



RESUMEN CIENTÍFICO-TÉCNICO FINAL PROYECTO INVESTIGACIÓN

EXPEDIENTE: 2016I025

TÍTULO DEL PROYECTO: Validación de biomarcadores potencialmente asociados a trastornos adictivos

INVESTIGADOR PRINCIPAL: Luis Fernando Alguacil Merino

EQUIPO DE INVESTIGACIÓN (nombre y apellidos del resto del equipo de investigación):

Carmen González Martín

Gabriel Rubio Valladolid

Francisco Arias Horcajadas

Antonio Aguilar Ros

Victoria Iglesias Dorado

Isabel Adoración Martín Antoniano

José Manuel Pérez Ortiz

José Ramón Muñoz Rodríguez

Nuria García Marchena

Carmen Rodríguez Rivera

Iñigo Pallardo Fernández

ENTIDAD BENEFICIARIA Y CENTRO DE INVESTIGACIÓN:

Fundación Universitaria San Pablo CEU

Universidad San Pablo CEU

RESUMEN (1) (2):

Estudios previos de identificación de biomarcadores asociados a adicciones han permitido vislumbrar una serie de candidatos que, en el caso de validarse como tales biomarcadores, podrían contribuir a perfeccionar el diagnóstico y tratamiento de dichas adicciones, así como a prevenir mejor las recaídas. En este contexto, el presente proyecto ha abordado la validación de polimorfismos seleccionados de los genes H3HR, CARTPT, CLU y MDK y de los niveles de CART, clusterina y midkina en fluidos biológicos como biomarcadores asociados a la adicción al alcohol, cocaína y tabaco.

El genotipado por secuenciación de muestras biológicas de adictos al alcohol y/o cocaína en comparación con una población de referencia ha permitido establecer una clara asociación entre tres variantes del gen CLU y la presencia de al menos una adicción (rs867231, rs867231 y rs11787077), dos variantes del gen H3HR y adicción a la cocaína (rs3787430 y rs74627870) y una del



gen CARTPT y adicción al alcohol (rs6453132). Se han identificado además asociaciones significativas entre una variante de cada uno de los dos últimos genes (rs13042865 de H3HR y rs3857383 de CARTPT) y el grado de dependencia mostrado por los adictos a cocaína y alcohol, respectivamente.

En cuanto a los biomarcadores en fluidos biológicos, se ha observado que los niveles plasmáticos de midkina estaban incrementados en un 60% en pacientes con trastorno por consumo de cocaína en abstinencia temprana con respecto a los controles, una diferencia que tendía a desaparecer según progresaba la abstinencia. Algo cualitativamente semejante se observó con los niveles de clusterina en saliva de fumadores; dichos niveles dependían de los años previos de consumo y del número de cigarrillos consumidos en el momento del reclutamiento, y descendían en un 46% tras seis meses de abstinencia.

Los resultados obtenidos en este proyecto proporcionan una serie de marcadores genéticos con potencial valor diagnóstico para la vulnerabilidad adictiva, y dos analitos con potencial valor diagnóstico y pronóstico para el seguimiento en terapias de cesación tabáquica y de abstinencia a la cocaína

ABSTRACT (English):

Previous studies aimed at identifying addiction biomarkers suggested some candidates that could help to improve the diagnosis and treatment of the disease and to progress in the prevention of relapses. In this context, this project has addressed the validation of selected polymorphisms of the H3HR, CARTPT, CLU and MDK genes as well as levels of CART, clusterin and midkine in biological fluids as biomarkers associated with addiction to alcohol, cocaine, and tobacco.

The comparative study of biological samples from alcohol and / or cocaine addicts and controls permitted to establish a clear association between three variants of the CLU gene and the presence of at least one addiction (rs867231, rs867231 and rs11787077), two variants of the H3HR gene and cocaine addiction (rs3787430 and rs74627870) and one of the CARTPT gene and alcohol addiction (rs6453132). Significant associations have also been identified between a variant of each of the last two genes (rs13042865 of H3HR and rs3857383 of CARTPT) and the degree of dependence shown by addicts to cocaine and alcohol, respectively.

Regarding biomarkers in biological fluids, it has been observed that plasma levels of midkine were increased by 60% in patients with cocaine use disorder in early withdrawal compared to controls, a difference that tended to disappear as abstinence progressed. Something qualitatively similar was observed with the levels of clusterin in saliva of smokers; these levels depended on the previous years of consumption and the number of cigarettes consumed at the time of recruitment, and decreased by 46% after six months of abstinence.

The results obtained in this project provide a series of genetic markers with potential value to estimate addiction vulnerability, and two analytes with potential diagnostic and prognostic value for follow-up in smoking cessation and cocaine withdrawal therapies.

PALABRAS CLAVE (3):

Adicción; clusterina; cart; midkina

KEY WORDS (English):

Addiction; clusterin; cart; midkine



JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO Y OBJETIVOS:

La identificación de biomarcadores asociados a la génesis y desarrollo de las enfermedades constituye en la actualidad una de las aproximaciones más efectivas para mejorar su diagnóstico y su pronóstico, así como para desarrollar aplicaciones terapéuticas novedosas (Ullastres y Rendo, 2014). El impacto real del descubrimiento de un biomarcador capaz de predecir la eficacia y seguridad de un nuevo tratamiento se ha tratado de cuantificar por diversos autores, y así por ejemplo se ha propuesto que en lo que respecta al desarrollo de un nuevo fármaco las posibilidades de éxito pueden llegar a duplicarse cuando aparece un nuevo biomarcador relevante (Wendler y Wheling, 2012). En este contexto, un buen número de grupos de investigación ha tratado de identificar biomarcadores de utilidad en los trastornos adictivos; sin embargo, puede afirmarse que este esfuerzo no se ha visto aún suficientemente recompensado por el hallazgo de buenas herramientas diagnósticas o predictivas de respuesta terapéutica que ayuden a mejorar los tratamientos disponibles, que siguen arrojando resultados pobres a medio/largo plazo. Hay que reseñar que muchos de los equipos de investigación que trabajan en este campo han circunscrito sus estudios a lo biomarcadores genéticos, lo que puede proporcionar sin duda importantes avances, pero debe valorarse en su justa medida: si tomamos como ejemplo el caso del tabaquismo, las estimaciones más rigurosas atribuyen a factores genéticos aproximadamente un 40-50% del riesgo de inicio del consumo de tabaco, un 70-80% del grado de dependencia del fumador y sólo alrededor de un 50% del éxito del tratamiento de deshabituación tabáquica (Verde y Santiago, 2013). Una situación cualitativamente semejante podría generalizarse para otras adicciones, haciendo así evidente la conveniencia de identificar biomarcadores de diversa naturaleza con el triple propósito de refinar el diagnóstico de los pacientes, mejorar / predecir la eficacia de las intervenciones terapéuticas y prevenir el riesgo de recaídas.

En este contexto, el presente proyecto pretende validar algunos biomarcadores potencialmente asociados a las adicciones que han sido identificados por nuestro grupo en estudios previos, utilizando para ello muestras biológicas de personas con adicción a alcohol, tabaco o cocaína. Nuestro equipo fue uno de los primeros en relacionar las vías histaminérgicas centrales y la función del receptor H3 de histamina con los efectos de drogas como los opioides, el alcohol, la metanfetamina o la MDMA (Alguacil y Pérez-García, 2003; Ellenbroek, 2013). En los últimos años se ha producido un progreso notable en el conocimiento de la farmacología de este receptor, al tiempo que se ha corroborado su implicación en distintas adicciones (Nieto-Alamilla et al., 2016, Nuutinen et al., 2016). Es por tanto razonable esperar que aquellas alteraciones genéticas que afectan funcionalmente al receptor H3 (una proteína codificada por el gen HRH3) podrían tener repercusión sobre la vulnerabilidad de un determinado sujeto a las adicciones, idea que además se apoya en datos experimentales como el que los ratones HRH3-KO son menos sensibles a los efectos reforzantes del alcohol y de los psicoestimulantes (Nuutinen et al., 2011). A pesar de estos antecedentes, hasta nuestro conocimiento no se han realizado estudios de asociación de polimorfismos del receptor HRH3 y consumo de drogas en humanos, lo que ha sido por tanto objeto del presente trabajo.

Un segundo marcador seleccionado para este estudio es CART (del inglés cocaine and amphetamine-regulated transcript), transcrito que se describió inicialmente al detectarse su sobre-expresión en el cerebro de ratas tratadas con psicoestimulantes (Douglass et al, 1995). Con el tiempo se comprobaría que los péptidos derivados de CART estaban estrechamente implicados tanto en la regulación de la ingesta como en los efectos de distintas drogas de abuso (Vicentic et al., 2007). En esta línea, estudios llevados a cabo en modelos animales por nuestro grupo sugieren que una hipoactividad de CART en determinadas áreas del cerebro podría conferir una especial susceptibilidad a desarrollar comportamientos adictivos (Salas et al., 2013). Basándonos tanto en nuestros propios hallazgos como en los antecedentes bibliográficos disponibles, en este proyecto pretendemos establecer si los cambios en el funcionalismo central de CART asociados a las



adicciones se traducen en alteraciones detectables de los niveles en muestras biológicas accesibles en clínica, lo que otorgaría a este péptido un posible interés como biomarcador diagnóstico y/o de respuesta a los tratamientos. Además, pretendemos también estudiar polimorfismos seleccionados del gen CARTPT, que en humanos codifica para el precursor de los péptidos CART, de una manera análoga a lo anteriormente mencionado en el caso del gen HRH3.

Estudios realizados por nuestro equipo han demostrado que la pérdida de control sobre la conducta alimentaria, un rasgo fundamental de la llamada “adicción a la comida”, correlaciona con los niveles plasmáticos de clusterina en humanos (Rodríguez-Rivera et al., 2019). Hasta nuestro conocimiento no existe ningún trabajo que haya relacionado a esta proteína multifuncional con otro tipo de adicción, razón por la cual hemos estudiado polimorfismos del gen CLU y niveles de su producto clusterina en nuestros pacientes con adicciones.

Otra de las líneas originalmente abiertas en nuestro laboratorio arranca del hallazgo de que midkina y pleiotrofina, dos citoquinas homólogas con acciones biológicas muchas veces redundantes, se sobre-expresan en el cerebro de roedores tratados con opioides o anfetamina, y que esto tiene una repercusión directa sobre las neuroadaptaciones y la toxicidad subyacentes a los procesos adictivos en estos animales (Ezquerro et al., 2007; Gramage et al., 2010). A estos resultados siguieron otras evidencias en la misma dirección que se extendieron a drogas como el alcohol, lo que nos ha llevado a proponer que midkina, pleiotrofina y las moléculas relacionadas con su mecanismo de acción podrían constituir dianas potenciales de gran interés potencial en diversas drogodependencias, siendo por tanto candidatas a marcadores de adicción (ver revisión de Alguacil y Herradón, 2015).

Los objetivos que se abordaron en el proyecto fueron los siguientes:

- 1) Estudiar polimorfismos seleccionados de los genes H3RH, CARTPT, CLU y MDK en muestras de DNA de sujetos alcohólicos y adictos a cocaína, con el fin de averiguar si alguno de estos polimorfismos está significativamente asociado al grado de adicción.
- 2) Estudiar los niveles de CART, clusterina y midkina en fluidos biológicos de fumadores y adictos a la cocaína con el fin de averiguar si estos niveles correlacionan con la gravedad de la adicción.

METODOLOGÍA Y DESARROLLO DEL PROYECTO. ANALISIS ESTADÍSTICO :

- 1) Estudio de polimorfismos genéticos en adictos al alcohol y la cocaína

Para el estudio de polimorfismos genéticos asociados al consumo de alcohol y cocaína se utilizaron 499 muestras de DNA de adictos procedentes de la Red de Trastornos Adictivos, cuyo fenotipo de adicción viene determinado mediante la entrevista PRISM de investigación psiquiátrica para trastornos mentales y por sustancias. Se utilizaron asimismo 500 muestras control representativas de la población general procedentes del Banco Nacional de DNA. Las muestras se genotiparon en el Centro Nacional de Genotipado CeGen-ISCIII mediante una tecnología de secuenciación de alto rendimiento (Sequenom). En cada muestra se estudiaron 66 polimorfismos seleccionados de los genes H3RH, CARTPT, CLU y MDK. El análisis de los resultados se realizó en dos fases: en la primera, se compararon los genotipos de adictos y controles, y en la segunda se estudió la asociación entre genotipos y fenotipos adictivos en los adictos. En ambos casos se utilizaron regresiones logísticas, tomándose como umbral de significación un valor de $p < 0,05$.

- 2) Niveles de CART, clusterina y midkina en muestras biológicas

Para la realización de este estudio se utilizaron 133 muestras de plasma de adictos a la cocaína en



abstinencia y 125 muestras de individuos control proporcionadas por el Hospital Regional Universitario de Málaga. Además, se obtuvieron muestras de saliva de 81 fumadores incluidos en el programa de deshabituación tabáquica del Centro de Salud Municipal de Fuencarral (Madrid Salud) a dos tiempos diferentes: en el inicio del estudio, y seis meses después de la interrupción del consumo. Para la determinación de los niveles de los marcadores se utilizaron kits de ELISA (CART: EIA kit RayBiotech, Norcross GA, USA; clusterina: EHCLU, Thermo Scientific, Waltham MA, USA; midkina: MKELISA, Cellmid, Sydney, Australia). Las comparaciones de niveles entre adictos a la cocaína a distintos tiempos de abstinencia y con individuos control se realizó mediante ANOVA y test de comparaciones múltiples (Bonferroni). En los fumadores, se analizó la posible asociación entre los niveles de los marcadores y diversas variables asociadas al consumo de tabaco mediante el cálculo de coeficientes de correlación de Spearman o Pearson (dependiendo de la naturaleza de cada variable), y se utilizó el test de Wilcoxon para comparar los niveles basales con los obtenidos 6 meses después de la cesación tabáquica. En todos los casos se consideraron significativas las diferencias con una $p < 0,05$.

PRINCIPALES RESULTADOS:

El genotipado por secuenciación de muestras biológicas de adictos al alcohol y cocaína en comparación con una población de referencia ha permitido establecer una clara asociación entre tres variantes del gen CLU y la presencia de al menos una adicción (rs867231, rs867231 y rs11787077), dos variantes del gen H3HR y adicción a la cocaína (rs3787430 y rs74627870) y una del gen CARTPT y adicción al alcohol (rs6453132). Se han identificado además asociaciones significativas entre una variante de cada uno de los dos últimos genes (rs13042865 de H3HR y rs3857383 de CARTPT) y el grado de dependencia mostrado por los adictos a cocaína y alcohol, respectivamente.

En cuanto a los biomarcadores en fluidos biológicos, se ha observado que los niveles plasmáticos de midkina estaban incrementados en un 60% en pacientes con trastorno por consumo de cocaína en abstinencia temprana con respecto a los controles, una diferencia que tendía a desaparecer según progresaba la abstinencia (fig. 1). No se observaron diferencias entre grupos en lo que respecta a los niveles de clusterina.

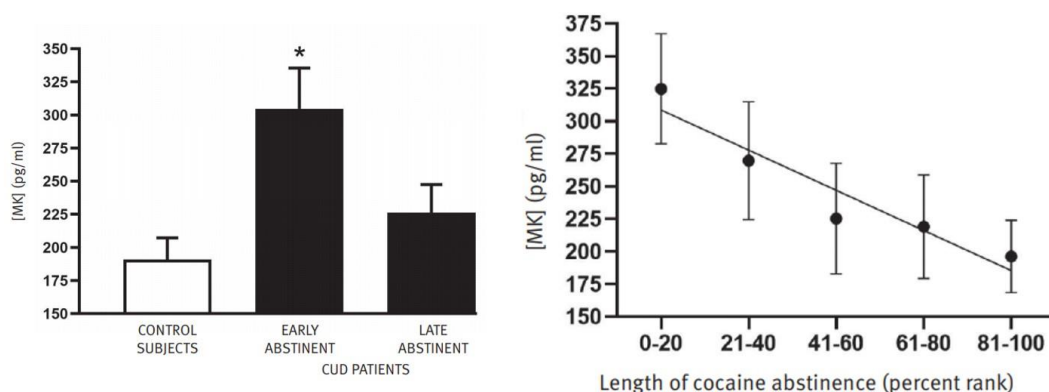


Figura 1. Panel izquierdo: Niveles plasmáticos de midkina en sujetos control y en pacientes con trastorno por consumo de cocaína (CUD) en abstinencia temprana o tardía. Panel derecho: relación entre los niveles plasmáticos de midkina y la duración de la abstinencia.



En fumadores se observó que los niveles de clusterina en saliva dependían de los años previos de consumo y del número de cigarrillos consumidos en el momento del reclutamiento (fig. 2). Estos niveles descendían en un 46% tras seis meses de abstinencia. No se obtuvieron diferencias significativas entre grupos en los niveles de midkina o CART.

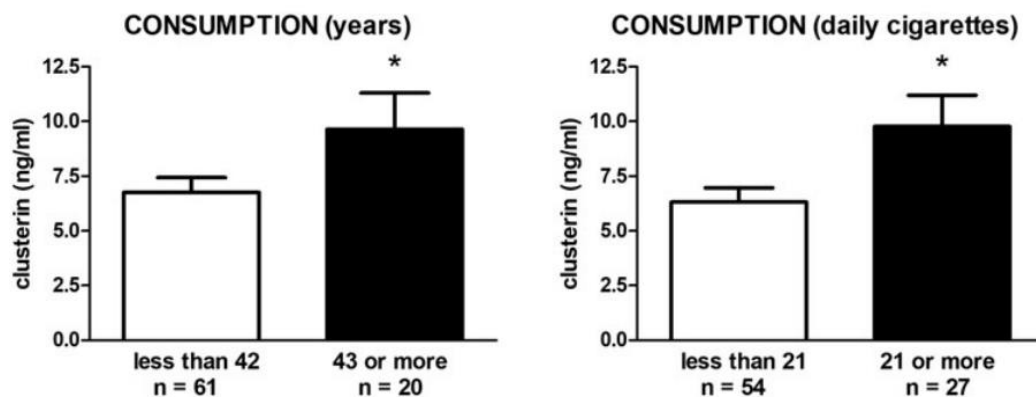


Figura 2. Relación entre niveles de clusterina en saliva de fumadores, años previos de consumo de tabaco (panel izquierdo) y número de cigarrillos consumidos al inicio del estudio (panel derecho).

DISCUSIÓN:

Los resultados obtenidos en este proyecto confirman la relación de algunos de los biomarcadores estudiados con el riesgo de presentar un trastorno adictivo, con la gravedad de dicho trastorno o con la progresión de la abstinencia en el tiempo. Por el momento puede afirmarse que determinados polimorfismos intrónicos del gen de la clusterina que pueden influir en los niveles de esta proteína confieren una vulnerabilidad adictiva diferencial ante el consumo de alcohol o cocaína; además, la relación entre niveles de clusterina y consumo de tabaco, así como el descenso de niveles tras la interrupción del consumo, concuerdan con la hipótesis de que esta clusterina se sobre-expresa como parte de un mecanismo defensivo ante diversos estímulos tóxicos (Rodríguez-Rivera et al., 2021), a los que podríamos añadir aquellos que están asociados al hábito de fumar.

También la midkina podría jugar un papel modulador en este caso de los efectos de la cocaína de acuerdo a nuestros resultados, ya que concuerdan con los de estudios previos en animales de experimentación que tienden a mostrar una atenuación de los efectos de psicoestimulantes o una potenciación de los mismos cuando los niveles de midkina están elevados o disminuidos, respectivamente (Alguacil y Herradón, 2015).

En el caso del receptor H3 de histamina, las asociaciones encontradas entre algunas variantes genéticas y la presencia o gravedad de adicción a la cocaína apoyan también los trabajos previos que han implicado la función de este receptor en el abuso de drogas (Brabant et al., 2009; Munzar et al., 2004).

CARTPT, por su parte, estaría más específicamente relacionado con el riesgo de consumo de alcohol, lo que está en la línea de lo reportado en estudios muy recientes en los que se ha observado que CART modula significativamente las conductas de búsqueda de esta droga (Walker et al., 2021).



APLICABILIDAD E IMPACTO SOCIO-SANITARIO DEL PROYECTO:

De confirmarse con estudios más extensos, los biomarcadores inicialmente validados en este estudio podrían aplicarse al diagnóstico y tratamiento de distintas adicciones

SÍNTESIS DE LOS ASPECTOS MÁS RELEVANTES QUE APORTA EL ESTUDIO:

Los resultados obtenidos en este proyecto proporcionan una serie de marcadores genéticos con potencial valor diagnóstico para la vulnerabilidad adictiva, y dos analitos con potencial valor diagnóstico y pronóstico para el seguimiento en terapias de cesación tabáquica y de abstinencia a la cocaína

ENLACES O REFERENCIAS PARA AMPLIAR INFORMACIÓN ACERCA DEL PROYECTO (en su caso):

Puede solicitarse más información sobre el proyecto escribiendo a la dirección de correo-e del Instituto de Estudios de las Adicciones IEA-CEU (iea@ceu.es)

PUBLICACIONES CIENTÍFICAS GENERADAS (4):

Pallardo-Fernández I, Iglesias V, Rodríguez-Rivera C, González-Martín C, Alguacil LF (2020). Salivary clusterin as a biomarker of tobacco consumption in nicotine addicts undergoing smoking cessation therapy. *J Smok Cessat* 15, 171–174.

Pallardo-Fernández I, Muñoz-Rodríguez JR, González-Martín C, Alguacil LF (2020). Human clusterin gene polymorphisms associated with substance use disorders. *Rev Toxicol* 37, 3-5.

Pallardo-Fernández I, Muñoz-Rodríguez JR, González-Martín C, Alguacil LF (2020). Histamine H3 receptor gene variants associated with drug abuse in patients with cocaine use disorder. *J Psychopharmacol* 34, 1326-1330.

Pallardo-Fernández I, García-Marchena N, Rodríguez-Rivera C, Pavón FJ, González-Martín C, Rodríguez de Fonseca F, Alguacil LF (2021). Plasma midkine levels in patients with cocaine use disorder during abstinence. *Adicciones* (en prensa; versión online disponible en doi: 10.20882/adicciones.1498.).

Rodríguez Rivera C, Pérez-Carrión MD, Casariego L, Alguacil LF, Polanco MJ, González-Martín C. Clusterin levels in undernourished SH-SY5Y cells. *Food & Nutrition Research* (en prensa).

Pallardo-Fernández I, Ovejero C, González-Martín C, Alguacil LF. CARTPT polymorphisms and alcohol abuse (artículo actualmente en preparación).

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS (CONGRESOS, JORNADAS Y ACTIVIDADES DE DISEMINACIÓN CIENTÍFICA Y TÉCNICA):

Iglesias V. (2018). Proyecto de investigación en biomarcadores de vulnerabilidad adictiva en el tabaquismo. Seminarios de Intercambio de Experiencias y Metodologías, Madrid Salud.

Pallardo-Fernández I, Iglesias V, Rodríguez-Rivera C, González-Martín C, Alguacil LF (2018). Clusterina como biomarcador principal de dependencia / adicción al tabaco. 27 Reunión Farmacólogos de la



Comunidad de Madrid. Libro de Resúmenes, 12-13.

Pallardo-Fernández I, Iglesias V, Rodríguez-Rivera C, González-Martín C, Alguacil LF (2018). Clusterin as a potential biomarker of tobacco dependence / addiction. 3rd ENSP-CNPT International Conference on Tobacco Control, Madrid, 2018. *Tob Prev Cessation* 4 Suppl, A160.

Pallardo-Fernández I, Iglesias V, Rodríguez-Rivera C, González-Martín C, Alguacil LF (2019). Clusterin, candidate biomarker of tobacco addiction. VII Jornada Ciudad Real-Biomédica, Ciudad Real, 2019. *Apuntes de Ciencia*, 15.

Pallardo I, Muñoz-Rodríguez JR, González-Martín C, Alguacil LF (2019). Clusterin gene polymorphisms associated to drug abuse. *Neuroscience* 2019, Chicago, USA. <https://www.abstractsonline.com/pp8/#!/7883>

PATENTES Y MODELOS DE UTILIDAD (en su caso) :

BIBLIOGRAFÍA (4):

Alguacil LF, Herradón G (2015). Midkine and pleiotrophin in the treatment of neurodegenerative diseases and drug addiction. *Recent Pat CNS Drug Discov* 10: 28-33.

Alguacil LF, Pérez-García C (2003). Histamine H3 receptor: a potential drug target for the treatment of central nervous system disorders. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 2: 303-313.

Brabant C, Alleva L, Quertemont E, et al. (2010). Involvement of the brain histaminergic system in addiction and addiction-related behaviors: A comprehensive review with emphasis on the potential therapeutic use of histaminergic compounds in drug dependence. *Prog. Neurobiol* 92: 421-441.

Douglass J, McKinzie AA, Couceyro P (1995). PCR differential display identifies a rat brain mRNA that is transcriptionally regulated by cocaine and amphetamine. *J Neurosci* 15: 2471-2481.

Ellenbroek BA (2013). Histamine H₃ receptors, the complex interaction with dopamine and its implications for addiction. *Br J Pharmacol* 170: 46-57.

Ezquerro L, Pérez-García C, Garrido E, Díez-Fernández C, Deuel TF, Alguacil LF, Herradón G (2007). Morphine and yohimbine regulate midkine gene expression in the rat hippocampus. *Eur J Pharmacol* 557:147-150.

Gramage E, Putelli A, Polanco MJ, González-Martín C, Ezquerro L, Alguacil LF, Pérez-Pinera P, Deuel TF, Herradón G (2010). The neurotrophic factor pleiotrophin modulates amphetamine-seeking behaviour and amphetamine-induced neurotoxic effects: evidence from pleiotrophin knockout mice. *Addict Biol* 15: 403-412.

Munzar P, Tanda G, Justinova Z, et al. (2004). Histamine H3 receptor antagonists potentiate methamphetamine self-administration and dependence induced by morphine in the rat. *Pharmacol Rev Commun* 10: 291-298.

Nieto-Alamilla G, Marquez-Gomez R, Garcia-Galvez AM, Morales-Figueroa GE, Arias-Montano JA. The histamine H3 receptor: structure, pharmacology and function (2016). *Mol Pharmacol* 90: 649-673.



Nuutinen S, Lintunen M, Vanhanen J, Ojala T, Rozov S, Panula P. Evidence for the role of histamine H3 receptor in alcohol consumption and alcohol reward in mice (2011). *Neuropsychopharmacology* 36: 2030-2040.

Nuutinen S, Mäki T, Rozov S, Bäckström P, Hyytiä P, Piepponen P, Panula P. Histamine H3 receptor antagonist decreases cue-induced alcohol reinstatement in mice (2016). *Neuropharmacology* 106: 156-163.

Rodríguez-Rivera C, Pérez-García C, Muñoz-Rodríguez JR et al. (2019). Proteomic identification of biomarkers associated with eating control and bariatric surgery outcomes in patients with morbid obesity. *World J Surg* 43: 744-750.

Rodríguez-Rivera C, Garcia MM, Molina-Álvarez M, González-Martín C, Goicoechea C (2021). Clusterin: always protecting. Synthesis, function and potential issues. *Biomed Pharmacother* 134: 111174.

Salas E, Bocos C, Del Castillo C, Pérez-García C, Morales L, Alguacil LF (2013). Assessing addiction vulnerability with different rat strains and place preference procedures: the role of the cocaine and amphetamine-regulated transcript. *Behav Pharmacol* 24: 471-477.

Ullastres C, Rendo D (2014). *Investigación Traslacional: Aprendiendo a Escuchar*. Fund. Gaspar Casal, Madrid.

Verde Z, Santiago C (2013). *Genética del tabaquismo*. *MedClin (Barc)* 140: 66-67.

Vicentic A, Jones DC (2007). The CART (Cocaine- and Amphetamine-Regulated Transcript) system in appetite and drug addiction. *J Pharmacol Exp Ther* 320: 499-506.

Walker LC, Hand LJ, Letherby B, Huckstep KL, Campbell EJ, Lawrence AJ (2021). Cocaine and amphetamine regulated transcript (CART) signalling in the central nucleus of the amygdala modulates stress-induced alcohol seeking. *Neuropsychopharmacology* 46: 325-333.

Wendler A, Wheling M. Translatability scoring in drug development: eight case studies. *J Translational Med* 10: 39, 2012

COFINANCIACIÓN (APARTE DE LA DELGACIÓN DEL GOBIERNO PARA EL PLAN NACIONAL SOBRE DROGAS), en su caso:

La Fundación Universitaria CEU San Pablo / Banco de Santander concedió al equipo una subvención complementaria de 2.267 euros para apoyar específicamente la realización de este proyecto. El Hospital General Universitario de Ciudad Real adquirió por su parte los primeros kits para la determinación de CART con cargo a fondos propios adicionales a los de este proyecto, ya que la financiación concedida no aseguraba en principio cubrir los costes de análisis de todos los biomarcadores previstos.

AGRADECIMIENTOS:

CONTACTO (dirección de correo electrónico para consultas al equipo de investigación):

iea@ceu.es



NOTAS:

(1): Este resumen está dirigido a dar a conocer los aspectos sustanciales de los proyectos financiados por la Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas tanto a la población general como a profesionales, a través de su publicación en la página web del Ministerio de Sanidad. Procure ser conciso en las exposiciones. Incluya las gráficas y tablas que considere oportunas. En el caso de precisar otro tipo de información (audiovisuales, archivos de datos, etc.), consulte con el órgano instructor para valorar procedimiento de difusión.

(2): Máximo 500 palabras.

(3): Utilice como fuente el Medical Subjects Headings, MeSH, del Index Medicus.

(4) Se recomienda seguir los Requisitos de Uniformidad del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas conforme a las normas de la US National Library of Medicine (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7256/?amp=&depth=2>).