



RESUMEN FINAL PROYECTO INVESTIGACIÓN

EXPEDIENTE: 2019I025

TÍTULO DEL PROYECTO: Efecto de la inhibición of kinurenina monooxigenasa, mediante Ro 61-8048, en el desarrollo de comportamientos adictivos inducidos por fentanilo. Relevancia en un modelo de dolor neuropático.

INVESTIGADOR PRINCIPAL: María Isabel Colado Megía

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

María Esther O'Shea Gaya

María Dolores Gutiérrez López

Rebeca Vidal Casado

Nuria Morales Puerto

Leticia Gil de Biedma Elduayen

Carlos Núñez de la Calle

ENTIDAD BENEFICIARIA Y CENTRO DE INVESTIGACIÓN:

Universidad Complutense de Madrid

Facultad de Medicina, Departamento de Farmacología y Toxicología

RESUMEN (1) (2):

Opioides como el fentanilo son analgésicos muy eficaces utilizados en la terapéutica del dolor. Su consumo, al margen de su uso terapéutico, ha aumentado en los últimos años, lo cual es motivo de preocupación para las autoridades sanitarias convirtiéndose en un tema prioritario de salud pública. El objetivo de este proyecto ha sido estudiar la utilidad de Ro 61-8048, un inhibidor de la kinurenina monooxigenasa (KMO), para prevenir el consumo y el comportamiento de búsqueda de fentanilo mediante la utilización de un paradigma de autoadministración intravenosa en ratas. Teniendo en cuenta que el dolor altera los sustratos neuronales que modulan la conducta de búsqueda de droga, incluida la vía de recompensa, hemos evaluado el efecto de Ro 61-8048 sobre la adquisición de autoadministración de fentanilo en un modelo de dolor crónico neuropático en ratas Long-Evans. Tras la implantación de catéteres en la vena yugular externa, se ha realizado el procedimiento de autoadministración de fentanilo en cámaras de condicionamiento operante y se han estudiado los procesos de adquisición, mantenimiento, extinción y reinstauración del consumo voluntario de fentanilo, así como la implicación de la vía de la kinurenina en las diferentes etapas de la adicción mediante el tratamiento con Ro 61-8048. Un grupo de ratas se ha sometido a la lesión del nervio ciático (*spared nerve injury*) para estudiar el efecto antinociceptivo del fentanilo y la implicación de la vía de la kinurenina.

Los resultados muestran las propiedades de refuerzo del fentanilo ya que tras varias semanas de autoadministración se establecen sólidamente tanto la fase de adquisición como de mantenimiento del fármaco. La administración de Ro 61-8048 (100 mg/kg) disminuye el número de infusiones, tanto en los animales en fase de adquisición como en la de mantenimiento. Este efecto no parece estar



mediado por los receptores nicotínicos $\alpha 7$, sin embargo, se potencia tras la activación de los receptores glutamatérgicos NMDA por un modulador positivo. Por otro lado, tras someter a los animales a un protocolo de razón progresiva, Ro 61-8048 no afectó a la motivación para continuar esforzándose en obtener la droga. Además, este compuesto también disminuyó el comportamiento de búsqueda de fentanilo en la fase de extinción y evitó la reinstauración cuando los animales fueron sometidos de nuevo a una dosis de fentanilo. Ro 61-8048 no alteró las propiedades antinociceptivas observadas tras el tratamiento con fentanilo en el test de la placa caliente. La administración de Ro 61-8048 disminuyó el consumo de fentanilo durante la fase de mantenimiento, incluso en presencia de dolor neuropático, sin observarse efectos sobre la alodinia.

Los resultados obtenidos sugieren que el inhibidor de la KMO, Ro 61-8048, podría ser una herramienta farmacológica potencialmente útil para tratar la adicción a opioides, ya que disminuye el consumo de fentanilo así como el comportamiento de búsqueda de la droga en las diferentes fases del proceso de adicción, incluso en presencia de dolor neuropático. Ro 61-8048 podría contribuir a disminuir los problemas asociados con el tratamiento a largo plazo de dosis elevadas de opioides utilizados bajo prescripción médica.

ABSTRACT (English):

Opioids such as fentanyl are very effective analgesics used in pain therapy. Its consumption, apart from its therapeutic use, has increased in recent years, which is a matter of concern for health authorities, becoming a priority public health issue.

The aim of this project was to study the utility of Ro 61-8048, a kynurenine monooxygenase (KMO) inhibitor, in preventing fentanyl consumption and seeking behavior using an intravenous self-administration paradigm in rats. Considering that pain alters neural substrates that modulate drug-seeking behaviour, including the reward pathway, we have evaluated the effect of Ro 61-8048 on the acquisition of fentanyl self-administration in a rat model of chronic neuropathic pain. After the implantation of catheters in the external jugular vein, the fentanyl self-administration procedure has been carried out in operant conditioning chambers and the processes of acquisition, maintenance, extinction and reinstatement of voluntary consumption of fentanyl have been studied, as well as the involvement of the kynurenine pathway at different stages of fentanyl addiction by Ro 61-8048 treatment. A group of rats has been subjected to sciatic nerve injury (spared nerve injury) to study the antinociceptive effect of fentanyl and the involvement of the kynurenine pathway.

The results show the reinforcing properties of fentanyl as after several weeks of self-administration both the acquisition and maintenance phase of the drug are solidly established. The administration of Ro 61-8048 (100 mg/kg) decreases the number of infusions, both in the animals in the acquisition phase and in the maintenance phase. This effect does not appear to be mediated by $\alpha 7$ nicotinic receptors, however, it is potentiated after activation of NMDA glutamatergic receptors by a positive modulator. On the other hand, after exposing the animals to a progressive ratio protocol, Ro 61-8048 did not affect the motivation to continue striving to obtain the drug. In addition, this compound also decreased fentanyl-seeking behavior in the extinction phase and prevented reinstatement when animals were dosed with fentanyl again. Ro 61-8048 did not alter the antinociceptive properties observed after fentanyl treatment in the hot plate test. The administration of Ro 61-8048 decreased the consumption of fentanyl during the maintenance phase, even in the presence of neuropathic pain, without observing effects on allodynia.

The results obtained suggest that the KMO inhibitor, Ro 61-8048, could be a potentially useful pharmacological tool to treat opioid addiction, since it decreases fentanyl consumption as well as drug-seeking behavior in different phases of the addiction process, even in the presence of neuropathic pain. Ro 61-8048 could contribute to reducing the problems associated with the long-term treatment of high doses of opioids used under medical prescription.

PALABRAS CLAVE (3):

Fentanilo, Dependencia a opioides, Kinurenina, Ro 61-8048, dolor crónico



KEY WORDS (English):

Fentanyl, Opioid dependence, Kinurenine, Ro 61-8048, Chronic pain

JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO Y OBJETIVOS:

Recientemente, se ha identificado a la vía de kinurenina como una diana novedosa para modular el abuso de las drogas, su búsqueda y la recaída en su consumo (Justinova et al., 2013; Vengeliene et al., 2016; Gimenez-Gomez et al., 2018).

Nuestra hipótesis postula que la vía de kinurenina constituye una diana para el tratamiento de la adicción a opioides. Un incremento en la concentración cerebral de kinurenina inducida por Ro 61-8048 reduce el efecto de recompensa y la reinstauración de la búsqueda de droga inducida por fentanilo en ratas sometidas a un paradigma de autoadministración operante. Debido a que la presencia de dolor altera los sustratos neuronales que modulan la conducta de búsqueda de droga, incluida la vía de recompensa, reduciendo la liberación de dopamina en el núcleo accumbens, la respuesta a Ro 61-8048 será diferente en animales sometidos a un modelo de dolor crónico neuropático. Además, teniendo en cuenta que la kinurenina tiene efectos antinociceptivos en modelos de dolor agudo y crónico, la administración de Ro 61-8048 en animales sometidos a dolor incrementa la analgesia producida por fentanilo y reduce, por tanto, la autoadministración de la droga.

Esta hipótesis está avalada por los siguientes resultados previos de nuestro grupo y de otros laboratorios:

- La inhibición de KMO por Ro 61-8048 reduce el consumo voluntario de y preferencia por EtOH en animales sometidos a los modelos de “*drinking in the dark*” (DID) y “elección de dos pipetas”, respectivamente, efecto que es parcialmente prevenido por PNU-120596, un modulador alostérico positivo de los $\alpha 7$ AChR. La reducción en el consumo de EtOH parece ser consecuencia del incremento en la concentración de kinurenina ya que la administración sistémica de kinurenina (100 mg/kg, i.p.) disminuye de forma parecida el consumo de EtOH en “binge” en el modelo DID (Giménez-Gómez et al., 2018).
- La recaída en el consumo de EtOH durante el período de privación de EtOH es inhibida por la administración repetida de Ro 61-8048 por vía intraperitoneal y atenuada significativamente por la administración oral del profármaco JM6. La reinstauración del comportamiento de búsqueda mediada por señales contingentes tanto de EtOH como de cocaína también fue inhibida por la administración de Ro 61-8048 (Vengeliene et al., 2016).
- El ácido kinurénico es un mediador de los efectos agudos sobre la neurotransmisión dopaminérgica inducidos por d-anfetamina (Olsson et al., 2009, 2012) y delta-9-tetrahidrocannabinol (Justinova et al., 2013). En particular, reduce el efecto de refuerzo de delta-9-tetrahidrocannabinol y agonistas cannabinoides sintéticos y el comportamiento de búsqueda de la droga inducida por la re-exposición a cannabinoides (Justinova et al., 2013).

Objetivos

Objetivos generales

Estudiar la potencial utilidad de Ro 61-8048, un inhibidor de la kinurenina monooxigenasa, para prevenir y tratar los desórdenes de abuso de opioides inducidos por un paradigma de autoadministración intravenosa de fentanilo en ratas y determinar el efecto de Ro 61-8048 sobre la adquisición de autoadministración de fentanilo en un modelo de dolor crónico neuropático en rata.

Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de Ro 61-8048 sobre la autoadministración intravenosa de fentanilo bajo protocolos de refuerzo de razón fija (FR) y razón progresiva (PR). Si se observa que Ro 61-8048 reduce la auto-administración de fentanilo, se evaluará la capacidad de PNU-120596, un modulador



alostérico positivo de los $\alpha 7$ AchR, o de D-serina, un agonista del lugar de glicina del receptor NMDA, para prevenir este efecto.

2. Evaluar el efecto de Ro 61-8048 sobre la extinción y reinstauración del comportamiento de búsqueda de la droga inducido por fentanilo.
3. Evaluar el efecto de Ro 61-8048 sobre la actividad locomotora y exploradora en animales tratados con fentanilo.
4. Evaluar el efecto de Ro 61-8048 sobre el consumo de sacarosa.
5. Evaluar el efecto de Ro 61-8048 sobre la aversión de lugar condicionada producida por naloxona en ratas tratadas con fentanilo.
6. Evaluar el efecto de Ro 61-8048 sobre la respuesta antinociceptiva inducida por fentanilo.
7. Evaluar el efecto de Ro 61-8048 sobre la adquisición de la autoadministración intravenosa de fentanilo en ratas expuestas a un modelo de dolor crónico neuropático por ligadura neural por omisión.

METODOLOGÍA Y DESARROLLO DEL PROYECTO. ANALISIS ESTADÍSTICO :

Sujetos. Se han utilizado ratas macho Long-Evans (275-300 g) (Envigo, Barcelona, España). Todos los procedimientos experimentales han sido previamente aprobados por el Comité de Bienestar Animal de la Universidad Complutense de Madrid (siguiendo la Directiva de la Unión Europea, 2010/63/EU).

Compuestos químicos. Fentanilo en forma de sal de citrato (Sigma-Aldrich) disuelto en solución salina al 0,9% para la auto-administración intravenosa.

Ro 61-8048 (3,4-dimetoxi-[-N-4-(nitrofenil)tiazol-2-yl]-bencenosulfonamida, 50 o 100 mg/kg, i.p., Tocris, USA).

PNU-120596 (3 mg/kg, i.p., Tocris).

D-Serina (600 mg/kg, i.p., Sigma-Aldrich).

Cirugía. Los animales fueron anestesiados con ketamina (80 mg/kg, i.p.) y xilazina (10 mg/kg, i.p.) y sometidos a una cateterización quirúrgica de la vena yugular externa derecha implantándoles un catéter de microrenatano intravenoso (i.v.) (Braintree Scientific Inc.). Los catéteres se lavaron diariamente con una solución salina de gentamicina-heparina (0,1 mg/ml de gentamicina y 30 UI/ml de heparina; ICN Biochemicals, Cleveland, OH, EE. UU.) para prevenir la obstrucción del catéter y la infección. Se permitió la recuperación de los animales durante al menos 5 días antes de comenzar el entrenamiento conductual.

Autoadministración de fentanilo en cámara operante. La autoadministración de fentanilo se realizó en una cámara de condicionamiento operante equipada con dos palancas de respuesta y una luz de 15W (Med Associates Inc., Georgia, VT, EE. UU.). Las dos palancas (una activa y otra inactiva) estaban ubicadas a 6,4 cm del suelo de la cámara. Una luz indicadora y un altavoz se localizaron 12 cm por encima de la palanca activa (Xi y Gardner, 2007). Cada rata se entrenó diariamente en sesiones de 2 horas a presionar la palanca activa que conducirá a infusiones de fentanilo con una razón fija de refuerzo de 1 (FR-1). La respuesta en la palanca activa resultó en la iluminación de la luz indicadora, la emisión de un tono y la infusión de una solución de fentanilo de 0,08 ml durante 4,6 s. La respuesta de cada animal en la palanca inactiva, que no conllevó ninguna consecuencia, también fue registrada.

Actividad locomotora. Las pruebas de actividad locomotora se realizaron en cajas de campo abierto (L x W x H = 43 x 43 x 30 cm, Accuscan Instruments, Inc., Columbus, OH, EE. UU.). Antes de los experimentos, las ratas se habituaron a la cámara durante 2 h/día, 3 días consecutivos. En cada día de acondicionamiento, los animales fueron trasladados a la sala de prueba, aclimatados durante 10 minutos y luego colocados en las cajas asignadas. La distancia recorrida (cm) de cada animal se registró utilizando el software VersaMax versión 3.0 (Accuscan Instruments, Inc.).



Autoadministración oral de sacarosa. Los procedimientos para la autoadministración oral de sacarosa fueron idénticos a los de la autoadministración de fentanilo, exceptuando el hecho de que la administración de sacarosa se realizó por vía oral, sin necesidad de someter a los animales a ningún tipo de cirugía y que la presión de la palanca activa produjo la infusión de 0,08 ml de solución de sacarosa al 5% en el bebedero dispuesto en la pared de la cámara operante.

Condicionamiento de lugar por aversión (CPA). El CPA precipitado con naloxona se analizó en un aparato de condicionamiento de lugar por aversión (Med Associates, St Albans, VT, EE. UU.) formado por dos compartimentos (21 cm × 28 cm) y un área de conexión central gris (21 cm × 12,5 cm). Los dos compartimentos laterales difieren en el color de la pared (negro frente a blanco), en el tipo de piso (red de acero inoxidable frente a rejilla de acero inoxidable) y en la iluminación. Antes de comenzar el experimento, los animales pudieron explorar el aparato durante 15 minutos (preacondicionamiento). Las ratas que durante la sesión de preacondicionamiento mostraron un sesgo significativo, es decir, preferencia en un compartimento sobre el otro (diferencia de ≥ 200 s) fueron excluidas del estudio.

Concentración de kinurenina y ácido kinurénico en cerebro y plasma. Se determinaron por cromatografía líquida de alta resolución siguiendo el método descrito previamente por nuestro laboratorio (Giménez-Gómez et al., 2018).

Lesión del nervio ciático. La lesión del nervio ciático se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Decosterd y Woolf (2000) de ligadura neural por omisión (*spared nerve injury*; SNI). Se realizó una incisión directamente en el músculo bíceps femoral y se aisló el nervio ciático y sus 3 ramas terminales: sural, peroneo común y tibial. El nervio tibial y el peroneo común se ligaron con hilo de seda 4,0 y se cortaron (extirpando 1–4 mm). El nervio sural se dejó intacto. En ratas sham, tanto el nervio ciático como sus ramas terminales fueron expuestas, pero permanecieron intactas. La piel y el músculo suprayacentes se suturaron en capas, tanto en grupos sham como en el grupo de la lesión neuropática.

Test de filamentos de Von Frey. La alodinia mecánica se evaluó en el modelo de dolor neuropático mediante el test de filamentos de Von Frey. Todos los animales se habituaron durante 15 minutos a la plataforma de malla elevada del recinto en el que se desarrolló el test. Se aplicaron filamentos de von Frey calibrados para ratas (Stoelting, Wood Dale, IL, que oscilaron entre 3,61 [0,407 g] y 5,46 [26 g] de fuerza de flexión) en la superficie medioplantar de la pata trasera. Los animales sometidos al modelo de dolor neuropático fueron estimulados en la porción sural de la superficie plantar de la pata con una serie de monofilamentos Von Frey de fuerza ascendente. El umbral se registró como la fuerza más baja (g) que provocó una respuesta de retirada rápida a 1 de 5 estímulos repetitivos. El umbral medio de retirada de la pata del 50% (g) se calculó para cada grupo utilizando la fórmula de Dixon.

Test de placa térmica. El ensayo de nocicepción se llevó a cabo mediante el dispositivo de placa caliente (Modelo 39, IITC Life Science Inc., Woodland Hills, CA, EE. UU.). La rata se colocó dentro de una jaula transparente en la placa caliente (52 ± 0.2 ° C). Cuando aparecieron signos nociceptivos térmicos como lamer, pisotear fuerte con la pata trasera o saltar de la placa, la rata se retiró inmediatamente de la jaula. Se midieron los intervalos de tiempo desde que la rata se colocó en la placa calefactora hasta la exhibición del primer signo de nocicepción térmica. El tiempo límite para la realización de la prueba fue de 40 s para evitar daños en los tejidos.

Áreas cerebrales estudiadas. Las determinaciones de concentraciones de kinurenina y ácido kinurénico se realizaron en plasma y en núcleo accumbens. Los opioides, igual que otras drogas de abuso, aumentan la actividad de la vía de recompensa mesolímbica y el núcleo accumbens se considera una de las áreas más importantes en el desarrollo del comportamiento adictivo por



opioides.

Estadística. Los datos se expresaron como la media \pm EEM. Los datos se analizaron utilizando un ANOVA de 2-vías o un ANOVA para medidas repetidas seguido del test de comparaciones múltiples Tukey o Bonferroni (GraphPad Prism) en caso de que existieran diferencias significativas. Se consideró como estadísticamente significativo un valor de $P < 0.05$.

PRINCIPALES RESULTADOS:

1. Los animales discriminaron las palancas activa e inactiva, de tal forma que alcanzaron una respuesta de autoadministración estable alrededor de cuatro semanas después de comenzar el experimento.
2. El tratamiento con Ro 61-8048 disminuyó de forma dosis-dependiente el consumo de fentanilo en la fase de mantenimiento y en los primeros días de la fase de adquisición.
3. En un protocolo de autoadministración de fentanilo de refuerzo de razón progresiva se observó que el número de veces que los animales estaban dispuestos a presionar la palanca activa en el denominado punto de ruptura no difiere entre animales control y tratados con Ro 61-8048, lo cual indica que el Ro 61-8048 no afecta a la motivación para continuar esforzándose en obtener la droga, dado el alto número de respuestas exigidas.
4. Ro 61-8048 aumenta los niveles plasmáticos y cerebrales de kinurenina.
5. El efecto de Ro 61-8048 sobre el consumo de fentanilo no parece estar mediado por los receptores $\alpha 7$ nicotínicos. Sin embargo, los animales que además de Ro 61-8048, fueron tratados con D-serina consumieron menos fentanilo que aquellos que sólo fueron inyectados con el inhibidor de la KMO, indicando que la D-Serina podría estar potenciando el efecto del compuesto sobre el consumo de fentanilo.
6. En la fase de extinción los animales tratados con Ro 61-8048 son mucho menos activos en la búsqueda de infusiones de fentanilo.
7. El tratamiento con Ro 61-8048 previene la reinstauración del comportamiento de búsqueda del fentanilo cuando este es inducido mediante la exposición a la droga y mediante la exposición a estímulos condicionados.
8. Ro 61-8048 disminuye significativamente el consumo de sacarosa, indicando una posible similitud en el mecanismo de acción implicado en la adicción a fentanilo y sacarosa.
9. El tratamiento con Ro 61-8048 no altera la aversión de lugar provocada por naloxona en los animales tratados con fentanilo, sugiriendo que la vía de la kinurenina no tiene un papel relevante en la aversión precipitada por naloxona tras el tratamiento con opioides.
10. Ro 61-8048 no modifica el efecto antinociceptivo inducido por fentanilo sugiriendo que la vía de la kinurenina no parece estar implicada en la respuesta al dolor inducida por fentanilo en el test de la placa caliente.
11. El tratamiento con Ro 61-8048 disminuye el consumo de fentanilo durante la fase de mantenimiento, incluso en presencia de dolor neuropático y previene la reinstauración del comportamiento de búsqueda de la droga.
12. La lesión del nervio ciático es capaz de instaurar, en la pata ipsilateral a la lesión, un dolor que se mantiene durante, al menos, la duración del experimento. No se observó dolor en la pata contralateral ni en ninguna de las patas de las ratas sham. Aunque la relación entre la vía de la kinurenina y el dolor está bien documentada en la bibliografía, no obtuvimos resultados significativos que confirmen un efecto analgésico del Ro 61-8048. Esto puede deberse al método utilizado para medir la alodinia, que resultó generar bastante variabilidad.

DISCUSIÓN:

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran, por primera vez, que la inhibición de la KMO mediante el empleo de Ro 61-8048 y, por tanto, el incremento de kinurenina, es una estrategia eficaz para tratar las diferentes fases de la conducta adictiva inducida por fentanilo en ratas. El



pretratamiento con el inhibidor de la KMO dificultó la adquisición, redujo el consumo en la etapa de mantenimiento, facilitó la extinción y previno la reinstauración de la conducta adictiva tanto cuando ésta fue inducida por una nueva exposición al fentanilo o por exposición a los estímulos asociados a dicha conducta. Esta disminución en las propiedades de refuerzo del fentanilo, también se observó en animales sometidos a un modelo de dolor crónico, más concretamente dolor neuropático, sin observarse alteraciones en la alodinia inducida.

Estudios previos han puesto de manifiesto el papel de la vía de la kinurenina en el consumo agudo y crónico de drogas de abuso incluyendo etanol, cocaína, THC o nicotina (revisado en Morales-Puerto et al., 2022), sin embargo, este es el primer estudio hasta la fecha en el que se demuestra su relación con la dependencia de fentanilo. Entre los mecanismos de acción propuestos que tratan de explicar cómo la inhibición de KMO disminuye el consumo de dichas drogas de abuso, se ha planteado que el ácido kinurénico (un metabolito de la kinurenina) actúa antagonizando los receptores $\alpha 7$ nicotínicos, los cuáles a su vez modulan indirectamente la liberación de dopamina en el núcleo accumbens (revisado en Morales-Puerto et al., 2022), un área clave en el circuito de recompensa a drogas de abuso. Sin embargo, nuestros resultados indican que el efecto de Ro 61-8048 sobre el consumo de fentanilo no parece estar mediado por estos receptores $\alpha 7$ nicotínicos, sino que son los receptores de glutamato NMDA los que juegan un papel más importante ya que la D-serina parece estar potenciando el efecto de Ro 61-8048 sobre el consumo de fentanilo. Así mismo, el Ro 61-8048 disminuye el consumo de sacarosa, indicando una posible similitud en el mecanismo de acción implicado en la adicción a fentanilo y sacarosa.

En conjunto, estos hallazgos muestran por primera vez que la manipulación de la vía de la kinurenina mediante Ro 61-8048 es una estrategia eficaz para tratar en diferentes fases, la conducta adictiva inducida por fentanilo tanto en ratas naïve como en ratas sometidas a un modelo de dolor crónico. Así, se propone a Ro 61-8048 como un agente innovador y prometedor en el manejo clínico de la dependencia a opioides.

APLICABILIDAD E IMPACTO SOCIO-SANITARIO DEL PROYECTO:

El fentanilo se prescribe muy a menudo en el tratamiento del dolor no oncológico. Por su elevada liposolubilidad está disponible para su administración por prácticamente cualquier vía de administración: intravenosa, oral, sublingual, transdérmica, intranasal, intratecal, epidural etc. Países como Estados Unidos han triplicado el número de recetas de opioides para tratar el dolor crónico provocando un incremento paralelo del abuso de opioides. Como consecuencia, miles de pacientes han desarrollado una dependencia de los opioides muy compleja llegando a convertirse en un verdadero problema de salud pública. Otros países desarrollados han presentado una tendencia similar, aunque menos significativa. En España, factores como el envejecimiento, el incremento del arsenal terapéutico o una mayor información y formación por parte de los profesionales sanitarios también ha conducido a un incremento de la prescripción de opioides, sin alcanzar en este caso cifras alarmantes.

Cuando la dependencia de los opioides se vuelve compleja y difícil de eliminar, se asemeja a la adicción, de tal forma que necesita un tratamiento similar. Este tratamiento se ve adicionalmente dificultado por la coexistencia del dolor. En este sentido, el presente proyecto ha tratado de caracterizar el efecto de un compuesto modulador de la vía kinurenina en la autoadministración operante de fentanilo en animales con y sin dolor crónico. Las propiedades de refuerzo de fentanilo se han estudiado durante décadas en primates no humanos, rata y ratón. Sin embargo, no existen estudios evaluando el desarrollo de comportamientos adictivos inducidos por la administración de fentanilo en roedores sometidos a un modelo de dolor crónico neuropático. Por tanto, los resultados de este proyecto resultarán útiles para identificar estrategias novedosas dirigidas a minimizar el desarrollo de comportamientos adictivos inducido por fentanilo en presencia y ausencia de dolor crónico neuropático y, por lo tanto, disminuir los problemas asociados con el tratamiento a largo plazo de altas dosis de opioides utilizados bajo prescripción médica.



SÍNTESIS DE LOS ASPECTOS MÁS RELEVANTES QUE APORTA EL ESTUDIO:

La inhibición de la kinurenina monooxigenasa mediante la administración de Ro 61-8048 podría ser una estrategia eficaz para reducir la dependencia inducida por la administración a largo plazo de dosis elevadas de fentanilo utilizado bajo prescripción facultativa.

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

PUBLICACIONES CIENTÍFICAS GENERADAS (4) (SI NO LO HA HECHO, LE ROGAMOS ENVÍE JUNTO CON ESTA FICHA COPIA DE CADA UNO DE LOS TRABAJOS PUBLICADOS)

En preparación

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

En este momento, y a falta de completar resultados muy concretos, se está procediendo a la preparación del primer manuscrito resultante de este proyecto.

Así mismo, parte de los resultados obtenidos se han presentado en diversos congresos y reuniones científicas, destacando la "5ª Jornada PhDay Complutense", congreso organizado por la Universidad Complutense de Madrid, habiendo recibido el 2º premio a la mejor comunicación oral y II Reunión Científica de la IUIN (Instituto Universitario de Investigación Neuroquímica), recibiendo el 1º premio a la mejor comunicación oral.

Adicionalmente, dichos resultados se han presentado en el IX Laboratorio de Ideas para Jóvenes Investigadores Cibersam (Vitoria, 2022), The FENS Forum of Neuroscience 2022 (París), la XIX International School of Pharmacology Teófilo Hernando, Advanced therapies for human disease (organizada por la UIMP, 2022) y la I Jornada de Investigadores Junior del Instituto de Investigación i+12 (Hospital 12 de Octubre, 2023).

PATENTES Y MODELOS DE UTILIDAD (en su caso) :

BIBLIOGRAFÍA (4):

Decosterd I, Woolf CJ. Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain*, 2000; 87(2): 149-58.

Giménez-Gómez P, Pérez-Hernández M, Gutiérrez-López MD, Vidal R, Abuin-Martínez C, O'Shea E, Colado MI. Increasing kynurenine brain levels reduces ethanol consumption in mice by inhibiting dopamine release in nucleus accumbens. *Neuropharmacology*, 2018; 135:581-591.

Justinova Z, Mascia P, Wu HQ, Secci ME, Redhi GH, Panlilio LV, Scherma M, Barnes C, Parashos A, Zara T, Fratta W, Solinas M, Pistis M, Bergman J, Kangas BD, Ferré S, Tanda G, Schwarcz R, Goldberg SR. Reducing cannabinoid abuse and preventing relapse by enhancing endogenous brain levels of kynurenic acid. *Nat Neurosci*. 2013; 16(11): 1652-61.

Morales-Puerto N, Giménez-Gómez P, Pérez-Hernández M, Abuin-Martínez C, Gil de Biedma-Elduayen L, Vidal R, Gutiérrez-López MD, O'Shea E, Colado MI. Addiction and kynurenine pathway: A new dancing couple? *Pharmacol. Ther.* 2021; Jul;223:107807.

Olsson SK, Andersson AS, Linderholm KR, Holtze M, Nilsson-Todd LK, Schwieler L, Olsson E, Larsson K, Engberg G, Erhardt S. Elevated levels of kynurenic acid change the dopaminergic response to



amphetamine: implications for schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol.*, 2009; 12(4):501-12.

Olsson SK, Larsson MK, Erhardt S. Subchronic elevation of brain kynurenic acid augments amphetamine-induced locomotor response in mice. *J Neural Transm (Vienna)*, 2012; 119(2):155-63.

Vengeliene V, Cannella N, Takahashi T, Spanagel R. Metabolic shift of the kynurenine pathway impairs alcohol and cocaine seeking and relapse. *Psychopharmacology*, 2016; 233(18): 3449-59.

Xi ZX, Gardner EL. Pharmacological actions of NGB 2904, a selective dopamine D3 receptor antagonist, in animal models of drug addiction. *CNS Drug Rev.*, 2007; 13(2):240-59.

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

AGRADECIMIENTOS:

Los autores agradecen al Centro de Asistencia a la Investigación (CAI) Animalario, Universidad Complutense de Madrid (UCM) el cuidado y mantenimiento de las ratas utilizadas en este proyecto y al grupo liderado por el Prof. Dr. Javier Fernández-Ruiz por la cesión del equipo Actitrack utilizado en la determinación de la actividad motora.

Agradecemos al PNSD la financiación que nos ha proporcionado (2019I025) y a las Redes del Instituto de Salud Carlos III: Red de Trastornos Adictivos (RTA, RD16/0017/0021) y Red de Investigación en Atención Primaria de Adicciones (RIAPAd, RD21/0009/0027), a las que nuestro grupo pertenece.

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

colado@ucm.es

estheros@ucm.es

mdgutier@ucm.es

NOTAS:

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

(2): Máximo 500 palabras.

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

(4) Se recomienda seguir los Requisitos de Uniformidad del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas conforme a las normas de la US National Library of Medicine (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7250/>)