situaciones patológicas que afectan al SNC. La identificación de factores que regulen diferencialmente la expresión de moléculas perjudiciales versus protectoras tiene una importante relevancia terapéutica en las enfermedades neurodegenerativas.

Nuestro grupo ha mostrado que los CB exógenos o endógenos son capaces de inhibir la liberación de mediadores inflamatorios como son el óxido nítrico (NO), la interleucina 1β (IL-1β) o el factor de necrosis tumoral (TNF-α) mediante la activación de receptores CB₁. Nuevas evidencias indican la presencia del receptor CB₂ en el SNC y su participación en acciones neuroprotectoras. En cultivos primarios de neuronas o células gliales, activados con endotoxina bacteriana (LPS), virus de Theiler (TMEV) o agonistas para receptores glutamatérgicos (AMPA o NMDA) los cannabinoides a través de sus acciones en receptores CB₁ y CB₂ modulan la liberación de mediadores anti-inflamatorios como son el antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1ra), IL-6 o IL-10. El bloqueo de estos receptores, mediante antagonistas selectivos tiene consecuencias negativas para la supervivencia celular. Nuestros resultados indican que el sistema endocannabinoide podría regular diferencialmente las citocinas pertenecientes a la familia de la IL-1 (IL-1α, IL-1β o IL-1ra), ejerciendo un papel regulador/activador en la liberación del IL-1ra endógeno, clave en procesos de neuroprotección frente al daño inducido por un exceso de IL-1.

El presente trabajo sugiere la posibilidad de que la activación del sistema cannabinoide endógeno o la administración de compuestos cannabinoides sintéticos podría resultar beneficiosa en patologías del SNC que cursan con un componente inflamatorio/neuroimmune.

Financiado por: The Wellcome Trust (Reino Unido), MRC (Reino Unido), CICYT (MCyT, España) y BIOMED-2 (UE).

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA DE LAS CÉLULAS ESTRIATALES QUE EXPRESAN EL RECEPTOR CANNABINOIDE CB1 EN LA RATA.

A.B.Martín¹, B. Cuéllar¹, C. Grande¹, I. Alberti¹, F. Rodríguez de Fonseca², M. Navarro² y R. Moratalla¹.

¹Instituto Cajal, CSIC, Madrid. ²Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología, UCM, Madrid.

La abundancia de receptores cannabinoides CB1 en el estriado, globo pálido y sustancia negra, y los estudios comportamentales realizados hasta el momento indican que el sistema cannabinoide es un sustrato neuroquímico importante en las funciones de los ganglios basales. De hecho, se ha demostrado que las acciones motoras de los cannabinoides pueden ser explicadas, en parte, por la modulación de las vías de proyección estriatales directa e indirecta ejercida por el sistema cannabinoide.

Estudios anteriores demuestran la presencia de receptores CB1 en el estriado, pero se desconoce el fenotipo de las neuronas estriatales que los expresan. En el presente trabajo hemos identificado el fenotipo de las neuronas que expresan el ARNm del receptor CB1 en el estriado de rata. Este estudio ha sido realizado mediante técnicas de hibridación *in situ* de doble marcaje, combinando ribosondas marcadas con ³⁵S y digoxigenina para el receptor CB1 y los distintos marcadores de las neuronas estriatales: sustancia P (SP), encefalina (ENK), GAD-67, ChAT, somatostatina (SOM), parvalbúmina (PV), receptores dopaminérgicos D1 y D2.

Los resultados obtenidos demuestran que la expresión del ARNm del receptor CB1 en el estriado rostromedial presenta una distribución heterogénea con un gradiente de densidad lateromedial. Tanto el número de células que expresan el receptor CB1, como la intensidad de la señal de hibridación fue muy débil en las áreas mediales y ventrales, pero muy marcada en la zona dorsolateral. Más caudalmente el gradiente de expresión fue más abundante en el área ventral con respecto a la dorsal. No observamos expresión del mensajero en el globo pálido ni en la sustancia negra.

En cuanto a la coexpresión con los distintos marcadores estriatales observamos que la mayoría de las células que expresan el receptor CB1 son neuronas de proyección: el 55% son SP positivas y el 40% Enk positivas. Un pequeño número de neuronas que expresan el receptor CB1 son interneuronas PV positivas y GAD-67 positivas. Sin embargo, no existe coexpresión con ChAT ni con SOM. También se ha observado que existe coexpresión tanto con receptores D1 como con D2. Este patrón de colocación sugiere que la interacción del sistema cannabinoide con el dopaminérgico puede deberse a la interacción del receptor CB1 con el D1 y/o D2.

Agradecimientos: Financiado por el Ministerio del Interior, Plan Nacional de Drogas.

O-5

LOS RECEPTORES CB₁ Y CB₂ SE EXPRESAN EN LA PIEL Y SU ACTIVACIÓN INHIBE EL CRECIMIENTO DE TUMORES DE PIEL

C. Blázquez¹, M.L. Casanova², M.J. Fernández-Aceñero³, C. Villanueva³, J.L. Jorcano² y M. Guzmán¹

¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Facultad de Biología, Universidad Complutense, Madrid; ²CIEMAT, Departamento de Biología Celular y Molecular, Madrid; ³Hospital General de Móstoles, Madrid

Los carcinomas de piel de tipo no-melanoma se encuentran entre las patologías más frecuentes en humanos y representan cerca del 40% de todos los cánceres diagnosticados en los Estados Unidos. Se están estudiando en la actualidad distintas estrategias terapéuticas para su tratamiento. Debido a los efectos antitumorales de los cannabinoides en gliomas en modelos animales y la amplia distribución tisular de los receptores CB, nos propusimos estudiar el efecto de estos compuestos en el crecimiento de tumores de piel.

Así, examinamos mediante *Western blot* e inmunohistoquímica la expresión de CB₁ y CB₂ en piel normal y tumores de piel, tanto benignos (papilomas) como malignos (carcinomas escamosos). Observamos que en la piel normal tanto CB₁ como CB₂ aparecían en las capas basal y suprabasal de la epidermis, así como en los folículos pilosos. En los tumores, CB₁ se expresaba en áreas diferenciadas de papilomas y carcinomas, mientras que la expresión de CB₂ se detectaba prácticamente en todas las células epiteliales del tumor.

A continuación realizamos experimentos en células transformadas y no transformadas de piel en cultivo con el fin de analizar la funcionalidad de los receptores CB en el control del crecimiento celular. El WIN-55,212-2 indujo un descenso dependiente de la dosis en la viabilidad de las células PDV.C57 y HaCa4, dos líneas epidérmicas tumorigénicas. Por el contrario, este cannabinoide no afectó a la viabilidad de las células MCA3D y HaCat, dos líneas epidérmicas no transformadas. La muerte de las células tumorales de piel inducida por el WIN-55,212-2 tenía lugar por un mecanismo de apoptosis, según mostraron experimentos de TUNEL y fragmentación del DNA, y fue prevenida por el SR141716 y el SR144528.

Por último, inoculamos subcutáneamente células PDV.C57 en ratones desnudos para generar carcinomas de piel. La administración local de WIN-55,212-2 o de JWH-133 durante 10 días disminuyó de forma significativa el crecimiento de los tumores. Con base en estos alentadores datos estamos actualmente estudiando el mecanismo por el que los cannabinoides inducen apoptosis en células tumorales de piel y la relevancia de este efecto *in vivo*.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido subvencionado por MCYT (PM 98/0079), CAM (08.1/0079/2000) y Fundación Ramón Areces.

PAPEL DE LA OLEILETANOLAMIDA EN LA INGESTA DE COMIDA EN RATAS

R. Gómez, L. Escuredo, J.M. Trigo, M. Navarro, F. Rodríguez de Fonseca
Laboratorio de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid. Campus de Somosaguas, Madrid

La oleiletanolamida encontrada por primera vez en el chocolate y perteneciente al grupo de las aciletanolamidas es un lípido natural cuyas funciones biológicas son hasta el momento desconocidas. En el presente estudio se analizaron las acciones comportamentales de la oleiletanolamida, de su isómero estructural la eladoiletanolamida y de la palmitoiletanolamida sobre la conducta de ratas Wistar macho. La administración periférica de dosis fisiológicamente relevantes de oleiletanolamida reduce significativamente la ingesta de comida en ratas privadas de comida durante 24 horas, sin embargo, la administración intracerebroventricular de oleiletanolamida no produce efectos comportamentales. Estos efectos anorexígenos se han suprimido tras la ablación química de las fibras C del nervio vago con capsaicina. La oleiletanolamida solo produjo cambios lejanos en la movilidad de los animales pero no afectó a la termorregulación, ni indujo analgesia o ansiedad. Estos datos apoyan que la oleiletanolamida es un regulador fisiológico de los procesos de ingesta al inducir saciedad periféricamente.

El presente estudio ha sido financiado gracias al CICYT, FIS, Comunidad de Madrid y Plan Nacional Sobre Drogas

O-7**EL TRATAMIENTO CON CANNABINOIDES DISMINUYE LOS DEFICITS NEUROLÓGICOS, LA DESMIELINIZACIÓN Y EL GRADO DE INFLAMACIÓN EN LA ENCEFALOMIELITIS MURINA POR INFECCIÓN CON EL VIRUS DE THEILER**

A. Arévalo-Martín, J.M. Vela*, E. Molina-Holgado, J. Borrell, y C. Guaza
Departamento de Plasticidad Neural; Instituto Cajal, CSIC; Avda. Dr. Arce 37, 28002 Madrid. * Unidad de Histología, Facultad de Medicina, UAB, Bellaterra Barcelona

El estudio de las acciones de los cannabinoides y de su potencial terapéutico en diversos desórdenes neurológicos tiene especial interés en el momento actual. La esclerosis múltiple (EM) es la enfermedad inflamatoria crónica del SNC más frecuente en jóvenes adultos. El modelo de la infección intracerebral con el virus de Theiler (TMEV) es el que mejor reproduce las características de la EM en su fase crónica progresiva, además de contemplar la posible etiología viral.

En el presente trabajo se ha investigado el efecto del tratamiento con agonistas de receptores cannabinoides, CB1/CB2 (Win55,212-2), de agonistas CB1 (ACEA), y de agonistas CB2 (JWH133) en la progresión y severidad de la enfermedad desmielinizante inducida por la infección con TMEV.

Como animal de experimentación se ha utilizado ratones hembra de 3-4 semanas de edad de las cepas SJL/J susceptibles a desarrollar la desmielinización. El virus se inocula en el parénquima cerebral en una dosis de 10^6 PFU. Siguiendo la inoculación, a partir de 3-4 meses p.i. cuando se detecta la sintomatología característica de esta enfermedad como, pérdida de equilibrio y posterior parálisis de las extremidades posteriores se comienza el tratamiento con los cannabinoides, es decir se actúa en la fase efectora de la enfermedad.

Se ha evaluado la coordinación motora con el sistema de rotación con aceleración constante (Rotarod), la reactividad microglial y astrogial, el grado de desmielinización (Kluver-Barrera) y de inflamación (presencia de infiltrados celulares) en la médula espinal de ratones infectados y sujetos al tratamiento por vía sistémica (ip) durante 10 días consecutivos con los agentes cannabinoides mencionados o con el vehículo correspondiente.

Los resultados obtenidos indican que la administración de cannabinoides además de favorecer la recuperación funcional motora, reduce de manera importante la inflamación y ello va acompañado de una menor desmielinización. Estos hallazgos abren nuevas perspectivas terapéuticas de los cannabinoides pero es necesario determinar los mecanismos y lugares de acción de los mismos, que expliquen los efectos encontrados, aunque se sugiere una acción múltiple a diferentes niveles.

Financiado por CAM (8.5/0039/98) y CYCIT (PB94-0098)

EFFECTOS DE LOS CANNABINOIDES EN LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON: ¿TOXINAS O NEUROPROTECTORES?

I. Lastres-Becker, E. Brouillet[#], N. Bizat[#], F. Boyer[#], O. Sagredo, P. Hantraye[#], J.A. Ramos y J.J. Fernández-Ruiz.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid, España; [#]URA CEA CNRS 2210, Service Hospitalier Frédéric Joliot, DRM, DSV, Orsay Cedex, Francia

Se ha sugerido que los cannabinoides podrían ser útiles en el tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas, entre ellas la enfermedad de Huntington (EH), un desorden de los ganglios basales que origina alteraciones de la actividad motora. Ya que esta enfermedad es de origen genético, no tiene curación, y los tratamientos actuales son insuficientes e insatisfactorios. Por ello, el sistema endocannabinoide podría ser una alternativa terapéutica para la EH. La capacidad neuroprotectora de los cannabinoides ha sido probada en diversos modelos neurodegenerativos que son causados por excitotoxicidad, fenómeno que también aparece en la EH, pero sus efectos neuroprotectores y el mecanismo de acción implicado han resultado ser controvertidos. Nosotros hemos utilizado un modelo de excitotoxicidad secundaria de la EH en ratas Lewis administrando ácido 3-nitropropiónico (3NP) mediante bombas Alzet. En el tercer día tras la implantación aparecen los primeros síntomas motores que se van agravando progresivamente hasta llegar al quinto día. A largo de estos días, se analizaron algunos parámetros indicativos del progreso de la enfermedad así como la alteración del sistema endocannabinoide. La pérdida de neuronas, medida mediante la enolasa neuronal, solamente aparece en el quinto día de lesión, al igual que ocurre con los marcadores específicos de las neuronas estriatopalidales (proencefalina) y estriatonigrales (sustancia P). Respecto a la densidad del receptor CB₁ en los ganglios basales, se observa un descenso en el caudado-putamen (lateral y medial) y en el globo pálido en el último día de la lesión, pero otras áreas no experimentan cambios. Asimismo, la expresión del gen para el receptor CB₁ se ve alterada tras 5 días de lesión únicamente en el caudado-putamen lateral. A diferencia de los anteriores parámetros que solo se afectan tras 5 días de exposición a 3NP, la eficacia de la activación del receptor CB₁, medida en términos de % de estimulación de la unión de [³⁵S]GTPγS por un agonista CB₁, presenta un perfil diferente. A partir del primer día de lesión se observa un marcado descenso en el caudado-putamen lateral y medial, que lentamente se va recuperando hasta niveles control en el día cuarto tras la implantación, pero que en el último día vuelve a disminuir de forma aún más drástica. Esta disminución también se observa en el globo pálido, aunque desfasada en el tiempo. En su conjunto, los resultados obtenidos en este modelo animal de la EH revelan las mismas alteraciones moleculares descritas en la patología humana y en otros modelos animales de la enfermedad. Para estudiar los efectos del tratamiento con Δ⁹-tetrahidrocannabinol (Δ⁹-THC) en la EH, se han utilizado 2 modelos distintos: uno agudo, mediante lesiones intrastriales con malonato, y otro crónico, mediante la implantación de bombas Alzet con 3NP. En el modelo agudo se inyectaron 30 min antes y 120 min después de la administración de malonato, dos dosis distintas de Δ⁹-THC (1 y 10 mg/kg, respectivamente). El Δ⁹-THC incrementa la lesión producida por el malonato. Por otro lado, en el modelo crónico, en el que se inyectó Δ⁹-THC (10 mg/kg) a los 90 min de la implantación de las bombas Alzet y después cada 24 horas hasta el cuarto día, se observa que hay una disminución de la lesión producida por el 3NP. Se puede concluir que, aunque ambas toxinas son inhibidores de la succinato deshidrogenasa, y tienen mecanismos de acción similares, la muerte celular que producen es de distinto tipo, lo que origina diferentes efectos del Δ⁹-THC. Cuando la muerte celular es por vía apoptótica, como en el caso del malonato, el Δ⁹-THC incrementa la lesión, pero cuando es por necrosis, como en el caso del 3NP, el Δ⁹-THC disminuye la lesión o la retarda.

NEUROLÉPTICOS ATÍPICOS EN PATOLOGÍA DUAL ESQUIZOFRENIA- CONSUMO DE CANNABIS

L.A. Núñez Domínguez

Clínica San Francisco Javier, Médico Psiquiatra

Introducción: Existe un alto índices de prevalencia de consumo de tóxicos entre los pacientes afectos de esquizofrenia. La mayoría de dichos trabajos contemplan un tratamiento integral, pero son escasas las referencias en torno al tratamiento farmacológico, En el caso del consumo de cannabis asociado a esquizofrenia existen referencias en torno a un mayor beneficio del uso de neurolépticos atípicos.

El objetivo del presente estudio es verificar si el uso de tales fármacos es más útil para el manejo de este tipo de pacientes.

Material y método: Se comparan tres grupos de esquizofrénicos paranoides, dos de ellos con consumo de cannabis , uno de ellos tratado con neurolépticos clásicos y el otro con atípicos. A los 3 grupos se les realiza un seguimiento durante un año

Resultados: Se observa una reducción en la frecuencia del consumo en el grupo tratado con atípicos y una mayor conciencia de enfermedad, manifestado en un menor número de ingresos involuntarios

Conclusiones: Los resultados sugieren que el uso de neurolépticos atípicos es más beneficioso para el manejo de pacientes esquizofrénicos consumidores de cannabis

O-10

PROGRAMA DE EDUCACIÓN PARA LA SALUD, CON JÓVENES CONSUMIDORES DE HACHIS: “DE COMO QUITARSE UNA MULTA O HACER PREVENCIÓN”

V.de Antonio Pérez, M.C. Mendina, D.Baño.

Programa Municipal de Drogas, Majadahonda. C/ Doctor Calero 20, 28220-Majadahonda

Este Programa se organiza en Enero de 1996 como respuesta a la demanda planteada por los jóvenes residentes en el área 6.1. (Majadahonda, Las Rozas, Pozuelo, Mancomunidad de La Encina) que acuden al Centro Municipal de Drogodependencias de Majadahonda, luego de ser multados por tenencia y/o consumo de hachís en la vía pública, a fin de “que les quiten la multa”.

Las sanciones son impuestas por la Guardia Civil o la Policía local, en aplicación de la Ley Orgánica 1/92, en sus artículos 25.1 y 25.2, y la condición para su suspensión es “el sometimiento a un proceso de deshabituación en un Centro debidamente acreditado”.

Se trata de adolescentes y jóvenes adultos entre 16 y 30 años, aunque también se han acercado al Programa algunos menores y mayores de ese intervalo de edad, que acuden al Centro con el único objetivo de que se les ayude en la suspensión de la multa.

Por nuestra parte, luego de una valoración individual (y familiar, en los menores de edad) de cada sujeto, antecedentes y situación actual, se brinda información sobre los pasos a seguir en el trámite administrativo y se les plantean las condiciones de participación en el Programa: entrevistas individuales, grupo de información y discusión, controles analíticos y seguimiento. En definitiva se trata de reconducir una demanda dirigida a la suspensión en una intervención de *valoración, información y seguimiento*.

Durante estos años se han realizado 938 intervenciones con jóvenes, y en consecuencia un estudio, tanto cuantitativo como cualitativo, de esta población en lo referente a su perfil social, familiar, y sanitario, así como su vinculación al hachís y otras sustancias.

O-11

PERFIL FACTORIAL DE PERSONALIDAD EN PACIENTES CONSUMIDORES HABITUALES DE CANNABIS. ESTUDIO PRELIMINAR.

S. Anglada, M. Quiroga

Servicio de Psiquiatría, Hospital Militar "Capitán Médico Pagés", 52071 Melilla

INTRODUCCION. Son pocos los trabajos que puedan encontrarse sobre personalidad y consumo de cannabis. El 16PF-5 es una prueba que proporciona un perfil de personalidad multidimensional y permite estudiar las dieciséis escalas primarias y las cinco dimensiones globales que establece, por separado y en interacción. Nuestro objetivo es identificar en qué escalas primarias existen diferencias significativas entre los militares profesionales, con sólo cannabis positivo en orina al acudir a nuestro Servicio por malestar psíquico, y los que lo hicieron por éste u otros motivos, sin cannabis en orina.

MATERIAL Y MÉTODO. Se administró el 16PF-5 a todos los militares profesionales de ambos sexos, entre 18 y 35 años, evaluados entre el 1 de abril de 2000 y el 30 de septiembre de 2001 tanto por motivos clínicos (malestar psíquico subjetivo) como profesionales, y se obtuvo voluntariamente muestra de orina para determinación de cannabis el mismo día en que realizan el test. Considerando el motivo de la evaluación y el resultado del análisis de orina, se identifican tres conjuntos: Grupo A, evaluación **clínica** y cannabis **positivo** en orina, descartadas otras drogas y el alcohol (16 casos); Grupo B, evaluación **clínica** y cannabis **negativo** en orina (17 casos) y Grupo C, evaluación **profesional** y cannabis **negativo** en orina (17 casos). Mediante ANOVA para un factor (SPSS® 7.5) se estudia el comportamiento de las 16 Escalas Primarias frente al factor Grupo con sus tres conjuntos, realizando análisis post hoc mediante las pruebas de Student-Newman-Keuls y Duncan para identificar subconjuntos homogéneos.

RESULTADOS. Para Anova de un factor (N=50 g.l. 2,47) aparecen significativas ($p < 0,05$) las

escalas	F	siguientes escalas primarias: A, C, F, G, H, L, M, N, O, Q2,
C	23.710	Q3 Y Q4. Y mediante el análisis post hoc, el Grupo A es
F	13.440	significativamente diferente de los grupos B y C en las escalas
G	9.080	C (estabilidad emocional), F (animación), G (atención a las
M	17.832	normas), M (abstracción) y Q4 (tensión).
Q4	24.902	

DISCUSIÓN. En la revisión bibliográfica realizada en Medline®, no hemos encontrado ningún trabajo con idéntico diseño. Aparecen dos referencias al 16PF administrado a diferentes trastornos psicopatológicos, alcohólicos y policonsumidores de drogas en los que no aparecen diferencias significativas intergrupos, probablemente por la inespecificidad de las muestras y la baja penetrancia del test para evaluar psicopatología. En otros trabajos se indica la relación entre rasgos de la personalidad y politoxicomanía. El diseño por nosotros presentado es, por tanto, original y novedoso.

CONCLUSIONES. Es posible, en este pequeño número de casos, definir que el consumo habitual de cannabis en sujetos con malestar psíquico subjetivo reviste un perfil de personalidad específico que se caracteriza, respecto del resto, por inestabilidad emocional, represión anímica, inconformismo, pensamiento abstraído, nerviosismo e intranquilidad.

BIBLIOGRAFIA

- Spotts JV, Shontz FC. Drug misuse and psychopathology: a meta-analysis of 16PF research. Int J Addict 1991 Sep; 26(9): 923-44.
- Spotts JV, Shontz FC. Drugs and personality: comparison of drug users, nonusers, and other clinical groups on the 16PF. Int J Addict 1991 Oct; 26(10):1019-54.
- González, M.P., Sáiz, P.A., Quirós, M., López, J.L. Personalidad y uso - abuso de cannabis. Monografía Cannabis. Adicciones 2.000.
- National Commission on Marihuana and Drug Abuse. Marihuana: A signal of misunderstanding. New York: The New American Library, 1972.

PARTICIPACION DEL SISTEMA OPIOIDE ENDOGENO EN LOS PROCESOS DE DEPENDENCIA DE CANNABINOIDES

R. Maldonado¹, S. Ghozland¹, H.W.D. Matthes², F. Simonin², D. Filliol², B. L. Kieffer²

¹ Laboratori de Neurofarmacologia, Facultat de Ciències de la Salut i de la Vida, Universitat Pompeu Fabra, 08003 Barcelona, Spain. ² CNRS UPR 9050, Ecole Supérieure de Biotechnologie de Strasbourg, 67400 Illkirch, France.

La administración repetida de Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC) produce una serie de respuestas motivacionales y modificaciones somáticas en roedores que conduce al desarrollo de un cuadro de dependencia. El propósito de este estudio ha sido esclarecer el substrato neuroquímico de la dependencia de cannabinoides y evaluar la posible implicación de los diferentes componentes del sistema opioide endógeno en dichos procesos. Con esta finalidad hemos investigado diversas respuestas inducidas por la administración aguda y crónica de THC en ratones knock-out deficientes en los diferentes receptores opioides mu, delta o kappa. En un primer grupo de experimentos hemos evaluado la hipotermia, la antinocicepción (hot-plate y tail-flick) y la hipolocomoción inducidas por la administración aguda de THC (20 mg/kg, i.p.) en animales deficientes en receptores opioides mu, delta o kappa. Todas las respuestas farmacológicas inducidas por la administración aguda de THC fueron similares en los diferentes genotipos. Asimismo se realizó un tratamiento crónico con THC (20 mg/kg, i.p., dos veces al día durante 5 días) con el fin de desarrollar tolerancia a las diferentes acciones farmacológicas y dependencia física en estos animales. El desarrollo de la tolerancia a los efectos antinociceptivos e hipotérmicos fue similar en todos los genotipos. Sin embargo, se observó un menor desarrollo de tolerancia a los efectos hipolocomores del THC en animales deficientes en receptores opioides kappa. Tras la administración crónica de THC, los animales recibieron una inyección del antagonista selectivo de los receptores cannabinoides CB-1, SR-141716A (10 mg/kg, i.p.), con el fin de precipitar un síndrome de abstinencia. La severidad de la abstinencia cannabinoide fue similar en todos los genotipos. Finalmente, hemos estudiado en estos animales las respuestas motivacionales inducidas por el THC mediante la utilización del test de condicionamiento espacial. La administración repetida de THC a la dosis de 5 mg/kg (i.p.), indujo una aversión de plaza en animales controles. Por el contrario, la administración repetida de THC a la dosis de 1 mg/kg (i.p.) y evitando los efectos motivacionales de la primera inyección, indujo una preferencia de plaza en dichos animales controles. Los efectos aversivos del THC resultaron suprimidos en animales deficientes en receptores opioides kappa, fueron ligeramente atenuados en ratones deficientes en receptores opioides mu y no resultaron modificados en animales deficientes en receptores opioides delta. Sin embargo, los efectos reforzantes inducidos por el THC fueron totalmente suprimidos en ratones deficientes en receptores opioides mu, pero no se modificaron en ratones delta o kappa knock-out. Estos resultados demuestran que los receptores opioides mu, delta y kappa no participan en las diferentes respuestas farmacológicas agudas ni en la dependencia física inducidas por el THC. Los receptores opioides kappa participan en el desarrollo de la tolerancia al THC y son indispensables para la manifestación de sus efectos aversivos. Los receptores opioides mu juegan un papel fundamental en la expresión de los efectos reforzantes del THC.

O-13**NUEVAS EVIDENCIAS SOBRE LOS CAMBIOS COMPORTAMENTALES Y NEUROQUÍMICOS ASOCIADOS AL SÍNDROME DE ABSTINENCIA A CANNABINOIDES INDUCIDO POR LA ADMINISTRACIÓN DE SR141716**

S. González, M.L. Hernández, C. Arévalo*, M. Gómez, R. de Miguel, J.J. Fernández-Ruiz, J.A. Ramos.

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid; *Departamento de Biología Animal II, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense, 28040-Madrid.

Parece un hecho bien consolidado que la administración de cannabinoides de forma repetida conduce a la aparición de tolerancia para la mayor parte de los efectos farmacológicos de estas sustancias, y que esa tolerancia tiene una base farmacodinámica como consecuencia de la desensibilización de los receptores CB₁. Sin embargo, que la tolerancia farmacológica para los cannabinoides se acompañe de manifestaciones de abstinencia al cesar de forma espontánea la administración de estas sustancias, es un hecho aún hoy controvertido, tanto en humanos como en animales de experimentación. Hasta la fecha, la aparición de signos de abstinencia en animales tolerantes a cannabinoides solo se ha podido demostrar cuando se procede a bloquear los receptores CB₁ con un antagonista específico, aunque algunos de los estudios desarrollados evidencian algunas dudas acerca de la idoneidad de los modelos utilizados, ya que, en algunos casos, el efecto del SR141716 solo fue testado en los animales tolerantes pero no en los controles. En el presente estudio, hemos querido profundizar un poco más en este fenómeno examinando una serie de parámetros comportamentales y/o moleculares tras la administración de SR141716 (10 mg/kg) a ratas controles y a ratas tolerantes a Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC; 10 mg/kg diarios durante 8 días). Como era lógico esperar, los animales tolerantes a Δ^9 -THC presentaban un acusado descenso de la densidad de los receptores CB₁, medida mediante autorradiografía, en diversas regiones cerebrales. La administración de SR141716 originó diversas respuestas comportamentales en el test de campo abierto compatibles con la idea de hiperlocomoción, especialmente en lo que hace referencia a conductas no-ambulatorias, pero la mayor parte de las respuestas fueron evidentes tanto en los animales tolerantes a Δ^9 -THC como en los animales controles. Esta misma conclusión puede extraerse del análisis de parámetros hormonales y moleculares, como las concentraciones plasmáticas de corticosterona o los niveles de ARNm para proencefalina y c-fos en diversas regiones cerebrales, que se alteraron por SR141716 de forma similar en animales control y animales tolerantes a Δ^9 -THC. Solo apreciamos un par de efectos producidos por el SR141716 que ocurrieron de forma diferencial entre ambos tipos de animales, como fueron: (i) el incremento de los niveles plasmáticos de prolactina que solo ocurrió en los animales controles pero no en los tolerantes, (ii) y, sobre todo, las variaciones producidas por el antagonista en los niveles de ARNm para CRF en el núcleo paraventricular hipotalámico que descendieron en los controles pero incrementaron en las ratas tolerantes a Δ^9 -THC. Por consiguiente, se puede concluir que algunos de las alteraciones que se han atribuido a la abstinencia a cannabinoides son en realidad efectos del SR141716, bien bloqueando el tono cannabinoide endógeno o bien actuando como agonista inverso, que se producen tanto en animales controles como animales tolerantes a Δ^9 -THC. Sin embargo, algunas modificaciones que se expresan de forma diferencial entre ambos tipos de animales, como la expresión de CRF sí podrían ser indicativas de la existencia de un síndrome de abstinencia a cannabinoides. Obviamente, se necesitará estudiar más en profundidad el fenómeno para conocer en que se parece y

en que se diferencia la abstinencia a cannabinoides respecto a la abstinencia a otras drogas de abuso.
(financiado por la CICYT (PM99-0056) y por el Plan Nacional sobre Drogas)

P-1

DISEÑO Y SÍNTESIS DE NUEVOS TRIAZOLES Y ANÁLOGOS DE ANANDAMIDA COMO POTENCIALES LIGANDOS CANNABINOIDES

I. Alkorta, C. Cano, P. Goya, N. Jagerovic, L. Hernández, J. A. Paéz.
 Instituto de Química Médica, CSIC, c/Juan de la Cierva 3, Madrid E-28006.

En los últimos años, se han desarrollado nuevas moléculas con estructuras químicas variadas que interaccionan con los receptores cannabinoides CB1 y CB2. Entre ellas cabe destacar nuevos heterociclos (por ejemplo, SR-141716 y WIN-55.212-2) y análogos del ligando endógeno anandamida. Dado que el sistema cannabinoide es una de las nuevas dianas terapéuticas, existe en la actualidad un gran interés en la búsqueda de nuevos agonistas y antagonistas de dichos receptores.

En esta comunicación se describe un modelo de farmacóforo basado en ligandos cannabinoides conocidos¹. Este farmacóforo se está utilizando para diseñar dos familias de posibles cannabinomiméticos: triazoles trisustituídos y sulfamoil derivados de ácidos grasos (oleil, linoleil y araquidonil).

Asimismo, en nuestro grupo de trabajo, se están poniendo a punto las rutas sintéticas para obtener estos compuestos de estructuras generales recogidas en la figura 1.

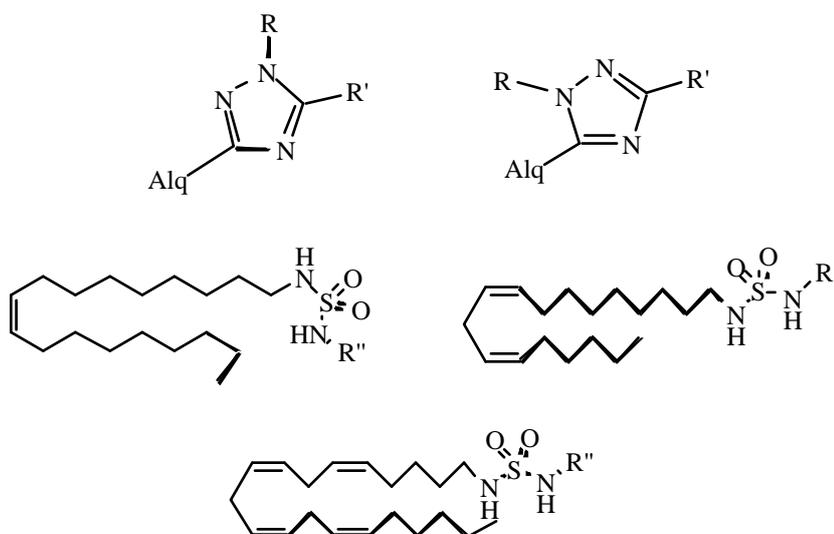


Figura 1

¹ (1) Goya, P; Jagerovic, N. *Exp. Opin. Ther. Patents* **2000**, *10*, 1529-1538; (2) Fichera, M.; Cruciani, G.; Bianchi, A.; Musumarra, G. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2300-2309; (3) SYBYL 6.6. Molecular Modeling Software, TRIPOS, Inc., 1699 S. Hanley Rd., St. Louis, MO, 1999.

P-2

MODELIZACION Y ANALISIS DE LOS RECEPTORES CANNABINOIDES CB₁ Y CB₂

N. Campillo, J. A. Páez y P. Goya

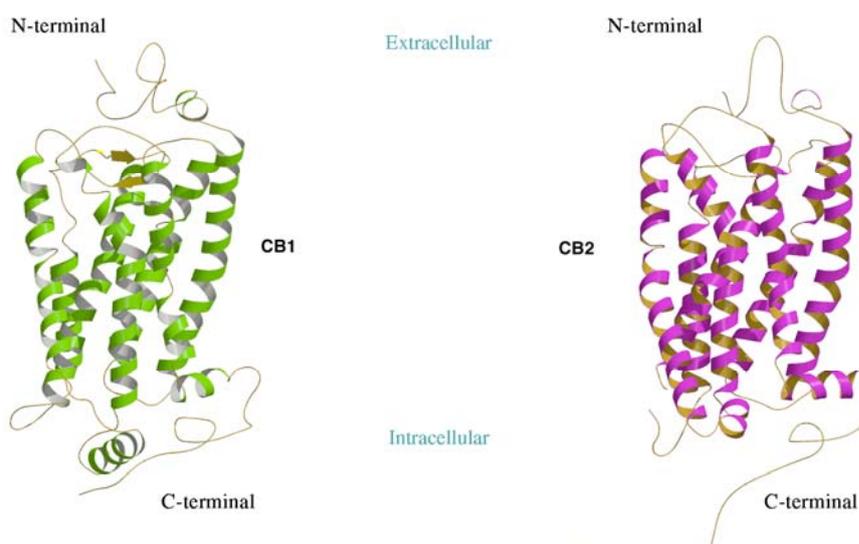
Instituto de Química Médica, CSIC. Juan de la Cierva, 3. 28006 Madrid

Se describen modelos tridimensionales de los receptores CB₁ y CB₂ que pueden ser utilizados para el diseño de agonistas y antagonistas de los mismos de posible aplicación en distintos campos terapéuticos.

Dado que se trata de receptores acoplados a proteínas G, se ha utilizado, por primera vez, la estructura de rayos X de la rodopsina bovina (188f), que es el primer receptor de esta familia cuya estructura cristalina ha sido resuelta y publicada recientemente ¹.

La construcción de los modelos implica sucesivas etapas de búsqueda en las bases de datos y alineamiento de secuencias ² utilizando diferentes programas como MODELLER, VERIFY, PROCHECK, COMPARER, SYBYL, etc.

Se describen las analogías y diferencias entre ambos receptores cannabinoides habiéndose encontrado que el CB₁ y CB₂ comparten únicamente el 44% de homología.



1 Palczewski, K.; Kumasaka, T.; Hori, T., Behnke, C., *et. al*, *Science*, **2000**, 289, 739-745.

2 Burke, D.; Deane, C.; Nagarajaram, H.; Campillo, N.; *P et al*, *Proteins*, **1999**, 3, 55-90.

UTILIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES FLUORESCENTES DE LOS CANNABINOIDES PARA ANALIZAR SU INTERACCIÓN CON MEMBRANAS LIPÍDICAS

David Martínez-Pérez, Celia Agulló, Vicente Micol y C. Reyes Mateo.

Centro de Biología Molecular y Celular. Univ. Miguel Hernández. 03202-Elche

Durante los últimos años ha aumentado el interés de los científicos por las posibles aplicaciones terapéuticas de los derivados de los cannabinoides. Entre las aplicaciones terapéuticas más prometedoras se encuentra el empleo de estas sustancias como agentes analgésicos y antieméticos y, fundamentalmente, su utilización como agentes antitumorales. Con el fin de profundizar en su mecanismo de acción estudiamos su posible interacción con membranas lipídicas. Para ello seleccionamos tres de los cannabinoides más conocidos: cannabidiol (CBD), cannabinol (CBN) y Δ^8 -tetrahidrocannabinol (Δ^8 -THC). Dado que estos compuestos contienen un anillo fenólico, deben presentar propiedades fluorescentes. En este trabajo se presenta un estudio detallado sobre las propiedades fluorescentes de los diferentes cannabinoides, tanto en disolventes como en sistemas lipídicos. Los resultados muestran que CBD y THC presentan propiedades similares a las de los fenoles, mientras que el comportamiento de CBN es diferente. Combinando experimentos de atenuación de fluorescencia, y anisotropía se determinó la partición de las sustancias entre las fases lipídica y acuosa, su localización y su capacidad de perturbación de la membrana lipídica. Las tres moléculas mostraron gran afinidad por la membrana, localizándose en el interior de la misma, lejos de la región polar y desestabilizando las propiedades físicas de la bicapa a muy baja concentración. La capacidad antioxidante de estas sustancias fue también explorada en sistemas lipídicos utilizando la sonda fluorescente ácido cis-parinárico.

Todos estos resultados pueden ser importantes para determinar el mecanismo de interacción cannabinoide-receptor. La gran afinidad de estas sustancias por la membrana indica la posibilidad de que alcancen el receptor sobre el que actúan a través de un mecanismo en dos pasos que envuelve inicialmente la interacción e incorporación de la sustancia con la membrana para, a continuación, difundir lateralmente hacia el receptor. Esta hipótesis se ve apoyada por el hecho de que no todos los efectos fisiológicos de los cannabinoides son atribuidos a la existencia de receptores y que algunos de estos efectos son claramente modulados a través de la interacción del cannabinoide con la membrana celular.

P-4**EFFECTOS DE LOS TRATAMIENTOS CRÓNICOS CON CP 55,940 Y WIN 55,212-2 EN DIFERENTES RESPUESTAS DE ANSIEDAD EN LA RATA.**C.Arévalo, R. Fernández, R. Hernández-Tristán

Departamento de Biología Animal II (Fisiología Animal), Facultad de Biología, Universidad Complutense, 28040-Madrid

Una de las reacciones adversas más comunes en los consumidores de cannabis es la ansiedad, particularmente después de la exposición a altas dosis o tras un largo periodo de consumo. Existen experimentos previos en roedores que evidencian respuestas de tipo ansiogénico en animales tratados de forma aguda con agonistas cannabinoides, sin embargo son escasos los estudios sobre los efectos de los cannabinoides tras exposiciones prolongadas a estos compuestos. En el presente trabajo hemos estudiado los efectos del tratamiento crónico con los agonistas WIN 55,212-2 (1mg/kg i.p, 6.5 días 2 veces al día) y CP 55,940 (0,2 mg/kg., 6.5 días 2 veces al día) en dos pruebas comportamentales diferentes, el tablero de agujeros (TA), una prueba que permite valorar efectos sobre reactividad emocional en la rata a través de su conducta exploratoria, y el laberinto en cruz elevado (LCE), un modelo validado para evaluar respuestas de ansiedad a fármacos. Los resultados obtenidos para cada tratamiento fueron dispares, el tratamiento con WIN incrementó la conducta exploratoria en el TA y el número de salidas a los brazos abiertos del LCE con respecto al control, respuestas de tipo ansiolítico y de baja reactividad al estrés. En cambio, el tratamiento con CP produjo el efecto contrario, dando lugar a efectos de tipo ansiogénico y un incremento en la reactividad al estrés. En ambos tratamientos se observó únicamente tolerancia a la depresión motora producida por la administración de cannabinoides. Estos resultados parecen ser debidos a la utilización de dos compuestos de potencia diferente (siendo el CP más potente que el WIN) a diferentes dosis. En consecuencia, los distintos efectos de los cannabinoides sobre este tipo de respuestas parecen depender en gran medida de la dosis utilizada. El hecho de que ambos agonistas operen sobre el mismo receptor CB1 y produzcan efectos antagónicos en función de la dosis plantea que los circuitos nerviosos implicados están sujetos a complejos ajustes funcionales.

P-5

EFFECTO NEUROPROTECTOR DEL AGONISTA CANNABINOIDE WIN 55212 EN UN MODELO EN RATA DE ENCEFALOPATIA HIPOXICO-ISQUEMICA NEONATAL

J. Martínez Orgado¹, B. Fernández de Frutos², R. González¹, D. Fernández², E.M. Romero Muñoz², L. Urigüen², M.P. Viveros²

(1) Area de Pediatría-Neonatología. Fundación Hospital Alcorcón. Madrid; y (2) Dpt. Biología Animal II. Facultad CC. Biológicas. Universidad Complutense. Madrid.

Introducción: los agonistas cannabinoides han demostrado un efecto neuroprotector en modelos de isquemia en animales adultos, o de neurotoxicidad en animales recién nacidos. El objetivo del presente trabajo es demostrar dicho efecto en un modelo animal in vivo de lesión cerebral hipóxico-isquémica neonatal. **Métodos:** se ligó bajo anestesia la carótida común izquierda de ratas Wistar de 7 días de vida (P7), a las que posteriormente se sometió a asfixia mediante inhalación de nitrógeno al 100% durante 9 min. No más tarde de 10 min después de la recuperación espontánea tras la asfixia, las crías recibieron subcutáneamente suero salino (Grupo Vehículo, GV, n=17), el agonista cannabinoide R(+)-WIN-55212-2 a 0.1 mg/kg (Grupo WIN, GW, n=20), o dicho agonista junto con el bloqueante de receptores CB1 SR141716 a 3 mg/kg (Grupo SR, GS, n=10). Otras crías quedaron como grupo control (GC, n=22). A los 14 días de vida (P14), las crías supervivientes fueron pesadas y sacrificadas; se extrajo el cerebro, cuyas secciones fijadas con paraformaldehído fueron teñidas mediante técnica de Nissl para determinar la densidad neuronal (neuronas/mm²) en el área CA1 del hipocampo. **Resultados:** en P14, la mortalidad espontánea del GC fue del 3%, mientras que en GV fue del 18%, y en el GW del 10% (ambos p<0.05 vs. GC). La ganancia ponderal entre P7 y P14 fue mayor en GC (120%, frente a 95% en GV, 108% en GW, y 100% en GS, ANOVA p<0.05). La hipoxia-isquemia indujo una pérdida neuronal de casi un 20%, que se previno completamente mediante la administración del WIN 55212 (densidad neuronal en GC, GV y GW, en media(ESM): 1045(34), 854(32) y 1062(36), respectivamente, p<0.05); el efecto del WIN no se afectó por la administración concomitante del SR 141716 (densidad neuronal en GS: 1057(65), NS frente a GC o GW, p<0.05 frente a GV). **Conclusiones:** la administración, después de un episodio de hipoxia-isquemia, del agonista cannabinoide WIN 55212, previno completamente la destrucción neuronal en hipocampo de ratas Wistar recién nacidas, sin efectos secundarios graves, y mediante un mecanismo no mediado por receptores CB1

(subvencionado por Beca de la Sociedad Española de Neonatología de 2000, y Proyecto: BFI2000-0611. SR 141716A cedido por Sanofi Recherche).

P-6

NUEVOS DATOS SOBRE LA IMPLICACION DE LOS RECEPTORES CB₁ EN LOS GANGLIOS BASALES EN ALGUNOS SINTOMAS NEUROLOGICOS DE LA ESCLEROSIS MULTIPLE

A. Cabranes, A. Sánchez*, M. Cebeira, C. Puerta*, E. de Lago, J.A. Ramos, A. García-Merino*, J.J. Fernández-Ruiz

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, 28040-Madrid; *Servicio de Neurología, Hospital Universitario Puerta de Hierro, 28035-Madrid.

La esclerosis múltiple es probablemente una de las enfermedades donde los cannabinoides podrían tener mayor relevancia desde un punto de vista terapéutico al tratarse de una enfermedad que conjuga un origen inmune con una sintomatología neurológica, lo que permite implicar a los dos subtipos de receptores para cannabinoides, CB₁ y CB₂, descritos hasta la fecha. De hecho, existen múltiples evidencias sobre la posible eficacia terapéutica de los cannabinoides en esta enfermedad, aunque, solo recientemente, se ha comenzado el estudio sistemático en modelos animales. En modelos de la enfermedad en roedores, se ha demostrado recientemente que los cannabinoides son eficaces en la atenuación de algunos de los síntomas neurológicos, sobre todo en la espasticidad, y se han examinado los cambios que se producen en los niveles de endocannabinoides y en la densidad de los receptores CB₁ en el cerebro y en la médula espinal. Un hecho relevante es que los cambios que aparecen en los receptores CB₁ durante la enfermedad se circunscriben principalmente a los ganglios basales donde residen los sustratos neuroquímicos potencialmente responsables de algunos de los signos clínicos que los cannabinoides mejoran en la esclerosis múltiple. Sobre esta base, el presente estudio se ha diseñado con un doble objetivo. En primer lugar, nos propusimos examinar los posibles cambios en la actividad de una serie de neurotransmisores implicados en el control motor a nivel de los ganglios basales en ratas con encefalitis alérgica experimental (EAE), de forma que su posible alteración en la enfermedad pudiera servir como diana del efecto terapéutico de los cannabinoides. Se examinaron parámetros indicativos de la neurotransmisión GABAérgica, dopaminérgica y serotoninérgica en diferentes núcleos de los ganglios basales, aunque, contrariamente a lo esperado, en ningún caso se observaron variaciones relevantes que pudiesen explicar tanto la aparición de ciertos signos como su mejora tras el tratamiento con cannabinoides. El segundo objetivo abordado pretendía establecer si el tratamiento con alguno de los fármacos utilizados habitualmente en la esclerosis múltiple era capaz de revertir los cambios en los receptores CB₁ en los ganglios basales y en la corteza cerebral que se han puesto de manifiesto en la enfermedad en el modelo animal (ratas con EAE). Se utilizó un tratamiento con rolipram (inhibidor de la fosfodiesterasa IV que actúa principalmente a nivel de la respuesta inmune) y dos tiempos de análisis tras la inducción de la enfermedad. Aunque hemos observado que en las ratas con EAE se siguen produciendo los cambios esperados a nivel de los receptores CB₁ en la corteza cerebral y en el caudado-putamen, el tratamiento con rolipram no parece originar una significativa atenuación de estos cambios, a pesar de la evidente mejora de los animales en la afectación neurológica, lo que indicaría que los cambios en los receptores CB₁ podrían resultar en cierto modo irreversibles una vez desarrollada la enfermedad.

P-7

RECEPTORES CB₁ Y ENFERMEDAD DE PARKINSON: ESTUDIOS EN HUMANOS Y EN MONOS TRATADOS CON MPTP

I. Lastres-Becker¹, M. Cebeira¹, M.L. de Ceballos², B.-Y. Zeng³, P. Jenner³, J.A. Ramos¹, J.J. Fernández-Ruiz¹

¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid; ²Grupo de Neurodegeneración, Instituto Cajal, CSIC, Avda. Dr. Arce 37, 28002-Madrid; ³Neurodegenerative Disease Research Centre, GKT School of Biomedical Sciences, Kings College, London SE1 1UL (United Kingdom)

Datos recientes obtenidos en ratas han puesto de manifiesto que la densidad de los receptores CB₁ y los niveles de sus ligandos endógenos se incrementan en los ganglios basales en la enfermedad de Parkinson. No existen, sin embargo, datos en cerebros postmortem de pacientes afectados por esta enfermedad o en modelos en primates. En el presente estudio, se examinó la densidad de los receptores CB₁, así como la eficacia de la activación de estos receptores mediante el análisis de la unión de [³⁵S]GTPγS estimulada por un agonista específico, utilizando siempre fracción de membrana obtenida de ganglios basales de pacientes parkinsonianos. Los resultados evidenciaron una elevación significativa de la unión de [³⁵S]GTPγS estimulada por WIN55,212-2 en el núcleo caudado, putamen, globo pálido lateral y substantia nigra de pacientes parkinsonianos, lo que indica que existe en una activación más efectiva de las proteínas G tras la activación de los receptores CB₁. También se observó un incremento de la densidad de los receptores CB₁ en el núcleo caudado y en el putamen, aunque no se midieron cambios en el globo pálido lateral y en la substantia nigra. Considerando que los pacientes parkinsonianos habían sido tratados de forma crónica con L-DOPA y que éste tratamiento podía ser también el responsable de los cambios observados a nivel de los receptores CB₁, en un segundo experimento, se estudiaron los mismos parámetros, densidad y eficacia de la activación de los receptores CB₁, en los ganglios basales de primates tratados con MPTP para generar parkinsonismo, a los que paralelamente se sometió a un tratamiento crónico con L-DOPA. Se observó que los monos lesionados con MPTP también exhibían un incremento de la densidad y de la eficacia de la activación de los receptores CB₁ en el núcleo caudado y en el putamen comparado con los monos control, y que el tratamiento crónico con L-DOPA retornaba esos valores a los niveles medidos en los monos control. Por consiguiente, los resultados indican que la lesión de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales está asociada a un incremento de los receptores CB₁ en los ganglios basales tanto en humanos como en primates no-humanos y que este incremento puede ser revertido por la terapia de reemplazo con L-DOPA. Los datos también indican que el bloqueo de los receptores CB₁ podría ser útil como tratamiento coadyuvante al tratamiento habitual de los signos hipoquinéticos de esta enfermedad.

P-8**SENSIBILIZACIÓN ANTE EL DESAFÍO CON AGONISTAS D1 Y D2 TRAS LA EXPOSICIÓN PERINATAL A Δ^9 -TETRAHIDROCANNABINOL EN RATAS**

M. Moreno, J.M. Trigo, L. Escuredo, B. Ferrer, F. Rodríguez de Fonseca* y M. Navarro.

Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid, 28223, *Fundación Hospital Carlos Haya, Málaga.

El sistema cannabinoide endógeno es un importante modulador del sistema dopaminérgico en el estriado dorsal. La exposición perinatal a cannabinoides afecta al desarrollo de los circuitos dopaminérgicos en el cerebro de la rata. Las alteraciones epigenéticas que se han descrito afectan tanto a las neuronas dopaminérgicas como a la expresión de sus receptores. Este estudio ha pretendido explorar los efectos de la exposición perinatal a Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9 THC 0.1, 0.5, 2 mg/kg administrado oralmente desde 5^o día de gestación hasta el final de la lactancia) en las respuestas conductuales ante un desafío con los agonistas D1/D2 apomorfina (0.1 mg/kg s.c.) y D2 quinpirole (0.5mg/kg s.c.). La exposición perinatal a Δ^9 THC produjo alteraciones en el patrón de desarrollo de las conductas motoras. Las respuestas conductuales, evaluadas en el test de campo abierto, revelaron que tras la administración aguda de agonistas dopaminérgicos, apomorfina y quinpirole, existía una sensibilización presináptica ante la acción de estos agonistas; mostrada a través del incremento de la inmovilidad y del descenso de las conductas locomotoras en aquellos animales perinatalmente tratados con Δ^9 THC, cuando se comparó con los vehículo. Estos resultados nos sugieren que la exposición perinatal a Δ^9 THC afecta a la funcionalidad del sistema dopaminérgico regulando tanto la síntesis como la liberación de dopamina.

Plan Nacional sobre drogas, Del Amo Program, CICYT y Comunidad de Madrid (FRF, MN).

EFICACIA DE LOS CANNABINOIDES EN LA PREVENCIÓN DE LAS NÁUSEAS Y VÓMITOS SECUNDARIOS AL TRATAMIENTO CITOSTÁTICO EN PACIENTES ONCOLÓGICOS

M. Duran, M. Sabaté, D. Capella, J.R. Laporte

Fundació Institut Català de Farmacologia

Introducción: las náuseas y vómitos son efectos indeseados frecuentes y debilitantes del tratamiento citostático. Ambos síntomas se han asociado a una disminución de la calidad de vida de los pacientes con cáncer que reciben quimioterapia, aunque es la náusea el efecto indeseado que los pacientes refieren como más estresante. Experiencias individuales de algunos pacientes sugieren que los cannabinoides serian sobretodo eficaces en prevenir las náuseas.

Objetivo: revisar la eficacia de los cannabinoides y sus derivados en la profilaxis de las náuseas y vómitos secundarios al tratamiento citostático, describir su posible lugar en terapéutica en el momento actual y definir posibles propuestas de futuros proyectos de investigación en esta indicación.

Métodos: hemos revisado los resultados de una metaanálisis publicada recientemente que evalúa la eficacia de los cannabinoides en la profilaxis de las náuseas y los vómitos secundarios al tratamiento citostático (*BMJ 2001;323:16-21*). Por otro lado hemos realizado una revisión de la eficacia y efectividad de los inhibidores de la serotonina, tratamientos que se consideran actualmente de elección en esta indicación¹

Resultados: la nabilona y el dronabinol han mostrado una eficacia superior a placebo y a antieméticos convencionales (proclorperacina y metoclopramida) en pacientes sometidos a quimioterapia moderadamente emetógena. Los efectos adversos más frecuentes en los grupos tratados con cannabinoides en los ensayos clínicos son neuropsiquiátricos. Los datos comparativos entre los diferentes cannabinoides son escasos. La eficacia de los distintos inhibidores de la serotonina (ondansetron, granisetron y tropisetron) se han evaluado sobretodo en pautas de quimioterapia altamente emetógenas. Han mostrado una eficacia superior a la de antieméticos previos como proclorperazina y metoclopramida, eficacia que aumenta cuando se administran combinados con corticoides. En la actualidad se considera el tratamiento de referéncia en estos pacientes. Sin embargo un 10-30% de los pacientes incluidos en los EC siguen presentando síntomas a pesar del tratamiento y en un 50% persisten la náuseas. Estas cifras podrían ser superiores en determinados grupos de pacientes tratados en la práctica clínica habitual² (mujeres jóvenes con cáncer de mama que reciben quimioterapia moderadamente emetógena). No se han publicado EC comparativos entre derivados cannabinoides y inhibidores de la serotonina.

Conclusiones: Una proporción considerable de pacientes, siguen presentando síntomas a pesar del tratamiento antiemético de referéncia. Los cannabinoides podrían ofrecer algún beneficio en este grupo de pacientes. Son necesarios más estudios comparativos entre ambos tratamientos para evaluar si los cannabinoides en monoterapia o añadidos al tratamiento de elección aportan algún beneficio en la mejoría de las náuseas y la calidad de vida de los pacientes sometidos a quimioterapia.

1. J Pain Symptom Manage 2000;20:113-121

2. Cancer 1999;86:64-71.

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA SOBRE EL USO TERAPÉUTICO DEL CANNABIS Y CANNABINOIDES

M. Duran, D. Capella, J.R. Laporte.

Fundació Institut Català de Farmacologia

Introducción: En febrero de 2001 los medios de comunicación hicieron eco de la campaña promovida por la asociación Ágata de enfermas con cáncer. Como resultado de esta campaña los representantes de los cinco partidos del Parlament de Catalunya firmaron una propuesta de no ley en la cual se instaba al Consejo ejecutivo a hacer las gestiones necesarias para autorizar el uso terapéutico del cannabis. Entretanto la Generalitat de Catalunya solicitó a la Fundació Institut Català de Farmacologia (FICF) una revisión de la eficacia del uso terapéutico del cannabis y cannabinoides.

Objetivos: (1) Integrar una nueva línea de investigación en la FICF con el objetivo de actualizar la información disponible sobre la eficacia del uso terapéutico del cannabis y cannabinoides. (2) Promover la investigación clínica en este ámbito.

Actividades: (1) En julio de 2001 se inició la realización de una revisión sistemática mediante MEDLINE y Cochrane de la eficacia clínica del cannabis y cannabinoides en las diferentes indicaciones. Está previsto su finalización en abril de 2002. (2) Atender a las consultas telefónicas de usuarios y médicos que solicitan información sobre el uso terapéutico del cannabis y sus derivados. (3) Hemos diseñado bajo los auspicios de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) un protocolo de seguimiento de los pacientes oncológicos tratados con nabilona en España. El objetivo del estudio es describir las características clínicas y epidemiológicas de estos pacientes, recoger información sobre las dosis de nabilona más frecuentemente utilizadas y obtener datos de toxicidad.

Conclusiones: Pensamos que son necesarios grupos de investigación clínica sobre el uso terapéutico del cannabis y sus derivados que aporten más información sobre los interrogantes que aún quedan por esclarecer sobre su uso médico.

RELEVANCIA CLINICA Y PRONOSTICA DEL CONSUMO DE CANNABIS EN LA ESQUIZOFRENIA

F. Arias, S. Sánchez.

Unidad de Psiquiatría. Fundación Hospital Alcorcón. Alcorcón. Madrid.

El cannabis, junto al alcohol y el tabaco, son las drogas de mayor consumo entre los pacientes con esquizofrenia. La relación entre el consumo de cannabis y esquizofrenia no está bien aclarada. El consumo de cannabis puede precipitar psicosis en sujetos vulnerables o los pacientes psicóticos pueden automedicarse con cannabis sus síntomas positivos o negativos o los efectos secundarios de los antipsicóticos o con dicho consumo mejorar su socialización. Nuestros objetivos han sido valorar la prevalencia del consumo de cannabis en una muestra clínica de pacientes con esquizofrenia y evaluar su relación con los síntomas positivos y negativos y la evolución de los pacientes a los 6 meses. Se incluyeron 82 pacientes que iniciaron tratamiento de forma consecutiva en un Centro de Salud Mental con un diagnóstico de esquizofrenia, entre 18 y 45 años. Fueron evaluadas variables clínicas y toxicológicas y se realizó una entrevista con el Índice de Severidad de la Adicción (ASI) y con la Escala del Síndrome Positivo y Negativo (PANSS). Se establecieron subtipos de esquizofrenia según la puntuación compuesta de la PANSS. Se llevó a cabo un seguimiento de 6 meses, evaluándose recaídas, ingresos y cumplimiento del tratamiento durante ese tiempo. Un 24% de los pacientes presentaron criterios de dependencia de cannabis a lo largo de su vida, un 6% tenía consumo activo en el momento de ser valorado y un 33% había presentado consumo habitual, al menos un mes de forma continuada, en el pasado. El consumo de cannabis se asoció al consumo de otras drogas, a una menor severidad clínica de la esquizofrenia pero a una peor evolución. Por lo tanto, el consumo de cannabis es altamente prevalente en pacientes psicóticos, se asocia a otros consumos de drogas y a un mayor incumplimiento del tratamiento y más recaídas. El consumo de cannabis repercute en la presentación clínica de la esquizofrenia, puede mejorar los síntomas negativos o puede que los pacientes con menos síntomas negativos tengan mayor predisposición al consumo en consonancia con la teoría de la ventana crítica por la cual se requieren de una serie de habilidades y una cierta motivación para implicarse en el consumo.

P-12**EFFECTOS DEL HACHIS EN LA POBLACIÓN JOVEN DEL DISTRITO DE MAJADAHONDA**

M.D. Baño, V.de Antonio, M.L. López, A. Fernández.

Programa Municipal de Drogas. Majadahonda. C/ Doctor Calero nº 20. 28220 Majadahonda

Durante el mes de Septiembre de 2001 se realiza una encuesta a todos los jóvenes que acuden a nuestro centro tras ser multados por tenencia y/o consumo de hachís para realizar el programa de educación para la salud que se está desarrollando desde hace cuatro años en este municipio.

El objetivo de esta encuesta es evaluar los efectos del hachís en esta población .

De las 50 encuestas realizadas hay que destacar que el 77.5% son varones con una edad media de 20.4 años, que iniciaron el consumo a los 16. Son residentes en los municipios del distrito de Majadahonda.

Entre los resultados más llamativos, el 43% han sentido deseos de volver a consumir tras el abandono de hachís y al hacerlo el 30% aumentan el consumo de tabaco y el 20% presentan síntomas de inquietud y nerviosismo.

El consumo en mas de la mitad de los casos (60%) se produce estando con amigos en bares o discotecas. Entre las complicaciones más habituales producidas por el consumo de cannabis señalar que el 49% han tenido lipotimias y el 16% arritmias y paranoias. También contestan el 54% que el efecto habitual del hachís en aquellos que lo consumen habitualmente es no tener ganas de hacer nada y el 33.5% continúa consumiendo a pesar de haber tenido problemas sociales derivados de su uso.

P-13**EL INHIBIDOR DE LA RECAPTACIÓN DE ANANDAMIDA, AM 404, NO MODIFICA LA AUTOADMINISTRACIÓN DE MORFINA EN RATAS WISTAR MACHO.**

J.M. Trigo-Díaz, J.A. López-Moreno, B. Merino, F. Rodríguez de Fonseca, M. Navarro. Laboratorio de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universidad Complutense, Campus de Somosaguas, Madrid.

Existe una interacción cruzada entre los sistemas opioide y cannabinoide en respuestas conductuales relacionadas con la adicción. En trabajos anteriores observamos que la administración aguda de SR 141716 A bloquea la autoadministración de morfina en ratones, el objeto de este estudio ahora es evaluar si un aumento en la cantidad de anandamida endógena, es capaz también de modificar la autoadministración de morfina.

Para evaluarlo administramos de forma aguda un inhibidor de la recaptación de Anandamida (AM 404), en tres dosis 0.4, 2 y 10 mg/kg y vehículo a ratas Wistar macho que se autoadministraban morfina iv. Los resultados muestran que no existen diferencias en la cantidad de morfina que se autoadministraban los animales en ninguna de las dosis de AM 404 comparadas con vehículo. Estos animales si respondieron a Naloxona 0.5 mg/kg y SR 141716A 0.3 mg/kg con cambios significativos en la tasa de autoadministración. Los resultados obtenidos indican que posiblemente los niveles de Anandamida que se liberan de forma endógena, en respuesta a la morfina, son insuficientes para producir una variación significativa en la cantidad de morfina autoadministrada en ratas Wistar macho. Estos datos sugieren que la interacción morfina/sistema endocannabinoide se produce a nivel postsináptico entre los receptores CB1 y mu-opioide.

Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación del FIS, CYCYT, DGEIC y Plan Nacional Sobre Drogas.

P-14**LOS CAMBIOS DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE EN EL CEREBRO DE RATAS CONSUMIDORAS DE ALCOHOL PARECEN EXPLICAR LA REDUCCION DE SU INGESTA TRAS EL BLOQUEO DE LOS RECEPTORES CB₁**

S. González, M.G. Cascio*, F. Fezza*, J.J. Fernández-Ruiz, V. Di Marzo*, J.A. Ramos. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid; *Istituto di Chimica Biomolecolare, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pozzuoli (Napoli), Italia.

En línea con evidencias recientes que sugieren que el sistema endocannabinoide podría formar parte del sistema de recompensa activado por diferentes drogas de abuso, la exposición crónica a alcohol parece producir alteraciones de la producción de endocannabinoides en cultivos neuronales y en el cerebro de ratones. En el presente estudio hemos analizado los efectos de la exposición crónica a alcohol, mediante la administración de etanol 7.2% en el agua de bebida durante 15 días, sobre las concentraciones de anandamida y 2-araquidonilglicerol (medidas mediante cromatografía de gases/espectroscopia de masas) y la densidad y los niveles de ARN mensajero para el receptor CB₁ (medidos mediante técnicas autorradiográficas) en diversas regiones del cerebro de ratas Wistar. Los resultados pusieron de manifiesto que los efectos de la exposición crónica a alcohol solo afectan a la producción de endocannabinoides pero no a sus receptores, ya que en ningún caso, se observaron diferencias en los niveles de ARN mensajero y en la densidad de los receptores CB₁ en ninguna de las regiones cerebrales estudiadas, que incluyeron los ganglios basales, el cerebelo, diversos núcleos límbicos y estructuras hipocámpales, corticales e hipotálamicas. Por el contrario, la exposición a etanol elevó de forma significativa los niveles de anandamida, y de forma no-significativa los de 2-araquidonil-glicerol, en el área límbica anterior, pero no produjo ningún efecto en otras regiones cerebrales, exceptuando el mesencéfalo donde se observó un descenso de ambos ligandos. La elevación de los niveles de endocannabinoides en el área límbica anterior tiene interés, no solo porque en esta región residen parte de los sustratos neurobiológicos activados por las drogas de abuso, sino también porque la misma elevación se ha descrito tras la exposición crónica a Δ^9 -tetrahidrocannabinol. Si esta elevación de los niveles de endocannabinoides forma parte del mecanismo de refuerzo activado por diferentes drogas, ello explica que el tratamiento con antagonistas de los receptores CB₁ sea capaz de reducir la ingesta de alcohol en animales de laboratorio, como se ha visto en experimentos de otros autores, y se ha corroborado en el presente estudio usando un paradigma de exposición a alcohol comparable al modelo de exposición crónica usado para evidenciar la elevación de los niveles de endocannabinoides. Por consiguiente, el consumo crónico de alcohol podría estar asociado a un incremento de los niveles de endocannabinoides en estructuras del sistema límbico, incremento que mediaría las propiedades reforzantes del alcohol y que podría ser reducido mediante el bloqueo selectivo de los receptores sobre los que actúan los endocannabinoides.

(proyecto de investigación financiado por el Plan Nacional sobre Drogas)

ESTUDIO AUTORADIOGRAFICO DEL DESARROLLO ONTOGENÉTICO DE LOS RECEPTORES CANNABINOIDES CB₁ EN CEREBRO HUMANO

S. Mato, E. del Olmo, A. Pazos

Departamento de Fisiología y Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Cantabria, 39011 Santander

El proceso de aparición de los receptores cannabinoides CB₁ durante el desarrollo se ha estudiado en tejido postmortem de diversas regiones cerebrales, procedente de un grupo de fetos, neonatos y niños, desde la 19ª semana de gestación hasta los 8 años de vida. El patrón de desarrollo ontogenético se ha visualizado mediante técnicas autorradiográficas, utilizando la fijación específica de [³H]CP55,940 como marcador para la cuantificación de la proteína receptora, y la fijación de [³⁵S]GTPγS, tras activación con WIN55,212-2, como índice de la capacidad de activación funcional del citado receptor. Las densidades de fijación específica de [³H]CP55,940 en el cerebro humano en etapas relativamente tempranas del desarrollo, alrededor de la 20ª semana de gestación, fueron ya similares a las observadas a nivel adulto, encontrándose también, en líneas generales, una distribución anatómica similar. Así, se observaron niveles muy altos de fijación (< 35 fmol/mg tejido) en algunos núcleos del estriado (putamen) y del hipocampo (estrato CA₁), y densidades también altas, entre 20 y 35 fmol/ mg tejido, en las láminas de la corteza frontal y en la corteza cerebelosa, entre otras estructuras. Es interesante señalar que en alguno de los casos de edad neonatal más temprana se detectó una densidad de fijación muy elevada en algunos tractos de sustancia blanca, como es el caso del tracto piramidal; este marcaje no se observó en los neonatos a término, ni en los casos infantiles. Los resultados de la activación de proteínas G por el agonista CB₁ WIN55,212-2 coincidieron totalmente con los datos de marcaje del receptor, observándose ya en los casos de menor edad gestacional un nivel de estímulo de la unión de [³⁵S]GTPγS comparable en intensidad al previamente descrito en el adulto (superior al 100%), y con un patrón de distribución anatómica similar, incluyendo la hiperexpresión transitoria en sustancia blanca. Nuestros resultados indican que los receptores CB₁ aparecen ya en el cerebro humano en etapas tempranas de gestación y son plenamente funcionales durante este período. Esta aparición precoz, junto con su hiperexpresión transitoria en sustancia blanca, sugiere un posible papel para los sistemas cannabinoides endógenos en la regulación del desarrollo nervioso en la especie humana.