



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA  
SOCIAL E IGUALDAD  
REGISTRO INTERNO  
S.G. DE GESTIÓN (PNSD)  
ENTRADA  
N. de Registro: 4804  
Fecha: 19/07/2011 09:39:49

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
4 JUL 2011  
3796

20081065



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

### ANEXO IV

## JUSTIFICACION DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN EN DROGODEPENDENCIAS

### MEMORIA CIENTÍFICA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

1ª ANUALIDAD

2ª ANUALIDAD

3ª ANUALIDAD

FINAL

**Número Expediente:** PR61/08 - 16415

**Investigador Principal:** Jose Antonio López Moreno

**Otros Investigadores:**

Raquel Gómez de Heras, Gregorio Angel Santos Montes, Elena Giné Domínguez, Gustavo González Cuevas, Ana María Pérez Castillo, Francisco Alen Fariñas, Guillermo Moreno Sanz, Isabel Martínez Higuera, Alejandro López Jiménez, Ana Isabel De Tena Martín, Luis Franco Ruíz

**Título Proyecto o subproyecto:** Co-abuso de Alcohol y Cocaína: exploración de los determinantes neuropsicológicos basados en su expresión génica utilizando modelos animales de autoadministración voluntaria para el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas duales y preventivas

**Organismo:**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

**Centro:**

Laboratorio de Psicobiología, Facultad de Psicología

**Departamento:**

Psicobiología

**Comunidad Autónoma:**

Madrid

**Duración:**

01 / 01 / 2009 – 31 / 12 / 2011 (3 años)

**Fecha de inicio:**

01 / 01 / 2009

**Fecha de finalización:**

10 / 07 / 2011

**Año Convocatoria:**

2008



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

**Área Temática:**

Psicobiología, Psicofarmacología, Adicción a drogas de abuso

**Palabras Clave:**

Adicción, alcohol, cannabinoides, cocaína, modelos animales, ratones knock-out, expresión genética.

**RESUMEN:** (Objetivo, ámbito de estudio, sujetos de estudio, instrumentalización, resultados, conclusiones. Máximo 2.000 palabras.)

**Objetivo**

Durante todo el Proyecto realizado en estos tres años (2009-2011) se han desarrollado los objetivos que se marcaron en el Proyecto Original y algunos han sido ampliados, como la inclusión de un estudio sobre neurogénesis en cerebro adulto de rata tras la exposición a un agonista cannabinoide y/o la ingesta crónica operante de alcohol; y el estudio de variantes genéticas en humanos asociados a procesos psicológicos básicos y fisiológicos que se encuentran alterados en pacientes adictos. Los estudios llevados a cabo durante todo el Proyecto (2009-2011) han buscado el desarrollo de biomarcadores que puedan incorporarse como herramientas diagnósticas y que permitan la acción terapéutica directa o preventiva; y por otro lado, el desarrollo de terapias farmacológicas para el tratamiento de la adicción a cocaína, el alcohol y su co-abuso en humanos usando modelos animales con alta validez predictiva en humanos.

**Ámbito de estudio**

Gracias a los estudios de genómica comparada, fisiología y datos fenotípicos provenientes de modelos animales, ratas y ratones, esencialmente usados como modelos de organismo, se puede obtener importante información sobre la adicción a las drogas de abuso, y proporcionar loci genéticos candidatos para el estudio en humanos. En nuestro laboratorio, de manera permanente hemos estudiado la conducta de adicción con modelos de autoadministración operante de drogas, esencialmente opiodes, alcohol y cocaína. Dichos paradigmas experimentales permiten estudiar la adicción de las drogas de abuso desde una perspectiva más ecológica y válida para el desarrollo de estrategias farmacoterapéuticas. Durante el presente Proyecto (2009-2011) se han utilizado aproximaciones conductuales, fisiológicas y genéticas con el fin de encontrar una explicación más integrada de las causas que explican el origen y el mantenimiento de los procesos de adicción y búsqueda de tratamientos.



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

### **Sujetos de estudio**

A continuación se resume de manera breve algunos de los sujetos de estudio (para una lista completa, por favor, ver publicaciones adjuntas) que se han usado a lo largo de la ejecución de todo el Proyecto durante el trienio 2009-2011:

- Se han usado ratas adultas (Harlan, Barcelona, España) con un peso entre 150-175 gramos y ratones con una edad entre 3-4 semanas de vida (aprox. 20-24 gramos), en el momento del comienzo de los experimentos. Los animales con sesiones de autoadministración operante fueron estabulados en grupos de dos (en el caso de las ratas) y en grupos de cuatro-ocho, (en el caso de los ratones).

Se han usado ratones C57BL6/JOla (C57BL6Snc<sup>a</sup>-/-) y C57BL6/NHsd o Rcc (C57BL6Snc<sup>a</sup>+/+).

- Todos los ratones fueron proporcionados por Harlan Laboratories (Barcelona, Spain) a la edad de 5 a 7 semanas. La comida estuvo disponible ad libitum en todo momento (a lo largo de todos los protocolos).

- Los ratones knock-out para la proteína alfa-sinucleína han sido adquiridos en Harlan, UK, mientras que los ratones knock-out para el receptor cannabinoide CB1 han sido donados por el Dr. B. Lutz, Alemania, tras la firma del correspondiente "Material Transfer Agreement".

- Todos los animales han tenido agua y comida ad libitum, exceptuando los primeros días de aprendizaje en tareas de autoadministración operante, donde se les privó varias horas al día de comida o agua para incrementar la motivación exploratoria de los animales en las cajas de autoadministración. Ratas y ratones estuvieron estabulados a una temperatura (23° +/-1°) y humedad controlada en el CAI animal de la Facultad de Psicología. Todos los animales han estado estabulados en ciclo reverso de luz de 12 horas dependiendo de la hora de los experimentos (mañana o tarde, pero en general, luz apagada entre 9:00 y 21:00 horas). La totalidad de los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con la normativa 86/609 CEE de la Comunidad Europea y del Comité del Bienestar de *Animales de la Universidad Complutense de Madrid*.

### **Instrumentalización**

Durante todo el Proyecto 2009-2011 se han usado distintos aparatajes, métodos y técnicas de medida, incluso algunos desarrollados por nosotros mismos, como es el sistema de autoadministración operante de cocaína de manera inhalada (y objeto de la solicitud de un patente). A continuación se describen brevemente algunos de ellos (para una descripción más exhaustiva, ver publicaciones y material adjunto (p.e. patente) y las memorias presentadas correspondientemente en las dos anteriores anualidades.



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

a) Autoadministración operante oral de alcohol (ratas y ratones)

Está basado en el paradigma del condicionamiento operante. Las cajas están construidas en plexiglás con una luz situada arriba y dos palancas retráctiles de aluminio de 2 cm. En el medio de estas palancas se encuentra un bebedero que libera una solución de alcohol al 10% en razón de 0.1 mL por cada presión de la palanca en el caso de las ratas. En el caso de los ratones es la activación de un emisor de infra-rojos situado en un "nose-poke" el que libera la solución de alcohol, pero en este caso en un volumen de 0.02 mL. Durante todo el protocolo se sigue un programa de razón fija 1.

b) Determinación del genotipado de  $\alpha$ -syn

Los experimentos con PCR genómica confirmaron la ausencia del locus de  $\alpha$ -syn en ratones C57BL6Snca<sup>-/-</sup> y su presencia en ratones C57BL6Snca<sup>+/+</sup>. La identidad de cada producto de la PCR fue confirmada mediante secuenciación. Los resultados confirmaron que los ratones C57BL6Snca<sup>-/-</sup> portaban una delección cromosómica del locus para  $\alpha$ -syn.

c) Técnicas de fijación y contaje de células madre en cerebro de rata

Para la detección y exploración de la neurogénesis se empleó el análogo de la timina Bromodeoxiuridina, que se incorpora únicamente en las células en la fase S de la división celular, fase donde se sintetiza el nuevo ADN. Esta inyección se realizó entre 20-24 horas antes (2 veces x 175 mg/kg separados por 4 horas) del sacrificio de los animales e inmediatamente después que los animales fueron sacados de las cajas de autoadministración de alcohol. El contaje final y las técnicas inmunohistoquímicas han sido desarrolladas con el Instituto Pasteur de París.

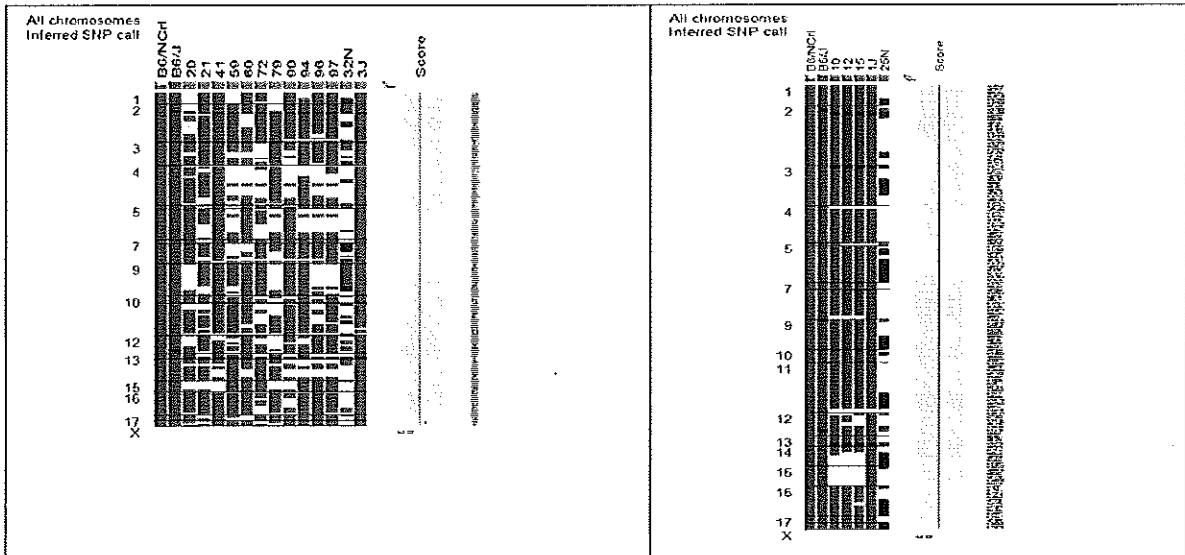
d) Realización de los ratones doble Knock-out CB1 x alpha-synuclein (SPEED-CONGENICS)

En estos momentos estamos con la generación N4. Junto con la selección de los ratones macho que han heredado en heterocigosis el gen para cannabionides CB1 y el gen de la proteína alfa-sinucleína, se han seleccionado unos marcadores genéticos que nos han permitido obtener una mayor presencia del fondo genético B6J presente en los animales que expresan una mayor preferencia al alcohol, mientras que los animales procedentes de las cepa B6N no muestran preferencia o mayor ingesta de alcohol. A continuación se presenta dos imágenes de los polimorfismos explorados entre las distintas cepas de ratones. Actualmente, en estos días de finales de junio/ principios de julio, Jackson Laboratories está llevando a cabo el último cribaje con sus paneles de Illumina (Mouse Diversity Genotyping Array panel):



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS



e) Diferencias en niveles de transcripción de ARNm.

De forma abreviada: los cerebros de ratones/ratas fueron retirados de los cráneos, y el córtex prefrontal, el estriado, la amígdala y el hipocampo fueron diseccionados rápidamente sobre hielo, congelados de inmediato y almacenados a  $-80^{\circ}\text{C}$ . El total de ARN fue aislado de estas cuatro regiones cerebrales mediante Trizol Reagent (Invitrogen) y almacenados a  $-80^{\circ}\text{C}$ , y  $5\ \mu\text{g}$  del ARN total fue inversamente transcrito en ADNc utilizando el High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems/Roche). Se llevó a cabo la PCR-RT mediante el 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) y en el LightCycler 480 II (Roche).

f) Protocolo de autoadministración alcohol/sacarina.

Mediante la elección de las dos botellas (alcohol/agua) se evaluó el consumo y preferencia, utilizando una modificación del protocolo descrito por Basavarajappa et al. (2006). A los ratones, mitad C57BL6Snca $^{-/-}$  y mitad C57BL6Snca $^{+/+}$ , se les ofreció alcohol en botellas de 50 ml en cajas individuales: una solución a 3% (v/v) de alcohol para los primeros cuatro días, una solución a 6% para los siguientes 4 días, y una solución al 10% para los siguientes doce días. Una vez alcanzada la concentración total, esta se mantuvo a lo largo de todos los experimentos consecutivos.

g) Drogas

Las soluciones de alcohol fueron preparadas a diario al 10% v/v de alcohol desde una stock de alcohol al 99%. Acamprosato (Campral®, Merck Santé.s.a.s, Francia) y naltrexona (Antaxone®, Pharmazam SA, España) se disolvieron en agua y fueron administrados por sonda nasogástrica en un volumen de



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

3,0 ml / kg. Clorhidrato de cocaína (Sigma-Aldrich CO. EE.UU.) se disolvió en solución salina fisiológica e inyecta por vía intraperitoneal en un volumen de 1,0 ml / kg. WIN 55,212-2 (Sigma-Aldrich, Madrid, España) y Rimonabant se disolvieron en salino fisiológico esterilizado con 0.1% Tween 80.

### **Resultados**

Debido a que los resultados de las anteriores anualidades 2009 y 2010 han sido descritos más extensamente en sus correspondientes memorias, parte de los principales resultados obtenidos durante este trienio se pueden resumir del siguiente modo:

#### **1) Implicación de las células madre en cerebro adulto de rata y recaída al alcohol**

La intoxicación forzada de la administración de una dosis hipnótica de alcohol, la ingesta voluntaria crónica de alcohol (paradigma operante) y la administración del agonista cannabinoide WIN reducen dramáticamente la neurogénesis hipocampal en cerebro de rata adulta.

#### **2) Antagonismo de los receptores glutamatérgicos tipo NDMA L-701-324 en la autoadministración de alcohol y expresión de genes en cerebro de ratas**

L-701 previene el incremento del consumo de alcohol inducido por cannabinoides de forma dosis-dependiente, mientras que la administración de L-701 por sí sola, en ausencia de tratamiento con WIN, no altera significativamente el consumo de alcohol. La potenciación del consumo inducido por WIN no es causada por efectos inespecíficos ansiogénicos, (evaluado por el Laberinto en Cruz Elevado - Elevated Plus Maze). Las conductas relacionadas con el consumo de alcohol estaban asociadas a diferentes cambios en los transcritos de ARNm de CNR1 y la subunidad NR1. En ratas tratadas con WIN, se observó un incremento en los niveles de transcripción de CNR1 en el hipocampo y estriado, mientras que se observó un decremento del mismo en la amígdala y córtex cingulado anterior, regiones cerebrales involucradas en el procesamiento emocional. Cabe destacar que estos cambios se bloquearon tras el tratamiento con L-701. Finalmente, el tratamiento con WIN también causó una reducción de los niveles de ARNm de NR1 en la amígdala.

#### **3) Alfa-sinucleína, el sistema endocannabinoide e ingesta de alcohol**

C57BL6Snc<sup>-/-</sup> (ratones carentes de la proteína alfa-sinucleína) mostraron un consumo significativamente mayor de EtOH pero una reducción tras el tratamiento con agonistas/antagonistas cannabinoides en comparación con C57BL6Snc<sup>+/+</sup> (ratones que expresan normalmente alfa-



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

sinucleina). Del sistema endocannabinoide, exceptuando Faah, Cnr1 y Gpr55, los transcritos de ARNm mostraron un incremento significativo en el córtex prefrontal, amígdala, hipocampo y estriado en ratones Snc $\alpha$ -/. Estos ratones también mostraron un incremento en la expresión de GABA (Gat1) y transcripciones del transportador de glutamato (Glt1), exceptuando en estriado. La expresión del receptor CB1 se mostró incrementado en C57BL6Snc $\alpha$ -/ a nivel de hipocampo y amígdala. La dosis hipnótica de EtOH provocó un incremento general en los transcritos de ARNm en ambos tipos de ratones, excepto para Gpr55 y Gat1.

#### 4) Generación de los ratones doble knock-out

En estos momentos estamos con la generación N4 (ver parte de la Metodología). Actualmente, en estos días de finales de junio/principios de julio, Jackson Laboratories está llevando a cabo el último cribaje con sus paneles de Illumina (Mouse Diversity Genotyping Array panel). Es previsible que a mediados del próximo año dispongamos de los ratones doble mutante (Cnr1 y Snc $\alpha$ )

#### 5) Estudio de Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en humanos

Nuestros resultados han mostrado que los SNPs de la enzima FAAH C385A y rs12075550 están asociados con la memoria corto plazo; el SNP rs12075550 también fue asociado con control ejecutivo; el SNP C957T del gen DRD2 fue asociado con aprendizaje motor; y el SNP A158G de la enzima COMT estaba asociado con una tasa cardíaca más elevada, hecho que probablemente refleje un dimorfismo sexual. Todas estas variables se encuentran alteradas normalmente en los sujetos adictos

#### 6) Escritura de dos revisiones científicas: (a) sobre el sistema endocannabinoide y alcohol; (b) genética del sistema endocannabinoide y adicción a drogas en humanos

(a) Según la Trayectoria de nuestro Laboratorio y fruto de nuestros resultados, hemos publicado una revisión en la cual también hemos incorporado ciertos aspectos originales, haciendo nuestra aportación sobre la interacción entre el sistema endocannabinoide, opioide y alcohol.

(b) Hemos hecho una revisión de los principales polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) pertenecientes al sistema endocannabinoide en humanos asociados a la adicción de drogas de abuso. Igualmente hemos descrito las bases genéticas del sistema endocannabinoide y sus principales proteínas.

#### 7) Desarrollo de la patente para la autoadministración operante de cocaína



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

Hemos diseñado un aparato para la autoadministración operante de cocaína (y otras soluciones farmacológicas) que suma múltiples ventajas respecto a los modelos actuales de autoadministración de drogas de manera intravenosa.

8) Efectos de la administración crónica de cocaína, naltrexona o su combinación, en la respuesta para obtener alcohol

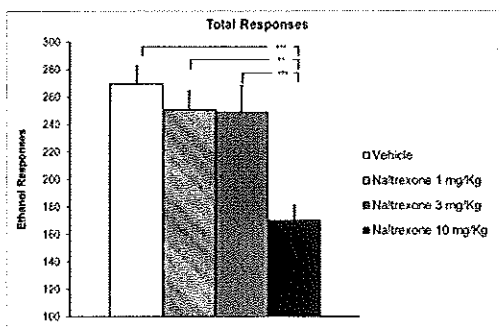


Figura 1

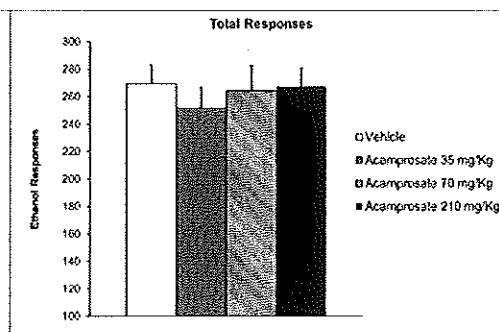


Figura 2

**Figura 1:** Efectos de la administración subcrónica de naltrexona en el total de respuestas para obtener alcohol. La mayor dosis de naltrexona (10 mg/kg) redujo significativamente el número de respuestas para obtener alcohol. Los datos se presentan como media  $\pm$  ET Media. \*\*\* Indica significativamente menor que los vehículos y la naltrexona 1 mg/kg ( $p < 0,000$ ). \*\* Indica significativamente menor que la naltrexona 3 mg/kg ( $p < 0,01$ ). **Figura 2:** Efectos de la administración subcrónica de acamprosato en el total de respuestas para obtener alcohol. Los datos se presentan como media  $\pm$  ET Media.

**Tabla 1.** Valor de la diferencia de medias ( $\pm$  ET Media) del consumo de alcohol (g/kg) tras la administración de naltrexona (0, 1, 3 ó 10 mg/kg) sola o en combinación con cocaína (0, 2.5, 10 o 20 mg/kg).

Tratamiento	Día 0	Día 1/2	Día 3/4	Día 5/6	Día 7/8	Día 9/10	Día 11/12	Día 13/14
Salino	.39 $\pm$ .3	.40 $\pm$ .3	.38 $\pm$ .4	.36 $\pm$ .4	.36 $\pm$ .4	.41 $\pm$ .3	.35 $\pm$ .3	.28 $\pm$ .2
Naltrexona 10 mg/Kg	.38 $\pm$ .3	.34 $\pm$ .3	.31 $\pm$ .3	.27 $\pm$ .2	.22 $\pm$ .1	.22 $\pm$ .2	.24 $\pm$ .2	.20 $\pm$ .2
Naltrexona 10+Cocaína 10 mg/Kg	.37 $\pm$ .3	.37 $\pm$ .5	.38 $\pm$ .5	.42 $\pm$ .4	.43 $\pm$ .4	.43 $\pm$ .4	.42 $\pm$ .4	.37 $\pm$ .4
Naltrexona 10+Cocaína 20 mg/Kg	.39 $\pm$ .3	.42 $\pm$ .4	.41 $\pm$ .4	.42 $\pm$ .4	.48 $\pm$ .5	.52 $\pm$ .4	.44 $\pm$ .3	.50 $\pm$ .5
Cocaína 2.5 mg/kg	.37 $\pm$ .4	.40 $\pm$ .6	.36 $\pm$ .6	.31 $\pm$ .5	.34 $\pm$ .5	.32 $\pm$ .4	.36 $\pm$ .4	.30 $\pm$ .3
Cocaína 10 mg/kg	.38 $\pm$ .4	.38 $\pm$ .5	.35 $\pm$ .6	.33 $\pm$ .5	.42 $\pm$ .5	.40 $\pm$ .5	.37 $\pm$ .4	.37 $\pm$ .5
Cocaína 20 mg/kg	.38 $\pm$ .4	.38 $\pm$ .4	.35 $\pm$ .4	.40 $\pm$ .4	.45 $\pm$ .4	.44 $\pm$ .3	.44 $\pm$ .5	.41 $\pm$ .4





MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

### **Conclusiones**

Durante todo este trienio (2009-2011) hemos realizado multitud de estudios de acuerdo a los objetivos iniciales presentados en el Proyecto y algunos se han ampliado. Algunas de las conclusiones que podemos destacar son que: (a) la neurogénesis hipocámpal en la edad adulta es un factor clave en el abuso de drogas y esto puede proporcionar una nueva estrategia para el tratamiento de la adicción y dependencia al alcohol. (b) La inactivación farmacológica del lugar de unión de glicina del receptor NMDA puede controlar el consumo de alcohol inducido por cannabinoides el cual está asociado a la alteración en la expresión génica de CNR1 y NR1 (c) La presencia de un polimorfismo microsatélite consistente en un triplete (AAT)<sub>n</sub> cerca del gen CB1 está asociado con fenotipos de drogadicción. Sin embargo, aun se carecen de estudios de haplotipos relacionados con otros sistemas (como p.e. el opiode). (d) Nuestros datos sobre SNPs en humanos proporcionan una información útil para una mejor comprensión de la variación fenotípica tanto en individuos drogadictos como sanos. Y (e) La ausencia de alfa-sinucleína modula el sistema endocannabinoide, la expresión génica de varios componentes presinápticos y que estos cambios deben estar asociadas con o bien predictivos de diferentes fenotipos relacionadas con alcohol.

**ARTÍCULOS PUBLICADOS COMO CONSECUENCIA DE LA ACCIÓN (2009-2011):**  
(Se adjuntarán tres separatas de cada uno de ellos)

### **PUBLICADOS:**

#### **2009**

(1) Alén F, Santos A, Moreno-Sanz G, González-Cuevas G, Giné E, Franco-Ruiz L, Navarro M, López-Moreno JA. Cannabinoid-induced increase in relapse-like drinking is prevented by the blockade of the glycine-binding site of N-methyl-D-aspartate receptors. *Neuroscience*. 2009 Jan 23;158(2):465-73

\* Impact factor JCR 2009: **3.292**



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

(2) Alén F, Gómez R, González-Cuevas G, Navarro M, **López-Moreno JA**. Nicotine causes opposite effects on alcohol intake: Evidence in an animal experimental model of abstinence and relapse from alcohol. *Nicotine Tob Res*. 2009 Nov;11(11):1304-11.

\* Impact factor JCR 2009: **2.557**

### 2010

(3) **López-Moreno JA**, López-Jiménez A, Gorriti MA, de Fonseca FR. Functional interactions between endogenous cannabinoid and opioid systems: focus on alcohol, genetics and drug-addicted behaviors. *Curr Drug Targets*. 2010 Apr;11(4):406-28.

\* Impact factor JCR 2009: **3.932**

(4) Alén F, Mouret A, Viveros MP, Llorente R, Lepousez G, Lledo PM, **López-Moreno JA**. Converging action of alcohol consumption and cannabinoid receptor activation on adult hippocampal neurogenesis. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2010 Mar;13(2):191-205.

\* Impact factor JCR 2009: **4.874**

(5) Peraile I, Torres E, Mayado A, Izco M, Lopez-Jimenez A, **Lopez-Moreno JA**, Colado MI, O'Shea E. Dopamine transporter down-regulation following repeated cocaine: implications for 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced acute effects and long-term neurotoxicity in mice. *Br J Pharmacol*. 2010 Jan;159(1):201-11.

\* Impact factor JCR 2009: **5.204**

### 2011

(6) Zurita E, Chagoyen M, Cantero M, Alonso R, González-Neira A, López-Jiménez A, **López-Moreno JA**, Landel CP, Benítez J, Pazos F, Montoliu L. Genetic polymorphisms among C57BL/6 mouse inbred strains. *Transgenic Res*. 2011 Jun;20(3):481-9

\* Impact factor JCR 2009: **2.467**

### ACEPTADOS 2011

(7) **López-Moreno JA**, Echeverry-Alzate V, Bühler KM (2010). The genetic bases of the endocannabinoid system in humans and drug addiction. *Journal of Psychopharmacology*.

Submitted 02-Nov-2010

Currently, accepted: 06-Jun-2011



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

\* Impact factor JCR 2009: **3.647**

**2011 SUBMITTED / RESPONDIENDO A REVISORES**

(8) López-Jiménez A., Walter N., Giné E., Santos A., Echeverry-Alzate V., Giezendanner S., Sainz L., Moratalla R., Montoliu LL., Buck K., and **López-Moreno JA** (2010). A null mutation in  $\alpha$ -Synuclein is associated with ethanol intake, alterations in endocannabinoid system and changes in the mRNA expression of GABA and glutamate transporters. *European Journal of Neuroscience*.

Submitted 11-Nov-2010 / Decision of EJM 07-Jan-2011 (review requested).

\* Impact factor JCR 2009: **3.418**

(9) Huertas E, Bühler KM, Echeverry-Alzate V, Giménez T, **López-Moreno JA** (2011). FAAH, DRD2 and COMT gene variants modulate executive control, short-term memory, procedural motor learning and heart rate in healthy volunteers. *European Journal of Neuroscience*.

Submitted 21-Mar-2011

\* Impact factor JCR 2009: **3.418**

**EN PROCESO DE ESCRITURA (Fecha prevista submission 10 Agosto 2011)**

(10) Cocaine overcomes Naltrexone-reduced alcohol operant self-administration: implication of genetic expression of *c-fos* in the prefrontal cortex.

Tuda-Arízcuñ M, Echeverry-Alzate V, Bühler KM, **López-Moreno JA** (2011).



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

### OBJETIVOS

**PLANTEADOS:** (Transcribir los del proyecto original)

**ALCANZADOS:** (Ordenar de igual forma que los planteados. En el caso de proyectos coordinados, el coordinador deberá describir además el desarrollo de la coordinación entre subproyectos en este año, y los resultados de dicha coordinación con relación a los objetivos globales del proyecto)

**1.- Identificar factores neuropsicológicos con base en la expresión génica y estudios de genes que expliquen el fenotipo adictivo en la adicción al alcohol, cocaína y su co-abuso.**

***1a.- Generación de los ratones doble knock-out***  
Hemos alcanzado la generación N4 en el desarrollo de estos ratones doble mutantes en heterocigosis (CB1 x alfa-sinucleína). Actualmente estamos en el cruce de éstos, por lo que a mediados del próximo año (2012) podremos tener la generación del doble mutante CB1 x alfa-sinucleína definitiva.

*Ver parte de Metodología (d) (Speed-Congenicis)*

***1b.- Identificación de transcritos de genes en cepas de ratón que responden diferencialmente al alcohol***

Hemos puesto en evidencia que los genes encargados de la producción de las proteínas receptores *Cb1*, *Gpr55*, de la proteína alfa-sinucleína (*Sncα*), y de los transportadores de glutamato (*Glt1*) y gabaérgicos (*Gal1*) pueden predecir el fenotipo adictivo de alcohol.

*Ver publicación: (8)*

***1c.- Estudio de Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en humanos (OBJETIVO AMPLIADO)***

Se han estudiado procesos psicológicos básicos (memoria, procesamiento ejecutivo) y fisiológicos (respuesta cardíaca) en humanos y se han asociado a SNPs de los sistemas cannabinoide, dopaminérgico y catecolaminérgico. Sistemas que están implicados en la adicción de drogas de abuso. También hemos encontrado asociaciones con patrones de consumo de sustancias.

*Ver publicación:(9)*

***1d.- El gen c-fos se expresa 10-12 veces menos en el cortex prefrontal en animales que se administran alcohol y cocaína***

Nuestros datos más recientes demuestran que ratas que se autoadministran alcohol y que son tratadas con cocaína el nivel del gen c-fos (que



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

<p>2.- Diseñar experimentos con modelos animales que nos permitan establecer modelos de organismo análogos a la adicción de alcohol y cocaína en humanos.</p>	<p>implica nivel de activación celular) se encuentra entre 10-12 veces menos expresado en el córtex prefrontal, e independientemente de que hayan sido tratados con Naltrexona. <i>Ver publicación: (10)</i></p> <p><b>2a.- Desarrollo de un modelo de inhalación de cocaína en Modelos Animales.</b> Después de varios prototipos, hemos podido desarrollar el método más fiable y robusto de autoadministración operante por inhalación de cocaína. Actualmente está presentada la solicitud de patente en la Oficina de Transferencia de Investigación de la UCM (que consiste en un aparato de atomización/nebulización de la cocaína). <i>Ver patente adjunta</i></p> <p><b>2b.- Uso de la "Validez Reversa" para el estudio nuevas dianas terapéuticas el tratamiento de alcohol y cocaína.</b> La validez reversa es un constructo que consiste en que las moléculas que están aprobadas en el mercado y funcionan en humanos tienen igualmente efecto en animales. Usando Antaxone© y Campral© hemos demostrado que ninguno de estos tratamientos es efectivo para el tratamiento comorbido de alcohol y cocaína. <i>Ver publicación:(10)</i></p> <p><b>2c.- Contingente vs no-contingente. (OBJETIVO AMPLIADO)</b> Hemos aportado más evidencias (en este caso con nicotina) que se pueden obtener resultados en direcciones opuestas en el consumo de alcohol en modelos animales dependiendo del momento en que son tratados. Según nuestro modelo, las mayores tasa de consumo se dan cuando son tratados en <i>Ver publicación:(2)</i></p>
---	---



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

3.- Explorar nuevas dianas terapéuticas basadas esencialmente en la combinación de manipulaciones farmacológicas en el sistema endocannabinoide (principal neuromodulador) junto con otros sistemas de neurotransmisión cerebral (principalmente glutamatérgicos, gabaérgicos y dopaminérgicos).

**3a.- Implicación de las células madre en cerebro adulto y recaída al alcohol (OBJETIVO AMPLIADO)**

Hemos demostrado que hay un correlato entre la reducción en la neurogénesis en el cerebro adulto de rata (hipocampo) y la mayor recaída al alcohol, usando modelos de autoadministración operante de alcohol. Según nuestros datos, una intoxicación de alcohol produce una mayor reducción en la neurogénesis que una intoxicación tras un agonista cannabinoide.

*Ver publicación: (4)*

**3b.- El antagonista de los receptores glutamatérgicos L-701-324 previene la recaída al alcohol**

Hemos demostrado que la administración del antagonista L-701-324 para los receptores glutamatérgicos de tipo NMDA es capaz de prevenir la recaída al alcohol, y reducir el consumo de alcohol incluso cuando existe una coadministración de cannabinoides.

*Ver publicación: (1)*

**3c.- Naltrexona y Acamprosato para el tratamiento de la adicción comorbida de alcohol y cocaína.**

El Acamprosato se ha mostrado ineficaz en la reducción de la ingesta de alcohol a cualquiera de las dosis probadas en modelos animales operantes de autoadministración. La naltrexona, a la dosis de 10mg/kg, se mostró eficaz en la reducción de consumo de alcohol. Sin embargo, la naltrexona no es capaz de reducir el incremento en el consumo de alcohol producido por la administración de cocaína.

*Ver publicación: (10)*

*Nota:* La empresa farmacéutica Pfizer se negó a suministrarnos el inhibidor de la FAAH PF-04457845, con el cual realizado la empresa ya ha realizado algunos experimentos en Fase Clínica.



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

<p>4.- Proporcionar datos y resultados experimentales que permitan el desarrollo de nuevos marcadores genéticos que nos permitan pronosticar y establecer relaciones experimentales y causales entre genes, patrones de expresión génica y la adicción a cocaína y alcohol.</p>	<p><i>4a.- Expresión diferencial de genes en cepas de ratón que responden diferencialmente al alcohol.</i> Existe una relación significativa entre el nivel de expresión génica de los genes: <i>Cnr1</i>, <i>Faah</i>, <i>Gpr55</i>, <i>Glt1</i>, <i>Gat1</i> y <i>Snca</i> y el mayor nivel de preferencia y consumo de alcohol en las cepas de ratón examinadas. Sin embargo no hemos encontrado diferencias en la expresión de los receptores de dopaminérgicos <i>Drd2</i> y <i>Vmat</i>. <i>Ver publicación: (8)</i></p> <p><i>4b.- Variantes genéticas (SNPs) en los genes FAAH, DRD2 y COMT modulan diversos procesos psicológicos y fisiológicos básicos que se encuentran alterados en sujetos sanos y adictos (OBJETIVO AMPLIADO)</i> Basándonos, primero en variantes genéticas de los sistemas de neurotransmisión cerebral que presentan repetidas relaciones con la adicción a drogas de abuso, y segundo, en procesos psicológicos básicos y fisiológicos que están alterados en sujetos adictos, hemos aportado evidencias de que dichas variantes genéticas también están asociadas a diferencias en memoria (incluida procedimental) control ejecutivo y la tasa cardíaca en sujeto no adictos. <i>Ver publicación: (9)</i></p>
<b>METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO</b>	
<b>PROYECTADO</b>	<b>EJECUTADO</b>
<p>1.- Generación de los ratones doble Knock-out</p>	<p>1.- En un 80%. Nos hemos encontrado que la tasa de reproducción de los ratones seleccionados para los retrocruces asistidos con marcadores genéticos (speed-congenics) cada vez han sido más bajas teniendo que seleccionar entre un gran número de animales los ratones que habían heredado en heterocigosis la doble mutación (alfa sinucleína y receptor CB1).</p>



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

<p>2.- Aproximación inicial y estudio de factores genéticos en ratas Wistar</p>	<p>2.- En un 100%. Hemos demostrado diversos patrones de expresión de genes. Como último resultado el importante decremento de <i>c-fos</i> en el córtex prefrontal de ratas Wistar con alcohol y cocaína.</p>
<p>3.- Estudio de la curva dosis-respuesta de alcohol y cocaína</p>	<p>1.- En un 75%. Debido a que no tenemos todavía la generación final de los ratones doble Knock-out para CB1 y alfa-sinucleína tenemos que esperar unos 8 meses para empezar y acabar estos experimentos. La mayor parte del trabajo lo hemos realizado en ratas Wistar y ratones C57BL/6J.</p>
<p>4.- Diseño, validación y caracterización experimental de la vía de la cocaína inhalada</p>	<p>4.- En un 100%. Fruto de ello hemos generado una patente.</p>
<p>5.- Selección de genes o expresión génica que nos permitan predecir el fenotipo adictivo</p>	<p>5.- En un 100%. Hemos puesto en evidencia diversos patrones de expresión de genes en animales preferentes a alcohol o no, así como diversas variantes genéticas (SNPs) en humanos que pueden explicar la vulnerabilidad a trastornos cognitivos en sujetos adictos y/o sanos.</p>
<p>6.- Estudio de la combinación conjunta de dos fármacos</p>	<p>6.- En un 50%. La empresa farmacéutica Pfizer se negó a suministrarnos el inhibidor de la FAAH PF-04457845, siendo uno de nuestros principales objetivos en nuestros estudios usar la validez reversa (es decir, medicamentos ya aprobados en humanos usándolos en animales buscando nuevas combinaciones). Usamos para nuestros objetivos Acamprosato y Naloxona. Actualmente estamos en trámite con la empresa Almiral que ha comenzado a comercializar desde primeros de este año Sativex en España.</p>





MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

<b>OBJETIVOS AMPLIADOS</b>	Otros trabajos relacionados directamente con la temática del Proyecto pero que no se describieron en la solicitud del Proyecto original son: los experimentos con alcohol y neurogénesis en el cerebro de ratas adultas, el experimento con nicotina y alcohol, y los experimentos con las variantes genéticas en humanos.
<b>ACTIVIDADES</b>	
<p style="text-align: center;"><b>PROYECTADAS</b></p> <p><b>1.- Colaboraciones Científicas (internacionales/nacionales):</b></p>          <p><b>2.- Asistencia/participación a Congresos / Conferencias / Simposios (internacionales/nacionales):</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>EJECUTADAS</b></p> <p><i>1a.- Pierre Marie Lledo</i> Laboratory for Perception and Memory, Pasteur Institute, Paris, France.</p> <p><i>1b.- Tsuyoshi Koide</i> National Institute of Genetics, Mouse Genomics Resource Laboratory, Mishima, Japan.</p> <p><i>1c.- Beat Lutz</i> Institute of Physiological Chemistry, University Medical Center of the Johannes Gutenberg University, D-55099 Mainz, Germany.</p> <p><i>1d.- Fernando Rodríguez de Fonseca</i> Fundacion IMABIS, Hospital Carlos Haya de Malaga, Malaga, Spain</p> <p><i>1e.- M<sup>a</sup> Isabel Colado Megia</i> Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040 Madrid, Spain.</p> <p><i>1f.- M<sup>a</sup> Paz Viveros Hernández</i> Departamento de Fisiología (Fisiología Animal II), Facultad de Biología, Universidad Complutense, Madrid, Spain.</p> <hr/> <p>I.- E. Huertas , K.M. Bühler, V. Echerverry-Alzate, M. Tuda-Arizcun, <b>López-Moreno JA</b> "Human single nucleotide polymorphisms (SNPs) from the cannabinoid and catecholaminergic system are associated to drug consumption and basic psychological processes"</p>



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

	<p>11th Reunión Anual de Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides Pontevedra, Spain November 25-27 2010</p>
	<p>2.- E. Giné, V. Echeverry-Alzate, <b>López-Moreno JA</b>, M. Tuda Arizcun, K.M. Buhler, A. López-Jiménez, A. Pérez-Castillo, and A. Santos “Spatial memory impairment in developmental hypothyroid rats: implication of the endocannabinoid system” 11th Reunión Anual de Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides Pontevedra, Spain November 25-27 2010</p> <p>3.- P M. Tuda-Arizcun, T. Koide, S. Toshihiko, V. Echeverry-Alzate, K.M. Bühler, B. Lutz, <b>López-Moreno JA</b> “Study of the polygenic influence on the cannabinoid tetrad tests using consomic mice strains” 11th Reunión Anual de Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides Pontevedra, Spain November 25-27 2010</p> <p>4.- <b>López-Moreno JA</b> “Cannabinoid receptor activation during alcohol abstinence: From neuropharmacology and behavior to neurogenesis in the adult rat brain, and beyond” 2010 International Society for Biomedical Research on Alcoholism Paris, France September 13-16-2010</p> <p>5.- <b>López-Moreno JA</b>, López-Jiménez A, Echeverry-Alzate V, Walter N, Buck K, Santos A, Montoliu LL, Giné E “Study of the interaction between alpha-synuclein and the endocannabinoid system in alcohol self-administration using two inbred substrains of mice” (9th) Transgenic Technology (TT) Meeting Berlin, Germany Mars 22-24 2010</p> <p>6.- A. Lopez-Jimenez, V. Echeverry-Alzate, N.Walter, K.J. Buck, K. Mackie, A. Santos, E. Gine, R. Moratalla, <b>López-Moreno JA</b> “Different genetic and protein expression of the endocannabinoid system is related to specific</p>



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACIÓN DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

	<p>alcohol related behaviors” 10th Reunión Anual de Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides Santander, Spain November 26-28 2009</p> <p>7.- V. Echeverry-Alzate, A.Lopez-Jimenez, A. Santos, E. Gine, <b>López-Moreno JA</b> “Lack of alpha-synuclein alters the sensitivity of canabinoid treatments in alcohol drinking and preference” 10th Reunión Anual de Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides Santander, Spain November 26-28 2009</p> <p>8.- Francisco Alén, Aurelie Mouret, Maria-Paz Viveros, Ricardo Llorente, Gabriel Lepousez, Pierre-Marie Lledo, <b>López-Moreno JA</b> “La activación de los receptores cannabinoides y la recaída al alcohol correlacionan con una reducción de la neurogénesis en el hipocampo del cerebro adulto” XIII Congreso Sociedad Española de Neurociencia Tarragona, Spain September 19-24 2009</p> <p>9.- E. O’shea, S. Giezendanner, G. Moreno, L. Orio, I. Escobedo, G. González-Cuevas, M.I. Colado, <b>López-Moreno JA</b> “MDMA-induced ethanol operant self-administration relapse and dopamine release during reinstatement” 13th Meeting European Behavioural Pharmacology Society Rome, Italy September 4-7 2009</p> <p>10.- Francisco Alén, Aurelie Mouret, Maria-Paz Viveros, Ricardo Llorente, Gabriel Lepousez, Pierre-Marie Lledo, <b>López-Moreno JA.</b> “Cannabinoid receptor activation and alcohol self-administration during relapse correlates with a reduction of adult hippocampal neurogenesis” 13th Meeting European Behavioural Pharmacology Society Rome, Italy September 4-7 2009</p> <p>11.- <b>López-Moreno JA</b> “The endocannabinoid system in the</p>
--	--



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

	<p>hippocampus and drug addiction.” Spring Hippocampal Research Conference Verona, Italy June 15-18 2009</p> <p>12.- Francisco Alén, Aurelie Mouret, Maria-Paz Viveros, Ricardo Llorente, Gabriel Lepousez, Pierre-Marie Lledo, <b>López-Moreno JA.</b> “Cannabinoid and alcohol-induced reduction of adult neurogenesis” XI Annual Meeting of the International Behavioural and Neural Genetics Society Dresden, Germany June 5-8 2009</p> <p>13.- Francisco Alén, Aurelie Mouret, Maria-Paz Viveros, Ricardo Llorente, Gabriel Lepousez, Pierre-Marie Lledo, <b>López-Moreno JA.</b> “Cannabinoid and alcohol-induced reduction of adult hippocampal neurogenesis” IV European Workshop on Cannabinoid Research El Escorial, Spain May 7-10 2009</p>
--	--

**EN CASO DE FINANCIACIÓN DE ESTANCIA FORMATIVA EN ESTADOS UNIDOS AVALADA POR EL NIDA:**

*No procede en este proyecto*

**APLICABILIDAD Y UTILIDAD PRÁCTICA DE LOS RESULTADOS EN EL ÁREA DE LAS DROGODEPENDENCIAS. (En caso de memoria final)**

**1.- Desarrollo de la patente para la autoadministración operante de cocaína.**

Hemos diseñado un aparato para la autoadministración operante de cocaína que suma múltiples ventajas respecto a los modelos actuales de autoadministración de drogas de manera intravenosa. Entre estas ventajas destacan:

**1.1.- Evita la cirugía de implantación de un catéter en la yugular externa del animal con las siguientes consecuencias:**

- a) Previene el sufrimiento animal.
- b) Evita el entrenamiento y especialización del personal en el proceso de cirugía.
- c) Elimina todos los costes derivados de las intervenciones quirúrgicas.



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

- d) Elimina la necesidad de un espacio específico/esterilizado para las operaciones (p.e. quirófano).
- e) Evita todos los tratamientos postoperatorios (anticoagulantes, analgésicos, antibióticos, uso de catéteres comerciales, etc.).
- f) Elimina la mortandad experimental por infecciones o por inutilización del catéter implantado.
- h) Ahorro de tiempo (tiempo de cirugía, postoperatorio, recuperación de los animales, etc.)

1.2.- Presenta mejoras metodológicas críticas:

- a) Mejora la validez predictiva en humanos al mimetizar la principal ruta de administración de la cocaína en humanos.
- b) Permite la exploración de nuevos compuestos farmacológicos y principios activos administrados de forma inhalada.
- c) Permite el estudio de tratamientos crónicos característicos p.e. de los procesos de adicción a drogas de abuso ya que no hay mortandad experimental.
- d) Mayor validez interestudios, reduce variabilidad en los procesos experimentales.
- e) Mayor flexibilidad en los protocolos y posibilidad de incrementar las variables a investigar (p.e. incrementando el número de programas de reforzamiento a utilizar).
- f) Reduce el número de errores al ser un sistema más simple y con menos variables susceptibles de mal funcionamiento.
- g) Permite el estudio de la neurobiología de la adicción a las drogas de abuso y cualquier otra molécula o compuesto cuya ruta de administración sea inhalada.

1.3.- Reduce la necesidad de personal, de tiempo, espacio y de costes económicos:

- a) Un solo investigador puede trabajar con un gran número de animales.
- b) Evita días de trabajo operando los animales, periodos de postoperatorio y reduce el tiempo en cada experimento debido a la menor necesidad de manipulación y supervisión de la salud de los animales.
- c) Varios animales pueden estar en la misma jaula (homecage) reduciendo el número necesario de jaulas, estantes, biberones y habitaciones necesarios para la correcta estabulación de los animales.
- d) Reduce costes en fungibles derivados del proceso de cirugía como del mantenimiento de las cajas de autoadministración.



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

1.4.- Permite la exploración de nuevos principios activos de forma inhalada incrementado el interés por ensayos preclínicos en la industria farmacológica

## **2.- Descubrimiento de biomarcadores genéticos relacionados con la adicción a drogas de abuso.**

Hemos aportado evidencias sobre variantes genéticas (*Cnr1*, *Faah*, *Gpr55*, *Glt1*, *Gat1* y *Snca*) en animales (ratas y ratones como modelo de organismo y con alta validez predictiva en humanos) que parecen jugar un papel fundamental en la preferencia e ingesta de alcohol. En humanos es muy probable que estos genes también sean factores que contribuyan importantemente en el fenotipo del alcoholismo. También hemos descubierto recientemente que la expresión del gen de expresión temprana *c-fos* y que se suele usar como marcador de actividad neuronal se encuentra muy significativamente reducido en el córtex prefrontal de ratas que toman alcohol y han sido tratadas con cocaína. Por lo tanto estos resultados indican que una hipofunción del córtex prefrontal (cuantificado como una reducción en la expresión de *c-fos*) es uno de los correlatos que subyacen a la ingesta de alcohol. En humanos esta reducción en la actividad del córtex prefrontal se traduce en una mayor impulsividad y pérdida de control.

En humanos, hemos descubierto que ciertas variantes genéticas de la enzima que degrada los endocannabinoides FAAH, del receptor dopaminérgico DRD2, y de una de las principales enzimas que degrada las catecolaminas (COMT), están asociadas y podrían modular la memoria a corto plazo, la memoria procedimental, función ejecutiva y la tasa cardíaca. Dichos procesos se encuentran alterados en sujetos adictos.

La utilidad de la descripción de dichos biomarcadores genéticos posibilita, por una parte:

a) el conocimiento de la neurobiología (variantes genéticas) que subyace a la adicción dando lugar a estrategias de medicina preventiva. Por ejemplo, adolescentes con variantes genéticas que les hacen más vulnerables a los efectos de las drogas (como una menor sensibilidad a sus efectos negativos y una mayor sensibilidad a sus efectos "positivos") podrían ser susceptibles de programas de apoyo, asesoramiento y/o prevención.

y por otra parte:

b) el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas farmacológicas basadas en las variantes genéticas. Por un lado nuestras investigaciones aportan claves para el desarrollo de nuevas moléculas que se centren en los sistemas de neurotransmisión descritos y asociados al alcoholismo y cocaína. Por otro, se puede



tener en consideración esas variables genéticas para el estudio de la adecuación personalizada de cada fármaco a cada paciente, es decir farmacogenética.

### **3.- ¿Puede ser la neurogénesis una diana terapéutica en la adicción a las drogas de abuso?**

Hemos demostrado que la neurogénesis en el cerebro de rata adulta se encuentra afectada en animales tras la exposición crónica de alcohol (en modelos de autoadministración operante), a la exposición aguda de una dosis sedante de alcohol y tras la exposición a cannabinoides. A pesar de que estos cambios parecen responder a los tratamientos empleados (alcohol y cannabinoides) es plausible plantearse si se pudieran diseñar estrategias farmacológicas que redujeran o eliminaran en su totalidad los efectos de las drogas en los procesos de neurogénesis normal. Esto tendría importante implicaciones clínicas. Uno de los principales sitios donde es persistente la neurogénesis en el cerebro adulto, es en el hipocampo, región que controla y modula la formación de recuerdos a largo plazo. Por lo tanto una de las principales ventajas del tratamiento basado en la preservación de la tasa normal de neurogénesis supondría, entre otros logros, una reducción en la pérdida de memoria característica de los adictos crónicos a alcohol y cannabinoides.

### **4.-La Naltrexona (Antexone ©) y no el Acamprosato (Campral ©) es capaz de prevenir la ingesta de alcohol, pero no cuando existe la combinación alcohol y cocaína**

Uno de nuestros últimos trabajos desarrollados durante la presente anualidad 2011 demuestra que las ratas que se autoadministran alcohol (paradigma operante) solamente reducen su consumo si son tratadas con Antexone© a la dosis de 10 mg/kg, pero a ninguna de las dosis usadas Campral©. Esto pasa igualmente con humanos. El Campral© parece solamente efectivo y está indicado para el mantenimiento de la individuos en periodo de abstinencia, pero no para la reducción de la ingesta de alcohol. Sin embargo, al igual que en humanos, el Antexone© está indicada para reducir el número de episodios de borrachera o de intoxicaciones alcohólicas. Estos hechos demuestran el concepto de validez reversa, es decir, que las moléculas farmacológicas que son efectivas en humanos para una indicación concreta, lo son igualmente válidas en modelos animales. Esto permite depurar los modelos animales para mimetizar lo máximo posible el patrón humano, proporcionando a su vez mayor validez predictiva en humanos.

Sin embargo, encontramos que cuando los animales fueron tratados con cocaína, ésta producía un incremento en el consumo de alcohol de manera dosis-dependiente, y que el Antexone© perdía su eficacia: no reducía el consumo de alcohol. Por lo tanto, y tras los conceptos explicados de validez reversa y validez predictiva en humanos, nuestros datos apuntan que en humanos cuando hay



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACIÓN DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

exposición a cocaína, el tratamiento con Naltrexona (Antexone®) se mostraría ineficaz en su principal indicación: en la reducción del número de intoxicaciones alcohólicas.

**TRANSFERENCIA Y DIFUSIÓN DE RESULTADOS A LA CIUDADANÍA:  
ACCIONES LLEVADAS A CABO.** (En caso de memoria segunda anualidad y final)

1.- Participación cada año (2009 -2011) en la **Semana de la Ciencia** organizado por la Comunidad de Madrid y con la participación de distintos centros de la Universidad Complutense (OTRI), y en nuestro caso como Grupo de Investigación del Laboratorio de Psicobiología con la Actividad de Jornadas de Puertas Abiertas y Seminarios titulados “Genes, Fármacos y Cerebro: Cómo pueden explicar nuestra conducta y su estudio con modelos animales (ratas y ratones) que tienen lugar durante dos semanas del mes de Noviembre.

2.- Seminarios y clases impartidos en los cursos de **Grado, Licenciatura y Másteres oficiales** en la Facultad de Psicología de la Universidad Complutense de Madrid.



**PATENTES U OTROS RESULTADOS EXPLOTABLES COMERCIALMENTE QUE  
SEAN CONSECUENCIA DEL PROYECTO.** (En caso de memoria final)

Como resultado de uno de los objetivos del presente Proyecto 2009-2011 (“Diseño, validación y caracterización experimental de la vía de la cocaína inhalada”) hemos presentado la solicitud de una Patente en la oficina de la OTRI de la Universidad Complutense, la cual está llevando todo el proceso y se hará cargo de las primeras cuantías económicas que conlleva la Solicitud de una Patente a nivel Nacional.

Dicha patente lleva como título: “*Sistema de autoadministración inhalada de cocaína y otras soluciones farmacológicas en animales experimentales de laboratorio*”.





MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

Las novedades de la invención pueden resumirse de la siguiente manera:

- 1.- Es una invención específicamente diseñada para la autoadministración inhalada de dosis nebulizadas/atomizadas de cocaína, soluciones farmacológicas y/u otros principios activos de manera muy precisa, fiable y replicable.
- 2.- La invención está basada en una válvula atomizadora neumática industrial alimentada por una línea de aire comprimido y tomando la solución farmacológica de un depósito elevado por gravedad.
- 3.- Está basada en controlar electrónicamente la dosis nebulizada/atomizada mediante los tiempos de apertura de dos electroválvulas que permiten el paso del aire de arrastre y del líquido. Con este procedimiento se consigue que las dosis nebulizadas/atomizadas en cada liberación sean completamente replicables y de muy alta precisión, pudiéndose llegar hasta unos valores mínimos inferiores a los 3 microlitros por liberación de nebulización/atomización.
- 4.- El disparo de la nebulización/atomización de la cocaína o de cualquier otro principio activo de interés está determinado por la presencia del animal en las proximidades de la zona de nebulización/atomización de aproximadamente 2 cm garantizando de este modo la absorción inhalada de la cocaína o principio activo por parte del animal.

**OTRAS SUBVENCIONES O RECURSOS (INCLUIDOS FONDOS PROPIOS) QUE FINANCIAN ESTE PROYECTO O PENDIENTES DE RESOLUCIÓN:** importe, procedencia y aplicación

Subvenciones recibidas durante el trienio 2009-2011 relacionadas con el estudio de la adicción a drogas de abuso y en mayor/medida con el Presente Proyecto 2009-2011:

**Título**

Identificación funcional y estudio de genes usando modelos animales de autoadministración de drogas de abuso

**Investigador Principal**

Jose Antonio Lopez Moreno



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACIÓN DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

**Procedencia**

Ministerio de Ciencia e Innovación

**Importe**

181.500,00

**Título**

Ayudas destinadas a financiar estructuras estables de investigación cooperativa, en el área de biomedicina y ciencias de la salud, mediante la participación en Redes Temáticas de Investigación (red RTA)

**Investigador Principal**

Jose Antonio Lopez Moreno

**Procedencia**

Red de Trastornos Adictivos. Instituto de Salud Carlos III Subdirección General de Redes y Centros de Investigación Cooperativa

**Importe**

257.201,84

**Título**

Realización estudios e informes técnicos relacionados con la evaluación de los programas de prevención en drogodependencias.

**Investigador Principal**

Jose Antonio Lopez Moreno

**Procedencia**

Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid. Agencia Antidroga Comunidad de Madrid Art. 83: entre la Agencia Antidroga y el Departamento de Psicobiología

**Importe**

247.934,00

**Título**

Identificación de marcadores genéticos relacionados con conductas adictivas y agresivas-impulsivas en población universitaria en la comunidad de Madrid que permitan predecir el uso de drogas de abuso

**Investigador Principal**

Jose Antonio Lopez Moreno

**Procedencia**

Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid. Agencia Antidroga Comunidad de Madrid. Agencia Antidroga



MINISTERIO DE SANIDAD, POLÍTICA SOCIAL  
E IGUALDAD

DELEGACION DEL GOBIERNO  
PARA EL PLAN NACIONAL  
SOBRE DROGAS

**Importe**

15.000,00

**Título**

GRUPO PSICOFARMACOLOGÍA DE LA ADICCIÓN

**Investigador Principal**

Jose Antonio Lopez Moreno

**Procedencia**

Universidad Complutense de Madrid. Banco Santander

**Importe**

9.470,00

**SUBVENCIONES O AYUDAS SOLICITADAS PARA ESTE PROYECTO Y NO  
CONCEDIDAS: organismo, convocatoria y cantidad.**

**OTRAS CONSIDERACIONES QUE SE DESEE HACER CONSTAR**

Fruto de la Financiación del Presente Proyecto 2009-2011 y de los recursos generados por el mismo, se está posibilitando que varios estudiantes, investigadores activos del Equipo de Investigación que dirijo, puedan realizar sus Tesis Doctorales. Entre ellos, la doctoranda María Tuda Arízcan, la cual actualmente está subvencionada por el presente Proyecto 2009-2011, y que se encarga de la línea del tratamiento farmacológico contra la adicción. El doctorando Víctor Echeverry Alzate, que se encarga de la generación de los ratones doble knock-out y expresión de genes en ratas y ratones. La doctoranda Kora-Mareen Bühler, que se encarga de la parte de cocaína inhalada y los estudios de variaciones genéticas (SNPs) en humanos y adicción. Finalmente, el doctorando Alejandro López Jiménez que se encarga de la parte de autoadministración de alcohol y fenotipado de ratones.

Por lo tanto, consideramos que la Financiación del presente Proyecto 2009-2011, a parte de la producción científica, repercusión y beneficio social a medio y largo plazo, ha posibilitado la formación de estudiantes, que terminarán siendo doctores y excelentes profesionales en el campo del estudio de las adicciones a las drogas de abuso.

**En esta fecha se remite también por correo electrónico, a la dirección [pndinvestigacion@mpsi.es](mailto:pndinvestigacion@mpsi.es) la presente memoria.**

**En Madrid a 30 de Junio de 2011**

