

Received: 2007.12.19
Accepted: 2008.04.25
Published: 2008.05.27

Działania kannabinoidów w zwierzęcych modelach uzależnień

Cannabinoid dependence in animal models

Grażyna Biała

Katedra i Zakład Farmakologii z Farmakodynamiką Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Streszczenie

Kannabinoidy są aktywnymi składnikami *Cannabis sativa*, czyli konopi indyjskich oraz ich syntetycznymi pochodnymi. Wywołują wiele działań ośrodkowych i obwodowych. Po ich przewlekłym stosowaniu rozwija się tolerancja i uzależnienie psychiczne, których mechanizmy neuronalne nie są wciąż do końca określone. Pierwotnym punktem ich uchwytu są metabotropowe receptory kannabinoidowe CB1 i CB2. Podobnie jak inne substancje uzależniające, agoniści receptorów kannabinoidowych (typu CB1) nasilają (pośrednio) przekazywanie dopaminowe w strukturach mózgu tworzących układ nagrody, wskutek uwalniania dopaminy (głównie w jądrze półkolumny przegrody). Oprócz dopaminy, ważną rolę odgrywają także peptydy i receptory opioidowe. W pracy opisano działania ligandów receptorów kannabinoidowych w podstawowych, zwierzęcych modelach doświadczalnych, takich jak: samopodawanie związków, samodrażnienie, warunkowana preferencja miejsca, różnicowanie związków oraz tolerancja i zespół abstynencyjny. Z ich pomocą oceniać można zarówno motywacyjne jak i fizyczne aspekty zależności typu kannabinoidowego.

Słowa kluczowe:

uzależnienia • kannabinoidy • tolerancja • samopodawanie • samostymulacja • abstynencja • dyskryminacja

Summary

A large number of psychoactive derivatives have been identified in *Cannabis sativa* preparations, but their potential ability to produce dependence in humans is still a controversial issue. Cannabinoids were considered different from other addictive drugs in terms of addictive potential and neurobiological targets of action. Experimental evidence indicates that the mesolimbic dopaminergic system is the common neuronal substrate for the motivational and rewarding properties of different drugs of abuse. Many studies have indeed revealed that an increase in extracellular dopamine concentration in the nucleus accumbens was observed after acute and chronic administration of cannabinoid receptor agonists. Many behavioral studies have used different animal models to clarify the consequences of chronic exposure to cannabinoid receptor agonists and the abuse liability of these compounds. This paper reviews research from animal models of cannabinoid addiction in which both motivational and physical aspects of dependence can be measured in order to clarify still unresolved issues of cannabinoid addiction.

Key words:

addiction • cannabinoids • tolerance • self-administration • self-stimulation • withdrawal • drug discrimination

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=858634>

Word count: 2122

Tables: –

Figures: –

References: 30

Adres autorki: dr hab. Grażyna Biała, Katedra i Zakład Farmakologii z Farmakodynamiką Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, ul. Staszica 4, 20-081 Lublin; e-mail: grazyna.biala@am.lublin.pl

Wykaz skrótów: **cAMP** – cykliczny adenozymonofosforan; **CB1 i CB2** – receptory kannabinoidowe typu pierwszego i drugiego; **CPP** – warunkowana preferencja miejsca (conditioned place preference); **CP-55,940 i WIN55,212-2** – agoniści receptorów kannabinoidowych; **CRF** – kortykoliberyna; **GABA** – kwas γ -aminomasłowy; **NAC** – jądro półleżące przegrody (nucleus accumbens); **OUN** – ośrodkowy układ nerwowy; **PFC** – kora przedczołowa (prefrontal cortex); **SR141716A** – antagonist receptorów kannabinoidowych; **THC** – Δ^9 -tetrahydrokannabinol; **VTA** – pole brzuszne nakrywki śródmózgowia (ventral tegmental area).

WPROWADZENIE

Uzależnienie jest przewlekłym, nawracającym zespołem zaburzeń psychicznych i somatycznych o zróżnicowanej etiologii i obrazie klinicznym, charakteryzującym się niekontrolowanym poszukiwaniem i zażywaniem narkotyku. Nawrót do nałogu po okresie abstynencji jest związany z występowaniem głodu narkotykowego (craving).

W rozwoju uzależnień lekowych, a zwłaszcza w procesach wzmocnienia pozytywnego i zachowaniach motywacyjnych prowadzących do kontaktu z czynnikiem nagradzającym, główną rolę odgrywa układ nagrody, czyli wstępujące szlaki dopaminowe z ciał komórek pola brzuszego nakrywki śródmózgowia (ventral tegmental area – VTA, obszar A10) do struktur limbicznych przodomózgowia, takich jak jądro półleżące przegrody (nucleus accumbens – NAC) – układ mezolimbiczny i kory przedczołowej (prefrontal cortex – PFC) – układ mezkortykałny i tzw. rozszerzone ciało migdałowate. NAC jest strukturą ściśle związaną z warunkowaniem instrumentalnym, rozwijającym się przy pierwszych kontaktach z narkotykiem. PFC spełnia funkcję integracyjną, uczestniczy w nabywaniu, utrwalaniu i nawrocie zachowań związanych z przyjmowaniem narkotyków, podczas gdy ciało migdałowate, jako „stacja przekaźnikowa”, bierze udział w wytwarzaniu asocjacji między działaniem nagradzającym i motywacyjnym substancji uzależniających a środowiskiem [20]. Oprócz wyżej opisanego szlaku mezkortykolimbicznego pewną rolę odgrywać mogą także neurony serotoniny biegnące z jąder szwu do struktur limbicznych, szlaki adrenergiczne z jądra miejsca sinawego do struktur przodomózgowia oraz układ nigrostriatalny.

Wiele bodźców mających charakter wzmocnienia pozytywnego (nagrody), w tym nagrody naturalne (pokarm, aktywność seksualna) i większość środków uzależniających, nasila przeżycie dopaminowe w strukturach mózgu tworzących układ nagrody, wskutek uwalniania dopaminy (głównie w NAC) lub hamowania jej wychwytu zwrotnego [8], chociaż pierwotne punkty uchwytu ich działania mogą być odmienne.

Jedną z grup substancji uzależniających są kannabinoidy, aktywne składniki *Cannabis sativa*, czyli konopi indy-

skich. Związki te powodują liczne efekty ośrodkowe i obwodowe, a niektóre z ich pochodnych mają zastosowanie kliniczne. Odkrycie selektywnych, metabotropowych receptorów kannabinoidów (CB1 w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym i CB2 w układzie immunologicznym), sprzężonych z białkiem G i endogennych agonistów tych receptorów, np. anandamid, 2-arachidonoliglicerol, eter noladyny, wirodhamina, przyczyniło się do znacznego zainteresowania tymi związkami w ostatnich latach [15]. Znane jest nadużywanie przetworów konopi, czyli marihuany, haszyszu i oleju haszyszowego, których działania ośrodkowe są związane głównie z obecnością Δ^9 -tetrahydrokannabinolu (THC), najważniejszego psychoaktywnego składnika rośliny. Agoniści receptorów kannabinoidowych pochodzenia naturalnego i ich syntetyczne analogi, wzbudzają obecnie zainteresowanie jako potencjalne leki, mogące znaleźć zastosowanie w leczeniu anoreksji, duszności, spastyczności, chorób neurodegeneracyjnych, jaskry oraz jako leki przeciwbólowe i przeciwwymiotne.

W przypadku kannabinoidów, nie stwierdzono obecności receptorów CB1 na neuronach dopaminowych w NAC. Mechanizmy nasilające uwalnianie dopaminy przez ich agoniści są związane z obecnością tych receptorów na hamujących neuronach GABA-ergicznych w VTA. Pobudzenie ich wiąże się ze zmniejszeniem hamującego wpływu kwasu γ -aminomasłowego (GABA) na neurony dopaminowe w VTA, co w rezultacie doprowadza do wzrostu uwalniania dopaminy w NAC. Inny mechanizm blokowania hamującego wpływu neuronów GABA-ergicznych może być związany z pobudzeniem przez kannabinoidy presynaptycznych receptorów CB1 na neuronach glutaminianergicznych w NAC, i pośrednio zmniejszanie aktywności neuronów GABA pozostających pod ich wpływem [24].

ZWIERZĘCE MODELE UZALEŻNIEŃ

Badania nad nagradzającymi właściwościami związków (drug abuse liability) w zwierzęcych modelach doświadczalnych obejmują te typy badań behawioralnych (najczęściej przeprowadzanych na myszach lub szczurach), w których o działaniu nagradzającym decyduje efekt pozytywnego wzmocnienia. Poniżej opisano najważniejsze

z nich pod kątem wykorzystania w badaniach nad uzależniającymi właściwościami kannabinoidów.

1. Samopodawanie związków (drug self-administration), gdy zwierzę dzięki zaimplantowanej kaniuli ma możliwość samopodawania związku drogą dożylną, domięśniową lub domózgową przez naciśnięcie odpowiedniej dźwigni, czyli uczy się wykonywania reakcji instrumentalnej wzmacnianej narkotykiem. Ten typ zachowań stanowi w miarę dokładne odzwierciedlenie właściwości wzmacniających danego związku psychoaktywnego u ludzi.

Liczne badania wykazały, że podanie THC nie wywołuje reakcji samopodawania dożylnego u różnych gatunków zwierząt doświadczalnych [4,17]. Tłumaczy to kilka teorii:

- relatywnie opóźniony początek działania THC i długi okres połowicznego rozpadu,
- awersyjne właściwości THC mogą maskować jego działanie nagradzające,
- właściwości uzależniające THC są o wiele słabsze w porównaniu z innymi środkami uzależniającymi.

Wydaje się, że największe znaczenie mają tu właściwości farmakokinetyczne związku. Potwierdzeniem tej sugestii są doświadczenia z użyciem syntetycznych agonistów receptorów kannabinoidowych, WIN55,212-2 i CP-55,940, o krótszym od THC okresie połowicznego rozpadu, które mogą być samopodawane (odpowiednio: dożylnie lub domózgowo), przez myszy lub szczury w sposób dawkozależny, a efekt ten jest hamowany przez antagonistę receptorów CB1 – SR141716A i opioidowych – nalokson [3,18]. Sugeruje to udział endogennych układów – kannabinoidowego i opioidowego w powstaniu nagradzających właściwości syntetycznych pochodnych THC. Nowsze, nieliczne doniesienia wskazują na możliwość samopodawania samego THC przez małpy, w małej dawce, porównywalnej do tej, stosowanej u ludzi, ale jedynie w przypadku wcześniejszego samopodawania kokainy, czyli w sytuacji odmiennego stanu fizjologicznego układu nagrody [25].

2. Model samodrażnienia (self-stimulation), w którym zwierzę ma możliwość samodrażnienia pewnych obszarów („obszary przyjemności”) przez samodzielne włączanie impulsów elektrycznych (np. naciśnięciem na dźwignię). Przeprowadza się pomiar progu pobudliwości zwierząt, czyli natężenia prądu potrzebnego do podtrzymania reakcji (próg ten jest obniżony po narkotykach).

Podanie THC ułatwia samostymulację domózgową, a świadczy o tym obniżenie progu pobudliwości elektrycznej potrzebnej do indukcji tego typu zachowania [10]. Dane eksperymentalne wskazują jednak na różne efekty u różnych szczepów szczurów. I tak, efekt ułatwiania samodrażnienia opisany został u szczurów typu Lewis, a nie występował on u szczepu Fisher 344 [13]. Podobnie jak w poprzednim teście, wyżej opisany efekt THC znoszony był przez antagonistów receptorów opioidowych, co ponownie sugeruje udział endogennego układu opioidowego w nagradzających właściwościach kannabinoidów.

3. Warunkowana preferencja miejsca (conditioned place preference, CPP) [5]. Test ten opiera się na klasycznym warunkowaniu instrumentalnym (pawłowowskim), w którym środowisko (np. część klatki o określonym kolorze

lub strukturze podłoża), kojarzone z podawaniem badanego związku (będącego bodźcem bezwarunkowym) przeżywa jego właściwości motywacyjne. W ten sposób staje się ono bodźcem warunkowym, na które zwierzę reaguje spędzając w nim w dzień testu więcej czasu, gdy wzmocnienie jest pozytywne lub mniej czasu przy negatywnym wzmocnieniu. Test ten służyć może również do pomiaru zjawiska określanego jako drug-seeking (craving), w którym bodziec wzmacniający stanowi nagrodę, ale też wiąże się z aktywacją popędu (motywacji) wyzwającego poszukiwanie ponownego kontaktu z lekiem.

Zwykle podanie agonistów receptorów kannabinoidowych indukuje efekty awersyjne (dysforyczne) w tym modelu, odwracane przez antagonistów tych receptorów, a podanie anandamidu nie wywołuje żadnego efektu [16]. Interesujące dane wskazują na możliwość indukowania warunkowej preferencji miejsca przez samego antagonistę receptorów CB1, SR141716A, który ma właściwości motywacyjne w tym teście oraz przez blokowanie przez ten związek nabywania preferencji miejsca indukowanej innymi związkami psychoaktywnymi, takimi jak kokaina i morfina oraz pokarmem [6]. Niektórzy autorzy wskazywali na występowanie preferencji miejsca po podaniu THC w małych dawkach (1 mg/kg m.c.) w sytuacji, gdy sesje warunkowania odbywały się w 24-godzinnych odstępach, w których nie podawano substancji psychoaktywnej, a także przy zwiększeniu liczby sesji warunkowania po podawaniu THC, dzięki czemu unika się nawrotu objawów dysforycznych, a wzmacnia efekty nagradzające małych dawek THC [14]. Innym sposobem umożliwiającym uniknięcie działań awersyjnych THC jest umieszczanie zwierząt w zwykłej klatce (nie w aparacie do CPP) po jego pierwszej iniekcji [27].

Z kolei na badania nad uzależniającymi właściwościami związków (drug dependence liability) składa się opis następujących zjawisk:

1. Tolerancja, czyli osłabienie efektów danej substancji w miarę jej podawania w tej samej dawce. Wynika z tego potrzeba znacznego zwiększania ilości zażywanej substancji w celu osiągnięcia intoksykacji lub pożądanego efektu. Tolerancja jest następstwem zmian adaptacyjnych w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), których celem jest zminimalizowanie zaburzeń w psychofizjologicznych funkcjach organizmu, wywołanych przez wielokrotne podawanie leków. Klasycznym przykładem może być osłabienie działania przeciwbólowego agonistów receptorów opioidowych w miarę ich częstego podawania. Problem zależności między tolerancją i uzależnieniem nie jest w pełni wyjaśniony. Przyjmuje się, że tolerancja może być warunkiem istotnym do powstawania uzależnienia, lecz nie zawsze jest cechą charakterystyczną uzależnień.

Chroniczne podawanie kannabinoidów wiąże się z powstaniem tolerancji na większość efektów farmakologicznych, takich jak antynocycepcja, hiperaktywność, hipotermia, katalepsja, ataksja [1,11]. Tolerancja na te efekty rozwija się bardzo szybko, już drugie podanie agonisty receptorów kannabinoidowych wywołuje efekt słabszy niż ten występujący po pierwszym jego podaniu. Zaznaczyć jednak należy, iż dawki agonistów potrzebne do wywołania tolerancji w zwierzęcych modelach doświadczalnych są dużo większe od tych przyjmowanych przez ludzi (np. 10 mg/kg

m.c. THC). Dodatkowo, możliwa jest tolerancja krzyżowa między anandamidem a egzogennymi, syntetycznymi agonistami receptorów kannabinoidowych oraz między THC a agonistami opioidowymi [26].

Biorąc pod uwagę mechanizmy wytwarzania się tolerancji, główną rolę odgrywają zmiany farmakodynamiczne. Na przykład, zmniejszenie liczby receptorów CB1, głównie w układzie limbicznym, prążkowie, korze i mózdku, chociaż nie wszystkie dane literaturowe są co do tego zgodne, niektóre wskazują na wzrost liczby tych receptorów w hipokampie lub mózdku [22]. Opisywano także modyfikację stężenia anadamidu w prążkowie i układzie limbicznym po przewlekłym stosowaniu THC. Oprócz zmian w gęstości receptorów CB1, obserwowano także zmiany ich wrażliwości i wiązania z agonistami oraz zmniejszenie ilości mRNA kodującego dla tych receptorów po przewlekłym stosowaniu THC lub innego agonisty receptorów CB1 – związku CP-55,940 [9,30]. Zmiany te zanikają już po kilku godzinach po odstawieniu przewlekle, nawet przez kilka miesięcy, stosowanych agonistów. Na poziomie molekularnym, zwraca się uwagę na zmiany ekspresji i funkcjonalnej aktywności podjednostek alfa białek G, ściśle związanych z odwracalnością (desensytyzacją) receptorów CB1 [23].

2. Zespół odstawienia. Polega na obserwacji zwierzęcia w chwili odstawienia środka uzależniającego. Klasycznym przykładem jest zespół objawów towarzyszących odstawieniu przewlekle podawanych agonistów opioidowych (morfiny, heroiny), obejmujący zaburzenia autonomiczne (hipotermia, ptoza, biegunka), psychomotoryczne (podskoki, potrząsania głową, szcęknięcie zębami) i behawioralne (utrata masy ciała, obniżone pobieranie pokarmu i wody). Do objawów tych dołączają się zaburzenia emocjonalne (lęk), motywacyjne (anhedonia) i poznawcze (upośledzenie uczenia się i pamięci). Objawy te mogą być również indukowane podaniem antagonisty receptorów opioidowych (nalokson).

U zwierząt doświadczalnych rzadko obserwuje się powstanie zależności fizycznej po przewlekłym stosowaniu kannabinoidów (także THC), która ujawnia się zwłaszcza po podaniu antagonisty receptora CB1 – SR141716A [7, 11]. Jednak dawki THC potrzebne do wywołania takiej zależności są bardzo duże (oscylują między 10 a 100 mg/kg m.c. dziennie) i nieporównywalne do dawek pobieranych przez ludzi. Najczęstszymi somatycznymi (lecz nie wegetatywnymi) objawami odstawiennymi u zwierząt są: drżenia łap i całego ciała, skurcze mięśni, ptoza, przeciąganie się i potrząsanie głową, skoki, lizanie łap, hipolokomocja, ataksja. Wyraźne, somatyczne objawy abstynencyjne u zwierząt obserwowano głównie po odstawieniu innego agonisty receptorów CB1 – WIN55,212-2, charakteryzującego się względnie krótkim okresem połowicznego rozpadu, w wyniku czego szybko spada jego stężenie w surowicy po gwałtownym zaprzestaniu jego podawania [2].

Biorąc pod uwagę przypuszczalne mechanizmy powstawania objawów abstynencyjnych, w przypadku kannabinoidów są one związane z modyfikacją mechanizmów komórkowych (na poziomie mózdku), głównie wzrost aktywności cyklicznej adenylanowej i up-regulacja układu związanej z cyklicznym adenozyminomonofosforanem (cAMP) [11].

Obserwowano także zwiększenia uwalniania kortykoliberyny (CRF) i osłabienie aktywności neuronów dopaminowych w układzie mezolimbicznym, z czym wiążą się objawy dysforyczne towarzyszące odstawieniu kannabinoidów [21]. Omawiając aspekt fizyczny uzależnienia od kannabinoidów należy również zwrócić uwagę na dane literaturowe, ponownie wskazujące na interakcje między układem kannabinoidowym i opioidowym. Wykazano mianowicie, iż podanie antagonisty receptorów CB1 wyzwalając może słabe objawy abstynencji opioidowej u zwierząt uzależnionych od morfiny [19]. Jednak antagonistą opioidowym nalokson wyzwalając może objawy abstynencyjne u zwierząt uzależnionych od agonistów kannabinoidowych [19]. Potwierdzeniem tych wyników są dane opisujące znaczne osłabienie morfinowych objawów abstynencyjnych w myszy knock out pozbawionych genu kodującego receptor CB1 [12]. Jednakże struktury odpowiedzialne za powstawanie zespołów abstynencyjnych w obu typach uzależnień różnią się. W przypadku opioidów są to głównie jądro miejsca sinawego i substancja szara okołowodociągowa, a w przypadku kannabinoidów mózdzek [11].

3. Różnicowanie związków (drug discrimination), procedura umożliwiająca badanie neurobiologicznego podłoża „subiektywnych” stanów psychofizycznych wyzwalanych przez substancje uzależniające. W teście tym zwierzę uczy się odróżniania wspomnianego stanu psychofizycznego wywołanego podaniem związku treningowego (o znanych efektach i mechanizmie działania) od rozpuszczalnika. Nagradzane, np. podaniem pokarmu, są jedynie naciśnięcia dźwigni kojarzone z lekiem treningowym. W dalszym etapie lek treningowy zastępowany jest badaniem. Gdy będzie on wywoływał podobne efekty psychofizyczne do tych obserwowanych po leku treningowym, zwierzę naciśkać będzie dźwignię z podobną intensywnością. Pełna substytucja działania jednego związku przez drugi może świadczyć o podobnym receptorowym mechanizmie działania tych związków.

W tym modelu wykazano subiektywne, swoiste efekty agonistów kannabinoidowych i ich blokowanie przez antagonistę SR141716A u szczurów i małp, co wskazuje na udział receptorów CB1 [28]. Nie obserwowano dyskryminacji krzyżowej między kannabinoidami a opioidami. Możliwa jest natomiast reakcja krzyżowa z diazepamem, co wskazuje na zaangażowanie mechanizmów GABA-ergicznym [29]. Trudno jest osiągnąć krzyżową dyskryminację między anandamidem a egzogennymi agonistami receptorów kannabinoidowych, potrzebne są do tego bardzo duże dawki anadamidu (około 45 mg/kg m.c.) [28].

Dalszy rozwój wiedzy o uzależnieniach nie może się odbywać z pominięciem danych uzyskanych z użyciem zwierzęcych testów behawioralnych. Badania te są niezwykle pomocne w weryfikowaniu hipotez powstałych na podstawie klinicznych obserwacji osób uzależnionych. Dostarczają sugestii o możliwych sposobach leczenia uzależnień. Eksperymenty przeprowadzone w ostatnich latach przyniosły duży postęp w rozumieniu neuronalnych i molekularnych, długoterminowych modyfikacji wynikających z powtarzalnego przyjmowania środków uzależniających, również na poziomie genomu. W przypadku kannabinoidów istnieje nadal wiele kontrowersji dotyczących ich właściwości uzależniających [15]. Wiele danych przemawia za bra-

kiem uzależnienia fizycznego i objawów abstynencyjnych u ludzi, niektórzy autorzy wskazują jednak na możliwość występowania takich objawów u ludzi stosujących silnie działające przetwory konopi w dużych dawkach. Wiadomo, iż ta grupa związków powoduje wyraźne, subiektywne, motywacyjne odpowiedzi, prowadzące do zachowań poszukiwawczych (drug-seeking) i uzależnienia. Ze wzglę-

du na istniejące, często sprzeczne dane ważne jest opisywanie konsekwencji przewlekłego stosowania agonistów receptorów kannabinoidowych w zwierzęcych modelach doświadczalnych, umożliwiających ocenę ich działań nagradzających i uzależniających. Otrzymane wyniki umożliwiają również zrozumienie mechanizmów neurobiologicznych leżących u podstaw tego typu uzależnienia.

PIŚMIENICTWO

- [1] Abood M.E., Sauss C., Fan F., Tilton C.L., Martin B.R.: Development of behavioral tolerance to delta 9-THC without alteration of cannabinoid receptor binding or mRNA levels in whole brain. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1993; 46: 575-579
- [2] Aceto M.D., Scates S.M., Martin B.P.: Spontaneous and precipitated withdrawal with a synthetic cannabinoid, WIN 55212-2. *Eur. J. Pharmacol.*, 2001; 416: 75-81
- [3] Braida D., Pozzi M., Parolaro D., Sala M.: Intracerebral self-administration of the cannabinoid receptor agonist CP 55,940 in the rat: interaction with the opioid system. *Eur. J. Pharmacol.*, 2001; 413: 227-234
- [4] Carney J.M., Uwaydah I.M., Balster R.L.: Evaluation of a suspension system for intravenous self-administration studies of water-insoluble compounds in the rhesus monkey. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1997; 7: 357-364
- [5] Carr G.D., Fibiger H.C., Phillips A.G.: Conditioned place preference as a measure of drug reward. W: Liebman, J.M., Cooper, S.J. (red). *The neuropharmacological basis of reward*, Oxford University Press, Oxford, 1989, 264-319
- [6] Chaperon F., Soubrié P., Puech A.J., Thiébot M.H.: Involvement of central cannabinoid (CB1) receptors in the establishment of place conditioning in rats. *Psychopharmacology*, 1998; 135: 324-332
- [7] Cook S.A., Lowe J.A., Martin B.R.: CB1 receptor antagonist precipitates withdrawal in mice exposed to Δ^9 -tetrahydrocannabinol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1998; 285: 1150-1156
- [8] Di Chiara G., Imperato A.: Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1988; 85: 5274-5278
- [9] Fan F., Tao Q., Abood M., Martin B.R.: Cannabinoid receptor down-regulation with alteration of the inhibitory effect of CP 55,940 on adenylyl cyclase in the cerebellum of CP 55,940-tolerant mice. *Brain Res.*, 1996; 706: 13-20
- [10] Gardner E.L., Paredes W., Smith D., Donner A., Milling C., Cohen D., Morrison D.: Facilitation of brain stimulation reward by delta 9-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology*, 1988; 96: 142-144
- [11] Hutcheson D.M., Tzavara E.T., Smadja C., Valjent E., Roques B.P., Hanoune J., Maldonado R.: Behavioural and biochemical evidence for signs of abstinence in mice chronically treated with Δ^9 -tetrahydrocannabinol. *Br. J. Pharmacol.*, 1998; 125: 1567-1577
- [12] Ledent C., Valverde O., Cossu G., Petit F., Aubert J.F., Beslot F., Böhme G.A., Imperato A., Pedrazzini T., Roques B.P., Vassart G., Fratta W., Parmentier M.: Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB1 receptor knockout mice. *Science*, 1999; 283: 401-404
- [13] Lepore M., Liu X., Savage V., Matalon D., Gardner E.L.: Genetic differences in Δ^9 -tetrahydrocannabinol-induced facilitation of brain stimulation reward as measured by a rate-frequency curve-shift electrical brain stimulation paradigm in three different rat strains. *Life Sci.*, 1996; 58: PL365-PL372
- [14] Lepore M., Vorel S.R., Lowinson J., Gardner E.L.: Conditioned place preference induced by Δ^9 -tetrahydrocannabinol: comparison with cocaine, morphine, and food reward. *Life Sci.*, 1995; 56: 2073-2080
- [15] Maldonado R.: Study of cannabinoid dependence in animals. *Pharmacol. Ther.*, 2002; 95: 153-164
- [16] Mallet P.E., Beninger R.J.: Δ^9 -tetrahydrocannabinol, but not the endogenous cannabinoid receptor ligand anandamide, produces conditioned place avoidance. *Life Sci.*, 1998; 62: 2431-2439
- [17] Mansbach R.S., Nicholson K.L., Martin B.R., Balster R.L.: Failure of Δ^9 -tetrahydrocannabinol and CP 55,940 to maintain intravenous self-administration under a fixed-interval schedule in rhesus monkeys. *Behav. Pharmacol.*, 1994; 5: 219-225
- [18] Martellotta M.C., Cossu G., Fattore L., Gessa G.L., Fratta W.: Self-administration of the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 in drug-naive mice. *Neuroscience*, 1998; 85: 327-330
- [19] Navarro M., Chowen J., Carrera M.R., del Arco I., Villanúa M.A., Martín Y., Roberts A.J., Koob G.F., Rodríguez de Fonseca F.: CB1 cannabinoid receptor antagonist-induced opiate withdrawal in morphine-dependent rats. *Neuroreport*, 1998; 9: 3397-3402
- [20] Nestler E.J.: Total recall - the memory of addiction. *Science*, 2001; 292: 2266-2267
- [21] Rodríguez de Fonseca F., Carrera M.R., Navarro M., Koob G.F., Weiss F.: Activation of corticotropin-releasing factor in the limbic system during cannabinoid withdrawal. *Science*, 1997; 276: 2050-2054
- [22] Rubino T., Patrini G., Parenti M., Massi P., Parolaro D.: Chronic treatment with a synthetic cannabinoid CP-55,940 alters G-protein expression in the rat central nervous system. *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 1997; 44: 191-197
- [23] Rubino T., Vigano D., Massi P., Parolaro D.: Changes in the cannabinoid receptor binding, G protein coupling, and cyclic AMP cascade in the CNS of rats tolerant to and dependent on the synthetic cannabinoid compound CP55,940. *J. Neurochem.*, 2000; 75: 2080-2086
- [24] Schlicker E., Kathmann M.: Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2001; 22: 565-572
- [25] Tanda G., Munzar P., Goldberg S.R.: Self-administration behavior is maintained by the psychoactive ingredient of marijuana in squirrel monkeys. *Nat. Neurosci.*, 2000; 3: 1073-1074
- [26] Thorat S.N., Bhargava H.N.: Evidence for a bidirectional cross-tolerance between morphine and Δ^9 -tetrahydrocannabinol in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 1994; 260: 5-13
- [27] Valjent E., Maldonado R.: A behavioural model to reveal place preference to Δ^9 -tetrahydrocannabinol in mice. *Psychopharmacology*, 2000; 147: 436-438
- [28] Wiley J.L., Lowe J.A., Balster R.L., Martin B.R.: Antagonism of the discriminative stimulus effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in rats and rhesus monkeys. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1995; 275: 1-6
- [29] Wiley J.L., Martin B.R.: Effects of SR141716A on diazepam substitution for Δ^9 -tetrahydrocannabinol in rat drug discrimination. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1999; 64: 519-522
- [30] Zhuang S., Kittler J., Grigorenko E.V., Kirby M.T., Sim L.J., Hampson R.E., Childers S.R., Deadwyler S.A.: Effects of long-term exposure to Δ^9 -THC on expression of cannabinoid receptor (CB1) mRNA in different rat brain regions. *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 1998; 62: 141-149