

## REVISIÓN

# Implicación del sistema cannabinoide endógeno en el alcoholismo\*

A.M. ERDOZAIN, J.J. MEANA Y L.F. CALLADO

*Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina y Odontología. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea. Leioa. Bizkaia. España.*

*Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental, CIBERSAM.*

**RESUMEN.** *Objetivo.* Recientes estudios sobre las bases neurobiológicas del alcoholismo sugieren que el sistema cannabinoide endógeno pudiera desempeñar un papel importante en las acciones del etanol. El objetivo de esta revisión es mostrar las evidencias más novedosas que implican al sistema cannabinoide endógeno en los efectos farmacológicos y comportamentales del etanol.

*Material y métodos.* Este trabajo presenta los principales hallazgos científicos obtenidos en los últimos años acerca de la implicación del sistema cannabinoide endógeno en el desarrollo del alcoholismo.

*Resultados.* El sistema cannabinoide endógeno es un extenso sistema de señalización que posee al menos dos receptores asociados a proteínas G ya clonados: CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub>. Los cannabinoides y el etanol activan los mismos sistemas de recompensa. En este contexto, evidencias bioquímicas, comportamentales y genéticas apoyan el papel del sistema cannabinoide endógeno en el alcoholismo. Así, se ha demostrado que la administración de etanol produce cambios en los diferentes componentes del sistema

cannabinoide endógeno. Además, se han descrito también alteraciones de este sistema en el cerebro de pacientes alcohólicos. Finalmente, varios ensayos clínicos han valorado la eficacia de fármacos bloqueadores de los receptores cannabinoides en la prevención de las recaídas en pacientes alcohólicos en fase de desintoxicación.

*Conclusiones.* Numerosas evidencias sugieren que el sistema cannabinoide endógeno podría estar implicado en el desarrollo de abuso y dependencia al alcohol. Así, la modulación farmacológica de esta vía de señalización podría convertirse en una nueva diana para el tratamiento del alcoholismo.

**PALABRAS CLAVE:** alcoholismo, cannabinoides, cerebro, receptores.

## Involvement of the endocannabinoid system in the development of alcohol dependence

**ABSTRACT.** *Objective.* Recent studies on the understanding of the neurobiological basis of alcoholism have suggested that the endocannabinoid system plays a key role in the actions of ethanol. This review has aimed to show the newest available data on the involvement of the endocannabinoid system in the pharmacological and behavioral actions of ethanol.

*Material and methods.* This review presents the main scientific findings obtained over recent years, indicating that the endocannabinoid system is involved in the development of alcohol dependence.

*Results.* The endocannabinoid system is an ubiquitous signaling system with at least two G protein coupled cloned cannabinoid receptors, CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub>.

### Correspondencia:

L.F. CALLADO.  
Departamento de Farmacología. Facultad de Medicina y Odontología.  
Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea.  
C/ Barrio Sarriena, s/n.  
48940 Leioa. Bizkaia. España.  
Correo electrónico: lf.callado@ehu.es

Recibido: 26-02-2009

Aceptado para su publicación: 14-04-2009

\*Financiado en parte por el Plan Nacional Sobre Drogas (PI2006I045) y por el Instituto de Salud Carlos III, Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental, CIBERSAM. A.M. Erdozain disfruta de una beca predoctoral para la formación de investigadores del Gobierno vasco.

**Cannabinoids and ethanol activate the same reward pathways. In this context, biochemical, behavioral and genetic evidence supports a key role of the endocannabinoid system in alcoholism. Thus, ethanol administration induces changes in the different components of the endocannabinoid system. Moreover, the existence of alterations of the endocannabinoid system in the brain of alcoholic patients has been described. Finally, the possible efficacy of cannabinoid receptor blockers in the prevention of relapse to alcohol in detoxified alcoholics has been tested in clinical trials.**

**Conclusions. Multiple lines of evidence suggest that the endocannabinoid system may be involved in the development of alcohol abuse and dependence. Thus, the pharmacological modulation of this signaling pathway could be considered as a new target for the treatment of alcoholism.**

**KEY WORDS: alcoholism, cannabinoids, brain, receptors.**

## Alcoholismo

### Epidemiología

El efecto del alcohol en la salud se caracteriza por ser complejo y multidimensional, estando su consumo ampliamente extendido y culturalmente aceptado en la mayoría de los países occidentales. Las encuestas domiciliarias realizadas por la Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas del Ministerio de Sanidad y Consumo entre 2007 y 2008, dirigidas a la población de 15 a 64 años<sup>1</sup>, ponen de manifiesto que a pesar de una reducción del consumo diario (10,2 % frente a 14,9 % registrado en 2005), el alcohol sigue siendo la sustancia psicoactiva con un consumo más extendido entre la población española.

El impacto sanitario asociado al consumo de alcohol es muy importante. Según un informe de la Secretaría de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Ginebra, enero de 2005)<sup>2</sup>, en el año 2000 el consumo de alcohol fue responsable del 4 % de la morbilidad mundial, lo que supone un nivel apenas inferior al causado por el tabaquismo (4,1 %) y la hipertensión arterial (4,4 %). A escala mundial se estima que en el mismo año el alcohol causó 1,8 millones de muertes, equivalente al 3,2 % de los fallecimientos. A nivel europeo se estima que el 6,8 % de la carga de enfermedad de los países de Europa occidental está relacionada con esta droga<sup>3</sup>. Así, el consumo de etanol contribuye a la aparición de numerosas enfermedades, entre ellas la cirrosis hepática,

determinados tipos de cáncer, la dependencia al alcohol y el síndrome alcohólico fetal.

Más allá de los problemas sanitarios, el consumo de alcohol origina un importante coste económico por la pérdida de capacidad productiva a causa del absentismo, enfermedad o accidente laboral. A todo ello hay que añadir el coste de las consultas médicas e ingresos hospitalarios, y también los costes sanitarios debidos a accidentes de tráfico. Son interesantes las cifras que publicó el Eurocare en 1995 referentes a Europa, continente con mayor consumo, producción y exportación de alcohol, en las que se estima el valor medio de la producción de alcohol en el 2 % del producto interior bruto (PIB), mientras que el coste económico de los problemas relacionados con su consumo representa el 5-6 %.

En la actualidad, la investigación biomédica sigue realizando un gran esfuerzo para clarificar los mecanismos de acción del etanol, que aún son en gran parte desconocidos.

### Neurobiología del alcoholismo. Sistemas implicados

La ingesta de alcohol produce una gran variedad de efectos fisiológicos y conductuales, de manera dosis-dependiente, pudiéndose establecer la siguiente graduación, de menor a mayor dosis: ansiolisis, miorelajación, analgesia, sedación, amnesia, hipotermia y anestesia. El alcohol etílico o etanol es tóxico para la mayoría de los tejidos del organismo; produce alteraciones sobre el sistema cardiovascular, el sistema digestivo, el sistema nervioso central (SNC), los nervios periféricos, el sistema músculo-esquelético y sobre el feto<sup>4</sup>. En este trabajo nos centraremos en los efectos psicoactivos del etanol.

De manera general el etanol genera una profunda depresión de las funciones neuronales, pero todavía es desconocido el mecanismo concreto por el cual el etanol ejerce sus efectos en el cerebro. Inicialmente se propuso la hipótesis de la alteración de la fluidez de la membrana neuronal, basada en la liposolubilidad del etanol, la cual proponía que los efectos agudos del etanol se deberían a un aumento de la fluidez de la membrana neuronal, mientras que el consumo crónico, de manera compensatoria, aumentaría la rigidez de la membrana, con la consiguiente alteración de las funciones<sup>5,6</sup>. Sin embargo, hoy en día sabemos que el etanol interactúa con determinadas proteínas de la membrana neuronal implicadas en la transmisión de señales, dando lugar a cambios en la actividad neuronal.

El etanol interactúa principalmente con dos receptores de membrana: el receptor GABA<sub>A</sub>, que forma en su

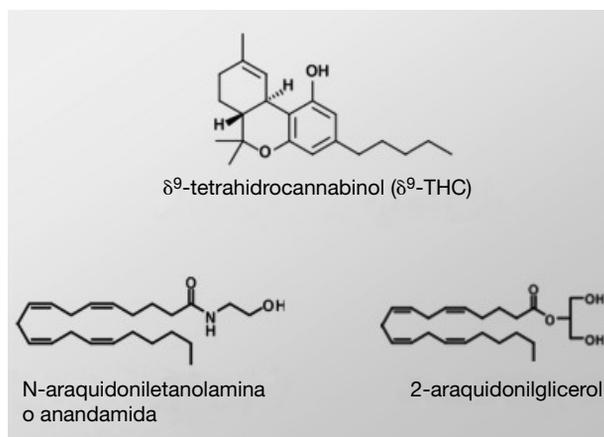
interior un canal para el ión  $\text{Cl}^-$  y es activado entre otras sustancias por el neurotransmisor GABA (ácido- $\gamma$ -amino-butírico), y el receptor NMDA (N-metil-D-aspartato), que forma un canal catiónico básicamente para el  $\text{Ca}^{2+}$  y es activado por el glutamato. El GABA está considerado como el neurotransmisor inhibitor por excelencia del SNC, y por contra, el glutamato, junto con el aspartato, como el principal neurotransmisor excitador. El efecto del etanol sobre estos dos sistemas se basa en la potenciación de la acción del GABA y en el antagonismo sobre la acción del glutamato, actuando en consecuencia como depresor del SNC<sup>7,8</sup>.

Sin embargo, el etanol afecta también a casi todos los demás sistemas neuroquímicos. Así, las propiedades reforzadoras o adictivas del etanol se reflejan en el aumento que ejerce sobre las descargas de las neuronas dopaminérgicas en el área tegmental ventral y sobre la liberación de dopamina en el núcleo acumbens<sup>9,10</sup>. El sistema opioide también se encuentra implicado en la neurobiología del consumo de alcohol, de modo que el etanol aumenta la liberación de péptidos opioides en el núcleo acumbens, produciendo una sensación de bienestar, y la administración de antagonistas opioides reduce la ingesta de alcohol<sup>11</sup>. Otro de los sistemas implicados es el serotoninérgico. Se ha observado un déficit en la transmisión serotoninérgica en pacientes alcohólicos, y fármacos que inhiben este sistema incrementan el consumo de etanol, mientras que fármacos que lo potencian disminuyen el consumo de este compuesto<sup>12,13</sup>. Del mismo modo, también se encuentran modulados por el etanol la neurotransmisión noradrenérgica<sup>14</sup>, los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  principalmente de tipo L<sup>15</sup>, y el sistema endocannabinoide, en el que nos centraremos en este artículo.

Finalmente, aparte de interactuar directamente sobre componentes de la membrana celular, su carácter lipófilo podría permitir al etanol modular también componentes citoplasmáticos, entre los que se encuentran los segundos mensajeros. Así, el etanol potencia la producción de AMPc mediada por ciertos receptores<sup>16</sup>. También se ha descrito que la proteína quinasa C (PKC) está implicada en la sensibilidad de algunos receptores al etanol<sup>17</sup>. Para terminar, en la vía de señalización de las MAP quinasas, y concretamente en la subfamilia ERK, también se han descrito cambios<sup>18</sup>.

## Sistema cannabinoide endógeno

Los cannabinoides constituyen un conjunto de compuestos psicoactivos presentes en las hojas y brotes floridos de la planta de la marihuana, *cannabis sativa*. Esta planta herbácea ha sido utilizada durante más de



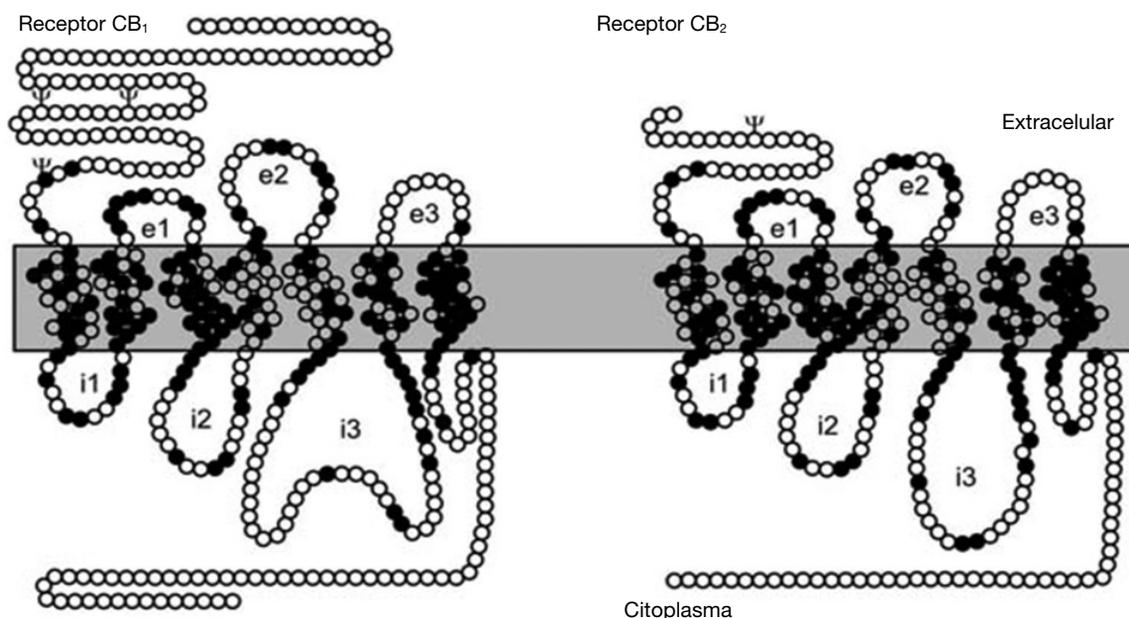
**Figura 1.** Estructura química del  $\delta^9$ -THC, la anandamida y el 2-araquidonilglicerol.

4.000 años por sus propiedades terapéuticas, así como por sus efectos farmacológicos como sustancia de abuso. La planta contiene más de 400 compuestos químicos diferentes, de los cuales aproximadamente 60 se consideran cannabinoides<sup>19</sup>.

El comienzo de la investigación en el campo de los cannabinoides se podría situar en 1964, cuando se aisló el  $\delta^9$ -tetrahydrocannabinol ( $\delta^9$ -THC)<sup>20</sup>, ingrediente psicoactivo y principal responsable de la actividad farmacológica de la marihuana (fig. 1). El clonaje en los años noventa de dos receptores de membrana a los cuales se unen los compuestos cannabinomiméticos<sup>21,22</sup> abrió el camino hacia la comprensión de la farmacología de los cannabinoides. Actualmente, los receptores cannabinoides, junto con sus ligandos endógenos, las enzimas involucradas en la biosíntesis y degradación de estos ligandos y las proteínas transportadoras de membrana, comprenden un nuevo e importante sistema de neuromodulación: el sistema cannabinoide endógeno.

## Receptores para cannabinoides

Debido al carácter altamente lipófilo de los compuestos cannabinoides naturales, la primera hipótesis que se consideró para la acción de dichos compuestos fue que estaba mediada por una interacción de manera inespecífica con los componentes de la membrana celular<sup>23</sup>. Actualmente se sabe que la mayor parte de las acciones farmacológicas producidas por los compuestos cannabinoides se debe a su interacción con al menos dos proteínas receptoras, denominadas receptores cannabinoides  $\text{CB}_1$  y  $\text{CB}_2$ , pertenecientes a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G. Diversas evidencias farmacológicas sugieren también la existencia de un tercer tipo de receptor cannabinoide, llamado  $\text{CB}_3$  o no  $\text{CB}_1/\text{CB}_2$ <sup>24-26</sup>,



**Figura 2.** Representación esquemática de los receptores CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub>. Aminoácidos comunes a los dos receptores (círculos negros); aminoácidos diferentes (círculos blancos). Sitios consenso de glucosilación (ψ); asas extracelulares (e1, e2, e3); asas intracelulares (i1, i2, i3).

que sin embargo hasta la fecha no ha sido clonado. Del mismo modo, también sabemos que los cannabinoide interactúan de manera específica con otros receptores, como por ejemplo el receptor vaniloide tipo 1, o el recientemente descrito receptor huérfano GPR55<sup>26</sup>.

Ambos receptores para cannabinoide clonados, CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub>, constan de un dominio amino-terminal extracelular, un dominio carboxi-terminal intracelular y 7 dominios transmembrana, y en su estructura se encuentran residuos específicos típicos como sustratos de fosforilación, lugares de fijación de ligandos, de proteínas G, etc. El receptor CB<sub>1</sub><sup>21,27,28</sup> contiene 472-473 aminoácidos organizados en una secuencia altamente conservada entre las especies que se han estudiado. El receptor CB<sub>2</sub><sup>22</sup>, polipéptido de 360 aminoácidos, presenta un 44% de homología en su secuencia de aminoácidos con el CB<sub>1</sub> (68% en las regiones transmembrana) (fig. 2).

### Receptor CB<sub>1</sub>

Los principales mecanismos intracelulares en los que están implicados los receptores cannabinoide CB<sub>1</sub> incluyen: la inhibición de la adenilato ciclasa<sup>29</sup>, la regulación de distintos canales iónicos<sup>30</sup> y la activación de las MAP quinasas<sup>31</sup>. Los efectos identificados hasta el momento tienen como punto de partida el acoplamiento del receptor CB<sub>1</sub> a las proteínas G.

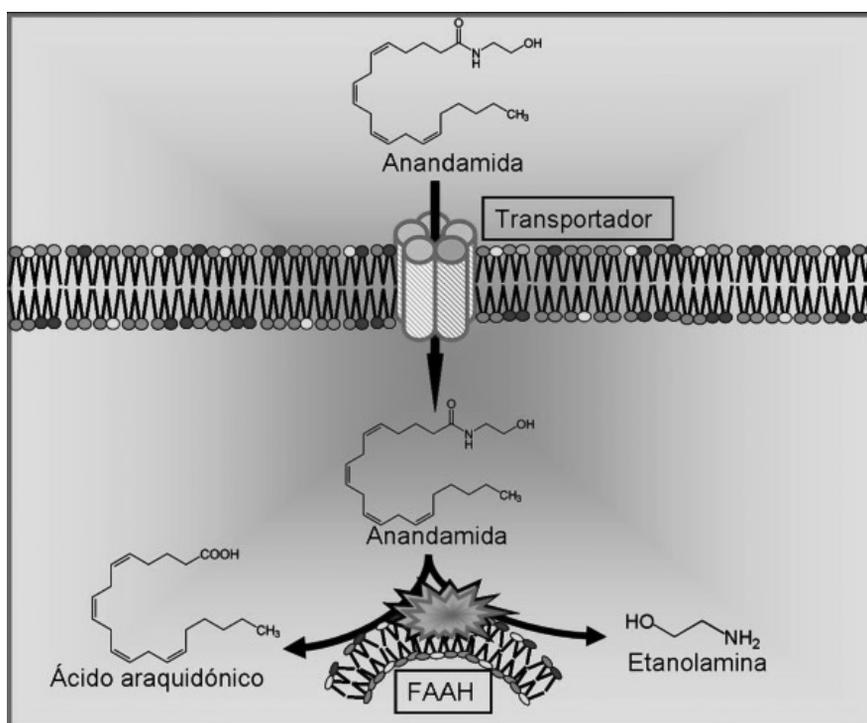
En la mayor parte de los tejidos analizados, el receptor cannabinoide se une a proteínas de tipo G<sub>i/o</sub> inhibito-

rias, aunque también se ha observado el acoplamiento al tipo G<sub>s</sub><sup>29</sup>. Así, la activación de los receptores CB<sub>1</sub> produce una inhibición de la vía de la adenilato ciclasa, lo que da lugar al descenso en los niveles de AMPc intracelular, afectando por tanto la capacidad de fosforilación de las proteínas quinasas. Además, también induce una inhibición de los canales de Ca<sup>2+</sup> y un aumento en la conductancia de K<sup>+</sup>.

El receptor CB<sub>1</sub> se expresa fundamentalmente en el SNC de mamíferos<sup>32,33</sup>, principalmente como receptor presináptico, y donde se le atribuye un papel importante como neuromodulador de la liberación de neurotransmisores. Es el receptor más abundante de los acoplados a proteínas G en el cerebro de mamíferos. En cerebro de rata se encuentran niveles elevados de CB<sub>1</sub> en los ganglios basales, capa molecular del cerebelo e hipocampo; niveles moderados en la corteza cerebral, y niveles bajos en hipotálamo, tallo cerebral y médula espinal<sup>34</sup>. Sin embargo, en cerebro humano se ha observado una mayor expresión de este receptor en la corteza prefrontal y el núcleo caudado, comparado con el cerebelo y el hipocampo<sup>35</sup>.

### Receptor CB<sub>2</sub>

La activación del receptor CB<sub>2</sub> también produce una inhibición de la adenilato ciclasa y una activación de la vía de las MAP quinasas<sup>36,37</sup>. Sin embargo, no produce modificaciones en la regulación de los canales iónicos<sup>38</sup>.



**Figura 3.** Procesos de recaptación y degradación de la anandamida. FAAH: enzima hidrolasa de ácidos grasos.

La distribución del receptor  $CB_2$  difiere de la del subtipo  $CB_1$ , localizándose principalmente en bazo, amígdala y células del sistema inmune (linfocitos B y T, monocitos, etc.)<sup>39</sup>. Al contrario que el receptor  $CB_1$ , su activación no modifica la liberación de neurotransmisores.

En cuanto a la distribución del receptor  $CB_2$  en cerebro de mamíferos, existe bastante controversia. Numerosos estudios no han sido capaces de detectar su presencia en cerebro sano<sup>39,40</sup>. Otros trabajos, sin embargo, han demostrado la presencia de  $CB_2$  en diferentes componentes del cerebro humano, tales como astrocitos<sup>41</sup>, microglia perivascular<sup>42</sup> y microcapilares<sup>43</sup>. Por otro lado, algunos trabajos describen la existencia de  $CB_2$  en cerebro solamente en situaciones patológicas, concretamente en cerebro *postmortem* de pacientes con enfermedad de Alzheimer<sup>44</sup>, en macacos infectados con el virus de la inmunodeficiencia de simios<sup>45</sup> y en ratas que han sufrido hipoxia isquémica<sup>46</sup>.

### Endocannabinoides

Los ligandos endógenos de los receptores para cannabinoides son compuestos derivados de ácidos grasos poliinsaturados, siendo los más conocidos y estudiados hasta el momento la N-araquidoniletanolamina o anandamida (AEA) y el 2-araquidonilglicerol (fig. 1). En

los últimos años se han identificado en el SNC otros cannabinoides endógenos, como son el noladin éter, la virodhamina (O-araquidoniletanolamina), la N-araquidonildopamina (NADA) y la docosatetraeniletanolamida<sup>29</sup>.

La anandamida fue aislada por primera vez en 1992<sup>28</sup> en cerebro de cerdo y posteriormente encontrada en órganos periféricos incluyendo la piel y los tejidos cardiovascular, renal y reproductor. Su estructura no está relacionada con los cannabinoides naturales derivados de la planta *cannabis sativa*, pero produce los efectos clásicos de la actividad cannabinoide como son la inmovilidad, la catalepsia, la analgesia y la hipotermia<sup>28,47</sup>. La síntesis de la anandamida se produce en dos pasos sucesivos. En primer lugar, la enzima N-acetiltransferasa cataliza la formación del precursor N-araquidonil-fosfatidil-etanolamina, y en una segunda fase este precursor es hidrolizado por la fosfolipasa D<sup>48</sup>. La liberación de anandamida es dependiente de  $Ca^{2+}$  y se produce tras la despolarización neuronal<sup>49</sup>. La inactivación de este endocannabinoide también requiere dos etapas. Se postula que la primera es la recaptación de la anandamida extracelular por un transportador de alta afinidad que aún no ha sido clonado, y la segunda es la hidrólisis intracelular catalizada por una enzima hidrolasa de ácidos grasos (FAAH)<sup>50</sup>, dando lugar a sus dos componentes fundamentales: el ácido araquidónico y la etanolamina<sup>51</sup> (fig. 3).

El 2-araquidonilglicerol fue aislado inicialmente en intestino de perro<sup>52</sup>, y posteriormente hallado en bazo, páncreas y cerebro, ejerciendo efectos celulares similares a los descritos para los cannabinoides naturales. La síntesis de este endocannabinoide parece deberse a la acción de la enzima diacilglicerol lipasa, que convierte el diacilglicerol en 2-araquidonilglicerol. En cerebro su liberación está mediada por el aumento de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular elicitado durante la despolarización neuronal. Tras su liberación, el 2-araquidonilglicerol es recaptado rápidamente, y consecutivamente degradado por acción de la monoacilglicerol lipasa, que lo convierte en ácido araquidónico<sup>53,54</sup>.

Los endocannabinoides, por lo tanto, cumplen con las condiciones necesarias de todo neurotransmisor, ya que son sintetizados y liberados desde las neuronas, son capaces de unirse y activar receptores de membrana, y finalmente son inactivados por recaptación y degradación enzimática en el interior de la célula. No obstante, los endocannabinoides presentan una clara diferencia respecto a los neurotransmisores clásicos, y es que no se almacenan en vesículas sinápticas, sino que son sintetizados a demanda<sup>48</sup>, actúan en las proximidades del lugar donde se han liberado, y son rápidamente inactivados<sup>55</sup>. También poseen otra característica muy particular, y es que pueden actuar como mensajeros retrógrados, es decir, que como consecuencia de estímulos concretos se liberan desde las neuronas postsinápticas, siendo capaces de estimular receptores cannabinoide situados a nivel presináptico<sup>56</sup>.

### Implicación del sistema cannabinoide endógeno en el alcoholismo

La transmisión cannabinoide parece ser relevante en los circuitos cerebrales que regulan el consumo, la dependencia y la tolerancia a etanol. En primer lugar, el etanol y el  $\delta^9$ -THC producen efectos farmacológicos similares: euforia y estimulación a dosis bajas, efectos sedantes a dosis altas. Por otra parte, es bien conocido que el etanol es responsable de alteraciones en el movimiento y en la memoria, así como hipotermia y sedación, y concretamente en regiones cerebrales implicadas en estos procesos –hipocampo, corteza, estriado, sustancia negra y cerebelo– se observa la presencia de elementos del sistema cannabinoide endógeno. Además, se ha descrito tolerancia cruzada entre el  $\delta^9$ -THC y el etanol<sup>57</sup>.

Los resultados de estudios farmacológicos recientes han contribuido a una mayor comprensión de la implicación del sistema cannabinoide endógeno en la neuro-

biología del alcoholismo. Así, existen evidencias de tipo bioquímico, comportamental y genético que corroboran esta implicación.

### Estudios bioquímicos

La administración crónica de etanol en mamíferos modula elementos del sistema cannabinoide endógeno a diferentes niveles. En primer lugar, en experimentos *in vitro* realizados en células de neuroblastomas del tipo SK-N-SH, se observó que la exposición crónica de estas células a etanol conllevaba un aumento de los niveles de anandamida y su precursor biosintético de manera concentración –y tiempo– dependiente<sup>58</sup>. Este cambio en el contenido de los endocannabinoides también se demostró *in vivo*, al detectarse un aumento de anandamida en la región límbica anterior y un descenso de anandamida y 2-AG en el mesencéfalo de ratas expuestas de manera crónica a etanol<sup>59</sup>.

Por otro lado, la densidad del receptor cannabinoide  $\text{CB}_1$  se encuentra disminuida, sin cambios en su afinidad, tras una administración crónica de etanol en cerebro de ratón<sup>60</sup>. Además, la funcionalidad de estos receptores está también reducida en ratones que han sido expuestos crónicamente a este compuesto, como se ha descrito mediante estudios de fijación de [<sup>35</sup>S]GTP $\gamma$ S<sup>61</sup>. Asimismo, esta exposición crónica a etanol da lugar a una modificación del ARNm del receptor  $\text{CB}_1$  en diferentes regiones cerebrales de rata<sup>62</sup>. Sin embargo, en otro trabajo no se hallaron diferencias en la expresión de ARNm ni en la fijación de radioligandos selectivos del  $\text{CB}_1$  en ratas expuestas de manera crónica a etanol<sup>63</sup>. Por otro lado, se ha descrito que la actividad de la enzima encargada de la degradación de la anandamida, la FAAH, se encuentra modificada en las mismas condiciones. Así, la administración crónica de etanol en ratones disminuye su actividad<sup>64</sup>. En cuanto a la neuromodulación que ejerce el receptor  $\text{CB}_1$  sobre la síntesis de neurotransmisores, se ha observado una desensibilización por la administración crónica de etanol en la capacidad de este receptor para modular la síntesis de monoaminas en cerebro de rata *in vivo*<sup>65</sup>.

Dentro de este contexto, muchos autores sugieren que esta desensibilización del receptor  $\text{CB}_1$  en mamíferos que consumen alcohol de manera crónica se puede deber, como explican los conceptos clásicos de la farmacología, a una sobre-estimulación por sus ligandos endógenos, que se encuentran aumentados. Ahora bien, este aumento de los niveles de endocannabinoides podría tener como origen una mayor síntesis, una menor recaptación a través del transportador de anandamida, o una menor degradación por parte de la enzima FAAH.

En el caso de la abstinencia generada tras una interrupción de la administración crónica de alcohol, se ha descrito una recuperación de la densidad del CB<sub>1</sub> (que se encontraba disminuida por el consumo crónico) tras 24 horas de abstinencia<sup>64</sup>. En otro trabajo, sin embargo, se observa una primera reducción de la expresión del ARNm del CB<sub>1</sub> tras dos días de abstinencia, seguida de un incremento a los 40 días<sup>66</sup>. Por otro lado, en cuanto a los endocannabinoides, se ha descrito un gran descenso de los niveles de anandamida y 2-AG en regiones límbicas tras 48 horas de abstinencia, sin que la densidad del receptor CB<sub>1</sub> se viera modificada<sup>67</sup>.

En los últimos años se han realizado algunos estudios en cerebro humano de individuos con diagnóstico previo de alcoholismo. Se ha observado una hiperactividad del sistema endocannabinoide en la corteza prefrontal de sujetos alcohólicos suicidas, detectándose un aumento de los endocannabinoides AEA y 2-AG, junto con unos niveles de expresión y de funcionalidad del receptor CB<sub>1</sub> elevados<sup>68</sup>. Se postula que esta hiperactividad podría desempeñar un papel importante en la asociación entre alcoholismo y conducta suicida.

En cuanto a la exposición aguda a etanol, trabajos recientes han demostrado que esta también produce cambios en el sistema cannabinoide endógeno. De manera aguda el etanol reduce los niveles tanto de anandamida<sup>69</sup>, como de 2-AG y otras N-aciletanolaminas<sup>70</sup> en cerebro de ratas, y se observa también una disminución en la expresión del ARNm de CB<sub>1</sub> en diferentes regiones cerebrales<sup>71</sup>, mediante mecanismos todavía desconocidos.

### Estudios comportamentales

Las evidencias de tipo comportamental se basan en la modulación del sistema cannabinoide exógenamente, resultando en una preferencia o consumo de etanol alterada, que sugiere la implicación de este sistema modulador en el mecanismo reforzador del etanol. Así, el antagonista selectivo de los receptores CB<sub>1</sub> rimonabant (SR141716) disminuye la ingesta de etanol tanto en ratones<sup>72</sup> como en ratas con preferencia por el etanol<sup>73</sup>. Efectos similares se han observado tras la administración de surinabant (SR147778)<sup>74,75</sup>, otro antagonista del receptor CB<sub>1</sub> recientemente sintetizado. Por el contrario, la administración de agonistas cannabinoideos, como CP 55,940 o WIN 55,212-2, aumentan el consumo y la preferencia por el etanol en ratas<sup>76</sup> y en ratones<sup>77</sup>.

En el mismo sentido, ratones *knockout* para el receptor CB<sub>1</sub> presentan un consumo y preferencia por el etanol reducido, y una sensibilidad y síntomas de abstinencia elevados, al compararlos con ratones no modificados ge-

néticamente (*wildtype*)<sup>78</sup>. Además, ratones *knockout* para la enzima FAAH, que no poseen mecanismos para degradar la anandamida y por tanto poseen niveles muy elevados de este endocannabinoide, muestran un consumo y preferencia por el etanol incrementados, y una sensibilidad a la sedación producida por el etanol disminuida, comparándolos con ratones *wildtype*<sup>79,80</sup>. Estos efectos se reprodujeron en ratones no mutados, cuando se les administró el inhibidor de la FAAH, URB597<sup>79,80</sup>.

Por otra parte, se ha demostrado en animales de experimentación la importancia del sistema cannabinoide endógeno en el fenómeno de las recaídas al consumo de etanol<sup>81</sup> y en el efecto que el estrés produce en este consumo<sup>82</sup>. En último lugar, los receptores cannabinoideos del tracto gastrointestinal también se han relacionado con los mecanismos de absorción y distribución del etanol, al haberse observado un mayor nivel de etanol en sangre tras una inyección aguda de etanol (a altas dosis) en ratones que no expresaban el receptor CB<sub>1</sub><sup>83</sup>.

### Estudios genéticos

La predisposición hacia un consumo excesivo de alcohol y hacia el desarrollo de alcoholismo se ha asociado con factores genéticos. Según numerosos estudios, la heredabilidad del alcoholismo se sitúa en torno al 40-50 %<sup>84,85</sup>. Una evidencia de la implicación del sistema cannabinoide endógeno en el consumo de alcohol es que existen diferencias en el receptor cannabinoide CB<sub>1</sub> entre cepas de roedores que presentan preferencia o aversión por el etanol. Se ha observado una disminución en la densidad de receptores CB<sub>1</sub> en ratones con alta preferencia por el etanol, frente a los ratones que muestran aversión por este compuesto<sup>86</sup>. En estudios de fijación de [<sup>35</sup>S]GTPγS ha podido observarse que los ratones que presentan aversión por el alcohol tienen receptores CB<sub>1</sub> menos eficaces que la cepa preferente<sup>87</sup>. Sin embargo, en estudios de fijación de [<sup>35</sup>S]GTPγS en cerebro de ratas, se ha descrito una reducida funcionalidad de los receptores CB<sub>1</sub> en la cepa de ratas con preferencia al etanol frente a la cepa que presenta aversión<sup>88</sup>. En otro estudio más reciente se ha observado la existencia de una alteración genética para la degradación de endocannabinoides en la corteza prefrontal de ratas preferentes de alcohol. Así, una disminución de la densidad y funcionalidad del receptor CB<sub>1</sub> se ve acompañada de una reducción en la expresión del ARNm de la enzima FAAH y de su actividad, y de un aumento simultáneo de los niveles del endocannabinoide 2-AG<sup>89</sup>.

Por otro lado, estudios genéticos realizados en el ser humano también han descrito asociaciones entre variaciones del sistema cannabinoide endógeno y el

alcoholismo. Existe una variación en el gen que codifica el receptor CB<sub>1</sub> (CNR1), cuya aparición está asociada a una mayor gravedad de los síntomas asociados al síndrome de abstinencia<sup>90</sup>. Recientemente se ha descrito que un alelo para este mismo polimorfismo está asociado con una mayor densidad del CB<sub>1</sub> en la corteza prefrontal, una mayor activación cerebral ante estímulos relacionados con el alcohol, una mayor percepción subjetiva de la recompensa provocada por el alcohol, y mejores resultados tras el tratamiento con fármacos que modulan el sistema mesolímbico-cortical<sup>91</sup>. Además, se ha observado que otros polimorfismos de nucleótido único (SNP) en el CNR1 también parecen modular el riesgo de desarrollar una adicción al alcohol y a otras drogas de abuso<sup>92</sup>. Del mismo modo, estudios similares han descrito que en el gen que codifica para la enzima FAAH existe un SNP altamente asociado con el uso problemático de drogas y alcohol<sup>93</sup>. Por otra parte, el receptor CB<sub>2</sub> también ha sido analizado en una población japonesa, y se ha descrito un polimorfismo de este receptor asociado a la dependencia alcohólica<sup>94</sup>.

Sin embargo, otros estudios han descartado esta posible asociación de SNP del CNR1 en el alcoholismo. Está descrito que un polimorfismo de este gen se encuentra asociado al uso intravenoso de drogas de abuso, pero no se observó ninguna asociación significativa con el abuso o dependencia al alcohol<sup>95</sup>. Asimismo, tampoco se halló una asociación de este polimorfismo del CNR1 en la patogénesis del *delirium tremens*<sup>96</sup>.

### **El sistema cannabinoide endógeno como posible diana terapéutica en el tratamiento del alcoholismo**

Los datos farmacológicos sugieren que el sistema cannabinoide endógeno incrementa la sensibilidad a diferentes sustancias con propiedades reforzadoras. Este efecto se debería principalmente a su capacidad de modular la actividad del sistema de recompensa mesolímbico-cortical<sup>97</sup>. Con respecto al etanol, como se ha comentado anteriormente, parece claro que los receptores cannabinoide CB<sub>1</sub> están directamente implicados en mediar parte de sus acciones reforzadoras en los circuitos de recompensa. De este modo, mientras los fármacos agonistas de los receptores CB<sub>1</sub> estimulan la ingesta de etanol en ratas<sup>98</sup>, los fármacos antagonistas de estos receptores bloquean la capacidad del etanol de estimular la liberación de dopamina en el núcleo acumbens, disminuyen la ingesta en ratas y previenen la recaída en el consumo<sup>73,74</sup>.

A la vista de estos estudios donde se han observado numerosas evidencias de la implicación del sistema cannabinoide endógeno en la dependencia al etanol, y en los cuales el bloqueo de los receptores cannabinoide parece reducir el consumo, la recaída y la motivación hacia el consumo en animales, se ha postulado la hipótesis de que los fármacos antagonistas selectivos de los receptores cannabinoide CB<sub>1</sub> pudieran ser de utilidad en el tratamiento del alcoholismo. A partir de esta hipótesis se han llevado a cabo hasta el momento dos ensayos clínicos de fase II. Ambos ensayos clínicos, diseñados a doble ciego, se han centrado en estudiar el efecto del antagonista selectivo de los receptores cannabinoide CB<sub>1</sub> rimonabant frente a placebo. El rimonabant ha demostrado previamente en diferentes estudios clínicos su capacidad para bloquear los efectos reforzadores de diferentes sustancias de abuso, reduciendo por ejemplo el consumo de tabaco y la ingesta de comida. Esto ha hecho que este fármaco haya sido comercializado para el tratamiento de la obesidad<sup>99</sup>. Sin embargo, la comercialización de rimonabant ha sido recientemente suspendida por la posibilidad de aparición de efectos adversos psiquiátricos graves durante su utilización.

En el primero de los ensayos clínicos se valoró la posible eficacia del tratamiento con rimonabant (20 mg) durante 12 semanas en la prevención de recaídas en pacientes alcohólicos en periodo de desintoxicación<sup>100</sup>. Aunque el rimonabant mostró un ligero efecto en reducir la tasa de recaídas, las diferencias no fueron estadísticamente significativas frente a placebo. La falta de eficacia de rimonabant podría explicarse por una tasa elevada de respuesta en el grupo placebo y por una duración del tratamiento relativamente corta<sup>100</sup>.

El segundo de los ensayos ha valorado la eficacia de rimonabant en reducir el consumo de etanol en pacientes adictos a esta sustancia. Sin embargo, sus resultados no han sido todavía publicados (<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00075205>).

Como conclusión podemos afirmar que son numerosas las evidencias científicas que avalan una implicación del sistema cannabinoide endógeno en la instauración de los procesos de abuso y dependencia alcohólicas. A partir de estos hechos son necesarios nuevos estudios que valoren en profundidad la posible utilidad terapéutica de la manipulación farmacológica del sistema cannabinoide endógeno para el tratamiento del alcoholismo.

**Los autores declaran que no existe conflicto de interés.**

## Bibliografía

1. Encuesta Domiciliaria sobre Alcohol y Drogas en España (EDADES) 2007/08. Madrid: Delegación del Gobierno para el Plan Nacional sobre Drogas; 2008. Disponible en: <http://www.msc.es/gabinetePrensa/notaPrensa/desarrolloNotaPrensa.jsp?id = 1331>.
2. Informe de la secretaría de la OMS. Problemas de salud pública causados por el alcohol. 115.ª reunión Consejo Ejecutivo. Organización Mundial de la Salud; 2005. Disponible en: [http://www.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/EB115/B115\\_37-sp.pdf](http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB115/B115_37-sp.pdf).
3. Room R, Babor T, Rehm J. Alcohol and public health. *Lancet*. 2005;365(9458):519-30.
4. Estruch R. Efectos del alcohol en la fisiología humana. *Adicciones*. 2002;14 Supl 1:43-61.
5. Chin JH, Goldstein DB. Membrane-disordering action of ethanol: variation with membrane cholesterol content and depth of the spin label probe. *Mol Pharmacol*. 1981;19(3):425-31.
6. Rottenberg H. Membrane solubility of ethanol in chronic alcoholism. The effect of ethanol feeding and its withdrawal on the protection by alcohol of rat red blood cells from hypotonic hemolysis. *Biochim Biophys Acta*. 1986;855(2):211-22.
7. Grobin AC, Matthews DB, Devaud LL, Morrow AL. The role of GABA(A) receptors in the acute and chronic effects of ethanol. *Psychopharmacology (Berl)*. 1998;139(1-2):2-19.
8. Wirkner K, Poelchen W, Köles L, Mühlberg K, Scheibler P, Allgaier C, et al. Ethanol-induced inhibition of NMDA receptor channels. *Neurochem Int*. 1999;35(2):153-62.
9. Gessa GL, Muntoni F, Collu M, Vargiu L, Mereu G. Low doses of ethanol activate dopaminergic neurons in the ventral tegmental area. *Brain Res*. 1985;348(1):201-3.
10. Yoshimoto K, McBride WJ, Lumeng L, Li TK. Alcohol stimulates the release of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens. *Alcohol*. 1992;9(1):17-22.
11. Gianoulakis C. Endogenous opioids and excessive alcohol consumption. *J Psychiatry Neurosci*. 1993;18(4):148-56.
12. Monti JM, Alterwain P. Ritanserin decreases alcohol intake in chronic alcoholics. *Lancet*. 1991;337(8732):60.
13. Heinz A, Ragan P, Jones DW, Hommer D, Williams W, Knable MB, et al. Reduced central serotonin transporters in alcoholism. *Am J Psychiatry*. 1998;155(11):1544-9.
14. Fink K, Schultheiss R, Gothert M. Stimulation of noradrenaline release in human cerebral cortex mediated by N-methyl-D-aspartate (NMDA) and non-NMDA receptors. *Br J Pharmacol*. 1992;106(1):67-72.
15. Wang X, Wang G, Lemos JR, Treistman SN. Ethanol directly modulates gating of a dihydropyridine-sensitive Ca<sup>2+</sup> channel in neurohypophysial terminals. *J Neurosci*. 1994;14(9):5453-60.
16. Gordon AS, Diamond I. Adenosine mediates the effects of ethanol on the cAMP signal transduction system. *Alcohol Alcohol Suppl*. 1993;2:437-41.
17. Stubbs CD, Slater SJ. Ethanol and protein kinase C. *Alcohol Clin Exp Res*. 1999;23(9):1552-60.
18. Sanna PP, Simpson C, Lutjens R, Koob G. ERK regulation in chronic ethanol exposure and withdrawal. *Brain Res*. 2002;948(1-2):186-91.
19. Dewey WL. Cannabinoid pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1986;38(2):151-78.
20. Gaoni Y, Mechoulam R. Isolation, structure, elucidation and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J Am Chem Soc*. 1964;86:1646-7.
21. 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(6284):561-4.
22. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*. 1993;365(6441):61-5.
23. Hillard CJ, Harris RA, Bloom AS. Effects of the cannabinoids on physical properties of brain membranes and phospholipid vesicles: fluorescence studies. *J Pharmacol Exp Ther*. 1985;232(3):579-88.
24. Di Marzo V, Breivogel CS, Tao Q, Bridgen DT, Razdan RK, Zimmer AM, et al. 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*. 2000;75(6):2434-44.
25. Pistis M, Perra S, Pillolla G, Melis M, Gessa GL, Muntoni AL. Cannabinoids modulate neuronal firing in the rat basolateral amygdala: evidence for CB1- and non-CB1-mediated actions. *Neuropharmacology*. 2004;46(1):115-25.
26. Brown AJ. Novel cannabinoid receptors. *Br J Pharmacol*. 2007;152(5):567-75.
27. Gerard CM, Mollereau C, Vassart G, Parmentier M. Molecular cloning of a human cannabinoid receptor which is also expressed in testis. *Biochem J*. 1991;279 Pt 1:129-34.
28. Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*. 1992;258(5090):1946-9.
29. Childers SR, Pacheco MA, Bennett BA, Edwards TA, Hampson RE, Mu J, et al. Cannabinoid receptors: G-protein-mediated signal transduction mechanisms. *Biochem Soc Symp*. 1993;59:27-50.
30. Mackie K, Hille B. Cannabinoids inhibit N-type calcium channels in neuroblastoma-glioma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992;89(9):3825-9.
31. Bouaboula M, Poinot-Chazel C, Bourrié B, Canat X, Calandra B, Rinaldi-Carmona M, et al. Activation of mitogen-activated protein kinases by stimulation of the central cannabinoid receptor CB1. *Biochem J*. 1995;312:637-41.
32. Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, et al. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;87(5):1932-6.
33. Glass M, Dragunow M, Faull RL. Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience*. 1997;77(2):299-318.
34. 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(2):563-83.
35. De Jesus ML, Salles J, Meana JJ, Callado LF. Characterization of CB1 cannabinoid receptor immunoreactivity in postmortem human brain homogenates. *Neuroscience*. 2006;140(2):635-43.

36. Pertwee RG. Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacol Ther.* 1997;74(2):129-80.
37. Pertwee RG. Cannabinoid pharmacology: the first 66 years. *Br J Pharmacol.* 2006;147 Suppl 1:S163-71.
38. Felder CC, Joyce KE, Briley EM, Mansouri J, Mackie K, Blond O, et al. Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol Pharmacol.* 1995;48(3):443-50.
39. Galiegue S, Mary S, Marchand J, Dussosoy D, Carrière D, Carayon P, et al. Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem.* 1995;232(1):54-61.
40. Griffin G, Wray EJ, Tao Q, McAllister SD, Rorrer WK, Aung MM, et al. Evaluation of the cannabinoid CB2 receptor-selective antagonist, SR144528: further evidence for cannabinoid CB2 receptor absence in the rat central nervous system. *Eur J Pharmacol.* 1999;377(1):117-25.
41. Sheng WS, Hu S, Min X, Cabral GA, Lokensgard JR, Peterson PK. Synthetic cannabinoid WIN55,212-2 inhibits generation of inflammatory mediators by IL-1beta-stimulated human astrocytes. *Glia.* 2005;49(2):211-9.
42. Núñez E, Benito C, Pazos MR, Barbachano A, Fajardo O, González S, et al. Cannabinoid CB2 receptors are expressed by perivascular microglial cells in the human brain: an immunohistochemical study. *Synapse.* 2004;53(4):208-13.
43. Golech SA, McCarron RM, Chen Y, Bembry J, Lenz F, Mechoulam R, et al. Human brain endothelium: coexpression and function of vanilloid and endocannabinoid receptors. *Brain Res Mol Brain Res.* 2004;132(1):87-92.
44. Benito C, Núñez E, Tolón RM, Carrier EJ, Rábano A, Hillard CJ, et al. Cannabinoid CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are selectively overexpressed in neuritic plaque-associated glia in Alzheimer's disease brains. *J Neurosci.* 2003;23(35):11136-41.
45. Benito C, Kim WK, Chavarría I, Hillard CJ, Mackie K, Tolón RM, et al. A glial endogenous cannabinoid system is upregulated in the brains of macaques with simian immunodeficiency virus-induced encephalitis. *J Neurosci.* 2005;25(10):2530-6.
46. Ashton JC, Rahman RM, Nair SM, Sutherland BA, Glass M, Appleton I. Cerebral hypoxia-ischemia and middle cerebral artery occlusion induce expression of the cannabinoid CB2 receptor in the brain. *Neurosci Lett.* 2007;412(2):114-7.
47. Fride E, Mechoulam R. Pharmacological activity of the cannabinoid receptor agonist, anandamide, a brain constituent. *Eur J Pharmacol.* 1993;231(2):313-4.
48. Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, et al. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature.* 1994;372(6507):686-91.
49. Cadas H, Gaillat S, Beltramo M, Venance L, Piomelli D. Biosynthesis of an endogenous cannabinoid precursor in neurons and its control by calcium and cAMP. *J Neurosci.* 1996;16(12):3934-42.
50. Basavarajappa BS, Yalamanchili R, Cravatt BF, Cooper TB, Hungund BL. Increased ethanol consumption and preference and decreased ethanol sensitivity in female FAAH knockout mice. *Neuropharmacology.* 2006;50(7):834-44.
51. Cravatt BF, Giang DK, Mayfield SP, Boger DL, Lerner RA, Gilula NB. Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides. *Nature.* 1996;384(6604):83-7.
52. Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol.* 1995;50(1):83-90.
53. Stella N, Schweitzer P, Piomelli D. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature.* 1997;388(6644):773-8.
54. Piomelli D, Beltramo M, Glasnapp S, Lin SY, Goutopoulos A, Xie XQ, et al. Structural determinants for recognition and translocation by the anandamide transporter. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999;96(10):5802-7.
55. Piomelli D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci.* 2003;4(11):873-84.
56. Wilson RI, Kunos G, Nicoll RA. Presynaptic specificity of endocannabinoid signaling in the hippocampus. *Neuron.* 2001;31(3):453-62.
57. Da Silva GE, Morato GS, Takahashi RN. Rapid tolerance to Delta(9)-tetrahydrocannabinol and cross-tolerance between ethanol and Delta(9)-tetrahydrocannabinol in mice. *Eur J Pharmacol.* 2001;431(2):201-7.
58. Basavarajappa BS, Hungund BL. Chronic ethanol increases the cannabinoid receptor agonist anandamide and its precursor N-arachidonoylphosphatidylethanolamine in SK-N-SH cells. *J Neurochem.* 1999;72(2):522-8.
59. González S, Cascio MG, Fernández-Ruiz J, Fezza F, Di Marzo V, Ramos JA. Changes in endocannabinoid contents in the brain of rats chronically exposed to nicotine, ethanol or cocaine. *Brain Res.* 2002;954(1):73-81.
60. Basavarajappa BS, Cooper TB, Hungund BL. Chronic ethanol administration down-regulates cannabinoid receptors in mouse brain synaptic plasma membrane. *Brain Res.* 1998;793(1-2):212-8.
61. Basavarajappa BS, Hungund BL. Down-regulation of cannabinoid receptor agonist-stimulated [35S]GTP gamma S binding in synaptic plasma membrane from chronic ethanol exposed mouse. *Brain Res.* 1999;815(1):89-97.
62. Ortiz S, Oliva JM, Pérez-Rial S, Palomo T, Manzanares J. Chronic ethanol consumption regulates cannabinoid CB1 receptor gene expression in selected regions of rat brain. *Alcohol Alcohol* 2004;39(2):88-92.
63. González S, Fernández-Ruiz J, Sparpaglione V, Parolaro D, Ramos JA. Chronic exposure to morphine, cocaine or ethanol in rats produced different effects in brain cannabinoid CB(1) receptor binding and mRNA levels. *Drug Alcohol Depend.* 2002;66(1):77-84.
64. Vinod KY, Yalamanchili R, Xie S, Cooper TB, Hungund BL. Effect of chronic ethanol exposure and its withdrawal on the endocannabinoid system. *Neurochem Int.* 2006;49(6):619-25.
65. Moranta D, Esteban S, García-Sevilla JA. Ethanol desensitizes cannabinoid CB1 receptors modulating monoamine synthesis in the rat brain in vivo. *Neurosci Lett.* 2006;392(1-2):58-61.
66. Mitrirattanakul S, López-Valdés HE, Liang J, Matsuka Y, Mackie K, Faull KF, et al. Bidirectional alterations of hippocampal cannabinoid 1 receptors and their endogenous ligands in a rat model of alcohol withdrawal and dependence. *Alcohol Clin Exp Res.* 2007;31(5):855-67.
67. González S, Valenti M, de Miguel R, Fezza F, Fernández-Ruiz J, Di Marzo V, et al. Changes in endocannabinoid contents in reward-related brain regions of alcohol-exposed rats, and their possible relevance to alcohol relapse. *Br J Pharmacol.* 2004;143(4):455-64.
68. Vinod KY, Arango V, Xie S, Kassir SA, Mann JJ, Cooper TB, et al. Elevated levels of endocannabinoids and CB1 receptor-mediated G-protein signaling in the prefrontal cortex of alcoholic suicide victims. *Biol Psychiatry.* 2005;57(5):480-6.

69. Ferrer B, Bermúdez-Silva FJ, Bilbao A, Álvarez-Jaimes L, Sánchez-Vera I, Giuffrida A, et al. Regulation of brain anandamide by acute administration of ethanol. *Biochem J*. 2007;404(1):97-104.
70. Rubio M, McHugh D, Fernández-Ruiz J, Bradshaw H, Walker JM. Short-term exposure to alcohol in rats affects brain levels of anandamide, other N-acyl ethanolamines and 2-arachidonoyl-glycerol. *Neurosci Lett*. 2007;421(3):270-4.
71. Oliva JM, Ortiz S, Pérez-Rial S, Manzanares J. Time dependent alterations on tyrosine hydroxylase, opioid and cannabinoid CB1 receptor gene expressions after acute ethanol administration in the rat brain. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2008;18(5):373-82.
72. Arnone M, Maruani J, Chaperon F, Thiébot MH, Poncelet M, Soubrié P, et al. Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR 141716, an antagonist of central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology (Berl)*. 1997;132(1):104-6.
73. Colombo G, Agabio R, Fà M, Guano L, Lobina C, Loche A, et al. Reduction of voluntary ethanol intake in ethanol-preferring sP rats by the cannabinoid antagonist SR-141716. *Alcohol Alcohol*. 1998;33(2):126-30.
74. Gessa GL, Serra S, Vacca G, Carai MA, Colombo G. Suppressing effect of the cannabinoid CB1 receptor antagonist, SR147778, on alcohol intake and motivational properties of alcohol in alcohol-preferring sP rats. *Alcohol Alcohol*. 2005;40(1):46-53.
75. Lallemand F, De WP. SR147778, a CB1 cannabinoid receptor antagonist, suppresses ethanol preference in chronically alcoholized Wistar rats. *Alcohol*. 2006;39(3):125-34.
76. Gallate JE, Saharov T, Mallet PE, McGregor IS. Increased motivation for beer in rats following administration of a cannabinoid CB1 receptor agonist. *Eur J Pharmacol*. 1999;370(3):233-40.
77. Kelai S, Hanoun N, Aufrere G, Beauge F, Hamon M, Lanfumey L. Cannabinoid-serotonin interactions in alcohol-preferring vs. alcohol-avoiding mice. *J Neurochem*. 2006;99(1):308-20.
78. Naassila M, Pierrefiche O, Ledent C, Daoust M. Decreased alcohol self-administration and increased alcohol sensitivity and withdrawal in CB1 receptor knockout mice. *Neuropharmacology*. 2004;46(2):243-53.
79. Blednov YA, Cravatt BF, Boehm SL, Walker D, Harris RA. Role of endocannabinoids in alcohol consumption and intoxication: studies of mice lacking fatty acid amide hydrolase. *Neuropsychopharmacology*. 2007;32(7):1570-82.
80. Vinod KY, Sanguino E, Yalamanchili R, Manzanares J, Hungund BL. Manipulation of fatty acid amide hydrolase functional activity alters sensitivity and dependence to ethanol. *J Neurochem*. 2008;104(1):233-43.
81. Alen F, Moreno-Sanz G, Isabel de Tena A, Brooks RD, López-Jiménez A, Navarro M, et al. Pharmacological activation of CB1 and D2 receptors in rats: predominant role of CB1 in the increase of alcohol relapse. *Eur J Neurosci*. 2008;27(12):3292-8.
82. Racz I, Bilkei-Gorzo A, Toth ZE, Michel K, Palkovits M, Zimmer A. A critical role for the cannabinoid CB1 receptors in alcohol dependence and stress-stimulated ethanol drinking. *J Neurosci*. 2003;23(6):2453-8.
83. Lallemand F, de Witte P. Ethanol induces higher BEC in CB1 cannabinoid receptor knockout mice while decreasing ethanol preference. *Alcohol Alcohol*. 2005;40(1):54-62.
84. Heath AC, Nelson EC. Effects of the interaction between genotype and environment. Research into the genetic epidemiology of alcohol dependence. *Alcohol Res Health*. 2002;26(3):193-201.
85. Enoch MA. Pharmacogenomics of alcohol response and addiction. *Am J Pharmacogenomics*. 2003;3(4):217-32.
86. Hungund BL, Basavarajappa BS. Distinct differences in the cannabinoid receptor binding in the brain of C57BL/6 and DBA/2 mice, selected for their differences in voluntary ethanol consumption. *J Neurosci Res*. 2000;60(1):122-8.
87. Basavarajappa BS, Hungund BL. Cannabinoid receptor agonist-stimulated [<sup>35</sup>S]guanosine triphosphate gammaS binding in the brain of C57BL/6 and DBA/2 mice. *J Neurosci Res*. 2001;64(4):429-36.
88. Ortiz S, Oliva JM, Pérez-Rial S, Palomo T, Manzanares J. Differences in basal cannabinoid CB1 receptor function in selective brain areas and vulnerability to voluntary alcohol consumption in Fawn Hooded and Wistar rats. *Alcohol Alcohol*. 2004;39(4):297-302.
89. Hansson AC, Bermúdez-Silva FJ, Malinen H, Hyttiä P, Sanchez-Vera I, Rimondini R, et al. Genetic impairment of frontocortical endocannabinoid degradation and high alcohol preference. *Neuropsychopharmacology*. 2007;32(1):117-26.
90. Schmidt LG, Samochowiec J, Finckh U, Fiszler-Piosik E, Horodnicki J, Wendel B, et al. Association of a CB1 cannabinoid receptor gene (CNR1) polymorphism with severe alcohol dependence. *Drug Alcohol Depend*. 2002;65(3):221-4.
91. Hutchison KE, Haughey H, Niculescu M, Schacht J, Kaiser A, Stitzel J, et al. The incentive salience of alcohol: translating the effects of genetic variant in CNR1. *Arch Gen Psychiatry*. 2008;65(7):841-50.
92. Zuo L, Kranzler HR, Luo X, Covault J, Gelemer J. CNR1 variation modulates risk for drug and alcohol dependence. *Biol Psychiatry*. 2007;62(6):616-26.
93. Sipe JC, Chiang K, Gerber AL, Beutler E, Cravatt BF. A missense mutation in human fatty acid amide hydrolase associated with problem drug use. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(12):8394-9.
94. Ishiguro H, Iwasaki S, Teasent L, Higuchi S, Horiuchi Y, Saito T, et al. Involvement of cannabinoid CB2 receptor in alcohol preference in mice and alcoholism in humans. *Pharmacogenomics J*. 2007;7(6):380-5.
95. Comings DE, Muhleman D, Gade R, Johnson P, Verde R, Saucier G, et al. Cannabinoid receptor gene (CNR1): association with i.v. drug use. *Mol Psychiatry*. 1997;2(2):161-8.
96. Preuss UW, Koller G, Zill P, Bondy B, Soyka M. Alcoholism-related phenotypes and genetic variants of the CB1 receptor. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2003;253(6):275-80.
97. Gardner EL. Endocannabinoid signaling system and brain reward: emphasis on dopamine. *Pharmacol Biochem Behav*. 2005;81(2):263-84.
98. Colombo G, Serra S, Brunetti G, Gómez R, Melis S, Vacca G, et al. Stimulation of voluntary ethanol intake by cannabinoid receptor agonists in ethanol-preferring sP rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2002;159(2):181-7.
99. 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. *The Lancet*. 2007;370(9600):1706-13.
100. Soyka M, Koller G, Schmidt P, Lesch OM, Leweke M, Fehr C, et al; ACTOL Study Investigators. Cannabinoid receptor 1 blocker rimonabant (SR 141716) for treatment of alcohol dependence: results from a placebo-controlled, double-blind trial. *J Clin Psychopharmacol*. 2008;28(3):317-24.