

Université de Sherbrooke

Avril 2010

**EFFET DU CESAMET® (NABILONE) SUR LA PERCEPTION
DE LA DOULEUR ET LES RÉPONSES
ÉLECTROPHYSIOLOGIQUES**

par

William John Redmond

Programme de physiologie

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé
en vue de l'obtention du grade de
maître ès sciences (M.Sc.) en physiologie

Jury de Mémoire :

M. le Dr. Serge Marchand, Département de chirurgie; Directeur de recherche

M. le Dr. Philippe Sarret, Département de physiologie et biophysique; Évaluateur interne

M. le Dr. Pierre Beaulieu, Département d'anesthésiologie UdeM; Évaluateur externe



Library and Archives
Canada

Published Heritage
Branch

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Direction du
Patrimoine de l'édition

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file *Votre référence*
ISBN: 978-0-494-70799-9
Our file *Notre référence*
ISBN: 978-0-494-70799-9

NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.


Canada

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES	II
LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX	IV, VI
LISTE DES ABRÉVIATIONS	VII
PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS DÉCOULANT DU PROJET	IX
RÉSUMÉ	XI
1. INTRODUCTION	1
1.1 Bref historique	1
1.2 Utilisation médecine	2
1.3 Cannabinoïdes	3
1.3.1 THC et autres exogènes	4
1.3.2 Cannabidiol	5
1.3.3 Cannabinoïdes synthétiques	6
1.3.3.1 Nabilone	7
1.3.4 Endocannabinoïdes principaux	8
1.3.4.1 Synthèse et dégradation	9
1.4 Récepteurs	12
1.4.1 Récepteur CB1	13
1.4.1.1 CB1 au niveau du cerveau	14
1.4.2 Récepteur CB 2	16
1.5 Analgésie cannabinergerique chez l'animal	17
1.5.1 Analgésie par CB1	17
1.5.2 Analgésie par CB2	19
1.5.3 Analgésie et cellules gliales	20
1.5.4 Analgésie et cannabinoïdes endogènes	21
1.5.5 L'effet du CB1 gene disruption sur la nociception	22
1.5.6 Analgésie par blocage de la dégradation	23
1.6 Analgésie cannabinergerique chez l'humain lors de douleurs expérimentales	24
1.7 Analgésie cannabinergerique chez l'humain lors de test cliniques	26
1.8 Interactions opiacés + cannabinoïdes	28
1.8.1 Interactions opiacés + cannabinoïdes sur CB1	29
1.8.2 Interactions opiacés + cannabinoïdes sur CB2	31
1.8.3 Interactions opiacés + cannabinoïdes chez l'humain	32
1.9 Action des cannabinoïdes sur les TRPV1 et lien douleur	33
1.10 Action des cannabinoïdes sur le glutamate et récepteurs NMDA et lien douleur	35
1.11 Mécanismes endogènes de contrôle de la douleur	36
1.11.1 Effet des cannabinoïdes sur les mécanismes de contrôle de la douleur	40
1.11.2 Effet des cannabinoïdes sur l'analgésie reliée au stress	41
1.11.3 Effet des cannabinoïdes sur les mécanismes de contrôle de la douleur chez l'humain	42
1.12 Rôle des hormones sexuelles dans la douleur en lien avec les cannabinoïdes	42
2. OBJECTIF DE MAÎTRISE	44
3. AVANT PROPOS	45
4. RÉSUMÉ DE L'ARTICLE	46
5. ARTICLE	48
6. MATÉRIELS ET MÉTHODES SUPPLÉMENTAIRES	68

7. DISCUSSION ET PERSPECTIVES	73
8. CONCLUSION	84
9. REMERCIEMENTS	85
10. RÉFÉRENCES	86

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION

Figure 1. Structure moléculaire de différents phytocannabinoïdes dont le THC, principal phytocannabinoïde étudié.

Figure 2. Structure moléculaire de différents cannabinoïdes synthétiques.

Figure 3. Structure moléculaire de deux des principaux endocannabinoïdes.

Figure 4. Synthèse du 2-AG.

Figure 5. Synthèse de l'anandamide.

Figure 6. Dégradation de l'anandamide et du 2-AG.

Figure 7. Interaction entre neurones pré et post-synaptiques, microglie et astrocyte lors de la relâche d'endocannabinoïdes.

Figure 8. Le récepteur TRPV1.

Figure 9. Mécanisme inhibiteur descendant : contrôles inhibiteurs diffus nociceptifs (CIDN).

Figure 10. Implication de la surface exposée et force du CIDN chez des sujets sains et fibromyalgiques.

ARTICLE

Figure 1. Example of the response curve acquired during the tonic heat pulse test. The vertical bar represents the time point when the thermode reaches its fixed temperature. Temporal summation characterizes the rise in pain intensity obtained during the last 90 sec of testing. Increasing intensity values during this time can be distinguished from the rise in pain intensity observed at the beginning of testing. This latter rise occurs during (and shortly after) the gradual increase in thermode temperature, and so, it can less confidently be attributed to temporal summation (a phenomenon dependent on the summation of pain through time, not temperature).

Figure 2. A significant reduction in mean pain intensity was obtained for the placebo condition but not for the nabilone 0.5mg and 1mg conditions.

* significant at $P=.004$

Figure 3. The immersion procedure produced a significant reduction in mean pain intensity for all three conditions (placebo, 0.5mg, and 1mg).

* significant at $P<0.001$

Figure 4. Pain intensity ratings obtained during the last 90 sec of the tonic heat pulse test are shown. Following a 1mg dose of nabilone (dashed-line), temporal summation was significantly reduced for women but not men.

DISCUSSION

Figure 5. Réponse RIII vu par électromyogramme pour les hommes (n=10) et les femmes (n=10) pré et post-administration de la dose de 1 mg de nabilone suite à des stimulations du nerf sural.

Figure 6. Potentiels évoqués vus par électroencéphalogramme pré et post-administration d'une dose de 1 mg de nabilone pour les hommes (n=10) et les femmes (n=10).

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION

Tableau 1. Localisation des deux principaux récepteurs aux cannabinoïdes : CB1 et CB2. Tiré de (Burns and Ineck, 2006).

Tableau 2. Aspects analgésiques reconnus des cannabinoïdes avec agonistes spécifiques CB1, CB2, avec knock-out de l'enzyme de dégradation FAAH et utilisation d'inhibiteurs de FAAH. Tiré de (Cravatt and Lichtman, 2004).

ARTICLE

Table 1. Incidence of side effects.

LISTES DES ABRÉVIATIONS

EMG	Électromyogramme
EEG	Électroencéphalogramme
ECG	Électrocardiogramme
CIDN	Contrôle inhibiteur diffuse nociceptif
THC	Delta-9-tetrahydrocannabinol
FDA	Federal Drug Administration
CB1	Type 1 des récepteurs aux cannabinoïdes
CB2	Type 2 des récepteurs aux cannabinoïdes
CBD	Canabidiol
FAAH	Fatty acid amide hydrolase
2-AG	2-arachidonylglycerol
AEA	Anandamide
HEA	Dihomo-g-linolenylethanolamide
DEA	Docosatetraenylethanolamide
NADA	N-arachidonolydopamine
PLC	Phospholipase C
PIP2	Phosphatigyl inositol 4,5-biphosphate
IP3	Inositol triphosphate
DAG	Diacylglycerol

NAPE N-arachidonoyl-phosphatidyl-ethanolamine

PhosEA Phosphatidylethanolamine

PhosC Phosphatidyl-choline

SGPA Substance grise périaqueducale

TRPV1 Récepteur vanilloïde de type 1

GABA Acide γ -aminobutyrique

NMDA Acide N-méthyl-D-aspartique

CGRP Calcitonin gene related peptide

NK1R Tachykinin receptor 1

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS DÉCOULANT DU PROJET

Le travail exposé dans ce mémoire a fait l'objet d'un article publié. Ces résultats ont également été présentés par communications affichées ou orales lors de congrès ou de journées scientifiques.

Publications

Redmond WJ, Goffaux P, Potvin S, Marchand S. (2008)

Analgesic and antihyperalgesic effects of nabilone on experimental heat pain.

Curr Med Res Opin. 2008 Apr;24(4):1017-24.

Communications orales

1. Redmond WJ, Marchand S. Neurophysiological Rationale for Cannabinoids in Fibromyalgia.

29th Canadian Pain Society Conference 2009. Québec city, Québec, Canada, 27-30 mai 2009.

2. Redmond WJ, Goffaux P, Potvin S, Marchand S. Analgesic Properties of Nabilone: Electrophysiological Evidence of Decreased Central Sensitization. 17th Symposium on the Cannabinoids – International Cannabinoid Research Society. –Mont Saint-Sauveur, Québec, Canada, 26 juin-1er juillet 2007.

3. Redmond WJ, Goffaux P, Potvin S, Marchand S. Analgesic Properties of Nabilone: Electrophysiological Evidence of Decreased Central Sensitization. 26th Annual Meeting – American Pain Society 2007. – Washington DC, USA – 2-5 mai 2007.

4. Redmond WJ, Goffaux P, Tremblay MC, Marchand S. Analgesic Properties of Nabilone: Evidence of a Synergistic Effect Between Nabilone and Endogenous Pain Inhibitory Mechanisms. Canadian Physiology Society, Winter Meeting 2007 – Mont Sainte-Anne, Québec, Canada, 31 janvier – 3 février 2007.

Communications par affiches

1. Redmond WJ, Goffaux P, Potvin S, Marchand S. Analgesic Properties of Nabilone: Electrophysiological Evidence of Decreased Spinal Sensitization. Réseau Québécois des Jeunes Investigateurs de la Douleur – Montréal, Québec, Canada – 1^{er} juin 2007.

2. Redmond WJ, Goffaux P, Potvin S, Tremblay MC, Marchand S. Analgesic Properties of Nabilone: Evidence of a Synergistic Effect Between Nabilone and Endogenous Pain Inhibitory Mechanisms. 27th Canadian Pain Society Conference – Ottawa, Ontario, Canada – 23-26 mai 2007.

RÉSUMÉ

Effet du Cesamet (nabilone) sur la perception de la douleur et les réponses électrophysiologiques

Par William John Redmond

Étant donné que l'utilisation des cannabinoïdes dans un but thérapeutique est en pleine expansion, notre laboratoire a voulu vérifier, à l'aide de deux études cliniques fondamentales chez des sujets sains, le potentiel analgésique d'un cannabinoïde synthétique, le nabilone, lors de différents tests de douleur. Ces tests incluent l'utilisation d'une thermode (plaque chauffante) utilisée sur la peau à des températures supérieures au seuil de la douleur ainsi que l'utilisation du test du réflexe RIII vu par électromyogramme (EMG) et potentiels évoqués vus par électroencéphalogrammes (EEG) réalisé à l'aide de stimulations électriques du nerf sural. L'effet analgésique du nabilone était vérifié à l'aide de ces mesures électrophysiologiques de même que par l'utilisation de méthodes psychophysiques de mesure de perception de la douleur des participants utilisant une échelle analogue visuelle de la douleur allant de 0 à 100. Le potentiel synergistique du nabilone suite à l'activation d'un mécanisme de contrôle de la douleur appelé contrôle inhibiteur diffus nociceptif (CIDN) a aussi été vérifié. Ces tests furent effectués en double aveugle avec un placebo et des doses de 0mg, 0,5mg et 1mg de nabilone. Malgré une tendance positive, nous n'avons pas réussi à voir un effet analgésique concret du nabilone 0mg, 0,5mg et 1mg plus fort que l'effet placebo aussi bien dans les tests de thermode que de RIII. Le nabilone n'a pas su non plus, sur la population totale, créer d'effet synergistique avec l'effet du CIDN. Par contre, suite à des analyses statistiques plus poussées, nous avons pu voir que le nabilone avait, chez les femmes, un effet antihyperalgésique suite à l'activation du CIDN. Des effets très différents ont pu aussi être vus entre la réponse des femmes et des hommes suite au test du RIII quant à son effet spinal et supraspinal.

Mots clés : Nabilone, analgésie, mécanismes de contrôle de la douleur, cannabinoïdes.

1. INTRODUCTION

1.1 Bref Historique

L'utilisation de la plante *Cannabis sativa* connut une croissance fulgurante dans notre conscience collective à partir des années 1960 due, en grande partie, à son utilisation récréative reliée au milieu *peace and love*. De nos jours, elle reste sans contre-dit la drogue illicite la plus utilisée de par le monde et, de ce fait, rapporte au milieu criminel des retombées monétaires faramineuses. D'un autre côté, les recherches modernes portant sur le potentiel thérapeutique des cannabinoïdes et sur leurs mécanismes endogènes, nous éclairent de plus en plus sur les possibilités futures de cette famille, aussi bien d'un point de vue de la création d'une nouvelle classe de médicaments que de procurer une meilleure compréhension de certaines pathologies. L'histoire de l'utilisation du cannabis n'est pas jeune, des préparations à base de cette plante sont utilisées de par le monde depuis plus de 4000 ans pour ses effets psychomimétiques. Bien que la redécouverte des possibilités thérapeutiques du cannabis soit récente, son potentiel médicinal est connu depuis l'antiquité (ABEL, 1980), puis a pour la première fois été confirmé et publié en Europe par le médecin britannique O'Shaughnessy au cours du 19^{ième} siècle (MECHOULAM, 1986). La marijuana fut inscrite dans la pharmacopée américaine jusqu'en 1944 (BONNIE, 1974), lorsqu'elle en fut retirée due à des pressions politiques dans le but de stopper sa consommation récréative. Le premier cannabinoïde semi-synthétique, le synhexyl, a tout de même été créé et testé comme agent thérapeutique vers la fin des années 1940 et jusqu'au début des années 1950. Les premières études cliniques rapportées quant au synhexyl ont démontré son efficacité comme antidépresseur et comme traitement pour les symptômes du sevrage d'alcool ou d'opiacés,

mais furent discréditées par la suite (BHARGAVA, 1978). Peu de progrès au niveau légal ont vu le jour durant les décennies suivantes jusqu'en 1986, lorsque l'ingrédient actif principal de la marijuana, le delta-9-tétrahydrocannabinol (THC), isolé en 1964, a été approuvé par la FDA. Depuis, trois nouveaux cannabinoïdes synthétiques sont disponibles en Amérique du Nord et ont été testés lors d'essais cliniques : le dronabinol, le nabilone et le sativex® (extrait de THC et cannabidiol). Récemment, un regain d'intérêt pour l'utilisation thérapeutique des cannabinoïdes se fait sentir, propulsé entre autre par de nouvelles lois en Californie et en Arizona pour les États-Unis, et par un vote de l'association médicale anglaise (British Medical Association) afin d'en augmenter l'utilisation. Malheureusement, le mode d'administration par lequel le cannabis est normalement donné reste problématique puisque, sauf exception du N-nitrosomonicotine, la marijuana fumée contient les mêmes produits cancérigènes que le tabac.

1.2 Utilisation en médecine

Présentement, au Canada, les trois seules indications légales pour l'utilisation du cannabis dans un but thérapeutique sont pour diminuer les nausées associées aux traitements de chimio-thérapie, pour redonner de l'appétit aux patients atteints du SIDA, de même que, nouvellement, pour diminuer la douleur, les tremblements et les spasmes musculaires de patients souffrant de la sclérose en plaques. Malgré tout, il est fréquent que des cannabinoïdes soient prescrits de façon informelle pour d'autres raisons.

Il est entre autre prescrit pour diminuer les douleurs associées à la fibromyalgie et autres douleurs chroniques (MOULIN et al., 2007). Des résultats anecdotiques concernant son

efficacité pour les douleurs associées à l'inflammation de l'intestin et du syndrome du colon irritable commencent aussi à être vus (DI CARLO and IZZO, 2003). De plus en plus de résultats probants tendent à confirmer l'effet anti-convulsivant des cannabinoïdes bien que des études cliniques sérieuses soient encore nécessaires. Ses possibles effets comme anxiolytique et régulateur du sommeil commencent aussi à être démontrés. Des études de cas ont aussi soulevé le possible effet des cannabinoïdes pour le syndrome de la Tourette, pour diminuer les glaucomes, les migraines de même que pour diminuer les crises d'asthme (WALSH et al., 2003). Un possible effet neuro-protecteur reste aussi à être vérifié bien que les premiers résultats soient encourageants (FERNANDEZ-RUIZ et al.).

1.3 Cannabinoïdes

La famille des cannabinoïdes est vaste et regroupe des composés de nature et de composition diverse, bien qu'ils aient tous une certaine affinité pour les récepteurs cannabinoïdes CB1 et CB2. On peut, à la base, les séparer selon qu'ils sont des phytocannabinoïdes (retrouvés dans la plante cannabis sativa, cannabis indica et le chanvre), des endocannabinoïdes (sécrétés naturellement par le corps humain) ou des cannabinoïdes modifiés en laboratoire.

1.3.1 THC et autres exogènes

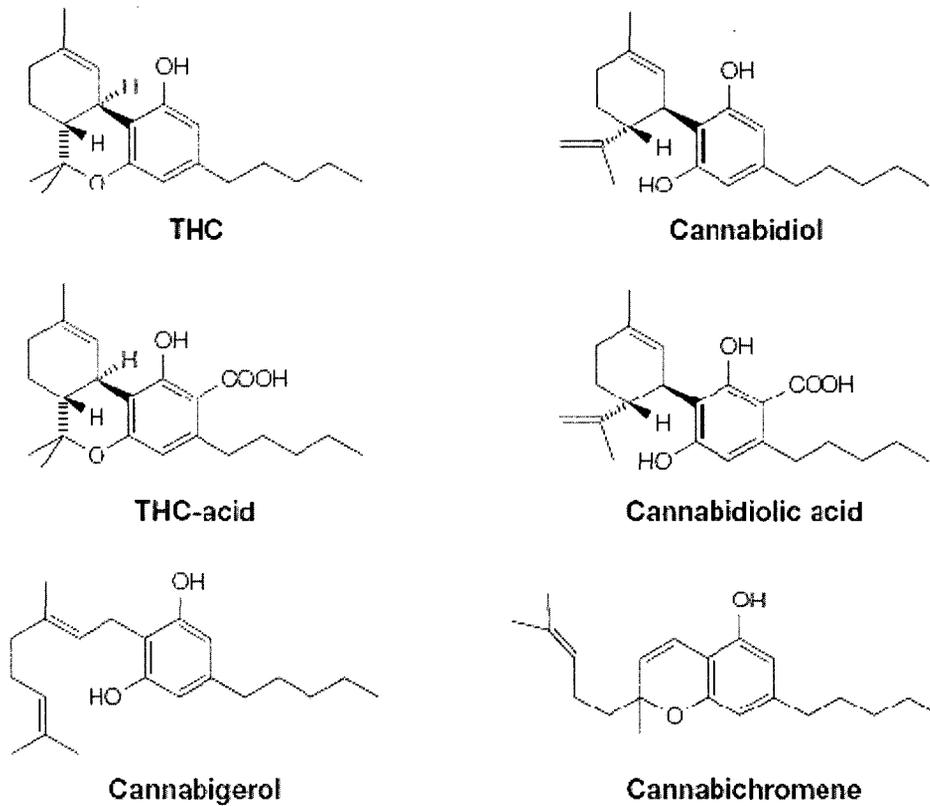


Figure 1 : Structure moléculaire de différents phytocannabinoïdes dont le THC, principal phytocannabinoïde étudié. Tiré de (DI MARZO et al., 2004).

La plante *cannabis sativa* contient un grand nombre de composants naturels dont 483 ont été identifiés. De ces 483, 80 sont considérés comme étant des phytocannabinoïdes et ne sont retrouvés chez aucune autre plante (GROTENHERMEN, 2003). Les cannabinoïdes isolés de la plante *cannabis sativa* comprennent une famille de structure d'anneaux tri-cycliques caractérisés par un anneau phénol, d'un anneau central pyrane et d'un anneau cycloexyl mono-insaturé (MECHOULAM, 1970, HOWLETT et al., 2004). Le delta-9-tétrahydrocannabinol en est le principal composant psychoactif et il a été découvert par

Gaoni et Mechoulam à l'institut Weizmann à Rehovot, en Israël (MECHOULAM and GAONI, 1967). Il reste à ce jour le cannabinoïde le plus utilisé, bien que l'intérêt porté au cannabidiol, ainsi qu'à d'autres cannabinoïdes, principalement synthétiques, soit sans cesse grandissant. (Voir figure 1).

Le THC possède la même abilité que les endocannabinoïdes anandamide et 2-arachidonoylglycérol d'activer aussi bien les récepteurs CB1 que CB2. Son k_i de liaison à ces deux récepteurs se situe dans les basses valeurs du nanomolaire, ce qui est une bonne valeur de liaison, plus forte que celles des endocannabinoïdes. Il existe par contre des analogues synthétiques dont la force de liaison avec ces récepteurs est encore plus importante que celle du THC (PERTWEE, 1997, 1999, HOWLETT, 2002, PERTWEE, 2005b).

1.3.2 Cannabidiol

Le cannabidiol (CBD) est le principal phytocannabinoïde non-psychoactif. Il a été découvert en 1940 par Adams. La structure et la stéréochimie du phytocannabinoïde CBD ont par la suite été élucidées par Raphael Mechoulam dans les années 60. Ce dernier a par la suite inventé une méthode afin de le synthétiser (PERTWEE, 2006). Contrairement au THC, le CBD n'a pas d'effet psychoactif notable (PERTWEE, 2005a) et son k_i de liaison est de l'ordre du micromolaire pour les récepteurs CB1 et CB2. Puisqu'il n'agit que très faiblement sur ces récepteurs, le CBD est principalement utilisé afin de vérifier l'action des cannabinoïdes sur d'autres modes d'actions que ceux empruntant la voie de l'activation de CB1 et CB2 (PERTWEE, 2008). Ces possibilités pharmacologiques et le nombre de ces

mécanismes d'actions possibles sont tout de même d'une grande importance. En effet, ses capacités vont d'un effet anti-anxiolytique, antipsychotique et il est efficace pour contrôler les troubles moteurs. Il a un effet anti-inflammatoire au niveau des muscles lisses intestinaux et entraîne une diminution de l'action de l'enzyme de dégradation des endocannabinoïdes, la FAAH (IZZU et al., 2009). Le médicament Sativex, disponible au Canada pour les douleurs et tremblements liés à la sclérose en plaque, est constitué d'une mixture 1 :1 de cannabidiol et de THC. Il est de plus en plus admis que le cannabidiol, donné avec le THC, peut diminuer ses effets psychotropes sans affecter le potentiel analgésique du THC (ZUARDI, 2008).

1.3.3 Cannabinoïdes synthétiques

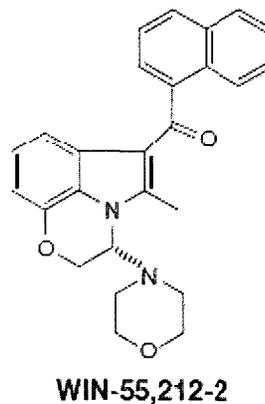
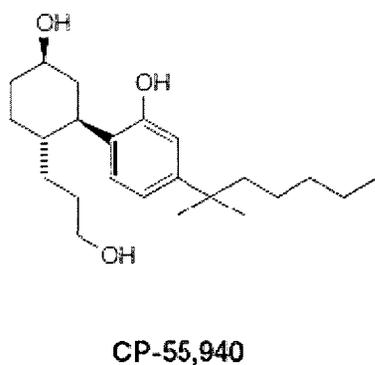
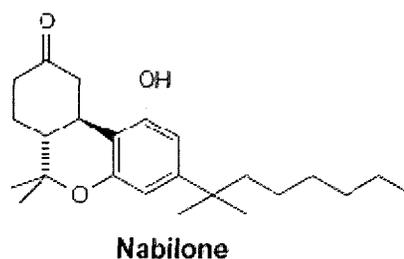
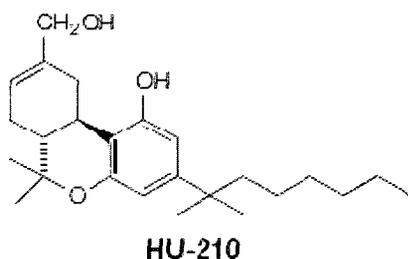


Figure 2 : Structure moléculaire de différents cannabinoïdes synthétiques. Tiré de (DI MARZO et al., 2004). Le nabilone est, parmi ceux-ci, le seul utilisé chez l'humain de façon thérapeutique.

Le nabilone est le cannabinoïde synthétique le plus vendu sur le marché sous le nom de Cesamet®. La plupart des autres cannabinoïdes synthétiques sont plutôt utilisés en laboratoire, leurs formules moléculaires servant à jouer sur leur différentes affinités et valeurs de liaison avec les deux différents récepteurs aux cannabinoïdes, CB1 et CB2, sauf pour le Marinol®, aussi légal au Canada pour les mêmes indications thérapeutiques que le nabilone. (Voir figure 2).

1.3.3.1 Nabilone

Il est le médicament que nous utiliserons lors de nos différents tests. Il est présentement surtout utilisé pour soigner les nausées associées aux traitements de chimiothérapie ainsi que pour redonner de l'appétit aux personnes souffrant du SIDA.

Il est un analogue synthétique du THC avec une plus grande force de liaison que ce dernier pour les récepteurs CB1 et CB2. Son effet systémique sur le corps humain, son action aussi bien sur CB1 que CB2, sa disponibilité sur le marché, ses bons résultats antidouleur lors de tests cliniques et le fait qu'il s'agisse d'une molécule légalement utilisable chez l'humain au Canada sont autant de raisons expliquant notre choix de l'utiliser pour nos études.

1.3.4 Endocannabinoïdes principaux

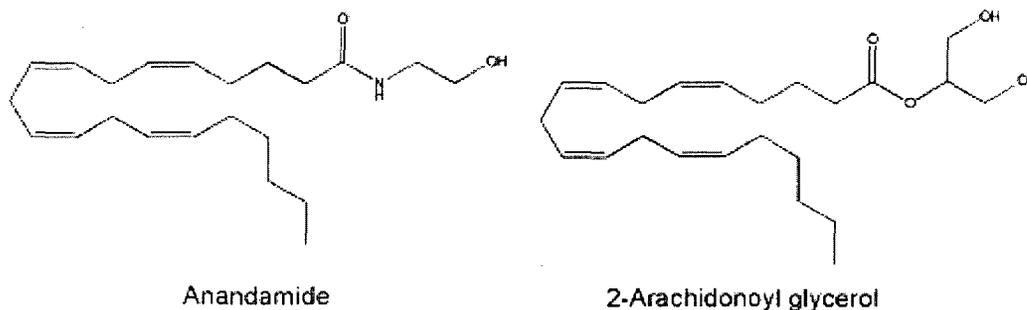


Figure 3: Structure moléculaire de deux des principaux endocannabinoïdes. Tiré de (HOWLETT et al., 2004). L'anandamide reste l'endocannabinoïde le mieux connu et celui ayant la plus forte affinité pour les récepteurs CB1 et CB2.

Suivant la découverte de récepteurs spécifiques aux cannabinoïdes exogènes, plusieurs recherches ont tenté de découvrir un ligand naturel pour ces récepteurs chez les mammifères. Ces recherches ont mené à la découverte d'une série d'acides arachidoniques ayant une forte affinité pour ces récepteurs, comme l'anandamide (N-arachidonylethanolamine (DEVANE et al., 1992)), le 2-arachidonyleglycérol (2-AG (BAYEWITCH et al., 1995, SUGIURA et al., 1995, STELLA et al., 1997)) et l'éther 2-arachidonyleglycéryl (HANUS et al., 2001). L'anandamide reste le ligand le plus étudié jusqu'à présent, dû en bonne partie à son affinité semblable, quoique moins forte que le THC, pour les récepteurs CB1 et CB2. Il est à noter que ces deux molécules possèdent des formules moléculaires complètement différentes. (Voir figure 3).

Les cannabinoïdes endogènes ne sont pas présents en très grande quantité au niveau du cerveau ou des autres organes du corps humain. Comme d'autres médiateurs lipidiques, ils sont synthétisés et sécrétés localement et sur demande. Ils sont aussi rapidement inactivés par une combinaison de mécanismes de transport et par l'enzyme fatty acid amide hydrolase (FAAH) (DI MARZO et al., 1994, PIOMELLI et al., 1998, GIUFFRIDA et al., 2001). Des souris génétiquement modifiées pour leur absence de l'enzyme FAAH ont d'ailleurs montré des niveaux beaucoup plus élevés d'anandamide et étaient hypersensibles aux résultats biologiques de l'augmentation d'anandamide (CRAVATT et al., 2001).

1.3.4.1 Synthèse et dégradation

L'histoire des endocannabinoïdes débute avec l'arachidonoyl éthanamide (AEA) qui a été le premier endocannabinoïde isolé par le laboratoire de recherche du Dr. Raphael Mechoulam. Il a été baptisé anandamide, venant du terme Sanskrit pour "bliss" (STEVENSON et al. 1992). Nous en comptons présentement 48, dont 7 principaux, soit l'anandamide (AEA), le Dihomo-g-linolenylethanamide (HEA), Docosatetraenylethanamide (DEA), 2-Arachidonoylglycerol (2-AG), Noladin éther, Virodhamine, N-Arachidonolydopamine (NADA). Très peu de choses sont connues pour l'instant sur la plupart des endocannabinoïdes. Bien que le principal soit l'anandamide, le potentiel du 2-AG commence à être plus documenté, nous parlerons donc un peu plus de ces deux molécules.

Les endocannabinoïdes sont des neurotransmetteurs rétrogrades. Ils ne sont pas emmagasinés dans des vésicules mais sont plutôt synthétisés *de novo* à partir de précurseurs

lipidiques membranaires post-synaptiques (JHAVERI et al., 2007). Leur formation résulte de deux routes de signalisation :

Pour le 2-AG, cette formation débute lors de la relâche d'un neurotransmetteur au niveau pré-synaptique qui agira sur un récepteur GPCR qui activera l'enzyme phospholipase C (PLC). Le phosphatidyl inositol 4,5-biphosphate (PIP₂) est alors clivé pour former l'inositol triphosphate (IP₃) et le diacylglycérol (DAG). IP₃ mobilisera le calcium intracellulaire stocké, qui, avec le DAG, activera la diacylglycérol lipase afin de former le 2-arachidonoylglycérol (2-AG). (Voir figure 4).

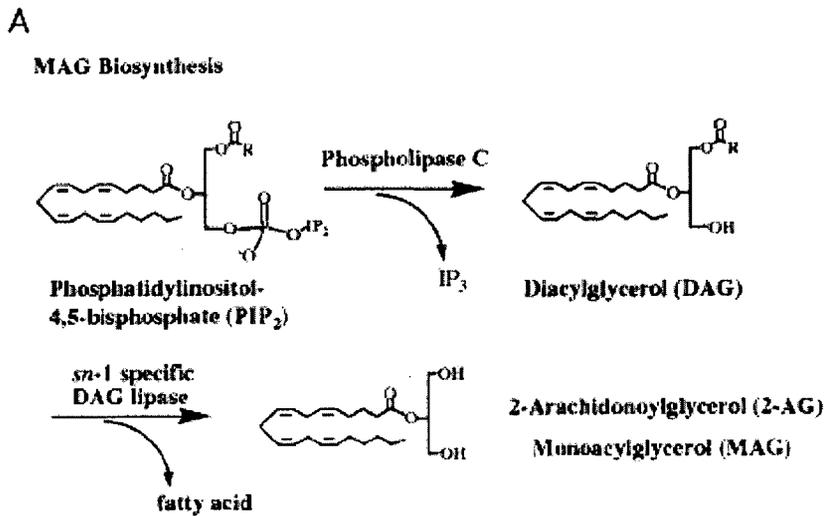


Figure 4: Synthèse du 2-AG. Tiré de (CRAVATT and LICHTMAN, 2004).

La stimulation post-synaptique de canaux calciques peut aussi augmenter la concentration des stocks de calcium intracellulaire, ce qui activera l'enzyme N-acyl transférase. Ceci produira du N-arachidonoyl-phosphatidyl-éthanolamine (NAPE) à partir du phosphatidyl-

éthanolamine (PhosEA) et de la phosphatidyl-choline (PhosC). NAPE peut alors être clivé par la phospholipase D pour former l'anandamide (AEA). (Voir figure 5).

A

NAE Biosynthesis

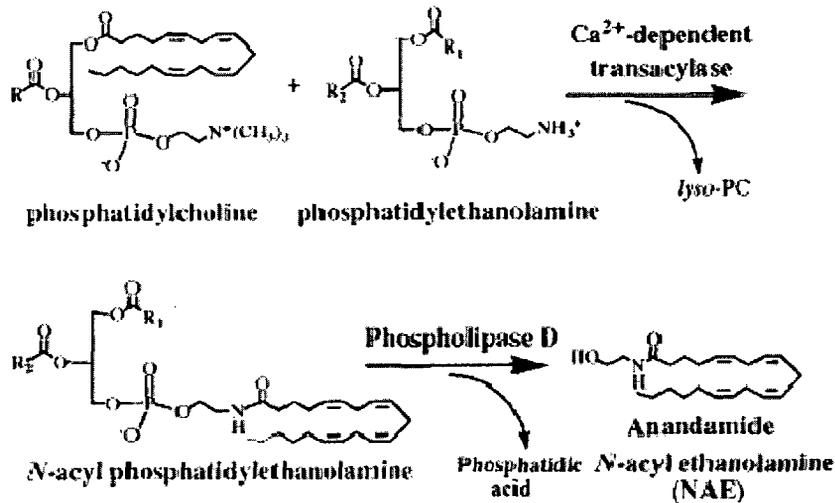


Figure 5: Synthèse de l'anandamide. Tiré de (CRAVATT and LICHTMAN, 2004).

Ces endocannabinoïdes nouvellement formés peuvent ensuite diffuser à travers la terminaison synaptique afin d'aller atteindre les récepteur CB1 se trouvant au niveau pré-synaptique, ce qui inhibera les canaux calciques membranaires. Cette diminution en concentration de calcium pré-synaptique réduira ensuite la possibilité de relâche de neurotransmetteurs. 2-AG peut par la suite être clivé par l'enzyme monoacylglycérol lipase en acide arachidonique et en glycérol, alors que l'anandamide est métabolisé en acide arachidonique et en éthanolamine par le FAAH. (Voir figure 6).

B

NAE Catabolism



B

MAG Catabolism

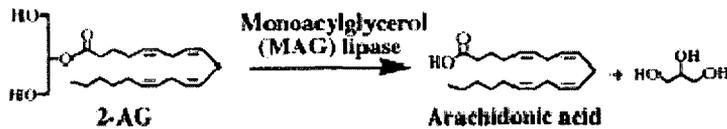


Figure 6 : Dégradation de l'anandamide et du 2-AG. Tiré de (CRAVATT and LICHTMAN, 2004).

1.4 Récepteurs

Durant très longtemps, les théories à propos du mécanisme d'action pharmacologique du THC et de la marijuana étaient complètement erronées. On pensait alors que le THC dérangeait la membrane cellulaire de neurones sans avoir d'interaction spécifique avec un récepteur, ces récepteurs spécifiques n'ayant été définis que vers la fin des années 90. (GOUTOPOULOS and MAKRIYANNIS, 2002). Depuis la découverte des récepteurs cannabinoïdes, l'intérêt dans le développement de médicaments à base de cannabinoïdes a grandement augmenté.

1.4.1 Récepteur CB1

Le premier récepteur lié aux cannabinoïdes identifié fut le CB1. Il a été découvert dans un cortex de rat en 1990, près de 30 ans après l'identification de l'ingrédient principal contenu dans le cannabis. Il est retrouvé à tous les niveaux du système nerveux central, de la moelle et de la périphérie, ainsi que de certains organes périphériques. C'est un récepteur couplé à une protéine G inhibitrice qui inhibe l'adénylyl cyclase et conduit à une diminution de concentration de l'adénosine monophosphate cyclique. CB1 affecte possiblement l'action de neurotransmetteurs comme l'acétylcholine, la norépinéphrine, la dopamine, le 5-hydroxytryptamine, acide aminobutyrique, glutamate, et D-aspartate. Les récepteurs CB1 sont couplés avec des canaux calciques de type N-, L-, et P/Q et de canaux potassiques A- et M-. La densité de récepteurs CB1 est la plus grande dans le système nerveux central, ce récepteur est localisé principalement dans le ganglion basal, le cervelet, l'hippocampe et le cortex cérébral. La présence de CB1 dans le système nerveux central peut expliquer la capacité des agonistes aux récepteurs CB1 de bloquer la cognition et la mémoire de même que de causer des problèmes au niveau moteur, sans oublier la plupart des autres effets associés au cannabis comme la relaxation musculaire, l'analgésie, la hausse de l'appétit et les changements hormonaux.

1.4.1.1 CB1 au niveau du cerveau

Table 1. Distribution of Cannabinoid Receptors^{15,21}		
Receptor	Central Distribution	Peripheral Distribution
CB1	basal ganglia cerebellum cerebral cortex entopeduncular nucleus globus pallidus hippocampus periaqueductal gray putamen rostral ventrolateral medulla spinal dorsal horn substantia nigra pars reticulata	adrenal glands bone marrow endothelium heart kidneys lungs lymphocytes peripheral neurons phagocytes prostate smooth muscle sperm spleen testes thymus tonsils uterus
CB2		leukocytes B lymphocytes monocytes natural killer cells PMNs T4 lymphocytes T8 lymphocytes
PMNs = polymorphonuclear leukocytes.		

Tableau 1: Localisation des deux principaux récepteurs aux cannabinoïdes : CB1 et CB2. Tiré de (BURNS and INECK, 2006).

Il y a plusieurs raisons de croire qu'un des rôles principaux des récepteurs CB1 soit de moduler la relâche de neurotransmetteurs d'une façon permettant de conserver l'homéostasie dans le cerveau, aussi bien chez un être en santé que malade. Il prévient un excès d'activité neuronale dans le système nerveux central. Les raisons pour le croire sont nombreuses. Premièrement, les récepteurs CB1 neuronaux sont principalement retrouvés aux extrémités de neurones centrales et périphériques. Deuxièmement, il est maintenant assez bien reconnu que ces récepteurs peuvent moduler la relâche de différents neurotransmetteurs excitateurs et inhibiteurs comme l'acétylcholine, la noradrénaline, la dopamine, le 5-hydroxytryptamine, le GABA le glutamate, le D-aspartate et la cholécystokinine (HOWLETT, 2002, PERTWEE and ROSS, 2002, SZABO and SCHLICKER, 2005). Finalement, il est maintenant connu que les endocannabinoïdes agissent comme des messagers synaptiques rétrogrades (KREITZER, 2005, VAUGHAN and CHRISTIE, 2005). Il est donc généralement accepté que l'augmentation de la concentration de calcium intracellulaire au niveau postsynaptique induite par certains neurotransmetteurs peut induire la biosynthèse et la relâche de neurotransmetteurs comme le glutamate et le GABA (CABRAL and STAAB, 2005, PERTWEE, 2005a).

La distribution des récepteurs cannabiniérgiques au niveau du cerveau a été fait chez le rat en utilisant des techniques autoradiographiques en utilisant le radioligand [H^3]CP-55,940 qui se lie avec une haute affinité au récepteur CB1 (HERKENHAM et al., 1991b). Ces études de cartographie du cerveau ont montré que les récepteurs CB1 sont localisés sur les axones et les terminaisons nerveuses et sont principalement absents des somas ou des dendrites. Ces résultats confirmaient la théorie de modulation de neurotransmetteurs selon laquelle les cannabinoïdes agissent principalement de façon pré-synaptique.

Les récepteurs CB1 sont parmi les récepteurs couplés à une protéine G les plus nombreux au niveau du cerveau, ayant une population ressemblant en quantité à celle de GABA et des canaux ioniques couplés au glutamate. La distribution de ces récepteurs est très hétérogène, avec une plus grande concentration de récepteurs présents dans le ganglion basal, de la *substantia nigra pars reticulata*, et des segments intérieurs ainsi que des segments antérieurs du *globus pallidus*. De plus, de très hautes concentrations sont présentes au niveau de l'hippocampe, particulièrement le gyrus dentelé ainsi que de la couche moléculaire du cervelet. Au contraire, très peu de ces récepteurs sont retrouvés au niveau des cellules souches du cerveau, ce qui peut être la raison de la faible toxicité associée à de très hautes doses de THC ou autres ligands cannabiniérgiques. (Voir tableau 1). Des études pharmacologiques réalisées à l'aide d'agonistes sélectifs sur des souris knockout (-/-) ont confirmé que la majorité des effets neurocomportementaux des cannabinoïdes comme l'hypomotilité, l'hypothermie, la catalepsie et l'analgésie sont principalement médiés par le récepteur CB1 (LEDENT et al., 1999, ZIMMER et al., 1999).

1.4.2 Récepteur CB2

Un deuxième récepteur cannabiniérgique, le CB2, a été identifié en 1993 et a été principalement retrouvé au niveau de tissus périphériques. CB2 inhibe l'adényl cyclase comme CB1. Étrangement, contrairement à CB1, la distribution des récepteurs CB2 est localisée au niveau du système immunitaire, et il possède un potentiel immunosuppresseur et anti-inflammatoire. L'ordre d'importance de ces récepteurs au niveau du système inflammatoire est le suivant : cellules B – cellules NK – monocytes et macrophages –

neutrophiles – cellules t cd8+ – cellules t cd4+, ce qui est semblable à CB1 (GALIEGUE et al., 1995). Il n'est pas présent au niveau des neurones mais est fortement exprimé au niveau des cellules gliales activées (SALZET et al., 2000, PERTWEE and ROSS, 2002, WITTING et al., 2004). Ils sont aussi des récepteurs couplés à des protéine Gi/o (MUNRO et al., 1993). Ils ont 44% de ressemblance au niveau protéinique avec les récepteurs CB1 mais ont un profil pharmacologique et un patron d'expression différents (FELDER et al., 1995, GALIEGUE et al., 1995). Le THC se lie au CB2 en tant qu'agoniste partiel tout comme pour CB1 (MUNRO et al., 1993, BAYEWITCH et al., 1995).

1.5 Analgésie cannabinergique chez l'animal

Les moyens de moduler l'expérience de la douleur chez l'animal à l'aide de différents cannabinoïdes sont variés et bien documentés. Ils vont de l'effet direct sur les différents récepteurs CB1 et CB2, à une action par inhibition enzymatique, une modulation des endocannabinoïdes et peuvent être vérifiés par un knocking out de gènes.

1.5.1 Analgésie par CB1

La première preuve d'un effet analgésique des cannabinoïdes sur un modèle animal date de plus d'un siècle. Dixon, en 1899, a démontré que des chiens ayant été en présence de fumée de cannabis ne répondaient pas à de petites piqûres à l'aide d'une aiguille (DIXON, 1899). De nos jours, il n'y a plus grand doute sur le potentiel analgésique des cannabinoïdes exogènes via l'activation des récepteurs CB1 chez les rongeurs. Maints revues sont disponibles à ce sujet, bien que toute la lumière n'ait pas encore été faite sur l'analgésie cannabinergique en

général (MARTIN and LICHTMAN, 1998, PERTWEE, 2001, RICE, 2001, WALKER and HUANG, 2002, GOYA et al., 2003). Des tests démontrant l'efficacité analgésique des cannabinoïdes exogènes sur la nociception ont été probants lors de tests de tail-flick, de test de plaque chauffante, du test d'acide acétique ainsi que du test à la formaline (MARTIN and LICHTMAN, 1998). Les cannabinoïdes ont aussi été caractérisés comme pouvant inhiber la réponse des fibres C au niveau des neurones de la corne dorsale de rats, aussi bien pour des neurones normaux, enflammés ou endommagés (STRANGMAN and WALKER, 1999, DREW et al., 2000, MILLNS et al., 2001, ELMES et al., 2004). Plus récemment, l'effet antihyperalgésique des cannabinoïdes a aussi été démontré lors de douleurs neuropathiques (HERZBERG et al., 1997, BRIDGES et al., 2001, MONHEMIUS et al., 2001b).

Bien que les récepteurs CB1 causent aussi l'effet euphorique associé aux cannabinoïdes exogènes, la dissociation entre son potentiel analgésique et ses effets psychoactifs a été démontré. La première preuve de cette dissociation été publiée en 1994 lorsque le docteur Smith et ses collègues ont démontré qu'un antagoniste du récepteur kappa ne bloquait seulement que les effets antidouleur du THC chez les rongeurs sans avoir d'effet sur l'hypothermie, l'hypoactivité ou la catalepsie (SMITH et al., 1994, MASON et al., 1999). Nous parlerons un peu plus loin dans cette introduction de la complexe interaction entre cannabinoïdes et opioïdes.

Les effets antinociceptifs médiés par les récepteurs CB1 peuvent se faire de façon indépendante à tous les niveaux du système nerveux ; de la périphérie (RICHARDSON et al., 1998b, FOX et al., 2001), au niveau spinal (YAKSH, 1981, LICHTMAN and MARTIN, 1991, SMITH and MARTIN, 1992), à supraspinal (LICHTMAN and MARTIN, 1991,

LICHTMAN et al., 1992, LICHTMAN et al., 1996, LICHTMAN and MARTIN, 1997, MONHEMIUS et al., 2001a). Des études immunohistochimiques ont démontré qu'il y avait présence de récepteurs CB1 exprimés en haute concentration au niveau périphérique (SANUDO-PENA et al., 1999, AHLUWALIA et al., 2000) et central (à la fois spinal et supra-spinal (TSOU et al., 1998, FARQUHAR-SMITH et al., 2000)) des neurones en lien avec la nociception. Finalement, des études électrophysiologiques ont amené les preuves nécessaires à démontrer que les agonistes des récepteurs CB1 modulent au niveau spinal (HOHMANN et al., 1995, STRANGMAN et al., 1998, STRANGMAN and WALKER, 1999) et supraspinal (LICHTMAN et al., 1996, MENG et al., 1998) les circuits neuronaux qui transmettent le message nociceptif.

1.5.2 Analgésie par CB 2

Le rôle du récepteur CB2 au niveau de la nociception est plus difficile à définir. Comme nous l'avons vu plus tôt, ces récepteurs sont principalement situés au niveau de cellules du système immunitaire ainsi qu'au niveau des cellules gliales. Bien que, à prime abord, nous pourrions douter de leur potentiel analgésique et le croire de second ordre, ce qui n'est pas nécessairement le cas. Il est important ici de noter qu'étant donné que les récepteurs CB2 ne se trouvent pas au niveau des neurones du cerveau, nous pouvons donc en soustraire tout potentiel psychotrope, ce qui n'est pas négligeable lorsque l'on pense au développement de nouvelles cibles thérapeutiques pour utilisation humaine.

Un agoniste sélectif de CB2, AM1241, a renversé l'hypersensibilité sensorielle de souris knockout CB1 (-/-) ayant des douleurs neuropathiques, amenant une diminution de la

douleur (IBRAHIM et al., 2003). AM1241 a aussi été démontré comme pouvant diminuer localement l'inflammation hyperalgésique thermique induite par une injection de caragénine (QUARTILHO et al., 2003). Hohman et son équipe (HOHMANN et al., 2004) ont démontré qu'il est possible de supprimer l'expression de protéines fos au niveau spinal par l'activation sélective de récepteurs CB2 lors d'un test d'inflammation chez le rat, encore une fois avec un test de carageenan et la molécule AM1241.

1.5.3 Analgésie et cellules gliales

Bien que le cerveau humain sain ne contient pas de récepteurs CB2, ils seront présents lors de l'activation des cellules microgliales (CARLISLE et al., 2002, KLEGERIS et al., 2003, WITTING et al., 2004). Le niveau d'expression de ces récepteurs sera en fonction du stade d'activation de ces cellules, comme c'est le cas pour les autres cellules immunitaires (CARAYON et al., 1998, WAKSMAN et al., 1999, DEROCQ et al., 2000). Au niveau de la moelle épinière, l'expression de récepteurs CB2 sur les cellules microgliales surviendra suite à l'apparition de douleurs neuropathiques mais pas suite à la présence de douleurs inflammatoires. (SHANG et al. 2003). Il est donc fortement possible qu'il existe un effet complémentaire des récepteurs CB1 et CB2 lors de l'apparition de douleurs neuropathiques. (Voir figure 7).

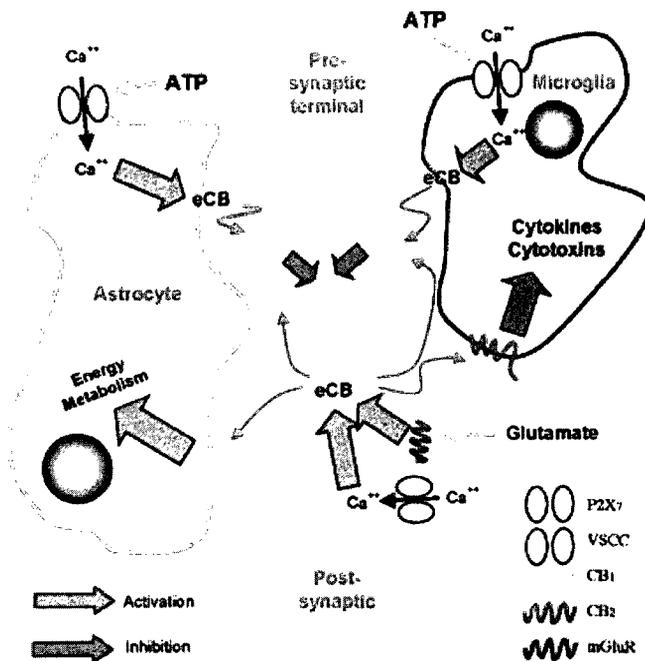


Figure 7 : Interaction entre neurones pré et post-synaptiques, microglie et astrocyte lors de la relâche d'endocannabinoïdes. Tiré de (DI MARZO et al., 2004).

1.5.4 Analgésie et cannabinoïdes endogènes

Bien que l'activation des récepteurs CB₁ et CB₂ par des cannabinoïdes exogènes puisse produire une analgésie dans un grand nombre de tests de douleurs expérimentales et/ou chroniques, l'effet des cannabinoïdes endogènes sur ces récepteurs lors de l'expérience de la douleur n'est pas aussi bien développé et est beaucoup plus difficile à identifier étant donné la courte demie-vie de l'andamide et des autres cannabinoïdes endogènes dû à leur rapide dégradation.

1.5.5 L'effet de la suppression du gène CB1 sur la nociception.

L'étude de la perception de la douleur chez des souris knockout CB1(-/-) a donné des résultats plutôt ambigus. Par exemple, dans une étude, les souris CB1(-/-) ont montré des signes d'hypoalgésie pour le test de hot plate ainsi que celui de la formaline mais aucun effet au niveau du tail-flick (ZIMMER et al., 1999). Ces résultats vont bien sûr à l'encontre de ce que nous aurions cru trouver. Il est par contre possible que l'absence de récepteurs CB1 ait eu une forte composante motrice rendant les comportements de l'animal différents aux tests de hot-plate et formaline. Par contre, dans une autre étude, une seconde analyse de souris knockout CB1 (-/-) n'a montré aucune différence aux tests de hot-plate, immersion de la queue, writhing et pression de la queue (LEDENT et al., 1999). Un point intéressant, ces animaux knocked-out ont démontré une analgésie suite à un test de nage forcée (VALVERDE et al., 2000) suggérant un rôle des endocannabinoïdes dans le système régulant l'analgésie causée par le stress. Finalement, une troisième étude sur les souris CB1 (-/-) a démontré une sensibilité à la douleur thermique normale mais une sensibilité tactile accrue (IBRAHIM et al., 2003). Les trois souches de souris utilisées lors de ces trois études (C57B1/6, CD1 et 129/SvJ) pourraient bien être en partie en cause ici et influencer l'inactivation des récepteurs CB1 (MOGIL et al., 1999).

Un fait intéressant, le knocking-out de récepteurs CB1 au niveau spinal par méthode anti-sens a montré une augmentation de la douleur (RICHARDSON et al., 1998a, DOGRUL et al., 2002) amenant une possible influence tonique des cannabinoïdes endogènes au niveau spinal lors de la nociception.

D'autres facteurs aident à démontrer un effet des cannabinoïdes endogènes lors de la nociception. Par exemple, il a été démontré qu'il y a régulation à la hausse de récepteurs CB1 au niveau du thalamus (SIEGLING et al., 2001) et au niveau de la moelle épinière (LIM et al., 2003) chez des rongeurs souffrant de douleurs chroniques. Dans l'étude de Lim, l'élévation de la concentration de récepteurs CB1 et son efficacité accrue ont été stoppés par un inhibiteur de MAP kinase (faisant partie de la cascade de création des récepteurs CB1), laissant croire que cette hausse de récepteurs peut expliquer l'effet antinociceptif des cannabinoïdes lors de douleurs chroniques. Récemment, une étude a démontré qu'il y a une augmentation des récepteurs CB2 au niveau de la moelle épinière de rats suite à une blessure nerveuse périphérique (ZHANG et al., 2003). Ces données ajoutent un peu plus de lumière sur le rôle important que joue les cannabinoïdes au niveau de la régulation des états de douleurs de longues durées.

1.5.6 Analgésie par blocage de la dégradation

Un moyen moins bien étudié, mais qui peut avoir un potentiel thérapeutique des plus intéressant, est de créer une possible analgésie par inhibition de l'enzyme de dégradation des cannabinoïdes endogènes, FAAH. En effet, il a été démontré que l'utilisation de l'inhibiteur irréversible URB597 ou de l'inhibiteur réversible IL-135 occasionnera une hausse d'anandamide dans le cerveau (LICHTMAN et al., 2004a, FEGLEY et al., 2005). Chez la souris, l'utilisation de OL-135 induit un effet analgésique dans les tests de hot-plate, d'immersion de la queue ainsi que du test de la formaline via le mécanisme d'action des récepteurs CB1 (LICHTMAN et al., 2004a). Cette augmentation de l'anandamide au niveau du cerveau est confirmée par la présence de concentrations 10 fois supérieures d'anandamide

chez la souris knocked-out FAAH (-/-) que chez la souris wild-type. Ainsi, les souris knocked-out FAAH (-/-) ont un phénotype permettant une propension à l'analgésie via l'activation des récepteurs CB1 dans une variété de modèles de douleurs toniques et inflammatoires (LICHTMAN et al., 2004b). (Voir tableau 2)

Table 1 A Comparison of the Antinociceptive Effects and Side Effects Produced by CB Receptor Agonists vs. the Genetic (-/-) or Chemical (Inhibitors) Inactivation of FAAH

	Antinociceptive Effects in Representative Pain Tests					Side Effects		
	Acute Thermal	Acute Mechanical	Noxious	Inflammatory	Neuropathic	Hypomotility	Hypothermia	Catalepsy
CB1 agonist	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
CB2 agonist	Yes/No	Yes	Unknown	Yes	Yes	No	No	No
FAAH(-/-) mice	Yes	Unknown	Yes	Yes	No	No	No	No
FAAH inhibitors	Yes	Unknown	Yes	Yes	Yes	No	No	No

Tableau 2: Aspects analgésiques reconnus des cannabinoïdes avec agonistes spécifiques CB1, CB2, avec Knock-out de l'enzyme de dégradation FAAH et d'utilisation d'inhibiteurs de FAAH. Tiré de (CRAVATT and LICHTMAN, 2004).

1.6 Analgésie cannabinoïdique chez l'humain lors de douleurs expérimentales

Malgré le grand nombre d'études démontrant le potentiel analgésique des cannabinoïdes lors de différents tests de douleur de diverses natures chez les rongeurs, il n'y a pas eu beaucoup de tests expérimentaux cherchant à reproduire ces effets chez l'humain. En fait, les études cliniques chez des populations de patients souffrant de différentes pathologies sont mieux documentées. Les deux premières études plus récentes traitant du potentiel analgésique des cannabinoïdes chez des sujets sains n'ont pas été très concluantes (GREENWALD and STITZER, 2000, NAEF et al., 2003). C'est en 2003 que les premiers signes d'un effet analgésique des cannabinoïdes ont été vus lors de tests sur les sujets sains. En effet, Rukwied

et son équipe ont observé que de traiter la peau des participants de façon topique avec un agoniste aux récepteurs cannabinoïdes comme le HU210 peut avoir un effet analgésique et anti-hyperalgésique lors d'un test à la formaline. Il n'est, par contre, pas possible, par cette étude, de savoir si ces effets ont été dus à l'action de HU210 sur les récepteurs CB1 et CB2 ou sur les récepteurs TRPV1 (RUKWIED et al., 2003). En 2006, Roberts et son équipe ont voulu vérifier l'interaction possible entre le THC et la morphine chez des sujets sains en utilisant une douleur thermique. L'administration de 5 mg de THC donné avec 0.2 mg/kg de morphine n'a pas eu d'effet synergistique si ce n'est qu'au niveau de la composante émotionnelle de la douleur. Lors de ce test, le THC donné avec un placebo n'a pas créé d'analgésie chez les participants (ROBERTS et al., 2006). Puis en 2007, c'est au tour d'Esfandyari et son équipe de tenter de trouver un effet aux cannabinoïdes, ici en utilisant le dronabinol, sur la sensibilité et la motilité du colon de sujets sains. Bien que le dronabinol n'ait pas changé la première apparition de sensations douloureuses lors de l'extension du colon en utilisant un ballon manométrique, il y a eu une augmentation de la sensation de douleur pour les mesures suivantes pour toutes les pressions testées (ESFANDYARI et al., 2007). La même année, Wallace et son équipe ont testé l'effet de différentes doses (2%, 4% et 8% de THC respectivement par poids) de marijuana fumée sur la capsaïcine injectée sous la peau de sujets sains sur l'analgésie et l'hyperalgésie ainsi causée. La faible dose de THC n'a eu aucun effet : ni lors de l'administration de la capsaïcine, ni 45 minutes plus tard. Pour la dose moyenne, une diminution de la douleur a été rapportée pour la douleur causée par la capsaïcine 45 minutes après son administration. La haute dose a quant à elle augmenté la douleur causée par la capsaïcine 45 minutes post-administration. Les conclusions rapportées par les auteurs de cette étude sont qu'il y aurait probablement une fenêtre de doses où le THC a un effet antidouleur. Au-delà de cette fenêtre thérapeutique, le THC pourrait

entraîner une hausse de la douleur (WALLACE et al., 2007). Finalement, Kraft et son équipe se sont intéressés à l'effet d'un extrait contrôlé de THC provenant de la plante *cannabis sativa* sur deux modèles de douleurs; soit thermique et électrique, lors de deux modèles d'inflammation; soit causée par un coup de soleil ou par l'administration intradermique de capsaïcine. Ici, l'extrait de cannabis n'a pas augmenté le seuil de douleur thermique induit sur une région ayant reçu un coup de soleil. Quant à son seuil de douleur pour des stimulations électriques, il a été diminué par cet extrait de THC. Pour leur modèle d'inflammation causé par la capsaïcine, les seuils de douleur n'ont pas été modifiés par l'extrait de THC. Leur conclusion est que le THC n'est pas un analgésique lors de douleurs toniques chez l'humain (KRAFT et al., 2008).

1.7 Analgésie cannabinoïde chez l'humain lors de tests cliniques

La première étude clinique portant sur les cannabinoïdes date de 1975 et a été réalisée chez 10 patients souffrant de douleurs associées au cancer. On y a vu que le THC, donné de façon orale, possédait un potentiel analgésique supérieur au placebo pour des doses de 15 à 20 mg, mais qu'il causait un important effet sédatif (NOYES et al., 1975). Il est souvent difficile, avec de telles études, de dissocier les effets des cannabinoïdes sur la qualité de vie des participants plutôt que sur l'analgésie en tant que telle. Les possibles interactions médicamenteuses avec d'autres médicaments causent aussi d'importants problèmes. Depuis, de plus en plus d'études cliniques tendent à démontrer le potentiel analgésique des cannabinoïdes lors de tests cliniques. Il est par contre beaucoup plus difficile de bien définir l'effet analgésique exact des cannabinoïdes lors de telles études. Le type de pathologie étudiée, l'effet des cannabinoïdes sur la qualité de vie des sujets, les nombreuses interactions

médicamenteuses possibles ainsi que le mode d'administration et la composition de la médication sont de nombreux sujets à prendre en compte. Malgré tout, il est indéniable que les cannabinoïdes ont un effet favorable pour une forte population de personnes souffrant de douleurs chroniques. La plupart du temps, les tests cliniques effectués visent les personnes souffrant de fibromyalgie de même que de sclérose en plaque. Dans les deux cas, des résultats probants font surface.

Dans le cas de la sclérose en plaques, où l'utilisation du Sativex® (un mélange d'extrait naturel de THC additionné de cannabidiol) est maintenant légale au Canada, son effet ne semble plus vraiment faire de doute. Le potentiel effet relaxant des cannabinoïdes de même que son effet sur les tremblements liés à la sclérose en plaques, l'effet mal connu du cannabidiol de même que le rehaussement de la qualité de vie des participants sont autant de facteurs nous empêchant par contre de dire qu'il s'agit là uniquement d'un effet analgésique. Malgré tout, on a pu remarquer, suivant une méta-analyse réalisée par le Dr. Einarson et son équipe, que le Sativex® est efficace pour le traitement de ces douleurs (ISKEDJIAN et al., 2007). L'étude la plus importante sur le sujet reste celle faite par le Dr. Zajicek et son équipe sur une population de 630 patients souffrant de la sclérose en plaque traités dans 33 centres différents en Angleterre en utilisant un extrait de cannabis, du THC ou un placebo. Malgré le fait que les traitements avec les cannabinoïdes n'aient pas eu un effet positif sur la spasticité, leurs résultats furent probants quant à l'atteinte des objectifs des participants au niveau de leur mobilité; de même que de l'opinion des participants sur l'amélioration de leurs douleurs. Ils ont ainsi démontré que les cannabinoïdes peuvent être d'importance clinique dans le traitement des symptômes associés à la sclérose en plaques (ZAJICEK et al., 2003).

Pour ce qui en est de la fibromyalgie, bien qu'il s'agisse d'une maladie extrêmement complexe aux divers symptômes, les bénéfices associés aux cannabinoïdes chez certains participants sont maintenant chose bien connue et assez bien documentée. Une étude randomisée en double aveugle utilisant le nabilone chez une population de patients souffrant de fibromyalgie a montré des résultats concluants récemment. En effet, le nabilone a pu diminuer les scores de douleur des participants en plus d'améliorer leur qualité de vie (SKRABEK et al., 2008).

Comme les études cliniques sur les cannabinoïdes sont de plus en plus nombreuses, il est difficile de les traiter toutes dans ce mémoire. Il serait donc bon, pour se faire, de se référer à la revue de littérature écrite par les Dr. Beaulieu et Ware (BEAULIEU and WARE, 2007). On peut y voir que bien qu'encore beaucoup de travail soit nécessaire afin de bien cerner le potentiel analgésique des cannabinoïdes, pour l'instant, son efficacité principale ne se trouve pas au niveau de douleurs de courtes durées mais bien lorsqu'elles sont utilisées pour le traitement de douleurs de longues durées de nature neuropathique. Ces observations semblent bien fondées lorsque l'on regarde les résultats probants attribués aux cannabinoïdes afin d'alléger la douleur des patients souffrant de fibromyalgie ou de sclérose en plaques.

1.8 Interaction opioïdes + cannabinoïdes

Il devient de plus en plus clair qu'il existe un lien important entre les cannabinoïdes et les opiacés dans leurs actions sur divers mécanismes. Des preuves liées à leurs effets similaires, leur localisation rapprochée ainsi que leurs actions au niveau de certains mécanismes physiologiques communs commencent à nous dévoiler l'importance de cette interaction.

1.8.1 Interactions opioïdes + récepteurs cannabinoïdes CB1

Il est bien connu que les opioïdes et les cannabinoïdes ont de fortes ressemblances au point de vue de leurs effets pharmacologiques, incluant l'analgésie, l'hypothermie, l'hypo-motricité, l'hypotension et la sédation (MANZANARES et al., 1999, MASSI et al., 2001). Sans grande surprise, nous pouvons retrouver des récepteurs aux opiacés et aux cannabinoïdes co-distribués au niveau de la corne dorsale de la moelle épinière (WELCH and STEVENS, 1992, HOHMANN et al., 1999, SALIO et al., 2001) de même que dans la substance grise périaqueducule (SGPA), le noyau raphé et le noyau thalamique centromédian (HERKENHAM et al., 1991a, LICHTMAN et al., 1996). Des études ont aussi démontré une distribution au niveau du cerveau des cannabinoïdes similaire à celui de la morphine (KUHAR, 1973, MAILLEUX and VANDERHAEGHEN, 1992). De plus, le blocage de l'immunoréactivité de Fos induite par le THC suite à une administration de naloxone dans les régions ventrales, tegmentales, hypothalamiques et de la SGPA suggèrent que l'on retrouve une interaction importante entre opiacés et cannabinoïdes dans ces zones (ALLEN et al., 2003). De plus, Meng et al. ont démontré que l'analgésie produite par les cannabinoïdes et les opioïdes impliquent des circuits de cellules souches similaires qui passent par la modulation de l'activité neuronale rostro-ventro-médullaire (MENG et al., 1998). Donc, le blocage spinal de la transmission de la douleur devient ici plus qu'additif car les récepteurs opioïdes et les récepteurs cannabinoïdes peuvent ainsi activer la corne dorsale. Cette activation simultanée pourrait désinhiber des interneurons régulant une relâche d'opioïdes endogènes.

Il est maintenant connu que les cannabinoïdes peuvent augmenter l'effet antinociceptif des opioïdes. Dès 1979, l'effet d'un extrait de cannabis a pu augmenter les effets analgésiques de la morphine (GHOSH and BHATTACHARYA, 1979). Le D6-THC de même que le D9-THC ont eu les mêmes effets (EDERY et al., 1984). Plus récemment, l'étude des effets synergétiques des opiacés et des cannabinoïdes suggère un croisement entre leurs réseaux de signalisation promettant une intéressante co-thérapie pour la douleur de même que des traitements possibles pour l'addiction et les abus d'opiacés. Le THC, à une dose i.t. ayant une activité marginal sur le test de tail-flick, peut transposer la courbe dose-réponse de la morphine vers la gauche, indiquant une augmentation de son potentiel analgésique (de 4 à 12 fois). Des changements similaires ont aussi pu être vus avec 11-hydroxy-THC, D8-THC et levonantradol (WELCH and STEVENS, 1992). Par contre, cet effet des cannabinoïdes sur la morphine n'est pas universel; des études ont démontré qu'il y a deux catégories d'interactions entre ces deux joueurs: une composante spinale et supraspinale. Certains cannabinoïdes peuvent augmenter l'effet de la morphine au niveau du cerveau alors que d'autres agiront au niveau spinal, vu premièrement par des différences au niveau de l'administration i.t. (intrathécal) par rapport à i.c.v. (intra-cérébro-ventriculaire) (WELCH et al., 1995). Toujours selon Welch, le THC a des effets synergétiques avec la morphine au niveau spinal alors que le cannabinoïde synthétique CP 55,940 n'a pas d'effet spinal avec la morphine mais transpose la courbe dose-réponse de la morphine de près de 10 fois après une administration i.c.v. (WELCH and STEVENS, 1992, WELCH et al., 1995). Le CP 55,940 peut aussi augmenter l'effet antinociceptif de près de 45% lorsqu'administré i.p. (MASSI et al., 2001). Pour l'instant, l'anandamide et autres exogènes ne semble pas augmenter les effets des opioïdes exogènes, probablement dû à leur rapide dégradation par

des enzymes hydrolysant les lipides (PUGH et al., 1996, PUGH et al., 1997, FOWLER et al., 2001).

Cette interaction entre les cannabinoïdes et les opioïdes ne semble pas se limiter à un effet synergétique au niveau de l'analgésie lors de douleurs ponctuelles, mais semble bien persister suite à l'administration de ces drogues. Il y a une régulation à la hausse des protéines des récepteurs opioïdes au niveau de la moelle épinière chez les animaux traités de façon chronique (CICHEWICZ et al., 2001) qui peut expliquer l'efficacité prolongée de cette combinaison thérapeutique. De plus, les récepteurs CB1 et mu (opiacés) sont colocalisés dans des régions du cerveau qui joueront un rôle important dans le phénomène de manque associé à l'abstinence de morphine comme le noyau acumbens, le septum, le striatum, la SGPA et le noyau de l'amygdale (NAVARRO et al., 2001). Donc, le THC semble pouvoir altérer l'expression de la tolérance aux effets analgésiques de la morphine lorsqu'en combinaison. (CICHEWICZ and WELCH, 2003).

1.8.2 Interactions opioïdes + récepteurs cannabinoïdes CB2

Comme nous l'avons vu plus haut dans la section sur l'analgésie par l'action des récepteurs CB2, il est possible que l'effet analgésique causé par l'activation des récepteurs CB2 passe par la relâche de différents médiateurs à partir de cellules non-neuronales qui vont par la suite altérer les afférents neuronaux primaires à proximité lors de l'expérience de la douleur. Un type de cellule pouvant peut-être médier cet effet causé par des agonistes CB2 spécifique sont les kératinocytes, qui ont été reconnus comme possédant des récepteurs CB2 (GUZMAN et al. 2003) de même que des opioïdes peptidiques (STEIN AND

YASSOURIDIS, 1997, STEIN et al., 2001). Ces cellules sont retrouvées en grande quantité au niveau de la peau, ce qui pourrait bien expliquer l'effet analgésique décelé lors de tests de hot-plate, de tail-flick. (IBRAHIM et al., 2005).

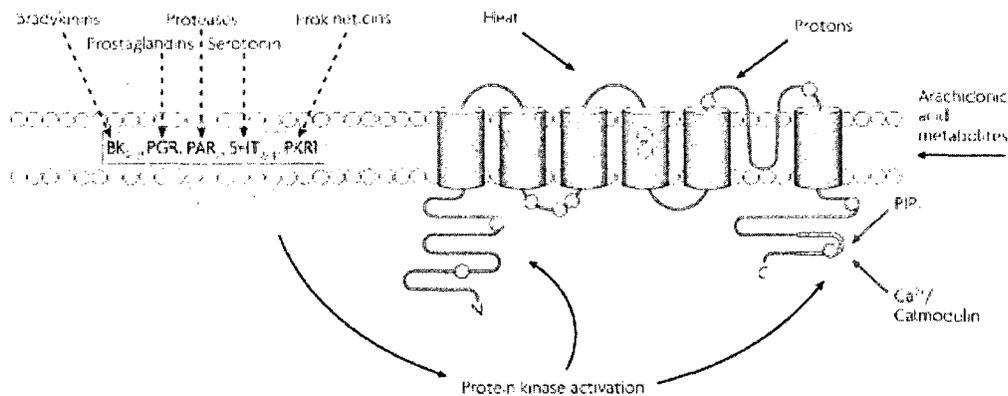
1.8.3 Interactions opioïdes + cannabinoïdes chez l'humain

Encore une fois, les effets très clairs vus lors de tests sur les animaux ne semblent pas vraiment être aussi bien définis chez l'humain au niveau du potentiel synergétique entre les opioïdes et les cannabinoïdes. Dans un test réalisé par le Dr. Naef, un faible effet additif analgésique est vu pour une combinaison THC-morphine lors d'un test de stimulations électriques. Cette combinaison n'a tout simplement pas eu d'effet analgésique lors de tests nociceptifs thermiques (chaud et froid). Le THC y a même eu un effet hyperalgésique (NAEF et al., 2003). Dans une autre étude, cette fois réalisée par le Dr. John Roberts, l'interaction THC et morphine n'a pas eu d'effet analgésique mais plutôt un effet bénéfique sur l'aspect désagréable et en lien aux émotions associés avec la douleur (ROBERTS et al., 2006). Le Dr. Beaulieu n'a pas eu plus de chance en effectuant une étude sur le potentiel synergétique du THC et de la morphine lors de douleurs post-opératoires, ici, le nabilone a haussé les scores de douleurs pour des patients sous morphine lors de douleurs post-opératoires (BEAULIEU, 2006). L'effet de la co-administration de cannabinoïdes et d'opioïdes pour des douleurs chroniques en lien avec le cancer n'ont pas non-plus portées fruit (CAMPBELL et al., 2001). Par contre, d'autres études récentes ont semblé démontrer un effet des cannabinoïdes et des opioïdes pour des douleurs reliées à de l'inflammation périphérique (SAWYNOK, 2003). L'utilisation élevée de cannabinoïdes chez les patients souffrant de douleurs chroniques et leur bénéfice statistique nous laisse tout de même croire

qu'une meilleure connaissance de cette possible implication est tout de même nécessaire avant de se prononcer définitivement sur la question (WARE et al., 2003).

1.9 Action des cannabinoïdes sur les récepteurs TRPV1 et lien avec la douleur

Les récepteurs TRPV1 (transient receptor potential vanilloïde 1) sont des récepteurs ionotropiques activés par des molécules de la famille des vanilloïdes (V) telle que la capsaïcine présente dans le piment. Les récepteurs TRPV1 font partie de la famille des TRP. Cette famille de récepteurs est sensible aux stimuli mécaniques, thermiques (chaud et froid) et à certaines substances chimiques. Les TRP sont classés en six groupes : TRPM, TRPA, TRPC, TRPML, TRPN, TRPP et TRPV. Les TRPV étant eux-mêmes répartis en cinq classes (TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, ET TRPV5). Les TRPV1 sont des récepteurs de type canaux cations non sélectifs, qui permettent, en réponse à un stimulus, l'entrée des ions Ca^{++} (en majorité). Gradient d'affinité de TRPV1 pour les cations : $Ca^{++} > Mg^{++} > Na^+ > K^+ > Cs^+$. Ce sont des récepteurs sensoriels exprimés au niveau de l'enveloppe cutanée, des muqueuses et dans certaines régions du système nerveux central. Ils sont activés par une chaleur nociceptive supérieure à $44^{\circ}C$, ce qui en fait un élément important dans la détection de la douleur. Ils sont aussi activés par certaines molécules chimiques telles que les vanilloïdes (dont la capsaïcine) ou encore une forte concentration en protons (H^+). Lorsque le TRPV1 est soumis à un de ces stimuli, le récepteur est activé et change de conformation ce qui entraîne une ouverture du canal-cation. Les ions Ca^{++} et Na^+ entrent massivement dans le cytoplasme de la fibre nerveuse, ce qui crée une dépolarisation. Lorsque la dépolarisation atteint une valeur seuil, elle entraîne le déclenchement d'un potentiel d'action (PA), permettant le cheminement du stimulus nociceptif de se rendre jusqu'au cerveau. Pour une bonne revue de littérature sur le sujet, voir (SZALLASI et al., 2007). (voir figure 8)



Nature Reviews | Drug Discovery

Figure 8 : Le récepteur TRPV1. Les flèches en noir représentent les stimuli du récepteur TRPV1, en rouge, des éléments le régulant de façon négative. Les récepteurs et autres ligands du TRPV1 sont identifiés à gauche. Tiré de (SZALLASI et al., 2007).

Il est maintenant reconnu qu'il y a une interaction spécifique entre l'anandamide et les récepteurs TRPV1. En effet, l'anandamide est un agoniste des récepteurs à la vanilloïde VR1, bien qu'avec une faible affinité (ZYGMUNT et al., 1999, SMART and JERMAN, 2000, GAULDIE et al., 2001). Comme nous pouvons donc nous y attendre, la désensibilisation des TRPV1 par un traitement préalable à la capsaïcine diminue l'efficacité de l'anandamide sur ce récepteur. De même, un traitement néonatal à la capsaïcine prévient l'activation des récepteurs TRPV1 par l'anandamide. Par contre, l'action des TRPV1 est bloquée par un antagoniste spécifique à son récepteur mais non pas par des antagonistes des récepteurs CB1 et CB2. Les effets du TRPV1 médiés par l'anandamide sont absents sur des cellules transfectées qui n'expriment pas de TRPV1 et l'anandamide peut déplacer un radiomarqué RTX du site spécifique du TRPV1 (ZYGMUNT et al., 1999, SMART and JERMAN, 2000, AL-HAYANI et al., 2001). Les récepteurs CB1 ont aussi été retrouvés au niveau de cellules du ganglion de la racine dorsale en culture exprimant des récepteurs VR1 sensibles à la capsaïcine (AHLUWALIA et al., 2000, AHLUWALIA et al., 2002). Ces données tendent à supporter la possibilité d'une théorie d'interaction entre les cannabinoïdes et l'action de ces récepteurs au niveau de la douleur. Étant donné l'implication importante des récepteurs VR1 dans le phénomène de wind-up des fibres C nerveuses, cette action sur les récepteurs TRPV1 peut donc devenir d'une grande importance. L'effet antihyperalgésique des

cannabinoïdes lors de l'expérience du wind-up pourraient donc ainsi y être, au moins en partie, expliquée.

1.10 Action des cannabinoïdes sur le glutamate et récepteurs NMDA et lien douleur

Il est bien connu que le glutamate et son récepteur, le NMDA, ont une action d'une importance capitale au niveau du phénomène de la douleur. Un des mécanismes où ils ont un rôle particulièrement important se situe au niveau de leur action au niveau de la moelle épinière. En effet, la surstimulation des récepteurs NMDA peut induire, avec l'aide d'autres facteurs, un phénomène qui se nomme hyperalgésie secondaire et qui s'explique par une sensibilisation centrale (TERMAN et al., 2001). En effet, une stimulation d'une trop longue fréquence et durée des fibres nerveuses de type C (responsables du wind-up ou hyperalgésie primaire) peut conduire à une sensibilisation de certaines neurones de projection au niveau des cornes postérieures de la moelle, pouvant les amener à être stimulés plus facilement, augmentant donc leur potentiel d'action (EIDE, 2000). Cette sensibilisation peut être de plusieurs heures, voire jours. Durant cette période, il y aura une relâche accrue de neurotransmetteurs excitateurs comme le glutamate et des peptides comme la substance P et le CGRP. L'effet du glutamate sur les récepteurs NMDA de même que l'effet de la substance P sur les récepteurs de type NK1 peuvent, à long terme, induire une modulation au niveau des gènes, pouvant causer une réorganisation des neurones de la moelle, qui peuvent ainsi devenir permanente. Ce mécanisme pourrait bien expliquer, en partie, la cause de certaines douleurs neuropathiques. Comme nous l'avons vu plus tôt, le rôle des récepteurs CB1 au niveau du cerveau peuvent servir de régulateur des possibles excès d'activité par les neurotransmetteurs excitateurs et autres peptides au niveau du cerveau. Leur activation, liée à une inhibition de canaux calciques, pourrait donc avoir un effet indirect, certes, mais

important, au niveau principalement de l'action du glutamate sur les récepteurs NMDA. Cet effet protecteur pourrait possiblement expliquer, au moins en partie, l'effet des cannabinoïdes sur l'hyperalgésie secondaire. Il est aussi bon de noter que l'effet des récepteurs CB2 sur les cellules du système immunitaire en lien avec l'inflammation et la relâche de peptides comme la substance P, de même que l'effet des récepteurs CB2 sur les cellules gliales activées au niveau de la moelle, peuvent aussi contribuer à cette protection contre la sensibilisation neuronale de la moelle épinière.

1.11 Mécanismes endogènes du contrôle de la douleur

L'expérience de la douleur découle d'un complexe réseau neuronal affectant de nombreuses régions du cerveau. L'information véhiculée de la périphérie vers le système nerveux central sera par la suite reconduit en réponse du système nerveux central vers la périphérie. Plusieurs facteurs peuvent influencer à de nombreux points le contenu de ce message nociceptif, soit en l'augmentant, soit en le diminuant. Ainsi, le corps humain a de nombreux moyens de moduler son expérience de la douleur.

Ces mécanismes sont souvent séparés en trois catégories distinctes, dépendamment de l'endroit où ils seront activés. On en retrouve agissant au niveau périphérique, spinal et supra-spinal (MARCHAND, 2010).

Un de ces mécanismes de défense important de l'homme (et de plusieurs autres espèces animales) est maintenant nommé le contrôle inhibiteur diffus nociceptif. Il s'agit d'un système descendant analgésique provenant du niveau supra-spinal et agira, par l'intermédiaire

de voies de modulation sérotoninergique et noradrénergiques au niveau spinal par la relâche d'énképhalines. Ce phénomène de contre-irritation a été observé pour la première fois suite à la stimulation d'une région spécifique du tronc cérébral, la SGPA, qui provoqua une analgésie suffisante pour réaliser une intervention chirurgicale chez le rat sans autre analgésique (REYNOLDS, 1969). L'implication du bulbe rostro-ventral lors de stimulations nociceptives y sera par la suite observé (BASBAUM and FIELDS, 1978).

Dans le modèle proposé par Le Bars et ses collègues, le CIDN faciliterait la détection des messages nociceptifs en réduisant l'activité des neurones convergents non concernés par cette douleur. Le plus grand contraste ainsi créé entre le champ du neurone activé et la mise sous silence des neurones non concernés permettrait de mieux identifier la localisation précise de cette douleur (VILLANUEVA and LE BARS, 1995) .

Cette mise sous silence généralisée repose sur le fait que les afférences nociceptives ne font pas que transmettre le signal douloureux vers les centres supérieurs. Elles laissent également au passage des connexions dans le mésencéphale et le tronc cérébral, plus précisément dans la substance grise périaqueducale (SPGA) et dans le noyau raphé magnus (NRM). Ceux-ci vont ensuite retourner des efférences vers le bas en direction des différents niveaux de la moelle épinière et, avec l'aide des interneurones inhibiteurs, produire ainsi une inhibition diffuse. (Voir figure 8)

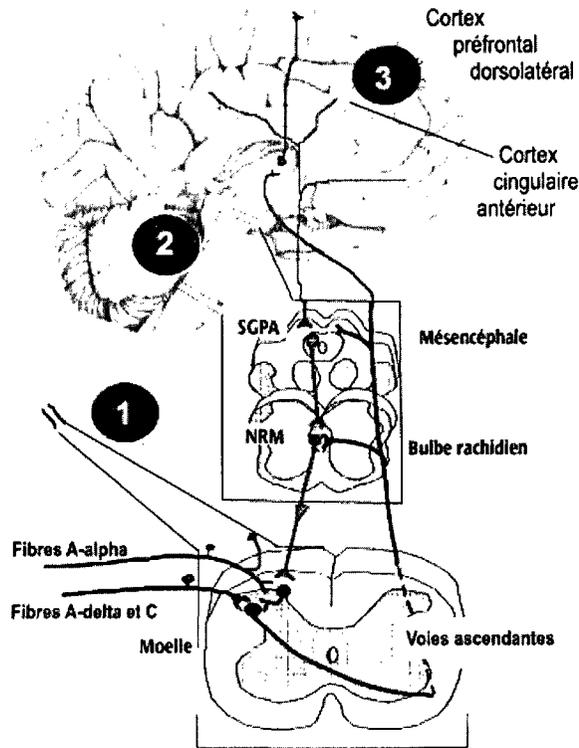


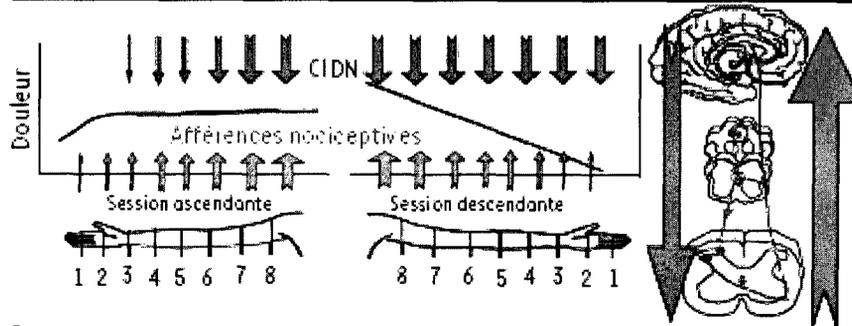
Figure 9: Mécanisme inhibiteur descendant : Contrôles inhibiteurs diffus nociceptifs (CIDN). Tiré et adapté de Marchand, S. (2009). Le phénomène de la douleur. Chenilière/McGraw-Hill : Montréal, Canada.

Beaucoup de chemin a été fait depuis concernant le CIDN. Son utilisation en recherche sur la douleur chez l'humain est maintenant possible et standardisée. Il s'agit probablement du mécanisme de défense du corps contre la douleur le plus facilement utilisable dans un but de recherche en laboratoire sur l'humain de nature opioïdérique. La force de réponse du CIDN sera vue en fonction de la grandeur de la zone du corps stimulée, de la force de cette stimulation et du temps d'exposition au stimulus nociceptif permettant de l'activer (JULIEN and MARCHAND, 2006). (Voir figure 9) Il a aussi été reconnu qu'un déficit de ce mécanisme descendant de contrôle de la douleur peut être une cause de maladie chronique comme la fibromyalgie (JULIEN et al., 2005).

A

Sommation spatiale et douleur

Chez les sujets sains et les patients lombalgiques, le recrutement graduel du CIDN pourrait expliquer la différence entre la session d'augmentation et de réduction de la surface



B

Chez les patients fibromyalgiques, un déficit du CIDN pourrait expliquer l'absence de différences entre les sessions d'augmentation et de réduction de surface

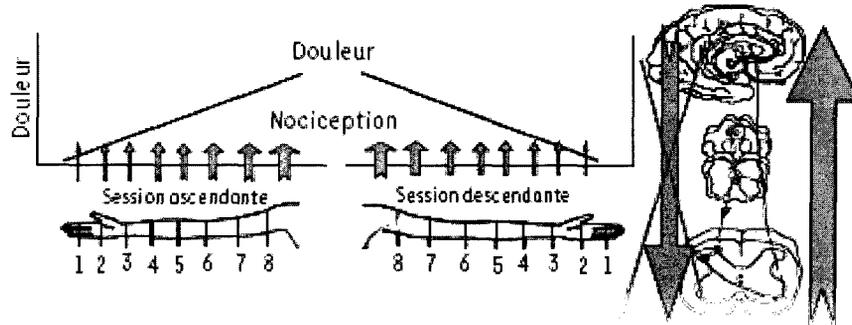


Figure 10 : Implication de la surface exposée et force du CIDN chez des sujets sains et fibromyalgiques. Tiré et adapté de Marchand, S. (2009). Le phénomène de la douleur. Chenilière/McGraw-Hill : Montréal, Canada.

1.11.1 Effet des cannabinoïdes sur les mécanismes de contrôle de la douleur

Dans les années 70, Liebskind (MAYER et al., 1971, GIESLER and LIEBESKIND, 1976) a démontré qu'il était possible d'induire une réponse analgésique suite à la stimulation électrique de la SGPA. Lorsqu'elle était élicitée par la portion ventral de la SGPA, cette stimulation électrique était médiée par le relâchement d'opioïdes endogènes (AKIL et al., 1978). Par contre, lorsque cette stimulation était faite du côté dorsal ou latéral de la SGPA, cette analgésie semblait médiée par une substance non-opioïdes non-identifiées (CANNON et al., 1982). Un des candidats de choix pour ce médiateur inconnu serait sans doute dans la famille des cannabinoïdes endogènes. Comme nous l'avons démontré plus tôt, les cannabinoïdes endogènes produisent de l'analgésie et diminuent la réponse au niveau spinal et thalamique lors du transfert d'information nociceptive. On retrouve au niveau de la SGPA la machinerie biologique nécessaire aux cannabinoïdes (HERKENHAM et al., 1991b, MAILLEUX and VANDERHAEGHEN, 1992, MARTIN et al., 1998). Tout comme les opioïdes, les cannabinoïdes produisent une analgésie lorsqu'injecté au niveau de la SGPA (MILLER and WALKER, 1995). Par contre, la sous-région anatomique de la SGPA où agit les cannabinoïdes semblent à l'opposée de celle où agit la morphine (YAKSH and RUDY, 1976, CANNON et al., 1982, MILLER and WALKER, 1995): les cannabinoïdes agissent au niveau dorsal et latéral. Ces informations nous amènent à croire à l'implication des cannabinoïdes au niveau d'un mécanisme endogène de contrôle de la douleur non-opioïdurgique distinct mais possiblement complémentaire du CIDN. Sanudo-Pena et son groupe (WALKER et al., 1999) ont démontré que l'analgésie créée par la stimulation électrique des parties dorsales et latérales de la SGPA peut être bloquée par l'utilisation d'un antagoniste cannabinergique, le SR141716A. De plus, ils ont démontré que l'injection

intradermique de formaline, qui cause une douleur prolongée, élève la concentration d'anandamide à ces sous-régions de la SGPA, confirmant un mécanisme cannabinoïde en réponse à une douleur prolongée.

1.11.2 Effet des endocannabinoïdes sur l'analgésie liée au stress

Un autre mécanisme de contrôle de la douleur qui commence à être mieux défini est l'analgésie liée au stress. En effet, un stress intense, pouvant provenir d'une cause psychologique ou être induite chimiquement, peut créer une analgésie. Il s'agit d'un système descendant (des centres supérieurs en allant vers le niveau spinal) qui utilise un réseau neuronal qui projette de l'amygdale vers la SGPA pour ensuite descendre jusqu'au RVM et aux cornes dorsales de la moelle épinière. Pendant des années, il était cru que les principaux acteurs de ce mécanisme étaient des opioïdes endogènes comme les enképhalines. Bien que ces molécules soient impliquées, l'utilisation d'antagonistes aux opioïdes ne bloquent pas l'analgésie liée au stress pour différents paramètres stressants, laissant croire qu'il y aurait au moins un autre acteur majeur dans ce mécanisme (LEWIS et al., 1980, AKIL et al., 1986). Le laboratoire du docteur Hohmann a conduit différents tests nous permettant de valider l'implication majeure des endocannabinoïdes dans ce mécanisme. Premièrement, bien que l'utilisation d'un antagoniste aux opioïdes n'affecte pas l'analgésie liée au stress, un antagoniste aux cannabinoïdes l'éradique complètement. Ensuite, ils ont vu qu'il y a une hausse de la relâche d'endocannabinoïdes dans les régions impliquées dans l'analgésie liée au stress à différents moments suivant une stimulation nociceptive faite à la patte de rats. De plus, la micro-injection d'un antagoniste aux cannabinoïdes dans les régions du système nerveux impliquées ont diminué l'efficacité de l'analgésie liée au stress, surtout au niveau

de la SGPA. Finalement, l'utilisation d'un inhibiteur de l'enzyme de dégradation des endocannabinoïdes FAAH microinjectée dans les régions impliquées dans ce mécanisme rehausse l'effet analgésique relié au stress. Ces données nous laissent croire à la présence d'un mécanisme endogène de contrôle de la douleur de nature cannabiniergique utilisant peu ou pas les opioïdes (HOHMANN et al., 2005, SUPLITA et al., 2005, WALKER and HOHMANN, 2005, SUPLITA et al., 2006).

1.11.3 Effet des cannabinoïdes sur les mécanismes de contrôle de la douleur chez l'humain

Nous sommes les premiers à avoir vérifié un possible effet des cannabinoïdes exogènes sur l'action d'un mécanisme de défense contre la douleur endogène de nature opioïdérique chez l'humain sain. Cette étude est l'objet de ce mémoire.

1.12 Rôle des hormones sexuelles dans la douleur en lien avec les cannabinoïdes

L'implication des hormones sexuelles au niveau de la perception de la douleur devient de mieux en mieux établie depuis quelques années. L'implication des hormones sexuelles au niveau de la nociception lors de la grossesse a été prouvé aussi bien chez la femme que chez le rat (COGAN and SPINNATO, 1986, DAWSON-BASOA and GINTZLER, 1998). Plusieurs études ont démontré l'effet de la déprivation des hormones sexuelles chez les rats ovariectomisés supplémentés soit en estrogène ou en progestérone au niveau de la perception de douleurs dans différents modèles (DAWSON-BASOA and GINTZLER, 1996, GORDON and SOLIMAN, 1996, GAUMOND et al., 2002, WALF and FRYE, 2003,

KUBA et al., 2006). L'estrogène peut aussi augmenter l'activité neuronale au niveau spinal lors d'inflammation chez le rat (GAUMOND et al., 2007).

Les hormones sexuelles ont été suggérées comme pouvant affecter la sensibilité de certains processus neuronaux répondant aux cannabinoïdes (BONNIN et al., 1993, NAVARRO et al., 1994, MANI et al., 2001). En 1994, Rodriguez de Fonseca a démontré que la densité et l'affinité de récepteurs aux cannabinoïdes dans certaines régions du cerveau comme l'hypothalamus basal médian, le striatum et le cortex préfrontal associé au système limbique peut varier dépendamment de la phase du cycle de l'estrogène chez les rats femelles. De même, les hormones ovariennes chez les rats ovariectomisé peuvent affecter ces changements, laissant croire à un rôle des hormones sexuelles dans la densité de récepteurs cannabiniérgiques au niveau du cerveau. Il est aussi bon de noter que Bonnini et son groupe (BONNIN et al., 1993) ont démontré une possible modulation de l'estrogène sur les effets du THC au niveau de l'activité dopaminérgique mésolimbique. Dans leurs expériences, ils ont montré que le THC diminue significativement la densité des récepteurs dopaminérgiques D1 dans le système limbique de rats ovariectémisé qui ont été remplacé par de l'estrogène.

2. OBJECTIFS DE MAÎTRISE

Cette étude a pour objectif de mieux cerner le potentiel analgésique des cannabinoïdes. En mesurant simultanément les réponses réflexes et les réponses électroencéphalographiques produites par une stimulation douloureuse à la cheville, nous serons en mesure de déterminer comment les cannabinoïdes agissent sur le système nerveux central spinal et cortical pour diminuer la douleur. Nous vérifierons aussi si l'action des cannabinoïdes peut parvenir à contrecarrer les effets de sensibilisation produits par une stimulation périphérique continue des fibres C. Finalement, nous évaluerons l'interaction possible entre les cannabinoïdes et l'analgésie endogène produite par l'action du CIDN.

AVANT-PROPOS

Le laboratoire de recherche du Dr. Serge Marchand travaille depuis plusieurs années en recherche sur la douleur. Bien que certaines études animales y aient été effectuées, l'approche principale de ce laboratoire se situe au niveau de tests fondamentaux et cliniques sur diverses populations de sujets sains ou atteints de diverses pathologies. Un point important des études faites dans ce laboratoire se situe au niveau de la recherche sur divers mécanismes endogènes de contrôle de la douleur. Mon implication dans ce laboratoire a porté sur le potentiel analgésique d'un cannabinoïde synthétique, le nabilone, chez une population de sujets sains de même que son possible effet synergétique suite à l'activation du CIDN.

Mon implication dans ce laboratoire a permis de publier un article dans la revue *Current Medical Research and Opinions*.

Dans cet article, nous expliquons un effet antihyperalgésique du nabilone lors d'un test de wind-up chez les femmes ayant participé à cette étude suite à l'activation du CIDN. J'aurai activement participé à l'élaboration de notre protocole de recherche, expérimenté sur mes participants, récolté les données et écrit cet article dont je suis le premier auteur avec la collaboration de mes trois co-auteurs.

4. RÉSUMÉ DE L'ARTICLE

Objectif: Dans cette étude, nous avons examiné les propriétés analgésiques et anti-hyperalgésique d'un cannabinoïde synthétique (nabilone) lors de stimulation nociceptive thermique chez les hommes et les femmes, de même que de vérifier ses effets sur un système de contrôle de la douleur descendant.

Matériel et méthode : Une étude en double-aveugle, contrôlée par l'utilisation d'un placebo a été effectuée avec des doses simples de 0 mg, 0,5 mg et 1 mg. Des systèmes excitateurs ont été activés par un test de sommation temporelle (douleur thermique tonique administrée grâce à une thermode Peltier) avant et après l'activation d'un mécanisme descendant de contrôle de la douleur (activé par une procédure de contre-irritation). Ces tests furent effectués avant et après l'administration du nabilone. Nos mesures principales incluaient les scores de douleur moyens, la douleur liée au test de sommation temporelle de même que l'effet de la médication sur l'analgésie créée par l'activation du mécanisme inhibiteur descendant. Les effets secondaires ont été vérifiés tout au long du traitement. Sept hommes (âge moyen = 22,5 ans, S.D. = $\pm 1,5$ an) et dix femmes (âge moyen = 23,2 ans, S.D. = $\pm 2,8$ ans) ont complété cette étude.

Résultats : Le nabilone (0,5 mg et 1 mg) n'a pas diminué la douleur moyenne ressentie par les participants lors du test de douleur thermique tonique (toutes les valeurs de $p > 0,18$). Le nabilone n'a pas non plus réussi à augmenter la force d'analgésie moyenne du mécanisme inhibiteur descendant. Néanmoins, à la dose de 1 mg et seulement chez les femmes, le nabilone a significativement réduit ($p = 0,003$) l'effet de la sommation temporelle ressentie

par les participantes suivant l'activation du mécanisme descendant du contrôle de la douleur (i.e. pendant la période de temps où l'effet de la sommation temporelle est la plus importante). Cet effet anti-hyperalgésique des cannabinoïdes n'a pas été vu chez les hommes (dose 0,5 mg et 1 mg), suggérant que l'effet anti-hyperalgésique des cannabinoïdes est plus fort chez les femmes que les hommes. Les effets secondaires perçus étaient pour la plupart faible et n'ont pas empêché la continuation de l'étude.

Conclusion : Le nabilone n'a pas produit d'effet analgésique et n'a pas agi de façon synergétique avec l'effet analgésique du système inhibiteur descendant du contrôle de la douleur. Par contre, nous avons vu qu'avec une dose de 1mg, chez les femmes, il peut réduire l'effet de la sommation temporelle suite à l'activation de ce mécanisme descendant. Bien qu'une titration du nabilone soit requise et qu'un plus grand groupe de sujets ait pu nous permettre de voir des effets plus robustes, ces résultats préliminaires suggèrent que le nabilone peut être efficace pour calmer les réponses hyperalgésiques des femmes. Les mécanismes neurobiologiques possiblement associés et ses implications cliniques y seront étudiés.

5. Analgesic and Antihyperalgesic Effects of Nabilone on Experimental Heat Pain

William John Redmond¹, Philippe Goffaux¹, Stéphane Potvin¹, Serge Marchand¹

¹Université de Sherbrooke, Faculté de Médecine, Sherbrooke, Québec, Canada, J1H 5N4.

Keywords:

analgesia, antihyperalgesia, counterirritation, cannabinoid, nabilone, placebo, sex-difference

Pages : 18

Tables : 1

Figures : 4

Abstract

Objective: In this study, we explored the analgesic and antihyperalgesic properties of a synthetic cannabinoid (nabilone) on experimental heat pain in men and women, as well as its effects on descending pain inhibitory systems.

Research design and methods: A double-blind, placebo controlled, crossover study of nabilone single doses of 0.5 and 1 mg was conducted. Excitatory systems were elicited using a temporal summation test (tonic heat pain evoked by a Peltier thermode) administered before and after activation of descending inhibitory control (triggered using a counterirritation procedure). These tests were given before and after drug treatment. Primary outcome measures included average heat pain, temporal summation of heat pain, and drug-induced changes in the strength of descending analgesia. Possible adverse reactions were monitored throughout treatment. Seven men (mean age= 22.5, SD= ±1.5) and 10 women (mean age= 23.2, SD= ±2.8) completed this study.

Results: Nabilone (1mg and 0.5mg) did not reduce the global pain intensity experienced during tonic heat pain (all $P_s > .18$). It also failed to potentiate the strength of descending inhibitory responses (all $P_s > .43$). Nevertheless, at the highest dose (1mg), and only for women, nabilone significantly ($P = .003$) dampened the temporal summation experienced during the last portion of the tonic heat pulse test (i.e., the period of time during which temporal summation is greatest). This antihyperalgesic effect was not observed for men (at either 0.5 mg or 1 mg dose), suggesting that the antihyperalgesic properties of cannabinoids are greater for women than for men. Adverse reactions encountered were generally mild and did not provoke the cessation of testing.

Conclusions: Nabilone failed to produce analgesic effects and it did not interact with descending pain inhibitory systems. However, we found that a single 1 mg dose of nabilone reduced temporal summation for women but not men. Although a titration regime and a larger sample of subjects might have provided more robust effects, these preliminary results suggest that nabilone appears effective at relieving hyperalgesic responses in women. Possible neurobiological mechanisms and clinical implications are further discussed.

Introduction

In recent years, the possible analgesic properties of cannabinoids have generated a lot of interest, in particular, Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), one of the most potent cannabinoids. Based on a large animal literature, it is clear that THC has anti-nociceptive effects when administered exogenously to rodents¹⁻⁴. Cannabinoids also appear to reduce nociception in chronic pain models. That is, cannabinoid agonists have been shown to reduce primary and secondary hyperalgesia in rat models of neuropathic⁵ and inflammatory⁶ pain. Unfortunately the exact mechanisms involved are poorly understood.

One way cannabinoids may act to dampen the intensity of nociceptive signals in prolonged pain models is through its potentiating actions on descending inhibitory systems. Descending inhibitory systems originate in the brainstem and are dynamically triggered following prolonged noxious insult^{7,8}. Once triggered, these systems send inhibitory efferent throughout the spinal cord, dampening the intensity of nociceptive drives. This form of endogenous analgesia is at the heart of the counter-irritation phenomenon (the *pain inhibits pain phenomenon*) and is known to depend, at least partly, on the release of endogenous opioids⁹. Descending inhibitory systems are often referred to as diffuse noxious inhibitory control (DNIC). Interestingly, Monhemius et al.¹⁰ recently showed that cannabinoid receptor ligands are also important mediators of descending inhibition. These authors found that microinjections of cannabinoids in the gigantocellular nucleus, a brainstem structure involved in descending inhibition, produced behavioural analgesia in rats. Similarly, Walker et al.¹¹ showed that electrical stimulations of the brainstem produce analgesia which was reversed following the administration of a cannabinoid antagonist. These recent findings are interesting because they indicate that cannabinoid compounds may be important, non-opiate ligands, responsible for descending inhibition.

Although cannabinoid-induced analgesia is now well recognized in animal models, evidence of its analgesic properties in humans is less conclusive^{12,13}. Up until 1999,

clinical trials measuring the efficacy of cannabinoid compounds in chronic pain patients involved small samples¹⁴. Recently, large-scale investigations of cannabinoids for chronic pain have been conducted and produced encouraging results. Interestingly, trials involving pain patients with neuropathic-like features (e.g. multiple sclerosis, neuropathic pain and fibromyalgia) have produced mostly positive results¹⁵⁻¹⁸, whereas studies measuring the efficacy of cannabinoids for acute pain (e.g. postoperative pain) have generated mostly negative results^{13, 19}. As for experimental studies involving healthy volunteers, studies have not reliably shown that cannabinoids produce pain-relieving effects^{20, 21}. One reason why promising animal results have not translated to human research may be due to the type of pain tested. That is, most experimental human research has focused on brief, sharp pain^{20, 22}, without assessing the potential effect of cannabinoids on longer lasting pain stimuli, which are used to model centralized pain in healthy subjects. Brief sharp pain is typically used to assess analgesic responses, not antihyperalgesic ones. Therefore, if cannabinoids have antihyperalgesic properties, longer lasting pain stimuli should be tested. As well, no human study has ever verified the importance of cannabinoids in predicting the strength of descending inhibitory systems.^{23, 24} Studies presently assessing cannabinoid effects in humans are mostly clinical in nature, focusing on quality of life, rather than on the different mechanisms susceptible of mediating pain relief.

The aim of the present study was to evaluate the potential analgesic effects of orally administered nabilone (a synthetic THC analogue) on noxious long lasting heat stimulations and on the strength of descending analgesia in healthy volunteers. More precisely, we assessed the analgesic/antihyperalgesic effects of nabilone on mean pain scores, on the temporal summation of heat pain, and on the strength of endogenous descending inhibition.

Materials and methods

Subjects

Twenty healthy volunteers between the age of 18 and 30 participated in this study. They were recruited from the university staff and student population. Participants were eligible for testing if they were healthy and did not suffer from a medical condition at the time of the study. Participants currently taking medications were excluded from this study (except women taking oral contraceptives). In addition, we ensured that our participants did not suffer from the presence (or showed signs of) a schizophrenia spectrum disorder, or with a family history of schizophrenia. This information was gathered via self report. Women participating in our study were not pregnant (confirmed via a pregnancy test) and were not planning on becoming pregnant in the next three months. A urine sample was collected to verify for the absence of THC metabolites. None of our subjects showed elevated urine concentrations of THC metabolites, proving that they were drug free for a period of at least three months at time of testing. Participants were asked to abstain from giving blood for a period of three months following the last administration of the drug. Informed consent was obtained in accordance with the Declaration of Helsinki and the guidelines of the Human Subjects Committee of the Centre de Recherche Clinique Étienne-Label of the Centre Hospitalier de l'Université de Sherbrooke.

Test stimulus

Our test stimulus consisted of a continuous heat pulse administered with a thermode for 110 sec on the left forearm of each participant. The experimental temperature quickly reached a fixed value that remained constant during the entire 110 sec period (baseline temperature = 32°C ; rising rate = 0.3°C/second). It was set at a value corresponding to a temperature individually pre-determined to induce a 50 (out of 100) pain intensity rating. This pre-determined value was calculated during a pre-testing phase, and was conducted on the opposite forearm (i.e., right forearm). During pre-testing, the thermode increased progressively until it was no longer tolerable (score of 100). Participants had to say when they felt a pain intensity rating of 50/100. This was repeated three times to ensure a

reliable response. During testing, participants were not told that the temperature would remain constant. The Peltier thermode used [TSA II, Medoc, Advanced medical systems, Minneapolis, MN 55435] was a 9 cm² heating plate connected to a computer which allowed us to set the temperature precisely. During thermal stimulation, pain intensity was measured using a computerized visual analog scale (COVAS) which ranged from 0 (no pain) to 100 (most intense pain imaginable). . Research in our laboratory has shown that pain perception scores increase progressively during this tonic heat test, even if the temperature remains constant, indicating a temporal summation effect (see Figure 1).

A cold pressor task (CPT) was used as a conditioning stimulus to elicit a strong and prolonged pain sensation and to trigger DNIC. Participants immersed their right arm, for 2 min. in a bath of cold water (7°C). Recirculating water was used in order to avoid laminar heating of the arm. During the CPT, subjects verbally rated their immersion-induced pain (every 15 sec.) using a numerical rating scale ranging from 0 (no pain) to 100 (most intense pain imaginable). CPT pain was obtained by computing the average pain rating given every 15 sec.

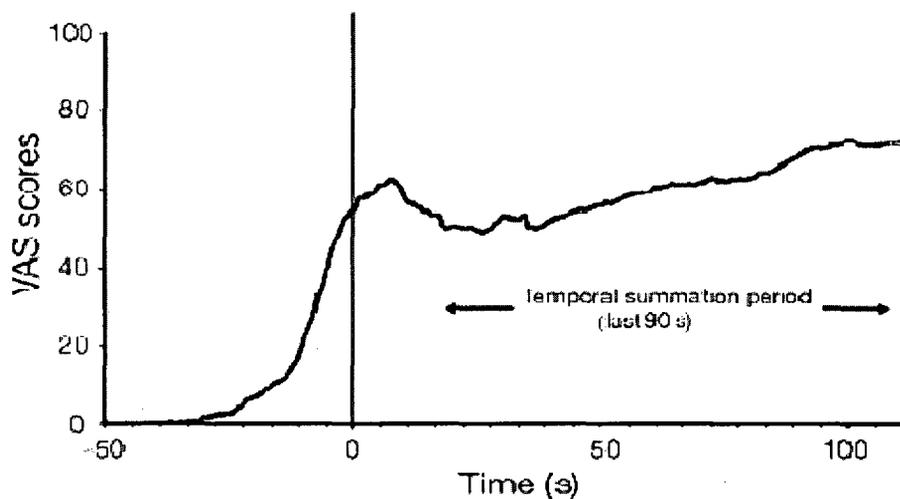


Figure 1. Example of the response curve acquired during the tonic heat pulse test. The vertical bar represents the time point when the thermode reaches its fixed temperature. Temporal summation characterizes the rise in pain intensity obtained during the last 90s of testing. Increasing intensity values during this time can be distinguished from the rise in pain intensity observed at the beginning of testing. This latter rise occurs during (and shortly after) the gradual increase in thermode temperature, and so, it can less confidently be attributed to temporal summation (a phenomenon dependent on the summation of pain through time, not temperature)

Experimental procedure

Subjects were seen three times, each visit corresponding to the double-blind, randomized administration of a different oral dose of nabilone (placebo, 0.5mg or 1mg).

Each visit began with the pre-test session, followed by a first temporal summation test (Time 1). Subjects then immersed their right arm in cold water for 2 minutes, to trigger DNIC. Following this, a second temporal summation test (Time 2) was immediately completed, using the same parameters as those used at Time 1. The change in thermode pain produced by the immersion procedure served as our measure of DNIC. After this first experimental block (Block 1), subjects were randomly given one of three oral doses of the medication (placebo, 0.5 mg or 1 mg). Following a 2-hour waiting period, corresponding to nabilone's T_{max} , participants repeated the same testing procedures used in Block 1 (i.e., Time 1 → immersion → Time 2). Pre-testing was not repeated prior to the second testing block (Block 2) since the same thermode temperatures were used throughout a given visit. Differences between the scores obtained in Block 1 and 2 allowed us to isolate nabilone's effects on initial temporal summation and DNIC strength. A minimum washout period of one week was given between each experimental session to prevent the cumulative concentration of cannabinoids metabolites.

Possible adverse reactions were monitored throughout the study. They were noted using a checklist and complemented via self-report.

Statistical analysis

All data are given as means \pm SE. Analgesic effects were measured by recording changes in the average pain intensity score obtained during the tonic heat pulse. To observe medication-induced and DNIC-induced changes in average pain intensity we conducted a Block (1 and 2) X Time (1 and 2) repeated measures ANOVA for each one of our three conditions (placebo, 0.5mg, 1mg). A Block main effect indicated that the drug had

analgesic properties whereas a Time main effect indicated that DNIC had analgesic properties. A Block X Time interaction indicated that the drug moderated DNIC's analgesic potential.

To observe antihyperalgesic effects, we calculated the change in pain intensity observed during the last 90 sec of the tonic heat pulse. This change was quantified as the difference in pain intensity between the first and last 15 sec of the 90 sec stimulation period (see Figure 1). To observe medication-induced and DNIC-induced changes in average pain intensity we, again, conducted a Block (1 and 2) X Time (1 and 2) repeated measures ANOVA for each one of our three conditions (placebo, 0.5mg, 1mg). A Block main effect indicated that the drug had antihyperalgesic properties whereas a Time main effect indicated that DNIC had antihyperalgesic properties. A Block X Time interaction indicated that the drug moderated DNIC's antihyperalgesic potential. Bonferroni corrections were applied to ANOVAs and *t*-tests where appropriate and $P < .05$ (two-tailed) was considered statistically significant.

It is important to note that for all significant Block by Time interactions (i.e., drug interactions) post-hoc simple effects were planned in order test for drug effects before and after the immersion procedure. In addition to these logical post-hoc analyses, we conducted separate ANOVAs to see if sex further moderated any effect of Block that might have been flagged by our original statistic. Sex effects were explored post-hoc because the cannabinoid system is highly sexually differentiated and might moderate the pain relieving properties of cannabinoids. Given the relatively small number of men and women tested, we also report observed power and effect size estimates (Cohen's *d*) for these analyses.

Results

Subjects

Although 10 men and 10 women were recruited, three men did not complete testing. Two dropped out because of time constraints and one dropped out because he started a medical treatment which was not related to our study. As a result, seven men (mean age= 22.5, SD= ± 1.5) completed testing and were included in our analyses. All 10 recruited women completed testing (mean age= 23.2, SD= ± 2.8).

Immersion-induced Pain

Average pain intensity ratings recorded during the immersion procedure were comparable between conditions (placebo, 0.5mg, 1.0mg) at Block 1 ($F=0.46$ $P=0.64$) and at Block 2 ($F=0.69$ $P=0.52$).

Analgesic properties of nabilone and DNIC

As shown in Figure 2, oral administration of nabilone (0.5 mg or 1 mg) failed to produce a significant, global analgesic effects when average pain scores were analysed (0.5mg, $F=1.91$, $P=0.19$; 1mg, $F=0.36$, $P=0.56$). However, the placebo condition significantly reduced average pain scores ($F=11.28$, $P=0.004$). None of our conditions (placebo, 0.5mg, 1mg) interacted significantly with Time (all F 's <0.64 , all P 's >0.43), suggesting that the analgesic effect of DNIC was not influenced by the medication taken. Nevertheless, a DNIC effect was present in all of our conditions (all F 's >17.51 , all P 's <0.001 ; see Figure 3).

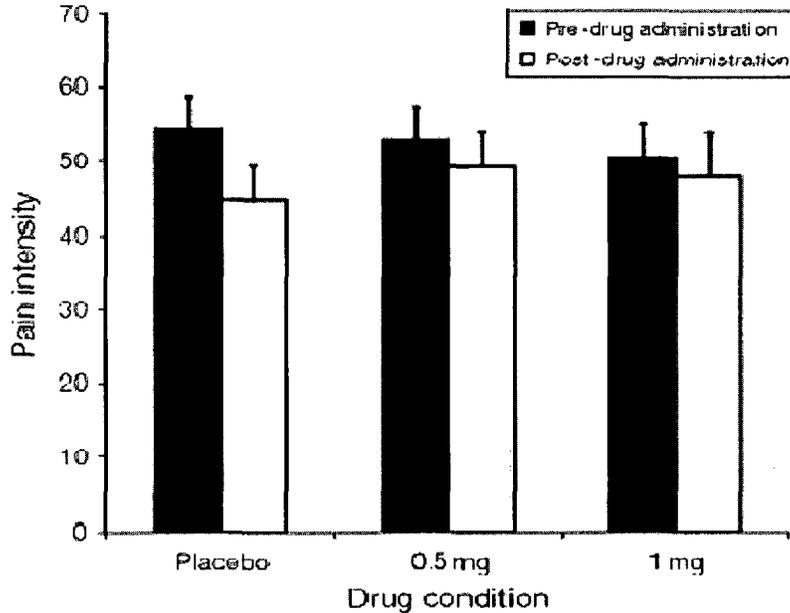
Antihyperalgesic properties of nabilone and DNIC

Despite showing the presence of temporal summation in all of our conditions (i.e., at Time 1, Block 1 for all three doses, all t 's >3.76 , all P 's <0.003), results failed to show a

significant reduction in the summation of pain when placebo ($F=1.15$, $P=0.3$) or nabilone (0.5mg, $F=0.36$, $P=0.56$; 1mg, $F=4.47$, $P=0.05$) was taken. DNIC also failed to produce a significant reduction in temporal summation suggesting that DNIC does not dampen the gradual increase in pain observed when long-lasting thermal stimulations are administered (the Time main effect in all of our conditions was: all F 's <2.42 , all P 's >0.14). Finally, none of our conditions (placebo, 0.5mg, 1mg) interacted significantly with Time (all F 's <3.32 , all P 's >0.09).

It is interesting to note that despite a non-significant reduction in temporal summation when either one of our nabilone doses (0.5 mg or 1 mg) were analysed, a non-statistically significant trend was observed at the highest nabilone dose (i.e., $P=0.05$ at 1mg). To better understand the locus of this trend, we conducted separate analyses for men and women at the 1mg dose. As shown in Figure 4, results revealed that nabilone 1mg significantly reduced temporal summation for women ($F=29.98$, $P=0.003$, $d= 2.0$, power= 98%), but not for men ($F=0.24$, $P=0.64$, $d= 0.4$, power= 7%). Again, no interaction with Time was found (for men: $F=0.91$ $P=0.38$, $d= 0.8$, power= 13%; for

women: $F=0.34$ $P=0.69$, $d= 0.4$, power= 8%).



*Figure 2. A significant reduction in mean pain intensity was obtained for the placebo condition but not for the nabilone 0.5 mg and 1 mg conditions. *Significant at $p = 0.004$*

Analyses conducted on drug dose (placebo, 0.5mg or 1mg) failed to show the presence of sequence effects (all F 's<1.1, all P 's>0.36).

Adverse events

No life-threatening or important adverse reactions were observed during testing. The most common side effects encountered are reported in Table 1. None of the adverse events reported were strong enough to provoke the cessation of testing and side effects were not linked to the decision, taken by three of our male participants to drop-out of the study.

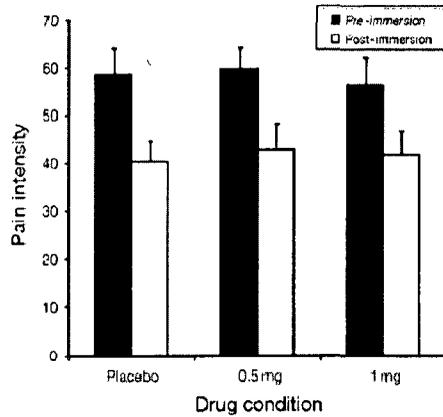


Figure 3. The immersion procedure produced a significant reduction in mean pain intensity for all three conditions (placebo, 0.5 mg, and 1 mg). *Significant at $p < 0.001$

Table 1. Incidence of side effects

Side effects	Event count		
	Placebo (N = 17)	0.5 mg (N = 17)	1 mg (N = 17)
Dry mouth	0	3	9
Red eyes	1	1	9
Mild sedation	3	4	7
Euphoria	1	4	6
Dizziness	1	3	6
Increased appetite	1	1	3
Headache	1	2	3
Nausea	0	0	2
Slowed movements	0	2	1
Feeling cold	1	1	1

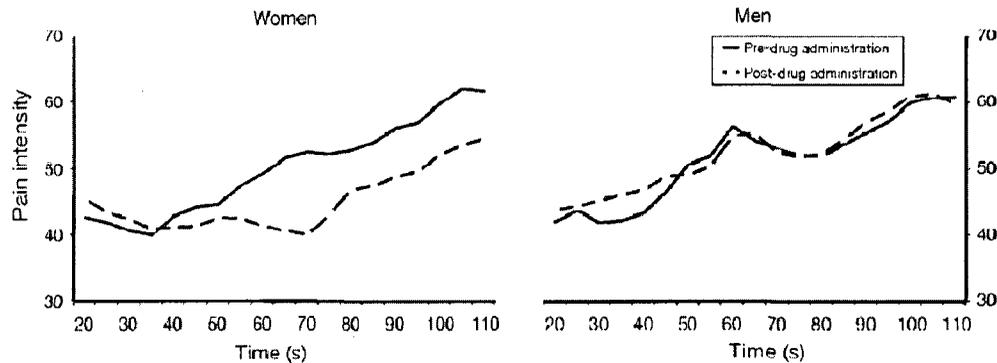


Figure 4. Pain intensity ratings obtained during the last 90 s of the tonic heat pulse test are shown. Following a 1 mg dose of nabilone (dashed-line), temporal summation was significantly reduced for women but not men

Discussion

The present study showed that a single, orally administered dose of nabilone (0.5 mg or 1 mg), does not affect mean heat pain, suggesting that nabilone does not act as an analgesic agent. Nabilone also failed to moderate the strength of descending inhibitory responses triggered during counterirritation. However, at the highest dose (i.e., 1 mg), nabilone reduced the temporal summation of heat pain triggered by the continuous stimulation of the forearm in women but not men. This means that, in women, nabilone may act as an antihyperalgesic agent.

Although this study was not designed to isolate the precise neurobiological mechanisms underlying nabilone's antihyperalgesic effects, several hypotheses can be advanced. One

possibility is that nabilone prevents the temporal summation of pain because it binds to the vanilloid VR₁ receptor responsible for mediating c-fiber-induced temporal summation^{2,25}. VR₁ receptors mediate pain responses to prolonged noxious heat and can be found on c-fiber primary afferent neurons²⁶. Once bound to these receptors, nabilone may be able to desensitize the cell (in much the same way as capsaicin), and provoke antihyperalgesia. This proposed mechanism of action is consistent with the idea that cannabinoids can act on primary afferent neurons to change their nociceptive signature.

Another possibility is that nabilone has antihyperalgesic effects because it inhibits the release of centrally acting neurotransmitters involved in nociception, such as glutamate (the primary ligand of the NMDA receptor). In one of the first studies on this topic, Richardson et al.²⁷ showed that a cannabinoid receptor antagonist increased thermal hyperalgesia which was dose-dependently blocked following the administration of a competitive NMDA antagonist. The authors conclude that hypoactivity of the spinal cannabinoid system results in NMDA-dependent hyperalgesia. This is a key finding because the NMDA receptor is critically involved in the temporal summation of heat pain. Following repeat stimulation of NMDA receptors, a cascade of neurochemical events occur which lowers the synaptic excitability of second-order neurons and promotes central sensitization. Under the influence of cannabinoid agonists, therefore, synaptic hyperexcitability of spinal nociceptive neurons may be inhibited, or at the very least reduced. This hypothesis is consistent with findings from Wallace et al.²¹ and Rukwied et al.²⁸ who showed, in an experimental context, that cannabinoids produce antihyperalgesic effects using capsaicin in healthy volunteers. Clearly future studies are needed to better characterize the neurobiological mechanisms underlying nabilone's antihyperalgesic properties and to better understand why a sex difference is present.

Our single administration of nabilone (0.5 mg or 1 mg) did not potentiate DNIC's effects. This suggests that nabilone may provide pain-relief via a different mechanism than the one triggered during counterirritation. This was an unexpected finding since recent animal research suggests that cannabinoids (especially CB1 receptor agonists) influence

descending inhibition.^{11, 24} Species dependent variations may explain why cannabinoids potentiate endogenous pain inhibition in rodents but not in humans. We should be careful, therefore, before generalizing results from mice to men. Another possibility is that our single dose design was too brief to provide lasting changes in systemic function such as descending inhibition. In other words, the single bolus administration of nabilone (0.5 mg or 1mg) may not provide sufficient drug concentrations for it to act as a chemical messenger in the brainstem and for it to induce a significant change in the efficacy of descending inhibitory pathways. Repeat administration of nabilone involving functionally effective doses of the drug may help address this issue. To our knowledge, no study has ever looked at the pain-relieving properties of the cannabinoid-DNIC interaction using a titration regime.

It is important to point out that, in the current study, we obtained a significant reduction of mean heat pain in the placebo condition. At first glance, this may seem unexpected, especially since both nabilone conditions failed to produce significant analgesic effects. Nevertheless, this finding is entirely consistent with a large number of studies showing that placebo-analgesia is common in clinical trials^{29, 30}. Benedetti et al.³¹ even showed that, in some circumstances, the neurobiological mechanisms underlying placebo analgesia can differ from those underlying active drug effects. This usually happens when placebos are unconditioned (i.e., where the prior experience of an active drug does not potentiate the strength of the placebo) and when the active drug is non-opioidergic. When placebos are unconditioned, the placebo effect occurs because of expectation mechanisms and involves the release of endogenous opioids. Since the placebo analgesia obtained in the present study was not influenced by sequencing effects, we can conclude that it did not occur because of a nabilone-conditioned response (i.e., our placebo was unconditioned). This means that nabilone-induced effects and placebo effects should involve different biological mechanisms. We should not be surprised, therefore, to find that our placebo effect was analgesic, whereas our nabilone effect (1 mg dose in women) was antihyperalgesic.

It is important to point out that since we did not provide a gradual titration of nabilone, we may have missed important and potentially significant effects. For this reason, the absence of an analgesic effect when nabilone was given should be interpreted only tentatively. Furthermore, we want to caution against generalizing our main finding (i.e., an antihyperalgesic effect observed only in women) from such a small sample (N=17). This study did not have the power necessary to confirm that men do not react to nabilone. A potential problem arising from the drop-out of 3 subjects is the lack of power and the risk of type II error. Nevertheless, the very small effect size observed for men ($d=0.4$) suggests that our non-significant difference truly represents the absence of an effect rather than a problem linked to sample size. Future studies are needed to validate our observations. Notwithstanding these limitations, our study provides preliminary evidence that may become clinically important. For example, if future studies confirm that nabilone demonstrates reliable antihyperalgesic effects in women, then nabilone may help alleviate chronic pain conditions which predominantly affect women, such as fibromyalgia. This possibility was recently tested by Skrabek et al.¹⁷ who found that following the titrated administration of nabilone, fibromyalgia patients reported significantly less clinical pain and anxiety. Moreover, nabilone appeared to be well tolerated and had a positive impact on the functional outcome of patients. Given the right indication, therefore, cannabinoid compounds may soon become a legitimate addition to the pain pharmacopeia.

Conclusion

This study failed to find an analgesic effect following the single administration of 1mg or 0.5mg oral doses of nabilone. Nevertheless, a significant antihyperalgesic effect was observed in women. This effect was only observed at the largest dose (1mg) and was not present in men. Such preliminary results are promising since they suggest that nabilone may act as an efficient agent in the fight against chronic pain, in particular for conditions that predominantly affect women. Although the small sample and the use of experimental pain limits the scope of our findings, our research still found a significant

dampening of the hyperalgesic responses of women, suggesting that nabilone's pain relieving properties may be central in origin. More research is clearly warranted to document the full antihyperalgesic potential of nabilone and demonstrate the generalizability of our results to a broader clinical setting.

Acknowledgements

This work was supported by an unrestrictive grant provided by Valeant Canada, Inc. SM was funded by the Canadian Institute of Health Research and SP holds a postdoctoral scholarship from the Canadian Institute of Health Research. No editorial assistance was provided during preparation of the manuscript.

References

1. Cheng Y, Hitchcock SA. Targeting cannabinoid agonists for inflammatory and neuropathic pain. *Expert Opin Investig Drugs* 2007;16:951-65
2. Pertwee RG. Cannabinoid receptors and pain. *Prog Neurobiol* 2001;63:569-611
3. Iversen L. Cannabis and the brain. *Brain* 2003;126:1252-70
4. Walker JM, Huang SM. Cannabinoid analgesia. *Pharmacol Ther* 2002;95:127-35
5. Herzberg U, Eliav E, Bennett GJ, Kopin IJ. The analgesic effects of R(+)-WIN 55,212-2 mesylate, a high affinity cannabinoid agonist, in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci Lett* 1997;221:157-60
6. Gutierrez T, Farthing JN, Zvonok AM, et al. Activation of peripheral cannabinoid CB1 and CB2 receptors suppresses the maintenance of inflammatory nociception: a comparative analysis. *Br J Pharmacol* 2007;150:153-63
7. Le Bars D, Dickenson AH, Besson JM. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC). I. Effects on dorsal horn convergent neurones in the rat. *Pain* 1979;6:283-304
8. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol* 2002;66:355-474
9. Le Bars D, Villanueva L, Bouhassira D, Willer JC. Diffuse noxious inhibitory controls (DNIC) in animals and in man. *Patol Fiziol Eksp Ter* 1992;55-65
10. Monhemius R, Azami J, Green DL, Roberts MH. CB1 receptor mediated analgesia from the Nucleus Reticularis Gigantocellularis pars alpha is activated in an animal model of neuropathic pain. *Brain Res* 2001;908:67-74
11. Walker JM, Huang SM, Strangman NM, et al. Pain modulation by release of the endogenous cannabinoid anandamide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:12198-203
12. Roberts JD, Gennings C, Shih M. Synergistic affective analgesic interaction between delta-9-tetrahydrocannabinol and morphine. *Eur J Pharmacol* 2006;530:54-8
13. Beaulieu P. Effects of nabilone, a synthetic cannabinoid, on postoperative pain. *Can J Anaesth* 2006;53:769-75
14. Campbell FA, Tramer MR, Carroll D, et al. Are cannabinoids an effective and safe treatment option in the management of pain? A qualitative systematic review. *BMJ* 2001;323:13-6

15. Nurmikko TJ, Serpell MG, Hoggart B, et al. Sativex successfully treats neuropathic pain characterised by allodynia: a randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Pain* 2007;133:210-20
16. Rog DJ, Nurmikko TJ, Friede T, Young CA. Randomized, controlled trial of cannabis-based medicine in central pain in multiple sclerosis. *Neurology* 2005;65:812-9
17. Skrabek RQ, Galimova L, Ethans K, Perry D. Nabilone for the treatment of pain in fibromyalgia. *J Pain* 2008;9:164-73
18. Zajicek J, Fox P, Sanders H, et al. Cannabinoids for treatment of spasticity and other symptoms related to multiple sclerosis (CAMS study): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003;362:1517-26
19. Buggy DJ, Toogood L, Maric S, et al. Lack of analgesic efficacy of oral delta-9-tetrahydrocannabinol in postoperative pain. *Pain* 2003;106:169-72
20. Naef M, Curatolo M, Petersen-Felix S, et al. The analgesic effect of oral delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), morphine, and a THC-morphine combination in healthy subjects under experimental pain conditions. *Pain* 2003;105:79-88
21. Wallace M, Schulteis G, Atkinson JH, et al. Dose-dependent effects of smoked cannabis on capsaicin-induced pain and hyperalgesia in healthy volunteers. *Anesthesiology* 2007;107:785-96
22. Roberts JD, Gennings C, Shih M. Synergistic affective analgesic interaction between delta-9-tetrahydrocannabinol and morphine. *Eur J Pharmacol* 2006;530:54-8
23. Walker JM, Huang SM. Endocannabinoids in pain modulation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2002;66:235-42
24. Hohmann AG, Suplita RL. Endocannabinoid mechanisms of pain modulation. *AAPS J* 2006;8:E693-E708
25. Iversen L, Chapman V. Cannabinoids: a real prospect for pain relief? *Curr Opin Pharmacol* 2002;2:50-5
26. Nagy I, Santha P, Jancso G, Urban L. The role of the vanilloid (capsaicin) receptor (TRPV1) in physiology and pathology. *Eur J Pharmacol* 2004;500:351-69
27. Richardson JD, Aanonsen L, Hargreaves KM. Hypoactivity of the spinal cannabinoid system results in NMDA-dependent hyperalgesia. *J Neurosci* 1998;18:451-7

28. Rukwied R, Watkinson A, McGlone F, Dvorak M. Cannabinoid agonists attenuate capsaicin-induced responses in human skin. *Pain* 2003;102:283-8
29. Price DD, Finniss DG, Benedetti F. A Comprehensive Review of the Placebo Effect: Recent Advances and Current Thought. *Annu Rev Psychol* 2007;
30. Koshi EB, Short CA. Placebo theory and its implications for research and clinical practice: a review of the recent literature. *Pain Pract* 2007;7:4-20
31. Benedetti F, Pollo A, Lopiano L, et al. Conscious expectation and unconscious conditioning in analgesic, motor, and hormonal placebo/nocebo responses. *J Neurosci* 2003;23:4315-23

6. Matériels et méthodes supplémentaires

Réflexe nociceptif: Ce test consiste à placer une électrode de stimulation électrique sur la partie externe de la cheville gauche afin de pouvoir stimuler, avec de faibles intensités, le nerf sural. Le réflexe occasionné par la stimulation du nerf est mesuré à l'aide de deux électrodes placées sur le biceps fémoral de la jambe. Ainsi, le patient reçoit de petites stimulations électriques d'une durée maximale de 15 millisecondes qui sont comparables à une sensation communément appelée "électricité statique" et qui peut aussi être ressentie comme un picotement. La stimulation ne dépasse jamais l'intensité maximale déterminée par le patient lors de tests préliminaires.

Mesures électrophysiologiques : L'activité physiologique de base a été mesurée au repos au début et à la fin de chaque séance expérimentale (PES, EMG, ECG, activité électrodermale (EDA)).

Évaluation de l'anxiété et du stress: La mesure de l'anxiété et du stress a été faite à partir de l'Inventaire d'Anxiété Situationnelle et de Trait Anxieux (IASTA). Ce test est fréquemment utilisé en recherche et possède d'excellentes propriétés psychométriques.

La population à l'étude a été composée d'hommes et de femmes âgés de 18 à 65 ans qui ne souffrent pas de douleurs chroniques et qui n'ont pas d'histoire d'abus ou de dépendance aux drogues et à l'alcool.

Pour y être accepté, il fallait être un homme ou une femme âgée entre 18 et 65 ans et pouvant donner le consentement écrit pour la participation à l'étude. Les participants devaient avoir des signes vitaux normaux et devaient être exempts de toutes affectations cliniques pouvant nuire au bon déroulement de l'étude. Seules les femmes se prévalant de moyens contraceptifs étaient incluses à l'étude.

Les sujets ayant au moins une des conditions ci-dessous n'étaient pas inclus à l'étude :

- Avoir subi une opération chirurgicale
- Avoir subi un accident ou un traumatisme sévère menant à une lésion tissulaire ou nerveuse importante.
- Présence d'une pathologie chronique, métabolique, neuropathique ou d'un déficit cognitif
- Présence ou historique d'un trouble psychiatrique
- Présence d'un trouble de l'humeur ou d'un trouble anxieux.
- Présence de maladies cardiorespiratoires ou endocriniennes.
- Prise de médication quel qu'elle soit, outre la pilule contraceptive.
- Grossesse/allaitement ou prévoir devenir enceinte dans les prochains mois et/ou test de grossesse positif
- Consommer ou avoir consommé des drogues à des fins récréatives pendant au moins les 6 derniers mois (incluant le cannabis).
- Avoir un historique de problèmes liés à l'abus et/ou la dépendance aux drogues et à l'alcool.

Les sujets éligibles à l'étude devaient respecter les conditions de participation à l'étude afin d'assurer le bon déroulement du projet et éviter ainsi les biais et autres facteurs confondants.

Le médicament à l'étude était le Cesamet® (nabilone) qui était administré en une seule dose de 0.5mg ou de 1.0mg par visite. Un placebo était aussi administré. Celui-ci comporte les mêmes propriétés chimiques que le comprimé de Cesamet®, sauf pour l'ingrédient actif, soit le nabilone. L'administration se faisait par voie orale et les niveaux plasmatiques de pointe du Cesamet® étaient atteints après deux heures. Les comprimés de Cesamet® (0.5mg et 1.0mg) et le placebo sont tous d'apparence identique ce qui nous a permis une administration en double aveugle.

Dans cette phase de l'étude, à laquelle participaient 20 participants, 10 hommes et 10 femmes, un test de réflexe nociceptif R3 était effectué. Ce test permettait de voir la diminution possible de l'amplitude du réflexe de retrait du participant, vu grâce à la contraction du biceps fémoral suite à des stimulations électriques du nerf sural, légèrement au-dessus du seuil de la douleur du participant. En comparant la force de contraction avant et après l'administration de chacune des doses de Cesamet®, nous pouvions voir si ce dernier permet de diminuer la force de ce réflexe, ce qui devait être corrélé à une diminution de la douleur perçue par le participant. De plus, lors de chacune des stimulations, la mesure des potentiels évoqués vus par électroencéphalogramme nous a permis de voir, durant environ 800ms suite à chaque stimulation électrique induite par la stimulation du nerf sural, l'activité du cerveau concernant ce stimulus. Ces données nous permettent de suivre les variations dans le champ électrique produit par le cerveau lorsque celui-ci intègre le message

nociceptif. Encore une fois, les différences encourrues entre avant et après l'administration du Cesamet® nous permettent de cerner le potentiel analgésique des cannabinoïdes au niveau de l'intégration des messages nociceptifs au niveau du cerveau. Il est important de noter que l'utilisation de stimulations électriques stimulent principalement les fibres A delta plutôt que les fibres C, toutes deux servant à acheminer les messages nociceptifs. Ces deux mesures nous permettent donc de vérifier principalement l'action du Cesamet® sur ces premières.

Les variables indépendantes à cette étude sont la variable *traitement* (comprimé de cannabinoïdes à dose maximale vs. comprimé de cannabinoïdes à dose modérée vs. comprimé placebo) et la variable *temps* (avant la prise d'un comprimé vs. après).

Les variables dépendantes à l'étude sont la perception de la douleur, incluant l'intensité de la douleur expérimentale ainsi que son aspect désagréable. Les autres variables considérées sont les réponses électrophysiologiques pour évaluer le fonctionnement du système nerveux central et autonome.

Pour ce projet, nous émettions l'hypothèse que la prise de Cesamet® entraînerait une diminution de la douleur provoquée par les fibres A δ . Ceci devait diminuer l'intégration des signaux nociceptifs (de type A δ) au niveau de la moelle et entraîner une diminution dans la taille du réflexe RIII. L'analyse principale employée pour évaluer cette hypothèse était l'analyse de variance à mesure répétée. Une interaction entre la condition *traitement* et la condition *temps* nous aurait permis d'évaluer si le Cesamet® parvient effectivement à diminuer l'amplitude du réflexe de retrait. Il est à noter que cette même analyse était aussi

effectuée sur les scores verbaux de douleurs et sur les réponses électroencéphalographiques, cardiaques et galvaniques. Pour chaque analyse, le seuil de signification était maintenu à $\alpha = .05$.

7. DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Bien que notre revue de littérature semble démontrer un effet plutôt mitigé des propriétés analgésiques des cannabinoïdes chez l'humain, la nature-même des tests qui ont été effectués nous laissait croire qu'il ait été possible que son potentiel analgésique n'ait pas été isolé de façon efficace et précise. En effet, bien que le sujet du potentiel analgésique des cannabinoïdes chez l'humain ait été étudié, il l'était la plupart du temps par le biais d'études cliniques chez des populations déjà souffrantes, déjà sous d'autres médications. Les faibles doses utilisées pouvaient aussi mettre en doute leurs conclusions. C'était donc dans ce contexte que nous avons entrepris d'investiguer l'effet analgésique du nabilone chez des sujets sains lors de différents tests nociceptifs et de mesurer le potentiel synergétique entre le CIDN et celui du nabilone. Nos résultats démontrent que des doses de nabilone de 0,5 mg de même que 1 mg n'ont pas permis de trouver un effet analgésique du nabilone ni lors de tests de douleurs thermiques prolongées (wind-up), ni à l'aide de stimulation électrique du nerf sural. L'administration du nabilone associé à l'activation du CIDN n'a pas non plus su créer d'effet synergétique sur les scores moyens de douleur. Néanmoins, nous avons démontré l'effet antihyperalgésique du nabilone 1 mg pour notre groupe de femmes lors du test de wind-up suite à l'activation du CIDN, résultat intéressant suggérant un potentiel thérapeutique pour des personnes souffrant de douleurs chroniques.

Il ne faut pas par contre statuer trop rapidement qu'il n'y a donc aucun effet du nabilone au niveau de la douleur en général chez l'humain sain. En effet, nos tests avaient pour but de balayer, en deux études, son possible potentiel, dans le but de mieux cibler son mécanisme d'action.

Comme nous l'avons vu lors de l'introduction, l'effet des cannabinoïdes sur la douleur a été constaté aussi bien au niveau de la périphérie, de la moelle épinière qu'au niveau des centres supérieurs du cerveau. Ces effets peuvent être obtenus aussi bien par l'action des récepteurs CB1 que CB2. Puisque nous avons utilisé un médicament à action systémique, qui affectera les récepteurs CB1 et CB2, nous devrions nous attendre à un effet analgésique lors de douleurs de courtes durées et longues durées et pouvoir en dissocier l'effet spinal de son effet cortical à l'aide du test de RIII vu par électromyogramme et électroencéphalogramme. Par contre, l'utilisation large que nous en faisons peut être à la base même du fait que nous n'ayons pas pu identifier d'effet sur la douleur en général dû au fait que l'activation des récepteurs CB1 et CB2, liés à des effets bien différents au niveau de la douleur seront ici en jeu. Plusieurs facteurs peuvent être ici en cause.

Premièrement, nous devons discuter des autres effets du nabilone. Puisqu'il agit sur les récepteurs CB1, il a un effet psychotrope. L'effet euphorique des cannabinoïdes agissant sur CB1 n'est pas à sous-estimer, principalement lorsqu'un de nos procédés de base de récolte de données est l'expérience de la douleur perçue par le participant. Bien que l'expérience du cannabis puisse être vue comme agréable, elle peut aussi causer des malaises, créer de la paranoïa et être un anxiogène (MOREIRA et al., 2009). Le fait que les participants reçoivent différents stimuli nociceptifs, qu'ils soient branchés à différents moniteurs, dans un laboratoire et de plus en présence d'un expérimentateur qui le scrute peut probablement rehausser la composante émotionnelle de la douleur, plus difficile à percevoir, et fort probablement beaucoup plus importante chez l'humain que chez l'animal de laboratoire. L'effet des cannabinoïdes sur les récepteurs CB1 peut aussi causer une perte

de mémoire à court terme, ce qui est d'une importance capitale lors d'un test de nature avant – après administration avec deux heures d'attente. Il est aussi bon de noter que le nabilone entraîne de l'hypomotilité qui peut aussi avoir influencé nos résultats étant donné que notre échelle graduée électronique était manipulée à la main. En bref, avant même de regarder les effets du nabilone sur la douleur, il est important de noter qu'il y a une possibilité très forte d'influence des effets secondaires de ce médicament sur nos résultats qu'il n'était pas vraiment possible de contrôler.

Le fait d'utiliser des participants n'ayant pas consommé de cannabinoïdes depuis plusieurs mois (confirmé par test d'urine), voire ne jamais l'avoir essayé, peut aussi avoir joué en notre défaveur pour trois raisons. Premièrement, le manque d'expérience relié au potentiel euphorique du nabilone a pu rehausser les effets secondaires plus négatifs, telle que paranoïa, anxiété, et autres. Deuxièmement, comme nous l'avons vu, l'utilisation de cannabinoïdes exogènes aura comme effet de créer une régulation à la hausse des récepteurs CB1 et CB2. Il est donc possible qu'une acclimatation aux cannabinoïdes ait été préférable afin d'en vérifier le plein potentiel thérapeutique. Troisièmement, l'inexpérience des participants quant aux effets des cannabinoïdes et l'idée que les participants peuvent y associer a pu fortement hausser l'effet placebo que nous avons observé lors du test de wind-up. Le nombre de participants à cette étude limite aussi la portée de nos analyses.

Ensuite, avant de parler des effets du nabilone sur la douleur, nous devons parler du mode d'administration du médicament. En effet, le meilleur mode d'administration des cannabinoïdes reste l'inhalation de la fumée du cannabis. Il est fort possible qu'une majeure partie de l'ingrédient actif ne se rende pas au système nerveux central lorsqu'ingéré. Comme

il s'agit d'une molécule très lipophile, les pertes au niveau des graisses peuvent y être importantes. Finalement, lors des études animales, les cannabinoïdes sont administrés par voie intraveineuse, ce qui peut aussi expliquer des différences au niveau des résultats rongeurs vs humains.

Une autre cause possible de nos résultats négatifs peut être liée à la concentration utilisée de nabilone. En effet, nous n'avons pas non plus titré les effets du nabilone à une dose supérieure à 1 mg. Puisque nous n'avons eu qu'un effet analgésique du nabilone au niveau de l'hyperalgésie chez les femmes, il est possible qu'une plus forte dose ait pu avoir des effets beaucoup plus importants. Comme les femmes peuvent répondre différemment des hommes au niveau des cannabinoïdes à cause de l'influence des hormones sexuelles, il est donc possible de croire que le premier effet visible du nabilone avec nos tests soit un effet antihyperalgésique chez les femmes et qu'à des doses supérieures, cet effet puisse être visible aussi chez les hommes, voire lors de nos autres tests nociceptifs. Chez l'animal, il est d'ailleurs beaucoup plus aisé d'administrer de plus fortes doses sans crainte éthique.

Cette possible distinction entre les hommes et les femmes n'existe pas seulement au niveau de la concentration de nabilone nécessaire pour obtenir un effet. Comme nous l'avons vu, un lien entre niveau d'hormones sexuelles et réponse aux cannabinoïdes commence à être établi, quoiqu'il soit encore assez peu documenté pour l'instant. Il est bon de regarder les résultats que nous avons obtenu pour nos tests de RIII à ce niveau.

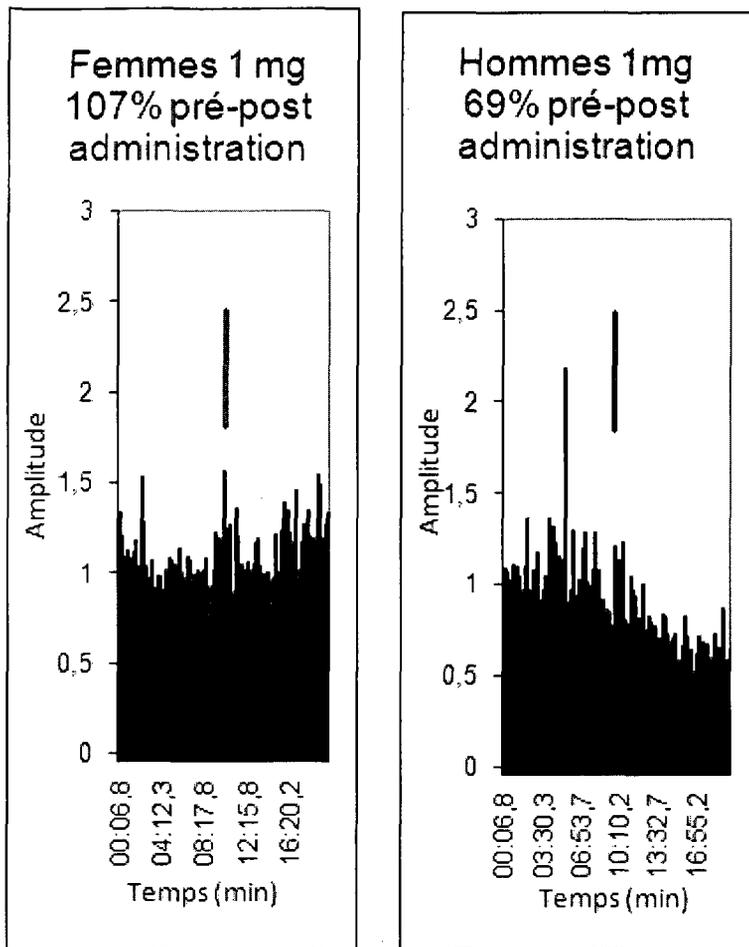


Figure 5. Réponse RIII vu par électromyogramme pour les hommes (n=10) et les femmes (n=10) pré et post-administration de la dose de 1 mg de nabilone suite à des stimulations du nerf sural.

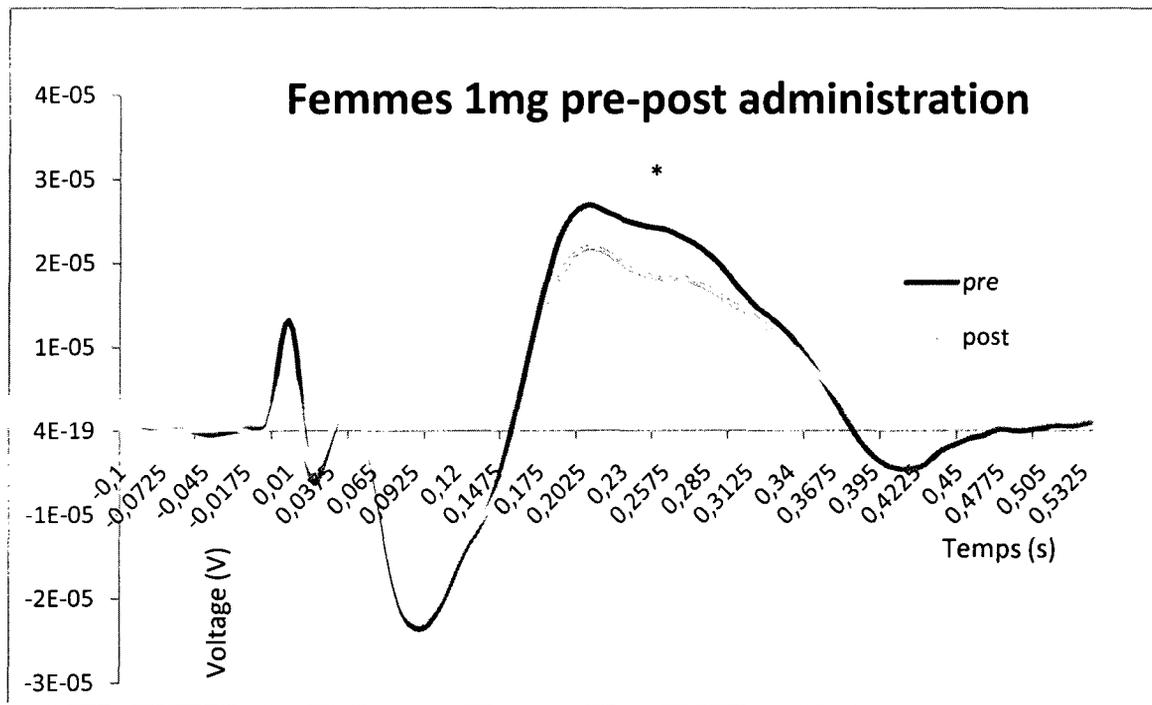
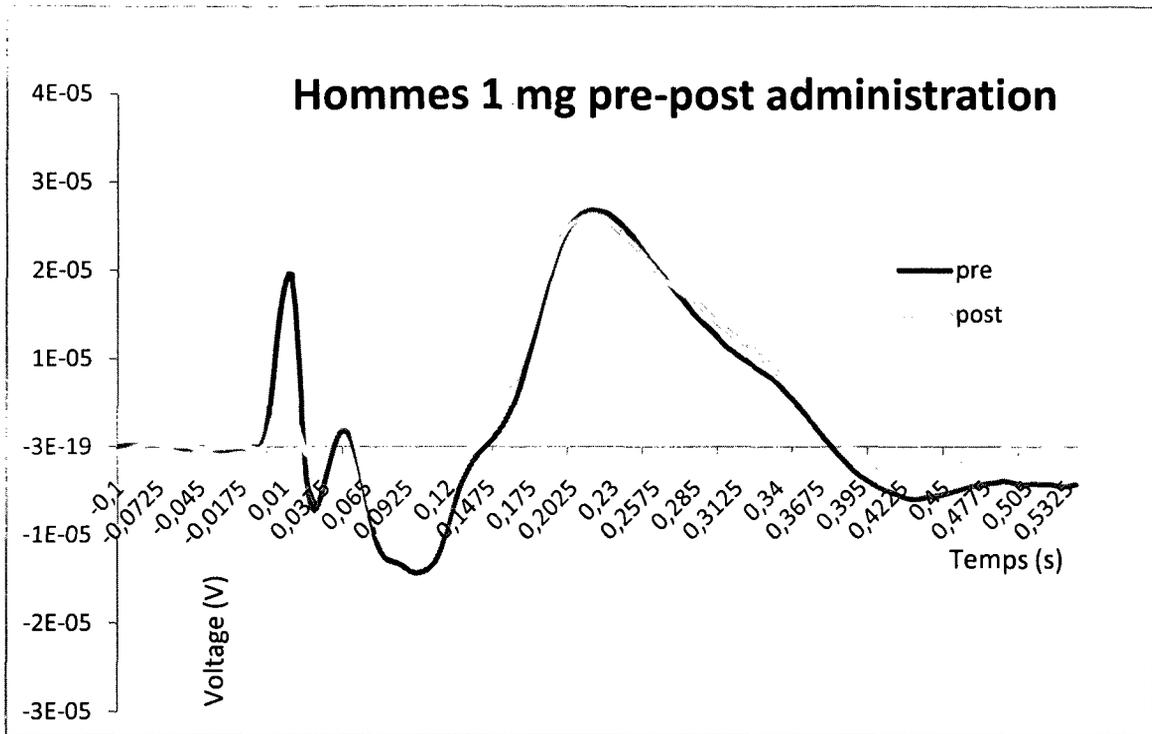


Figure 6. Potentiels évoqués vus par électroencéphalogramme pré et post-administration d'une dose de 1 mg de nabilone pour les hommes (n=10) et les femmes (n=10).

En effet, le but de ce test était de pouvoir dissocier l'effet spinal de l'effet du nabilone sur les centres supérieurs. Au départ, nous nous attendions à voir un effet à chacun de ces niveaux, l'effet local lors de ce genre de test étant plutôt négligeable. Ce qui est le plus surprenant, lorsque nous regardons nos résultats, vient de l'effet très différent du nabilone entre les hommes et les femmes. Chez les hommes, l'effet du nabilone semble être surtout associé à sa composante spinale, alors que son effet chez les femmes semble beaucoup plus important au niveau cortical, probablement associé à l'aspect émotionnel de la douleur. Il est plutôt difficile d'affirmer quoique ce soit à partir de ces résultats puisque les participants, dans les deux cas, ne nous ont pas donné de scores de douleurs inférieurs lors de la prise de nabilone 1 mg, mais ces résultats sont tout de même des plus intéressants quant aux différences des cannabinoïdes liés aux hormones sexuelles. Il est important de noter qu'il est beaucoup plus difficile pour nos participants de donner un score de douleur précis lors de douleurs électriques de si courtes durées, ce qui pourrait expliquer qu'on n'y ait pas vu de différences aussi bien pour le placebo, le 0,5 mg et le 1 mg aussi bien chez les hommes que les femmes. Malgré tout, il y a sans conteste une dissociation à faire entre ce que nous avons obtenu comme résultat chez les femmes et chez les hommes lors de cette expérience. En effet, chez les hommes, nous avons pu voir, suite à notre administration de nabilone 1mg, une diminution marquée de l'amplitude du RIII, ce qui n'est pas vu chez les femmes, ni lors de l'administration d'autres doses. Cet effet pourrait s'expliquer par une action analgésique spinale (si confirmée par baisse des scores de VAS) ou par une relaxation musculaire. Chez les femmes, nous pouvons observer une baisse marquée de l'amplitude d'une composante de l'EEG tendant à être associée à une composante plus émotionnelle de l'expérience de la douleur. Une différence de concentration de récepteurs CB1 dans différentes sections du cerveau selon le sexe ne serait donc pas à écarter ici. Il aide du même coup à confirmer que

nous avons bien fait de regarder chaque composante de nos tests selon le sexe du sujet, comme ce fut le cas pour le phénomène antihyperalgésique suite à l'activation du CIDN.

Nous pouvons maintenant nous concentrer sur l'effet antihyperalgésique du nabilone dans le test du wind-up suite à l'activation d'un système inhibiteur descendant, soit le CIDN. Il y a présentement trois phénomènes pouvant expliquer cet effet. Les deux premiers sont en lien avec les récepteurs CB1, plus conventionnels, le troisième se base sur l'action du récepteur CB2, moins certain, mais tout de même des plus intéressants. Dans nos deux hypothèses reliées à CB1, l'effet antihyperalgésique du nabilone ne proviendrait pas d'un effet synergétique des opioïdes et des cannabinoïdes. La baisse de nociception causée par le CIDN serait donc un préalable afin de pouvoir mieux discerner la présence d'un effet antihyperalgésique du nabilone en lien avec deux autres systèmes, soit une action au niveau des fibres C afférentes sur les récepteurs vanilloïdes TRPV1 ou par un blocage de la relâche au niveau central de neurotransmetteurs comme le glutamate (le ligand principal des récepteurs NMDA) actif lors de l'hyperalgésie. Ces deux phénomènes séparément ou ensemble, pourraient expliquer notre effet antihyperalgésique mais pas le lien avec le CIDN. Notre troisième hypothèse, à laquelle nous avons pensé suite à la publication de notre article, vient de l'effet analgésique provenant de l'activation de récepteurs CB2 vu lors de l'introduction. En effet, au niveau de la périphérie, les récepteurs CB2 réussissent à créer une réponse analgésique par l'activation de seconds neurotransmetteurs, de nature fort probablement opioïdergique. Il serait donc possible que l'augmentation de la concentration d'enképhalines relâchés à partir de la moelle épinière lors de l'activation du CIDN ait une action favorable sur l'effet des récepteurs CB2. Bien entendu, nous ne pouvons faire autre chose que supposé qu'une telle interaction puisse avoir eu lieu pour l'instant, mais il

expliquerait le lien entre CIDN et effet antihyperalgésique. Un moyen qui pourrait probablement donner plus de lumière sur cette interaction possible des cannabinoïdes et le CIDN serait d'utiliser des inhibiteurs des récepteurs de CB1 et CB2 de même qu'un inhibiteur de l'enzyme FAAH avant d'activer le CIDN.

Lorsque nous comparons nos résultats à ceux déjà publiés, nous pouvons voir certaines similitudes. Bien que nous ayons cru trouver une meilleure façon de mesurer les réponses face à la douleur de nos participants lors de tests nous permettant de vérifier différents paramètres associés à la douleur, nous ne sommes pas arrivés à des résultats beaucoup plus probants quant au potentiel analgésique des cannabinoïdes. En effet, lors d'essais sur des sujets sains, une seule étude a démontré une analgésie et un effet antihyperalgésique pour les cannabinoïdes pour des douleurs topiques dues à l'utilisation de la capsaïcine. Comme eux, nous avons vu un effet antihyperalgésique, bien que seulement chez nos participantes. Nous n'avons par contre pas vu d'effet analgésique en tant que telle. Comme dans ces deux cas, un effet du wind-up associé aux récepteurs TRPV1 peut expliquer l'effet antihyperalgésique ressenti par les participants, il est possible de croire que l'effet principal des cannabinoïdes chez l'humain passera par ce mécanisme. Comme pour les autres études sur le sujet, nous avons vu que l'utilisation de douleurs expérimentales de courtes durées ne semblent pas donner de résultats positifs. Il semble donc très difficile de voir un effet analgésique en utilisant des douleurs expérimentales chez l'humain, contrairement à l'animal, si ce n'est au niveau de l'hyperalgésie. Comme nous l'avons vu plus haut chez l'animal, les cannabinoïdes semblent pouvoir influencer faiblement un grand nombre de mécanismes liés à la douleur. Étant donné que les études cliniques pour douleurs neuropathiques indiquent un réel potentiel analgésique des cannabinoïdes chez l'humain, il serait donc possible d'émettre la théorie que

pour déceler un effet significatif des cannabinoïdes, nous aurions besoin soit d'un déséquilibre des endocannabinoïdes chez le sujet avant l'administration, soit que plus d'un système relié à la douleur soit atteint pour que son effet global soit décelé, ou soit que la douleur doit toujours être de nature neuropathique chez l'humain. Bien sûr, beaucoup d'autres études seront nécessaires avant de pouvoir spéculer davantage sur le sujet.

D'autres études plus poussées au niveau de sujets sains doivent être poursuivies avant de conclure définitivement. Les nouvelles avancées quant à la recherche sur les cannabinoïdes risquent fortement de nous permettre de mieux cibler cet effet. Des agonistes CB2 spécifiques, de même que des antagonistes des enzymes de dégradation des endocannabinoïdes pourraient permettre de paver la voie vers une nouvelle classe de cannabinoïdes dénués de tout effet psychotrope, rendant leur étude beaucoup plus facile. Une étude approfondie du mécanisme d'action du cannabidiol et de son possible effet supprimeur de l'euphorie associée aux agonistes des récepteurs CB1 sont aussi prometteurs.

Un point qui reste des plus importants, l'effet des cannabinoïdes exogènes lors d'essais cliniques pour douleurs neuropathiques ou associées à la sclérose en plaques sont beaucoup plus encourageants. L'implication clinique de nos résultats devient donc intéressante. En effet, une des pathologies où l'effet des cannabinoïdes semble le mieux fonctionner est la fibromyalgie. Cette maladie, touchant principalement les femmes, est de nature très complexe et possède plusieurs causes et effets délétères (CLAUW, 2009). Malgré tout, nous pouvons y voir des douleurs persistentes relativement généralisées, une prédominance féminine, un lien avec les hormones sexuelles et une perte d'action du CIDN (JULIEN et al., 2005). Il s'agit aussi d'une pathologie où, de façon légale ou non, le cannabis ou ses dérivés

pharmaceutiques sont grandement utilisés. Bien que la raison de cet effet des cannabinoïdes chez les femmes souffrant de fibromyalgie ne soit pas connue de façon exacte et qu'il est difficile d'après les tests cliniques à long terme de dissocier l'effet analgésique des cannabinoïdes de leur effet sur la qualité de vie du participant, la possibilité d'un rétablissement des niveaux d'endocannabinoïdes du corps par utilisation de cannabinoïdes exogènes commence à être postulé. Ce manque en endocannabinoïdes, nommé déficit clinique en endocannabinoïde a été défini par le Dr. Russo, et pourrait avoir une implication dans de nombreuses maladies chroniques difficilement traitables comme la fibromyalgie, le syndrome du colon irritable et les migraines (RUSSO, 2008).

La progression des études fondamentales chez l'animal seront aussi requises afin de mieux expliquer les mécanismes d'actions des endocannabinoïdes lorsqu'il y a activation des mécanismes de défense contre la douleur. En comprenant mieux l'implication normale de ces endocannabinoïdes et les possibles déficits du corps en endocannabinoïdes lors de pathologie associées aux douleurs chroniques, l'utilisation exogène des cannabinoïdes deviendra plus concrète aussi bien d'un point de vue théorique que pratique. Les thérapies basées sur l'utilisation de ces molécules y trouveraient probablement leur taux de réussite accru.

8. CONCLUSION

Bien que, encore une fois, une étude clinique sur le potentiel analgésique des cannabinoïdes n'ait pas donné de résultats aussi clairs et concrets que ce que nous pouvons observer au niveau animal, nous avons pu découvrir un effet antihyperalgésique synergétique du cannabinoïde nabilone chez une population de femmes saines. Bien que de nombreuses études soient encore nécessaires afin de bien cibler l'implication des cannabinoïdes au niveau de la douleur de même que ces possibles implications au niveau des mécanismes naturels de défense du corps contre la douleur et autres stress, nous avons pu faire un pas dans la bonne direction. L'utilisation possible des cannabinoïdes lors de pathologies ayant pour cause, du moins en partie, un déficit d'un de ces mécanismes semble donc avoir du sens. Le futur thérapeutique du cannabis et de ses dérivés en médecine ne semble donc pas être sur le point de s'éteindre.

9. REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier énormément, tout d'abord, le Dr. Serge Marchand pour la chance qu'il m'a donné de pouvoir travailler dans son laboratoire sur un projet aussi intéressant. Il aura, je crois, été une grande source d'inspiration pour moi et une bonne part de mon apprentissage des dernières années lui ait dû. Merci aussi au Dr. Philippe Goffaux qui a supervisé mes travaux. Un grand merci au Dr. Stéphane Potvin pour son aide de même qu'au médecin associé à cette étude, le Dr. Christian Cloutier. Finalement, je tiens à remercier mes collègues du laboratoire de recherche sur la douleur du Dr. Marchand de même que tous les participants qui ne semblent pas trop m'en vouloir de les avoir drogués et fait souffrir.

10. RÉFÉRENCES

- Abel E (1980) *Marijuana: The First Twelve Thousand Years*: Springer.
- Ahluwalia J, Urban L, Bevan S, Capogna M, Nagy I (Cannabinoid 1 receptors are expressed by nerve growth factor- and glial cell-derived neurotrophic factor-responsive primary sensory neurones. *Neuroscience* 110:747-753.2002).
- Ahluwalia J, Urban L, Capogna M, Bevan S, Nagy I (Cannabinoid 1 receptors are expressed in nociceptive primary sensory neurons. *Neuroscience* 100:685-688.2000).
- Akil H, Richardson DE, Hughes J, Barchas JD (Enkephalin-like material elevated in ventricular cerebrospinal fluid of pain patients after analgetic focal stimulation. *Science* 201:463-465.1978).
- Akil H, Young E, Walker JM, Watson SJ (The many possible roles of opioids and related peptides in stress-induced analgesia. *Ann N Y Acad Sci* 467:140-153.1986).
- Al-Hayani A, Wease KN, Ross RA, Pertwee RG, Davies SN (The endogenous cannabinoid anandamide activates vanilloid receptors in the rat hippocampal slice. *Neuropharmacology* 41:1000-1005.2001).
- Allen KV, McGregor IS, Hunt GE, Singh ME, Mallet PE (Regional differences in naloxone modulation of Delta(9)-THC induced Fos expression in rat brain. *Neuropharmacology* 44:264-274.2003).
- Basbaum AI, Fields HL (Endogenous pain control mechanisms: review and hypothesis. *Ann Neurol* 4:451-462.1978).
- Bayewitch M, Avidor-Reiss T, Levy R, Barg J, Mechoulam R, Vogel Z (The peripheral cannabinoid receptor: adenylate cyclase inhibition and G protein coupling. *FEBS Lett* 375:143-147.1995).
- Beaulieu P (Effects of nabilone, a synthetic cannabinoid, on postoperative pain. *Can J Anaesth* 53:769-775.2006).
- Beaulieu P, Ware M (Reassessment of the role of cannabinoids in the management of pain. *Curr Opin Anaesthesiol* 20:473-477.2007).
- Bhargava HN (Potential therapeutic applications of naturally occurring and synthetic cannabinoids. *Gen Pharmacol* 9:195-213.1978).
- Bonnie R (1974) *The Marijuana Conviction: A History of Marijuana Prohibition*: Lindesmith Center.
- Bonnin A, Fernandez-Ruiz JJ, Martin M, Rodriguez de Fonseca F, Hernandez ML, Ramos JA (delta 9-Tetrahydrocannabinol affects mesolimbic dopaminergic activity in the female rat brain: interactions with estrogens. *J Neural Transm Gen Sect* 92:81-95.1993).
- Bridges D, Ahmad K, Rice AS (The synthetic cannabinoid WIN55,212-2 attenuates hyperalgesia and allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Br J Pharmacol* 133:586-594.2001).
- Burns TL, Ineck JR (Cannabinoid analgesia as a potential new therapeutic option in the treatment of chronic pain. *Ann Pharmacother* 40:251-260.2006).
- Cabral GA, Staab A (Effects on the immune system. *Handb Exp Pharmacol* 385-423.2005).

- Campbell FA, Tramer MR, Carroll D, Reynolds DJ, Moore RA, McQuay HJ (Are cannabinoids an effective and safe treatment option in the management of pain? A qualitative systematic review. *BMJ* 323:13-16.2001).
- Cannon JT, Prieto GJ, Lee A, Liebeskind JC (Evidence for opioid and non-opioid forms of stimulation-produced analgesia in the rat. *Brain Res* 243:315-321.1982).
- Carayon P, Marchand J, Dussossoy D, Derocq JM, Jbilo O, Bord A, Bouaboula M, Galiegue S, Mondiere P, Penarier G, Fur GL, Defrance T, Casellas P (Modulation and functional involvement of CB2 peripheral cannabinoid receptors during B-cell differentiation. *Blood* 92:3605-3615.1998).
- Carlisle SJ, Marciano-Cabral F, Staab A, Ludwick C, Cabral GA (Differential expression of the CB2 cannabinoid receptor by rodent macrophages and macrophage-like cells in relation to cell activation. *Int Immunopharmacol* 2:69-82.2002).
- Cichewicz DL, Haller VL, Welch SP (Changes in opioid and cannabinoid receptor protein following short-term combination treatment with delta(9)-tetrahydrocannabinol and morphine. *J Pharmacol Exp Ther* 297:121-127.2001).
- Cichewicz DL, Welch SP (Modulation of oral morphine antinociceptive tolerance and naloxone-precipitated withdrawal signs by oral Delta 9-tetrahydrocannabinol. *J Pharmacol Exp Ther* 305:812-817.2003).
- Clauw DJ (Fibromyalgia: an overview. *Am J Med* 122:S3-S13.2009).
- Cogan R, Spinnato JA (Pain and discomfort thresholds in late pregnancy. *Pain* 27:63-68.1986).
- Cravatt BF, Demarest K, Patricelli MP, Bracey MH, Giang DK, Martin BR, Lichtman AH (Supersensitivity to anandamide and enhanced endogenous cannabinoid signaling in mice lacking fatty acid amide hydrolase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:9371-9376.2001).
- Cravatt BF, Lichtman AH (The endogenous cannabinoid system and its role in nociceptive behavior. *J Neurobiol* 61:149-160.2004).
- Dawson-Basoa M, Gintzler AR (Gestational and ovarian sex steroid antinociception: synergy between spinal kappa and delta opioid systems. *Brain Res* 794:61-67.1998).
- Dawson-Basoa ME, Gintzler AR (Estrogen and progesterone activate spinal kappa-opiate receptor analgesic mechanisms. *Pain* 64:608-615.1996).
- Derocq JM, Jbilo O, Bouaboula M, Segui M, Clere C, Casellas P (Genomic and functional changes induced by the activation of the peripheral cannabinoid receptor CB2 in the promyelocytic cells HL-60. Possible involvement of the CB2 receptor in cell differentiation. *J Biol Chem* 275:15621-15628.2000).
- Devane WA, Breuer A, Sheskin T, Jarbe TU, Eisen MS, Mechoulam R (A novel probe for the cannabinoid receptor. *J Med Chem* 35:2065-2069.1992).
- Di Carlo G, Izzo AA (Cannabinoids for gastrointestinal diseases: potential therapeutic applications. *Expert Opin Investig Drugs* 12:39-49.2003).
- Di Marzo V, Bifulco M, De Petrocellis L (The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nat Rev Drug Discov* 3:771-784.2004).
- Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, Piomelli D (Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature* 372:686-691.1994).
- Dixon W (Pharmacology of cannabis. *Indica Brit Med J* 24-31.1899).

- Dogrul A, Gardell LR, Ma S, Ossipov MH, Porreca F, Lai J ('Knock-down' of spinal CB1 receptors produces abnormal pain and elevates spinal dynorphin content in mice. *Pain* 100:203-209.2002).
- Drew LJ, Harris J, Millns PJ, Kendall DA, Chapman V (Activation of spinal cannabinoid 1 receptors inhibits C-fibre driven hyperexcitable neuronal responses and increases [35S]GTPgammaS binding in the dorsal horn of the spinal cord of noninflamed and inflamed rats. *Eur J Neurosci* 12:2079-2086.2000).
- Edery H, Porath G, Mechoulam R, Lander N, Srebnik M, Lewis N (Activity of novel aminocannabinoids in baboons. *J Med Chem* 27:1370-1373.1984).
- Eide PK (Wind-up and the NMDA receptor complex from a clinical perspective. *Eur J Pain* 4:5-15.2000).
- Elmes SJ, Jhaveri MD, Smart D, Kendall DA, Chapman V (Cannabinoid CB2 receptor activation inhibits mechanically evoked responses of wide dynamic range dorsal horn neurons in naive rats and in rat models of inflammatory and neuropathic pain. *Eur J Neurosci* 20:2311-2320.2004).
- Esfandyari T, Camilleri M, Busciglio I, Burton D, Baxter K, Zinsmeister AR (Effects of a cannabinoid receptor agonist on colonic motor and sensory functions in humans: a randomized, placebo-controlled study. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 293:G137-145.2007).
- Farquhar-Smith WP, Egertova M, Bradbury EJ, McMahon SB, Rice AS, Elphick MR (Cannabinoid CB(1) receptor expression in rat spinal cord. *Mol Cell Neurosci* 15:510-521.2000).
- Fegley D, Gaetani S, Duranti A, Tontini A, Mor M, Tarzia G, Piomelli D (Characterization of the fatty acid amide hydrolase inhibitor cyclohexyl carbamic acid 3'-carbamoyl-biphenyl-3-yl ester (URB597): effects on anandamide and oleoylethanolamide deactivation. *J Pharmacol Exp Ther* 313:352-358.2005).
- Felder CC, Joyce KE, Briley EM, Mansouri J, Mackie K, Blond O, Lai Y, Ma AL, Mitchell RL (Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol Pharmacol* 48:443-450.1995).
- Fernandez-Ruiz J, Garcia C, Sagredo O, Gomez-Ruiz M, de Lago E (The endocannabinoid system as a target for the treatment of neuronal damage. *Expert Opin Ther Targets* 14:387-404).
- Fowler CJ, Jonsson KO, Tiger G (Fatty acid amide hydrolase: biochemistry, pharmacology, and therapeutic possibilities for an enzyme hydrolyzing anandamide, 2-arachidonoylglycerol, palmitoylethanolamide, and oleamide. *Biochem Pharmacol* 62:517-526.2001).
- Fox A, Kesingland A, Gentry C, McNair K, Patel S, Urban L, James I (The role of central and peripheral Cannabinoid1 receptors in the antihyperalgesic activity of cannabinoids in a model of neuropathic pain. *Pain* 92:91-100.2001).
- Galiegue S, Mary S, Marchand J, Dussossoy D, Carriere D, Carayon P, Bouaboula M, Shire D, Le Fur G, Casellas P (Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem* 232:54-61.1995).
- Gauldie SD, McQueen DS, Pertwee R, Chessell IP (Anandamide activates peripheral nociceptors in normal and arthritic rat knee joints. *Br J Pharmacol* 132:617-621.2001).

- Gaumond I, Arsenault P, Marchand S (The role of sex hormones on formalin-induced nociceptive responses. *Brain Res* 958:139-145.2002).
- Gaumond I, Spooner MF, Marchand S (Sex differences in opioid-mediated pain inhibitory mechanisms during the interphase in the formalin test. *Neuroscience* 146:366-374.2007).
- Ghosh P, Bhattacharya SK (Cannabis-induced potentiation of morphine analgesia in rat--role of brain monoamines. *Indian J Med Res* 70:275-280.1979).
- Giesler GJ, Jr., Liebeskind JC (Inhibition of visceral pain by electrical stimulation of the periaqueductal gray matter. *Pain* 2:43-48.1976).
- Giuffrida A, Beltramo M, Piomelli D (Mechanisms of endocannabinoid inactivation: biochemistry and pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther* 298:7-14.2001).
- Gordon FT, Soliman MR (The effects of estradiol and progesterone on pain sensitivity and brain opioid receptors in ovariectomized rats. *Horm Behav* 30:244-250.1996).
- Goutopoulos A, Makriyannis A (From cannabis to cannabinergics: new therapeutic opportunities. *Pharmacol Ther* 95:103-117.2002).
- Goya P, Jagerovic N, Hernandez-Folgado L, Martin MI (Cannabinoids and neuropathic pain. *Mini Rev Med Chem* 3:765-772.2003).
- Greenwald MK, Stitzer ML (Antinociceptive, subjective and behavioral effects of smoked marijuana in humans. *Drug Alcohol Depend* 59:261-275.2000).
- Grotenhermen F (Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. *Clin Pharmacokinet* 42:327-360.2003).
- Hanus L, Abu-Lafi S, Fride E, Breuer A, Vogel Z, Shalev DE, Kustanovich I, Mechoulam R (2-arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:3662-3665.2001).
- Herkenham M, Lynn AB, de Costa BR, Richfield EK (Neuronal localization of cannabinoid receptors in the basal ganglia of the rat. *Brain Res* 547:267-274.1991a).
- 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* 11:563-583.1991b).
- Herzberg U, Eliav E, Bennett GJ, Kopin IJ (The analgesic effects of R(+)-WIN 55,212-2 mesylate, a high affinity cannabinoid agonist, in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci Lett* 221:157-160.1997).
- Hohmann AG, Briley EM, Herkenham M (Pre- and postsynaptic distribution of cannabinoid and mu opioid receptors in rat spinal cord. *Brain Res* 822:17-25.1999).
- Hohmann AG, Farthing JN, Zvonok AM, Makriyannis A (Selective activation of cannabinoid CB2 receptors suppresses hyperalgesia evoked by intradermal capsaicin. *J Pharmacol Exp Ther* 308:446-453.2004).
- Hohmann AG, Martin WJ, Tsou K, Walker JM (Inhibition of noxious stimulus-evoked activity of spinal cord dorsal horn neurons by the cannabinoid WIN 55,212-2. *Life Sci* 56:2111-2118.1995).
- Hohmann AG, Suplita RL, Bolton NM, Neely MH, Fegley D, Mangieri R, Krey JF, Walker JM, Holmes PV, Crystal JD, Duranti A, Tontini A, Mor M, Tarzia G, Piomelli D (An endocannabinoid mechanism for stress-induced analgesia. *Nature* 435:1108-1112.2005).

- Howlett AC (The cannabinoid receptors. Prostaglandins Other Lipid Mediat 68-69:619-631.2002).
- Howlett AC, Breivogel CS, Childers SR, Deadwyler SA, Hampson RE, Porrino LJ (Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. Neuropharmacology 47 Suppl 1:345-358.2004).
- Ibrahim MM, Deng H, Zvonok A, Cockayne DA, Kwan J, Mata HP, Vanderah TW, Lai J, Porreca F, Makriyannis A, Malan TP, Jr. (Activation of CB2 cannabinoid receptors by AM1241 inhibits experimental neuropathic pain: pain inhibition by receptors not present in the CNS. Proc Natl Acad Sci U S A 100:10529-10533.2003).
- Ibrahim MM, Porreca F, Lai J, Albrecht PJ, Rice FL, Khodorova A, Davar G, Makriyannis A, Vanderah TW, Mata HP, Malan TP, Jr. (CB2 cannabinoid receptor activation produces antinociception by stimulating peripheral release of endogenous opioids. Proc Natl Acad Sci U S A 102:3093-3098.2005).
- Iskedjian M, Bereza B, Gordon A, Piwko C, Einarson TR (Meta-analysis of cannabis based treatments for neuropathic and multiple sclerosis-related pain. Curr Med Res Opin 23:17-24.2007).
- Izzo AA, Borrelli F, Capasso R, Di Marzo V, Mechoulam R (Non-psychotropic plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. Trends Pharmacol Sci 30:515-527.2009).
- Jhaveri MD, Richardson D, Chapman V (Endocannabinoid metabolism and uptake: novel targets for neuropathic and inflammatory pain. Br J Pharmacol 152:624-632.2007).
- Julien N, Goffaux P, Arsenault P, Marchand S (Widespread pain in fibromyalgia is related to a deficit of endogenous pain inhibition. Pain 114:295-302.2005).
- Julien N, Marchand S (Endogenous pain inhibitory systems activated by spatial summation are opioid-mediated. Neurosci Lett 401:256-260.2006).
- Klegeris A, Bissonnette CJ, McGeer PL (Reduction of human monocytic cell neurotoxicity and cytokine secretion by ligands of the cannabinoid-type CB2 receptor. Br J Pharmacol 139:775-786.2003).
- Kraft B, Frickey NA, Kaufmann RM, Reif M, Frey R, Gustorff B, Kress HG (Lack of analgesia by oral standardized cannabis extract on acute inflammatory pain and hyperalgesia in volunteers. Anesthesiology 109:101-110.2008).
- Kreitzer AC (Neurotransmission: emerging roles of endocannabinoids. Curr Biol 15:R549-551.2005).
- Kuba T, Wu HB, Nazarian A, Festa ED, Barr GA, Jenab S, Inturrisi CE, Quinones-Jenab V (Estradiol and progesterone differentially regulate formalin-induced nociception in ovariectomized female rats. Horm Behav 49:441-449.2006).
- Kuhar MJ (Neurotransmitter uptake: a tool in identifying neurotransmitter-specific pathways. Life Sci 13:1623-1634.1973).
- Ledent C, Valverde O, Cossu G, Petitet F, Aubert JF, Beslot F, Bohme GA, Imperato A, Pedrazzini T, Roques BP, Vassart G, Fratta W, Parmentier M (Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB1 receptor knockout mice. Science 283:401-404.1999).
- Lewis JW, Cannon JT, Liebeskind JC (Opioid and nonopioid mechanisms of stress analgesia. Science 208:623-625.1980).

- Lichtman AH, Cook SA, Martin BR (Investigation of brain sites mediating cannabinoid-induced antinociception in rats: evidence supporting periaqueductal gray involvement. *J Pharmacol Exp Ther* 276:585-593.1996).
- Lichtman AH, Leung D, Shelton CC, Saghatelian A, Hardouin C, Boger DL, Cravatt BF (Reversible inhibitors of fatty acid amide hydrolase that promote analgesia: evidence for an unprecedented combination of potency and selectivity. *J Pharmacol Exp Ther* 311:441-448.2004a).
- Lichtman AH, Martin BR (Spinal and supraspinal components of cannabinoid-induced antinociception. *J Pharmacol Exp Ther* 258:517-523.1991).
- Lichtman AH, Martin BR (The selective cannabinoid antagonist SR 141716A blocks cannabinoid-induced antinociception in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 57:7-12.1997).
- Lichtman AH, Shelton CC, Advani T, Cravatt BF (Mice lacking fatty acid amide hydrolase exhibit a cannabinoid receptor-mediated phenotypic hypoalgesia. *Pain* 109:319-327.2004b).
- Lichtman AH, Smith PB, Martin BR (The antinociceptive effects of intrathecally administered cannabinoids are influenced by lipophilicity. *Pain* 51:19-26.1992).
- Lim G, Sung B, Ji RR, Mao J (Upregulation of spinal cannabinoid-1-receptors following nerve injury enhances the effects of Win 55,212-2 on neuropathic pain behaviors in rats. *Pain* 105:275-283.2003).
- Mailleux P, Vanderhaeghen JJ (Localization of cannabinoid receptor in the human developing and adult basal ganglia. Higher levels in the striatonigral neurons. *Neurosci Lett* 148:173-176.1992).
- Mani SK, Mitchell A, O'Malley BW (Progesterone receptor and dopamine receptors are required in Delta 9-tetrahydrocannabinol modulation of sexual receptivity in female rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:1249-1254.2001).
- Manzanas J, Corchero J, Romero J, Fernandez-Ruiz JJ, Ramos JA, Fuentes JA (Pharmacological and biochemical interactions between opioids and cannabinoids. *Trends Pharmacol Sci* 20:287-294.1999).
- Marchand S (2010) *Pharmacology of Pain.*: IASP.
- Martin BR, Lichtman AH (Cannabinoid transmission and pain perception. *Neurobiol Dis* 5:447-461.1998).
- Martin WJ, Tsou K, Walker JM (Cannabinoid receptor-mediated inhibition of the rat tail-flick reflex after microinjection into the rostral ventromedial medulla. *Neurosci Lett* 242:33-36.1998).
- Mason DJ, Jr., Lowe J, Welch SP (A diminution of delta9-tetrahydrocannabinol modulation of dynorphin A-(1-17) in conjunction with tolerance development. *Eur J Pharmacol* 381:105-111.1999).
- Massi P, Vaccani A, Romorini S, Parolaro D (Comparative characterization in the rat of the interaction between cannabinoids and opiates for their immunosuppressive and analgesic effects. *J Neuroimmunol* 117:116-124.2001).
- Mayer DJ, Wolfle TL, Akil H, Carder B, Liebeskind JC (Analgesia from electrical stimulation in the brainstem of the rat. *Science* 174:1351-1354.1971).
- Mechoulam R (Marihuana chemistry. *Science* 168:1159-1166.1970).
- Mechoulam R (1986) *Cannabis as Therapeutic Agent*: Chapman and Hall.

- Mechoulam R, Gaoni Y (The absolute configuration of delta-1-tetrahydrocannabinol, the major active constituent of hashish. *Tetrahedron Lett* 12:1109-1111.1967).
- Meng ID, Manning BH, Martin WJ, Fields HL (An analgesia circuit activated by cannabinoids. *Nature* 395:381-383.1998).
- Miller AS, Walker JM (Effects of a cannabinoid on spontaneous and evoked neuronal activity in the substantia nigra pars reticulata. *Eur J Pharmacol* 279:179-185.1995).
- Millns PJ, Chapman V, Kendall DA (Cannabinoid inhibition of the capsaicin-induced calcium response in rat dorsal root ganglion neurones. *Br J Pharmacol* 132:969-971.2001).
- Mogil JS, Wilson SG, Bon K, Lee SE, Chung K, Raber P, Pieper JO, Hain HS, Belknap JK, Hubert L, Elmer GI, Chung JM, Devor M (Heritability of nociception I: responses of 11 inbred mouse strains on 12 measures of nociception. *Pain* 80:67-82.1999).
- Monhemius R, Azami J, Green DL, Roberts MH (CB1 receptor mediated analgesia from the Nucleus Reticularis Gigantocellularis pars alpha is activated in an animal model of neuropathic pain. *Brain Res* 908:67-74.2001a).
- Monhemius R, Green DL, Roberts MH, Azami J (Periaqueductal grey mediated inhibition of responses to noxious stimulation is dynamically activated in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci Lett* 298:70-74.2001b).
- Moreira FA, Grieb M, Lutz B (Central side-effects of therapies based on CB1 cannabinoid receptor agonists and antagonists: focus on anxiety and depression. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 23:133-144.2009).
- Moulin DE, Clark AJ, Gilron I, Ware MA, Watson CP, Sessle BJ, Coderre T, Morley-Forster PK, Stinson J, Boulanger A, Peng P, Finley GA, Taenzer P, Squire P, Dion D, Cholkan A, Gilani A, Gordon A, Henry J, Jovey R, Lynch M, Mailis-Gagnon A, Panju A, Rollman GB, Velly A (Pharmacological management of chronic neuropathic pain - consensus statement and guidelines from the Canadian Pain Society. *Pain Res Manag* 12:13-21.2007).
- Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M (Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 365:61-65.1993).
- Naef M, Curatolo M, Petersen-Felix S, Arendt-Nielsen L, Zbinden A, Brenneisen R (The analgesic effect of oral delta-9-tetrahydrocannabinol (THC), morphine, and a THC-morphine combination in healthy subjects under experimental pain conditions. *Pain* 105:79-88.2003).
- Navarro M, Carrera MR, Fratta W, Valverde O, Cossu G, Fattore L, Chowen JA, Gomez R, del Arco I, Villanua MA, Maldonado R, Koob GF, Rodriguez de Fonseca F (Functional interaction between opioid and cannabinoid receptors in drug self-administration. *J Neurosci* 21:5344-5350.2001).
- Navarro M, Rubio P, Rodriguez de Fonseca F (Sex-dimorphic psychomotor activation after perinatal exposure to (-)-delta 9-tetrahydrocannabinol. An ontogenic study in Wistar rats. *Psychopharmacology (Berl)* 116:414-422.1994).
- Noyes R, Jr., Brunk SF, Baram DA, Canter A (Analgesic effect of delta-9-tetrahydrocannabinol. *J Clin Pharmacol* 15:139-143.1975).
- Pertwee RG (Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacol Ther* 74:129-180.1997).

- Pertwee RG (Pharmacology of cannabinoid receptor ligands. *Curr Med Chem* 6:635-664.1999).
- Pertwee RG (Cannabinoid receptors and pain. *Prog Neurobiol* 63:569-611.2001).
- Pertwee RG (Pharmacological actions of cannabinoids. *Handb Exp Pharmacol* 1-51.2005a).
- Pertwee RG (The therapeutic potential of drugs that target cannabinoid receptors or modulate the tissue levels or actions of endocannabinoids. *AAPS J* 7:E625-654.2005b).
- Pertwee RG (Cannabinoid pharmacology: the first 66 years. *Br J Pharmacol* 147 Suppl 1:S163-171.2006).
- Pertwee RG (The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: delta9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and delta9-tetrahydrocannabivarin. *Br J Pharmacol* 153:199-215.2008).
- Pertwee RG, Ross RA (Cannabinoid receptors and their ligands. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 66:101-121.2002).
- Piomelli D, Beltramo M, Giuffrida A, Stella N (Endogenous cannabinoid signaling. *Neurobiol Dis* 5:462-473.1998).
- Pugh G, Jr., Mason DJ, Jr., Combs V, Welch SP (Involvement of dynorphin B in the antinociceptive effects of the cannabinoid CP55,940 in the spinal cord. *J Pharmacol Exp Ther* 281:730-737.1997).
- Pugh G, Jr., Smith PB, Dombrowski DS, Welch SP (The role of endogenous opioids in enhancing the antinociception produced by the combination of delta 9-tetrahydrocannabinol and morphine in the spinal cord. *J Pharmacol Exp Ther* 279:608-616.1996).
- Quartilho A, Mata HP, Ibrahim MM, Vanderah TW, Porreca F, Makriyannis A, Malan TP, Jr. (Inhibition of inflammatory hyperalgesia by activation of peripheral CB2 cannabinoid receptors. *Anesthesiology* 99:955-960.2003).
- Reynolds DV (Surgery in the rat during electrical analgesia induced by focal brain stimulation. *Science* 164:444-445.1969).
- Rice AS (Cannabinoids and pain. *Curr Opin Investig Drugs* 2:399-414.2001).
- Richardson JD, Aanonsen L, Hargreaves KM (Hypoactivity of the spinal cannabinoid system results in NMDA-dependent hyperalgesia. *J Neurosci* 18:451-457.1998a).
- Richardson JD, Kilo S, Hargreaves KM (Cannabinoids reduce hyperalgesia and inflammation via interaction with peripheral CB1 receptors. *Pain* 75:111-119.1998b).
- Roberts JD, Gennings C, Shih M (Synergistic affective analgesic interaction between delta-9-tetrahydrocannabinol and morphine. *Eur J Pharmacol* 530:54-58.2006).
- Rukwied R, Watkinson A, McGlone F, Dvorak M (Cannabinoid agonists attenuate capsaicin-induced responses in human skin. *Pain* 102:283-288.2003).
- Russo EB (Clinical endocannabinoid deficiency (CECD): can this concept explain therapeutic benefits of cannabis in migraine, fibromyalgia, irritable bowel syndrome and other treatment-resistant conditions? *Neuro Endocrinol Lett* 29:192-200.2008).
- Salio C, Fischer J, Franzoni MF, Mackie K, Kaneko T, Conrath M (CB1-cannabinoid and mu-opioid receptor co-localization on postsynaptic target in the rat dorsal horn. *Neuroreport* 12:3689-3692.2001).

- Salzet M, Breton C, Bisogno T, Di Marzo V (Comparative biology of the endocannabinoid system possible role in the immune response. *Eur J Biochem* 267:4917-4927.2000).
- Sanudo-Pena MC, Strangman NM, Mackie K, Walker JM, Tsou K (CB1 receptor localization in rat spinal cord and roots, dorsal root ganglion, and peripheral nerve. *Zhongguo Yao Li Xue Bao* 20:1115-1120.1999).
- Sawynok J (Topical and peripherally acting analgesics. *Pharmacol Rev* 55:1-20.2003).
- Siegling A, Hofmann HA, Denzer D, Mauler F, De Vry J (Cannabinoid CB(1) receptor upregulation in a rat model of chronic neuropathic pain. *Eur J Pharmacol* 415:R5-7.2001).
- Skrabek RQ, Galimova L, Ethans K, Perry D (Nabilone for the treatment of pain in fibromyalgia. *J Pain* 9:164-173.2008).
- Smart D, Jerman JC (Anandamide: an endogenous activator of the vanilloid receptor. *Trends Pharmacol Sci* 21:134.2000).
- Smith PB, Martin BR (Spinal mechanisms of delta 9-tetrahydrocannabinol-induced analgesia. *Brain Res* 578:8-12.1992).
- Smith PB, Welch SP, Martin BR (Interactions between delta 9-tetrahydrocannabinol and kappa opioids in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 268:1381-1387.1994).
- Stein C, Machelska H, Schafer M (Peripheral analgesic and antiinflammatory effects of opioids. *Z Rheumatol* 60:416-424.2001).
- Stein C, Yassouridis A (Peripheral morphine analgesia. *Pain* 71:119-121.1997).
- Stella N, Schweitzer P, Piomelli D (A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature* 388:773-778.1997).
- Strangman NM, Patrick SL, Hohmann AG, Tsou K, Walker JM (Evidence for a role of endogenous cannabinoids in the modulation of acute and tonic pain sensitivity. *Brain Res* 813:323-328.1998).
- Strangman NM, Walker JM (Cannabinoid WIN 55,212-2 inhibits the activity-dependent facilitation of spinal nociceptive responses. *J Neurophysiol* 82:472-477.1999).
- Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, Nakane S, Shinoda A, Itoh K, Yamashita A, Waku K (2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun* 215:89-97.1995).
- Suplita RL, 2nd, Farthing JN, Gutierrez T, Hohmann AG (Inhibition of fatty-acid amide hydrolase enhances cannabinoid stress-induced analgesia: sites of action in the dorsolateral periaqueductal gray and rostral ventromedial medulla. *Neuropharmacology* 49:1201-1209.2005).
- Suplita RL, 2nd, Gutierrez T, Fegley D, Piomelli D, Hohmann AG (Endocannabinoids at the spinal level regulate, but do not mediate, nonopioid stress-induced analgesia. *Neuropharmacology* 50:372-379.2006).
- Szabo B, Schlicker E (Effects of cannabinoids on neurotransmission. *Handb Exp Pharmacol* 327-365.2005).
- Szallasi A, Cortright DN, Blum CA, Eid SR (The vanilloid receptor TRPV1: 10 years from channel cloning to antagonist proof-of-concept. *Nat Rev Drug Discov* 6:357-372.2007).
- Terman GW, Eastman CL, Chavkin C (Mu opiates inhibit long-term potentiation induction in the spinal cord slice. *J Neurophysiol* 85:485-494.2001).

- Tsou K, Brown S, Sanudo-Pena MC, Mackie K, Walker JM (Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience* 83:393-411.1998).
- Valverde O, Ledent C, Beslot F, Parmentier M, Roques BP (Reduction of stress-induced analgesia but not of exogenous opioid effects in mice lacking CB1 receptors. *Eur J Neurosci* 12:533-539.2000).
- Vaughan CW, Christie MJ (Retrograde signalling by endocannabinoids. *Handb Exp Pharmacol* 367-383.2005).
- Villanueva L, Le Bars D (The activation of bulbo-spinal controls by peripheral nociceptive inputs: diffuse noxious inhibitory controls. *Biol Res* 28:113-125.1995).
- Waksman Y, Olson JM, Carlisle SJ, Cabral GA (The central cannabinoid receptor (CB1) mediates inhibition of nitric oxide production by rat microglial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 288:1357-1366.1999).
- Walf AA, Frye CA (Anti-nociception following exposure to trimethylthiazoline, peripheral or intra-amygdala estrogen and/or progesterone. *Behav Brain Res* 144:77-85.2003).
- Walker JM, Hohmann AG (Cannabinoid mechanisms of pain suppression. *Handb Exp Pharmacol* 509-554.2005).
- Walker JM, Huang SM (Cannabinoid analgesia. *Pharmacol Ther* 95:127-135.2002).
- Walker JM, Huang SM, Strangman NM, Tsou K, Sanudo-Pena MC (Pain modulation by release of the endogenous cannabinoid anandamide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:12198-12203.1999).
- Wallace M, Schulteis G, Atkinson JH, Wolfson T, Lazzaretto D, Bentley H, Gouaux B, Abramson I (Dose-dependent effects of smoked cannabis on capsaicin-induced pain and hyperalgesia in healthy volunteers. *Anesthesiology* 107:785-796.2007).
- Walsh D, Nelson KA, Mahmoud FA (Established and potential therapeutic applications of cannabinoids in oncology. *Support Care Cancer* 11:137-143.2003).
- Ware MA, Doyle CR, Woods R, Lynch ME, Clark AJ (Cannabis use for chronic non-cancer pain: results of a prospective survey. *Pain* 102:211-216.2003).
- Welch SP, Stevens DL (Antinociceptive activity of intrathecally administered cannabinoids alone, and in combination with morphine, in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 262:10-18.1992).
- Welch SP, Thomas C, Patrick GS (Modulation of cannabinoid-induced antinociception after intracerebroventricular versus intrathecal administration to mice: possible mechanisms for interaction with morphine. *J Pharmacol Exp Ther* 272:310-321.1995).
- Witting A, Walter L, Wacker J, Moller T, Stella N (P2X7 receptors control 2-arachidonoylglycerol production by microglial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:3214-3219.2004).
- Yaksh TL (The antinociceptive effects of intrathecally administered levonantradol and desacetyllevonantradol in the rat. *J Clin Pharmacol* 21:334S-340S.1981).
- Yaksh TL, Rudy TA (Analgesia mediated by a direct spinal action of narcotics. *Science* 192:1357-1358.1976).
- Zajicek J, Fox P, Sanders H, Wright D, Vickery J, Nunn A, Thompson A (Cannabinoids for treatment of spasticity and other symptoms related to multiple sclerosis

- (CAMS study): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 362:1517-1526.2003).
- Zhang J, Hoffert C, Vu HK, Groblewski T, Ahmad S, O'Donnell D (Induction of CB2 receptor expression in the rat spinal cord of neuropathic but not inflammatory chronic pain models. *Eur J Neurosci* 17:2750-2754.2003).
- Zimmer A, Zimmer AM, Hohmann AG, Herkenham M, Bonner TI (Increased mortality, hypoactivity, and hypoalgesia in cannabinoid CB1 receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:5780-5785.1999).
- Zuardi AW (Cannabidiol: from an inactive cannabinoid to a drug with wide spectrum of action. *Rev Bras Psiquiatr* 30:271-280.2008).
- Zygmunt PM, Petersson J, Andersson DA, Chuang H, Sorgard M, Di Marzo V, Julius D, Hogestatt ED (Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature* 400:452-457.1999).