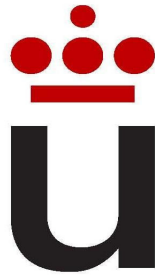


UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

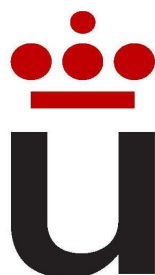


TESIS DOCTORAL

EFFECTOS CENTRALES Y PERIFÉRICOS DE
LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DEL
AGONISTA CANNABINOIDE WIN 55,212-2, Y
SU UTILIZACIÓN EN ALGUNAS
ALTERACIONES PRODUCIDAS POR EL
CISPLATINO EN RATA.

PABLO ANTONIO CABEZOS RODRÍGUEZ
Alcorcón, 2010

UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD



TESIS DOCTORAL

EFFECTOS CENTRALES Y PERIFÉRICOS DE
LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DEL
AGONISTA CANNABINOIDE WIN 55,212-2, Y
SU UTILIZACIÓN EN ALGUNAS
ALTERACIONES PRODUCIDAS POR EL
CISPLATINO EN RATA.

PABLO ANTONIO CABEZOS RODRÍGUEZ

Alcorcón, 2010

Dña. MARIA ISABEL MARTÍN FONTELLES, CATEDRÁTICA DE FARMACOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS, Y Dña RAQUEL ABALO DELGADO, PROFESORA CONTRATADA DOCTORA DE LA UNIVERSIDAD REY JUAN CARLOS

CERTIFICAN:

Que el trabajo de investigación titulado “EFECTOS CENTRALES Y PERIFÉRICOS DE LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DEL AGONISTA CANNABINOIDE WIN 55,212-2, Y SU UTILIZACIÓN EN ALGUNAS ALTERACIONES PRODUCIDAS POR EL CISPLATINO EN RATA” ha sido realizado por D. Pablo Antonio Cabezas Rodríguez en el Departamento de Farmacología y Nutrición de la Universidad Rey Juan Carlos bajo nuestra dirección.

Y para que así conste donde proceda se firma este certificado en Alcorcón, a 8 de enero de 2010.

Fdo. M.I. Martín

Fdo. R. Abalo

Fdo. P.A.Cabezas

A mi familia

A mi abuelo, que no pudo verlo terminado

Y a Gema, por supuesto

Agradecimientos

A la **Dra. M^a Isabel Martín** por acogerme en su grupo para realizar esta Tesis Doctoral. Gracias por la confianza que me has mostrado en ciertos momentos y por tus acertados consejos.

A la **Dra. Raquel Abalo**, mi tutora. Gracias por compartir conmigo tus conocimientos y ayudarme a sintetizar todo el trabajo realizado en estos años.

A **Carlos**, gracias por echarme una mano cuando la he necesitado. A **Visi, Rocío, Eva, David, Elisa y Esperanza**, agradeceros los buenos momentos que hemos pasado en el laboratorio. Gracias a todos por lo fácil que se hace trabajar a vuestro lado.

A las futuras doctoras **Nancy, Cristina y Ana**, gracias por todo. Que sepais que no pienso perderme vuestras tesis, así que contad con uno más para el ágape.

A **Maica, Lupe, Cristina e Iván**, agradeceros, por supuesto, la ayuda que me habéis brindado en el trabajo diario, pero sobre todo, por el buen rollo que transmitís.

A **Mónica**. Hemos compartido buenos momentos pero también muchas decepciones. Gracias por toda tu ayuda, que ha sido mucha, durante este tiempo. Por cierto, tampoco pienso perderme tu tesis.

A **Gema**. Cualquier cosa que escriba se va a quedar corta. Gracias por tu paciencia al enseñarme, por aguantarme, por la ayuda y apoyo que nunca me faltó, por tu confianza en mí. Si no hubieses estado a mi lado, no lo habría logrado.

A mi **familia**, por su apoyo y confianza incondicional. Ha costado pero al fin se ha terminado. Espero que podáis estar orgullosos de mí. A mi primo **Carlos** por compartir conmigo el “exilio murciano” en Madrid.

A mis **amigos** de Cartagena: Ernesto, Jose, Inma, María, Tonny y Miguel por seguir ahí después de tantos años, aunque sigais sin saber muy bien a lo que me dedico. A mis excompañeros del biopiso, los doctores Godínez y Juan-Picó, a los que, ahora, me uno.

A Muse, Led Zeppelin, Radiohead, Jethro Tull, Yann Tiersen, The Black Heart Procession y tantos otros que me han acompañado durante estos años en mis interminables viajes y paseos por Madrid.

Índice

INTRODUCCIÓN.....	1
1. Cannabinoides.....	3
1.1. Sistema cannabinoide endógeno.....	3
1.1.1. Receptores cannabinoides.....	4
1.1.2. Cannabinoides endógenos.....	6
1.1.3. Degradación de endocannabinoides.....	8
1.2. Farmacología de los cannabinoides.....	9
1.2.1. Agonistas cannabinoides.....	9
1.2.2. Antagonistas/Agonistas inversos.....	13
1.2.3. Inhibidores del proceso de terminación biológica de los endocannabinoides.....	13
1.3. Efectos de los cannabinoides.....	14
1.3.1. Efectos psicoactivos.....	15
1.3.2. Efectos sobre el metabolismo energético y la ingesta de alimento.....	17
1.3.3. Efectos sobre la sensación dolorosa.....	18
1.3.4. Efectos sobre el tracto gastrointestinal.	20
1.4. Efectos de la administración crónica de cannabinoides.....	24
1.4.1. Tolerancia cannabinoide.....	27
1.4.2. Dependencia.....	29
2. Utilidad de los cannabinoides para el tratamiento de los efectos adversos de la terapia antitumoral.....	31
2.1 Cisplatino.....	31
2.2 Cisplatino y neuropatía periférica.....	32
2.2.1. Cannabinoides y dolor neuropático producido por antitumorales.....	33
2.3 Anorexia y caquexia producidas por cisplatino.....	34
2.3.1 Cannabinoides y dolor neuropático producido por antitumorales.....	35
2.4 Náuseas y vómitos producidos por antitumorales.....	35
2.4.1 Cannabinoides y efectos gastrointestinales producidos por antitumorales.....	38
3. Justificación del trabajo realizado.....	41
OBJETIVOS.....	43
MATERIAL Y MÉTODOS.....	47
1. Animales y condiciones de experimentación.....	49
2. Efectos de diferentes tratamientos con WIN 55,212-2.....	49
2.1 Protocolos de administración.....	49
2.2 Evaluación del estado general.....	50

2.3	Determinación de efectos psicoactivos.....	50
2.3.1	Analgesia térmica.....	51
2.3.2	Catalepsia.....	51
2.3.3	Temperatura.....	51
2.3.4	Locomoción espontánea.....	51
2.4	Estudio de la motilidad gastrointestinal.....	52
3.	Efecto del tratamiento crónico con cisplatino.....	54
3.1	Protocolo de administración.....	54
3.2	Evaluación del estado general y desarrollo de neuropatía periférica.....	54
3.2.1	Alodinia mecánica.....	54
3.3	Estudio de la motilidad gastrointestinal.....	55
4.	Efecto de la administración semanal de WIN 55,212-2 en animales sometidos a tratamiento crónico con cisplatino.....	56
4.1	Protocolo de administración.....	56
4.2	Estado general de los animales y alodinia.....	56
4.2.1	Alodinia mecánica.....	56
4.3	Determinación de efectos psicoactivos.....	57
4.4	Estudio de la motilidad gastrointestinal.....	57
5.	Fármacos y compuestos.....	58
6.	Análisis estadístico.....	59
RESULTADOS.....		61
1.	Efectos de tres pautas de administración del agonista cannabinoide no selectivo CB1/CB2 WIN 55,212-2.....	63
1.1	Efectos del tratamiento agudo.....	63
1.1.1.	Efectos psicoactivos.....	63
1.1.2.	Motilidad gastrointestinal.....	64
1.2	Efectos del tratamiento crónico diario.....	66
1.2.1	Estado general.....	66
1.2.2	Efectos psicoactivos.....	66
1.2.3	Motilidad gastrointestinal.....	68
1.3	Efectos del tratamiento crónico semanal.....	73
1.3.1	Estado general.....	73
1.3.2	Efectos psicoactivos.....	73
1.3.3	Motilidad gastrointestinal.....	75
2.	Efectos de la administración crónica de cisplatino.....	81
2.1	Estado general.....	81
2.2	Motilidad gastrointestinal.....	83
3.	Efectos de la administración semanal de WIN 55,212-2 en animales sometidos a tratamiento crónico con cisplatino.....	89
3.1	Estado general.....	89
3.2	Efectos psicoactivos.....	91
3.3	Motilidad gastrointestinal.....	92

DISCUSIÓN.....	99
1. Efectos de la administración aguda y crónica del agonista cannabinoide WIN 55,212-2.....	101
1.1 Tratamiento agudo con WIN 55,212-2.....	101
1.2 Tratamiento crónico diario con WIN 55,212-2...	103
1.3 Tratamiento crónico semanal con WIN 55,212-2	105
2. Efectos de la administración crónica de cisplatino.....	107
2.1 Estado general.....	107
2.2 Motilidad gastrointestinal.....	108
3. Tratamiento conjunto con WIN y cisplatino.....	112
3.1 Nocicepción.....	112
3.2 Motilidad gastrointestinal.....	113
CONCLUSIONES.....	115
BIBLIOGRAFÍA.....	119

Abreviaturas

AA-5-HT: Araquidonoilserotonina

ACEA: Araquidonil-2'-cloroetilamida

ACPA: Araquidonil-1-ciclopropilamida

2-AG: 2-araquidonilglicerol

2-AGE: 2-araquidonil-gliceril éter

ATP: Adenosín trifosfato

CCK: Colecistoquinina

DAG: Diacilglicerol

DALN: Desacetilevonantradol

EEM: Error estándar de la media

FAAH: Hidrolasa de amidas de ácidos grasos

FABP: Proteína de unión a ácidos grasos

GI: Gastrointestinal

5-HT: Serotonina

MAGL: Monoacilglicerol lipasa

NA: Noradrenalina

NADA: N-araquidonil-dopamina

NAPE-PLD: fosfolipasa D específica de N-acil-fosfatidiletanolamina

NK: Neuroquinina

SNC: Sistema nervioso central

Δ^8 -THC: Δ^8 tetrahidrocannabinol

Δ^9 -THC: Δ^9 -tetrahidrocannabinol

TNBS: Ácido sulfónico trinitrobenceno

TNF: Factor de necrosis tumoral

TRPV1: Receptor vanilloide tipo 1

INTRODUCCIÓN

1 - CANNABINOIDES.

Los cannabinoides ejercen un amplio espectro de acción sobre la actividad fisiológica normal. Por sus efectos agudos en la esfera cognitiva y psicológica, los derivados de la planta *Cannabis sativa* se han usado como droga de uso recreacional durante más de 4000 años. Pero la administración de compuestos cannabinoides se asocia, además, con la producción de efectos terapéuticos como, por ejemplo, analgesia, antiemesis, disminución de la presión ocular, acciones sobre la actividad muscular, inmunomodulación, etc.

Hasta la fecha, se han descrito tres tipos de compuestos cannabiméticos: los fitocannabinoides (que sólo se encuentran en la planta del cannabis), los cannabinoides endógenos (o endocannabinoides) y los sintéticos. Gaoni y Mechoulam (1964) identificaron el Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC) como el principal componente psicoactivo de la marihuana. En 1988, Devane y cols. describieron la presencia de un sitio de unión de alta afinidad para los cannabinoides en cerebro de rata que correlacionaba farmacológicamente con la antinocicepción. Los receptores cannabinoides fueron clonados al principio de la década de los 90 (Matsuda y cols., 1990; Munro y cols., 1993). Poco tiempo después, fueron descubiertos los primeros endocannabinoides, N-araquidoniletanolamida (anandamida) y 2-araquidonilglicerol (2-AG), (Devane y cols., 1992; Mechoulam y cols., 1995; Sugiura y cols., 1995). Más recientemente, el conocimiento de la biología de los cannabinoides ha avanzado de manera importante con la caracterización de los receptores cannabinoides en una gran variedad de tejidos periféricos.

1.1 - SISTEMA CANNABINOIDE ENDÓGENO.

El sistema cannabinoide endógeno comprende los receptores cannabinoides, sus ligandos endógenos y las enzimas necesarias para su biosíntesis y degradación (Howlett y cols., 2002; Mackie, 2006).

1.1.1 - Receptores cannabinoides.

La mayoría de las acciones farmacológicas producidas por los cannabinoides se deben a su interacción con, al menos, dos tipos diferentes de proteínas receptoras, pertenecientes a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G. En general, la distribución de estos receptores se encuentra en estrecha relación con bastantes de los efectos farmacológicos que producen los cannabinoides.

Los receptores cannabinoides se han descrito en muchas especies, como primates, incluyendo humanos, cerdos, perros, ratas y ratones, pero no en insectos. El receptor cannabinoide tipo 1 (CB1) fue el primer receptor caracterizado (Devane y cols., 1988). Posteriormente se identificó su estructura molecular en ratas y humanos (Matsuda y cols., 1990; Gerard y cols., 1991). Poco después, Munro y cols. (1993) describieron la existencia de un segundo receptor para compuestos cannabinoides. Inicialmente, se creyó que los receptores CB1 se localizaban predominantemente en el cerebro, mientras el receptor cannabinoide de tipo 2 (CB2) lo hacía en el sistema inmune. Sin embargo, el receptor CB1 se ha localizado en un gran número de tejidos periféricos como el cardiovascular y el reproductor, así como en el tracto gastrointestinal (Crocì y cols., 1998; Pertwee, 2001; Szabo y cols., 2001). Además, más recientemente se ha detectado el receptor CB2 en el sistema nervioso central, en células microgliales (Kearn and Hilliard, 1997; Ashton y cols., 2006; y en neuronas (Skaper y cols., 1996; Gong y cols., 2006).

El receptor CB1 es una molécula que contiene una secuencia típica de 472-473 aminoácidos altamente conservada. Este receptor se expresa preferentemente en poblaciones neuronales del cerebro de mamíferos (Howlett y cols., 2002). De hecho, el receptor CB1 es el receptor acoplado a proteína G más abundante del cerebro (Herkenham y cols., 1991). Es especialmente abundante en regiones del cerebro responsables del movimiento (ganglios basales, cerebelo), del procesamiento de la memoria (hipocampo, corteza cerebral) y de la modulación del dolor (médula espinal y sustancia gris periacueductal) (Pertwee, 1997; Tsou y cols., 1998; Hampson y cols., 1999; Ong y cols., 1999). También se localiza en terminaciones nerviosas centrales y periféricas (Pertwee, 1997; Tsou y cols., 1998; Ong y cols., 1999). Además, se encuentra en una gran variedad de tejidos periféricos como bazo, amígdalas, tracto gastrointestinal, corazón, próstata, útero,

ovario, y, a nivel presináptico, en terminales nerviosos simpáticos (Pertwee, 1999; Howlett y cols, 2002).

El receptor CB2, por su parte, es un polipéptido de 360 aminoácidos y muestra una homología del 44% en su secuencia de aminoácidos con el receptor CB1 (Munro y cols., 1993), porcentaje que aumenta hasta el 68% cuando se comparan los segmentos transmembranales (Lutz, 2002). Se localiza preferentemente a nivel periférico, en las células inmunes (Howlett y cols., 2002), y está implicado en procesos de migración celular y liberación de citoquinas (Lunn y cols., 2006). También se encuentra implicado en el control de la proliferación, diferenciación y supervivencia de células (Fernández-Ruiz y cols., 2007). Más recientemente se ha descrito la presencia de receptores CB2 en diversas áreas del sistema nervioso central aunque su papel en estas células aún no ha sido establecido (Onaivi y cols. 2008).

Los receptores CB1 y CB2 están acoplados, principalmente, a proteínas G del subtipo $G_{i/o}$. Sin embargo, en algunos sistemas y bajo ciertas condiciones pueden estar acoplados a proteínas G_s ó $G_{q/11}$ (Glass y Northrup, 1999; Lauckner y cols., 2005; McIntosh y cols., 2007). La activación de las proteínas $G_{i/o}$ conduce, entre otros efectos, a la inhibición de la enzima adenilatociclase y a la estimulación de la vía de las quinasas activadas por mitógeno o MAP quinasas, puestas de manifiesto por distintos sistemas (Howlett y cols., 2002; Pertwee, 2008). Además, los receptores cannabinoides CB1 están acoplados específicamente, a través de proteínas $G_{i/o}$, a canales iónicos de distinto tipo: por un lado de forma negativa a canales de calcio de tipo -N y -P/Q y canales de potasio de tipo -D y, por otro lado, positivamente a canales de potasio tipo -A y corrientes rectificadoras de potasio (Howlett y cols., 2002). La activación de receptores CB2 no regula la funcionalidad de canales iónicos (Felder y cols., 1995), pero sí modifica la movilización de Ca^{2+} intracelular en ciertos tipos de células (Zoratti y cols., 2003).

En las neuronas, estos efectos conducen a una menor excitabilidad y a la reducción en la liberación de neurotransmisores (Freund y cols., 2003). Por su parte, en las células endocrinas la inactivación de adenilato ciclase produce una disminución en la concentración de calcio intracelular reduciendo la liberación de hormonas (Nakata y cols., 2007).

Finalmente, algunos hechos sugieren la presencia de otros sitios de fijación adicionales a los receptores CB1/CB2. Así, la relativamente baja afinidad mostrada por parte de moléculas como el cannabinoide y el cannabidiol, y los estudios realizados en ratones *knockout* (KO) confirman la existencia de actividad cannabinoide que no parece estar mediada a través de los receptores CB1/CB2 (Di Marzo y cols., 2000b). Hasta el momento dos receptores huérfanos, acoplados a proteínas G, son dos posibles candidatos para mediar estas acciones: el receptor GPR119 (Brown, 2007), que se ha propuesto como receptor para la oleiletanolamida y el GPR55 que puede ser activado por múltiples ligandos cannabinoide (Pertwee, 2007). Los cannabinoide, además, actúan sobre receptores PPAR α y PPAR γ que regulan la expresión de distintos genes (O'Sullivan, 2007).

1.1.2 - Cannabinoide endógenos.

Los endocannabinoide comprenden una familia de eicosanoide presentes en cerebro y en tejidos periféricos. Los primeros endocannabinoide descubiertos, y los más extensamente estudiados, son la anandamida y el 2-AG (Howlett y cols., 2004). La despolarización de las membranas neuronales o la activación de ciertos receptores en diferentes tipos celulares conduce a la formación de anandamida y 2-AG a partir de precursores fosfolipídicos (De Petrocellis y cols., 2004). Una vez sintetizados, son liberados al medio extracelular donde pueden unirse a los receptores cannabinoide. La síntesis, transporte celular y degradación de los endocannabinoide (ver más abajo) son procesos fuertemente regulados (Howlett y cols., 2002). Una característica que distingue los endocannabinoide de otros neuromoduladores es que éstos no son sintetizados con antelación y almacenados en vesículas. En cambio, sus precursores se encuentran en la membrana celular y son modificados por enzimas específicas, como una fosfolipasa D específica de N-acil-fosfatidiletanolamina (NAPE-PLD) y diacilglicerol (DAG) lipasa, "a demanda" cuando y donde son necesarios (Matias y cols., 2006) (figura 1.1).

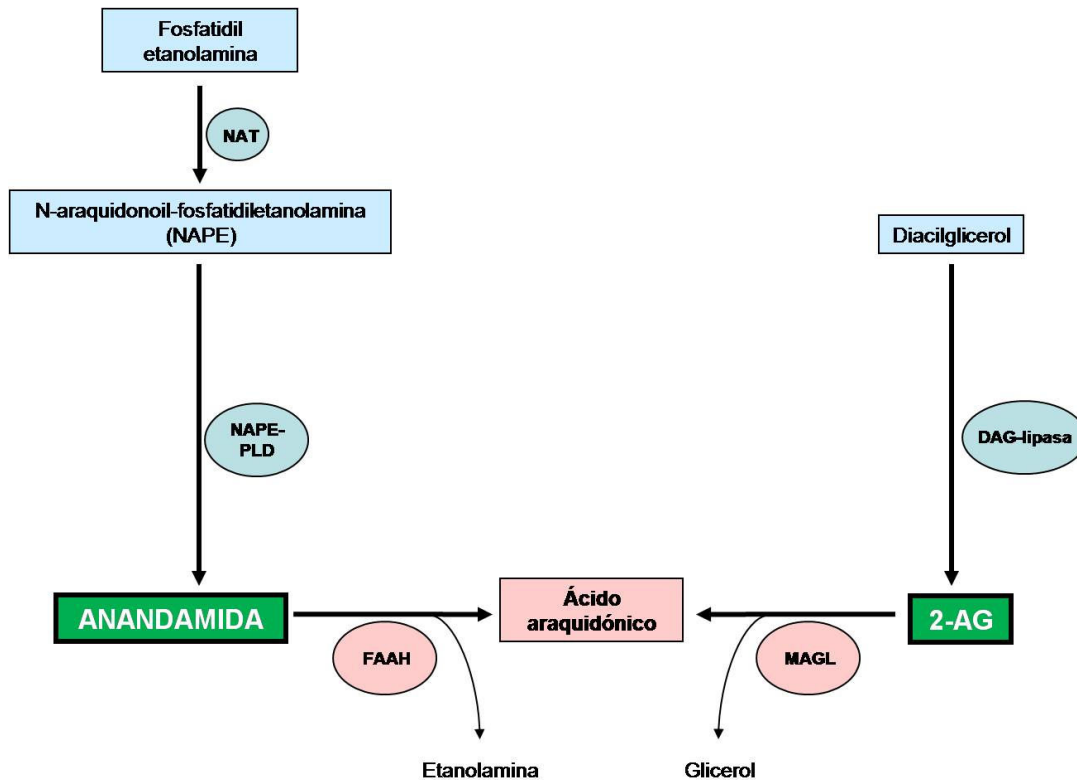


Figura 1.1. Biosíntesis e inactivación de anandamida y 2-araquidonilglicerol (2-AG). Las rutas biosintéticas para anandamida y 2-AG se muestran en azul y las degradativas en rosa. NAT = N-acetil transferasa; NAPE-PLD = fosfodiesterasa selectiva de N-acetilfosfatidiletanolamina; DAG = diacilglicerol; FAAH = hidrolasa de amidas de ácidos grasos; MAGL = monoacilglicerol lipasa.

La anandamida fue el primer endocannabinoide identificado y es el más estudiado (Devane y cols., 1992). Está formada por ácido araquidónico y etanolamina unidos mediante un enlace tipo amida. Se une tanto a los receptores CB1 como a los CB2 (Glass and Northup, 1999), pero su afinidad por el receptor CB2 es aproximadamente 4 veces menor que por el CB1 (Felder et al., 1995). Los niveles más altos de anandamida se han encontrado en áreas del cerebro con alta densidad de receptores para cannabinoideos, como el hipocampo, el estriado, el cerebelo y el córtex (Egertova y Elphick, 2000). En menor proporción, también se ha detectado su presencia en tejidos periféricos (Sugiura y Waku., 2002). Se sintetiza en las neuronas post-sinápticas y actúa como una molécula mensajera retrógrada, modulando la liberación de neurotransmisores en las neuronas pre-sinápticas. Además, la anandamida activa el receptor vanilloide tipo 1 (TRPV1), comportándose como un potente agonista pero con baja afinidad (Zygmunt y cols., 1999). La coexpresión de los receptores CB1 y TRPV1 podría producir una potenciación de los

efectos biológicos producidos por los agonistas de estos receptores (Cristino y cols., 2006).

El 2-AG está formado por ácido araquidónico y glicerol unidos mediante un enlace tipo éster y fue el segundo endocannabinoide descrito. Fue aislado originalmente de intestino de perros (Mechoulam y cols., 1995) y de cerebro de rata (Suigiura y Waku, 2000); el 2-AG puede ser un ligando natural de los receptores CB1 y CB2 (Suigiura y cols., 1995). Aunque muestra una menor afinidad por los receptores CB1 que la anandamida, está presente en el cerebro en cantidades mayores. Así pues, se considera que 2-AG es el cannabinoide endógeno primario en el cerebro por ser un agonista completo de los receptores CB1 (Childers y Breivoguel, 1998). Las actividades biológicas de 2-AG se centran en la función inmune, la proliferación celular, el desarrollo embrionario, la potenciación a largo plazo del hipocampo, neuroprotección y neuromodulación, función cardiovascular y respuesta inflamatoria (Suigiura y Waku, 2000).

Otros endocannabinoides recientemente propuestos son 2-araquidonil-gliceril éter (2-AGE, noladin éter), O-araquidonil-etanolamina (virhodamina) y N-araquidonil-dopamina (NADA), junto a otros. La importancia de estos y otros endocannabinoides está siendo estudiada actualmente (Pagotto y cols., 2006).

Se ha sugerido, también, que los derivados de ácidos grasos endógenos como oleiletanolamida, palmitoiletanolamida, 2-linoilglicerol y 2-palmitoilglicerol pueden interactuar con los endocannabinoides produciendo modulación de la sensación dolorosa, de la inflamación y de la ingesta de alimento y el metabolismo energético (Bisogno y cols., 2008).

1.1.3 – Degradación de endocannabinoides.

La degradación de los endocannabinoides es intracelular por lo que es necesario que estos compuestos vuelvan a entrar en la célula para ser metabolizados posteriormente. Al tratarse de compuestos lipofílicos pueden atravesar la membrana plasmática por difusión. Sin embargo, muchos estudios indican que el transporte de anandamida es un proceso saturable e inhibible por

métodos farmacológicos, habiéndose demostrado la eficacia de los inhibidores en diversos modelos patológicos (Fowler y Jacobsson, 2002). El mecanismo de transporte de los endocannabinoides sería bidireccional y podría funcionar tanto para introducir en la célula los cannabinoides liberados como para liberar estos compuestos tras su síntesis (Di Marzo, 2008). Recientemente se ha propuesto que las proteínas de unión a ácidos grasos (FABPs) facilitan el transporte de anandamida por el citosol hidrofílico (Kaczocha y cols., 2009).

Una vez dentro de la célula, la anandamida se hidroliza rápidamente mediante la acción de la hidrolasa de amidas de ácidos grasos (FAAH), dando lugar a etanolamina y ácido araquidónico (Deutsch y Chin, 1993). En el hipocampo, esta enzima se localiza preferentemente en las neuronas postsinápticas, coincidiendo con el receptor CB1, lo cual sugiere que esta enzima puede tener un papel en la regulación de la actividad de CB1 (Gulyas y cols., 2004).

La FAAH puede hidrolizar también 2-AG, oleamida y otras amidas de ácidos grasos (Labar y Michaux, 2007). Sin embargo, la hidrólisis del 2-AG en glicerol y ácido araquidónico se lleva a cabo, principalmente, por la enzima monoacilglicerol lipasa (MAGL), muy abundante en terminales presinápticos del tejido nervioso (Di Marzo, 2008) (figura 1.1).

1.2 - FARMACOLOGÍA DE LOS CANNABINOIDES.

1.2.1 - Agonistas cannabinoides.

Los agonistas cannabinoides, ya sean fitocannabinoides, endocannabinoides o cannabinoides sintéticos, los podemos clasificar en agonistas no selectivos, agonistas selectivos CB1 y agonistas selectivos CB2:

I) Agonistas no selectivos. A su vez se diferencian en cuatro grupos en función de su estructura química:

- a) Clásicos. Los cannabinoides de este grupo son derivados de dibenzopiranos ABC tricíclicos. Estos compuestos proceden de la planta

Cannabis sativa, o bien proceden de su biotransformación o son derivados sintéticos de estos.

El Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC) es el principal componente psicoactivo del cannabis, y su estructura química fue caracterizada en el año 1964 por Gaoni y Mechoulam. Este compuesto tiene afinidad similar por los receptores CB1 y CB2.

A este grupo también pertenecen los fitocannabinoides Δ^8 tetrahidrocannabinol (Δ^8 -THC), cannabinol y cannabidiol, así como los cannabinoides sintéticos HU-210 y nabilona.

b) No clásicos. Son análogos bicíclicos y tricíclicos del Δ^9 -THC que carecen de anillo pirano. El principal representante de este grupo es el CP 55,940, que fue el agonista utilizado para demostrar, por primera vez, la presencia de receptores específicos para cannabinoides en cerebro de rata (Devane y cols., 1988). Otros agonistas cannabinoides no clásicos son el CP 55,240, CP 50,556 (levonantradol) y el desacetilevonantradol (DALN).

c) Aminoalquilindoles. Se trata de moléculas cuya estructura deriva de la pravadolina. El principal representante de este grupo es el WIN 55,212-2. Aunque su estructura química es bastante diferente de la de los agonistas clásicos y no clásicos, estos tres tipos de compuestos son capaces de desplazarse mutuamente de su unión a receptores CB1 y CB2 (Pertwee, 2008).

d) Eicosanoides. Este grupo incluye una serie de compuestos derivados estructuralmente del ácido araquidónico, cuyo principal representante es la anandamida (ver apartado 1.1.2. Cannabinoides endógenos).

En términos de eficacia, tanto el Δ^9 -THC como la anandamida se comportan como agonistas parciales no selectivos de los receptores CB1, con una menor eficacia por los receptores CB2, actuando, en algunos ensayos *in vitro*, como antagonistas CB2. El HU-210, un análogo sintético del Δ^8 -THC, presenta una mayor potencia y eficacia que el Δ^9 -THC y la anandamida sobre ambos receptores.

Finalmente CP 55,940 y WIN 55,212-2 poseen una eficacia relativamente alta y aunque la afinidad es similar por ambos receptores, el WIN 55,212-2 muestra una ligera selectividad CB2 (Howlett y cols., 2002; Pertwee, 2008). Por su parte, el cannabidiol presenta una afinidad muy baja por los receptores CB1 y CB2, y se comporta como un antagonista CB1 y agonista CB2 (Mechoulam y cols., 2007).

II) Agonistas CB1 selectivos. La araquidonil-2'-cloroetilamida (ACEA) y la araquidonil-1-ciclopropilamida (ACPA) son fármacos altamente selectivos que se comportan como potentes agonistas CB1 de alta eficacia (Howlett y cols., 2002). En este grupo también se incluyen otros fármacos resistentes a la hidrólisis enzimática como O-1812 y noladin-éter.

III) Agonistas CB2 selectivos. En este grupo se incluyen fármacos como el JWH-133, HU-308, JWH-015 o el AM1241 (Howlett y cols., 2002; Pertwee, 2008). Estos fármacos carecen de efectos psicoactivos por lo que, en principio, representan una buena alternativa para el tratamiento de algunos trastornos neurológicos (Sagredo y cols., 2007).

	Agonistas no selectivos CB1/CB2			
	Afinidad (K_i, nM)		Eficacia relativa	
	CB1	CB2	CB1	CB2
Δ^9 -THC	40,7	36,4	+++	+
Δ^8 -THC	47,6	39,3	+	+++
HU-210	0,06	0,52	+++++	+++++
O-1057	7,86	7,95	+++	++++
CP-55,940	0,58	0,69	+++++	+++++
CP-56,667	61,7	23,6	N.D.	N.D.
WIN 55,212-2	1,9	0,28	+++++	+++++
Anandamida	89*	371*	++++	+
2-AG	13,9**	58**	++++	++
NADA	250	12000	N.D.	N.D.
O-585	8.6	324	N.D.	N.D.
O-689	5.7	132	+++	+

Agonistas CB1 selectivos

ACEA	1,4	>2000		
ACPA	2,2	715		
Metanandamida	17,9	868		
O-1812	3,4	3870		
Noladín éter	21,2	>3000		

Agonistas CB2 selectivos

JWH-133	677	3,4		
HU-308	>10000	22,7		
L-759633	1043	6,4		
L-759656	4888	11,8		
AM-1241	280	3,4		
JWH-015	383	13,8		

* En presencia de inhibidores de la hidrólisis enzimática de anandamida; ** En presencia de inhibidores de la hidrólisis enzimática de 2-AG; N.D. = no detectado.

Tabla 1. Características farmacológicas de los principales agonistas de los receptores cannabinoides (modificado de Howlett y cols., 2002; Pertwee, 2008).

1.2.2 - Antagonistas/Agonistas inversos.

El desarrollo de moléculas capaces de antagonizar de forma selectiva los efectos cannabinoides mediados por CB1 o CB2 ha sido fundamental para la caracterización farmacológica de estos receptores.

Entre los antagonistas CB1 más importantes destaca el rimonabant (SR141716A, Rinaldi-Carmona y cols., 1994). A partir de éste se han desarrollado nuevas moléculas como AM251, SR14778 (surinabant) o MK-0364 (taranabant). Algunos antagonistas CB2 desarrollados en estos años son SR144528, AM630 y O-1184.

Además de su habilidad para prevenir las acciones cannabimiméticas, muchos de estos antagonistas son capaces de producir, por sí solos, efectos opuestos a los derivados de una activación del sistema endocannabinoide. Los datos existentes en la literatura científica sugieren que la gran mayoría de estos compuestos se comportan como agonistas inversos en algunos sistemas (Pertwee, 2005).

1.2.3 - Inhibidores del proceso de terminación de la actividad biológica de los endocannabinoides.

- a) Inhibidores del transportador de endocannabinoides. Este transportador se encarga de eliminar del medio extracelular los cannabinoides endógenos. En este grupo se incluyen moléculas como AM404, VDM-11, LY2183240 o LY2318912.
- b) Inhibidores de la degradación de endocannabinoides. Los inhibidores de la FAAH pueden ser irreversibles (URB597, URB532, O-1887) o reversibles (araquidonilserotonina (AA-5-HT), OL-135). Entre los inhibidores de la MAGL encontramos moléculas como URB602 y URB754.

1.3 – EFECTOS DE LOS CANNABINOIDES.

El sistema endocannabinoide se encuentra distribuido en multitud de sistemas orgánicos y especies (incluyendo invertebrados, pero no en insectos), lo que nos indica que se trata de un sistema vital para el funcionamiento fisiológico normal (Egertova y Elphick, 2007). El espectro de las acciones fisiológicas de los cannabinoides ha aumentado en los últimos años y podría decirse que el sistema endocannabinoide es un sistema modulador que influye en los tres sistemas esenciales de la regulación fisiológica: el sistema neurotransmisor, el sistema inmune y el sistema endocrino.

En el sistema nervioso central (SNC), los endocannabinoides participan en la regulación de la sensación dolorosa (cerebro y médula espinal), actividad motora, estado de ánimo, aprendizaje y memoria, y desempeñan un papel notable durante el desarrollo cerebral. Además están implicados en la regulación del vómito, apoptosis neuronal y neuroprotección. Periféricamente participan en otros procesos como la disminución de la presión intraocular, la ingesta de comida, broncodilatación, hipotensión, disminución de la motilidad y secreción gastrointestinal, y modulación de la respuesta inmune, entre otros.

La amplia variedad de acciones biológicas asociadas a los cannabinoides ha abierto la posibilidad de desarrollar compuestos farmacológicamente activos para actuar sobre los receptores del sistema cannabinoide o sobre los mecanismos de regulación de los ligandos endógenos, los cuales pueden ser útiles en el tratamiento de diversas patologías.

De forma resumida, la activación de los receptores cannabinoides, ya sea por ligandos endógenos o exógenos, puede dar lugar a las siguientes respuestas:

- Modificaciones del estado de ánimo, sensación de euforia, sedación y relajación.
- Alteraciones de la percepción temporal (sobreestimación del tiempo transcurrido) y de la memoria reciente.
- Actividad analgésica y antiinflamatoria.

- Actividad orexígena y antiemética.
- Disminución de la motilidad y secreción gastrointestinal.
- Acciones sobre el tono muscular y la coordinación motora (ataxia, debilidad muscular).
- Disminución de la presión intraocular.
- Hipotermia.
- Broncodilatación.
- Efectos cardiovasculares (hipotensión y taquicardia).
- Efectos neuroendocrinos (disminución en la liberación de distintas hormonas sexuales, e incrementos en la liberación de hormonas relacionadas con la respuesta al estrés).
- Efectos inmunomoduladores (inmunoestimulación a dosis bajas e inmunosupresión a dosis altas).
- Efectos antiproliferativos.

1.3.1 – Efectos psicoactivos.

Los derivados de la planta *Cannabis sativa* se han utilizado como droga de uso recreacional durante más de 4000 años, debido a sus efectos agudos sobre la esfera cognitiva y fisiológica. De hecho, la principal dificultad técnica para el uso terapéutico de los cannabinoides es la incapacidad de separar los efectos colaterales psicotrópicos indeseables de los efectos terapéuticos beneficiosos.

Los cannabinoides producen un síndrome característico en los humanos que incluye: pérdida de memoria a corto plazo, desordenes cognitivos, alteraciones en la percepción del tiempo, alteraciones del humor, reducción de la capacidad de centrar la atención y de filtrado de la información irrelevante, descoordinación y somnolencia

(Svizenska y cols., 2008). Estos efectos dependen tanto de la dosis administrada como de la pauta de administración (aguda o crónica).

Después de una dosis media, los efectos centrales son fácilmente cuantificables y medibles durante unas horas, generalmente no más allá de 4-6 horas (Hollister, 1986, 1988). Algunos estudios describen que los efectos cognitivos permanecen más allá de 24 horas, incluso después de una única dosis fumada o ingerida por vía oral (Fehr y Kalant, 1983). Los niveles plasmáticos de Δ^9 -THC y otros cannabinoides correlacionan mal con la intensidad y el tipo de intoxicación (Barnett y cols., 1985; Agurell y cols., 1986; Huestis y cols., 1992). La mayoría de los efectos mentales adversos suelen aparecer tras consumos prolongados, aunque en algunos sujetos sensibles, predispuestos o inexpertos pueden producir, tras su administración aguda, episodios breves de ansiedad, pánico, trastornos disfóricos, depresivos, despersonalización y desrealización, conductas autoagresivas, delirios o alucinaciones (Fehr y Kalant, 1983; Hollister, 1986, 1988; Adams y Martin, 1996).

En los animales de experimentación, los efectos centrales de los cannabinoides se manifiestan en la llamada tetraada cannabinoide: hipotermia, hipoquinesia, analgesia y catalepsia (Compton y cols., 1993; Fox y cols., 2001). Tanto en animales como en humanos, los efectos psicótropos se alcanzan con dosis agudas relativamente altas (Azad y Rammes, 2005). En cambio, dosis mucho más bajas, que se han mostrado eficaces para reducir la alodinia y la hiperalgesia en el dolor neuropático, parecen no ocasionar efectos adversos agudos de importancia en el sistema nervioso central (Costa y cols, 2004; Pascual y cols., 2005; Vera y cols., 2007).

1.3.2 – Efectos sobre el metabolismo energético e ingesta de alimento.

Desde hace siglos se conocen los efectos estimulantes de los cannabinoides sobre el apetito y con ese fin han sido utilizados en distintas épocas y países. Los cannabinoides participan en la regulación del metabolismo energético tanto a nivel central (hipotálamo y sistema límbico) como periférico. Así, a nivel central, los cannabinoides actúan a través de receptores CB1 a nivel del hipotálamo (núcleos paraventricular, ventromedial y lateral) y en otras áreas límbicas (Bisogno y cols., 1999; Halford y cols., 2006). A nivel periférico los cannabinoides regulan el metabolismo lipídico en el tejido adiposo y en hígado también mediante la actuación de receptores CB1 (Matías y cols., 2008), mientras en el páncreas influyen en la regulación de la secreción de insulina a través de CB1 (Matías y cols., 2008) y CB2 (Juan-Pico y cols., 2006). En músculo la activación CB1 disminuye el gasto energético y la captación y oxidación de glucosa (Matías y cols., 2008). Por último, los cannabinoides a través de los receptores CB1 participan en la motilidad y secreción gastrointestinal, modulando además la expresión de otros mediadores como ghrelina (Zbucki y cols., 2008), serotonina o colecistoquinina (CCK).

La obesidad es un creciente problema de salud pública cuyas opciones de tratamiento farmacológico son bastante limitadas. En julio de 2006, las autoridades reguladoras de la unión europea aprobaron el uso de rimonabant (el antagonista selectivo CB1 SR141716A) para el tratamiento de la obesidad. Sin embargo, en junio de 2007 fue retirado por la FDA debido a los problemas psiquiátricos que originaba.

Anorexia y caquexia son dos procesos que acompañan frecuentemente a pacientes con neoplasias avanzadas, infección por VIH, cuadros depresivos, anorexia nerviosa o enfermedad de Alzheimer (Osei-Hyiaman, 2007). En estos casos existen escasas alternativas eficaces, por lo que los agonistas cannabinoides son una opción terapéutica interesante. Varios estudios confirman que pueden ser útiles en pacientes con SIDA (Abrams y cols., 2003), cáncer (Jatoi y cols., 2002) o Alzheimer (Volicer y cols., 1997). Sin embargo, aún se dispone de pocos estudios

clínicos con una metodología adecuada y de datos fiables sobre la seguridad y tolerancia de estos preparados.

Los estudios en animales apoyan un efecto estimulante del apetito de los agonistas cannabinoides y un efecto anorexigénico de los antagonistas CB1. Sin embargo, estos modelos animales han ocasionado algunos resultados discrepantes (Verberne y cols., 1980; Taylor y cols., 1985; Koch, 2001; Järbe y DiPatrizio., 2005), debido principalmente a que cuando se administran dosis elevadas predomina el efecto sedante, así como también a diferencias en el fármaco utilizado y en los protocolos de administración. Además, los niveles de endocannabinoides aumentan o disminuyen con la ingesta o en situaciones de insuficiencia alimentaria (Kirkham y cols., 2002). Los agonistas cannabinoides incrementan, además, la frecuencia de la ingesta y posiblemente el valor hedónico de la comida, reforzando la preferencia por alimentos más apetitosos.

1.3.3 – Efectos sobre la sensación dolorosa.

Uno de los primeros usos de los derivados del cannabis fue como analgésico. Los documentos históricos hablan del uso del cannabis como anestésico quirúrgico en la antigua China y para aliviar dolores de distintos orígenes en Israel, Roma, Grecia e India (Mechoulam y Hanus, 2000).

Se sabe que los cannabinoides tanto naturales como sintéticos, son capaces de producir efectos antinociceptivos en diferentes modelos animales de dolor (Walker y Huang, 2002). Así, los cannabinoides son efectivos en modelos de dolor agudo y en dolores crónicos de naturaleza neuropática e inflamatoria (Guindon y Beaulieu, 2006). En humanos, numerosos casos clínicos han constatado los posibles efectos beneficiosos del cannabis o de derivados del Δ^9 -THC en dolores de diferente etiología (Rudich y cols., 2003; Ware y cols., 2003; Berlach y cols., 2006).

Los receptores cannabinoides se encuentran localizados en estructuras implicadas en la transmisión del estímulo nociceptivo, como en las terminaciones nerviosas, el asta dorsal de la médula espinal, el tálamo o la corteza (Walker y Huang, 2002). Además, las lesiones neuronales periféricas incrementan la expresión

de receptores cannabinoides CB1 en áreas relacionadas con la transmisión dolorosa, como la médula y el tálamo (Siegling y cols., 2001). Este aumento de receptores CB1 se acompaña de un incremento en la expresión de receptores CB2 en microglía en el caso de dolores crónicos asociados a lesiones neurales (Zhang y cols., 2003). Por otro lado, el bloqueo de los receptores CB1 reduce la actividad inhibitoria descendente que modula la transmisión del dolor crónico (Monhemius y cols., 2001).

La transmisión del estímulo doloroso es, además, directamente dependiente de la liberación de distintos mediadores tanto en tejidos periféricos como en el sistema nervioso central. Así, en tejidos periféricos se liberan sustancias proinflamatorias y proalgésicas, mientras en el sistema nervioso central se produce liberación de glutamato en el asta posterior de la médula espinal, junto a otros mediadores como sustancia P, ATP, diferentes interleuquinas o el factor de necrosis tumoral (TNF). Estas últimas sustancias liberadas a nivel central son responsables de la cronificación del dolor y del desarrollo de los dolores neuropáticos. Los receptores cannabinoides no sólo se expresan en neuronas implicadas en la transmisión de los estímulos nociceptivos, sino que también lo hacen en las células gliales (Yiangou, 2006). La activación de estos receptores reduce la actividad de las células gliales, evitando la liberación de los mediadores que contribuyen a la cronificación del dolor.

El sistema endocannabinoide se colocaliza frecuentemente con el más potente y mejor conocido sistema endógeno de control del dolor: el sistema opioide. Ambos coinciden en las estructuras implicadas en la transmisión dolorosa, e incluso el efecto analgésico de los cannabinoides también se relaciona con su capacidad para liberar beta-endorfinas en tejidos periféricos (Ibrahim y cols., 2005). También regula la liberación de otros neurotransmisores implicados en la transmisión del estímulo del dolor como la serotonina y la noradrenalina.

1.3.4. – Efectos sobre el tracto gastrointestinal.

Los derivados del cannabis se han utilizado durante siglos para estimular el apetito, tratar la emesis, normalizar la motilidad gastrointestinal y para el tratamiento de varias patologías gastrointestinales (Duncan y cols., 2005). Sus efectos han sido ampliamente estudiados (Hornby y Prouty, 2004; Darmani, 2006; Massa y Monory, 2006). En principio, la mayoría de estos efectos han sido principalmente atribuidos a la activación de receptores CB1 presentes a nivel entérico, vagal, en el tallo cerebral o en los nervios espinales. Los receptores CB2 también parecen jugar su función, principalmente, en la modulación de la inflamación gastrointestinal (Wright y cols., 2008).

Los cannabinoides podrían ser de utilidad en los siguientes procesos fisiopatológicos:

Emesis. Las náuseas y los vómitos aparecen como síntomas de un gran número de enfermedades y como efecto colateral del tratamiento quimio y radioterápico del cáncer. Es en este último caso, donde los cannabinoides han ganado más aceptación como agentes terapéuticos, sobre todo en casos de resistencias a otros fármacos convencionales (Aapro y cols., 2005). El proceso de emesis implica la activación de receptores específicos periféricos y centrales. La activación de los receptores 5-HT3 juega un papel fundamental en la emesis aguda, mientras la activación de receptores NK1 lo hace en la emesis aguda y retrasada (Jordan y cols., 2007).

Gastritis y úlceras. Un exceso en la producción de ácidos gástricos puede conducir a gastritis y ulceraciones del estómago y el duodeno. La acción inhibitoria de los cannabinoides sobre la secreción gástrica se conoce desde hace tiempo, pero su posible aplicación terapéutica es aún bastante especulativa. Los receptores CB1 juegan un papel importante en la reducción de la secreción gástrica estimulada (Adami y cols., 2002). Además, en rata, los agonistas CB1 mostraron actividad antiulcerosa (Germanò y cols., 2001). Recientemente, además, se ha descrito la

presencia de receptores CB1 en las células parietales de mucosa gástrica humana, encargadas de la producción de ácidos gástricos (Pazos y cols., 2008).

Junto a las enfermedades ulcerativas, el ácido gástrico se encuentra también involucrado en la enfermedad por reflujo gastroesofágico. Se cree que las relajaciones patológicas transitorias del esfínter esofágico inferior subyacen en la mayor parte de los casos de esta enfermedad (Holloway, 2001). Los agonistas cannabinoides Δ^9 -THC y WIN 55,212-2 redujeron estas relajaciones transitorias en hurones y perros a través de la activación de receptores CB1 (Lehmann y cols., 2002; Partosoedarso y cols., 2003).

Enfermedades relacionadas con la motilidad. Los cannabinoides modulan la actividad motora a lo largo de todo el tracto gastrointestinal. Por lo tanto, y aunque de momento no hay estudios clínicos disponibles, el uso de agonistas o antagonistas cannabinoides podría ser de utilidad en el tratamiento de ciertos estados caracterizados por alteraciones en la motilidad gastrointestinal.

Los cannabinoides reducen la motilidad gastrointestinal tanto *in vivo* como *in vitro*, lo que ha sido atribuido principalmente a las acciones mediadas por CB1 en las terminales nerviosas presinápticas de las neuronas motoras mientéricas que inervan el músculo y conducen a reducir la transmisión de acetilcolina (Pertwee, 2001; Duncan y cols., 2005; Izzo y cols., 2005). Por el contrario, ha sido difícil encontrar un papel funcional de los receptores CB2 en animales normales (Wright y cols., 2008). Se ha descrito expresión de receptores CB2 en el sistema nervioso entérico de roedores (Duncan y cols., 2008) y en neuronas entéricas de íleon humano (Wright y cols., 2008). En la rata, se ha aislado ARNm de receptores CB2 en preparaciones de pared del estómago y en preparaciones de íleon que sólo contenían músculo longitudinal con el plexo mientérico adyacente (Storr y cols., 2002). A pesar de estas evidencias, la mayoría de estudios no describen acciones mediadas por la activación de receptores CB2 en situaciones fisiológicas (Griffin y cols., 1997; Izzo y cols., 1999). Así, se sugiere que los receptores CB2 actuarían sólo en ciertas regiones, como el estómago (Storr y cols., 2002) o bajo ciertos estados patológicos (Duncan y cols., 2008; Wright y cols., 2008).

La inhibición de la motilidad gastrointestinal causada por los cannabinoides, es un efecto generalizado a lo largo de todo el sistema digestivo, manifestándose *in vivo* como la reducción del vaciamiento gástrico, del tránsito intestinal y de la propulsión colónica (Landi y cols., 2002; Pinto y cols., 2002). Es más, la activación de receptores CB1 del tracto digestivo podría estar implicada en la aparición de íleo paralítico postquirúrgico (Mascolo y cols., 2002). Este efecto de los cannabinoides parece ser, fundamentalmente, periférico (Landi y cols., 2002) y se debe a la inhibición presináptica mediada por receptores CB1, de la liberación de neurotransmisores, tanto en la sinapsis neuromuscular (Pertwee, 2001), como en la sinapsis neuroneuronal en el plexo mientérico (López-Redondo y cols., 1997; Izzo y Coutts, 2005).

Diarrea y síndrome del colon irritable. Aparte de los efectos sobre la motilidad, los cannabinoides reducen la secreción intestinal y aumentan la reabsorción de electrolitos y agua. Estos efectos son mediados por receptores CB1 en neuronas periféricas (Massa y cols., 2005). Los cannabinoides podrían ser de utilidad en el síndrome del colon irritable, al menos en lo que concierne a los síntomas relacionados con la motilidad (Russo, 2004). Hasta el momento no hay estudios clínicos que apoyen esta hipótesis.

Sensibilidad y dolor visceral. Actualmente, se dispone de importantes evidencias de la actividad analgésica de los cannabinoides, sobre todo para dolores somáticos (Pacher y cols., 2006). Sin embargo, el papel de los cannabinoides en el control de la nocicepción visceral es menos conocido. Tanto los receptores CB1 como los CB2 inhiben la sensibilidad a la distensión colorrectal (inductor experimental de dolor visceral) en ratas (Sanson y cols., 2006). Sin embargo, esto contrasta con el incremento en la sensibilidad a la distensión observada en humanos expuestos a dosis relativamente bajas del agonista cannabinoide no selectivo dronabinol (Esfandyari y cols., 2007).

En el intestino inflamado, la activación tanto de receptores CB1 como CB2 reduce la hiperalgesia a dosis más bajas que las activas en el intestino normal

(Sanson y cols., 2006). Además, la activación de receptores CB2 reduce la respuesta visceral debida al compuesto algésico bradiquinina (Hillsley y cols., 2007). Esto es particularmente importante, dado que la activación periférica de fibras aferentes primarias por compuestos algésicos liberados en el intestino es, frecuentemente, la causa de dolor visceral (Blackshaw y cols., 2007).

En cuanto al papel del sistema endocannabinoide, el antagonista CB1 rimonabant, pero no el antagonista CB2 SR144528, aumentó la hiperalgesia asociada a la colitis (Sanson y cols., 2006). Ninguno de los antagonistas tuvo efecto en animales control. Así pues, estos datos sugieren la participación del sistema endocannabinoide en la hiperalgesia inflamatoria, a través de receptores CB1.

Enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa).

En esta enfermedad se produce un desajuste en el sistema inmune gastrointestinal que responde de manera inapropiada a las bacterias comensales del tracto gastrointestinal y/o a otros antígenos lumbinales. El sistema endocannabinoide está fisiológicamente implicado en la protección contra la inflamación excesiva del colon ya que atenúa la irritación muscular, causada por la inflamación, y controla las rutas celulares que conducen a la respuesta inflamatoria (Massa y cols., 2004; D'Argenio y cols., 2006). Todo esto sugiere que la modulación de la actividad fisiológica del sistema endocannabinoide durante la inflamación intestinal podría ser una prometedora herramienta terapéutica para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal.

Se ha observado un incremento de la actividad del receptor CB1 en la inflamación producida por el aceite de crotona en ratones (Izzo y cols., 2001). Experimentos con ratones *knock-out* CB1 también han mostrado la importancia de este receptor en modelos de inflamación por dextran-sulfato de sodio y por ácido sulfónico trinitrobenceno (TNBS) (Massa y cols., 2004).

El papel de los receptores CB2 en esta patología no ha sido completamente estudiado. Se sabe que la activación de receptores CB2 conduce a la reducción de citoquinas proinflamatorias (Klein, 2005; Lunn y cols., 2006) y que hay un incremento

de la expresión de los receptores CB2 en el epitelio intestinal y en las células inmunes intestinales (Wright y cols., 2005).

1.4- EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE CANNABINOIDES.

Muchas de las patologías para las que se propone el uso de cannabinoides requieren repetidas administraciones de estos fármacos (Kogan y Mechoulam, 2007). Sus potenciales efectos beneficiosos podrían verse contrarrestados por el desarrollo de efectos adversos (Wang y cols., 2008). Dado que los cannabinoides son compuestos muy liposolubles que se acumulan en el organismo (Huestis y cols., 2005), dosis bajas de cannabinoides, sin efectos adversos al inicio del tratamiento, podrían producirlos más adelante.

A – Efectos centrales. La mayoría de los efectos centrales adversos aparecen tras consumos prolongados de cannabis. De esta forma, el uso crónico se ha asociado con un estado caracterizado por apatía y pérdida de motivación, con deterioro en los rendimientos académicos y cambios en la conducta (llamado síndrome amotivacional) (Pope y cols., 1995). En consumidores de cannabis desde hace varios años y con consumos de 2-3 veces al día se ha observado un deterioro en las capacidades cognitivas, por ejemplo en la memoria (Solowij, 2003), aunque no se sabe si este deterioro es reversible tras el abandono del consumo de cannabis. Ensayos clínicos con escaso número de sujetos han encontrado que sí recuperan el nivel de funcionamiento cognitivo tras la abstinencia, con reaparición de los efectos tras la vuelta al consumo, aunque parece que persiste un deterioro sutil en determinadas capacidades cognitivas no reversibles tras periodos prolongados de abstinencia (Núñez Domínguez, 2001). En animales de experimentación, la administración crónica de dosis psicoactivas o no de cannabinoides produce déficits de memoria y aprendizaje que persisten durante un tiempo tras la suspensión del tratamiento (Lichtman y Martin, 1996; Mallet y cols., 1998).

El consumo crónico de cannabis se ha asociado a un aumento de la incidencia de ciertas enfermedades mentales como depresión, ansiedad y esquizofrenia. En el caso de la esquizofrenia, el que dé lugar o no a trastornos psicóticos parece deberse a que el Δ^9 -THC no actúa de la misma forma en todos los consumidores. La actuación de este compuesto sobre las personas afectadas se produciría sobre un sistema cannabinoide con una funcionalidad anómala. Esta alteración puede deberse a algún fallo intrínseco al mecanismo de actuación del sistema cannabinoide, pero también puede ser el resultado de la actividad anómala de otros sistemas de neurotransmisión, como el dopaminérgico, el glutamatérgico o el GABAérgico (Ramos y cols., 2008).

En cuanto a la depresión, el consumo prolongado de cannabis se ha asociado en numerosas ocasiones a la aparición de cuadros depresivos (Degenhardt y cols., 2003). Por otro lado, se ha descrito que un porcentaje de pacientes que tomaron de manera crónica rimonabant para el tratamiento de la obesidad presentaron ansiedad y depresión como efectos adversos (Scheen y cols., 2006). Incluso, se ha postulado que el tratamiento crónico con rimonabant podría incrementar el riesgo de suicidio en determinados pacientes (Christensen y cols., 2007).

Estos descubrimientos se apoyan, además, en estudios con animales de experimentación. El tratamiento crónico con los agonistas cannabinoideos WIN 55,212-2 o CP 55,940 en ratas púberes produjo alteraciones duraderas en la edad adulta, tales como déficits de atención, deterioro de la memoria y del comportamiento social (Schneider y cols., 2008). Estas alteraciones comportamentales se correlacionan con adaptaciones celulares duraderas (Wegener y Koch, 2009). En cambio, cuando el tratamiento cannabinoide se llevó a cabo antes o después de éste periodo, las ratas no sufrieron estas alteraciones o, al menos, éstas fueron marginales (Schneider y Koch, 2003, 2005; O'Shea y cols., 2004, 2006). En la pubertad, el desarrollo del sistema endocannabinoide es máximo (Rodríguez de Fonseca y cols., 1993) y, además, ocurren numerosas alteraciones relacionadas con el desarrollo neural (Shneider, 2008).

B – Efectos periféricos. Los efectos periféricos de los cannabinoides durante tratamientos crónicos son relativamente poco conocidos y se desconoce si el uso continuado de estos fármacos ocasiona o no tolerancia a esos efectos. El estudio de efectos asociados a la administración crónica de cannabinoides en ausencia y presencia de patología es esencial para racionalizar el uso de estos fármacos. De todos los efectos periféricos ocasionados por los cannabinoides, en este trabajo nos vamos a centrar en los que ocurren a nivel gastrointestinal.

Una de las aplicaciones terapéuticas de los cannabinoides más utilizadas es como antiemético. Paradójicamente, se ha descrito recientemente la hiperémesis cannabinoide, consistente en episodios recurrentes de náuseas y vómitos relacionados con el consumo crónico de cannabis (Allen y cols., 2004). Aunque los casos clínicos de este síndrome todavía son escasos (Byrne, 2006), las diversas publicaciones que hacen referencia a estos casos aparecidas en estos años indican que no se trata de un fenómeno aislado (Allen y cols., 2004; Roche y Foster 2005; Boecktaens, 2005; Alfonso Moreno y cols., 2006; Chepyala y Olden, 2008; Chang y Windish, 2009; Sontineni y cols., 2009). En agudo, sólo se ha descrito un fenómeno similar tras la administración intravenosa de un extracto de marihuana en humanos (Vaziri y cols., 1981) y en hurones tras la administración de 2-AG (Darmani, 2002). Los mecanismos propuestos para explicar esta hiperémesis incluyen la elevada vida media de los cannabinoides, la solubilidad de los lípidos, el retraso en el vaciamiento gástrico y desequilibrios autonómicos y termorregulatorios a través del sistema límbico (Allen y cols., 2004). Teóricamente, en este caso los efectos periféricos de los cannabinoides (retraso en el vaciamiento gástrico, disminución de la peristalsis intestinal) podrían invalidar los efectos centrales antieméticos, dando lugar a esta hiperémesis (Chang y Windish, 2009).

Como hemos dicho los agonistas cannabinoides se proponen para el tratamiento y prevención de la anorexia y caquexia asociada a dolencias como cáncer, SIDA o enfermedad de Alzheimer. Sin embargo su potencial efecto terapéutico podría verse afectado al utilizarse de manera crónica. De hecho, en animales de experimentación, se ha descrito que la utilización crónica de altas dosis de cannabinoides produce una reducción en la ingesta diaria de alimento y en la ganancia de peso (Giuliani y cols., 2000; Aceto y cols., 2001; Dalton y cols., 2009).

1.4.1 – Tolerancia cannabinoide.

Se acepta que la mayoría de los efectos de los cannabinoides, centrales y periféricos, desarrollan tolerancia cuando la administración de estos compuestos se prolonga durante varios días en animales de laboratorio (Dewey, 1986; Abood y Martin, 1992; Maldonado y Rodríguez de Fonseca, 2002) y humanos (Hollister, 1986; Hart y cols., 2002). El desarrollo de la tolerancia cannabinoide a los efectos centrales es particularmente rápido, observándose ya un marcado descenso en la respuesta aguda a los cannabinoides tras su segunda administración (Abood y Martin, 1992; Hutcheson y cols., 1998). Además, la tolerancia alcanza su máximo poco después del inicio del tratamiento crónico (Bass and Martin, 2000).

Las propiedades farmacocinéticas de los cannabinoides influyen en el grado de tolerancia, aunque su impacto parece ser menor que el de las propiedades farmacodinámicas. La tolerancia farmacológica a los cannabinoides está principalmente asociada a los cambios en la disponibilidad de receptores cannabinoides. Esta menor disponibilidad se debe a la internalización y reducción de su expresión, así como a una desensibilización de estos receptores (Oviedo y cols., 1993; Rodríguez de Fonseca y cols., 1994; Sim y cols., 1996; Zhuang y cols., 1998; Romero y cols., 1999; Di Marzo y cols., 2000a; Rubino y cols., 2000a, b; González y cols., 2005). Además, recientemente se ha descrito un cambio en el acoplamiento a las proteínas G (Paquette y cols., 2007).

El grado y el desarrollo temporal de la tolerancia depende de varios factores como la especie utilizada, el tipo de cannabinoide, la dosis utilizada, la duración del tratamiento y el sistema analizado (Gonzalez y cols., 2005). La tolerancia a ciertos efectos farmacológicos, como analgesia, inhibición motora e hipotermia, aparece típicamente en un intervalo de 3 a 7 días (Pertwee, 1991, 1993; Abood y cols., 1993; Oviedo y cols., 1993; Fan y cols., 1994; Rubino y cols., 1997; Bass y Martin, 2000). En cambio, otras propiedades farmacológicas como los efectos sobre la memoria (Deadwyler y cols., 1995) o ciertas acciones neuroendocrinas (De Miguel y cols., 1998; González y cols., 1999) son enormemente resistentes a la aparición de tolerancia, necesitando semanas o meses para desarrollarse.

La tolerancia a los efectos periféricos de los cannabinoides es menos conocida. De hecho, en el tracto gastrointestinal sólo un estudio se ha dirigido específicamente a estudiar el desarrollo de tolerancia al efecto depresor de la motilidad gastrointestinal *in vivo* (Anderson y cols., 1975). En este estudio, se utilizaron ratones a los que se les administró 10 mg/kg/día de Δ^9 -THC de manera oral durante 2-4 días. Estos animales desarrollaron tolerancia al efecto inhibitorio de los cannabinoides sobre el tránsito gastrointestinal de una suspensión de carbón vegetal. Diecinueve días después de la finalización del tratamiento, aún se detectaba cierta tolerancia tras una nueva inyección de Δ^9 -THC.

1.4.2 – Dependencia.

La tolerancia y la dependencia a menudo se desarrollan de manera paralela y, en algunos casos, la severidad de la dependencia física se relaciona directamente con la magnitud de la tolerancia. Así pues, asumiendo que la utilización continuada de cannabinoides conduce a cambios adaptativos en la señalización endocannabinoide, se puede aceptar también que estos cambios contribuyen al desarrollo de dependencia física del cannabis (Piomelli y cols., 2004). Sin embargo, mientras disponemos de un gran número de estudios que explican los mecanismos moleculares que subyacen tras el fenómeno de tolerancia, existen menos datos en la respuesta a estos cambios adaptativos cuando la administración de cannabinoides se interrumpe de manera abrupta tras un prolongado periodo de administración diaria (Litchman y Martin, 2002; Maldonado, 2002; Gonzalez y cols., 2005).

Los estudios referentes a la dependencia física que ocasiona el consumo crónico de cannabis en humanos, describen un síndrome de abstinencia de leve a moderado cuyos síntomas más destacados son: irritabilidad, anorexia, ansiedad, aumento de la vigilia (Haney y cols., 1999; Kouri y cols., 2000). En cambio, en animales de experimentación no está claro si tras la suspensión brusca de un tratamiento crónico con cannabinoides se desencadena un síndrome de abstinencia (Diana y cols, 1998; Aceto y cols, 2001). Sí se ha observado en diferentes estudios, la aparición de síndrome de abstinencia tras la administración aguda de un

antagonista cannabinoide como el rimonabant en animales a los que previamente se les había administrado crónicamente altas dosis de cannabinoides. Los signos físicos que manifiestan son sacudida de tronco y cabeza, temblor de las patas, ataxia, piloerección, etc (Ledent y cols., 1999; Tzavara y cols., 2000; Aceto y cols., 2001). Parece ser, a la vista de los resultados obtenidos, que los receptores cannabinoides CB1 son los responsables de las manifestaciones somáticas de la abstinencia cannabinoide.

2 – UTILIDAD DE LOS CANNABINOIDES PARA EL TRATAMIENTO DE LOS EFECTOS ADVERSOS DE LA TERAPIA ANTITUMORAL.

El tratamiento quimioterápico ha conseguido prolongar la esperanza de vida de los pacientes con cáncer. Sin embargo, la utilización de estos fármacos conlleva el desarrollo de numerosos efectos adversos que muchos pacientes encuentran intolerables, como náuseas y/o emesis, anorexia y neuropatía periférica (Van Cutsem y Arends, 2005; Navari, 2007; Schwartzberg, 2007). Estos efectos tienen un gran impacto en la calidad de vida del paciente, pudiendo llegar a ser incapacitantes, y dificultando la continuidad del tratamiento. También limitan la dosis a utilizar, lo que reduce la eficacia de estos tratamientos.

Entre las aplicaciones de los cannabinoides, tradicionalmente se han utilizado para el tratamiento y prevención de los síntomas producidos por la administración de antitumorales. Sin embargo, ha sido recientemente cuando se han encontrado evidencias científicas de su utilidad. Como se ha descrito anteriormente, los cannabinoides pueden ser de utilidad para el tratamiento de numerosas patologías. Muchas de estas patologías se asocian de hecho a la administración de antitumorales. Así, los cannabinoides podrían ser de utilidad para tratar la neuropatía periférica y las alteraciones a nivel gastrointestinal, así como para evitar la anorexia y caquexia de los pacientes.

2.1 – CISPLATINO.

De entre los fármacos antitumorales, destaca el cisplatino. Se trata de un compuesto utilizado, solo o en combinación con otros antineoplásicos, en el tratamiento de los cánceres de ovario y testículo, principalmente, y también en cánceres de pulmón, vejiga y colon, entre otros. Sus propiedades antiproliferativas fueron observadas por primera vez en 1965 por Barnett Rosenberg en la Universidad de Michigan (Rosenberg y cols., 1965) y fue aprobado para el tratamiento quimioterápico en 1978 por la FDA. Se trata de un fármaco nefrotóxico, neurotóxico y altamente emetógeno. La nefrotoxicidad se contrarresta con relativa facilidad mediante el mantenimiento de una elevada hidratación y la utilización de

diuréticos como manitol, furosemida y otros (Ali y Moundhri, 2006). El control de la neurotoxicidad y la inducción de náuseas y vómitos, en cambio, es más complicado.

2.2 - CISPLATINO Y NEUROPATÍA PERIFÉRICA.

Los agentes quimioterápicos pueden producir daños estructurales en lo nervios periféricos dando lugar a un procesamiento somatosensorial anormal. El cisplatino actúa sobre las neuronas de los ganglios de las raíces dorsales provocando su apoptosis (McDonald y cols., 2005) y da lugar a una polineuropatía sensorial motora que tiene como resultado signos y síntomas sensoriales (parestesia, disestesia, hipoestesia, hiperestesia, pérdida de propiocepción, dolor y pérdida de discriminación del tacto y la temperatura, arreflexia) y motores (debilidad). Esta neurotoxicidad es dosis-dependiente y aparece en pacientes que reciben más de 300 mg/m² (Chaudhry y cols., 2003; Markman, 2006). El deterioro producido por la neuropatía puede prolongarse más de 3 o 4 meses tras el cese de la terapia, con una recuperación gradual y, a menudo, incompleta, pudiendo persistir durante años (Hovestadt y cols., 1992). Además, se suelen utilizar dosis altas y poco espaciadas, lo que incrementa el riesgo de aparición de síntomas neurológicos.

Actualmente no hay un tratamiento efectivo del dolor neuropático, debido a su etiología compleja y a la falta de efectividad de los opioides, que son los analgésicos más potentes utilizados en clínica. La neuropatía causada por cisplatino se intenta subsanar limitando la dosis total del fármaco, reducir dosis individuales o interrumpir el tratamiento para moderar los síntomas (Ocean y Vahdat, 2004). Para mitigar o prevenir la neuropatía inducida por quimioterápicos, se han empleado fármacos como la vitamina E (Argyriou y cols., 2005; Pathak y cols., 2005), infusiones de calcio y magnesio (Gamelin y cols., 2004), antidepresivos tricíclicos como la nortriptilina (Hammack y cols., 2002), anticonvulsivantes como la carbamazepina (Argyriou y cols., 2005), acetil-L- carnitina (Bianchi y cols., 2005; Maestri y cols., 2005); glutamina (Stubblefield et y cols., 2005; Wang y cols., 2007), glutatión (Ocean y Vahdat, 2004), xaliprodeno (Wolf y cols., 2008) entre otros. Pero, al igual que sucede con otros tipos de dolor neuropático, estos tratamientos no siempre

consiguen resultados satisfactorios (Umapathi y Chaudhry, 2005; Albers y cols., 2007).

2.2.1 - Cannabinoides y dolor neuropático producido por antitumorales.

El dolor con componente neuropático es el más rebelde a los tratamientos tradicionales y es en su tratamiento donde los cannabinoides pueden jugar un papel más importante. Debido a su etiología compleja y a la ineffectividad de los opioides, los analgésicos más potentes usados en clínica, actualmente no hay un tratamiento efectivo para este tipo de dolor. La baja efectividad de los opioides en el tratamiento del dolor neuropático puede ser debida, al menos en parte, a la reducción del número de receptores opioides en el asta dorsal de la médula tras una lesión nerviosa crónica (Hohmann y Herkenham, 1999). Sin embargo, la lesión de un nervio periférico no está asociada con tal depleción de receptores CB₁ (Farquhar-Smith y cols., 2000; Siegling y cols., 2001), si no que, tras este tipo de lesiones, existe una regulación al alza de receptores CB₁ en el tálamo (Siegling y cols., 2001) y en la médula espinal (Lim y cols., 2003). Lo que sugiere que los cannabinoides podrían ser útiles para el tratamiento de esta patología.

Muchas evidencias sugieren que los cannabinoides son analgésicos, particularmente en condiciones de dolor crónico (Pertwee, 2000). Diversos estudios muestran que agonistas cannabinoides sintéticos y endógenos atenúan la hiperalgesia térmica y la alodinia mecánica en modelos de dolor crónico en ratas (Herzberg y cols., 1997; Fox y cols., 2001; Scott y cols., 2004). Cabe destacar que los efectos antihiperalgésicos y antialodínicos de estos compuestos se obtienen a dosis subanalgésicas en animales control, indicando que el sistema endocannabinoide se sensibiliza en condiciones de dolor crónico (Siegling y cols., 2001). Se sugiere que los posibles mecanismos para tal incremento de sensibilidad incluyen un aumento de la expresión de receptores CB₁ y/o CB₂, cambios en la función de dichos receptores y/o en su acoplamiento a proteínas G, alteración de la síntesis/liberación de endocannabinoides y/o sinergismo con otros ligandos endógenos que son activos sólo durante condiciones de dolor crónico (Piomelli y cols., 2000; Siegling y cols., 2001).

En animales de experimentación, los cannabinoides han demostrado su capacidad analgésica en el modelo de dolor neuropático causado por antineoplásicos como paclitaxel (Pascual y cols., 2005), cisplatino (Martín y cols., 2007) y vincristina (Rahn y cols., 2007). También han demostrado propiedades neuroprotectoras en diferentes modelos animales de isquemia, hipoxia, epilepsia, esclerosis múltiple y de las enfermedades de Parkinson y Huntington, entre otras (Van der Stelt y Di Marzo, 2005), y el tratamiento diario con el agonista cannabinoide sintético WIN 55,212-2 o el inhibidor de la recaptación de anandamida AM 404 previno el comportamiento nociceptivo en el modelo clásico de dolor neuropático de ligadura del nervio ciático (Costa y cols., 2004, 2006; La Rana y cols., 2006; Palazzo y cols., 2006). Además, en nuestro laboratorio, la administración semanal de WIN 55,212-2, en un modelo de cisplatino crónico en rata, fue capaz de prevenir el desarrollo de neuropatía periférica (Vera y cols., 2007).

2.3 – ANOREXIA Y CAQUEXIA PRODUCIDAS POR CISPLATINO.

El uso de quimioterápicos también está asociado a una reducción del peso corporal debido a fenómenos de anorexia y caquexia tanto en humanos (Van Cutsem y Arends, 2005) como en animales de experimentación (Authier y cols., 2003a,b). La anorexia se define como la pérdida del deseo de comer o la falta de apetito y acompaña con frecuencia a múltiples enfermedades agudas y crónicas. La caquexia es un síndrome complejo caracterizado por anorexia, pérdida involuntaria de peso, disminución de la masa muscular y del tejido adiposo, hiperlipemia y otras alteraciones metabólicas causadas por cambios en las hormonas reguladoras y las citoquinas, que aparece habitualmente en estadios avanzados de enfermedades crónicas graves. Estos dos procesos, anorexia y caquexia, acompañan frecuentemente a pacientes con neoplasias avanzadas, así como con otras enfermedades como la infección por VIH, cuadros depresivos severos, anorexia nerviosa o enfermedad de Alzheimer (Osei-Hyiaman, 2007).

En la anorexia y caquexia asociadas al tratamiento con antitumorales existen escasas alternativas terapéuticas eficaces, por lo que los agonistas cannabinoides son una opción interesante, ya que pueden mejorar el apetito y corregir las

alteraciones metabólicas secundarias a la caquexia presente en los cuadros avanzados, donde aparece hiperlipidemia o resistencia insulínica.

2.3.1 - Cannabinoides en la anorexia y caquexia producidas por antitumorales.

Los estudios con agonistas cannabinoides sugieren un efecto orexigénico de los agonistas cannabinoides. Así, se observa un aumento del peso y el tejido graso en pacientes con SIDA (Abrams y cols., 2003), enfermedad de Alzheimer (Volicer y cols., 1997) o cáncer (Jatoi y cols., 2002). Sin embargo, disponemos aún de escasos ensayos clínicos con metodología adecuada para establecer conclusiones sobre su eficacia. Tampoco se disponen de datos fiables acerca de la seguridad y tolerancia de los preparados o cuáles pueden ser los más idóneos para su uso clínico. Son necesarios más ensayos clínicos metodológicamente adecuados para poder valorar la posible utilidad clínica de los agonistas cannabinoides como estimulantes del apetito y en el tratamiento de los cuadros caquéticos de pacientes graves, valorar dosis adecuadas de estos, obtener el perfil de tolerancia y los preparados idóneos. Se deberían controlar estrictamente, además de la ingesta calórica y la actividad física, los cambios en la composición corporal para determinar el compartimento corporal que experimenta un mayor incremento.

2.4 – NÁUSEAS Y VÓMITOS PRODUCIDOS POR ANTITUMORALES.

Las náuseas y los vómitos se encuentran entre los efectos adversos más frecuentes asociados al tratamiento quimioterápico. Así, en ausencia de terapia preventiva, el 70-80% de los pacientes en tratamiento con antitumorales los experimentan (Malik y cols., 1995). Además, se trata de uno de los efectos adversos más temidos por los pacientes (Ware MA y cols., 2008). Estos efectos pueden derivar en desajustes metabólicos, deficiencias nutricionales, anorexia y deterioro del estado físico y mental del paciente (Passik y cols., 2001; Wiser y Berger, 2005). El cisplatino es el fármaco antitumoral más emetógeno actualmente en uso (Jordan y cols., 2005) y se emplea frecuentemente como referencia para el estudio de

antieméticos en experimentación animal (Andrews y Horn, 2006). Causa graves efectos adversos a nivel gastrointestinal como son la náusea y los vómitos, las molestias abdominales, anorexia y diarrea.

Las náuseas y vómitos producidos por antitumorales se pueden dividir en tres categorías: agudas, retrasadas y anticipadas. Los episodios agudos son los que ocurren en las 24 horas que siguen a la administración del fármaco quimioterápico y se deben, principalmente, a la liberación de serotonina (5-HT) por las células enterocromafines. Las náuseas y vómitos retrasados son los que tienen lugar a partir de las 24 horas de la administración del antitumoral y duran varios días. En su etiología intervienen distintos mecanismos como los mediados por la sustancia P, trastornos de la motilidad gastrointestinal u hormonas adrenales. Por último, los anticipatorios se producen en pacientes que han recibido previamente, al menos, un ciclo de quimioterapia e intervienen mecanismos de condicionamiento clásico (Aapro y cols., 2005; Jordan y cols., 2005).

La serotonina (5-HT) es el neurotransmisor más importante implicado en la producción de náuseas y vómitos. La exposición a radiaciones o fármacos citotóxicos provoca la liberación de esta sustancia por parte de las células enterocromafines de la mucosa intestinal, la cual se une a los receptores 5-HT₃ localizados en las aferencias vagales (Morrow., 1998) y dispara el reflejo emético vía área postrema y núcleo del tracto solitario (Leslie, 1986). La introducción de los antagonistas del receptor 5-HT₃ ha tenido un drástico efecto en la prevención de las náuseas y vómitos por antitumorales (Abrahm, 2005). Actualmente, se dispone de cinco antagonistas de estos receptores, tanto en Europa como en Estados Unidos: ondansetrón, granisetrón, tropisetrón, dolasetrón y palonosetrón. Sin embargo, mientras estos fármacos son efectivos para controlar las náuseas y vómitos agudos, no son tan efectivos en el caso de las náuseas retrasadas (Kris y cols., 2006). Además, su eficacia en tratamiento crónico es más reducida (Warr, 2008) y, desafortunadamente, el uso de los fármacos antieméticos (ondansetrón y otros) a menudo provoca la aparición de resistencia a dichos fármacos (De Wit y cols., 2004)

Los estudios sobre emesis en animales de experimentación tienen el problema de que los roedores, que son los animales más usados y accesibles en

investigación básica, carecen del reflejo de vómito. Por lo tanto, se hace necesario el empleo de marcadores indirectos de náusea y/o emesis. Entre estos marcadores, se encuentra la pica, que consiste en la ingesta de sustancias no nutritivas en respuesta a un tratamiento tóxico. Se trata de un fenómeno común en animales que también se observa en humanos (Reid, 1992; Kushner y cols., 2004). Así, la administración de sustancias tóxicas en las ratas da lugar a la ingesta de caolín (una arcilla no nutritiva) que normalmente no consumen (Mitchell y cols., 1976; Takeda y cols., 1993; Saeki y cols., 2001; Yamamoto y cols., 2002a). Este fenómeno podría representar una respuesta adaptativa con el fin de adsorber o diluir toxinas dentro del tracto gastrointestinal, reduciendo sus efectos adversos en el organismo. También podría estar relacionado con deficiencias nutricionales, ya que las deficiencias minerales en humanos y otros animales pueden promover la ingesta de arcillas y otros materiales ricos en minerales (Andrews y Horn, 2006).

La relación entre el fenómeno de la pica en ratas y el de las náuseas y vómitos en humanos se basa en varios hechos. Así, los agentes que causan náuseas y vómitos en humanos, también provocan pica en ratas. Entre estos agentes se incluyen la radiación (Yamamoto y cols., 2002b), el movimiento (Uno y cols., 2000), sulfato de cobre (Yamamoto y cols., 2004), apomorfina (Takeda y cols., 1993), opioides (Aung y cols., 2004) y el fármaco antitumoral cisplatino (Takeda y cols., 1993). Además, ambos fenómenos comparten mecanismos fisiológicos como son la liberación de serotonina por las células enterocromafines (Endo y cols., 2002) y la activación de neuronas en el área postrema o el núcleo del tracto solitario (Yamada y cols., 2000). El vaciamiento gástrico también se encuentra retrasado en animales con pica (Ozaki y Sukamoto, 1999), y el desarrollo temporal de ambos fenómenos es paralelo (Cabezos y cols., 2008).

Asimismo, los fármacos que inhiben pica en ratas pueden tener potencial como antinauseosos y antieméticos. De hecho, se ha comprobado que los fármacos antieméticos, como ondansetrón, dexametasona y los antagonistas NK1, reducen la pica en ratas (Takeda y cols., 1993; Saeki y cols., 2001). Por último, como ocurre con las náuseas y los vómitos producidos por antitumorales, en la pica se pueden distinguir dos fases: aguda si ocurre en las 24 horas que siguen al estímulo, y retrasada cuando lo hace a partir de, al menos, 24 horas después del inicio de la terapia quimioterápica (Liu y cols., 2005; Vera y cols., 2006; Cabezos y cols., 2008).

Las alteraciones en el vaciamiento gástrico, además se correlacionan estrechamente con la aparición de náusea asociada a eventos tales como la cirugía, el embarazo o la quimioterapia (Riezzo y cols, 1992; Resnick y cols, 1997a,b; DiBaise y cols, 2001). Estas alteraciones en la motilidad gástrica aparecen también en animales de laboratorio, tras la administración de cisplatino y otros fármacos antineoplásicos (Bradner y Schurig, 1981; Jarve y Aggarwal, 1997; Liu y cols., 2005), y se usan como un marcador indirecto de náusea en ratas (Sharma y Gupta, 1998; Badary y cols, 2006; Cabezos y cols, 2008). Se sabe que el cisplatino produce retraso en el vaciamiento gástrico tras una única dosis en las 24-72 h siguientes a la administración (Ozaki y Sukamoto, 1999; Badary y cols., 2006; Malik y cols., 2007; Cabezos y cols., 2008), pero no se conocen bien los efectos a largo plazo que pueda ocasionar su administración crónica.

2.4.1 - Cannabinoides y efectos a nivel gastrointestinal producidos por antitumorales.

El constituyente principal del cannabis, el Δ^9 -THC y varios agonistas sintéticos CB1/CB2 (CP 55,940 y WIN 55,212-2) han resultado eficaces como antieméticos, e incluso son capaces de prevenir la emesis inducida por cisplatino en diferentes modelos animales (Darmani, 2001a,b,c; Van Sickle y cols., 2003). De hecho, dos análogos estructurales del Δ^9 -THC (dronabinol y nabilona), y el levonantradol se utilizan como antieméticos para el tratamiento de las náuseas y vómitos producidos por citostáticos que no responden al tratamiento habitual.

La colocalización de receptores CB1 y 5-HT3 en neuronas GABAérgicas sugiere una interacción de estos receptores (Morales y cols., 2004). Además, los cannabinoides pueden inhibir directamente las corrientes de iones activadas por 5-HT3 mediante un mecanismo que no involucra la participación de receptores cannabinoides (Barann y cols., 2002; Rácz y cols., 2008). De todas formas, la participación de receptores CB1 está claramente establecida por la habilidad del antagonista/ agonista inverso CB1 SR141716 para bloquear el efecto antiemético del Δ^9 -THC y otros agonistas sintéticos (Darmani., 2001c). Además, el rimonabant produce emesis *per se*, tanto en humanos (Pertwee y cols., 2009), como en

animales de experimentación (Darmani, 2001c). Estos descubrimientos sugieren que el circuito de emesis está controlado tónicamente por el sistema endocannabinoide.

A pesar de todas las evidencias que relacionan a los receptores CB1 con los mecanismos antieméticos de los cannabinoides, queda la posibilidad de que los receptores CB2 también puedan jugar algún papel. De hecho, este receptor también está presente en varias regiones del tallo cerebral, específicamente dentro del núcleo dorsal motor del vago (Van Sickle y cols., 2005).

Tanto en animales como en humanos, los efectos antieméticos y antinauseosos de los cannabinoides son ampliamente conocidos (Tramer y col., 2001; Hall y cols., 2005; Parker y cols., 2005). Los estudios animales sugieren tanto la participación de efectos cannabinoides centrales como periféricos. Los cannabinoides actúan tanto a nivel central, en el complejo dorsal del vago, como a nivel periférico, en las eferencias vagales (Van Sickle y cols., 2003; Darmani y Johnson, 2004). Además, los cannabinoides reducen también el vaciamiento gástrico, lo que por si mismo podría dar lugar a náusea (Sanger y cols., 2007), sugiriendo que los efectos centrales de los cannabinoides podrían ser más importantes que los periféricos en reducir náusea y emesis. Sin embargo, se desconoce porqué la administración crónica del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 no fue capaz de prevenir la aparición de pica en un modelo de tratamiento crónico con cisplatino en rata (Vera y cols., 2007).

3 – JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO REALIZADO

Cada vez hay más evidencias científicas de la posible utilidad terapéutica de los cannabinoides en patologías crónicas. Es de esperar que, conforme aumente el número de indicaciones y de pacientes en tratamiento, agudo o crónico, también se dispare la incidencia de efectos adversos. En esta búsqueda de aplicaciones terapéuticas de los cannabinoides el factor limitante suele ser la aparición de efectos psicotropos, a los que, en tratamiento crónico, suele producirse tolerancia. Los efectos de los cannabinoides en sistemas periféricos, como el gastrointestinal, son mucho peor conocidos, especialmente los que se producen por el uso a largo plazo. Estos efectos podrían interferir con el desarrollo de la patología y/o con la eficacia del tratamiento.

Entre otros usos potenciales, los cannabinoides podrían emplearse en el tratamiento y prevención de los efectos adversos del tratamiento antitumoral, como la neuropatía periférica, las alteraciones gastrointestinales, así como la anorexia y caquexia de los pacientes. La aparición de efectos adversos derivados de la utilización crónica de cannabinoides puede interferir, sin embargo, en su utilidad clínica.

OBJETIVOS

- 1. Analizar los efectos centrales y sobre la motilidad gastrointestinal del agonista cannabinoide no selectivo CB1/CB2 WIN 55,212-2, administrado de tres maneras diferentes:**

Tratamiento agudo.

Tratamiento crónico diario.

Tratamiento crónico semanal.

- 2. Evaluar los efectos de la administración crónica de un fármaco antitumoral, cisplatino, sobre la motilidad gastrointestinal.**

- 3. Estudiar los efectos del agonista cannabinoide no selectivo CB1/CB2 WIN 55,212-2 en animales sometidos a tratamiento crónico con cisplatino:**

Efectos centrales.

Motilidad gastrointestinal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Todos los experimentos se diseñaron con el objeto de minimizar el número de animales utilizados y su sufrimiento, de acuerdo con el Real Decreto 1201/2005 sobre protección de los animales para experimentación y otros fines científicos, y fueron aprobados por el Comité Ético de la Universidad Rey Juan Carlos.

1 - ANIMALES Y CONDICIONES DE EXPERIMENTACIÓN.

Se utilizaron ratas Wistar macho de 240 a 300 g. al inicio del experimento, suministradas por Harlan Ibérica (Barcelona). Estos animales se mantuvieron en el animalario de la Universidad Rey Juan Carlos y se distribuyeron de forma que en cada jaula había 4 animales, que recibieron el mismo tratamiento. Los animales dispusieron de agua y comida “ad libitum”. Asimismo, se mantuvieron en condiciones estándar de temperatura (22°C), humedad (50-55%) y con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas (luz encendida desde las 8.00h a las 20.00h). Los animales no fueron sometidos a ninguna prueba experimental hasta, al menos, una semana después de su llegada al animalario, con el fin de asegurar su correcta aclimatación. Al finalizar los experimentos, los animales fueron sacrificados mediante dislocación cervical.

2 – EFECTO DE DIFERENTES TRATAMIENTOS CON WIN 55,212-2.

2.1 - PROTOCOLOS DE ADMINISTRACIÓN.

Salino (0.9% NaCl peso/volumen), WIN 55,212-2 (WIN) o su vehículo (ver más adelante) fueron administrados por vía intraperitoneal. Se establecieron 3 protocolos para la administración de los fármacos:

- Tratamiento agudo: una única administración i.p. tras la cual se llevaron a cabo las pruebas.
- Tratamiento crónico diario: una administración i.p. diaria durante 14 días.
- Tratamiento crónico semanal: una administración i.p. a la semana durante 4 semanas.

En el tratamiento agudo se utilizaron las siguientes dosis de WIN: 0.5, 1, 2 y 5 mg/kg en agudo. Para los tratamientos crónicos, las dosis elegidas fueron las de 0.5 mg/kg, que carece de efectos psicoactivos en administración única (Fox et al., 2001; Vera et al., 2007), y 5 mg/kg, capaz de producir efectos psicoactivos (Fox et al., 2001).

Los grupos experimentales contaron con un mínimo de 6 animales.

2.2 - EVALUACIÓN DEL ESTADO GENERAL.

Diariamente, se observó a los animales para detectar la presencia de signos anómalos. Los animales se pesaron inmediatamente antes de administrar los fármacos, con el fin de evaluar cómo afectaban los distintos tratamientos a la ganancia de peso de los animales. También se pesaron una semana después de haber finalizado los tratamientos para conocer cómo era la recuperación de los animales tras el tratamiento.

2.3 - DETERMINACIÓN DE EFECTOS PSICOACTIVOS.

La posible aparición de efectos psicoactivos con los distintos tratamientos se valoró mediante la tetrada cannabinoide. En el caso del tratamiento agudo, estas pruebas se realizaron 20 minutos después de la administración de los fármacos. En el caso de los protocolos de tratamiento crónico, se eligieron tres momentos para la realización de las tetradas: 20 minutos tras la primera administración (efecto agudo), 20 minutos tras la última administración (efecto crónico) y una semana después de ésta (efecto residual).

Se realizaron las siguientes pruebas y en el mismo orden: 1º analgesia, 2º catalepsia, 3º temperatura y 4º locomoción espontánea. Desde el inicio de la primera prueba hasta el inicio de la última transcurrieron 30 minutos.

2.3.1 - Analgesia térmica.

Se utilizó un aparato de Plantar Test 37370 (Ugo Basile, Comerio, VA, Italia) para cuantificar la latencia de retirada de las patas traseras ante un foco calorífico aplicado a la superficie plantar. El reflejo de retirada de la pata interrumpe el haz de luz y, automáticamente, apaga la luz y el contador. El día del experimento (y el anterior) las ratas se situaron sobre una superficie de vidrio durante 10-15 minutos, con el fin de permitir su aclimatación al medio de realización de la prueba. Para cada una de las patas traseras se tomaron tres medidas separadas entre sí por, al menos, 3 minutos, y se determinó la media de estos tres valores. El tiempo de corte se estableció en 25 segundos para evitar lesiones tisulares.

2.3.2 - Catalepsia.

Se empleó una modificación del test del anillo descrito originalmente por Pertwee en 1972 (Compton y cols., 1993; Vera y cols., 2007). Las ratas se sitúan apoyando las patas delanteras en el borde de un vaso de precipitados, a una altura que apenas permite que las patas traseras toquen el suelo. Se mide el tiempo transcurrido en el cual el animal permanece inmóvil con un límite de 30 segundos. Este test se repitió tres veces con cada animal, obteniéndose la media aritmética de estos tres valores.

2.3.3 - Temperatura.

Se utilizó una sonda rectal lubricada (CIBERTEC S.A., Madrid, España) que se insertó en el recto a una profundidad constante de 3 cm.

2.3.4 - Locomoción espontánea.

Para determinar la actividad locomotora espontánea se usó un actímetro (CIBERTEC S.A.). Este aparato consta de una cámara de registro provista de haces

de luz infrarroja paralelos y separados entre sí una distancia de 3 cm. El sistema mide el número de veces que un haz es interrumpido por el movimiento horizontal del animal. Esta prueba se llevó a cabo durante 10 minutos, expresándose el resultado en número total de cortes durante este periodo.

2.4 - ESTUDIO DE LA MOTILIDAD GASTROINTESTINAL.

La función motora gastrointestinal fue estudiada mediante técnicas radiológicas, recientemente desarrolladas en nuestro laboratorio (Cabezos y cols., 2008). Estos estudios se realizaron tras la primera y última administración de los fármacos (efectos agudo y crónico respectivamente) y una semana después de finalizar los distintos tratamientos (efecto residual).

Debido a que las diferencias entre la radiodensidad del tracto gastrointestinal y los tejidos blandos que lo rodean son muy pequeñas, se utilizó una suspensión radio-opaca de sulfato de bario (Barigraf®, 2 g/ml, $t^a=22^{\circ}\text{C}$) que actuó como contraste. Así cada animal recibió, mediante una sonda orogástrica, 2,5 ml de esta suspensión, tras lo cual se tomaron radiografías seriadas de cada animal inmediatamente y 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del contraste.

Para conseguir la inmovilidad de los animales, se dispusieron en cepos de plástico de dimensiones ajustables al tamaño del animal (figura 3.1), siendo liberados de éstos tras la toma de cada radiografía y permaneciendo en sus correspondientes jaulas con libre acceso a agua y alimento hasta la realización de la siguiente radiografía.

Para la adquisición de las imágenes radiológicas, se utilizó un equipo de radiología intraoral (Helident DS, Sirona, España), de voltaje e intensidad fijos (60 kV y 7 mA, respectivamente). El tiempo de exposición se estableció en 0.06 segundos, lo que permitió la obtención de imágenes con contraste y resolución adecuados. Las imágenes fueron tomadas a una distancia de 50 ± 1 cm, distancia medida desde la placa fotográfica al extremo distal del tubo localizador. En el momento de tomar las imágenes, el investigador se situó siempre a más de 2 metros de distancia y

protegido tras una pared de ladrillo. La emisión radiológica en esta posición no fue diferente de la del ambiente.

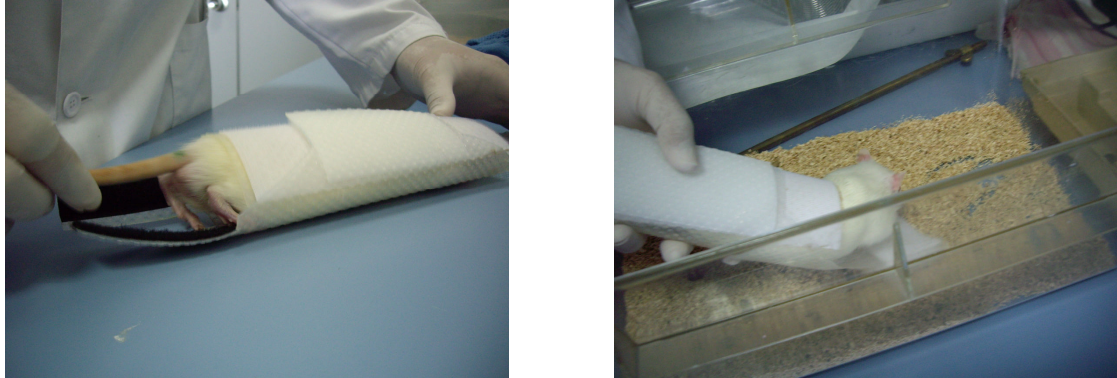


Figura 3.1. Disposición de los animales en los cepos y liberación de los mismos.

Se utilizaron películas panorámicas de 15 x 30 cm de tamaño (Ektavisión G, Kodak, España), las cuales se revelaron con un procesador X-Omat 2000 (Kodak, España).

Una vez obtenidas las imágenes radiológicas, éstas fueron analizadas de manera cuantitativa. Las regiones gastrointestinales analizadas fueron estómago, intestino delgado, ciego y región colorrectal. Para cuantificar tanto el vaciamiento gástrico como el tránsito intestinal, se utilizó un baremo en el que se consideraban a la vez cuatro parámetros, según se describe en la tabla 2. El análisis de las radiografías se llevó a cabo tras un adecuado entrenamiento y de manera ciega al fármaco administrado.

	LLENADO DEL ÓRGANO	INTENSIDAD DEL CONTRASTE	PERFIL DEL ÓRGANO	HOMOGENEIDAD DEL CONTRASTE
0	No marcado			
1	< 25%	Tenue (sombra)	No bien definido	Heterogéneo
2	25-50%	Débil	Bien definido	Homogéneo
3	50-75%	Moderado	-	-
4	75-100%	Fuerte	-	-

Tabla 2. Baremo de cuantificación de las imágenes radiológicas.

3 – EFECTO DEL TRATAMIENTO CRÓNICO CON CISPLATINO.

3.1 - PROTOCOLO DE ADMINISTRACIÓN.

Los animales recibieron suero salino (1-2 ml/kg) o cisplatino (1, 2, o 3 mg/kg) por vía intraperitoneal una vez a la semana durante 4 semanas. Con anterioridad, cada animal recibió 2 ml de suero salino por vía subcutánea, con el fin de contrarrestar la nefrotoxicidad asociada al cisplatino. Los grupos experimentales resultantes contaron con un mínimo de 8 animales.

3.2 - EVALUACIÓN DEL ESTADO GENERAL Y DESARROLLO DE NEUROPATÍA PERIFÉRICA.

Diariamente, se observó a los animales para detectar la presencia de signos anómalos como, por ejemplo, debilidad, irritabilidad, diarrea o piloerección. Los animales se pesaron una vez a la semana, inmediatamente antes de la administración de los fármacos.

Una semana después de la finalización del tratamiento crónico, se determinó la temperatura y la locomoción espontánea para conocer los efectos a largo plazo del tratamiento con cisplatino. Estas pruebas se han descrito con anterioridad en los apartados 2.3.3. y 2.3.4, respectivamente. Además, con el fin de comprobar el desarrollo de neuropatía periférica por cisplatino, se valoró la presencia de hiperalgesia térmica (descrita en el apartado 2.3.1) y de alodinia mecánica (según el siguiente apartado).

3.2.1 - Alodinia mecánica.

Para comprobar que el tratamiento crónico con cisplatino producía neuropatía periférica, se valoró la alodinia mecánica mediante el test de los filamentos de von Frey. Se usaron filamentos de nylon de distinto grosor y longitud (filamentos de von Frey), capaces por lo tanto de generar una presión de intensidad variable (entre 0,3 y 40,0 g) y se aplicaron directamente sobre la superficie plantar de cada una de las

patas traseras, comenzando por el filamento de menor presión y utilizando otro de fuerza superior si la respuesta era negativa. Se midió la presión mínima capaz de desencadenar el reflejo de retirada de la pata.

El día de la realización de esta prueba (y el anterior), las ratas fueron situadas sobre una malla metálica elevada durante diez minutos, para permitir la adaptación del animal al medio en el que se llevó a cabo la prueba. Cada filamento fue aplicado 5 veces en cada pata trasera durante 1 segundo aproximadamente, dejando no menos de 3 segundos entre cada dos aplicaciones. Se consideró una respuesta positiva cuando el animal retiraba la pata brusca e inmediatamente, al menos, en tres ocasiones. Cuando no se obtenían repuestas positivas se repetía el proceso con el filamento de presión superior siguiente. No se utilizaron presiones superiores a 25.0 g.

3.3 - ESTUDIO DE LA MOTILIDAD GASTROINTESTINAL.

La función motora gastrointestinal fue estudiada mediante técnicas radiológicas, según se describe en el apartado 2.4. Estos estudios se realizaron tras la primera y última administración de los fármacos (efectos agudo y crónico respectivamente) y una semana después de finalizar los distintos tratamientos (efecto residual).

Se tomaron radiografías seriadas de cada animal inmediatamente y 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración orogástrica del contraste.

4 – EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN SEMANAL DE WIN 55,212-2 EN ANIMALES SOMETIDOS A TRATAMIENTO CRÓNICO CON CISPLATINO.

4.1 - PROTOCOLO DE ADMINISTRACIÓN.

Una vez a la semana durante 4 semanas, cada rata recibió dos inyecciones intraperitoneales separadas entre sí por 30 minutos. La primera inyección contenía vehículo o WIN (0.5, 1 o 2 mg/kg), mientras la segunda inyección podía contener salino (1-2 ml/kg) o cisplatino (2 mg/kg). Antes de la primera administración, a cada animal se le inyectaron 2 ml de suero salino por vía subcutánea, con el fin de contrarrestar la nefrotoxicidad asociada al cisplatino. Los grupos establecidos contaron con un mínimo de 8 ratas por grupo y tratamiento.

4.2 - ESTADO GENERAL DE LOS ANIMALES Y ALODINIA.

Diariamente, se observó a los animales para detectar la presencia de signos anómalos como, por ejemplo, debilidad, irritabilidad, diarrea o piloerección. Además, se pesaron una vez a la semana, coincidiendo con la administración de los fármacos, para registrar cómo afectaban los distintos tratamientos a la ganancia de peso de los animales.

4.2.1 – Alodinia mecánica.

Para comprobar que el tratamiento crónico con cisplatino producía neuropatía periférica, se valoró la alodinia mecánica, una semana después de la última administración, mediante el test de los filamentos de von Frey, según se describe en el apartado 3.2.1.

4.3 - DETERMINACIÓN DE EFECTOS PSICOACTIVOS.

La posible aparición de efectos psicoactivos a largo plazo derivados de la administración conjunta de WIN y cisplatino se valoró mediante la tetra de cannabinoide, una semana después de la finalización de los tratamientos, según el apartado 2.3.

4.4 - ESTUDIO DE LA MOTILIDAD GASTROINTESTINAL.

La función motora de la región gastrointestinal fue estudiada mediante técnicas radiológicas, según se describe en el apartado 2.4. Estos estudios se realizaron tras la primera y última administración de los fármacos (efectos agudo y crónico respectivamente) y una semana después de finalizar los distintos tratamientos (efecto residual).

Se tomaron radiografías seriadas de cada animal inmediatamente y 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración orogástrica del contraste.

5 - FÁRMACOS Y COMPUESTOS.

- Solución salina (NaCl 0.9%).
- Cisplatino. Dosis de 1, 2 y 3 mg/kg. Obtenido de Sigma-Aldrich (España). Disuelto en solución salina y sonicado hasta su completa disolución, alrededor de 15 minutos.
- WIN 55,212-2. Dosis de 0.5, 1, 2 y 5 mg/kg. Obtenido de Tocris (España). Para la preparación de este compuesto cannabinoide, y debido a su elevado carácter lipofílico, se disuelve, primero, en etanol absoluto en la misma proporción (1:1) y, después, en una mezcla de Tween 80: etanol (2:1), también en la misma proporción 1:1. Mediante una bomba de vacío se evapora el etanol y se resuspende en suero salino al 0.9% (Pertwee y cols., 1992) añadiendo el volumen necesario para alcanzar la concentración requerida. En todo momento el compuesto cannabinoide se mantiene protegido de la luz debido a su fotosensibilidad.
- Vehículo de WIN. Su preparación es similar a la del WIN 55,212-2 pero sin añadirle el cannabinoide.

Todos estos fármacos se administraron en un volumen final de 1-2 ml/kg por vía intraperitoneal.

- Sulfato de bario (Barigraf® AD, Juste S.A.Q.F., España). Se suspende en agua a una concentración de 2 g/ml ($t^a = 22^{\circ}\text{C}$) y se mantiene en agitación hasta el momento de su administración. Cada animal recibió un volumen total de 2.5 ml por vía orogástrica.

6 - ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los datos se expresan como la media de los valores obtenidos \pm el error estándar de la media (E.E.M.). Para el análisis estadístico se utilizó el programa informático Prisma 4 (GraphPad Software Inc.). Valores de $p < 0.05$ fueron considerados como estadísticamente significativos.

Los test estadísticos utilizados fueron:

- ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni para comparaciones entre tratamientos a lo largo del tiempo.
- ANOVA de una vía seguido de un test de Bonferroni para comparaciones entre tratamientos.
- t de Student de datos desapareados con corrección de Welch, cuando fue necesario, para comparaciones intragrupo.

RESULTADOS

1 - EFECTOS DE TRES PAUTAS DE ADMINISTRACIÓN DEL AGONISTA CANNABINOIDE NO SELECTIVO CB1/CB2 WIN 55,212-2.

1.1 - EFECTOS DEL TRATAMIENTO AGUDO.

1.1.1 - EFECTOS PSICOACTIVOS.

La administración aguda de vehículo de WIN no produjo efectos distintos de los que se obtuvieron tras la administración de salino, en ninguna de las cuatro pruebas que componen la tetrada cannabinoide. WIN a dosis bajas (0.5 y 1 mg/kg) no dio lugar a modificaciones de importancia, salvo un ligero, pero significativo, incremento en el tiempo de latencia en el plantar test (analgesia). La dosis de 2 mg/kg fue capaz de producir más de un signo de la tetrada al provocar catalepsia, además de analgesia. Finalmente, sólo la dosis más alta (5 mg/kg) fue capaz de producir los cuatro signos de la tetrada (figura 4.1).

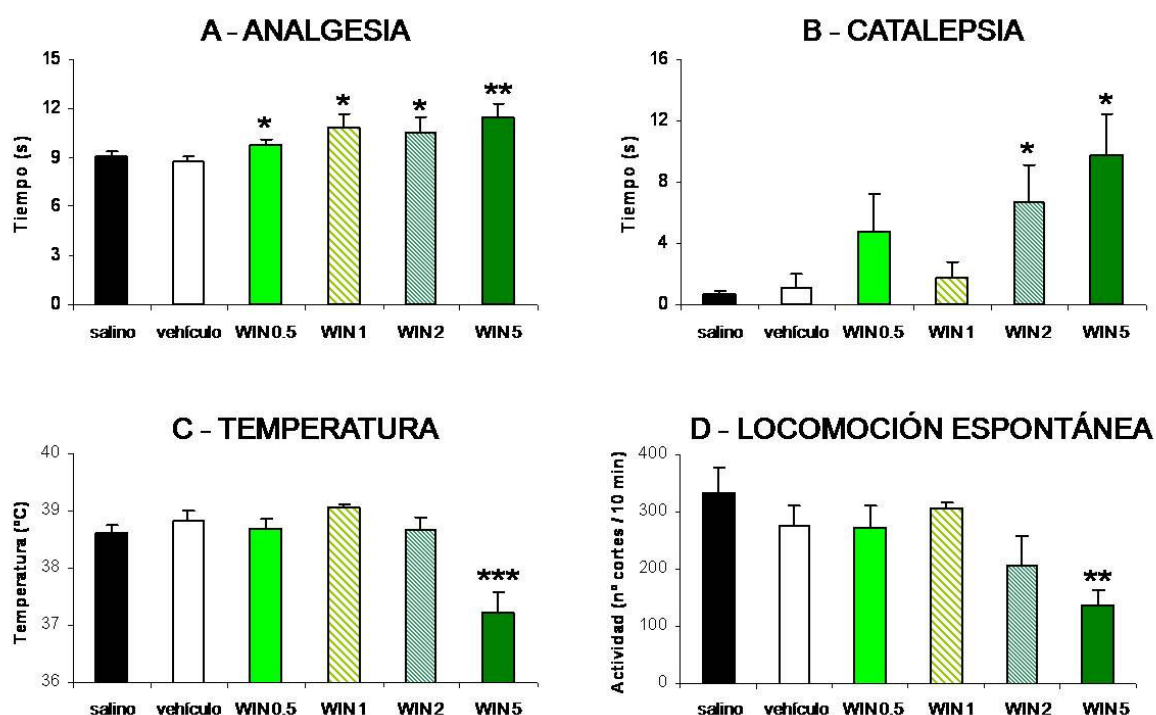


Figura 4.1. Efectos psicoactivos de la administración aguda del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en rata. Se realizaron las siguientes pruebas para evaluar la aparición de efectos psicoactivos (tetrada cannabinoide): A-analgesia térmica (plantar test); B-catalepsia; C-temperatura rectal; D-locomoción espontánea (actímetro). Las pruebas se llevaron a cabo 20 minutos después de la administración i.p. de salino (1-2 ml/kg, n=12), vehículo de WIN (n=12) o WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 0.5 (WIN 0.5, n=12), 1 (WIN 1, n=4), 2 (WIN 2, n=4) y 5 mg/kg (WIN 5, n=12). Las barras muestran las medias \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs vehículo (t de Student de datos desapareados con corrección de Welch).

1.1.2 - MOTILIDAD GASTROINTESTINAL.

En comparación con los animales tratados con suero salino, la velocidad de vaciamiento gástrico no se modificó tras la administración del vehículo de WIN. En estos animales, el vaciamiento comenzó inmediatamente tras la administración del contraste, quedando el estómago prácticamente vacío entre 6 y 8 horas después. La administración aguda de WIN produjo una reducción dosis-dependiente de la velocidad de vaciamiento gástrico, aunque sólo la dosis más alta (5 mg/kg) produjo diferencias estadísticamente significativas (figura 4.2A). En estos animales, además, el tamaño de los estómagos no se redujo al mismo ritmo que en los animales tratados con vehículo (figuras 4.2E-F).

En el intestino delgado, los patrones de motilidad fueron similares en los animales tratados con salino y los animales tratados con el vehículo de WIN. Así, esta región alcanzó su llenado máximo a las 1-2 horas tras la administración del contraste y 4 horas después se encontraba a mitad de su vaciamiento. La administración de WIN modificó este patrón de manera dosis-dependiente, produciendo un retraso tanto en el llenado de esta región como en su vaciamiento (figura 4.2B).

Tampoco en el ciego se observaron diferencias significativas entre los animales tratados con salino y los tratados con vehículo de WIN. En ambos casos, el llenado de esta región comenzó 1-2 horas después de administrar el contraste y alcanzó su máximo 4 horas después. La administración aguda de WIN, por su parte, produjo un retraso dosis-dependiente en el llenado del ciego. Este retraso fue significativo incluso a la dosis más baja (0.5 mg/kg) (figura 4.2C).

Finalmente, también los perfiles de la región colorrectal fueron similares para los animales tratados con vehículo y salino. Dicha región comenzó a llenarse entre 2 y 4 horas tras la administración del contraste. Por contra, en los animales tratados con WIN, al igual que ocurría en el ciego, el llenado de esta región se retrasó de manera dosis-dependiente (figura 4.2D).

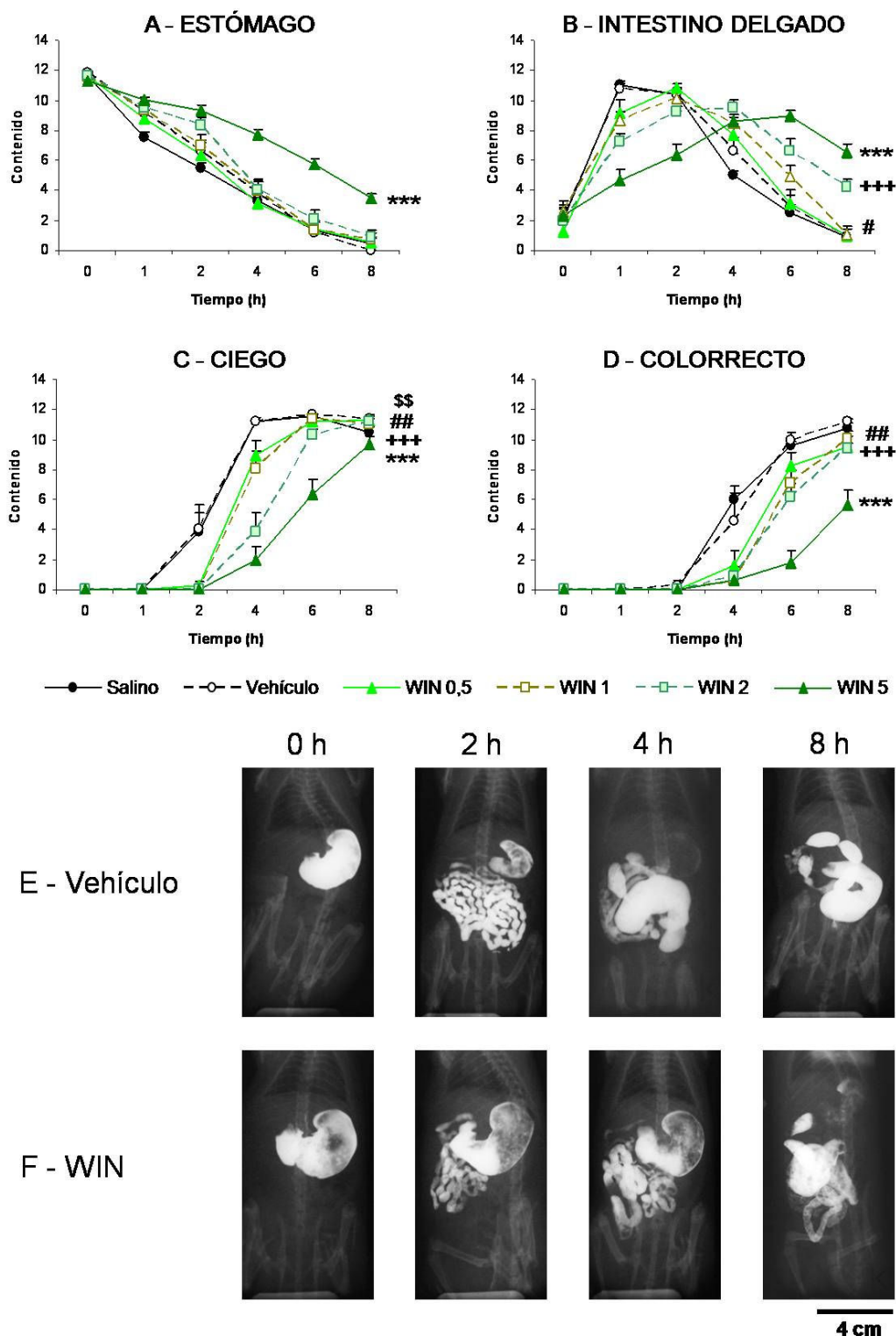


Figura 4.2. Efecto de la administración aguda del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en la función motora gastrointestinal en rata. La función motora se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto) en las siguientes regiones: A-estómago, B-intestino delgado, C-ciego y D-región colorrectal. Los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), vehículo de WIN o WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 0.5 (WIN 0.5), 1 (WIN 1), 2 (WIN 2) o 5 mg/kg (WIN 5). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. \$\$ (p<0.01) para WIN 0.5; # (p<0.05), ## (p<0.01) para WIN 1; +++ (p<0.001) para WIN 2; *** (p<0.001) para WIN 5 vs vehículo (ANOVA de dos vías). n=6-8 para todos los grupos. E-F: imágenes radiográficas representativas de ratas tratadas con vehículo de WIN y WIN 5 tomadas 0, 2, 4 y 8 horas después de la administración del contraste.

1.2 – EFECTOS DEL TRATAMIENTO CRÓNICO DIARIO.

1.2.1 – ESTADO GENERAL.

Ni la administración diaria de salino ni la de vehículo causaron modificaciones en el estado general de los animales. Únicamente los animales tratados diariamente con la dosis más alta de WIN (5 mg/kg) se encontraron muy irritables y su ganancia de peso fue significativamente menor. La ganancia de peso en la semana de recuperación fue similar en todos los grupos. (figura 4.3).

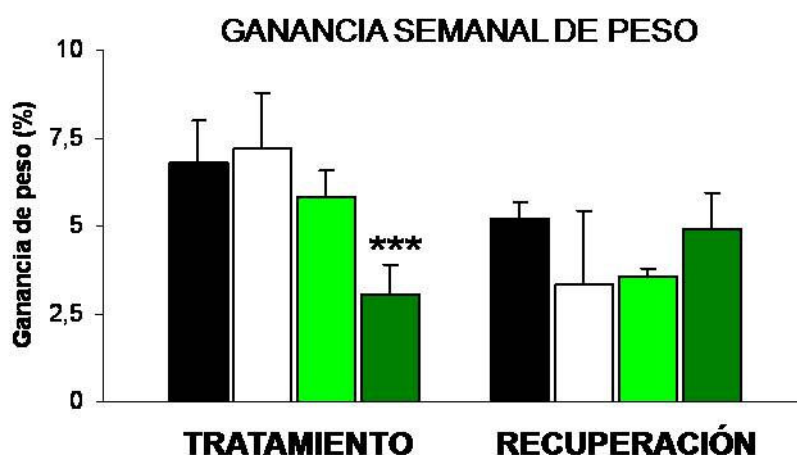


Figura 4.3. Efecto de la administración diaria de WIN 55,212-2 sobre la ganancia semanal de peso en rata. Diariamente, durante 14 días, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg, negro), vehículo de WIN (blanco) y WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 0.5 (verde claro) y 5 mg/kg (verde oscuro). Los datos se expresan como el porcentaje de ganancia de peso a la semana durante el tratamiento (TRATAMIENTO) y la semana después de su finalización (RECUPERACIÓN). Las barras muestran la media \pm E.E.M. *** ($p < 0.001$) vs vehículo (ANOVA de una vía seguido de un test de Bonferroni). $n=8$ para todos los grupos.

1.2.2 - EFECTOS PSICOACTIVOS.

Al final del tratamiento crónico diario con salino o vehículo, los valores obtenidos en la tetrada cannabinoide fueron similares a los obtenidos tras una única administración. Los efectos producidos por la dosis baja de WIN (0.5 mg/kg) no se modificaron significativamente tras la administración crónica diaria. En los animales tratados con la dosis más elevada de WIN (5 mg/kg) se desarrolló tolerancia al efecto hipotérmico y a la hipolocomoción pero no al efecto analgésico. Además se

observó una reducción, que no llegó a ser significativa, del efecto cataléptico de la administración aguda (figura 4.4).

Una semana después de finalizar los tratamientos crónicos diarios no se observaron efectos psicoactivos residuales (figura 4.4).

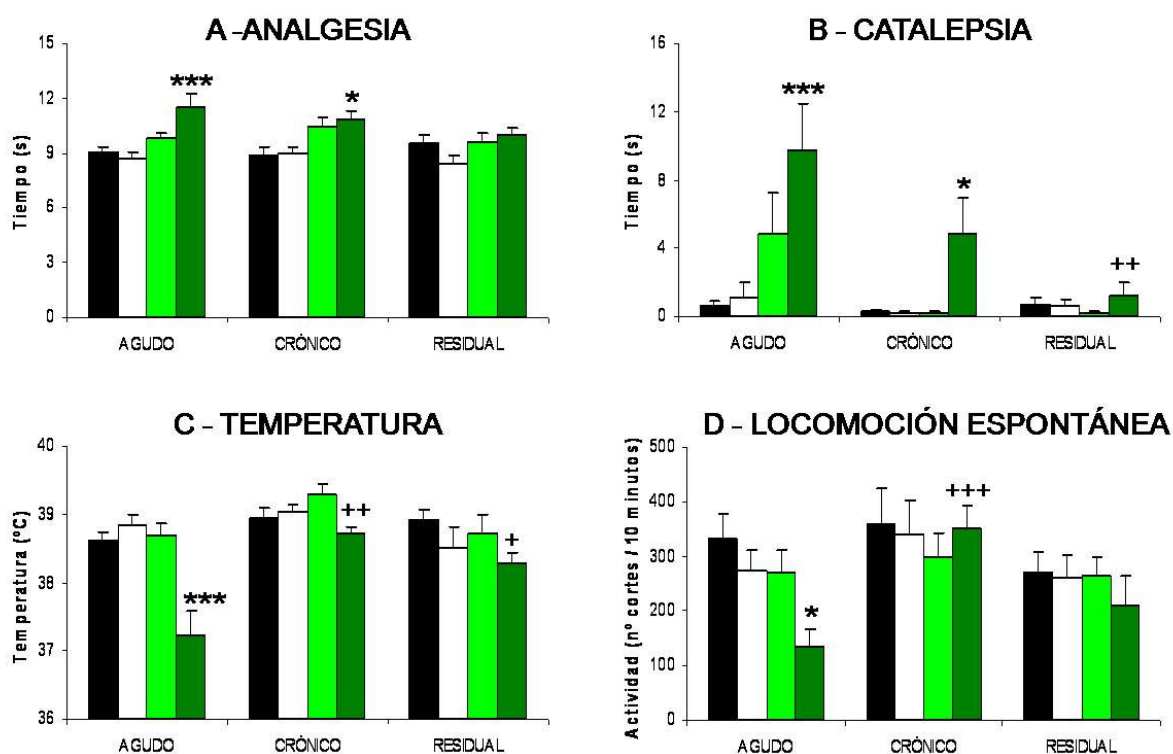


Figura 4.4. Efectos psicoactivos de un tratamiento crónico diario con el agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en rata. Se realizaron las siguientes pruebas para evaluar la aparición de efectos cannabinoideos psicoactivos (tetra cannabinoide): A-analgésia térmica (plantar test); B-catalepsia; C-temperatura rectal; D-locomoción espontánea (actímetro). Diariamente, durante 14 días, las ratas recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg, negro), vehículo de WIN (blanco) y WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 0.5 mg/kg (verde claro) y 5 mg/kg (verde oscuro). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (AGUDO), tras la última (CRÓNICO) y una semana después de la última administración (RESIDUAL). Las barras muestran las medias \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), *** ($p < 0.001$) vs vehículo de WIN (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni); + ($p < 0.05$), ++ ($p < 0.01$), +++ ($p < 0.001$) vs WIN 5 mg/kg agudo (t de Student de datos desapareados con corrección de Welch). $n = 8$ para todos los grupos.

1.2.3 - MOTILIDAD GASTROINTESTINAL.

Al final del tratamiento crónico, no se observaron diferencias entre los perfiles obtenidos con animales tratados con solución salina y los tratados con vehículo de WIN en ninguna de las regiones analizadas. En los animales tratados diariamente con WIN, se mantuvo el retraso en el vaciamiento gástrico que produjo la administración aguda de dosis altas (5 mg/kg). Sin embargo, en el intestino delgado se desarrolló cierta tolerancia, que fue incluso más clara en el ciego y la región colorrectal (figuras 4.5B,6B,7B,8B).

Una semana después de la finalización del tratamiento con WIN (efecto residual), no se observaron alteraciones significativas en el vaciamiento gástrico, el intestino delgado y la región colorrectal. Únicamente apareció una ligera aceleración en la velocidad de llenado del ciego en los animales que habían sido tratados con la dosis más alta de WIN (5 mg/kg) (figuras 4.5C,6C,7C,8C).

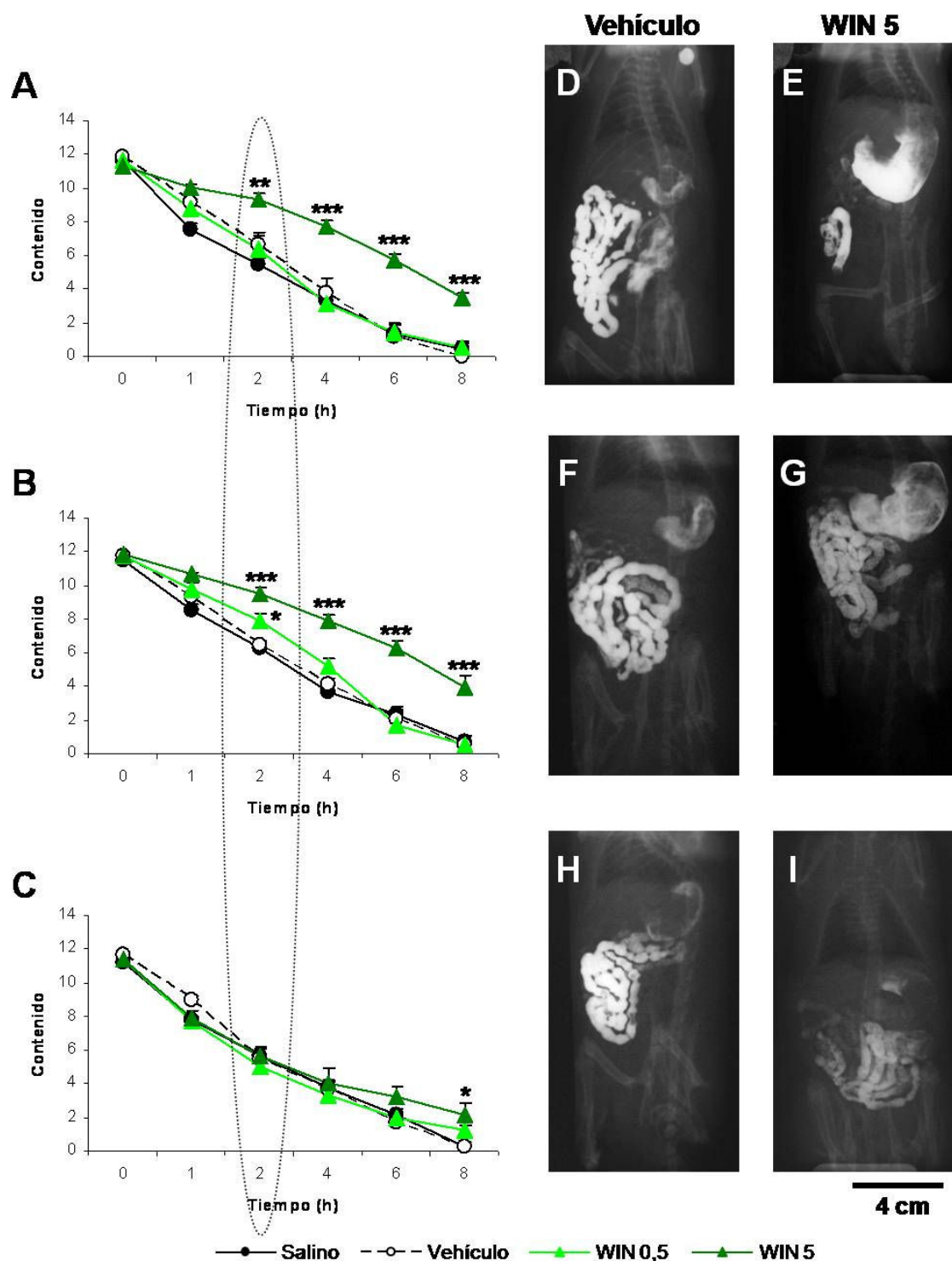


Figura 4.5. Efecto de la administración crónica diaria del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en el vaciamiento gástrico en rata. El vaciamiento gástrico se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Diariamente, durante 14 días, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), vehículo de WIN (Vehículo) o WIN 55,212-2 a las dosis de 0.5 (WIN 0.5) y 5 mg/kg (WIN 5). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A), tras la última (efecto crónico, B) y una semana después de la última administración (efecto residual, C). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs Vehículo (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). D-I: imágenes radiográficas representativas de ratas tratadas con Vehículo y WIN 5 tomadas 2 horas después de la administración del contraste. $n=8$ para todos los grupos.

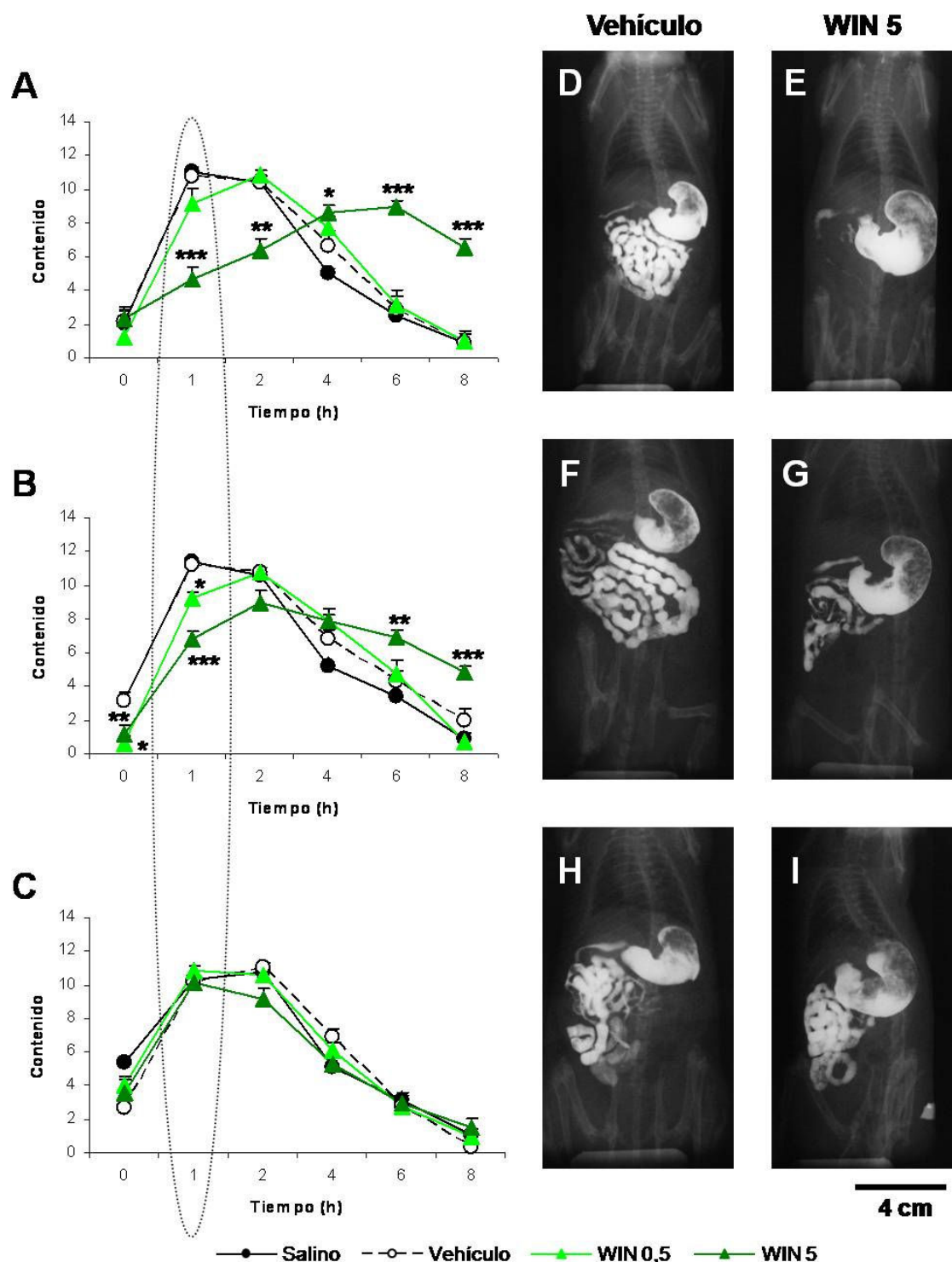


Figura 4.6. Efecto de la administración crónica diaria del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en la función motora del intestino delgado en rata. La función motora se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Diariamente, durante 14 días, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), vehículo de WIN (Vehículo) o WIN 55,212-2 a las dosis de 0.5 (WIN 0.5) y 5 mg/kg (WIN 5). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A), tras la última (efecto crónico, B) y una semana después de la última administración (efecto residual, C). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs Vehículo (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). D-I: imágenes radiográficas representativas de ratas tratadas con Vehículo y WIN 5 tomadas 1 hora después de la administración del contraste. $n=8$ para todos los grupos.

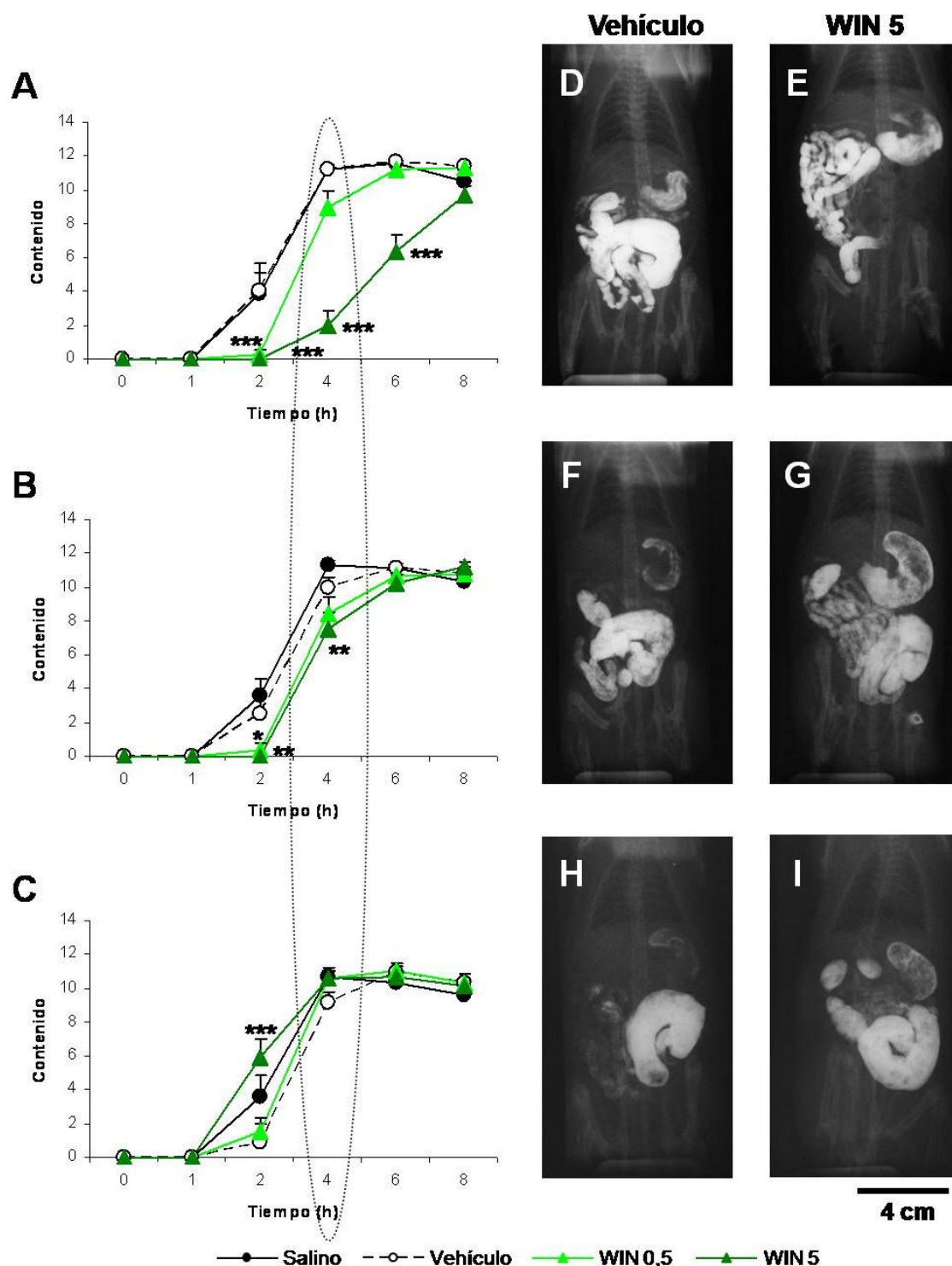


Figura 4.7. Efecto de la administración crónica diaria del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en la función motora del ciego en rata. La función motora se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Diariamente, durante 14 días, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), vehículo de WIN (Vehículo) o WIN 55,212-2 a las dosis de 0.5 (WIN 0.5) y 5 mg/kg (WIN 5). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A), tras la última (efecto crónico, B) y una semana después de la última administración (efecto residual, C). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs Vehículo (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). D-I: imágenes radiográficas representativas de ratas tratadas con Vehículo y WIN 5 tomadas 4 horas después de la administración del contraste. $n=8$ para todos los grupos.

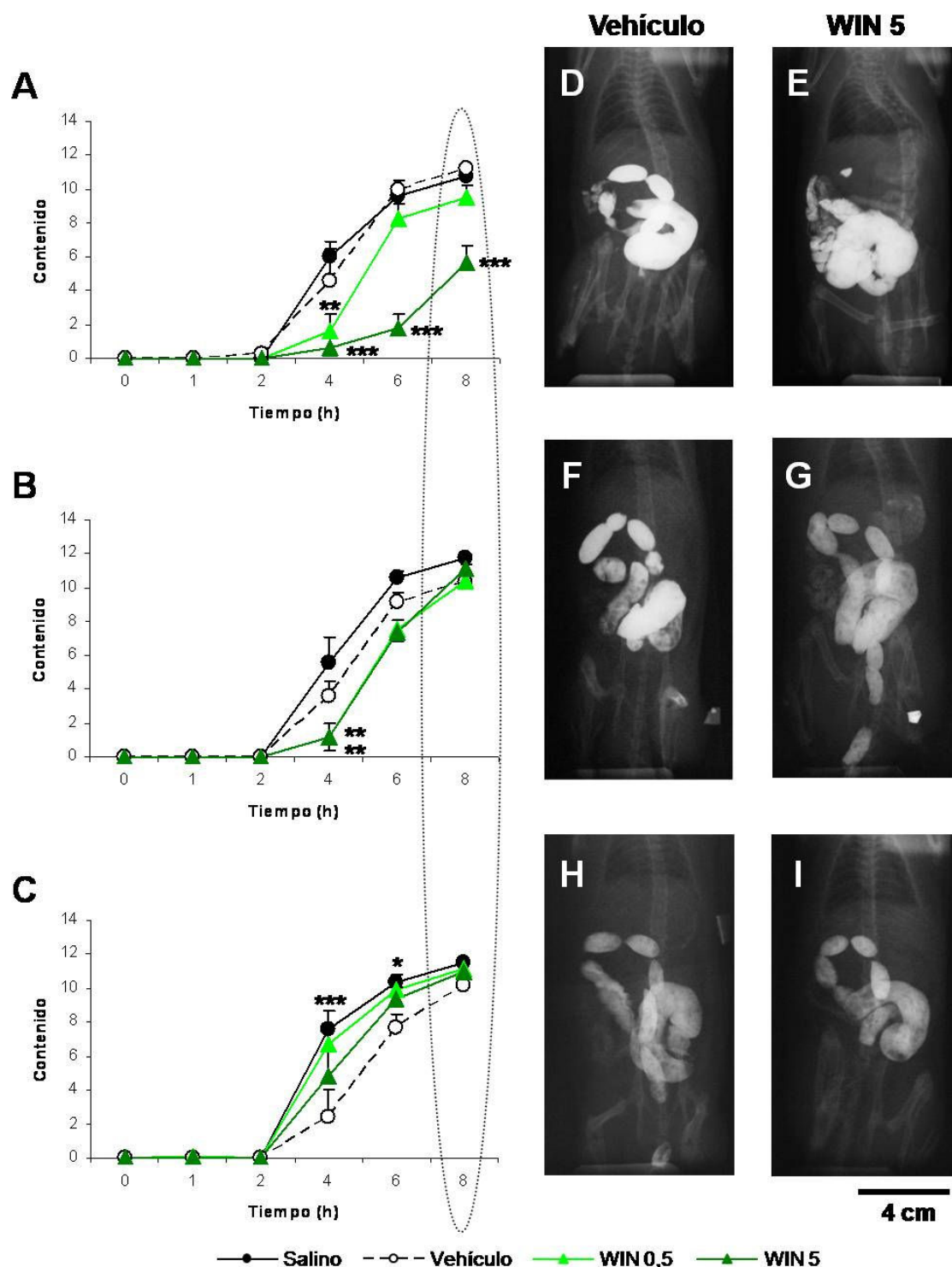


Figura 4.8. Efecto de la administración crónica diaria del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en la función motora de la región colorrectal en rata. La función motora se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Diariamente, durante 14 días, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), vehículo de WIN (Vehículo) o WIN 55,212-2 a las dosis de 0.5 (WIN 0.5) y 5 mg/kg (WIN 5). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A), tras la última (efecto crónico, B) y una semana después de la última administración (efecto residual, C). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs Vehículo (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). D-I: imágenes radiográficas representativas de ratas tratadas con Vehículo y WIN 5 tomadas 8 horas después de la administración del contraste. $n=8$ para todos los grupos.

1.3 - EFECTOS DEL TRATAMIENTO CRÓNICO SEMANAL.

1.3.1 - ESTADO GENERAL.

Ni la administración crónica de salino, ni de vehículo, ni de WIN causó modificaciones en el estado general de los animales. La administración semanal de WIN no produjo modificaciones significativas en la ganancia de peso (figura 4.9).

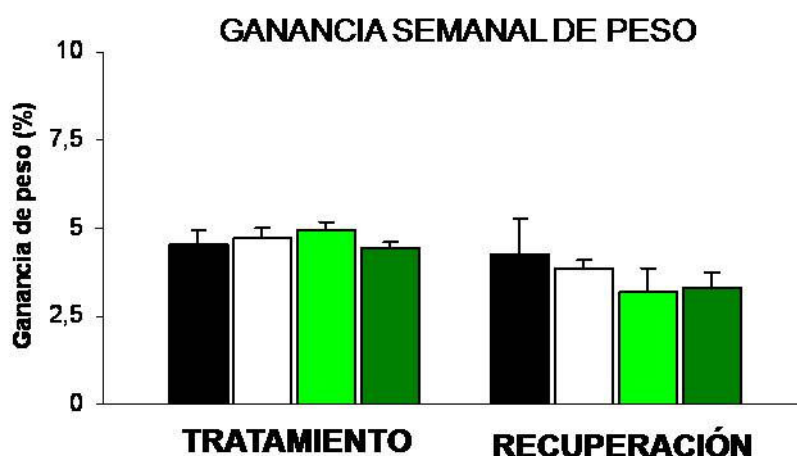


Figura 4.9. Efecto de la administración crónica semanal de WIN 55,212-2 sobre la ganancia semanal de peso en rata. Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg, negro), vehículo de WIN (blanco) y WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 0.5 (verde claro) y 5 mg/kg (verde oscuro). Los datos se expresan como el porcentaje de ganancia de peso a la semana durante el tratamiento (TRATAMIENTO) y la semana después de su finalización (RECUPERACIÓN). Las barras muestran la media \pm E.E.M. (ANOVA de una vía seguido de un test de Bonferroni). n=8 para todos los grupos.

1.3.2 – EFECTOS PSICOACTIVOS.

La administración crónica semanal de salino o vehículo de WIN no produjo efectos distintos a los observados tras la administración aguda de estos fármacos. Una vez finalizado este tratamiento crónico, los animales tratados con WIN a dosis bajas (0.5 mg/kg) continuaron sin mostrar efectos psicoactivos significativos. Con la administración crónica semanal de WIN 5 mg/kg apareció tolerancia parcial a la hipotermia y a la hipolocomoción. La catalepsia se intensificó levemente, mientras que el efecto analgésico no se modificó. (figura 4.10).

Una semana después de finalizar los distintos tratamientos crónicos semanales no se observaron efectos psicoactivos residuales de interés. (figura 4.10).

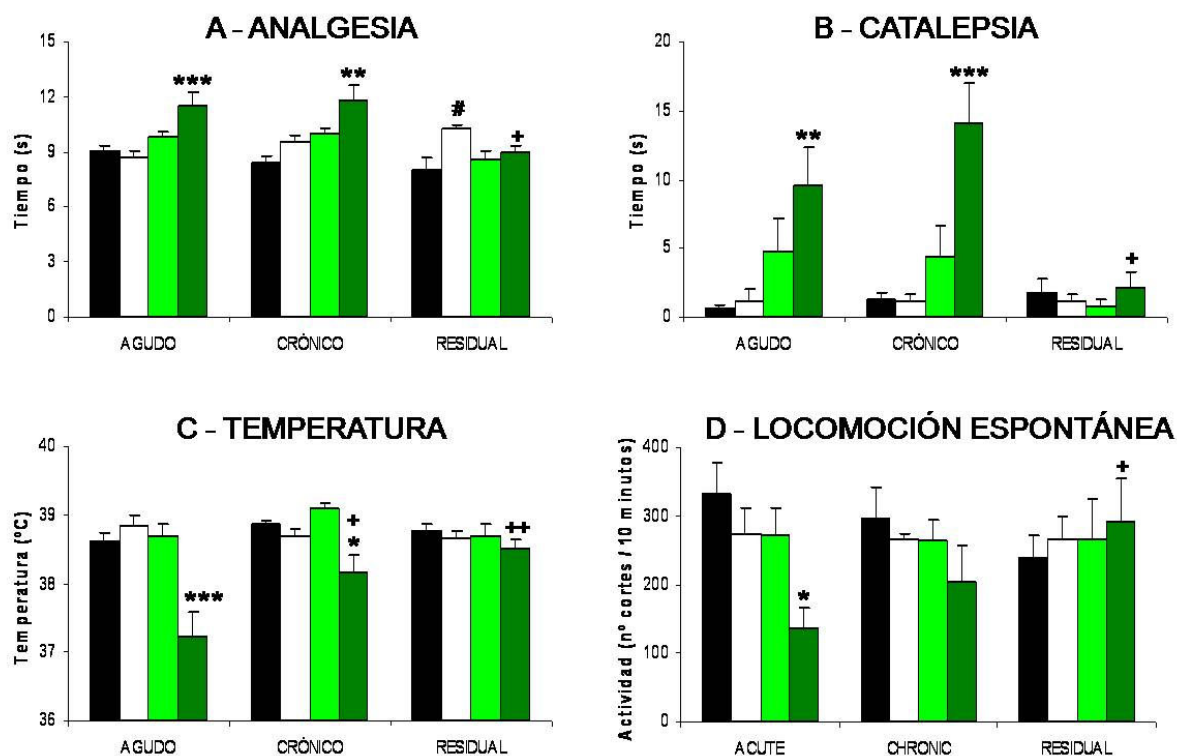


Figura 4.10. Efectos psicoactivos del tratamiento crónico semanal con el agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en rata. Se realizaron las siguientes pruebas para evaluar la aparición de efectos cannabinoide psicoactivos (tetrada cannabinoide): A-analgésia térmica (plantar test); B-catalepsia; C-temperatura rectal; D-locomoción espontánea (actímetro). Una vez a la semana, durante 4 semanas, las ratas recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg, negro), vehículo de WIN (blanco) y WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 0.5 (verde claro) y 5 mg/kg (verde oscuro). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (AGUDO), tras la última (CRÓNICO) y una semana después de la última administración (RESIDUAL). Las barras muestran las medias \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs vehículo de WIN; # ($p < 0.05$) vs salino; (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni); + ($p < 0.05$), ++ ($p < 0.01$) vs WIN 5 mg/kg agudo (t de Student de datos desapareados con corrección de Welch). $n=12$ para todos los grupos.

1.3.3 – MOTILIDAD GASTROINTESTINAL.

Con este protocolo de tratamiento crónico tampoco se observaron diferencias entre los perfiles obtenidos en animales tratados con salino y animales tratados con el vehículo de WIN.

El tratamiento crónico semanal con WIN a dosis bajas (0.5 mg/kg) tampoco produjo efecto en el vaciamiento gástrico. Sin embargo, al final del tratamiento crónico semanal con la dosis más elevada de WIN (5 mg/kg), el retraso en el vaciamiento gástrico se vio acentuado de manera significativa (hipersensibilización). En estos animales, de hecho, el vaciamiento no comenzó hasta 4 horas después de la administración del contraste. Al término del experimento (8 horas después) los estómagos se encontraban aún bastante llenos (figura 4.11B). Además del efecto sobre el vaciamiento, se observa un aumento de tamaño de los estómagos tratados con esta dosis de WIN (figuras 4.11E-I).

Tras cuatro semanas de tratamiento con la dosis más baja de WIN (0.5 mg/kg) se desarrolló un ligero, pero significativo retraso en el vaciamiento del intestino delgado. En animales tratados con la dosis mayor (5 mg/kg), el patrón de motilidad se vio directamente influido por el efecto a nivel gástrico. De esta forma, el intestino delgado permaneció prácticamente vacío mientras el estómago no se vaciaba. El máximo llenado intestinal se alcanzó conforme se recuperó la función gástrica (figura 4.12B).

El retraso en el llenado del ciego y de la región colorrectal se vio acentuado tras la administración crónica semanal de WIN a ambas dosis (0.5 y 5 mg/kg) (figuras 4.13B, 4.14B).

No se observaron diferencias residuales entre los perfiles de los animales tratados con vehículo y los tratados con salino, así como tampoco entre estos animales y los tratados con WIN, incluso a la dosis más alta (5 mg/kg) (figuras 4.11C,4.12C,4.13C,4.14C).

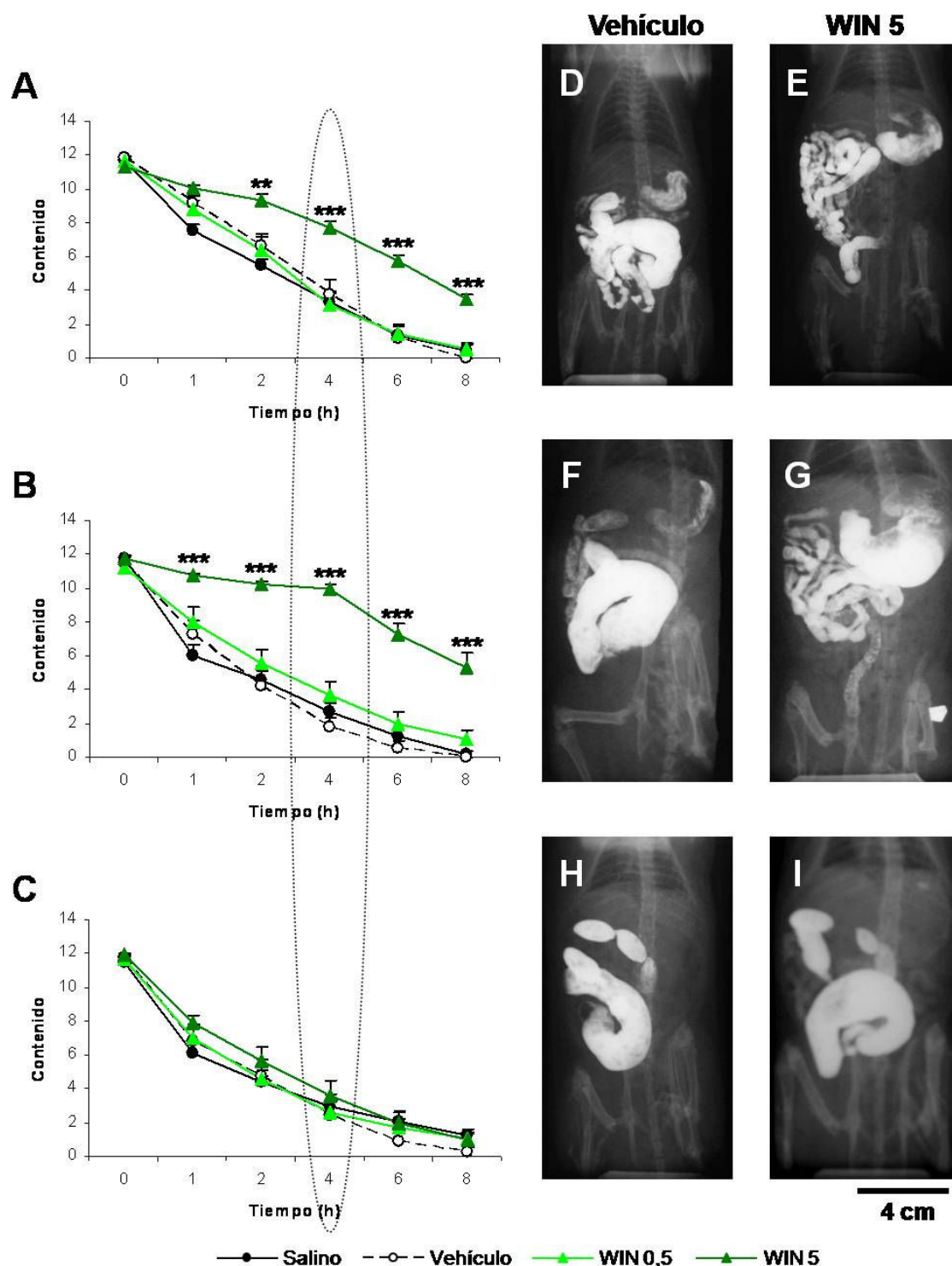


Figura 4.11. Efecto de la administración crónica semanal del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en el vaciamiento gástrico en rata. El vaciamiento gástrico se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Una vez a la semana, durante 4 semanas, las ratas recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), vehículo de WIN (Vehículo) y WIN 55,212-2 a las dosis de 0.5 (WIN 0.5) y 5 mg/kg (WIN 5). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A), tras la última (efecto crónico, B) y una semana después de la última administración (efecto residual, C). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs Vehículo (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). D-I: imágenes radiográficas representativas de ratas tratadas con Vehículo y WIN 5 tomadas 2 horas después de la administración del contraste. $n=8-12$ para cada grupo.

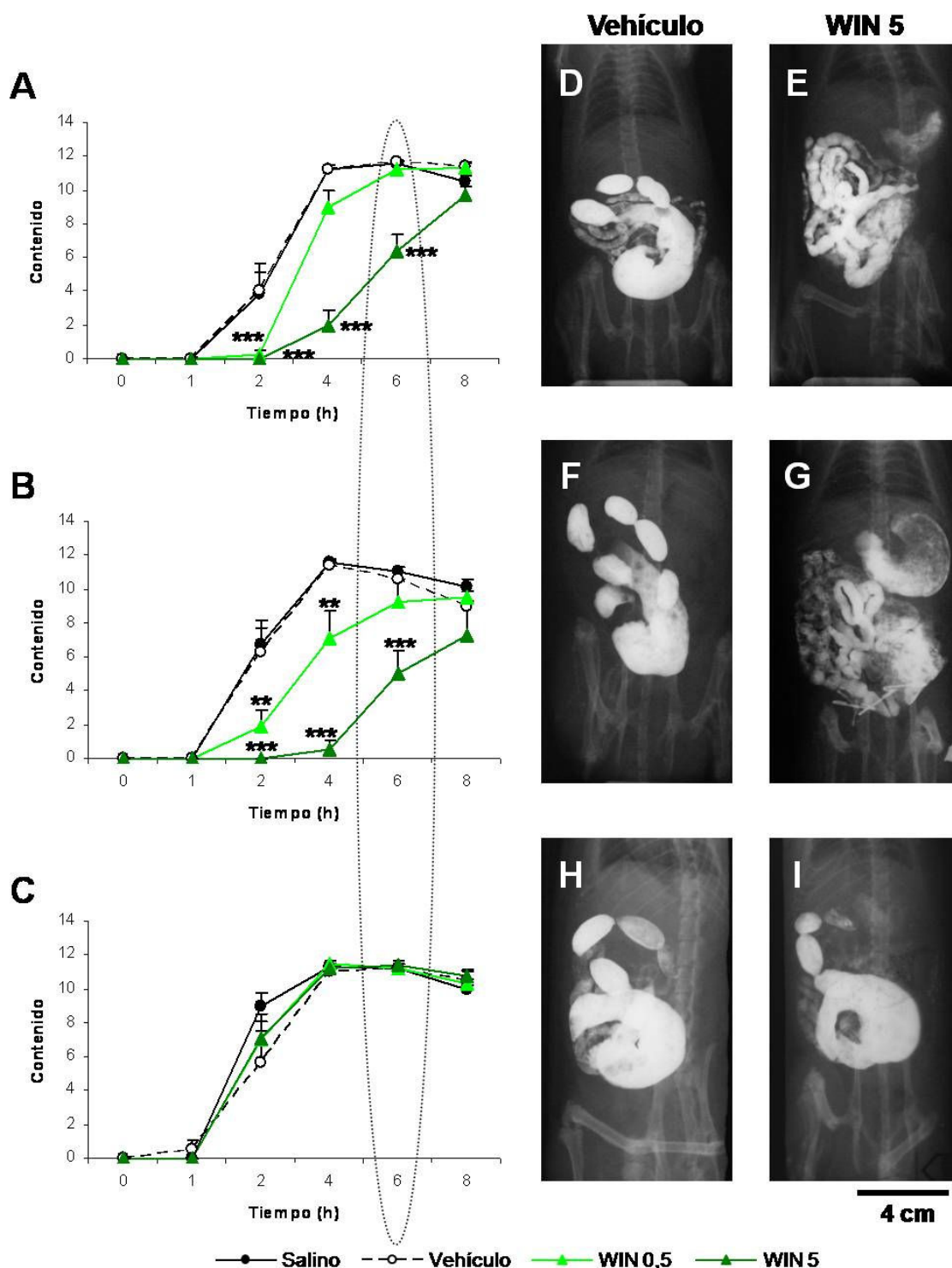


Figura 4.12. Efecto de la administración crónica semanal del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en la función motora del intestino delgado en rata. La función motora se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Una vez a la semana, durante 4 semanas, las ratas recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), vehículo de WIN (Vehículo) y WIN 55,212-2 a las dosis de 0.5 (WIN 0.5) y 5 mg/kg (WIN 5). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A), tras la última (efecto crónico, B) y una semana después de la última administración (efecto residual, C). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs Vehículo (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). D-I: imágenes radiográficas representativas de ratas tratadas con Vehículo y WIN 5 tomadas 2 horas después de la administración del contraste. $n = 8-12$ para cada grupo.

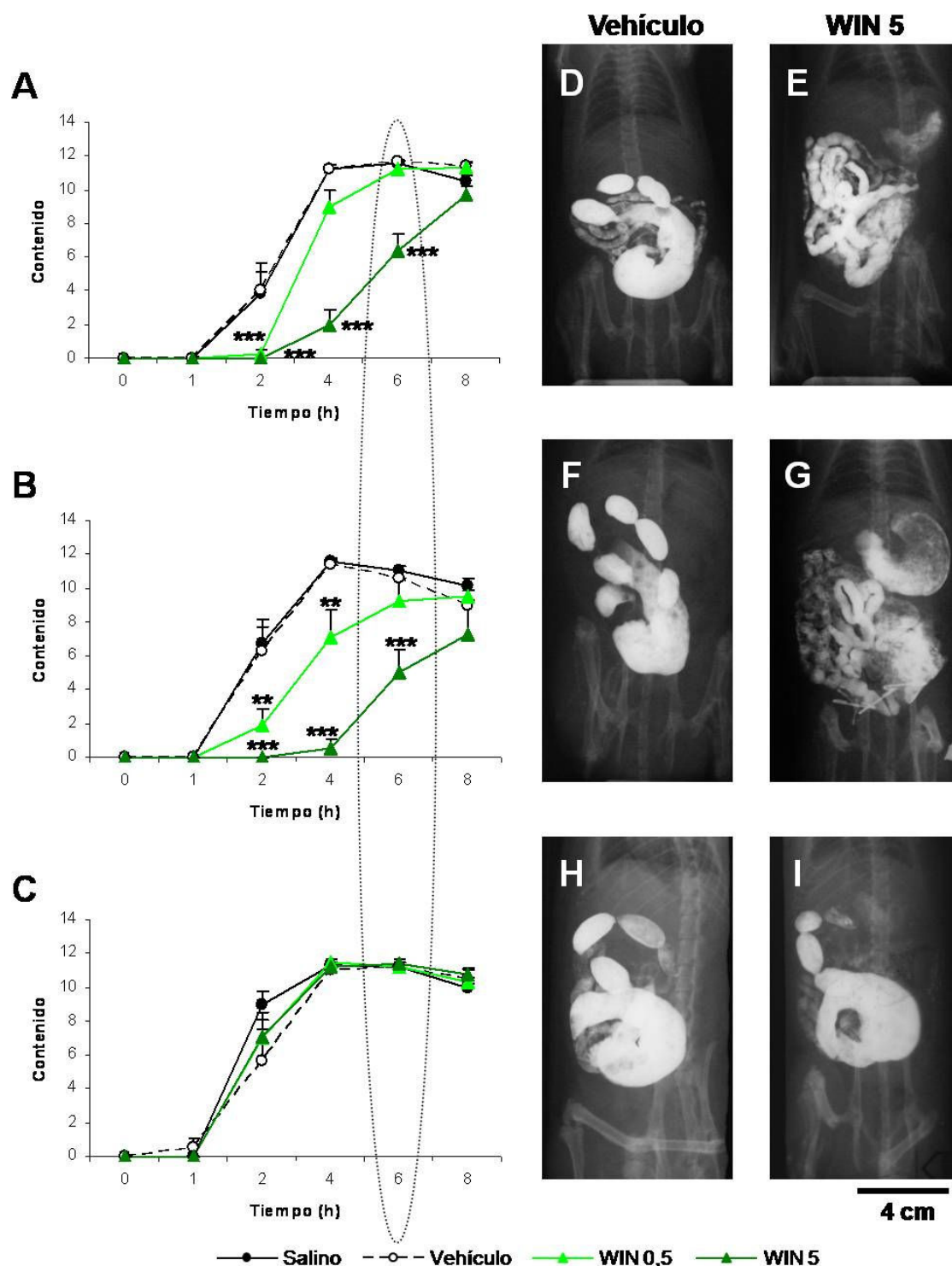


Figura 4.13. Efecto de la administración crónica semanal del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en la función motora del ciego en rata. La función motora se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Una vez a la semana, durante 4 semanas, las ratas recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), vehículo de WIN (Vehículo) y WIN 55,212-2 a las dosis de 0.5 (WIN 0.5) y 5 mg/kg (WIN 5). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A), tras la última (efecto crónico, B) y una semana después de la última administración (efecto residual, C). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs Vehículo (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). D-I: imágenes radiográficas representativas de ratas tratadas con Vehículo y WIN 5 tomadas 6 horas después de la administración del contraste. $n=8-12$ para cada grupo.

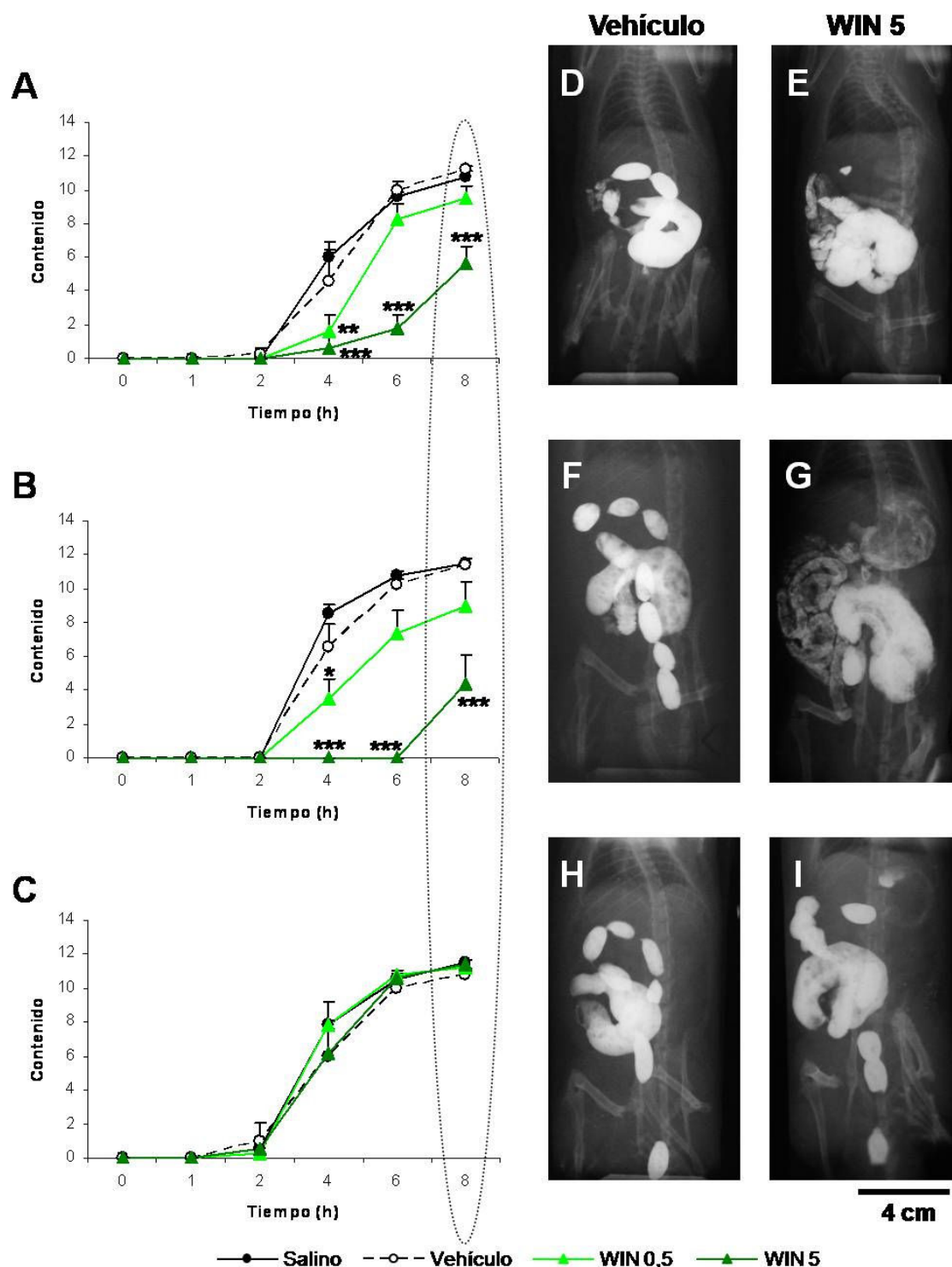


Figura 4.14. Efecto de la administración crónica semanal del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en la función motora de la región colorrectal en rata. La función motora se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Una vez a la semana, durante 4 semanas, las ratas recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), vehículo de WIN (Vehículo) y WIN 55,212-2 a las dosis de 0.5 (WIN 0.5) y 5 mg/kg (WIN 5). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A), tras la última (efecto crónico, B) y una semana después de la última administración (efecto residual, C). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs Vehículo (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). D-I: imágenes radiográficas representativas de ratas tratadas con Vehículo y WIN 5 tomadas 8 horas después de la administración del contraste. $n = 8-12$ para cada grupo.

2 - EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE CISPLATINO.

2.1 - ESTADO GENERAL.

La administración crónica semanal de cisplatino provocó la aparición de debilidad física, irritabilidad y piloerección, especialmente en algunos individuos tratados con dosis altas de cisplatino. De hecho, la dosis de 3 mg/kg de cisplatino resultó muy tóxica, y provocó la muerte de dos animales en la última semana de tratamiento. Las medias obtenidas para este grupo pueden haberse visto alteradas por este hecho.

El cisplatino también produjo un retraso dosis-dependiente en la ganancia de peso. Los animales tratados con la dosis más alta (3 mg/kg) llegaron, incluso, a perder peso (figura 4.15)

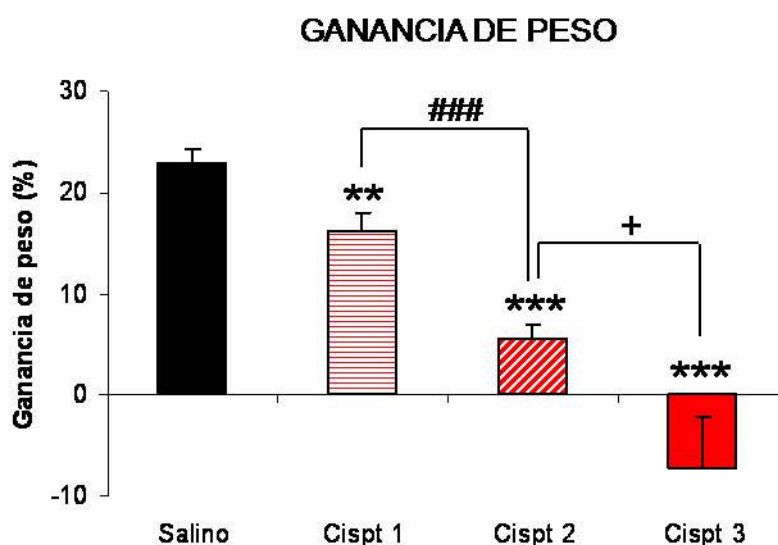


Figura 4.15. Efecto de la administración crónica de cisplatino sobre la ganancia de peso en rata. Los animales recibieron por vía i.p. una vez a la semana durante 4 semanas suero salino (1-2 ml/kg) o cisplatino (Cispt 1, 2, o 3 mg/kg). Los datos se expresan como el porcentaje de ganancia de peso entre el primer y último día de tratamiento y se representan como la media \pm E.E.M. ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs salino; ### ($p < 0.001$) vs Cispt 1; + ($p < 0.05$) vs Cispt 2 (t de Student de datos desapareados con corrección de Welch). $n = 18-24$ en cada grupo.

Una semana después de la última administración de cisplatino no se observaron diferencias en la actividad locomotora espontánea. Sin embargo, el cisplatino sí produjo una pequeña, pero significativa reducción dosis-dependiente de la temperatura corporal de los animales (figura 4.16).

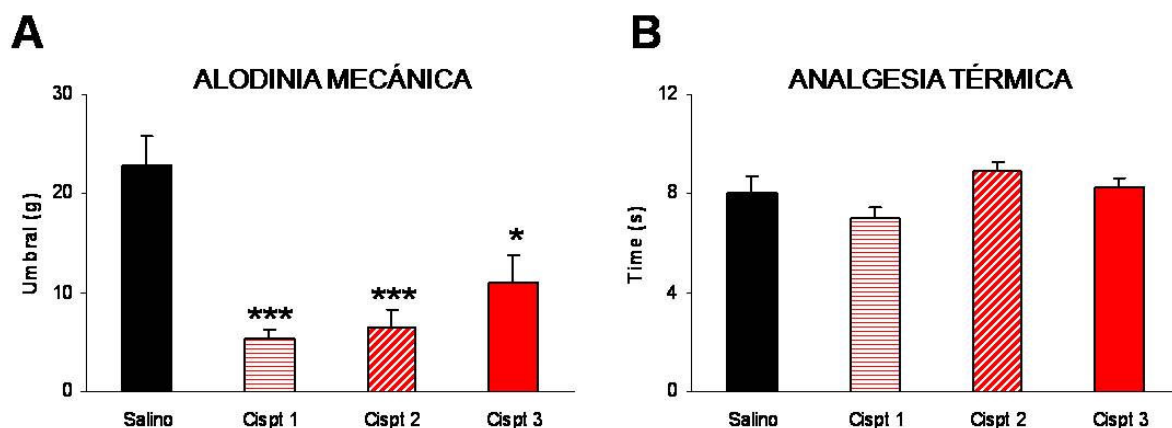


Figura 4.16. Efectos de la administración crónica de cisplatino sobre la locomoción espontánea y la temperatura en rata. Los animales recibieron por vía i.p. una vez a la semana durante 4 semanas salino (1-2 ml/kg) o cisplatino (Cispt 1, 2, o 3 mg/kg). Las medidas de la locomoción espontánea (A) y de la temperatura (B) de los animales se llevaron a cabo una semana después de la finalización del tratamiento crónico. Las barras muestran la media \pm E.E.M. * ($p < 0.05$) vs salino (t de Student de datos desapareados). $n = 8$ en cada grupo.

Como se esperaba, el tratamiento con cisplatino produjo alodinia mecánica. El descenso en los valores umbral de respuesta a los filamentos de von Frey fue máximo ya a la dosis de 1 mg/kg, sin que dosis superiores produjeran mayores modificaciones. El tiempo de latencia en el plantar test no se vio afectado por la administración crónica de cisplatino a ninguna de las dosis utilizadas (figura 4.17).

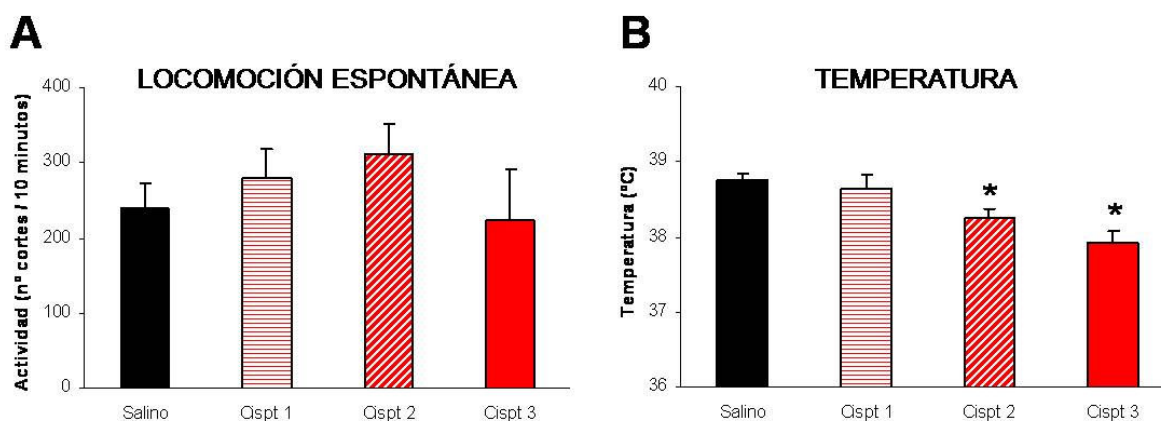


Figura 4.17. Alodinia mecánica e hiperalgesia térmica producida por la administración crónica de cisplatino en rata. Los animales recibieron por vía i.p. una vez a la semana durante 4 semanas salino (1-2 ml/kg) o cisplatino (Cispt 1, 2, o 3 mg/kg). Las medidas de la alodinia mecánica (A) y de la hiperalgesia térmica (B) de los animales se llevaron a cabo una semana después de la finalización del tratamiento crónico. Los resultados se expresan como la media \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), *** ($p < 0.001$) vs salino (t de Student de datos desapareados con corrección de Welch). $n = 12-18$ en cada grupo.

2.2 - MOTILIDAD GASTROINTESTINAL.

En los animales tratados con salino, el vaciamiento gástrico comenzó inmediatamente tras la administración del contraste, quedando prácticamente vacío entre 6 y 8 horas después. El intestino delgado alcanzó su máximo llenado entre la primera y la segunda hora tras la administración del contraste; alrededor de 4 horas después se encontraba a mitad de su vaciamiento. Por su parte, el ciego y la región colorrectal comenzaron a llenarse, respectivamente, a las 2 y 4 horas. Estos patrones de motilidad en animales tratados con salino se mantuvieron a lo largo del tratamiento crónico (figuras 4.18, 4.19, 4.20 y 4.21).

Como se esperaba, la administración aguda de cisplatino produjo un retraso del vaciamiento gástrico, sin afectar prácticamente al resto de regiones (intestino delgado, ciego y región colorrectal). Este retraso fue dosis dependiente y mientras en los animales tratados con las dosis más bajas (1 y 2 mg/kg), ésta no se manifestó hasta pasadas las 4 horas después de la administración del fármaco, en las ratas tratadas con la dosis más elevada (3 mg/kg), la reducción fue visible desde el principio (figura 4.18A). En cuanto al intestino, sólo se observó un ligero, pero significativo, retraso en el llenado de la región colorrectal (figuras 4.19A, 4.20A y 4.21A).

El retraso en el vaciamiento gástrico tras el tratamiento crónico se intensificó levemente con la dosis intermedia de 2 mg/kg, pero no con el resto de dosis (1 y 3 mg/kg) (figura 4.18B). Además, morfológicamente, se observa un aumento de tamaño del perímetro estomacal tras cuatro administraciones de cisplatino, sin que esto afecte a la velocidad del vaciamiento gástrico (figura 4.18D-G). En el resto de regiones se observaron pequeños, pero significativos, retrasos en el vaciamiento del intestino delgado y en el llenado del ciego y la región colorrectal, tras la última administración de cisplatino (figuras 4.19B, 4.20B y 4.21B).

No se observaron efectos residuales del cisplatino en el vaciamiento gástrico, una semana después de finalizar el tratamiento. En cuanto al resto de regiones analizadas, sólo se detectó un ligero, aunque significativo, retraso en el vaciamiento del intestino delgado y el llenado del ciego (Figuras 4.18C, 4.19C, 4.20C y 4.21C).

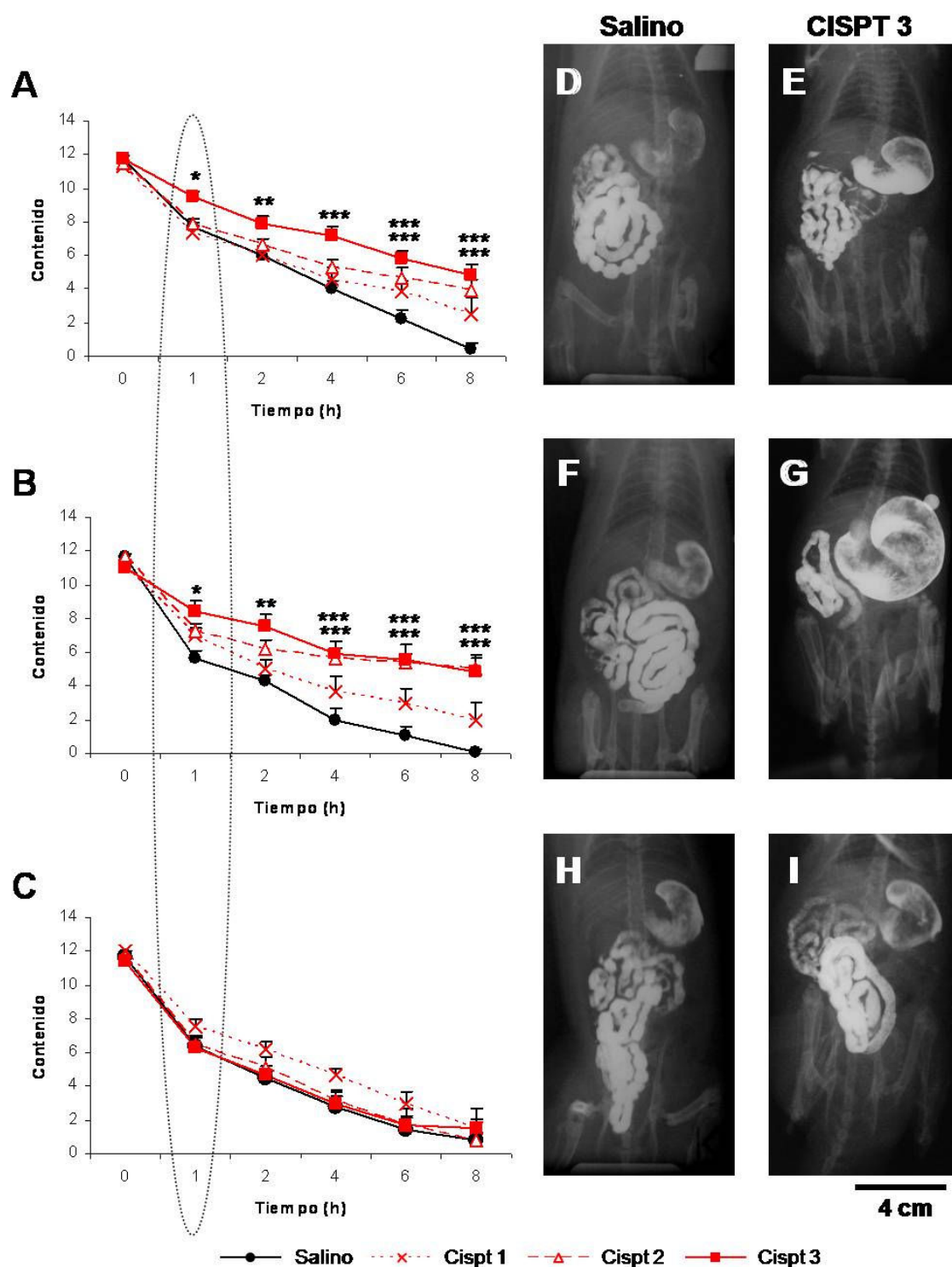


Figura 4.18. Efecto de la administración crónica de cisplatino en el vaciamiento gástrico en rata. El vaciamiento gástrico se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg) o cisplatino (Cispt 1, 2 o 3 mg/kg). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A), tras la última administración (efecto crónico, B) y una semana después de la última administración (efecto residual, C). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs salino (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). $n = 8-16$ para cada grupo. D-I: imágenes radiográficas representativas de ratas tratadas con salino y CISPT 3 tomadas 1 hora después de la administración del contraste.

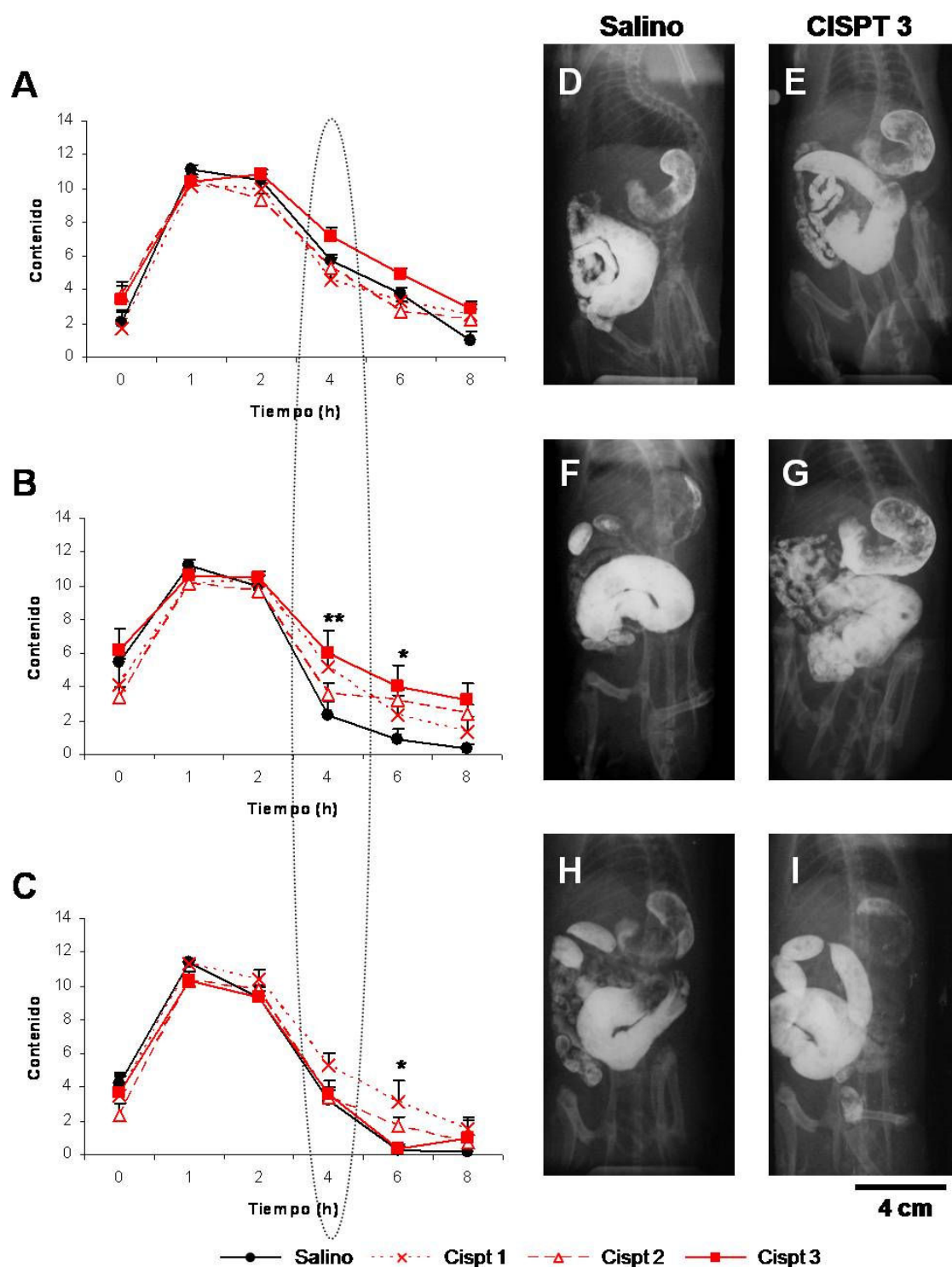


Figura 4.19. Efecto de la administración crónica de cisplatino en la función motora del intestino delgado en rata. La función motora se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg) o cisplatino (Cispt 1, 2 o 3 mg/kg). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A), tras la última (efecto crónico, B) y una semana después de la última administración (efecto residual, C). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$) vs salino (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). $n = 8-16$ para cada grupo. D-I: imágenes radiográficas representativas de ratas tratadas con salino y CISPT 3 tomadas 4 horas después de la administración del contraste.

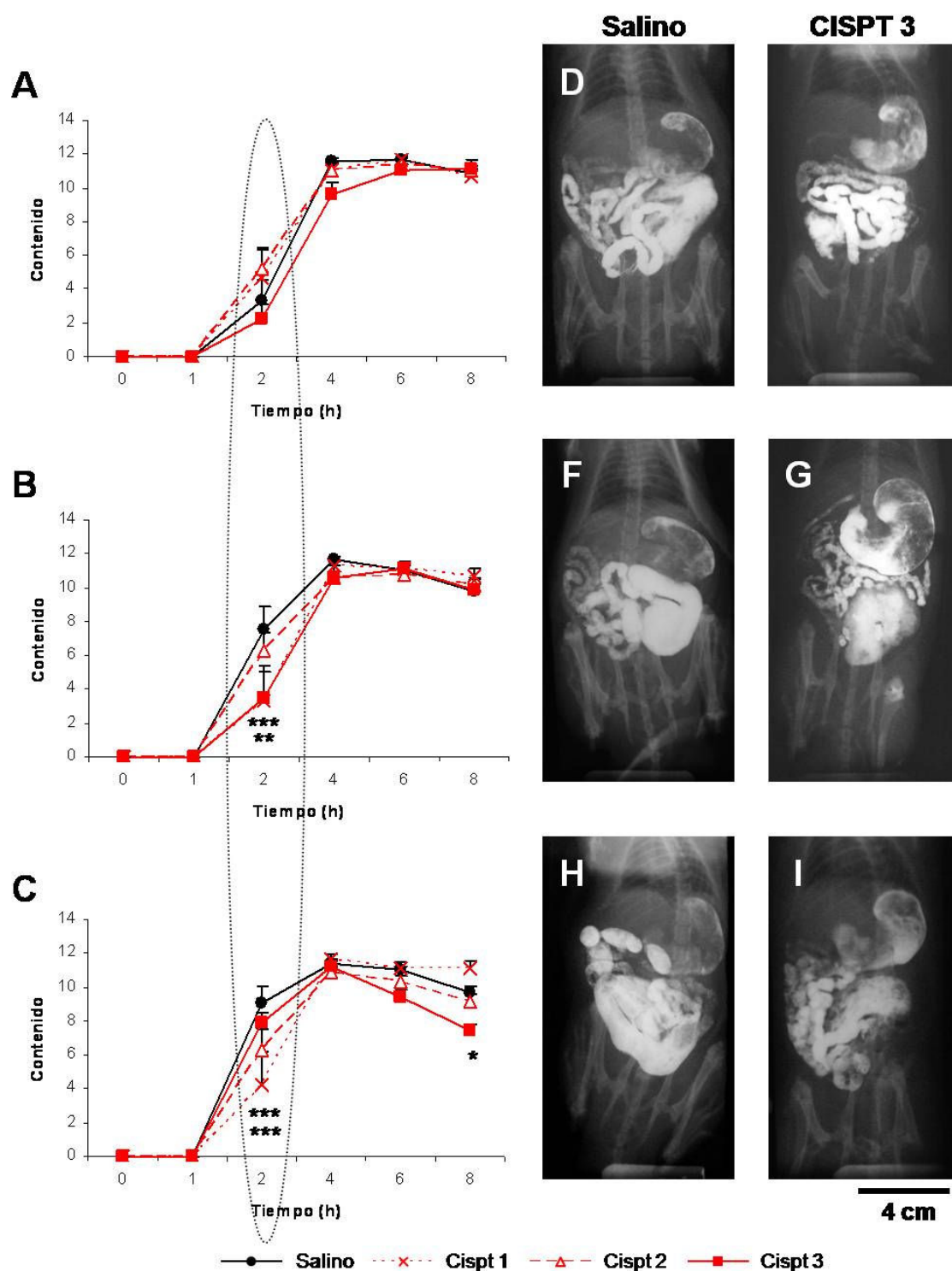


Figura 4.20. Efecto de la administración crónica de cisplatino en la función motora del ciego en rata. La función motora se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg) o cisplatino (Cispt 1, 2 o 3 mg/kg). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A), tras la última (efecto crónico, B) y una semana después de la última administración (efecto residual, C). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs salino (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). $n = 8-16$ para cada grupo. D-I: imágenes radiográficas representativas de ratas tratadas con salino y CISPT 3 tomadas 2 horas después de la administración del contraste.

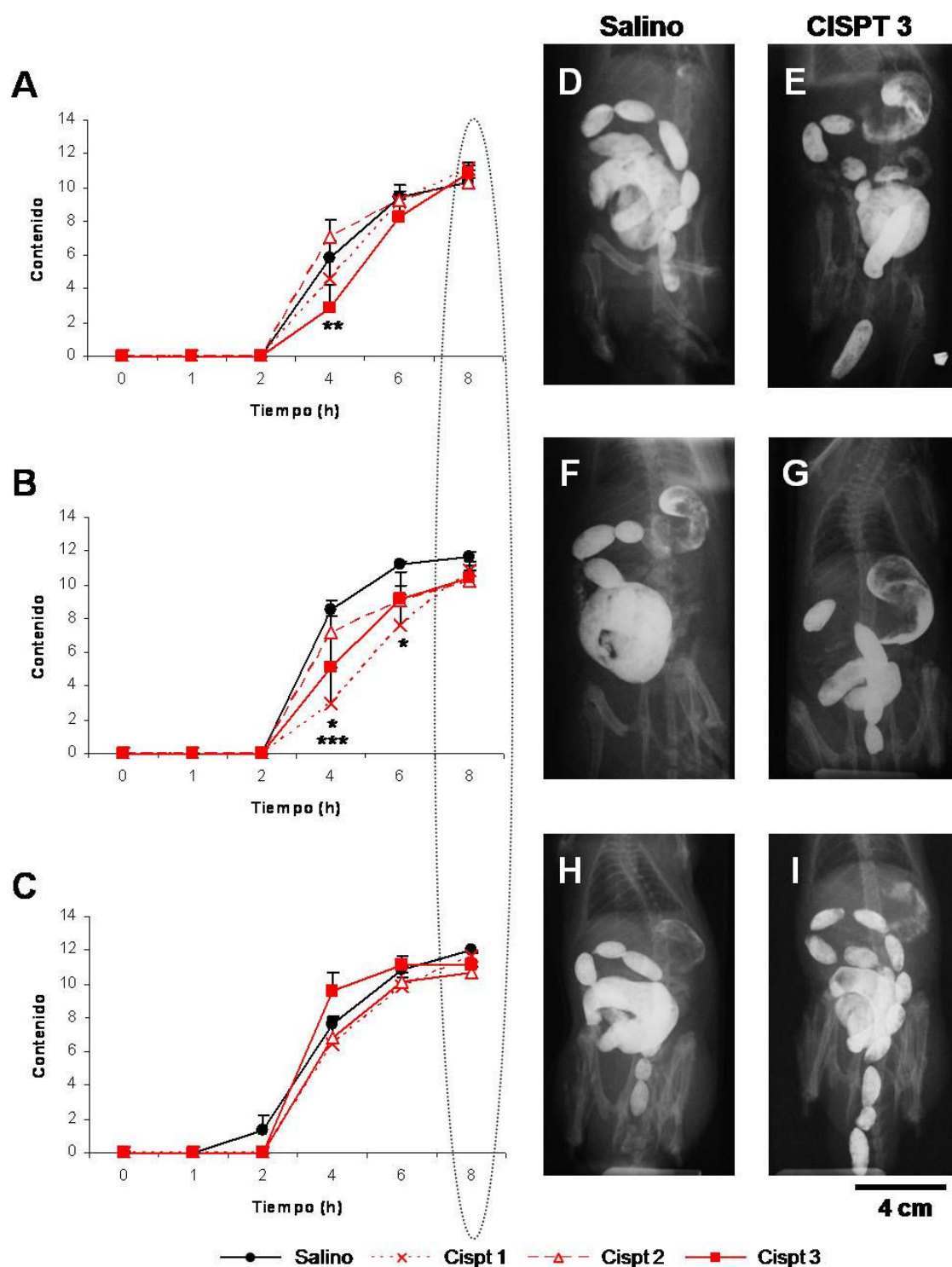


Figura 4.21. Efecto de la administración crónica de cisplatino en la función motora de la región colorrectal en rata. La función motora se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg) o cisplatino (Cispt 1, 2 o 3 mg/kg). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A), tras la última (efecto crónico, B) y una semana después de la última administración (efecto residual, C). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$) vs salino (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). $n = 8-16$ para cada grupo. D-I: imágenes radiográficas representativas de ratas tratadas con salino y CISPT 3 tomadas 8 horas después de la administración del contraste.

3 - EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN SEMANAL DE WIN 55,212 EN ANIMALES SOMETIDOS A TRATAMIENTO CRÓNICO CON CISPLATINO.

El efecto de la administración de WIN en animales sometidos a tratamiento crónico con cisplatino se evaluó utilizando la pauta de tratamiento semanal con el cannabinoide, por la relativamente baja repercusión de este protocolo de administración crónica sobre el estado general de los animales, además de ser capaz de contrarrestar la alodinia mecánica asociada al tratamiento crónico con cisplatino (Vera y cols., 2007). Para el tratamiento crónico con cisplatino, se eligió la dosis de 2 mg/kg por ser la que más efecto producía sin causar la muerte de ningún animal.

Se utilizaron las siguientes dosis de WIN: 0.5, 1 y 2 mg/kg. Teniendo en cuenta que en el punto anterior ya se han estudiado los efectos de distintas dosis de WIN y su vehículo y con el fin de simplificar la exposición de los resultados, en este apartado no se muestran los efectos de estos fármacos, salvo que se diga lo contrario.

3.1 – ESTADO GENERAL.

Como se ha mostrado anteriormente, en administración crónica semanal, ni WIN ni su vehículo *per se* produjeron modificaciones en la ganancia de peso de los animales ni en los valores umbral de respuesta a los filamentos de von Frey. Cuando WIN se administró de manera previa al cisplatino no sólo no consiguió prevenir la disminución en la ganancia de peso, si no que, incluso, a las dosis de 1 y 2 mg/kg potenció el efecto del antitumoral (figura 4.22). Sin embargo, la administración de WIN previno la aparición de la alodinia mecánica causada por cisplatino, medida una semana después de la finalización de los distintos tratamientos (figura 4.23). No se produjo mortalidad en ninguno de los grupos de cotratamiento.

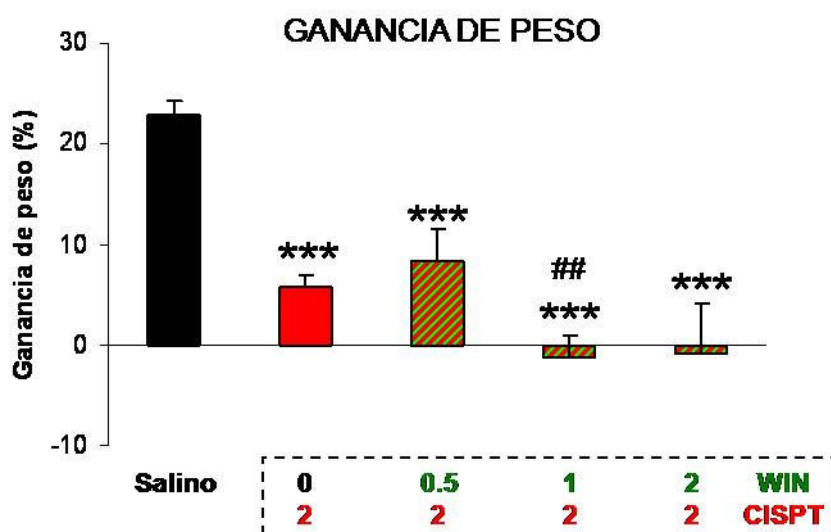


Figura 4.22. Efecto de la administración crónica semanal del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 sobre la ganancia de peso de ratas tratadas con cisplatino. Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg) o cisplatino (CISPT, 2 mg/kg), solo o combinado con WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 0.5, 1 o 2 mg/kg. El WIN se administró 30 min antes del cisplatino. Los datos se expresan como el porcentaje de ganancia de peso entre el primer y último día de tratamiento y se representan como la media \pm E.E.M. *** ($p < 0.001$) vs salino; ## ($p < 0.01$) vs CISPT 2 (t de Student de datos desapareados con corrección de Welch). $n = 8-16$ para cada grupo.

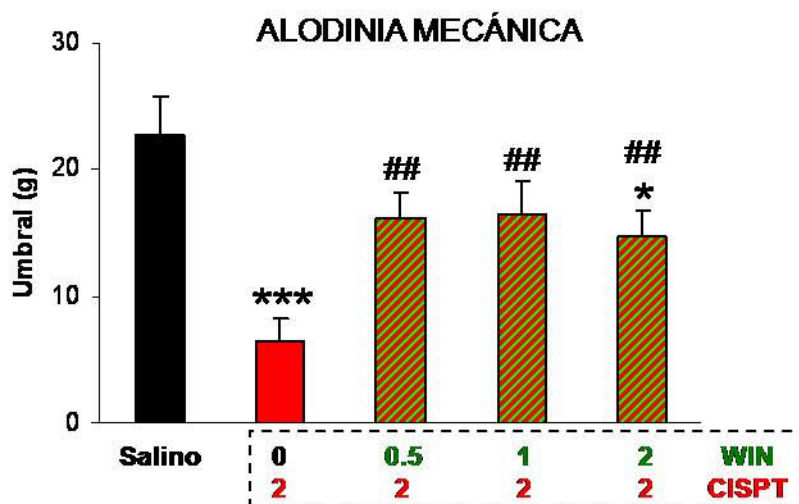


Figura 4.23. Efecto de la administración crónica del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 sobre el desarrollo de alodinia mecánica en ratas tratadas con cisplatino. Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), cisplatino (CISPT, 2 mg/kg) solo o combinado con WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 0.5, 1 o 2 mg/kg. El WIN se administró 30 min antes del cisplatino. Los datos se expresan como el porcentaje de ganancia de peso entre el primer y último día de tratamiento y se representan como la media \pm E.E.M. * ($p < 0.05$), *** ($p < 0.001$) vs salino; ## ($p < 0.01$) vs CISPT 2 (t de Student de datos desapareados con corrección de Welch). $n = 8$ para cada grupo.

3.2 – EFECTOS PSICOACTIVOS.

De los distintos parámetros centrales evaluados, una semana después de la finalización de los distintos tratamientos, sólo se observó una ligera reducción de la temperatura rectal una semana después de finalizar el tratamiento crónico con cisplatino. La administración previa de WIN no modificó el efecto hipotérmico del cisplatino, así como tampoco modificó significativamente ninguno de los demás valores obtenidos con el cisplatino (figura 4.24).

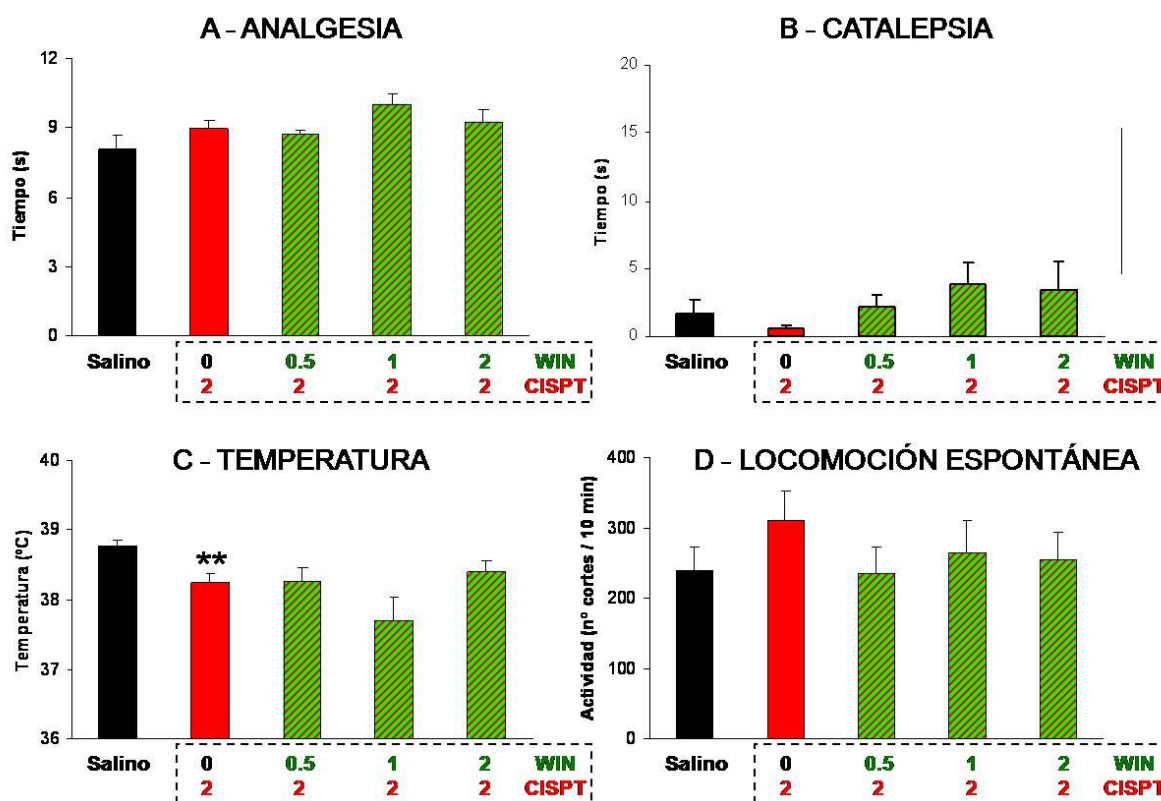


Figura 4.24. Efectos psicoactivos de un tratamiento crónico con cisplatino y el agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en la rata. Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), cisplatino (CISPT, 2 mg/kg) solo o combinado con WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 0.5, 1 y 2 mg/kg. El WIN se administró 30 min antes del cisplatino. Se realizaron las siguientes pruebas para evaluar la aparición de efectos cannabinoides psicoactivos (tetrada cannabinoide): A-analgésia térmica (plantar test); B-catalepsia; C-temperatura rectal; D-locomoción espontánea (actímetro). Estas pruebas se realizaron una semana después de la última administración. Las barras muestran las medias \pm E.E.M. ** ($p < 0.01$) vs salino (t de Student de datos desapareados con corrección de Welch cuando fue necesario). $n=8$ para todos los grupos.

3.3 – MOTILIDAD GASTROINTESTINAL.

La velocidad de vaciamiento gástrico no se modificó por la administración aguda de WIN 55,212-2 (figura 4.25A). Este compuesto tampoco consiguió prevenir el retraso producido por el cisplatino. Incluso, en los animales tratados con cisplatino y WIN a dosis psicoactivas (2 mg/kg), éste retraso fue significativamente mayor. Además, mientras el efecto del cisplatino tardaba unas 6 horas en manifestarse, el retraso producido por la administración conjunta de WIN (2 mg/kg) y cisplatino era significativo, 2 horas después de la administración de los fármacos (figura 4.25D).

Aunque la administración aguda de WIN no tuvo efecto sobre la motilidad gástrica, tras cuatro administraciones semanales se observó un retraso en la velocidad de vaciamiento gástrico a las dosis de 1 y 2 mg/kg (figuras 4.25B, 4.29). Este retraso aparecía en las 2-4 primeras horas, recuperándose después la velocidad normal de vaciado. La administración crónica de WIN tampoco previno los efectos del cisplatino en el vaciamiento gástrico y, por contra, potenció significativamente el retraso producido por el cisplatino. De hecho, el estómago de estos animales permaneció prácticamente lleno durante el tiempo que duró el experimento (figuras 4.25E, 4.29).

Como se describió anteriormente, la región intestinal es más sensible al efecto del WIN. Así, incluso a la dosis más baja (0.5 mg/kg), se produjo una reducción aguda del tránsito intestinal (figuras 4.27A, 4.28A). Frente a la falta de efecto agudo y crónico del cisplatino en la motilidad intestinal, la administración conjunta de WIN y cisplatino retrasó de manera dosis-dependiente el tránsito en todas las regiones analizadas (intestino delgado, ciego y colorrecto). El efecto crónico de la administración conjunta de ambos fármacos fue significativamente más intenso que el agudo, incluso cuando se utilizaron dosis no psicoactivas (0.5, 1 mg/kg) de WIN, salvo en la región colorrectal (figuras 4.26B, E; 4.27B, E; 4.28B, E; 4.29).

Una semana después de la última administración de WIN, únicamente se observó una ligera, pero significativa, aceleración en el llenado del ciego y la región colorrectal, sin que aparecieran modificaciones residuales de la velocidad de vaciamiento gástrico. La administración de WIN en animales sometidos a tratamiento con cisplatino produjo un retraso residual del tránsito intestinal así como del vaciamiento gástrico (figuras 4.25C, F; 4.26C, F; 4.27C, F; 4.28C, F; 4.30).

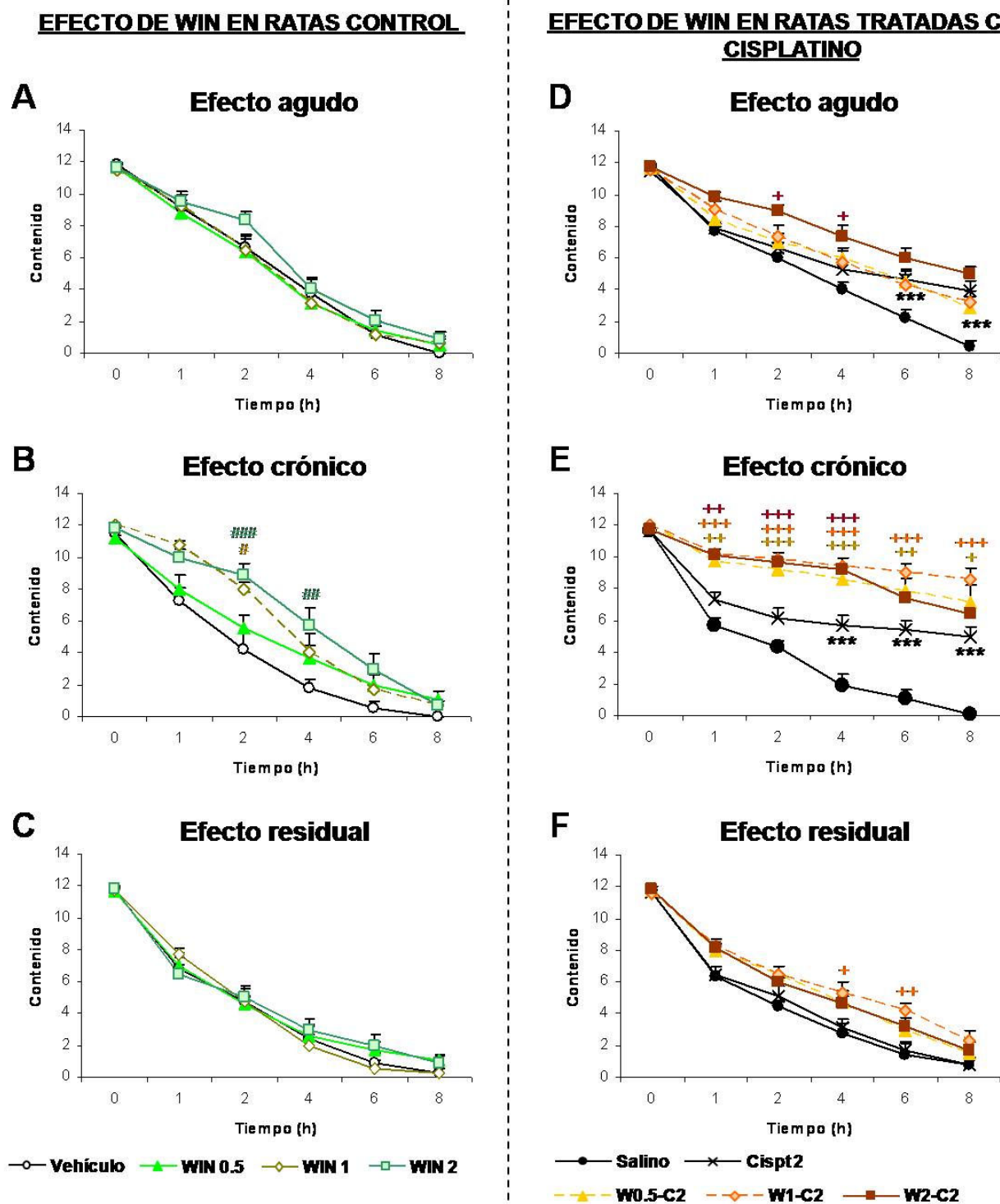


Figura 4.25. Efecto de la administración crónica del agonista cannabinoide WIN 55,212-2, solo o en ratas tratadas con cisplatino, sobre el vaciamiento gástrico. El vaciamiento gástrico se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), vehículo, WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 0.5 (WIN 0.5), 1 (WIN 1) o 2 mg/kg (WIN 2), solo (A, B, C) o conjuntamente con cisplatino 2 mg/kg (Cispt 2) y WIN a las dosis de 0.5 (W0.5-C2), 1 (W1-C2) o 2 mg/kg (W2-C2) (D, E, F). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A, D), tras la última (efecto crónico, B, E) y una semana después de la última administración (efecto residual, C, F). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. *** ($p < 0.001$) vs Salino; # ($p < 0.05$), ## ($p < 0.01$), ### ($p < 0.001$) vs Vehículo; + ($p < 0.05$), ++ ($p < 0.01$), +++ ($p < 0.001$) vs CISPT 2 (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). $n=8-16$ para cada grupo.

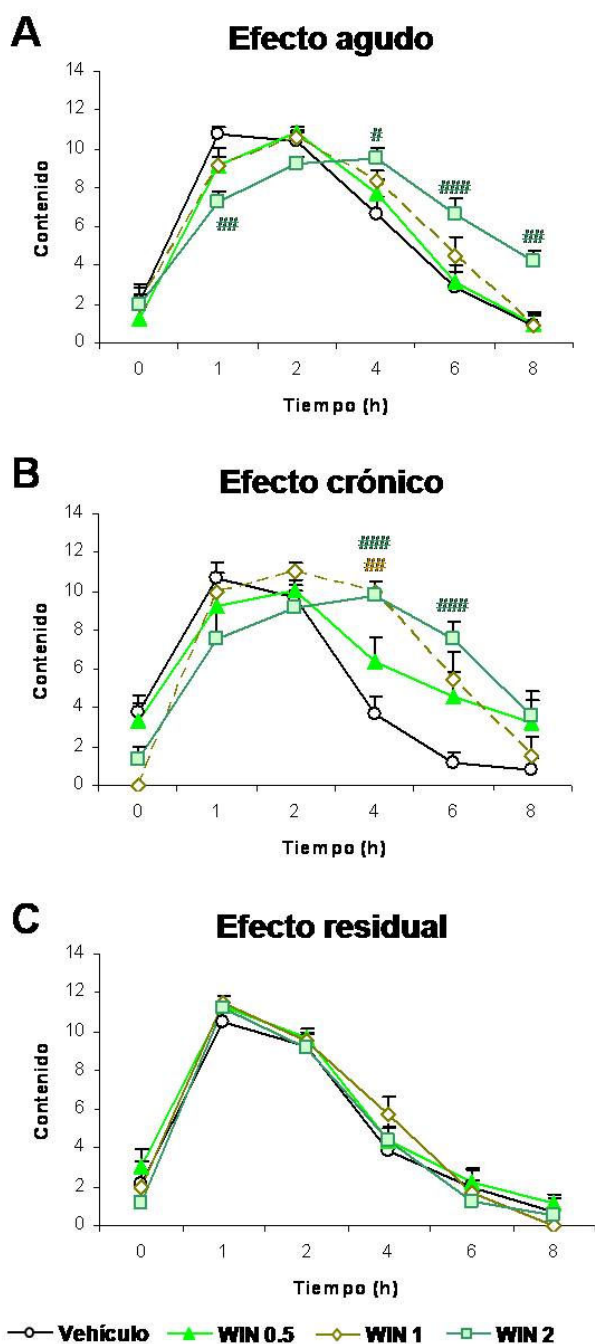
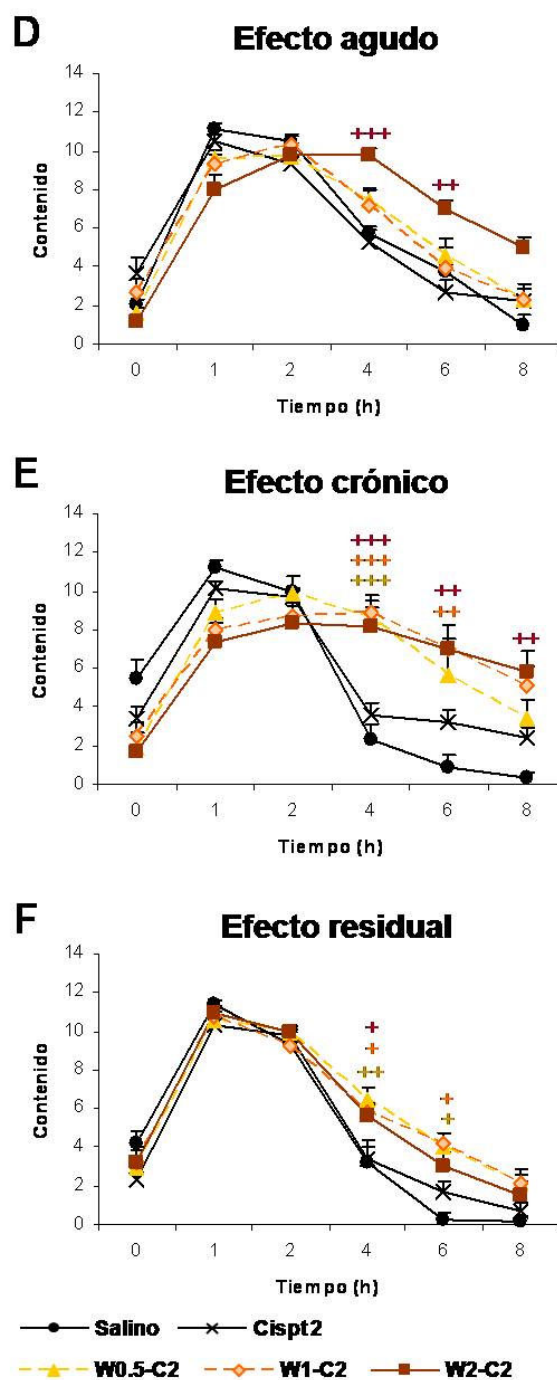
EFFECTO DE WIN EN RATAS CONTROL**EFFECTO DE WIN EN RATAS TRATADAS CON CISPLATINO**

Figura 4.26. Efecto de la administración crónica del agonista cannabinoide WIN 55,212-2, solo o en ratas tratadas con cisplatino, sobre la función motora del intestino delgado. La función motora se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), vehículo, WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 0.5 (WIN 0.5), 1 (WIN 1) o 2 mg/kg (WIN 2), solo (A, B, C) o conjuntamente con cisplatino 2 mg/kg (Cispt 2) y WIN a las dosis de 0.5 (W0.5-C2), 1 (W1-C2) o 2 mg/kg (W2-C2) (D, E, F). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A, D), tras la última (efecto crónico, B, E) y una semana después de la última administración (efecto residual, C, F). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. # ($p < 0.05$), ## ($p < 0.01$), ### ($p < 0.001$) vs Vehículo; + ($p < 0.05$), ++ ($p < 0.01$), +++ ($p < 0.001$) vs CISPT 2 (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). $n=8-16$ para cada grupo.

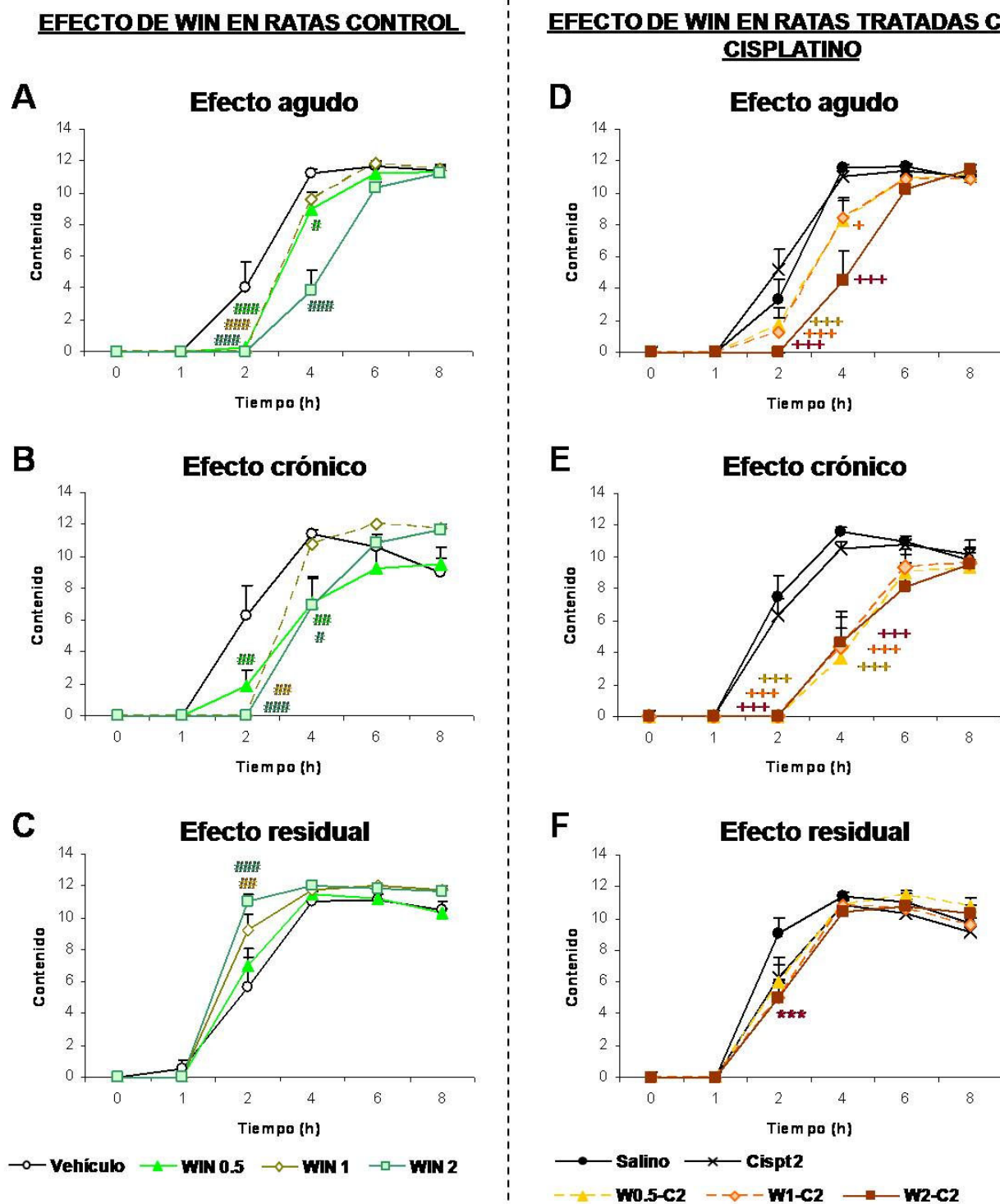


Figura 4.27. Efecto de la administración crónica del agonista cannabinoide WIN 55,212-2, solo o en ratas tratadas con cisplatino, sobre la función motora del ciego. La función motora se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), vehículo, WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 0.5 (WIN 0.5), 1 (WIN 1) o 2 mg/kg (WIN 2), solo (A, B, C) o conjuntamente con cisplatino 2 mg/kg (Cispt 2) y WIN a las dosis de 0.5 (W0.5-C2), 1 (W1-C2) o 2 mg/kg (W2-C2) (D, E, F). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A, D), tras la última (efecto crónico, B, E) y una semana después de la última administración (efecto residual, C, F). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. # ($p < 0.05$), ## ($p < 0.01$), ### ($p < 0.001$) vs Vehículo; *** ($p < 0.001$) vs Salino; + ($p < 0.05$), +++ ($p < 0.001$) vs CISPT 2 (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). $n = 8-16$ para cada grupo.

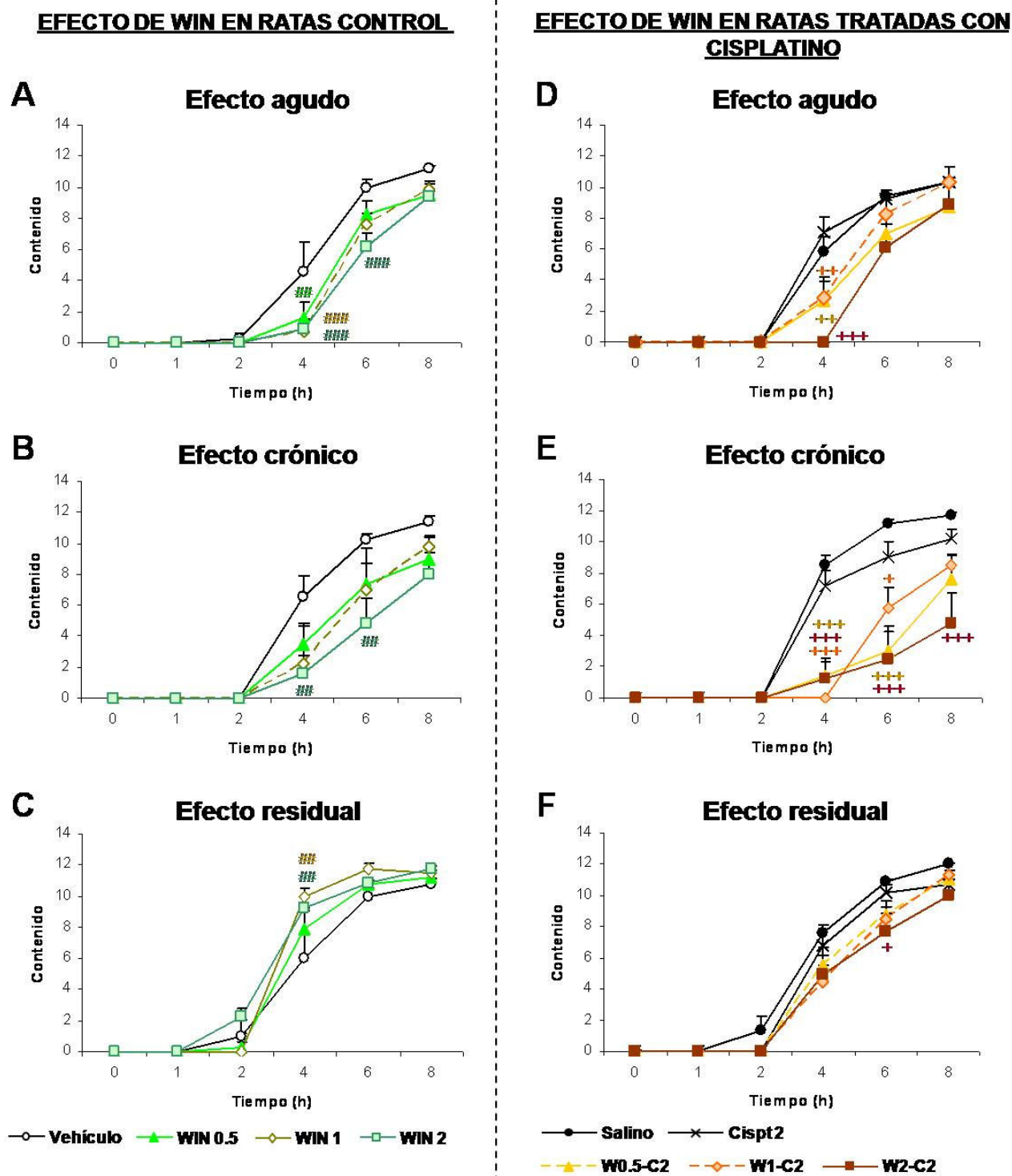


Figura 4.28. Efecto de la administración crónica del agonista cannabinoide WIN 55,212-2, solo o en ratas tratadas con cisplatino, sobre la función motora de la región colorrectal. La función motora se midió mediante técnicas radiológicas (ver texto). Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), vehículo, WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 0.5 (WIN 0.5), 1 (WIN 1) o 2 mg/kg (WIN 2), solo (A, B, C) o conjuntamente con cisplatino 2 mg/kg (Cispt 2) y WIN a las dosis de 0.5 (W0.5-C2), 1 (W1-C2) o 2 mg/kg (W2-C2) (D, E, F). Los valores se obtuvieron tras la primera administración (efecto agudo, A, D), tras la última (efecto crónico, B, E) y una semana después de la última administración (efecto residual, C, F). Se tomaron radiografías 0, 1, 2, 4, 6 y 8 horas después de la administración del bario. Los datos representan la media \pm E.E.M. ## ($p < 0.01$), ### ($p < 0.001$) vs Vehículo; + ($p < 0.05$), +++ ($p < 0.001$) vs CISPT 2 (ANOVA de dos vías seguido de un test de Bonferroni). $n = 8-16$ para cada grupo.

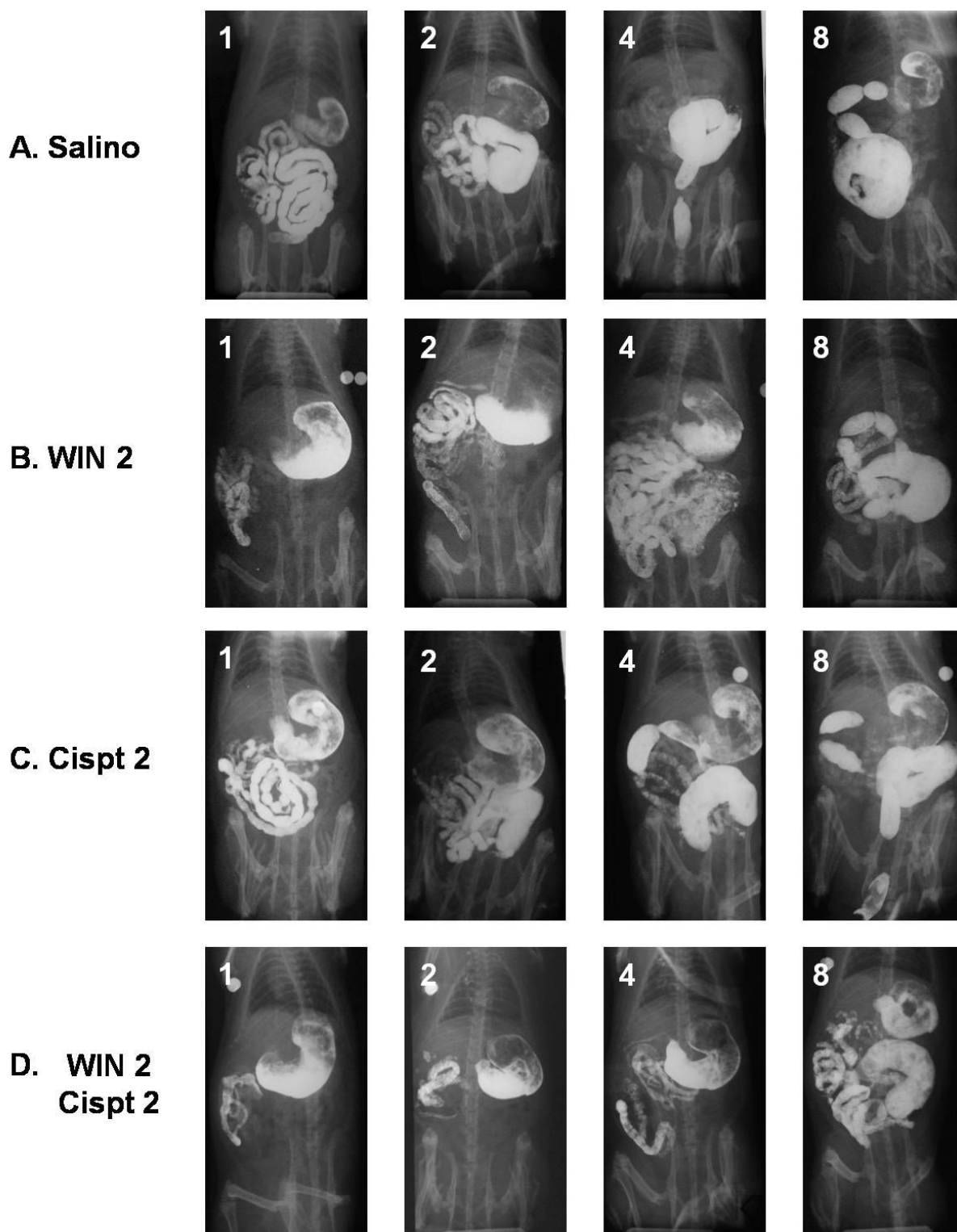


Figura 4.29. Imágenes radiográficas representativas del efecto sobre la motilidad gastrointestinal de un tratamiento crónico con WIN 55,212-2, solo o en ratas tratadas con cisplatino. Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 2 mg/kg (WIN 2), solo o conjuntamente con cisplatino 2 mg/kg. Las imágenes radiográficas se obtuvieron tras la última administración (efecto crónico) y se tomaron 1, 2, 4 y 8 horas después de la administración del bario.

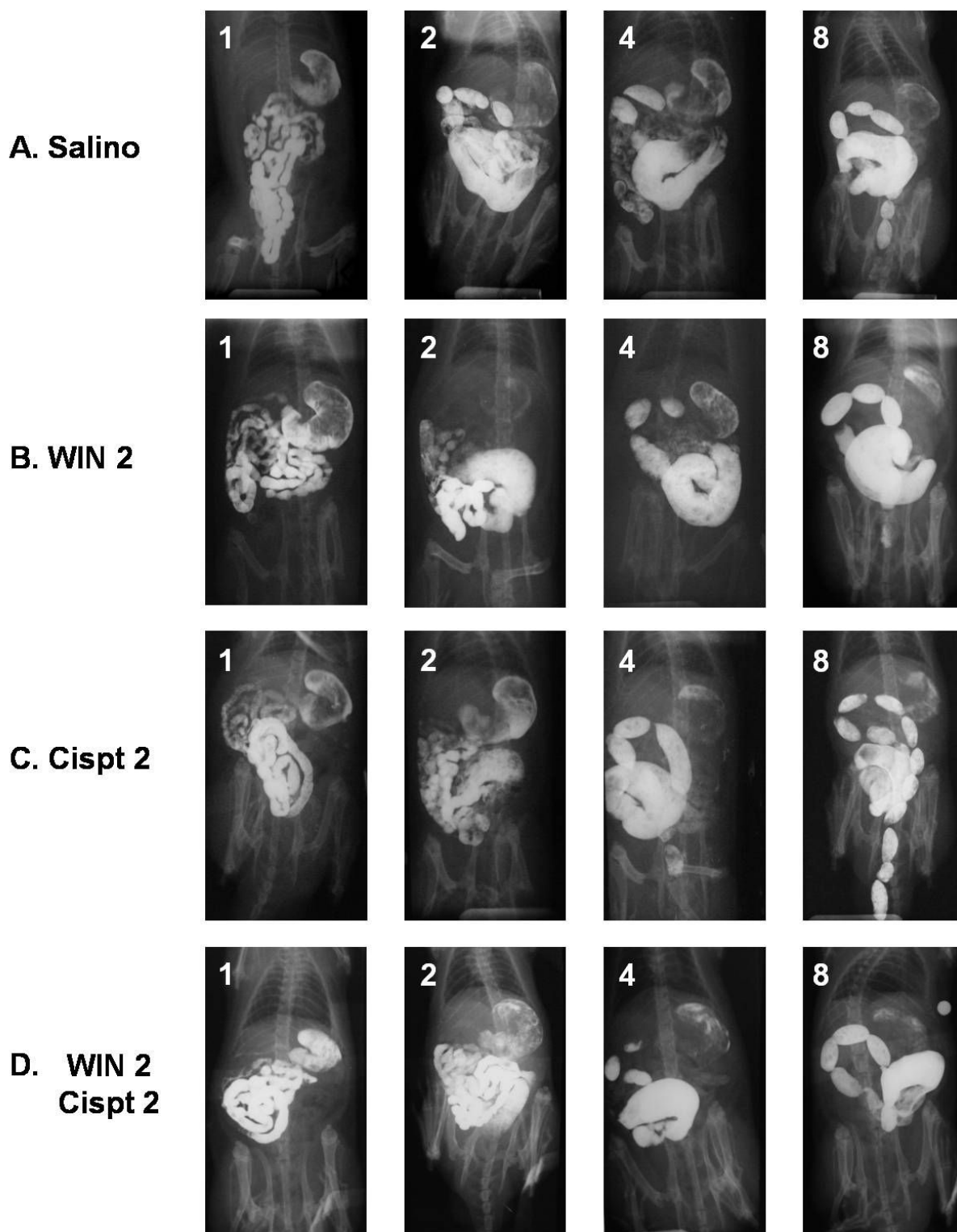


Figura 4.30. Imágenes radiográficas representativas del efecto residual sobre la motilidad gastrointestinal de un tratamiento crónico con WIN 55,212-2, solo o en ratas tratadas con cisplatino. Una vez a la semana, durante 4 semanas, los animales recibieron por vía i.p. salino (1-2 ml/kg), WIN 55,212-2 (WIN) a las dosis de 2 mg/kg (WIN 2), solo o conjuntamente con cisplatino 2 mg/kg. Las imágenes radiográficas se obtuvieron tras la última administración (efecto crónico) y se tomaron 1, 2, 4 y 8 horas después de la administración del bario.

DISCUSIÓN

1 – EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN AGUDA Y CRÓNICA DEL AGONISTA CANNABINOIDE WIN 55,212-2.

En este trabajo se han analizado en paralelo los efectos de diferentes pautas de administración del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en dos sistemas distintos: nervioso central y gastrointestinal. Bajo condiciones experimentales similares, los diferentes sistemas muestran una sensibilidad diferente a los distintos efectos de este agonista y al desarrollo de tolerancia. La administración aguda de WIN produjo, de manera dosis-dependiente, los signos centrales típicos en la tetra de cannabinoide, así como una reducción en la motilidad gastrointestinal. Tras la administración crónica diaria, desaparecieron los efectos de hipolocomoción e hipotermia, mientras que el retraso en el vaciamiento gástrico, la analgesia y, en menor medida, la catalepsia, aún estaban presentes, lo que sugiere que estos efectos son relativamente resistentes al desarrollo de tolerancia. Por su parte, tras la administración crónica semanal, los efectos depresores del agonista cannabinoide WIN sobre la función motora gastrointestinal se vieron incrementados. Esta potenciación fue selectiva del tracto gastrointestinal, ya que en la analgesia y la catalepsia no se produjeron cambios significativos, al tiempo que se producía tolerancia, al menos parcial, a los efectos de hipotermia e hipolocomoción. Los efectos de WIN en el sistema nervioso central y la motilidad gastrointestinal fueron relativamente cortos en el tiempo, pues una semana después de la finalización de los tratamientos no se observaron efectos residuales ni en el sistema nervioso central ni en la motilidad gastrointestinal.

1.1 – Tratamiento agudo con WIN 55,212-2.

Como esperábamos, el WIN a dosis altas produjo los típicos efectos centrales (Compton y cols., 1993; Fox y cols., 2001; Vera y cols., 2007). Curiosamente, las dosis psicoactivas fueron las únicas que afectaron a la velocidad de vaciamiento gástrico. En el presente trabajo, la dosis de 2 mg/kg es la dosis mínima que produce alteraciones en la velocidad de vaciamiento gástrico. Esta dosis, además, es la mínima requerida para producir, al menos, una catalepsia significativa (Pascual y cols., 2005; Vera y cols., 2007; resultados del presente estudio), parámetro que, a

veces, es elegido como un indicador de psicoactividad (Rahn y cols., 2007). Así pues, en la rata, tanto la catalepsia como el retraso en el vaciamiento gástrico necesitan dosis psicoactivas, mientras que la analgesia y los efectos sobre la función motora intestinal se producen ya con dosis más bajas.

Se sabe que en el tracto gastrointestinal, la activación de receptores CB1 produce la inhibición de la liberación de acetilcolina a través de los receptores presinápticos localizados en las neuronas colinérgicas mientéricas. Esto da lugar a una inhibición de la contractilidad *in vitro* y una atenuación de la motilidad *in vivo* (Pertwee, 2001; Hornby y Prouty, 2004; Izzo y cols., 2005; Massa y cols., 2005). Ya al principio de la década de los 70, varios autores describieron que el Δ^9 -THC reducía la defecación en ratas (Masur y cols., 1971; Drew y cols., 1972) y retrasaba el tránsito gastrointestinal en ratones (Dewey y cols., 1972). El uso de técnicas radiográficas nos posibilita el análisis de diferentes regiones del tracto gastrointestinal y a diferentes tiempos, en el mismo individuo (Cabezos y cols., 2008).

Aunque la reducción en el tránsito intestinal descrita en este trabajo pueda estar influida por el retraso en el vaciamiento gástrico, el hecho de que bajas dosis de cannabinoides sean efectivas en reducir el tránsito intestinal pero no el vaciamiento gástrico, apoya la idea de que los cannabinoides reducen la motilidad intestinal independientemente de su acción en el vaciamiento gástrico (Shook y Burks, 1989; Landi y cols., 2002). Además, si la acción de WIN en el intestino no fuera independiente, las curvas radiográficas de motilidad en el intestino delgado, ciego y colorrecto, simplemente, se verían desplazadas a la derecha pero manteniendo la misma forma que las que tienen los controles. Esto ocurre en el caso de otros fármacos que principalmente retrasan el vaciamiento gástrico, como el cisplatino (Cabezos y cols., 2008). En su lugar, en las ratas tratadas con dosis altas de WIN, disminuyeron las pendientes de llenado de intestino delgado, ciego y colorrecto, lo que sugiere una reducción del tránsito intestinal. Además, aunque nuestro método no permite un análisis cuantitativo de la actividad peristáltica, las ondas peristálticas fueron menos visibles tras la administración de WIN, lo que apoya, más aún, la existencia de una acción directa en el intestino delgado.

Nuestros resultados, además, indican que el intestino podría ser más sensible que el estómago al efecto depresor de los cannabinoides, lo cual está en desacuerdo con otros estudios en los que se da una sensibilidad similar para ambas regiones (Shook y Burks, 1989; Izzo y cols., 1999; Landi y cols., 2002). En esos estudios, los análisis se hicieron en la primera hora tras la administración del fármaco, utilizando técnicas invasivas. En nuestro caso, las alteraciones en las curvas de motilidad de todas las regiones gastrointestinales se detectaron entre 2-8 horas después de la administración del fármaco, aunque en los animales tratados con dosis altas de WIN, 1 hora después, el vaciamiento gástrico ya estaba disminuido, y la motilidad del intestino delgado alterada.

Aunque el WIN tiene una vida media relativamente alta (24-36 horas; Aceto y cols., 2001; Page y cols., 2007), sus efectos agudos en la función motora gastrointestinal parecen restringirse a las 2-6 horas después de su administración, volviendo a la normalidad inmediatamente después (resultados de este estudio). De todas formas, debido al desplazamiento del medio de contraste hacia el extremo aboral a lo largo del tiempo que dura el experimento, efectos a largo plazo, como la distensión gástrica (Cabezos y cols., 2008; resultados de este estudio) podrían haber pasado desapercibidos. Sin embargo, en un trabajo paralelo realizado en nuestro laboratorio (Abalo y cols., 2010 en prensa), en el que el bario se administró a las 24 horas de la inyección del cannabinoide, no aparecieron estos posibles efectos residuales.

1.2 – Tratamiento crónico diario con WIN 55,212-2.

De acuerdo con trabajos previos (Anderson y cols., 1975; Perez-Reyes y cols., 1991; Oviedo y cols., 1993; Perron y cols., 2001; Whitlow y cols., 2003), tras el tratamiento crónico, se desarrolló menos tolerancia a algunos efectos centrales que a otros. Así pues, la tolerancia fue completa para hipotermia e hipolocomoción y parcial para catalepsia, mientras el efecto analgésico permaneció inalterado, lo cual podría ser útil si los agonistas cannabinoides se utilizan de manera terapéutica.

La mayoría de los estudios sobre tolerancia en el tracto gastrointestinal se han realizado *in vitro* (Basilico y cols., 1999; Pertwee, 2001; Guagnini y cols., 2006).

Aún así, en 1975, un estudio mostró que los ratones pretratados con Δ^9 -THC a 10 mg/kg por vía oral, una vez al día durante 2-4 días, desarrollaron una tolerancia prolongada al efecto inhibitorio de este cannabinoide sobre el tránsito medido con el método del carbón vegetal (Anderson y cols., 1975). En nuestro estudio, la tolerancia a la reducción en el tránsito intestinal (medida como la llegada y llenado del ciego) se desarrolló tras el tratamiento diario de 14 días, mientras la tolerancia al retraso en el vaciamiento gástrico, no se desarrolló en la misma magnitud, y 4-8 horas después de la última administración de la dosis elevada de WIN (5 mg/kg), una cantidad de bario significativa estaba aún presente en el estómago.

La ingesta diaria de alimento y la ganancia en el peso corporal fueron significativamente más bajas en ratas que recibieron altas dosis de WIN diariamente, lo que coincide con estudios previos que utilizaron WIN y otros agonistas cannabinoides (Giuliani y cols., 2000; Aceto y cols., 2001; Dalton y cols., 2009). Aunque los efectos ansiogénicos (Page y cols., 2007) y alguna reducción en la actividad locomotora espontánea podrían haber contribuido a este efecto, el hecho de que después de cada administración de la dosis alta de WIN, el vaciamiento gástrico se viera retrasado durante unas 2 horas, podría haber tenido influencia en la ingesta y la ganancia de peso corporal.

Es probable que se necesiten tratamientos diarios de más de 14 días para bloquear completamente los efectos centrales y gastrointestinales producidos por el WIN. En cualquier caso, nuestros resultados apoyan la idea de que el desarrollo de tolerancia puede ser dependiente del efecto cannabinoide y de la región anatómica sobre la que se desarrolla (Whitlow y cols., 2003). Además, puede involucrar mecanismos distintos para hipotermia, catalepsia, hipolocomoción y reducción del tránsito intestinal por un lado, y para antinocicepción y retraso en el vaciamiento gástrico por otro lado.

Como se ha descrito para otros efectos crónicos del WIN, como las respuestas ansiogénicas (Page y cols., 2007), una semana después de la última dosis no se detectaron efectos residuales centrales o gastrointestinales. Esto no es sorprendente ya que la vida media del WIN se sitúa en 24-36 horas (Aceto y cols., 2001; Page y cols., 2007). Así pues, aquellos efectos cannabinoides resistentes a tolerancia son, además, de relativamente corta duración.

1.3 – Tratamiento crónico semanal con WIN 55,212-2.

La administración intermitente (ocasional) no terapéutica de derivados de marihuana es relativamente frecuente en humanos, quizás como un intento de atenuar el desarrollo de tolerancia a los efectos centrales. Sin embargo, con esta pauta de administración, los efectos gastrointestinales adversos podrían seguir manifestándose. Hasta la fecha, los efectos centrales y gastrointestinales de un tratamiento intermitente con cannabinoides nunca han sido estudiados en animales.

Como sucedía con la administración diaria, con la semanal también se preservó el efecto analgésico del WIN, lo cual podría ser de interés para el uso terapéutico de los cannabinoides. La hipotermia y la hipolocomoción se atenuaron, al menos, de manera parcial; por contra, la tolerancia que se desarrolló al efecto cataléptico tras la administración diaria, no apareció tras el tratamiento semanal. Curiosamente, la catalepsia tendió a incrementarse con la administración crónica semanal, aunque no de manera estadísticamente significativa. Si esta potenciación puede llegar a hacerse significativa con periodos más largos de tratamiento, tendrá que investigarse.

Con esta pauta de administración, el retraso en el vaciamiento gástrico se vio potenciado tras la administración intermitente de dosis altas de WIN, lo que podría dar lugar a sensaciones adversas (sensación de llenado, saciedad...). En estos animales, el vaciamiento gástrico sólo recuperó su velocidad normal a partir de las 4 horas posteriores a la administración del fármaco y del bario. Es difícil determinar si los efectos del WIN en el intestino delgado y grueso se intensificaron también, dado que el estudio completo se limitó a las 8 horas siguientes a la administración. Sin embargo, a dosis bajas de WIN, sí aumenta el efecto depresor de la motilidad intestinal, sin que se afecte la velocidad de vaciamiento gástrico (ver figuras 4.11-4.14), lo que sugiere que también en el intestino se intensifica el efecto del WIN cuando se administra semanalmente.

Como ocurría con la administración diaria (Abalo y cols., 2009), una semana después de que el tratamiento crónico hubiera cesado no se encontró ningún efecto central o gastrointestinal. Sin embargo, es posible que ocurran otros efectos

gastrointestinales más sutiles, no detectables con los métodos radiográficos utilizados aquí.

Esta falta de efectos residuales podría explicar la falta de efecto del WIN crónico semanal sobre la ganancia de peso, ya que el intervalo de tiempo entre administraciones permite la recuperación de peso de los animales. Sin embargo, en un trabajo previo de nuestro grupo (Vera y cols., 2007) con el mismo protocolo de administración de este mismo agonista cannabinoide, se produjo una reducción significativa en la ganancia de peso, incluso a dosis más bajas (1 y 2 mg/kg). En ese trabajo, los animales de experimentación se disponían de manera aislada, aumentando su estrés, lo que podía haber influido en su menor ganancia de peso.

2 – EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE CISPLATINO.

Como esperábamos, el cisplatino produjo hipotermia, alodinia mecánica y pérdida de peso. Además, retrasó el vaciamiento gástrico de manera dosis dependiente. La administración crónica de este antitumoral potenció este efecto y produjo, además, distensión gástrica, junto a alteraciones menores en la motilidad intestinal. Sin embargo, ni el retraso en el vaciamiento gástrico ni la distensión estomacal fueron visibles una semana después de la finalización del tratamiento.

2.1 - Estado general

El cisplatino produjo una reducción en la ganancia de peso corporal. Los efectos del cisplatino sobre la ganancia de peso de los animales fueron dosis-dependientes y ya significativos a la dosis de 1 mg/kg/semana. Las ratas tratadas con la dosis de 3 mg/kg/semana incluso llegaron a perder peso. Estos animales mostraron signos de toxicidad, como debilidad física, hipotermia, irritabilidad o piloerección, llegando a producirse la muerte de dos individuos. Además, la temperatura rectal se redujo de manera dosis-dependiente y desarrollaron alodinia mecánica. Estos efectos del cisplatino coinciden con los observados en otros trabajos previos de nuestro laboratorio (Vera y cols., 2006, 2007; Cabezos y cols., 2008) y de otros autores (Rudd y cols., 2002; Authier y cols., 2003b; Malik y cols., 2007). Se trata, además, de efectos relativamente persistentes, porque una semana después de finalizar el tratamiento todavía eran visibles. Sin embargo, en este mismo punto temporal, no hubo diferencias con las ratas tratadas con salino en la actividad locomotora espontánea, lo que sugiere que la alteración de este parámetro, que ha sido detectada en otros estudios (Authier y cols., 2003b), requiere de dosis más altas (agudas o acumuladas) o que no es tan persistente como el resto de efectos mencionados.

Con respecto al desarrollo de neuropatía periférica secundaria al tratamiento quimioterápico, el presente estudio está de acuerdo con otros trabajos previos (Authier y cols., 2003b; Vera y cols., 2007). En estos estudios, se han utilizado diferentes fármacos antineoplásicos para producir neuropatía periférica o sus signos

asociados en animales de experimentación (cisplatino, ver Authier y cols., 2003b; paclitaxel, ver Polomano y cols, 2001; vincristina, ver Authier y cols., 2003a). Se han asociado diferentes signos funcionales con el desarrollo de neuropatía periférica tras un tratamiento crónico con cisplatino, como es el caso de la hiperalgesia y la alodinia frente a estímulos mecánicos y/o de frío (Authier y cols., 2003b). En contraste con otros antimurales (Pascual y cols., 2005), el cisplatino no produce hiperalgesia térmica (Authier y cols., 2003b). Así, en este trabajo, el umbral para la alodinia mecánica fue el parámetro elegido para comprobar el desarrollo de neuropatía periférica, debido a los relativamente bajos niveles de estrés asociados a su evaluación. Es interesante señalar que el cisplatino a cualquiera de las dosis utilizadas (1, 2 o 3 mg/kg) redujo el umbral a valores similares, lo que indica que la dosis de 1 mg/kg ya produce, en nuestro caso, un efecto máximo, por lo que es adecuada para el estudio de efectos paliativos y/o preventivos de diferentes fármacos con propiedades analgésicas y/o neuroprotectoras. Sin embargo, con la dosis más elevada de cisplatino (3 mg/kg/semana) la reducción en el umbral de respuesta a los filamentos de von Frey fue menor que con dosis menores de cisplatino. Está descrito que el cisplatino produce una reducción de la actividad motora en ratas y, de hecho, una única dosis alta (6 mg/kg) es capaz de reducir la actividad motora durante más de una semana (Malik y cols., 2006). Así que es posible que una reducción en la actividad motora pudiera interferir con la respuesta de retirada de la pata. No obstante, en el presente estudio no aparecieron alteraciones en la locomoción espontánea de los animales tratados con cisplatino. En cualquier caso, la alta toxicidad asociada a la utilización de la dosis más elevada de 3 mg/kg/semana (2 ratas murieron antes de la finalización del experimento) podría haber desplazado las medias tanto de la alodinia como de la actividad locomotora, al no incorporar a los animales más afectados por el cisplatino.

2.2 – MOTILIDAD GASTROINTESTINAL.

En nuestro laboratorio (Vera y cols., 2006, 2007) hemos descrito que el cisplatino crónico produce pica aguda (en las 24 horas siguientes a la administración) y facilitada (a lo largo del tiempo que dura el tratamiento). La pica es considerada un marcador indirecto de náusea y/o emesis, y consiste en la ingesta de

sustancias no nutritivas (caolín) en respuesta a un estímulo emetógeno en especies que carecen del reflejo emético. Las alteraciones en la motilidad gastrointestinal aquí descritas podrían estar involucradas en el desarrollo de pica y anorexia, tanto agudas como facilitadas.

El cisplatino produce una profunda sintomatología gastrointestinal (Talley y cols., 1973; Hill y cols., 1975; Von Hoff y cols., 1979) y es, a menudo, un causa importante de morbilidad (Magné y cols., 2001). Las secuelas a nivel gastrointestinal de un tratamiento crónico con cisplatino son menos conocidas que los efectos agudos a este nivel. Así, sabemos que la administración aguda de cisplatino produce una reducción del vaciamiento gástrico y una distensión del estómago (Hecht y cols., 1997; Sharma y Gupta, 1998; Ozaki y Sukamoto, 1999; Badary y cols., 2006; Malik y cols., 2007; Cabezos y cols., 2008). En nuestro caso, tras la primera administración de cisplatino, el vaciamiento gástrico se retrasó pero no apareció distensión estomacal, probablemente porque este efecto necesita dosis más altas tanto agudas (Cabezos y cols., 2008) como acumuladas (resultados de este estudio). De hecho, tras el tratamiento crónico, el retraso en el vaciamiento gástrico se acentuó, al menos en el caso del tratamiento con la dosis de 2 mg/kg, y además se produjo distensión gástrica. En comparación, el tránsito en el intestino delgado y grueso permaneció prácticamente sin cambios tras la primera administración, pero se retrasó tras la última administración. En cualquier caso, estos efectos no fueron persistentes, ya que una semana después de la finalización del tratamiento no se encontraron alteraciones residuales en el vaciamiento gástrico o la distensión estomacal, y sólo se observaron modificaciones menores en el tránsito intestinal. Otros métodos experimentales más precisos podrían ser necesarios para detectar alteraciones persistentes más sutiles de la motilidad gastrointestinal. De hecho, en estudios paralelos desarrollados en nuestro laboratorio, se ha observado que en animales tratados crónicamente con cisplatino, una semana después de finalizar el tratamiento, el tránsito en el intestino delgado (medido mediante la técnica del carbón activado), así como el tono basal y la actividad contráctil tónica del colon (medida mediante técnicas electromiográficas) están reducidos significativamente.

Aunque la pica y el vaciamiento gástrico son medidas de diferentes efectos del cisplatino, se han utilizado tradicionalmente como marcadores de náusea en especies que no vomitan (Mitchel y cols., 1976; Takeda y cols., 1993; Saeki y cols.,

2001; Rudd y cols., 2002; Vera y cols., 2006, 2007, Cabezos y cols., 2008 para pica; Badary y cols., 2006; Malik y cols., 2007; Cabezos y cols., 2008 para el retraso en el vaciamiento gástrico). En estudios previos con las mismas dosis de cisplatino (1, 2 y 3 mg/kg) y el mismo patrón de administración crónica (una vez a la semana: Vera y cols., 2006, 2007), la pica se desarrolló inmediatamente tras cada administración (pica aguda) y a lo largo del tratamiento crónico (efecto facilitado). Curiosamente, la dosis de 1 mg/kg/semana que producía unos valores de pica relativamente bajos (Vera y cols., 2006, 2007), no produjo efectos significativos en la motilidad gastrointestinal. Por su parte, la dosis de 2 mg/kg/semana, que retrasó el vaciamiento gástrico, aumentó tanto la ingesta basal como aguda de caolín (Vera y cols., 2007). El efecto sobre la pica de una dosis de 3 mg/kg/semana no fue estudiado porque esta dosis resulta demasiado tóxica en animales aislados (el aislamiento es requerido para medir pica; Vera y cols., 2006), pero en el análisis radiográfico esta dosis produjo un aumento de la distensión gástrica tras la administración crónica de cisplatino. Así pues, nuestros resultados muestran que tanto la pica como las alteraciones en la motilidad gástrica debidas al cisplatino, son producidas y se potencian de manera paralela tras la administración crónica, confirmando la relación entre estos efectos y que, probablemente, estén mediados por mecanismos similares (Ozaki y Sukamoto, 1999).

Generalmente, se piensa que la náusea y el vómito están asociados a la distensión gástrica, y podrían ser parcialmente debidos a ésta (Ladabaum y cols., 1998). La distensión gástrica parece ser dependiente del uso de dosis de cisplatino (agudas o acumuladas) relativamente altas (Malik y cols., 2007; Cabezos y cols., 2008; datos del presente estudio) y está asociada con retención de alimentos en el estómago (Aggarwal y cols., 1994; Malik y cols., 2007). En animales no tratados, las señales anoréxicas que se originan en el estómago lo hacen, casi exclusivamente, en respuesta a la distensión volumétrica de este órgano (Phillips y Powley, 1996; Powley y Phillips, 2004). Aunque, nosotros no medimos ingesta de alimento en este trabajo, la anorexia se desarrolla tras la administración de cisplatino tanto de manera aguda (Cabezos y cols., 2008) como crónica (Vera y cols., 2006, 2007) y probablemente subyace a la reducción de la ganancia de peso corporal (Vera y cols., 2006, 2007; Cabezos y cols., 2008; resultados del presente estudio).

Una semana después de la finalización del tratamiento, no se encontraron evidencias de retraso en el vaciamiento gástrico o de distensión gástrica, mientras que la pica estaba aún presente (Vera y cols., 2007). Así pues, se podría sugerir que otros mecanismos, distintos de las alteraciones de la motilidad gástrica, podrían estar involucrados en la producción de pica a largo plazo. A pesar del progreso experimentado desde la introducción en clínica de los antagonistas 5-HT₃, un número significativo de pacientes aún sufren náuseas y vómitos por la quimioterapia, particularmente en el periodo de 2-5 días tras la administración del antitumoral (emesis retrasada) (De Wit y cols., 2004; Jordan y cols., 2005). Además, el tratamiento quimioterápico consta de múltiples ciclos (generalmente 4-6) y, a menudo, se desarrolla resistencia a ondansetrón y otros fármacos antieméticos (De Wit y cols., 2004). Más estudios de pica y de análisis radiográfico de la motilidad gastrointestinal en ratas tratadas crónicamente con cisplatino y/o fármacos antieméticos ayudarían a entender los mecanismos involucrados en el desarrollo de resistencia a estos fármacos.

3 – TRATAMIENTO CONJUNTO CON WIN Y CISPLATINO.

La dosis de 1 mg/kg/semana de cisplatino fue suficiente para producir neuropatía periférica y, en principio, sería adecuada para estudiar el efecto protector de la administración crónica de WIN 55,212-2 frente a la neuropatía periférica. Sin embargo, con esta dosis no se obtuvieron modificaciones significativas sobre la ganancia de peso de los animales ni sobre la motilidad gastrointestinal. Por todo ello, se eligió la dosis de cisplatino de 2 mg/kg/semana, ya que fue capaz de producir modificaciones significativas en todos los parámetros estudiados, sin resultar excesivamente tóxica.

En cuanto al WIN, se utilizaron tanto dosis psicoactivas (2 mg/kg/semana) como no psicoactivas (0.5 y 1 mg/kg/semana). No se utilizó la dosis de 5 mg/kg/semana debido a la intensidad de los efectos psicoactivos que producía, así como al fuerte efecto depresor del vaciamiento gástrico.

3.1 – Nocicepción.

El dolor neuropático no siempre cuenta con tratamientos efectivos (Albers y cols., 2007). El agonista cannabinoide utilizado en este estudio ha mostrado su capacidad analgésica en modelos de dolor neuropático causado por antineoplásicos como paclitaxel (Pascual y cols., 2005) o, también, cisplatino (Martín y cols., 2007) y vincristina (Rahn y cols., 2007). La prevención del desarrollo de neuropatía periférica es incluso más interesante que su alivio. En este sentido, en el modelo de ligadura del nervio ciático (modelo clásico de dolor neuropático) el tratamiento diario con dosis bajas de WIN previno la aparición de comportamiento nociceptivo (Costa y cols., 2004). La administración de una única dosis del cannabinoide previa a cada administración semanal de cisplatino consiguió, también, prevenir la aparición de neuropatía periférica. Este efecto podría estar relacionado con la capacidad neuroprotectora propuesta para los cannabinoides (Van der Stelt y Di Marzo, 2005). En un trabajo previo de nuestro grupo (Vera y cols., 2007), y utilizando el mismo protocolo de administración y los mismos fármacos, el WIN previno el desarrollo de alodinia mecánica. En ese trabajo, se usaron dosis psicoactivas de este

cannabinoide (2 mg/kg) junto a cisplatino a la dosis de 2 mg/kg. También se utilizó la dosis de WIN de 1 mg/kg, pero junto a una dosis inferior de cisplatino (1 mg/kg). En el presente estudio, comprobamos que la prevención de la alodinia mecánica inducida por cisplatino a 2 mg/kg/semana se logra con dosis menores (0.5 mg/kg/semana), no psicoactivas, más adecuadas para su potencial utilización clínica.

3.2 – MOTILIDAD GASTROINTESTINAL.

El tratamiento previo con WIN no consiguió prevenir el efecto del cisplatino sobre la motilidad gastrointestinal. Más bien al contrario, en los animales tratados con WIN, las alteraciones causadas por el cisplatino se agravaron. Con nuestra metodología, podemos observar que, si bien ambos fármacos reducen el vaciamiento gástrico, lo hacen de manera distinta. Así pues, el WIN actúa en las 2-4 horas siguientes a la administración del fármaco, recuperándose, después, rápidamente la velocidad normal de vaciamiento gástrico. Por su parte, el cisplatino comienza a actuar unas 4 horas después de su administración, prolongándose su efecto hasta el final del experimento. El efecto potenciado que se observa cuando se administran conjuntamente ambos fármacos, parece pues resultado de la suma de sus distintos efectos.

En principio, ambos fármacos reducen la motilidad gastrointestinal, aunque el mecanismo que utilizan es distinto. El cisplatino actúa a través de la liberación de serotonina por parte de las células enterocromafines del tracto gastrointestinal. Este neurotransmisor actúa sobre receptores 5-HT₃ en las fibras aferentes vagales, produciendo la relajación del estómago que, posiblemente, da lugar al retraso en el vaciamiento gástrico (Andrews y cols., 1990; Badary y cols., 2006). Además, la generación de radicales libres en el intestino como consecuencia del tratamiento antitumoral (Sangeetha y cols., 1990) podría contribuir, también, a la liberación de serotonina (Badary y cols., 2006). El hecho de que el WIN agrave el efecto del cisplatino, podría deberse a que se añade un mecanismo de acción adicional como es la inhibición de la liberación de acetilcolina. Además, el hecho de que el tratamiento semanal con WIN potencie el propio efecto depresor de este

cannabinoide, no parece ser la mejor pauta de tratamiento, a pesar del beneficio obtenido en la neuropatía.

El tratamiento semanal con WIN no fue capaz de prevenir el efecto del cisplatino en la ganancia de peso e, incluso, a las dosis más altas (1 y 2 mg/kg/semana), potenció los efectos del cisplatino sobre la ganancia de peso de los animales. Una de las características tradicionalmente atribuidas a los cannabinoides es su efecto orexigénico (Bellocchio y cols., 2006). De hecho, entre los potenciales usos terapéuticos de los agonistas cannabinoides está el de reducir la caquexia asociada al SIDA (Abrams y cols., 2003) y a la quimioterapia (Jatoi y cols., 2002). Además, el antagonista rimonabant se ha utilizado en el tratamiento de la obesidad (Halford, 2006).

La falta de efecto de WIN 55,212-2 para prevenir las alteraciones del comportamiento alimentario (anorexia y pica) producidas por el cisplatino crónico podría deberse a varios factores. Con respecto a la anorexia, se ha sugerido que el incremento del apetito producido por los cannabinoides podría afectar preferentemente a alimentos dulces y sabrosos (Cota y cols., 2003; Vickers y Kennett, 2005; Valassi y cols., 2008), a los cuales, nuestros animales, no estuvieron expuestos. El efecto orexigénico de los cannabinoides se ha estudiado con otros agonistas (Δ^9 -THC, HU-210 — Higgs y cols., 2005) y con otros procedimientos, principalmente en animales parcialmente saciados con el alimento retirado previamente y tras una dosis elevada de este fármaco (Gómez y cols., 2002; Higgs y cols., 2005). Con respecto a la pica, el WIN y otros agonistas cannabinoides han demostrado ser capaces de prevenir la aparición de náusea y emesis en otros modelos animales (Darmani., 2001c; Van Sickle y cols., 2003; Kwiatkowska y cols., 2004). Pero en esos estudios sólo se evaluó su efecto sobre el de una única dosis de cisplatino, demasiado elevada para ser administrada de manera crónica y demasiado tóxica para su utilización clínica. Otros factores adicionales podrían ser el agonista cannabinoide utilizado, así como la dosis y/o frecuencia de administración. Podría ser interesante averiguar si el Δ^9 -THC o el extracto comercial conocido con el nombre de Sativex®, así como dosis más altas de WIN 55,212-2 o frecuencias de administración distintas, son más efectivas para prevenir las alteraciones alimentarias y de la motilidad gastrointestinal en nuestro modelo.

CONCLUSIONES

1 - El potencial terapéutico del tratamiento crónico con cannabinoides podría verse limitado por la presencia de efectos adversos.

2 – Los efectos crónicos de los cannabinoides dependen del patrón de administración y del parámetro estudiado.

3 - Los cannabinoides, a dosis no psicoactivas, previenen el desarrollo de los signos de la neuropatía sensorial secundaria al uso de antitumorales.

4 - La dismotilidad gástrica se agrava con la administración crónica de cisplatino en la rata, lo que podría contribuir a la disminución del efecto de los fármacos antieméticos, que se observa cuando éstos se administran crónicamente.

5 - La falta de eficacia del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en la prevención de las alteraciones del comportamiento alimentario causadas por el cisplatino en la rata, podrían estar relacionadas con las alteraciones de la motilidad causadas por los cannabinoides.

BIBLIOGRAFÍA

Aapro M, Blower P. 5-hydroxytryptamine type-3 receptor antagonists for chemotherapy-induced and radiotherapy-induced nausea and emesis: can we safely reduce the dose of administered agents? *Cancer*. 2005; 104: 1-18.

Abalo R, Cabezos PA, López-Miranda V, Vera G, González C, Castillo M, Fernández-Pujol R, Martín MI. Selective lack of tolerance to delayed gastric emptying after daily administration of WIN 55,212-2 in the rat. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 1002-e80.

Abalo R, Cabezos PA, Vera G, Fernández-Pujol R, Martín MI. Involvement of CB1 and CB2 cannabinoid receptors in the acute effect of WIN 55,212-2 on gastrointestinal motility in the rat. *Neurogastroenterol Motil* 2010; en prensa.

Aboud ME, Martin BR. Neurobiology of marijuana abuse. *Trends Pharmacol Sci* 1992; 13: 201-6.

Aboud ME, Sauss C, Fan F, Tilton CL, Martin BR. Development of behavioral tolerance to delta 9-THC without alteration of cannabinoid receptor binding or mRNA levels in whole brain. *Pharmacol Biochem Behav* 1993; 46: 575-579.

Abrahm J. Understanding the relationship between chronic and acute pain. *J Natl Compr Canc Netw* 2005; 3: S57-8.

Abrams DI, Hilton JF, Leiser RJ, Shade SB, Elbeik TA, Aweeka FT, Benowitz NL, Bredt BM, Kosel B, Aberg JA, Deeks SG, Mitchell TF, Mulligan K, Bacchetti P, McCune JM, Schambelan M. Short-term effects of cannabinoids in patients with HIV-1 infection: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Ann Intern Med* 2003; 139: 258-66.

Aceto MD, Scates SM, Lowe JA, Martin BP. Spontaneous and precipitated withdrawal with a synthetic cannabinoid, WIN 55,212-2. *Eur J Pharmacol* 2001; 416: 75-81.

Adami M, Frati P, Bertini S, Kulkarni-Narla A, Brown DR, de Caro G, Coruzzi G, Soldani G. Gastric antisecretory role and immunohistochemical localization of cannabinoid receptors in the rat stomach. *Br J Pharmacol* 2002; 135: 1598-606.

Adams IB, Martin BR. Cannabis: pharmacology and toxicology in animals and humans. *Addiction* 1996; 91: 1585-614.

Aggarwal SK, SanAntonio JD, Sokhansanj A, Miller C. Cisplatin induced peptic ulcers, vagotomy, adrenal and calcium modulation. *Anticancer Drugs* 1994; 5: 177-193.

Agurell S, Halldin M, Lindgren JE, Ohlsson A, Widman M, Gillespie H, Hollister L. Pharmacokinetics and metabolism of delta 1-tetrahydrocannabinol and other cannabinoids with emphasis on man. *Pharmacol Rev* 1986; 38: 21-43.

Albers J, Chaudhry V, Cavaletti G, Donehower R. Interventions for preventing neuropathy caused by cisplatin and related compounds. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 24: CD005228.

Alfonso Moreno V, Ojesa F, Moreno-Osset E. Hiperemesis cannabinoide. *Gastroenterol Hepatol* 2006; 29: 434-5

Ali BH, Al Moundhri MS. Agents ameliorating or augmenting the nephrotoxicity of cisplatin and other platinum compounds: a review of some recent research. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 1173-83.

- Allen JH, de Moore GM, Heddle R, Twartz JC. Cannabinoid hyperemesis: cyclical hyperemesis in association with chronic cannabis abuse. *Gut* 2004; 53: 1566-70.
- Anderson PF, Jackson DM, Chesher GB, Malor R. Tolerance to the effects of delta 9-tetrahydrocannabinol in mice on intestinal motility, temperature and locomotor activity. *Psychopharmacologia* 1975; 43: 31-6.
- Andrews PL, Davis CJ, Bingham S, Davidson HI, Hawthorn J, Maskell L. The abdominal visceral innervation and the emetic reflex: pathways, pharmacology, and plasticity. *Can J Physiol Pharmacol* 1990; 68: 325-45.
- Andrews PL, Horn CC. Signals for nausea and emesis: Implications for models of upper gastrointestinal diseases. *Auton Neurosci* 2006; 125: 100-15.
- Argyriou AA, Chroni E, Koutras A, Ellul J, Papapetropoulos S, Katsoulas G, Iconomou G, Kalofonos HP. Vitamin E for prophylaxis against chemotherapy-induced neuropathy: a randomized controlled trial. *Neurology* 2005; 64: 26-31.
- Ashton JC, Friberg D, Darlington CL, Smith PF. Expression of the cannabinoid CB2 receptor in the rat cerebellum: an immunohistochemical study. *Neurosci Lett* 2006; 396: 113-6.
- Aung HH, Mehendale SR, Xie JT, Moss J, Yuan CS. Methylnaltrexone prevents morphine-induced kaolin intake in the rat. *Life Sci* 2004; 74: 2685-91.
- Authier N, Gillet JP, Fialip J, Eschalier A, Coudore F. A new animal model of vincristine-induced nociceptive peripheral neuropathy. *Neurotoxicology* 2003a; 24: 797-805.
- Authier N, Gillet JP, Fialip J, Eschalier A, Coudore F. An animal model of nociceptive peripheral neuropathy following repeated cisplatin injections. *Exp Neurol* 2003b; 182:12-20.
- Azad SC, Rammes G. Cannabinoids in anaesthesia and pain therapy. *Curr Opin Anaesthesiol* 2005; 18: 424-7.
- Badary OA, Awad AS, Sherief MA, Hamada FM. In vitro and in vivo effects of ferulic acid on gastrointestinal motility: inhibition of cisplatin-induced delay in gastric emptying in rats. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5363-7.
- Barann M, Molderings G, Brüss M, Bönisch H, Urban BW, Göthert M. Direct inhibition by cannabinoids of human 5-HT_{3A} receptors: probable involvement of an allosteric modulatory site. *Br J Pharmacol* 2002; 137: 589-96.
- Barnett G, Licko V, Thompson T. Behavioral pharmacokinetics of marijuana. *Psychopharmacology (Berl)* 1985; 85: 51-6.
- Basilico L, Parolaro D, Colleoni M, Costa B, Giagnoni G. Cross-tolerance and convergent dependence between morphine and cannabimimetic agent WIN 55,212-2 in the guinea-pig ileum myenteric plexus. *Eur J Pharmacol* 1999; 376: 265-71.
- Bass CE, Martin BR. Time course for the induction and maintenance of tolerance to Delta(9)-tetrahydrocannabinol in mice. *Drug Alcohol Depend*. 2000; 60: 113-119
- Bellocchio L, Mancini G, Vicennati V, Pasquali R, Pagotto U. Cannabinoid receptors as therapeutic targets for obesity and metabolic diseases. *Curr Opin Pharmacol* 2006; 6: 586-91.

- Ben Amar M. Cannabinoids in medicine: A review of their therapeutic potential. *J Ethnopharmacol* 2006; 105: 1-25.
- Berlach DM, Shir Y, Ware MA. Experience with the synthetic cannabinoid nabilone in chronic noncancer pain. *Pain Med* 2006; 7: 25-9.
- Bianchi G, Vitali G, Caraceni A, Ravaglia S, Capri G, Cundari S, Zanna C, Gianni L. Symptomatic and neurophysiological responses of paclitaxel- or cisplatin-induced neuropathy to oral acetyl-L-carnitine. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1746-50.
- Bisogno T, Berrendero F, Ambrosino G, Cebeira M, Ramos JA, Fernandez-Ruiz JJ, Di Marzo V. Brain regional distribution of endocannabinoids: implications for their biosynthesis and biological function. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 256:377-80.
- Bisogno T. Endogenous cannabinoids: structure and metabolism. *J Neuroendocrinol* 2008; 20: 1-9.
- Blackshaw LA, Brookes SJ, Grundy D, Schemann M. Sensory transmission in the gastrointestinal tract. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 1-19.
- Boeckxstaens GE. Cannabinoid hyperemesis with the unusual symptom of compulsive bathing. *Ned Tijdschr Geneesk* 2005; 149: 1468-71.
- Bradner WT, Schurig JE. Toxicology screening in small animals. *Cancer Treat Rev* 1981; 8: 93-102.
- Brown AJ. Novel cannabinoid receptors. *Br J Pharmacol* 2007; 152: 567-75.
- Byrne A, Hallinan R, Wodak A. "Cannabis hyperemesis" causation questioned. *Gut* 2006; 55: 132
- Cabezos PA, Vera G, Castillo M, Fernández-Pujol R, Martín MI, Abalo R. Radiological study of gastrointestinal motor activity after acute cisplatin in the rat. Temporal relationship with pica. *Auton Neurosci* 2008; 141: 54-65.
- Chang YH, Windish DM. Cannabinoid hyperemesis relieved by compulsive bathing. *Mayo Clin Proc* 2009; 84: 76-8.
- Chaudhry V, Chaudhry M, Crawford TO, Simmons-O'Brien E, Griffin JW. Toxic neuropathy in patients with pre-existing neuropathy. *Neurology* 2003; 60: 337-340.
- Chepyala P, Olden KW. Cyclic vomiting and compulsive bathing with chronic cannabis abuse. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2008; 6: 710-2.
- Childers SR, Breivogel CS. Cannabis and endogenous cannabinoid systems. *Drug Alcohol Depend* 1998; 51: 173-87.
- Christensen R, Kristensen PK, Bartels EM, Bliddal H, Astrup A. Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2007; 370: 1706-13.
- Compton DR, Rice KC, De Costa BR et al. Cannabinoid structure-activity relationships: correlation of receptor binding and in vivo activities. *J Pharmacol Exp Ther* 1993; 265: 218-26.

Costa B, Colleoni M, Conti S, Trovato AE, Bianchi M, Sotgiu ML, Giagnoni G. Repeated treatment with the synthetic cannabinoid WIN 55,212-2 reduces both hyperalgesia and production of pronociceptive mediators in a rat model of neuropathic pain. *Br J Pharmacol* 2004; 141: 4-8.

Costa B, Siniscalco D, Trovato AE, Comelli F, Sotgiu ML, Colleoni M, Maione S, Rossi F, Giagnoni G. AM404, an inhibitor of anandamide uptake, prevents pain behaviour and modulates cytokine and apoptotic pathways in a rat model of neuropathic pain. *Br J Pharmacol* 2006; 148: 1022-32.

Cota D, Marsicano G, Lutz B, Vicennati V, Stalla GK, Pasquali R, Pagotto U. Endogenous cannabinoid system as a modulator of food intake. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003; 27: 289-301.

Cristino L, de Petrocellis L, Pryce G, Baker D, Guglielmotti V, Di Marzo V. Immunohistochemical localization of cannabinoid type 1 and vanilloid transient receptor potential vanilloid type 1 receptors in the mouse brain. *Neuroscience* 2006; 139: 1405-15.

Croci T, Manara L, Aureggi G, Guagnini F, Rinaldi-Carmona M, Maffrand JP, Le Fur G, Mukenge S, Ferla G. In vitro functional evidence of neuronal cannabinoid CB1 receptors in human ileum. *Br J Pharmacol* 1998; 125:1393-5.

D'Argenio G, Valenti M, Scaglione G, Cosenza V, Sorrentini I, Di Marzo V. Up-regulation of anandamide levels as an endogenous mechanism and a pharmacological strategy to limit colon inflammation. *FASEB J* 2006; 20: 568-70.

Dalton VS, Wang H, Zavitsanou K. HU210-induced downregulation in cannabinoid CB1 receptor binding strongly correlates with body weight loss in the adult rat. *Neurochem Res* 2009; 34: 1343-53.

Darmani NA. Delta(9)-tetrahydrocannabinol and synthetic cannabinoids prevent emesis produced by the cannabinoid CB(1) receptor antagonist/inverse agonist SR 141716A. *Neuropsychopharmacology* 2001a; 24: 198-203.

Darmani NA. Delta-9-tetrahydrocannabinol differentially suppresses cisplatin-induced emesis and indices of motor function via cannabinoid CB(1) receptors in the least shrew. *Pharmacol Biochem Behav* 2001b; 69: 239-249.

Darmani NA. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR 141716A reverses the antiemetic and motor depressant actions of WIN 55, 212-2. *Eur J Pharmacol* 2001c; 430: 49-58.

Darmani NA. The potent emetogenic effects of the endocannabinoid, 2-AG (2-arachidonoylglycerol) are blocked by delta(9)-tetrahydrocannabinol and other cannabinoids. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 300: 34-42.

Darmani NA, Johnson JC. Central and peripheral mechanisms contribute to the antiemetic actions of delta-9-tetrahydrocannabinol against 5-hydroxytryptophan-induced emesis. *Eur J Pharmacol* 2004; 488: 201-12.

Darmani NA. Methods evaluating cannabinoid and endocannabinoid effects on gastrointestinal functions. *Methods Mol Med* 2006; 123: 169-89.

De Miguel R, Romero J, Muñoz RM, García-Gil L, González S, Villanua MA, Makriyannis A, Ramos JA, Fernández-Ruiz JJ. Effects of cannabinoids on prolactin and gonadotrophin secretion: involvement of changes in hypothalamic g-aminobutyric acid (GABA) inputs. *Biochem Pharmacol* 1998; 56: 1331–8.

De Petrocellis L, Cascio MG, Di Marzo V. The endocannabinoid system: a general view and latest additions. *Br J Pharmacol* 2004; 141: 765-74.

De Wit R, Herrstedt J, Rapoport B, Carides AD, Guoguang-Ma J, Elmer M, Schmidt C, Evans JK, Horgan KJ. The oral NK(1) antagonist, aprepitant, given with standard antiemetics provides protection against nausea and vomiting over multiple cycles of cisplatin-based chemotherapy: a combined analysis of two randomised, placebo-controlled phase III clinical trials. *Eur J Cancer* 2004; 40: 403-10.

Deadwyler SA, Heyser CJ, Hampson RE. Complete adaptation to the memory disruptive effects of D9-tetrahydrocannabinol following 35 days of exposure. *Neurosci Res Commun* 1995; 17: 9–18.

Degenhardt L, Hall W, Lynskey M. Exploring the association between cannabis use and depression. *Addiction* 2003; 98: 1493-504.

Deutsch DG, Chin SA. Enzymatic synthesis and degradation of anandamide, a cannabinoid receptor agonist. *Biochem Pharmacol* 1993; 46: 791-6.

Devane WA, Dysarz FA 3rd, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol* 1988; 34: 605-13.

Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 1992; 258: 1946-9.

Dewey WL, Harris LS, Kennedy JS. Some pharmacological and toxicological effects of 1-trans- 8 and 1-trans- 9 -tetrahydrocannabinol in laboratory rodents. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1972; 196: 133-45.

Dewey WL. Cannabinoid pharmacology. *Pharmacol Rev* 1986; 38:151-78.

Di Carlo G, Izzo AA. Cannabinoids for gastrointestinal diseases: potential therapeutic applications. *Expert Opin Investig Drugs* 2003; 12: 39-49.

Di Marzo V, Berrendero F, Bisogno T, González S, Cavaliere P, Romero J, et al. Enhancement of anandamide formation in the limbic forebrain and reduction of endocannabinoid contents in the striatum of D9-tetrahydrocannabinol-tolerant rats. *J Neurochem* 2000a; 74: 1627–35.

Di Marzo V, Breivogel CS, Tao Q, Bridgen DT, Razdan RK, Zimmer AM, Zimmer A, Martin BR. Levels, metabolism, and pharmacological activity of anandamide in CB(1) cannabinoid receptor knockout mice: evidence for non-CB(1), non-CB(2) receptor-mediated actions of anandamide in mouse brain. *J Neurochem* 2000b; 75: 2434-44.

Di Marzo V. Endocannabinoids: synthesis and degradation. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2008; 160: 1-24.

Diana M, Melis M, Muntoni AL, Gessa GL. Mesolimbic dopaminergic decline after cannabinoid withdrawal. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 10269–10273.

- DiBaise JK, Brand RE, Lyden E, Tarantolo SR, Quigley EM. Gastric myoelectrical activity and its relationship to the development of nausea and vomiting after intensive chemotherapy and autologous stem cell transplantation. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2873-81.
- Drew WG, Miller LL, Wikler A. Effect of 9 -THC on the open-field activity of the rat. *Psychopharmacologia* 1972; 23: 289-99.
- Duncan M, Davison JS, Sharkey KA. Review article: endocannabinoids and their receptors in the enteric nervous system. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 667-83.
- Duncan M, Mouihate A, Mackie K, Keenan CM, Buckley NE, Davison JS, Patel KD, Pittman QJ, Sharkey KA. Cannabinoid CB2 receptors in the enteric nervous system modulate gastrointestinal contractility in lipopolysaccharide-treated rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 295: G78-G87.
- Egertová M, Elphick MR. Localisation of cannabinoid receptors in the rat brain using antibodies to the intracellular C-terminal tail of CB. *J Comp Neurol* 2000; 422: 159-71.
- Egertová M, Elphick MR. Localization of CiCBR in the invertebrate chordate *Ciona intestinalis*: evidence of an ancient role for cannabinoid receptors as axonal regulators of neuronal signalling. *J Comp Neurol* 2007; 502: 660-72.
- Endo H, Yoshida H, Kohno Y, Suga T. Effects of clarithromycin and amoxicillin on gastric emptying in rats. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 3331-3.
- Esfandyari T, Camilleri M, Busciglio I, Burton D, Baxter K, Zinsmeister AR. Effects of a cannabinoid receptor agonist on colonic motor and sensory functions in humans: a randomized, placebo-controlled study. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 293: G137-45.
- Fan F, Compton DR, Ward S, Melvin L, Martin BR. Development of cross-tolerance between delta-9-tetrahydrocannabinol, CP 55,940 and WIN 55,212. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 271: 1383-1390.
- Farquhar-Smith WP, Egertová M, Bradbury EJ, McMahon SB, Rice AS, Elphick MR. Cannabinoid CB(1) receptor expression in rat spinal cord. *Mol Cell Neurosci* 2000; 15: 510-21.
- Fehr K, Kalant H, eds. *ARF/WHO Scientific Meeting on Adverse Health and Behavioral Consequences of Cannabis Use (1981: Toronto, Canada)*. Cannabis and Health Hazards: Proceedings of an ARF/WHO Scientific Meeting on Adverse Health and Behavioral Consequences of Cannabis Use. Toronto, Canada: Addiction Research Foundation, 1983.
- Felder CC, Joyce KE, Briley EM, Mansouri J, Mackie K, Blond O, Lai Y, Ma AL, Mitchell RL. Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol Pharmacol* 1995; 48: 443-50.
- Fernández E, Galán B. Neurofisiología de la acción psicotogénica del cannabis. In: Arias F, Ramos JA, eds. *Aspectos psiquiátricos del consumo de cannabis: casos clínicos*. Sociedad española de investigación en cannabinoides, 2008: 9-26.
- Fernández-Ruiz J, Romero J, Velasco G, Tolón RM, Ramos JA, Guzmán M. Cannabinoid CB2 receptor: a new target for controlling neural cell survival? *Trends Pharmacol Sci* 2007; 28: 39-45.

- Fowler CJ, Jacobsson SO. Cellular transport of anandamide, 2-arachidonoylglycerol and palmitoylethanolamide--targets for drug development? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2002; 66: 193-200.
- Fox A, Kesingland A, Gentry C, McNair K, Patel S, Urban L, James I. The role of central and peripheral Cannabinoid1 receptors in the antihyperalgesic activity of cannabinoids in a model of neuropathic pain. *Pain* 2001; 92: 91-100.
- Freund TF, Katona I, Piomelli D. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev* 2003; 83: 1017-66.
- Gamelin L, Boisdron-Celle M, Delva R, Guérin-Meyer V, Ifrah N, Morel A, Gamelin E. Prevention of oxaliplatin-related neurotoxicity by calcium and magnesium infusions: a retrospective study of 161 patients receiving oxaliplatin combined with 5-Fluorouracil and leucovorin for advanced colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4055-61.
- Gaoni Y, Mechoulam R. Isolation, structure, partial synthesis of an active constituent of hashish. *J Am Chem Soc* 1964; 86: 1646-1647
- Gérard CM, Mollereau C, Vassart G, Parmentier M. Molecular cloning of a human cannabinoid receptor which is also expressed in testis. *Biochem J* 1991; 279: 129-34.
- Germanò MP, D'Angelo V, Mondello MR, Pergolizzi S, Capasso F, Capasso R, Izzo AA, Mascolo N, De Pasquale R. Cannabinoid CB1-mediated inhibition of stress-induced gastric ulcers in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2001; 363: 241-4.
- Giuliani D, Ottani A, Ferrari F. Effects of the cannabinoid receptor agonist, HU 210, on ingestive behaviour and body weight of rats. *Eur J Pharmacol* 2000; 391: 275-9.
- Glass M, Northup JK. Agonist selective regulation of G proteins by cannabinoid CB(1) and CB(2) receptors. *Mol Pharmacol* 1999; 56: 1362-9.
- Gómez R, Navarro M, Ferrer B, Trigo JM, Bilbao A, Del Arco I, Cippitelli A, Nava F, Piomelli D, Rodríguez de Fonseca F. A peripheral mechanism for CB1 cannabinoid receptor-dependent modulation of feeding. *J Neurosci* 2002; 22: 9612-7.
- Gong JP, Onaivi ES, Ishiguro H, Liu QR, Tagliaferro PA, Brusco A, Uhl GR. Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Res* 2006; 1071: 10-23.
- González S, Manzanares J, Berrendero F, Wenger T, Corchero J, Bisogno T, Romero J, Fuentes JA, Di Marzo V, Ramos JA, Fernández-Ruiz J. Identification of endocannabinoids and cannabinoid CB1 receptor mRNA in the pituitary gland. *Neuroendocrinology* 1999; 70: 137-45.
- González S, Cebeira M, Fernandez-Ruiz J. Cannabinoid tolerance and dependence: A review of studies in laboratory animals. *Pharmacol Biochem Behav* 2005; 81: 300-18.
- Griffin G, Fernando SR, Ross RA, McKay NG, Ashford ML, Shire D, Huffman JW, Yu S, Lainton JA, Pertwee RG. Evidence for the presence of CB2-like cannabinoid receptors on peripheral nerve terminals. *Eur J Pharmacol* 1997; 339: 53-61.
- Guagnini F, Cogliati P, Mukenge S, Ferla G, Croci T. Tolerance to cannabinoid response on the myenteric plexus of guinea-pig ileum and human small intestinal strips. *Br J Pharmacol* 2006; 148: 1165-73.

- Guindon J, Beaulieu P. Antihyperalgesic effects of local injections of anandamide, ibuprofen, rofecoxib and their combinations in a model of neuropathic pain. *Neuropharmacology* 2006; 50: 814-23.
- Gulyas AI, Cravatt BF, Bracey MH, Dinh TP, Piomelli D, Boschia F, Freund TF. Segregation of two endocannabinoid-hydrolyzing enzymes into pre- and postsynaptic compartments in the rat hippocampus, cerebellum and amygdala. *Eur J Neurosci* 2004; 20: 441-58.
- Halford JC. Pharmacotherapy for obesity. *Appetite* 2006; 46: 6-10.
- Hall W, Christie M, Currow D. Cannabinoids and cancer: causation, remediation, and palliation. *Lancet Oncol* 2005; 6: 35-42.
- Hammack JE, Michalak JC, Loprinzi CL, Sloan JA, Novotny PJ, Soori GS, Tirona MT, Rowland KM Jr, Stella PJ, Johnson JA. Phase III evaluation of nortriptyline for alleviation of symptoms of cis-platinum-induced peripheral neuropathy. *Pain*. 2002 Jul;98(1-2):195-203.
- Hampson RE, Deadwyler SA. Cannabinoids, hippocampal function and memory. *Life Sci* 1999; 65: 715-23.
- Haney M, Ward AS, Comer SD, Foltin RW, Fischman MW. Abstinence symptoms following oral THC administration to humans. *Psychopharmacology (Berl)* 1999; 141: 385– 94.
- Hart CL, Ward AS, Haney M, Comer SD, Foltin RW, Fischman MW. Comparison of smoked marijuana and oral Delta(9)-tetrahydrocannabinol in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 2002; 164: 407-15.
- Hecht JR, Lembo T, Chap L. Prolonged nausea and vomiting after high dose chemotherapy and autologous peripheral stem cell transplantation in the treatment of high risk breast carcinoma. *Cancer* 1997; 79: 1698–1702.
- Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci* 1991; 11: 563-83.
- Herzberg U, Eliav E, Bennett GJ, Kopin IJ. The analgesic effects of R(+)-WIN 55,212-2 mesylate, a high affinity cannabinoid agonist, in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci Lett* 1997; 221: 157-60.
- Higgs S, Barber DJ, Cooper AJ, Terry P. Differential effects of two cannabinoid receptor agonists on progressive ratio responding for food and free-feeding in rats. *Behav Pharmacol* 2005; 16: 389-93.
- Hill JM, Loeb E, MacLellan A, Hill NO, Khan A, King JJ. Clinical studies of Platinum Coordination compounds in the treatment of various malignant diseases. *Cancer Chemother Res* 1975; 59: 647-659.
- Hillsley K, McCaul C, Aerssens J, Peeters PJ, Gijssen H, Moechars D, Coulie B, Grundy D, Stead RH. Activation of the cannabinoid 2 (CB2) receptor inhibits murine mesenteric afferent nerve activity. *Neurogastroenterol Motil*. 2007; 19: 769-77.
- Hohmann AG, Herkenham M. Localization of central cannabinoid CB1 receptor messenger RNA in neuronal subpopulations of rat dorsal root ganglia: a double-label in situ hybridization study. *Neuroscience* 1999; 90: 923-31.

- Hollister LE. Health aspects of cannabis. *Pharmacol Rev* 1986; 38:1-20.
- Hollister LE. Cannabis--1988. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 1988; 345: 108-18.
- Holloway RH. Systemic pharmacomodulation of transient lower esophageal sphincter relaxations. *Am J Med* 2001; 111: 178S-185S.
- Hornby PJ, Prouty SM. Involvement of cannabinoid receptors in gut motility and visceral perception. *Br J Pharmacol* 2004; 141: 1335-45.
- Hovestadt A, van der Burg ME, Verbiest HB, van Putten WL, Vecht CJ. The course of neuropathy after cessation of cisplatin treatment, combined with Org 2766 or placebo. *J Neurol* 1992; 239: 143-6.
- Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, Felder CC, Herkenham M, Mackie K, Martin BR, Mechoulam R, Pertwee RG. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 161-202.
- Howlett AC, Breivogel CS, Childers SR, Deadwyler SA, Hampson RE, Porrino LJ. Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. *Neuropharmacology* 2004; 47: 345-58.
- Huestis MA, Henningfield JE y Cone EJ. Blood cannabinoids: I Absorption of THC and formation of 11-OH-THC and THC-COOH during and after smoking marijuana. *J. of Analytical Toxicology*. 1992; 16: 276-286.
- Huestis MA, Barnes A, Smith ML. Estimating the time of last cannabis use from plasma delta9-tetrahydrocannabinol and 11-nor-9-carboxy-delta9-tetrahydrocannabinol concentrations. *Clin Chem* 2005; 51: 2289-95.
- Hutcheson DM, Tzavara ET, Smadja C, Valjent E, Roques BP, Hanoune J, Maldonado R. Behavioural and biochemical evidence for signs of abstinence in mice chronically treated with delta-9-tetrahydrocannabinol. *Br J Pharmacol* 1998; 125: 1567-77.
- Ibrahim MM, Porreca F, Lai J, Albrecht PJ, Rice FL, Khodorova A, Davar G, Makriyannis A, Vanderah TW, Mata HP, Malan TP Jr. CB2 cannabinoid receptor activation produces antinociception by stimulating peripheral release of endogenous opioids. *PNAS* 2005; 102: 3093-8.
- Izzo AA, Mascolo N, Borrelli F, Capasso F. Defaecation, intestinal fluid accumulation and motility in rodents: implications of cannabinoid CB1 receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1999; 359: 65-70.
- Izzo AA, Fezza F, Capasso R, Bisogno T, Pinto L, Iuvone T, Esposito G, Mascolo N, Di Marzo V, Capasso F. Cannabinoid CB(1)-receptor mediated regulation of gastrointestinal motility in mice in a model of intestinal inflammation. *Br J Pharmacol* 2001; 134: 563-570.
- Izzo AA, Coutts AA. Cannabinoids and the digestive tract. *Handb Exp Pharmacol* 2005; 168: 573-98.
- Järbe TU, DiPatrizio NV. Delta9-THC induced hyperphagia and tolerance assessment: interactions between the CB1 receptor agonist delta9-THC and the CB1 receptor antagonist SR-141716 (rimonabant) in rats. *Behav Pharmacol* 2005; 16:373-80.

- Jarve RK, Aggarwal SK. Cisplatin-induced inhibition of the calcium-calmodulin complex, neuronal nitric oxide synthase activation and their role in stomach distention. *Cancer Chemother Pharmacol* 1997; 39: 341-8.
- Jatoi A, Windschitl HE, Loprinzi CL, Sloan JA, Dakhil SR, Mailliard JA, Pundaleeka S, Kardinal CG, Fitch TR, Krook JE, Novotny PJ, Christensen B. Dronabinol versus megestrol acetate versus combination therapy for cancer-associated anorexia: a North Central Cancer Treatment Group study. *J Clin Oncol* 2002; 20: 567-73.
- Jordan K, Kasper C, Schmoll HJ. Chemotherapy-induced nausea and vomiting: current and new standards in the antiemetic prophylaxis and treatment. *Eur J Cancer* 2005; 41: 199-205.
- Jordan K, Schmoll HJ, Aapro MS. Comparative activity of antiemetic drugs. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 61: 162-75.
- Juan-Picó P, Fuentes E, Bermúdez-Silva FJ, Javier Díaz-Molina F, Ripoll C, Rodríguez de Fonseca F, Nadal A. Cannabinoid receptors regulate Ca²⁺ signals and insulin secretion in pancreatic beta-cell. *Cell Calcium* 2006; 39: 155-62.
- Kaczocha M, Glaser ST, Deutsch DG. Identification of intracellular carriers for the endocannabinoid anandamide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009; 106: 6375-80.
- Kearn CS, Hilliard CJ. Rat microglial cell express the peripheral-type cannabinoid receptor (CB2) which is negatively coupled to adenylyl cyclase. Proceedings of the Symposium on the Cannabinoids, Burlington, Vermont, *International Cannabinoid Research Society* 1997; 57.
- Kirkham TC, Williams CM, Fezza F, Di Marzo V. Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *Br J Pharmacol* 2002; 136: 550-7.
- Klein TW. Cannabinoid-based drugs as anti-inflammatory therapeutics. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 400-411.
- Koch JE. Delta(9)-THC stimulates food intake in Lewis rats: effects on chow, high-fat and sweet high-fat diets. *Pharmacol Biochem Behav* 2001; 68: 539-43.
- Kogan NM, Mechoulam R. Cannabinoids in health and disease. *Dialogues Clin Neurosci* 2007; 9: 413-30.
- Kouri EM, Pope HG Jr. Abstinence symptoms during withdrawal from chronic marijuana use. *Exp Clin Psychopharmacol* 2000; 8: 483-92.
- Kris MG, Hesketh PJ, Somerfield MR, Feyer P, Clark-Snow R, Koeller JM, Morrow GR, Chinnery LW, Chesney MJ, Gralla RJ, Grunberg SM. American Society of Clinical Oncology guideline for antiemetics in oncology: update 2006. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2932-47.
- Kushner RF, Gleason B, Shanta-Retelny V. Reemergence of pica following gastric bypass surgery for obesity: a new presentation of an old problem. *J Am Diet Assoc* 2004; 104: 1393-7.
- Kwiatkowska M, Parker LA, Burton P, Mechoulam R. A comparative analysis of the potential of cannabinoids and ondansetron to suppress cisplatin-induced emesis in the *Suncus murinus* (house musk shrew). *Psychopharmacology (Berl)* 2004; 174: 254-9.

- La Rana G, Russo R, Campolongo P, Bortolato M, Mangieri RA, Cuomo V, Iacono A, Raso GM, Meli R, Piomelli D, Calignano A. Modulation of neuropathic and inflammatory pain by the endocannabinoid transport inhibitor AM404 [N-(4-hydroxyphenyl)-eicosa-5,8,11,14-tetraenamide]. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 317: 1365-71.
- Labar G, Michaux C. Fatty acid amide hydrolase: from characterization to therapeutics. *Chem Biodivers* 2007; 4: 1882-902.
- Ladabaum U, Koshy SS, Woods ML, Hooper FG, Owyang C, Hasler WL. Differential symptomatic and electrogastrographic effects of distal and proximal human gastric distension. *Am J Physiol* 1998; 275: G418-G424.
- Landi M, Croci T, Rinaldi-Carmona M, Maffrand JP, Le Fur G, Manara L. Modulation of gastric emptying and gastrointestinal transit in rats through intestinal cannabinoid CB(1) receptors. *Eur J Pharmacol* 2002; 450: 77-83.
- Lauckner JE, Hille B, Mackie K. The cannabinoid agonist WIN55,212-2 increases intracellular calcium via CB1 receptor coupling to Gq/11 G proteins. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102: 19144-9.
- Ledent C, Valverde O, Cossu G, Petitet F, Aubert JF, Beslot F, Böhme GA, Imperato A, Pedrazzini T, Roques BP, Vassart G, Fratta W, Parmetier M. Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB1 receptor knockout mice. *Science* 1999; 283: 401-404.
- Lehmann A, Blackshaw LA, Brändén L, Carlsson A, Jensen J, Nygren E, Smid SD. Cannabinoid receptor agonism inhibits transient lower esophageal sphincter relaxations and reflux in dogs. *Gastroenterology* 2002; 123: 1129-34.
- Leslie RA. Comparative aspects of the area postrema: fine-structural considerations help to determine its function. *Cell Mol Neurobiol* 1986; 6: 95-120.
- Lichtman AH, Martin BR. Delta 9-tetrahydrocannabinol impairs spatial memory through a cannabinoid receptor mechanism. *Psychopharmacology (Berl)*. 1996; 126: 125-31.
- Lichtman AH, Martin BR. Marijuana withdrawal syndrome in the animal model. *J Clin Pharmacol* 2002; 42: 20S-7S.
- Lim G, Sung B, Ji RR, Mao J. Upregulation of spinal cannabinoid-1-receptors following nerve injury enhances the effects of Win 55,212-2 on neuropathic pain behaviors in rats. *Pain* 2003; 105: 275-83.
- Liu YL, Malik N, Sanger GJ, Friedman MI, Andrews PL. Pica--a model of nausea? Species differences in response to cisplatin. *Physiol Behav* 2005; 85: 271-7.
- López-Redondo F, Lees GM, Pertwee RG. Effects of cannabinoid receptor ligands on electrophysiological properties of myenteric neurones of the guinea-pig ileum. *Br J Pharmacol* 1997; 122: 330-4.
- Lunn CA, Fine JS, Rojas-Triana A, Jackson JV, Fan X, Kung TT, Gonsiorek W, Schwarz MA, Lavey B, Kozlowski JA, Narula SK, Lundell DJ, Hipkin RW, Bober LA. A novel cannabinoid peripheral cannabinoid receptor-selective inverse agonist blocks leukocyte recruitment in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316: 780-8.

- Lutz B. Molecular biology of cannabinoid receptors. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2002; 66: 123-42.
- Mackie K. Mechanisms of CB1 receptor signaling: endocannabinoid modulation of synaptic strength. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30: S19-23.
- Maestri A, De Pasquale Ceratti A, Cundari S, Zanna C, Cortesi E, Crinò L. A pilot study on the effect of acetyl-L-carnitine in paclitaxel- and cisplatin-induced peripheral neuropathy. *Tumori* 2005; 91: 135-8.
- Magné N, Marcy PY, Chamorey E et al. Concomitant twice-a-day radiotherapy and chemotherapy in unresectable head and neck cancer patients: A long-term quality of life analysis. *Head Neck* 2001; 23: 678-82.
- Maldonado R, Rodríguez de Fonseca F. Cannabinoid addiction: behavioral models and neural correlates. *J Neurosci* 2002; 22: 3326-31.
- Malik IA, Khan WA, Qazilbash M, Ata E, Butt A, Khan MA. Clinical efficacy of lorazepam in prophylaxis of anticipatory, acute, and delayed nausea and vomiting induced by high doses of cisplatin. A prospective randomized trial. *Am J Clin Oncol* 1995; 18: 170-5.
- Malik NM, Moore GB, Smith G, Liu YL, Sanger GJ, Andrews PL. Behavioural and hypothalamic molecular effects of the anti-cancer agent cisplatin in the rat: A model of chemotherapy-related malaise? *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 83: 9-20.
- Malik NM, Liu YL, Cole N, Sanger GJ, Andrews PL. Differential effects of dexamethasone, ondansetron and a tachykinin NK1 receptor antagonist (GR205171) on cisplatin-induced changes in behaviour, food intake, pica and gastric function in rats. *Eur J Pharmacol* 2007; 555: 164-73.
- Mallet PE, Beninger RJ. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716A attenuates the memory impairment produced by delta9-tetrahydrocannabinol or anandamide. *Psychopharmacology (Berl)* 1998; 140: 11-9.
- Markman M. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: underreported and underappreciated. *Current Pain and Headache Report* 2006; 10: 275-8.
- Martín MI, Vera G, Cabezos PA, Castillo MA, Abalo R. The cannabinoid agonist WIN 55,212-2 both reverts and prevents signs of peripheral neuropathy induced by chronic cisplatin in the rat. *Eur J Pain* 2007; 11: 282.
- Mascolo N, Izzo AA, Ligresti A, Costagliola A, Pinto L, Cascio MG, Maffia P, Cecio A, Capasso F, Di Marzo V. The endocannabinoid system and the molecular basis of paralytic ileus in mice. *FASEB J* 2002; 16: 1973-5.
- Massa F, Marsicano G, Hermann H, Cannich A, Monory K, Cravatt BF, Ferri GL, Sibaev A, Storr M, Lutz B. The endogenous cannabinoid system protects against colonic inflammation. *J Clin Invest*. 2004; 113: 1202-9.
- Massa F, Storr M, Lutz B. The endocannabinoid system in the physiology and pathophysiology of the gastrointestinal tract. *J Mol Med* 2005; 83: 944-54.
- Massa F, Monory K. Endocannabinoids and the gastrointestinal tract. *Endocrinol Invest* 2006; 29: 47-57.

- Masur J, März RM, Carlini EA. Effects of acute and chronic administration of cannabis sativa and (-) delta9-trans-tetrahydrocannabinol on the behavior of rats in an open-field arena. *Psychopharmacologia* 1971; 19: 388-97.
- Matias I, Bisogno T, Di Marzo V. Endogenous cannabinoids in the brain and peripheral tissues: regulation of their levels and control of food intake. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30: S7-S12.
- Matias I, Cristino L, Di Marzo V. Endocannabinoids: some like it fat (and sweet too). *J Neuroendocrinol* 2008; 20: 100-9.
- Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990; 346: 561-4.
- McDonald ES, Randon KR, Knight A, Windebank AJ. Cisplatin preferentially binds to DNA in dorsal root ganglion neurons in vitro and in vivo: a potential mechanism for neurotoxicity. *Neurobiol Dis* 2005; 18:305-13.
- McIntosh BT, Hudson B, Yegorova S, Jollimore CA, Kelly ME. Agonist-dependent cannabinoid receptor signalling in human trabecular meshwork cells. *Br J Pharmacol* 2007; 152: 1111-20.
- Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, Gopher A, Almog S, Martin BR, Compton DR, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 1995; 50: 83-90.
- Mechoulam R, Hanus L. A historical overview of chemical research on cannabinoids. *Chem Phys Lipids* 2000; 108: 1-13.
- Mechoulam R, Peters M, Murillo-Rodriguez E, Hanus LO. Cannabidiol--recent advances. *Chem Biodivers* 2007; 4: 1678-92.
- Mitchell D, Wells C, Hoch N, Lind K, Woods SC, Mitchell LK. Poison induced pica in rats. *Physiol. Behav* 1976; 17: 691-697.
- Monhemius R, Azami J, Green DL, Roberts MH. CB1 receptor mediated analgesia from the Nucleus Reticularis Gigantocellularis pars alpha is activated in an animal model of neuropathic pain. *Brain Res* 2001; 908: 67-74.
- Morales M, Wang SD, Diaz-Ruiz O, Jho DH. Cannabinoid CB1 receptor and serotonin 3 receptor subunit A (5-HT3A) are co-expressed in GABA neurons in the rat telencephalon. *J Comp Neurol* 2004; 468: 205-16.
- Morrow GR, Roscoe JA, Kirshner JJ, Hynes HE, Rosenbluth RJ. Anticipatory nausea and vomiting in the era of 5-HT3 antiemetics. *Support Care Cancer* 1998; 6: 244-7.
- Munro S, Thomas K, Abu Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 1993; 365: 61-65.
- Nakata M, Yada T. Suppression of response to foreign substances by intestinal macrophages. *Anticancer Res* 2007; 27: 3723-7.
- Navari RM. Prevention of emesis from multiple-day and high-dose chemotherapy regimens. *J Natl Compr Canc Netw* 2007; 5: 51-59.

- Núñez-Domínguez LA. Cognitive deterioration after consumption of cannabis. *Rev Neurol* 2001; 33: 482-6.
- O'Sullivan SE. Cannabinoids go nuclear: evidence for activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *Br J Pharmacol* 2007; 152: 576-82.
- Ocean, A.J., Vahdat, L.T. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: pathogenesis and emerging therapies. *Support Care Cancer* 2004; 12: 619-25.
- Ong WY, Mackie K. A light and electron microscopic study of the CB1 cannabinoid receptor in primate brain. *Neuroscience* 1999; 92: 1177-91.
- Onaivi ES, Ishiguro H, Gong JP, Patel S, Meozzi PA, Myers L, Perchuk A, Mora Z, Tagliaferro PA, Gardner E, Brusco A, Akinshola BE, Hope B, Lujilde J, Inada T, Iwasaki S, Macharia D, Teasenfitz L, Arinami T, Uhl GR. Brain neuronal CB2 cannabinoid receptors in drug abuse and depression: from mice to human subjects. *PLoS One* 2008; 3): e1640.
- Osei-Hyiaman D. Endocannabinoid system in cancer cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2007; 10: 443-8.
- Oviedo A, Glowa J, Herkenham M. Chronic cannabinoid administration alters cannabinoid receptor binding in rat brain: a quantitative autoradiographic study. *Brain Res* 1993; 616: 293-302.
- Ozaki A, Sukamoto T. Improvement of cisplatin-induced emesis and delayed gastric emptying by KB-R6933, a novel 5-HT₃ receptor antagonist. *Gen Pharmacol* 1999; 33: 283-8.
- Pacher P, Bátkai S, Kunos G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol Rev* 2006; 58: 389-462.
- Page ME, Oropeza VC, Sparks SE, Qian Y, Menko AS, Van Bockstaele EJ. Repeated cannabinoid administration increases indices of noradrenergic activity in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2007; 86: 162-8.
- Pagotto U, Marsicano G, Cota D, Lutz B, Pasquali R. The emerging role of the endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance. *Endocr Rev.* 2006; 27: 73-100.
- Palazzo E, de Novellis V, Petrosino S, Marabese I, Vita D, Giordano C, Di Marzo V, Mangoni GS, Rossi F, Maione S. Neuropathic pain and the endocannabinoid system in the dorsal raphe: pharmacological treatment and interactions with the serotonergic system. *Eur J Neurosci* 2006; 24: 2011-20.
- Paquette JJ, Wang HY, Bakshi K, Olmstead MC. Cannabinoid-induced tolerance is associated with a CB1 receptor G protein coupling switch that is prevented by ultra-low dose rimonabant. *Behav Pharmacol* 2007; 18: 767-76.
- Parker LA, Kwiatkowska M, Mechoulam R. Delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol, but not ondansetron, interfere with conditioned retching reactions elicited by a lithium-paired context in *Suncus murinus*: An animal model of anticipatory nausea and vomiting. *Physiol Behav* 2006; 87: 66-71.

- Partosoedarso ER, Abrahams TP, Scullion RT, Moerschbaecher JM, Hornby PJ. Cannabinoid1 receptor in the dorsal vagal complex modulates lower oesophageal sphincter relaxation in ferrets. *J Physiol* 2003; 550: 149-58.
- Pascual D, Goicoechea C, Suardíaz M, Martín MI. A cannabinoid agonist, WIN 55,212-2, reduces neuropathic nociception induced by paclitaxel in rats. *Pain* 2005; 118: 23-34.
- Passik SD, Kirsh KL, Rosenfeld B, McDonald MV, Theobald DE. The changeable nature of patients' fears regarding chemotherapy: implications for palliative care. *J Pain Symptom Manage* 2001; 21: 113-20.
- Pathak AK, Bhutani M, Guleria R, Bal S, Mohan A, Mohanti BK, Sharma A, Pathak R, Bhardwaj NK, Prasad KN, Kochupillai V. Chemotherapy alone vs. chemotherapy plus high dose multiple antioxidants in patients with advanced non small cell lung cancer. *J Am Coll Nutr* 2005; 24: 16-21.
- Pazos MR, Tolón RM, Benito C, Rodríguez CF, Gorgojo JJ, Nevado M, Alvarez M, Arias F, Almodóvar F, Fernández MT, Lledó JL, González S, Fernández-Ruiz JJ, Romero J. Cannabinoid CB1 receptors are expressed by parietal cells of the human gastric mucosa. *J Histochem Cytochem* 2008; 56: 511-6.
- Perez-Reyes M, White WR, McDonald SA, Hicks RE, Jeffcoat AR, Cook CE. The pharmacologic effects of daily marijuana smoking in humans. *Pharmacol Biochem Behav* 1991; 40: 691-4.
- Perron RR, Tyson RL, Sutherland GR. Delta9 -tetrahydrocannabinol increases brain temperature and inverts circadian rhythms. *Neuroreport* 2001; 12: 3791-4.
- Pertwee RG. Tolerance and dependence on psychotropic cannabinoids. In: Pratt J, editor. The biological bases of drug tolerance and dependence. *Academic Press* 1991; 231– 63.
- Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G. Cross-tolerance between delta-9-tetrahydrocannabinol and the cannabimimetic agents, CP 55,940, WIN 55,212-2 and anandamide. *Br J Pharmacol* 1993; 110: 1483–1490.
- Pertwee RG. Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacol Ther* 1997; 74: 129-80.
- Pertwee RG. Pharmacology of cannabinoid receptor ligands. *Curr Med Chem* 1999; 6: 635–64.
- Pertwee RG. Cannabinoid receptor ligands: clinical and neuropharmacological considerations, relevant to future drug discovery and development. *Expert Opin Investig Drugs* 2000; 9: 1553-71.
- Pertwee RG. Cannabinoids and the gastrointestinal tract. *Gut* 2001; 48: 859-67.
- Pertwee RG. Inverse agonism and neutral antagonism at cannabinoid CB1 receptors. *Life Sci* 2005; 76: 1307-24.
- Pertwee RG. GPR55: a new member of the cannabinoid receptor clan? *Br J Pharmacol* 2007; 152: 984-6.

- Pertwee RG. Ligands that target cannabinoid receptors in the brain: from THC to anandamide and beyond. *Addict Biol* 2008; 13: 147-59.
- Pertwee RG. Emerging strategies for exploiting cannabinoid receptor agonists as medicines. *Br J Pharmacol* 2009; 156: 397-411.
- Phillips RJ, Powley TL. Gastric volume rather than nutrient content inhibits food intake. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1996; 271: R766–R769.
- Pinto L, Izzo AA, Cascio MG, Bisogno T, Hospodar-Scott K, Brown DR, Mascolo N, Di Marzo V, Capasso F. Endocannabinoids as physiological regulators of colonic propulsion in mice. *Gastroenterology* 2002; 123: 227-34.
- Piomelli D, Giuffrida A, Calignano A, Rodríguez de Fonseca F. The endocannabinoid system as a target for therapeutic drugs. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21: 218-24.
- Piomelli D. The endogenous cannabinoid system and the treatment of marijuana dependence. *Neuropharmacol* 2004; 47: 359– 67.
- Polomano RC, Mannes AJ, Clark US, Bennet GJ. A painful peripheral neuropathy in the rat produced by the chemotherapeutic drug, paclitaxel. *Pain* 2001; 94: 293–304.
- Pope HG Jr, Gruber AJ, Yurgelun-Todd D. The residual neuropsychological effects of cannabis: the current status of research. *Drug Alcohol Depend* 1995; 38(1):25-34.
- Powley TL, Phillips RJ. Gastric satiation is volumetric, intestinal satiation is nutritive. *Physiol Behav* 2004; 82: 69–74.
- Rácz I, Bilkei-Gorzo A, Markert A, Stamer F, Göthert M, Zimmer A. Anandamide effects on 5-HT(3) receptors in vivo. *Eur J Pharmacol* 2008; 596: 98-101
- Rahn EJ, Makriyannis A, Hohmann AG. Activation of cannabinoid CB1 and CB2 receptors suppresses neuropathic nociception evoked by the chemotherapeutic agent vincristine in rats. *Br J Pharmacol* 2007; 152: 765-77.
- Reid RM. Cultural and medical perspectives on geophagia. *Med Anthropol* 1992; 13: 337-51.
- Resnick J, Greenwald DA, Brandt LJ. Delayed gastric emptying and postoperative ileus after nongastric abdominal surgery: part I. *Am J Gastroenterol* 1997a; 92: 751-62.
- Resnick J, Greenwald DA, Brandt LJ. Delayed gastric emptying and postoperative ileus after nongastric abdominal surgery: part II. *Am J Gastroenterol* 1997b; 92: 934-40.
- Riezzo G, Pezzolla F, Darconza G, Giorgio I. Gastric myoelectrical activity in the first trimester of pregnancy: a cutaneous electrogastrographic study. *Am J Gastroenterol* 1992; 87: 702-7.
- Rinaldi-Carmona M, Barth F, Héaulme M, Shire D, Calandra B, Congy C, Martinez S, Maruani J, Néliat G, Caput D, et al. SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Lett* 1994; 350: 240-4.
- Roche E, Foster PN. Cannabinoid hyperemesis: not just a problem in Adelaide Hills. *Gut* 2005; 54: 731.

- Rodríguez de Fonseca F, Ramos JA, Bonnín A, Fernández-Ruiz JJ. Presence of cannabinoid binding sites in the brain from early postnatal ages. *Neuroreport* 1993; 4: 135-8.
- Rodríguez de Fonseca F, Gorriti M, Fernández RJJ, Palomo T, Ramos JA. Downregulation of rat brain cannabinoid binding sites after chronic Δ^9 -tetrahydrocannabinol treatment. *Pharmacology, Biochem Behav* 1994; 47: 33-40.
- Romero J, Berrendero F, García-Gil L, Lin SY, Makriyannis A, Ramos JA, Fernández-Ruiz JJ. Cannabinoid receptor and WIN-55,212-2-stimulated [35 S]GTP γ S binding and cannabinoid receptor mRNA levels in several brain structures of adult male rats chronically exposed to R-methanandamide. *Neurochem Int* 1999; 34: 473-82.
- Rosenberg B, Vancamp L, Krigas T. Inhibition of cell division in Escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature* 1965; 205: 698-9.
- Rubino T, Patrini G, Parenti G, Massi P, Parolaro D. Chronic treatment with a synthetic cannabinoid CP55,940 alters G protein expression in the rat central nervous system. *Mol Brain Res* 1997; 44: 191-197.
- Rubino T, Viganò D, Massi P, Parolaro D. Changes in the cannabinoid receptor binding, G protein coupling, and cyclic AMP cascade in the CNS of rats tolerant to and dependent on the synthetic cannabinoid compound CP-55,940. *J Neurochem* 2000a; 75: 2080-6.
- Rubino T, Viganò D, Costa B, Colleoni M, Parolaro D. Loss of cannabinoid-stimulated guanosine 5'-O-(3-[35 S]Thiotriphosphate) binding without receptor down-regulation in brain regions of anandamide-tolerant rats. *J Neurochem* 2000b; 75: 2478-84.
- Rudd JA, Yamamoto K, Yamatodani A, Takeda N. Differential action of ondansetron and dexamethasone to modify cisplatin-induced acute and delayed kaolin consumption ("pica") in rats. *Eur J Pharmacol* 2002; 454: 47-52.
- Rudich Z, Stinson J, Jeavons M, Brown SC. Treatment of chronic intractable neuropathic pain with dronabinol: case report of two adolescents. *Pain Res Manag* 2003; 8: 221-4.
- Russo EB. Clinical endocannabinoid deficiency (CECD): can this concept explain therapeutic benefits of cannabis in migraine, fibromyalgia, irritable bowel syndrome and other treatment-resistant conditions? *Neuro Endocrinol Lett* 2004; 25: 31-9.
- Saeki M, Saito R, Kubota H, Ariumi H, Takano Y. Effects of HSP-117, a novel tachykinin NK1-receptor antagonist, on cisplatin-induced pica as a new evaluation of delayed emesis in rats. *Jpn. J. Pharmacol* 2001; 86: 359-362.
- Sagredo O, García-Arencibia M, de Lago E, Finetti S, Decio A y Fernández-Ruiz J. Cannabinoids and neuroprotection in basal ganglia disorders. *Mol Neurobiol* 2007; 36: 82-91.
- Sanger GJ. Endocannabinoids and the gastrointestinal tract: what are the key questions? *Br J Pharmacol* 2007; 152: 663-70.
- Sangeetha P, Das UN, Koratkar R, Suryaprabha P. Increase in free radical generation and lipid peroxidation following chemotherapy in patients with cancer. *Free Radic Biol Med* 1990; 8: 15-9.
- Sanson M, Bueno L, Fioramonti J. Involvement of cannabinoid receptors in inflammatory hypersensitivity to colonic distension in rats. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 949-56.

- Scheen AJ, Finer N, Hollander P, Jensen MD, Van Gaal LF; RIO-Diabetes Study Group. Efficacy and tolerability of rimonabant in overweight or obese patients with type 2 diabetes: a randomised controlled study. *Lancet* 2006; 368: 1660-72.
- Schneider M, Koch M. Chronic pubertal, but not adult chronic cannabinoid treatment impairs sensorimotor gating, recognition memory, and the performance in a progressive ratio task in adult rats. *Neuropsychopharmacology* 2003; 28: 1760-9.
- Schneider M, Koch M. Deficient social and play behavior in juvenile and adult rats after neonatal cortical lesion: effects of chronic pubertal cannabinoid treatment. *Neuropsychopharmacology* 2005; 30: 944-57.
- Schwartzberg LS. Chemotherapy-induced nausea and vomiting: clinician and patient perspectives. *J Support Oncology* 2007; 5: 5-12.
- Scott DA, Wright CE, Angus JA. Evidence that CB-1 and CB-2 cannabinoid receptors mediate antinociception in neuropathic pain in the rat. *Pain* 2004; 109: 124-31.
- Sharma SS, Gupta YK. Reversal of cisplatin-induced delay in gastric emptying in rats by ginger (*Zingiber officinale*). *J Ethnopharmacol* 1998; 62: 49-55.
- Shook JE, Burks TF. Psychoactive cannabinoids reduce gastrointestinal propulsion and motility in rodents. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 249(2):444-9.
- Siegling A, Hofmann HA, Denzer D, Mauler F, De Vry J. Cannabinoid CB(1) receptor upregulation in a rat model of chronic neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 2001; 415: R5-7.
- Sim LJ, Hampson RE, Deadwyler SA, Childers SR. Effects of chronic treatment with D9-tetrahydrocannabinol on cannabinoid-stimulated [³⁵S]-GTP γ S autoradiography in rat brain. *J Neurosci* 1996a; 16: 8057-66.
- Skaper SD, Buriani A, Dal Toso R, Petrelli L, Romanello S, Facci L, Leon A. The ALIAmide palmitoylethanolamide and cannabinoids, but not anandamide, are protective in a delayed postglutamate paradigm of excitotoxic death in cerebellar granule neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996; 93: 3984-9.
- Solowij N, Grenyer BFS. Efectos psíquicos y cognitivos a largo plazo. En Cannabis y cannabinoides. Editores: Franjo Grotenhermen, Ethan Russo, Ricardo Navarrete Varo. Ed: Castellarte S.L. Murcia (España). 2003; 373-387.
- Sontineni SP, Chaudhary S, Sontineni V, Lanspa SJ. Cannabinoid hyperemesis syndrome: clinical diagnosis of an underrecognised manifestation of chronic cannabis abuse. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 1264-6.
- Storr M, Gaffal E, Saur D, Schusdziarra V, Allescher HD. Effect of cannabinoids on neural transmission in rat gastric fundus. *Can J Physiol Pharmacol* 2002; 80: 67-76.
- Stubblefield MD, Vahdat LT, Balmaceda CM, Troxel AB, Hesdorffer CS, Gooch CL. Glutamine as a neuroprotective agent in high-dose paclitaxel-induced peripheral neuropathy: a clinical and electrophysiologic study. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2005; 17: 271-6.
- Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, Nakane S, Shinoda A, Itoh K, Yamashita A, Waku K. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 215: 89-97.

- Suigiura T, Waku K. 2-Arachidonoylglycerol and cannabinoid receptors. *Chem Phys Lipids* 2000; 108: 89–106.
- Sugiura T, Waku K. Cannabinoid receptors and their endogenous ligands. *J Biochem* 2002; 132: 7-12.
- Svízenská I, Dubový P, Sulcová A. Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures--a short review. *Pharmacol Biochem Behav* 2008; 90: 501-11.
- Szabo B, Nordheim U, Niederhoffer N. Effects of cannabinoids on sympathetic and parasympathetic neuroeffector transmission in the rabbit heart. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 297: 819-26.
- Takeda N, Hasegawa S, Morita M, Matsunaga T. Pica in rats is analogous to emesis: an animal model in emesis research. *Pharmacol. Biochem. Behav* 1993; 45: 817–821.
- Talley RW, O'Bryan RM, Gutterman JU, Brownlee RW, McCredie KB. Clinical evaluation of toxic effects of cis-diamminedichloroplatinum (NSC-119875)--phase I clinical study. *Cancer Chemother Rep* 1973; 57: 465-471.
- Taylor DA, Yap CY. Effect of chronic delta(9)-tetrahydrocannabinol and delta(9)-tetrahydrocannabinol administration in the rat. In: Harvey DJ, ed, *Marihuana*. Oxford: IRL Press, 1985: 279–286.
- Tramèr MR, Carroll D, Campbell FA, Reynolds DJ, Moore RA, McQuay HJ. Cannabinoids for control of chemotherapy induced nausea and vomiting: quantitative systematic review. *BMJ* 2001; 323: 16-21.
- Tsou K, Brown S, Sañudo-Peña MC, Mackie K, Walker JM. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience* 1998; 83: 393-411.
- Tzavara ET, Valjent E, Firmo C, Mas M, Beslot F, Defer N, Roques BP, Hanoune J, Maldonado R. Cannabinoid withdrawal is dependent upon PKA activation in the cerebellum. *Eur J Neurosci* 2000; 12: 1038– 1046.
- Umapathi T, Chaudhry V. Toxic neuropathy. *Curr Opin Neurol* 2005; 18: 574-80.
- Uno A, Takeda N, Horii A, Sakata Y, Yamatodani A, Kubo T. Effects of amygdala or hippocampus lesion on hypergravity-induced motion sickness in rats. *Acta Otolaryngol* 2000; 120: 860–865.
- Valassi E, Scacchi M, Cavagnini F. Neuroendocrine control of food intake. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008; 18: 158-68.
- Van Cutsem E, Arends J. The causes and consequences of cancer-associated malnutrition. *Eur J Oncol Nurs* 2005; 9: S51-63.
- Van der Stelt M, Di Marzo V. Cannabinoid receptors and their role in neuroprotection. *Neuromolecular Med* 2005; 7: 37-50.
- Van Sickle MD, Oland LD, Mackie K, Davison JS, Sharkey KA. Delta9-tetrahydrocannabinol selectively acts on CB1 receptors in specific regions of dorsal vagal complex to inhibit emesis in ferrets. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: G566-76.

- Van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ, Mouihate A, Urbani P, Mackie K, Stella N, Makriyannis A, Piomelli D, Davison JS, Marnett LJ, Di Marzo V, Pittman QJ, Patel KD, Sharkey KA. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science* 2005; 310: 329-32.
- Vaziri ND, Thomas R, Sterling M, Seiff K, Pahl MV, Davila J, Wilson A. Toxicity with intravenous injection of crude marijuana extract. *Clin Toxicol* 1981; 18: 353-66.
- Vera G, Chiarlone A, Martín MI, Abalo R. Altered feeding behaviour induced by long-term cisplatin in rats. *Auton Neurosci* 2006; 126-127: 81-92.
- Vera G, Chiarlone A, Cabezos PA, Pascual D, Martín MI, Abalo R. WIN 55,212-2 prevents mechanical allodynia but not alterations in feeding behaviour induced by chronic cisplatin in the rat. *Life Sci* 2007; 81: 468-79.
- Verberne AJM, Taylor DA, Fennessy MR. Withdrawal-like behaviour induced by inhibitors of biogenic amine reuptake in rats treated chronically with delta 9-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology (Berl)* 1980; 68: 261-267.
- Vickers SP, Kennett GA. Cannabinoids and the regulation of ingestive behaviour. *Curr Drug Targets* 2005; 6: 215-23.
- Volicer L, Stelly M, Morris J, McLaughlin J, Volicer BJ. Effects of dronabinol on anorexia and disturbed behavior in patients with Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry* 1997; 12: 913-9.
- Von Hoff DD, Schilsky R, Reichert CM et al. Toxic effects of cis-dichlorodiammineplatinum(II) in man. *Cancer Treat Rep* 1979; 63: 1527-1531.
- Walker JM, Huang SM. Cannabinoid analgesia. *Pharmacol Ther* 95:127-135.
- Wang WS, Lin JK, Lin TC, Chen WS, Jiang JK, Wang HS, Chiou TJ, Liu JH, Yen CC, Chen PM. Oral glutamine is effective for preventing oxaliplatin-induced neuropathy in colorectal cancer patients. *Oncologist* 2007; 12: 312-9.
- Wang T, Collet JP, Shapiro S, Ware MA. Adverse effects of medical cannabinoids: a systematic review. *CMAJ* 2008; 178: 1669-78.
- Ware MA, Doyle CR, Woods R, Lynch ME, Clark AJ. Cannabis use for chronic non-cancer pain: results of a prospective survey. *Pain* 2003; 102: 211-6.
- Ware MA. Marijuana as medicine: does it have a future? *Clin Pharmacol Ther* 2008; 83: 515-7.
- Warr DG. Chemotherapy- and cancer-related nausea and vomiting. *Curr Oncol* 2008; 15: S4-9.
- Wegener N, Koch M. Behavioural disturbances and altered Fos protein expression in adult rats after chronic pubertal cannabinoid treatment. *Brain Res* 2009; 1253: 81-91.
- Whitlow CT, Freedland CS, Porrino LJ. Functional consequences of the repeated administration of Delta9-tetrahydrocannabinol in the rat. *Drug Alcohol Depend* 2003; 71: 169-77.

- Wiser W, Berger A. Practical management of chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Oncology (Williston Park)* 2005; 19: 637-45.
- Wolf S, Barton D, Kottschade L, Grothey A, Loprinzi C. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: prevention and treatment strategies. *Eur J Cancer* 2008; 44: 1507-15.
- Wright K, Rooney N, Feeney M, Tate J, Robertson D, Welham M, Ward S. Differential expression of cannabinoid receptors in the human colon: cannabinoids promote epithelial wound healing. *Gastroenterology* 2005; 129: 437-453.
- Wright KL, Duncan M, Sharkey KA. Cannabinoid CB2 receptors in the gastrointestinal tract: a regulatory system in states of inflammation. *Br J Pharmacol* 2008; 153: 263-70.
- Yamada Y, Tsukamoto G, Kobashi M, Sasaki A, Matsumura T. Abdominal vagi mediate c-Fos expression induced by X-ray irradiation in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Auton Neurosci* 2000; 83: 29-36.
- Yamamoto K, Matsunaga S, Matsui M, Takeda N, Yamatodani A. Pica in mice as a new model for the study of emesis. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol* 2002a; 24: 135-138.
- Yamamoto K, Takeda N, Yamatodani A. Establishment of an animal model for radiation-induced vomiting in rats using pica. *J Radiat Res (Tokyo)* 2002b; 43: 135-41.
- Yamamoto K, Ngan MP, Takeda N, Yamatodani A, Rudd JA. Differential activity of drugs to induce emesis and pica behavior in *Suncus murinus* (house musk shrew) and rats. *Physiol Behav* 2004; 83: 151-6.
- Yiangou Y, Facer P, Durrenberger P, Chessell IP, Naylor A, Bountra C, Banati RR, Anand P. COX-2, CB2 and P2X7-immunoreactivities are increased in activated microglial cells/macrophages of multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis spinal cord. *BMC Neurol* 2006; 6: 12.
- Zbucki RL, Sawicki B, Hryniewicz A, Winnicka MM. Cannabinoids enhance gastric X/A-like cells activity. *Folia Histochem Cytobiol* 2008; 46: 219-24.
- Zhang J, Hoffert C, Vu HK, Groblewski T, Ahmad S, O'Donnell D. Induction of CB2 receptor expression in the rat spinal cord of neuropathic but not inflammatory chronic pain models. *Eur J Neurosci* 2003; 17: 2750-4.
- Zhuang S, Kittler J, Grigorenko FV, Kirby MT, Sim LJ, Hampson RE, et al. Effects of long-term exposure to D9-tetrahydrocannabinol on expression of cannabinoid receptor (CB1) mRNA in different rat brain regions. *Mol Brain Res* 1998; 62: 141-9.
- Zoratti C, Kipmen-Korgun D, Osibow K, Malli R, Graier WF. Anandamide initiates Ca²⁺ signaling via CB2 receptor linked to phospholipase C in calf pulmonary endothelial cells. *Br J Pharmacol* 2003; 140: 1351-62.
- Zygmunt PM, Petersson J, Andersson DA, Chuang H, Sjørgård M, Di Marzo V, Julius D, Högestätt ED. Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature* 1999; 400: 452-7.