

Wpływ antagonisty receptora kanabinoidowego SR 141716 na picie alkoholu przez szczury linii WHP

The effect of the cannabinoid receptor antagonist SR 141716 on voluntary ethanol intake in the WHP line of rats

Wanda Dyr, Janusz Ligieza, Wojciech Kostowski

Zakład Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego
Instytut Psychiatrii i Neurologii, Warszawa

Abstract – Introduction. Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 THC) (belonging to cannabinoids) is extracted from *Cannabis sativa* and is the main active compound of marihuana and hashish. Δ^9 THC is responsible for psychoactive action of both substances. Cannabinoids activate two types of receptors: CB1 and CB2. CB1 receptors are present in the brain and these receptors are responsible for psychoactive action of Δ^9 THC.

The aim of our study is to assess the effect of CB1 receptor antagonist, SR 141716 known as the rimonabant, on voluntary intake of alcohol by alcohol-preferring line of rats (WHP – Warsaw High-Preferring). In addition, the consumption of water and food was measured.

Material and method. Six-months-old WHP rats from 34th generation were used. The selected line of WHP rats intake at least 5 g/kg/24 h ethanol in free-choice of condition (ethanol–water). During the experiment the animals were housed individually in cages, having a free choice between 10% ethanol solution and water in the graduated tubes (the accuracy of measure was 0.1 ml). Duration of every session was 4 hours. The ethanol and food were available between 9,00 and 13,00 hours (the experimental session), while the water was available *ad libitum*, round the clock. During the proper experiment, the rats were divided into four groups (n = 7–8). The first group was treated with vehiculum 0.1% Tween 40 (2 ml/kg), i.p., while remaining groups were injected with the CB1 receptor antagonist SR 141716 in the doses of 2.5, 5.0 and 10.0 mg/kg. Vehiculum and SR 141716 were administered 20 minut before the experimental session. The consumption of 10% ethanol solution, water and food were measured every 60 minut during 4-h experimental session.

Results. The present results have shown that acute treatment with SR 141716 in single doses of 2.5, 5.0, 10.0 mg/kg significantly reduced ethanol voluntary intake in WHP rats. The food intake was also diminished by 5.0 and 10.0 mg/kg of SR 141716. The dose of 2.5 mg/kg of SR 141716 significantly increased the water intake.

The present results have suggested that cannabinoid receptors may play significant role in the mechanism of drinking and preference of alcohol.

Key words: cannabinoids, CB1 and CB2 receptors, cannabinoid antagonist SR 141716, voluntary ethanol intake, WHP rats

Praca powstała w ramach tematu statutowego nr 64 (2006–2007).

Artykuł jest zmodyfikowaną formą tekstu, który ukaże się w języku angielskim w periodyku *Alcohol*.

Streszczenie – *Wstęp.* Δ^9 -tetra-hydrokanabinol (Δ^9 THC), należący do kanabinoidów, jest głównym składnikiem marihuany i haszyszu pochodzących z konopi indyjskich. Δ^9 THC jest odpowiedzialny za psychoaktywne działanie obu produktów. Kanabinoidy działają na dwa główne typy receptorów: CB1 i CB2. Receptory CB1 występują w największej ilości w mózgu i są głównie odpowiedzialne za psychoaktywne działanie Δ^9 THC.

Celem niniejszej pracy jest ocena wpływu SR 141716 (znanego pod nazwą rimonabant), antagonisty receptora kanabinoidowego CB1, na spontaniczne picie alkoholu, wody i spożycie pokarmu przez szczury preferujące alkohol (WHP – Warsaw High-Preferring).

Material i metoda. Do doświadczenia użyto sześciomiesięczne samce z 34 pokolenia szczurów linii WHP. Wyselekcjonowane szczury linii WHP, mając wolny wybór alkohol-woda, piją ≥ 5 g/kg czystego etanolu w ciągu doby. W czasie trwania eksperymentu zwierzęta przebywały pojedynczo w klatkach, miały do wyboru 10-procentowy roztwór alkoholu i wodę w dwóch skalowanych poidełkach (dokładność pomiaru 0,1 ml). Sesje eksperymentalne trwały po 4 godziny. Alkohol i pasza granulowana były dostępne jedynie w czasie sesji od 9:00 do 13:00, natomiast woda – całą dobę. Podczas właściwego eksperymentu szczury zostały podzielone na 4 grupy ($n = 7-8$), grupie pierwszej podano dootrzewnowo vehiculum (0,1% Tween 40 – 2 ml/kg), pozostałym trzem grupom podano antagonistę receptorów CB1, SR 141716, odpowiednio w dawkach 2,5, 5,0 i 10,0 mg/kg. Zarówno vehiculum, jak i badany lek podano jednorazowo na 20 minut przed rozpoczęciem sesji.

Picie 10-procentowego roztworu alkoholu i wody oraz jedzenie pokarmu było mierzone co 60 minut w czasie 4-godzinnego doświadczenia.

Wyniki. W naszych badaniach wykonanych na fenotypowo wyselekcjonowanej linii szczurów WHP wykazano, że jednorazowe podanie SR 141716 w dawce 2,5, 5,0 i 10,0 mg/kg w sposób statystycznie znamienne zmniejsza picie alkoholu. Dawki 5,0 i 10,0 mg/kg redukują także spożycie pokarmu. Dawka 2,5 mg/kg w sposób statystycznie znamienne zwiększa spożycie wody.

Wyniki naszych badań wskazują, że receptory kanabinoidowe typu CB1 mogą odgrywać ważną rolę w mechanizmie picia i preferencji alkoholu.

Słowa kluczowe: kanabinoidy, receptory kanabinoidowe CB1 i CB2, SR 141716 antagonist receptorów CB1, picie alkoholu, szczury WHP

WSTĘP

Konopie indyjskie (*Cannabis sativa*), uprawiane głównie w środkowej i zachodniej części Azji, używane są do produkcji lin i oleju, wytwarzanego z włókien oraz nasion. W konopiach zidentyfikowano ponad 60 związków z grupy kanabinoidów, z których Δ^9 -tetra-hydrokanabinol (Δ^9 THC) występuje w największych ilościach. Innymi przykładami kanabinoidów są kanabinol, kanabidiol, kanabigerol. Z konopi pozyskuje się marihuanę i haszysz, w których Δ^9 THC jest odpowiedzialny za ich działanie psychoaktywne.

Kanabinoidy działają na receptory błonowe związane z białkami G – receptory CB1 i CB2 (1). Oba receptory hamują cyklazę adenylową i kanały wapniowe typu N (2). Receptory CB1 występują w mózgu i są odpowiedzialne za charakterystyczne działanie psychoaktywne kanabinoidów, takie jak uczucie relaksacji i dobrego samopoczucia, ale również za objawy depresji, nadwrażliwość słuchową, analgezję (2). Największą reprezentację receptorów CB1 w mózgu stwierdzono w hipokampie, mózdzku, korze mózgowej i prądkowiu (3). Receptory CB2 wykryto w komórkach układu immunologicznego, z czym wiąże się ich działanie immunosupresyjne (4). Ponadto receptory CB2 można znaleźć w mózgu. Ich obec-

ność wyraźnie stwierdzono w mózdku dzikich szczepów myszy, myszy, które nie są pozbawione tych receptorów (5, 6).

Wiele faktów wskazuje na podobieństwa w działaniu alkoholu etylowego i kanabinoidów. Obie substancje mają działanie sedatywne w większych dawkach, a pobudzające – w mniejszych (1). Alkohol i kanabinoidy działają w podobny sposób na układ nagrody, zwiększając uwalnianie dopaminy (DA) w układzie mezolimbicznym, a dokładnie w tym w obszarze jądra półleżącego (głównej struktury docelowej układu mezolimbicznego), do której docierają włókna dopaminergiczne ze śródmózgowia (7). Wzrost stężenia DA w jądrze półleżącym wywołany przez alkohol jest hamowany przez SR 141716 (rimonabant), antagonistę receptora kanabinoidowego CB1 (8). Związek ten redukuje spontaniczne picie alkoholu u myszy linii C57BL/6 oraz u wyselekcjonowanych szczurów linii sP (sardinian Alcohol-Preferring) (9). Jak wykazano, agoniści receptora CB1 wywierają działanie przeciwne, a więc nasilają picie alkoholu u szczurów sP, przy czym działanie to może być zablokowane przez antagonistę SR 141716 (rimonabant) (7).

Działanie THC nasunęło przypuszczenie, że istnieją endogenne ligandy receptorów kanabinoidowych. Pierwszymi endogennymi ligandami były pochodne kwasu arachidonowego – arachidonyletanolamin nazywany anandamidem i arachidonylglicerolem (AG) (10). Anandamid może naśladować funkcję Δ^9 THC, ale jest bardzo podatny na hydrolizę enzymatyczną (11). Syntetyczna pochodna anandamidu, methandamid, posiadająca dużą stabilność metaboliczną (12), jest często stosowana do badań fizjologicznej roli endogennych kanabinoidów. Inną pochodną kwasu arachidonowego jest 2-arachidonylglicerol, który występuje w dużych ilościach w mózgu (13).

Anandamid to agonista receptora CB1, z którym się wiąże i go aktywuje (14), natomiast 2-arachidonylglicerol wiąże się słabiej z receptorem CB1, ale występuje w większej ilości w mózgu niż anandamid (15).

Wszystko to wskazuje, że endokanabinoidy odgrywają ważną rolę w mechanizmie działania alkoholu na układ nagrody. Może to być jednak zależne od linii badanych zwierząt, a więc od pewnych predyspozycji o podłożu genetycznym. Uzasadnia to prowadzenie badań nad rolą kanabinoidów w picu alkoholu u tych linii zwierząt, które drogą selekcji nabyły cechy zwiększonej lub zmniejszonej preferencji picia alkoholu. Wyselekcjonowane linie szczurów preferujących alkohol stanowią model laboratoryjny o bardzo dużym znaczeniu w badaniach nad neurobiologią i farmakoterapią uzależnienia od alkoholu.

Nasze laboratorium dysponuje własnymi liniami szczurów Wistar, wyselekcjonowanymi w kierunku dużej preferencji alkoholu – WHP (Warsaw High-Preferring) i niskiej – WLP (Warsaw Low-Preferring). Są to, poza liniami włoskimi szczurów sP i sNP (5), jedyne stabilne europejskie linie o takich fenotypach. Na świecie podobnych linii jest tylko kilka. Linia WHP spełnia główne kryteria zwierzęcego modelu uzależnienia od alkoholu (16, 17).

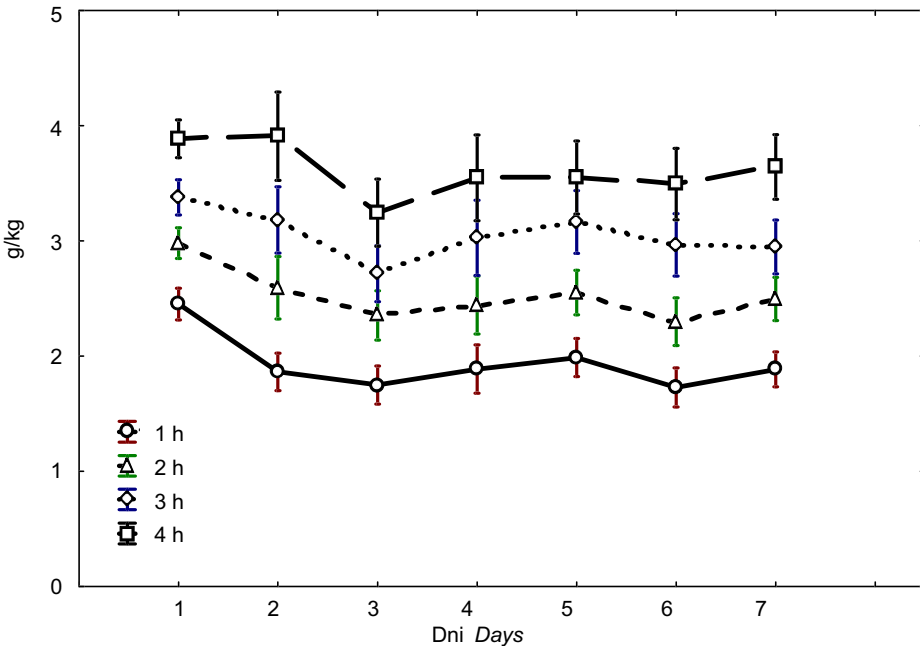
Celem niniejszej pracy była ocena wpływu antagonisty receptora kanabinoidowego CB1 na picie alkoholu przez szczury linii WHP.

MATERIAŁ I METODA

Do doświadczenia użyto sześciomiesięczne samce szczurów linii WHP z 34 pokolenia. Zwierzęta były umieszczone w macierzystych klatkach w klimatyzowanym pomieszczeniu o stałej temperaturze 22°C.

W czasie trwania eksperymentu zwierzęta przebywały pojedynczo w klatkach, mając do wyboru w dwóch skalowanych poidłkach 10-procentowy roztwór alkoholu i wodę (dokładność pomiaru 0,1 ml). Alkohol i pasza granulowana były dostępne jedynie w czasie 4-godzinnej sesji eksperymentalnej (od 9:00 do 13:00), natomiast woda – bez ograniczeń przez całą dobę.

W ciągu pierwszych 7 sesji badawczych, trwających po 4 godziny każda, mierzono ilość wypitego 10-procentowego roztworu alkoholu i wody oraz ilość spożytego pokarmu. Pomiaru dokonywano kolejno co godzinę. Po upływie tego czasu, określanego jako faza stabilizacyjna, szczury piły alkohol na poziomie 4 g/kg/4 h. Ósmego dnia szczury zostały podzielone na 4 grupy (7–8 zwierząt w grupie). Pierwszej grupie podano dootrzewnowo vehiculum (0,1% Tween 40 – 2 ml/kg), pozostałym trzem grupom podano antagonistę receptorów CB1, SR 141716, odpowiednio w dawkach 2,5, 5,0 i 10,0 mg/kg. Zarówno vehiculum, jak i badany lek



Rys. 1

Średnie wartości (kumulacyjne) picia alkoholu w g/kg \pm SEM w ciągu 7-dniowego testu poprzedzającego eksperyment z SR 141716

The mean (cumulative) ethanol intake \pm SEM in g/kg during 7 days of stabilization before the study of SR 141716

podawano jednorazowo na 20 minut przed rozpoczęciem sesji. Wyboru dawek antagonisty i sposobu podawania dokonano na podstawie literatury (7).

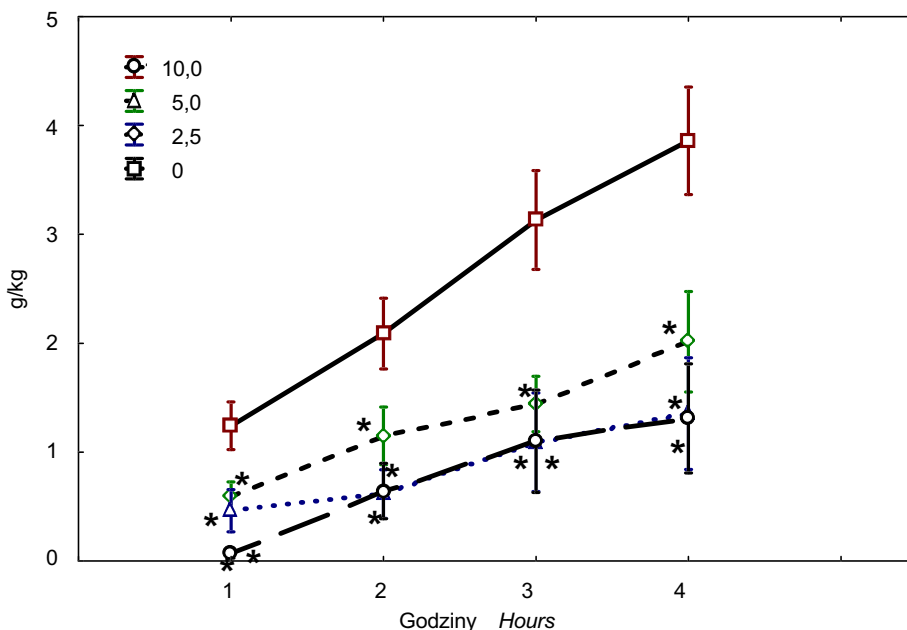
Spożycie 10-procentowego roztworu alkoholu, pokarmu oraz wody było mierzone co 60 minut podczas 4-godzinnej sesji doświadczalnej.

Otrzymane wyniki opracowano przy użyciu dwuczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) z powtórzonymi pomiarami. Badanymi czynnikami była dawka i czas. Jako test *post-hoc* zastosowano test t-Studenta.

WYNIKI

Przez 7 dni podczas kolejnych 4-godzinnych sesji doświadczalnych, poprzedzających podanie SR 141716, antagonisty receptora kanabinoidowego CB1, picie alkoholu było podobne w każdym przedziale czasowym (rys. 1). Podczas pierwszych 4 sesji picie wody i spożycie pokarmu stopniowo zwiększało się, uzyskując pod koniec stabilny poziom.

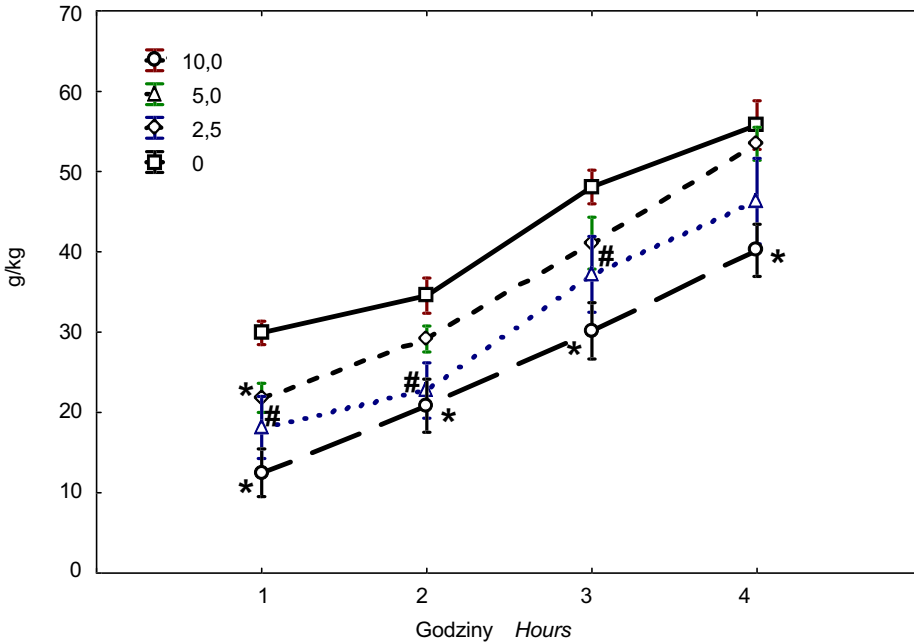
Preparat SR 141716 zmniejszał picie alkoholu, przy czym dawki 5,0 i 10,0 mg/kg wywoływały zbliżony maksymalny efekt (rys. 2). Analiza wariancji dla powtarzanych



Rys. 2

Średnie wartości (kumulacyjne) picia alkoholu \pm SEM w g/kg po podaniu jednorazowym SR 141716 w dawce 0,0, 2,5, 5,0, 10,0 mg/kg, * 2,5, 5,0, 10,0 vs 0,0, $p < 0,001$

The mean (cumulative) ethanol intake \pm SEM in g/kg after acute treatment with SR 141716 in doses 0.0, 2.5, 5.0, 10.0 mg/kg * 2.5, 5.0, 10.0 vs 0.0, $p < 0.001$



Rys. 3

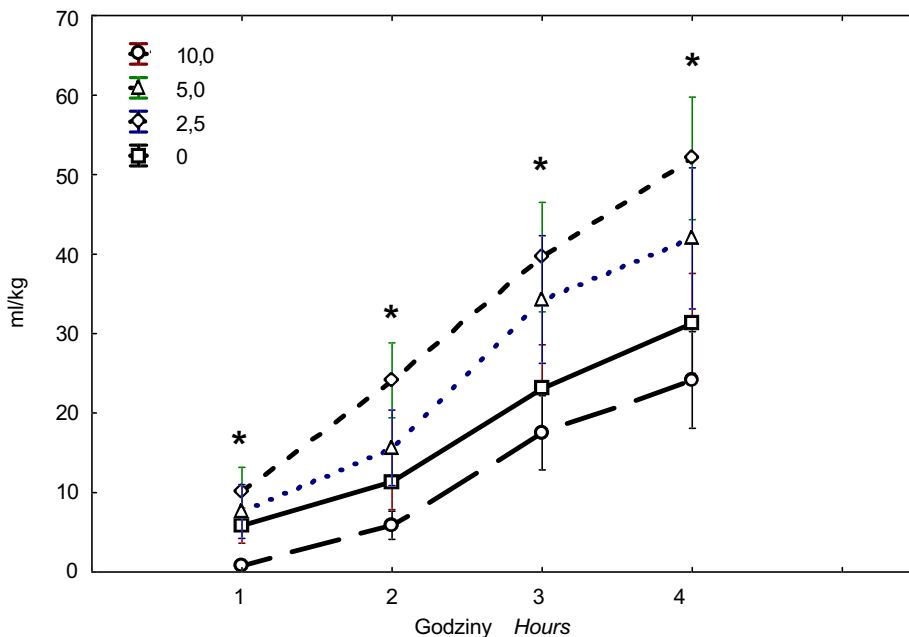
Średnie wartości (kumulacyjne) spożycia pokarmu \pm SEM w g/kg po podaniu jednorazowym SR 141716 w dawce 0,0, 2,5, 5,0, 10,0 mg/kg, * 2,5 i 10,0 vs 0,0, # 5,0 vs 0,0, $p < 0,001$

The mean (cumulative) food intake \pm SEM in g/kg after acute treatment with SR 141716 in doses 0.0, 2.5, 5.0, 10.0 mg/kg * 2.5 and 10.0 vs 0.0, # 5.0 vs 0.0, $p < 0.001$

pomiarów picia etanolu wykazała, że występuje różnica między badanymi dawkami ($F_{3, 27} = 6,16$; $p = 0,002$) i czasem doświadczenia ($F_{3, 81} = 43,68$; $p < 0,001$). Stwierdzono też interakcję między badanymi dawkami i czasem doświadczenia ($F_{9, 81} = 2,77$; $p = 0,0068$). Analiza *post hoc* testem t-Studenta wykazała znamienne różnicę statystyczną na poziomie $p < 0,01$ między wszystkimi badanymi dawkami w porównaniu z wartością kontrolną.

SR 141716 w sposób dawkozależny zmniejszał spożycie pokarmu (rys. 3). Podobna analiza wariancji dla powtarzanych pomiarów spożycia pokarmu wskazuje, że występuje różnica między badanymi grupami ($F_{3, 27} = 5,96$; $p = 0,029$) i badanym czasem ($F_{3, 81} = 215,1786$; $p = 0,000000$). Nie występuje natomiast interakcja między badanymi grupami i czasem sesji ($F_{3, 81} = 0,6846$; $p = 0,72$). Badanie testem t-Studenta wykazało znamienne różnicę statystyczną między grupą kontrolną i dawką 2,5 mg/kg w pierwszej godzinie sesji (na poziomie $p = 0,005$) i między grupą kontrolną a dawką 10,0 mg/kg we wszystkich godzinach sesji (na poziomie $p < 0,005$), a także między grupą kontrolną a dawką 5,0 mg/kg (na poziomie $p < 0,05$).

Dwuczynnikowa analiza wariancji dla powtarzanych pomiarów picia wody wykazała znamienne różnicę statystyczną między grupami (dawkami) ($F_{3, 27} = 2,945$; $p = 0,05$) i czasem sesji ($F_{3, 81} = 92,10$; $p = 0,0000$). Za pomocą testu t-Studenta



Rys. 4

Średnie (kumulacyjne) wartości picia wody \pm SEM w g/kg po podaniu jednorazowym SR 141716 w dawce 0, 2,5, 5,0, 10,0 mg/kg, * 2,5 vs 0,0, $p < 0,001$

The mean (cumulative) water intake \pm SEM in g/kg after acute treatment with SR 141716 in doses 0.0, 2.5, 5.0, 10.0 mg/kg * 2.5 vs 0.0, $p < 0.001$

wykazano znamiennej statystycznie różnicę między dawką 2,5 mg/kg SR 141716 a wartością kontrolną, natomiast dla dawki 5,0 mg/kg i 10,0 mg/kg nie stwierdzono różnicy w porównaniu z grupą kontrolną (rys. 4).

DYSKUSJA

Wyniki naszego doświadczenia wykazały, że jednorazowe podanie SR 141716, selektywnego antagonisty receptora kanabinoidowego CB1, zmniejsza wielkość picia i preferencję etanolu u fenotypowo wyselekcjonowanych szczurów linii WHP. Podobną redukcję picia pod wpływem SR 141716 uzyskał Colombo i wsp. (18) badając linię szczurów sP (sardinin Preferring). Bardzo zbliżony spadek spożycia alkoholu wykazano u myszy linii C57BL/6 (9). Nasza linia WHP (Warsaw High-Preferring) jest trzecią selekcjonowaną linią zwierząt badaną w kierunku wpływu kanabinoidów na picie alkoholu.

Antagonista receptora kanabinoidowego CB1, SR 141716, obok osłabiającego efektu na picie etanolu redukuje też spożycie pokarmu. Rezultaty przedstawionych badań wskazują, że związek ten w sposób zróżnicowany wpływa na spożycie

etanolu i pokarmu w zakresie określonych dawek. Ogólnie rzecz biorąc, działa on silniej na spożycie etanolu, wpływ na spożycie pokarmu ograniczał się bowiem do wyższych dawek (5,0 i 10,0 mg/kg), podczas gdy działanie dawki 2,5 mg/kg było prawie takie samo jak w grupie kontrolnej.

Znamienne statystycznie zmniejszenie picia alkoholu po podaniu dawki 2,5 mg/kg, przy braku wpływu na spożycie pokarmu, świadczy o pewnej ograniczonej selektywności działania SR 141617.

Po podaniu antagonisty CB1 w dawce 2,5 mg/kg wzrastało picie wody w ciągu całej sesji w porównaniu do grupy kontrolnej. Podobny wzrost picia wody po tej dawce wykazali w swoich badaniach Colombo i wsp. (18), jednakże wzrost ten był obserwowany tylko pod koniec czterogodzinnej sesji.

Układ kanabinoidowy nie tylko jest odpowiedzialny za efekty działania marihuany, ale może być również częściowo odpowiedzialny za nagradzające działanie etanolu. Behawioralnym modelem służącym do pomiaru nagradzających właściwości leków jest warunkowa preferencja miejsca (CPP – *conditioned place preference*). W tym teście nagradzające właściwości substancji są kojarzone ze szczególnym elementem otoczenia. W wyniku warunkowania zwierzęta znacznie więcej czasu spędzają w określonym środowisku skojarzonym z lekiem. Selektywny antagonistą receptora CB1, SR 141716, hamuje warunkową preferencję miejsca po morfinie, kokainie (19). W przeciwieństwie do myszy dzikich, nie obserwowano w skojarzeniu z alkoholem warunkowej preferencji miejsca u myszy pozbawionych receptora CB1 (myszy *knockout*) (20, 21).

Współdziałanie układu kanabinoidowego w działaniach nikotyny wykazano również w teście CPP, w którym dawki podprogowe THC i nikotyny nasilały nagradzający efekt nikotyny (22). W procedurze dożylnego samopodawania SR 141716, antagonistą receptorów CB1 znacząco zmniejszyła liczbę infuzji nikotyny (23).

U szczurów preferujących alkohol motywacją do picia jest dążenie do poszukiwania i doznawania specyficznych efektów nagradzających. Zachowanie to utrzymuje się do momentu konsumpcji i zaspokojenia popędu picia (18). SR 141716 całkowicie hamuje właściwości motywacyjne alkoholu, mierzone ekstynkcją alkoholu w reakcji instrumentalnej (24), w której dźwignia służy do pozyskania alkoholu. Do oceny ekstynkcji szczury są trenowane w naciskaniu dźwigni w celu pozyskania alkoholu dostępnego za każdym naciśnięciem, a następnie alkohol jest odstawiany. Ekstynkcję, jako indeks właściwości motywacyjnych alkoholu, mierzy się maksymalną liczbą naciśnięć na dźwignię w okresie odstawienia alkoholu.

W warunkach ograniczonego dostępu (*limited access*), jakie zastosowano w naszym badaniu, szczury preferujące etanol dążą do maksymalnego spożycia alkoholu w każdym epizodzie picia. Obserwowana redukcja picia etanolu po podaniu SR 141716 może wynikać z osłabienia jego nagradzających właściwości i hamowania popędu apetytywnego, związanego z działaniem tego środka uzależniającego.

Odkrycie specyficznych receptorów kanabinoidowych i istnienia naturalnych substancji endogennych w układzie nerwowym ssaków było wielce pomocne w zrozumieniu neurobiologicznych uwarunkowań nadużywania alkoholu. W przewlekłym działaniu alkoholu stwierdzono „downregulację” receptorów CB1. Zmniej-

szona regulacja receptorów CB1 jest rezultatem ich ustawicznej stymulacji przez anandamid i 2-arachidonylglycerol, endogennych agonistów receptorów CB1, których synteza wzrasta przy przewlekłym picu alkoholu (25). Zarówno u myszy *knockout*, jak i myszy DBA/2, ze znacznie zredukowaną liczbą receptorów CB1, obserwuje się zmniejszenie picia alkoholu (20, 26).

W podsumowaniu wyników tego doświadczenia można stwierdzić, że podanie SR 141716, selektywnego antagonisty receptora kanabinoidowego CB1, zmniejsza picie alkoholu u wyselekcjonowanej linii szczurów WHP, wpływa także hamująco na spożycie pokarmu. Działanie tego związku może więc być, przynajmniej w pewnym stopniu, związane z hamowaniem popędu łaknienia.

Rezultaty obecnych badań, jak też wyniki prac innych autorów przytoczonych powyżej, sugerują udział receptorów CB1 we wzmacniających właściwościach etanolu – zarówno u szczurów linii WHP, jak i szczurów innych szczepów.

Badania koncentrujące się na układzie kanabinoidowym dają nadzieję na pojawienie się leków skutecznych w leczeniu uzależnienia od alkoholu. Jak się wydaje preparat SR 141716 wpływa hamująco nie tylko na działanie nagradzające alkoholu, lecz również na nagradzające działanie nikotyny. Wykazano to w badaniach nad instrumentalnym samopodawaniem tego alkaloidu. Obecnie SR 141716 znajduje się w badaniach klinicznych jako lek wskazany w uzależnieniu od nikotyny (22). Ze względu na jego wpływ na łaknienie prowadzone są próby nad jego skutecznością w leczeniu otyłości (27).

PIŚMIENICTWO

1. Mechoulam R, Parker L (2003) Cannabis and alcohol – a close friendship. *Trends in Pharmacological Science*, 24, 6, 266–268.
2. Nocerino E, Amato M, Izzo AA (2000) Cannabis and cannabinoid receptors. *Fitoterapia*, 71, S6–S12.
3. Devane WA, Dymarz FA, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC (1988) Determination and characterization of cannabinoid receptor in rat brain. *Molecular Pharmacology*, 34, 605–613.
4. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M (1993) Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*, 365, 61–65.
5. Gong JP, Onaivi ES, Ishiguro H, Liu QR, Tagliaferro PA, Brusco A, Uhl GR (2006) Cannabinoid CB2 receptors: Immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Research*, 1071, 10–23.
6. Ashton JC, Friberg D, Darlington CL, Smith PF (2006) Expression of the cannabinoid CB2 receptor in the rat cerebellum: An immunohistochemical study. *Neuroscience Letters*, 396, 113–116.
7. Colombo G, Serra S, Brunetti G, Gomez R, Mellis S, Vacca G, Carai MAM, Gessa GL (2002) Stimulation of voluntary ethanol intake by cannabinoid receptor agonists in ethanol-preferring sP rats. *Psychopharmacology*, 159, 181–187.
8. Hungund BL, Szakall I, Adam A, Basavarajappa BS, Vadasz C (2003) Cannabinoid CB1 receptor knockout mice exhibit markedly reduced voluntary alcohol consumption and lack alcohol-induced dopamine release in the nucleus accumbens. *Journal of Neurochemistry*, 84, 698–704.
9. Arnone M, Maruani J, Chaperon F, Thiebot ME, Poncelet M, Soubrie P, Le Fur G (1997) Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR 141716, an antagonist of central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology*, 132, 104–106.
10. Colombo G, Serra S, Vacca G, Carai MAM, Gessa GL (2005) Endocannabinoid system and alcohol addiction. *Pharmacological Studies of Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 81, 369–380.

11. Deutsch DG, Chin SA (1993) Enzymatic synthesis and degradation of anandamide, a cannabinoid receptor agonist. *Biochemical Pharmacology* 1, 46, 5, 791–796.
12. Abadji V, Lin S, Taha, Griffin G, Stevenson LA, Pertwee RG, Makriyannis A (1994) (R)-methanandamide: a chiral novel anandamide possessing higher potency and metabolic stability. *Journal of Medical Chemistry*, June 10, 37 (12), 1889–1893.
13. Mechoulam R, Fride E, Di Marzo V (1998) Endocannabinoids. *European Journal of Pharmacology*, 16, 359 (1), 1–18.
14. Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R (1992) Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*, 258, 1946–1949.
15. Hillard CJ (2000) Biochemistry and pharmacology of the endocannabinoids arachidonyl ethanolamide and 2-arachidonylglycerol. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 61, 3–18.
16. Dyr W, Kostowski W (2000) Animal model of ethanol abuse: Rats selectively bred for high and low voluntary alcohol intake. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 57, 90–92.
17. Dyr W, Kostowski W (2003) Behavioural correlates of ethanol intake in WHP and WLP rats. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 63, 246.
18. Colombo G, Agabio R, Fa M, Guano L, Lobina C, Loche A, Reali R, Gessa GL (1998) Reduction of voluntary ethanol intake in ethanol-preferring sP rats by the cannabinoid antagonist SR-141716. *Alcohol and Alcoholism*, 33, 2, 126–130.
19. Chaperon F, Soubrie P, Puech AJ, Thiebot MH (1998) Involvement of central cannabinoid (CB₁) receptors in the establishment of place conditioning in rats. *Psychopharmacology*, 135, 324–332.
20. Thanos PK, Dimitrakakis ES, Rice O, Gifford A, Volkow ND (2005) Ethanol self-administration and ethanol conditioned place preference are reduced in mice lacking cannabinoid CB-1 receptors. *Behavioural Brain Research*, 164, 206–213.
21. Houchi H, Babovic D, Pierrefiche O, Ledent C, Daoust M, Naassila M (2005) CB₁ receptor knockout mice display reduced ethanol-induced conditioned place preference and increased striatal dopamine D2 receptors. *Neuropsychopharmacology*, 30, 339–349.
22. Castane A, Berrendero F, Maldonado R (2005) The role of the cannabinoid system in nicotine addiction. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 81, 381–386.
23. Cohen C, Perrault G, Voltz C, Steinberg R, Soubrie P (2002) SR 141716, a central cannabinoid (CB₁) receptor antagonist, blocks the motivational and dopamine-releasing effects of nicotine in rats. *Behavioral Pharmacology*, 13, 451–463.
24. Colombo G, Vacca G, Serra S, Carai MAM, Gessa GL (2004) Suppressing effect of the cannabinoid CB₁ receptor antagonist, SR 141716, on alcohol's motivational properties in alcohol-preferring rats. *European Journal of Pharmacology*, 498, 119–123.
25. Hungund BL, Basavarajappa BS (2004) Role of endocannabinoids and cannabinoid receptors in alcohol-related behaviours. *Annals of New York Academy of Science*, Oct; 1025, 515–527.
26. Naassila M, Pierrefiche O, Ledent C, Daoust M (2004) Decreased alcohol self-administration and increased alcohol sensitivity and withdrawal in CB₁ receptor knockout mice. *Neuropharmacology*, 46, 243–253.
27. Carai MAM, Colombo G, Gessa GL (2005) Rimonabant: The first therapeutically relevant cannabinoid antagonist. *Life Sciences*, 77, 2339–2350.

Adres do korespondencji

Wanda Dyr

Zakład Farmakologii i Fizjologii Układu Nerwowego

Instytut Psychiatrii i Neurologii

ul. Sobieskiego 9, 02-957 Warszawa

tel. (4822) 4582 728

e-mail: wdyr@ipin.edu.pl

otrzymano 5.01.07 r.

przyjęto do druku 26.02.08 r.