

8ª Reunión anual de la Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides

29-30 noviembre
y 1 diciembre 2007

Bilbao

LIBRO DE RESÚMENES



Universidad
del País Vasco



Euskal Herriko
Unibertsitatea



8ª Reunión Anual
Sociedad Española de Investigación sobre
Cannabinoídes
Bilbao, 29 de Noviembre al 1 de Diciembre de 2007

Programa científico de la reunión

Día 29 de Noviembre

12:00 **Entrega de la documentación**

12:30 **Inauguración:**

- Miguel Angel Gutiérrez (Vicerrector de Investigación de la UPV/EHU)
- Belén Bilbao (Directora de Drogodependencias del Gobierno Vasco)
- Leyre Urigüen (Comité Organizador)
- José Antonio Ramos Atance (Presidente de la SEIC)

13:00 **Conferencia Inaugural** (presentada por Joseba Pineda)
NON-PSYCHOACTIVE CANNABINOIDS: THEIR BIOLOGICAL ACTIVITY AND THERAPEUTIC POTENTIAL. Raphael Mechoulam (Hebrew University, Jerusalem, Israel)

14:00 **Comida**

16:00-18:00 **1ª Sesión de comunicaciones: "CANNABINOÍDES EN EL SISTEMA NERVIOSO"** (moderadores: Fco. Javier Bermúdez y Koldo Callado)

16:00 O-1.1
IMMUNOHISTOCHEMICAL DESCRIPTION OF THE ENDOGENOUS CANNABINOID SYSTEM IN THE RAT CEREBELLUM AND FUNCTIONALLY-RELATED NUCLEI. Juan Suárez, Francisco Javier Bermúdez-Silva, Fernando Rodríguez de Fonseca

16:15 O-1.2
PLASTICIDAD SINÁPTICA MEDIADA POR CANNABINOÍDES EN LAS SINAPSIS EXCITADORAS DEL NÚCLEO DEL LECHO DE LA ESTRÍA TERMINAL. Nagore Puente, Izaskun Elezgarai, Leire Reguero, Pedro Grandes, François Georges, Olivier J. Manzoni.

16:30 O-1.3
COMPONENTES DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE Y DEL GRUPO I DE RECEPTORES METABOTRÓPICOS DE GLUTAMATO EN EL NÚCLEO DEL LECHO DE LA ESTRÍA TERMINAL. Izaskun Elezgarai, Nagore Puente, Leire Reguero, Léma Massi, François George, Olivier Manzoni, Pedro Grandes.

16:45 O-1.4
MODULATION OF THE mTOR PATHWAY BY Δ^9 -TETRAHYDROCANNABINOL. Emma Puighermanal, Marisol Montolio, Rafael Maldonado, Andrés Ozaita.

17:00 O-1.5
LA ANANDAMIDA INCREMENTA LA FORMACIÓN DE PGE₂ EN CELULAS DEL SNC Y ESTA ACTIVIDAD ES INHIBIDA POR EL ENDOVANILLOIDE N-ARAQUIDONOILDOPAMINA. C. Navarrete, F.J. Caballero, A. García de Vinuesa, B.L. Fiebich, E. Muñoz.

17:15 O-1.6
PAPEL DEL SISTEMA CANNABINOIDE ENDÓGENO EN LA DIFERENCIACIÓN DE PROGENITORES DE OLIGODENDROCITO. Oscar Gómez, Angel Arévalo-Martín, Daniel García-Ovejero, Ana Rubio-Araiz, Beatriz Navarro, Carlos Hagen, Eduardo Molina-Holgado.

17:30 O-1.7
NEW EVIDENCE OF THE CONTROL OF CELL ADHESION MOLECULE L1 EXERTED BY THE CANNABINOID SIGNALING DURING THE BRAIN DEVELOPMENT IN RODENTS. María Gómez, Mariluz Hernández, Maribel Cebeira, Iria Sánchez-Lobo, Javier Fernández-Ruiz.

17:45 Discusión general

18:00 Pausa (café)

18:30-21:00 2ª Sesión de comunicaciones: "CANNABINOIDES FUERA DEL SISTEMA NERVIOSO" (moderadores: Juan Carlos Leza y Leyre Urigüen)

18:30 O-2.1
CARACTERIZACIÓN DE LOS MECANISMOS VASODILATADORES DE LA METANANDAMIDA EN AORTA DE RATA. E. Herradón, M.T. Dannert, A. Alsasua, M.I. Martín, V. López-Miranda.

18:45 O-2.2
EFECTOS BENEFICIOSOS CARDIORRESPIRATORIOS DEL CANNABIDIOL EN CERDITOS RECIEN NACIDOS ASFICTICOS. H. Lafuente, M.C. Rey-Santano, V.E. Mielgo, E. Gastiasoro, P. Serna, J. Romero, J. Martínez-Orgado, B. Loureiro, F.J. Alvarez.

19:00 O-2.3
EL RECEPTOR CANNABINOIDE CB2 ESTÁ PRESENTE EN LOS ESPERMATOZOIDES HUMANOS Y REGULA LA MOVILIDAD ESPERMÁTICA DE MANERA DISTINTA AL RECEPTOR CB1. Ekaitz Agirregoitia, Nerea Subirán, Asier Valdivia, Carmen Ochoa, Jon Irazusta.

19:15 O-2.4
ANÁLISIS RADIOLÓGICO DEL EFECTO DE DOS TRATAMIENTOS CRÓNICOS CON WIN 55,212-2 EN LA MOTILIDAD DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE LA RATA. R. Abalo, P.A. Cabezos, G. Vera, M. Castillo, R. Fernández-Pujol, M.I. Martín.

19:30 O-2.5
PAPEL DEL RECEPTOR CB1 EN LA EXPRESIÓN DE MARCADORES PRO-INFLAMATORIOS Y LA SECRECIÓN DE IgA INDUCIDA POR ESTRÉS EN MUCOSA COLÓNICA. J.R. Caso, J.L.M. Madrigal, I. Marín-Jiménez, J. Manzanares, L. Menchén, J.C. Leza.

19:45 O-2.6
EFECTO DEL TRATAMIENTO CRÓNICO CON WIN 55,212-2 EN EL TRÁNSITO INTESTINAL E HISTOLOGÍA DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE LA RATA. ESTUDIO PRELIMINAR. G. Vera, P.A. Cabezos, M. Castillo, M.I. Martín, R. Abalo.

20:00 O-2.7
ENDOCANNABINOID SYSTEM-MEDIATED MODULATION OF HORMONAL SECRETION FROM THE HUMAN ENDOCRINE PANCREAS. F.J. Bermúdez-Silva, J. Suárez-Pérez, E. Baixeras, M.D. Bautista, P. Juan-Picó, E. Fuentes, A.Nadal, G. Milman, R. Mechoulam, F. Rodríguez de Fonseca.

20:15 O-2.8
ANTIOBESITY DESIGNED MULTIPLE LIGANDS: SYNTHESIS OF PYRAZOLE FATTY ACID AMIDES AND EVALUATION AS HYPOPHAGIC AGENTS. Mario Alvarado, Pilar Goya, Manuel Macías-González, Francisco Javier Pavón, Antonia Serrano, Nadine Jagerovic, José Elguero, Ángel Gutiérrez-Rodríguez, Santiago García-Granda, Margarita Suardíaz, Fernando Rodríguez de Fonseca.

20:30 O-2.9
LACK OF FAAH INCREASES FOOD MOTIVATION AND DECREASES LIPID METABOLISM. C. Touriño, F. Oveisi, D. Piomelli, R. Maldonado.

20:45 Discusión General

22:00 Cena de Bienvenida

Día 30 de Noviembre

09:00-13:15 3ª Sesión de comunicaciones: "POTENCIAL DE LOS CANNABINOIDES EN LAS ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS" (moderadores: Aitziber Mendiguren y Susana Esteban)

9:00 O-3.1
MODULACIÓN DE PROTEÍNAS APOPTÓTICAS POR EL RECEPTOR CANNABINOIDE CB₁ EN CEREBRO DE RATÓN. M. Álvaro, S. Esteban, A. Miralles, O. Valverde, J.A. García-Sevilla.

9:15 O-3.2
EFECTO NEUROPROTECTOR DEL AGONISTA CANNABINOIDE WIN55212 EN UN MODELO DE ASFIXIA PERINATAL EN CORDEROS PRETÉRMINO. D. Alonso Alconada, A. Alvarez, F. Goñi de Cerio, J. Lacalle, F.J. Alvarez, A. Caballero, M.C. Rey-Santano, V.E. Mielgo, A.Valls i Soler, J. Martínez-Orgado, E. Hilario.

9:30 O-3.3
ENHANCING ENDOCANNABINOID SIGNALLING PROMOTES DIFFERENTIAL EFFECTS ON AMPA- AND NMDA-INDUCED NEURONAL CELL DEATH. F. Loría, F. Docagne, L. Mestre, M. Hernangómez, F. Correa, A. Spagnolo, C. Guaza.

9:45 O-3.4
EFECTO NEUROPROTECTOR DEL CANNABIDIOL EN UN MODELO DE LESION CEREBRAL HIPOXICO-ISQUEMICA EN LECHON RECIEN NACIDO. F.J. Alvarez, H. Lafuente, M.C. Rey-Santano, V.E. Mielgo, E. Gastiasoro, J. Romero, J. Martínez-Orgado.

10:00 O-3.5
EFECTO NEUROPROTECTOR DEL CANNABIDIOL EN UN MODELO IN VITRO DE HIPOXIA-ISQUEMIA EN RATONES RECIEN NACIDOS. A. Castillo, C. Benito, R. Tolón, J. Romero, J. Martínez Orgado.

10:15 O-3.6
ANANDAMIDE NEGATIVELY REGULATES IL-12P70 AND IL-23 EXPRESSION IN MICROGLIA BY ACTIVATING ERK1/2 AND JNK KINASES. F. Correa, M. Hernangómez, L. Mestre, F. Docagne, F. Loría, A. Spagnolo, C. Guaza.

10:30 O-3.7
ACTIVACIÓN DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE EN RESPUESTA A UNA LESIÓN MEDULAR EN LA RATA C. Hagen, D. García-Ovejero, A. Arévalo-Martín, S. Petrosino, F. Docagne, T. Bisogno, C. Guaza, V. Di Marzo, E. Molina-Holgado.

10:45 O-3.8
FUNCIÓN Y EXPRESIÓN DE RECEPTORES CB₁ EN EL ESTRIADO: LOCALIZACIÓN Y EFECTOS EN CONDUCTAS MOTORAS MEDIADAS POR RECEPTORES D₁ Y D₂ DE DOPAMINA. Ana Belén Martín, Emilio Fernández Espejo, Belén Ferrer, Miguel Angel Gorriti, Ainhoa Bilbao, Miguel Navarro, Fernando Rodríguez de Fonseca, Rosario Moratalla.

11:00 O-3.9
EFECTO DE LOS CANNABINOIDES SOBRE LA ACTIVIDAD NEURONAL DEL NÚCLEO SUBTALÁMICO DE RATAS LESIONADAS CON 6-HIDROXIDOPAMINA. I. Morera-Herreras, J.A. Ruiz-Ortega, G. Linazasoro, L. Ucedo.

11:15 O-3.10
CB₁ RECEPTORS ARE ALTERED IN THE BASAL GANGLIA OF MICE WITH DELETION OR MUTATION OF SPECIFIC *PARK* GENES INDICATING THAT THESE RECEPTORS MAY SERVE AS MARKERS OF EARLY PARKINSONISM. Moisés García-Arencibia, Onintza Sagredo, Eva de Lago, M^a Ruth Pazos, José A. Ramos, Javier Fernández-Ruiz.

11:30 Pausa (café)

12:00 O-3.11
EFECTO DE LA AUTOADMINISTRACIÓN DE CANNABIS SOBRE LOS SÍNTOMAS Y CALIDAD DE VIDA DE PACIENTES CON FIBROMIALGIA. Jimena Fiz, Marta Duran, Dolors Capellà, Magí Farré.

12:15 O-3.12
ENHANCED MANIFESTATIONS OF NEUROPATHIC PAIN IN CANNABINOID CB2 RECEPTOR KNOCK-OUT MICE. Xavier Nadal, Ildiko Racz, Miquel Martín, Josep E. Baños, Jennifer Rehnelt, Andreas Zimmer, Rafael Maldonado.

12:30 O-3.13
PREVENCIÓN DEL DESARROLLO DE DOLOR CRÓNICO NEUROPÁTICO INDUCIDO POR ANTITUMORALES MEDIANTE ADMINISTRACIÓN DE UN AGONISTA CANNABINOIDE. Elisa Burgos, Gema Vera, David Pascual, Raquel Abalo, M. Isabel Martín, Carlos Goicoechea.

12:45 O-3.14
ATTENUATED DEVELOPMENT OF NEUROPATHIC PAIN IN MICE OVEREXPRESSING CB2 CANNABINOID RECEPTORS. Miquel Martín, Xavier Nadal, Alfonso Gutierrez-Adan, Jorge Manzanares, Rafael Maldonado.

13:00 Discusión General

13:15-14:30 4ª Sesión de comunicaciones: "POTENCIAL DE LOS CANNABINOIDES EN CANCER" (moderadores: Amaia Erdozain y Guillermo Velasco)

13:15 O-4.1
R(+)-METANANDAMIDA INDUCE SÍNTESIS *DE NOVO* DE CERAMIDAS EN CÉLULAS DE CÁNCER DE PRÓSTATA. Nuria Olea Herrero, Sophie Malagarie-Cazenave, Ana María Sánchez García, Diana Vara, Inés Díaz-Laviada.

13:30 O-4.2
EFECTO DEL CANNABIS NO PSICOACTIVO SOBRE LA INFLAMACIÓN Y CARCINOGENESIS INTESTINAL. A. García de Vinuesa, C. Navarrete, J. Peña, I. M. Jimena, B. Fiebich, G. Appendino, E. Muñoz.

13:45 O-4.3
LOS CANNABINOIDES INDUCEN APOPTOSIS EN CÉLULAS TUMORALES A TRAVÉS DE UN MECANISMO QUE IMPLICA ESTRÉS DE RETÍCULO Y AUTOFAGIA. María Salazar, Arkaitz Carracedo, Íñigo J. Salanueva, Sonia Hernández, Cristina Blázquez, Mar Lorente, Ainara Egia, Patricia Vázquez, Sofía Torres, María M. Caffarel, Manuel Guzmán, Patricia Boya, Guillermo Velasco.

14:00 O-4.4
LA PROTEÍNA DE ESTRÉS P8 Y SU DIANA TRB3 CONECTAN EL ESTRÉS DE RETÍCULO Y LA AUTOFAGIA EN LA MUERTE CELULAR INDUCIDA POR CANNABINOIDES. María Salazar, Arkaitz Carracedo, Íñigo J. Salanueva, Sonia Hernández, Cristina Blázquez, Mar Lorente, Ainara Egia, Patricia Vázquez, Sofía Torres, María M. Caffarel, Manuel Guzmán, Patricia Boya, Guillermo Velasco.

14:15 Discusión general

14:30 Comida

16:30 Presentación del premio a la mejor publicación sobre cannabinoides en el año 2007

17:00h **Mesa Redonda: Cannabis: del consumo lúdico al uso terapéutico** (moderador: Javier Meana y _____)

- Ioseba Iraurgi (Psicólogo Clínico, Módulo de Asistencia Psicosocial de Rekalde)
- Miguel Landabaso (Psiquiatra, Centro de Drogodependencias de Baracaldo)
- Iñaki Marquez (Psiquiatra, Osakidetza)

18:30 **Pausa (café)**

19:00 **Asamblea de la SEIC**

21:00 **Cena (libre)**

Día 1 de Diciembre

9:00-12:00 **5ª Sesión de comunicaciones: "CANNABINOIDES Y ASPECTOS NEUROPSIQUIATRICOS E INTERACCIÓN CON DROGAS DE ABUSO"** (moderadores: Javier Meana y Olga Valverde)

9:00 O-5.1

EFFECTOS COGNITIVOS Y EMOCIONALES A LARGO PLAZO DE UN TRATAMIENTO CRÓNICO EN EDAD ADOLESCENTE CON EL AGONISTA CANNABINOIDE CP 55,940 EN RATAS WISTAR DE AMBOS SEXOS. A. Higuera-Matas, F. Botreau, N. Del Olmo, M. Miguéns, L. Pérez-Álvarez, E. Borcel, C. García-Lecumberri, E. Ambrosio.

9:15 O-5.2

EFFECTS OF CHRONIC TREATMENTS WITH SURINABANT AND NICOTINE ON ENERGY METABOLISM AND BEHAVIORAL RESPONSES, IN AN ANIMAL MODEL OF ADOLESCENCE. María-Paz Viveros, Laura Lamota, Francisco Javier Bermudez-Silva, Ricardo Llorente, Eva-María Marco, Fernando Rodríguez de Fonseca.

9:30 O-5.3

EVALUATION OF THE CB₁ RECEPTOR FUNCTIONALITY IN POSTMORTEM BRAIN MEMBRANES OF ALCOHOLIC SUBJECTS. Amaia M. Erdozain, Leyre Urigüen, J. Javier Meana, Luis F. Callado.

9:45 O-5.4

SHORT-TERM EXPOSURE TO ALCOHOL IN RATS AFFECTS BRAIN LEVELS OF ANANDAMIDE, OTHER *N*-ACYLETHANOLAMINES AND 2-ARACHIDONOYL-GLYCEROL. Marina Rubio, Rosario de Miguel, Patricia Rodríguez-Valsero, Javier Fernández-Ruiz, José A. Ramos.

10:00 O-5.5

BEHAVIOURAL AND NEUROCHEMICAL EFFECTS OF COMBINED MDMA AND THC ADMINISTRATION: DOPAMINE AND SEROTONIN TRANSMISSION IN MICE. Maria J. Orejarena, José M. Trigo, Rafael Maldonado, Patricia Robledo.

10:15 O-5.6
LACK OF CB1 RECEPTOR ALTERS SEROTONIN SYSTEM: AN ELECTROPHYSIOLOGICAL AND *IN VIVO* MICRODIALYSIS STUDY. E. Aso, T. Renoir, A. Ozaita, C. Ledent, M. Hamon, R. Maldonado, L. Lanfumey, O. Valverde.

10:30 O-5.7
INFLUENCIA DE LA VIA DE ADMINISTRACIÓN SOBRE LA SEÑALIZACIÓN DEL RECEPTOR CB₁ TRAS TRATAMIENTO CRÓNICO CON FLUOXETINA. E.M. Valdizán, E. Castro, S. Mato, E. del Olmo, A. Pazos.

10:45 O-5.8
ALTERED ENDOCANNABINOID-DEPENDENT SIGNALLING IN THE PREFRONTAL CORTEX OF AN ANIMAL MODEL OF DEPRESSION: REVERSION BY CHRONIC FLUOXETINE. A. Díaz, A. Rodríguez-Gaztelumendi, E. Marrón, M. L. Rojo, M. J. Castillo, E. M. Valdizán, A. Pazos.

11:00 O-5.9
CANNABINOIDES Y ESTIMULANTES COMO CATALIZADORES EN EL COMIENZO DE LA PSICOSIS. José Luis Rubio, Marisa Barrigón, Maite Ferrín, Miguel Ruiz-Veguilla, Manuel Gurpegui, Jorge Cervilla.

11:15 O-5.10
CONSUMO CRONICO DE CANNABIS Y EJECUCION COGNITIVA. D. Lloret, M. Segura, P. Hernández.

11:30 Discusión General

12:00 Pausa (café)

12:30 Clausura y entrega de premios

CANNABIDIOL: MODE OF ACTION AND THERAPEUTIC POTENTIAL

R. Mechoulam

Hebrew University of Jerusalem, Israel

Over the last 40 years cannabinoid chemistry and pharmacology have been the object of thousands of publications. For obvious reasons most attention has been paid to Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), the psychoactive constituent of Cannabis. As cannabidiol (CBD), a non-psychotropic plant constituent, is present in relatively high concentrations in Cannabis, and has been found to be of therapeutic importance, over the last decade interest in it has increased considerably.

The presentation will cover some of its chemistry, biological effects, therapeutic potential and mechanisms of action.

CBD: selected biological effects:

- Effects on cytokines and related endogenous constituents
- Sleep
- Effect on c-Fos

CBD: selected therapeutic aspects:

- Rheumatoid arthritis
- Diabetes type 1
- Myocardial ischemic reperfusion injury
- Cerebral ischemia
- Alzheimer's disease
- Antiemetic and antinausea effects
- Anxiety

CBD: mechanisms of action:

- Antagonist of CB₁ and CB₂ agonists
- Enhancer of adenosine signaling
- Action on the 5-HT_{1a} receptor
- A potent anti-oxidant

R. Mechoulam, M. Peters, E. Murillo-Rodriguez, L.O. Hanus. Cannabidiol – recent advances. *Chemistry & Biodiversity* 4, 1678-1692 (2007).

**IMMUNOHISTOCHEMICAL DESCRIPTION OF THE ENDOGENOUS
CANNABINOID SYSTEM IN THE RAT CEREBELLUM AND FUNCTIONALLY-
RELATED NUCLEI**

Juan Suárez, Francisco Javier Bermúdez-Silva, Fernando Rodríguez de Fonseca
*Laboratorio de Medicina Regenerativa. Fundación IMABIS. Avenida Carlos Haya 82, 29010
Málaga, Spain. E-mail: juan.suarez@fundacionimabis.org*

The present work reports a detailed analysis of the distribution of the main proteins of the endogenous cannabinoid system in the rat cerebellum (cerebellar cortex and deep cerebellar nuclei) and two functionally-related nuclei, the vestibular nuclei and the inferior olive. They include the two main cannabinoid receptors (CB₁ and CB₂), the enzymes involved in cannabinoid biosynthesis (DAGL α , DAGL β and NAPE-PLD) and the endocannabinoid-degradating enzymes (FAAH and MAGL). The analysis of the immunostaining patterns was carried out at transversal and sagittal planes of the adult rat brain by comparing with the cytoarchitecture, its neurochemistry and connections. With respect to the cerebellar cortex, the data confirms several published reports on the distribution of cannabinoid CB₁ receptors, DAGL α , MAGL and FAAH that suggest the role of endocannabinoids as retrograde messengers in the synapses of the Purkinje cells with either, parallel fibers of granule cells, climbing fibers from the inferior olive and GABAergic interneurons. Additionally we describe the presence of CB₂ receptors in structures related to Purkinje cells (Pinceau formations) that suggest a potential role for this receptor in retrograde cannabinoid signalling. A remarkable finding of the present study is the description of the different elements of the endogenous cannabinoid system in both, the main afferent nuclei to the cerebellar cortex (the inferior olive) and the efferent cerebellar pathway (the deep cerebellar nuclei). The presence of the endogenous cannabinoid system at this level establishes the basis for endocannabinoid-mediated synaptic plasticity as a control mechanism in motor learning and open new research lines to the study of the contribution of this system in gait disorders affecting the cerebellum.

PLASTICIDAD SINÁPTICA MEDIADA POR CANNABINOIDES EN LAS SINAPSIS EXCITADORAS DEL NÚCLEO DEL LECHO DE LA ESTRÍA TERMINAL

Nagore Puente¹, Izaskun Elezgarai², Leire Reguero², Pedro Grandes², François Georges¹ and Olivier J. Manzoni¹

¹INSERM U862, Physiopathologie de la Plasticité Synaptique, 33077 Bordeaux Cedex, France; ²Departamento de Neurociencias Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), E-48940, Leioa, Vizcaya

El núcleo del lecho de la estría terminal (en inglés *bed nucleus of stria terminalis*- BNST) está involucrado en conductas relacionadas con la drogadicción, el estrés, así como la recompensa natural. A pesar de que existen evidencias de la participación del sistema cannabinoide endógeno (eCB) en estas conductas no se conoce la localización subcelular ni las funciones del receptor de cannabinoides CB1 (RCB1) en el BNST. Para ello, hemos empleado técnicas inmunocitoquímicas para microscopía electrónica así como técnicas electrofisiológicas. Como se ha visto en otras sinapsis excitadoras que expresan eCB-LTD, los receptores CB1 se localizan en terminales presinápticos que contactan sobre dendritas mGluR5 positivas en el BNST. Por otro lado, la activación del RCB1 mediante la aplicación de agonistas exógenos inhibe intensamente las corrientes postsinápticas excitadoras evocadas a niveles presinápticos: Observamos cambios tanto en el *paired pulse ratio* como en la frecuencia de las corrientes sinápticas espontáneas. Una estimulación sináptica prolongada de 10 Hz induce una intensa depresión de larga duración (LTD) de la transmisión glutamatérgica del BNST. Esta LTD se expresa a nivel presináptico y depende de la activación postsináptica del mGluR5 a través de la activación presináptica del RCB1, como se predice por la localización de los distintos componentes del sistema eCB. Este fenómeno de la LTD mediada por cannabinoides se da en las sinapsis glutamatérgicas de neuronas locales, así como en las neuronas proyectantes. La localización presináptica del CB1, postsináptica del mGluR5 y la plasticidad sináptica sugieren un posible sustrato neuronal de los efectos de los cannabinoides sobre el estrés y las conductas relacionadas con la recompensa natural.

Agradecimientos

El trabajo realizado en el laboratorio de O.J.M. ha sido financiado por el Departamento de Educación, Universidades e Investigación del Gobierno Vasco. El trabajo realizado en el laboratorio de P.Grandes ha sido financiado por Ministerio de Ciencia y Tecnología. BFI2002-01474.

**COMPONENTES DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE Y DEL GRUPO I DE
RECEPTORES METABOTRÓPICOS DE GLUTAMATO EN EL NÚCLEO DEL
LECHO DE LA ESTRÍA TERMINAL**

Izaskun Elezgarai¹, Nagore Puente², Leire Reguero¹, Léma Massi², François George², Olivier Manzoni² y Pedro Grandes¹

1. Departamento de Neurociencias, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, E-8940. Leioa. Bizkaia.

2. INSERM U862 Equipe “Physiopathologie de la Transmission et de la Plasticité Synaptique”, 146 Rue Léo-Saignat, 33077 Burdeos

El núcleo del lecho de la estría terminal (en inglés *bed nucleus of stria terminalis*-BNST) y la corteza prefrontal están implicados en conductas relacionadas con la recompensa natural, drogadicción y estrés. A pesar de que existen evidencias de la participación del sistema endocannabinoide en estos estados conductuales, la localización y función del receptor de cannabinoides CB1 (CB1R) en el BNST no son conocidas. En esta investigación hemos empleado técnicas inmunocitoquímicas y de trazado axónico con el fin de estudiar la distribución de los receptores CB1 en relación con la proyección de la corteza prefrontal infralímbica (CxIL). Así mismo, hemos estudiado la localización de CB1R relativa al receptor metabotrópico de glutamato mGluR5. El análisis a nivel de microscopía electrónica, tras la doble inyección de *Phaseolus vulgaris*-leucoagglutinin en la corteza infralímbica y de coleratoxina B en el área tegmental ventral (ATV), demostró que terminales axónicos originados en la corteza prefrontal establecen contactos sinápticos con las dendritas de las neuronas que proyectan al área tegmental ventral. Así mismo, estos terminales de origen cortical infralímbico expresan el receptor CB1 y establecen contactos sinápticos con dendritas CTb positivas de neuronas proyectantes al ATV. Finalmente, observamos que terminales sinápticos que expresan CB1 hacen sinapsis con dendritas inmunorreactivas para el receptor mGluR5.

Los resultados derivados de este estudio indican la participación del receptor CB1 en la modulación presináptica de la proyección de neuronas corticales prefrontales al BNST, y en la que además el receptor mGluR5 jugaría un papel fundamental en la señalización retrógrada desde las dendritas neuronales postsinápticas que reciben dicha proyección.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado por Grupos Consolidados de la UPV/EHU. Agradecer al Prof. Dr. Masahiko Watanabe el anticuerpo frente a RCB1 (Hokkaido University School of Medicine, Japan)

MODULATION OF THE mTOR PATHWAY BY Δ^9 -TETRAHYDROCANNABINOLEmma Puighermanal¹, Marisol Montolio², Rafael Maldonado¹ and Andrés Ozaita¹¹*Laboratori de Neurofarmacologia, Departament de Ciències Experimentals i de la Salut, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain*²*Unitat de Biologia Cel.lular i Molecular, Institut Municipal d'Investigació Mèdica, Barcelona, Spain.*

Most of the central effects of THC derive from the activation of the CB1 cannabinoid receptors which are widely expressed in the central nervous system. THC, acting on CB1 cannabinoid receptors, activates the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (PKB/Akt) pathway in the brain. The aim of this study was to examine the effect of PI3K/Akt activation by THC on its downstream effector mammalian target of rapamycin (mTOR), a serine-threonine protein kinase that regulates several processes, including cell growth, cell survival and protein synthesis. The regulation of protein translation by mTOR is controlled by the synthesis of new translational machinery. This process involves the phosphorylation of p70S6K, which in turn, phosphorylates the 40S ribosomal protein S6, modulating the translation of the 5'TOP mRNA subset. Proteins encoded by such transcripts include ribosomal proteins and elongation factors, such as eEF1 α .

Primary hippocampal neurons as well as mouse brain samples were analyzed with antibodies against phospho-p70S6K, phospho-S6 and eEF1 α by western blot and immunohistochemistry techniques. THC-induced phosphorylation of p70S6K was found in neuronal cultures as well as in hippocampus, cerebellum, striatum and frontal cortex of mice acutely treated with THC. Moreover, an increase of TOP mRNA-encoded proteins, such as S6 and eEF1 α , was detected in the hippocampus. THC-induced p70S6K phosphorylation was mediated by CB1 cannabinoid receptors as it was blocked by pre-treatment with the selective CB1 antagonist rimonabant. Furthermore, two specific PI3K inhibitors, LY294002 and wortmannin, as well as the mTOR inhibitor rapamycin, blocked the p70S6K phosphorylation induced by THC. However, a specific inhibitor of extracellular signal-regulated kinase (ERK), SL327, failed to inhibit the increase in phospho-p70S6K levels mediated by THC, indicating that this is an effect independent of the MAPK pathway.

The crucial role of mTOR in neuronal morphology and in synaptic plasticity, and their widespread activation by THC in the mouse brain, suggests that the modulation of the mTOR-dependent translational control by cannabinoids may underlie some of the effects ascribed to these compounds in synaptic plasticity.

LA ANANDAMIDA INCREMENTA LA FORMACIÓN DE PGE₂ EN CELULAS DEL SNC Y ESTA ACTIVIDAD ES INHIBIDA POR EL ENDOVANILLOIDE N-ARAQUIDONOILDOPAMINA

C. Navarrete, F.J. Caballero, A. García de Vinuesa, B.L. Fiebich * y E. Muñoz
Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología. Universidad de Córdoba;
 * *Universidad de Freiburg, Alemania*

Los endocannabinoides representan una clase de mediadores lipídicos de tipo eicosanoide cuya estructura básica es la de un ácido graso no saturado unido a otra estructura mediante un puente amida o un enlace tipo éster. Estos ligandos junto con sus receptores (CB1, CB2 y TRPV-1) y con los mecanismos que regulan su biosíntesis y degradación constituyen el sistema endocanabinoide. Aparte del efecto directo de los endocannabinoides sobre sus receptores este sistema también se regula por el llamado efecto “*entourage*” mediante el cual el efecto de un endocanabinoide puede ser modulado por otro. Numerosos trabajos han mostrado que el sistema endocanabinoide está íntimamente relacionado con la regulación de ciertos mediadores de la inflamación como son las prostaglandinas. En concreto los endocannabinoides Anandamida (AEA) y 2-araquidonoilglicerol (2-AG) son sustratos de la COX-2 para la formación de prostaglandinas-etanolamidas (PG-EAs) y prostaglandinas glicerol esteres (PG-EAs) respectivamente.

Usando células primarias de la microglía y astrocitos hemos observado que la AEA potencia la liberación de la prostaglandina E₂ (PGE₂) inducida tanto por LPS como por IL-1β. El incremento en la producción de PGE₂ no es debido al aumento de la expresión de COX-2 a nivel de proteína y es independiente de la activación del CB1. Además, este efecto es abolido por el URB537 (inhibidor farmacológico de la FAAH) indicando que la degradación de AEA por FAAH es esencial para la síntesis de PGE₂ dependiente de COX-2. Por su parte el NADA no afecta a la inducción de COX-2 inducida por LPS o IL-1 pero inhibe la producción de la PGE₂ inducida por estos estímulos y por la AEA ya que inhibe la actividad enzimática de la COX-2. De acuerdo con este resultado también encontramos que el NADA inhibe la formación del isoprostrano 8-*iso*-prostaglandina F_{2α} (8-*iso*-PGF_{2α}) en células de la microglía.

En resumen nuestros resultados demuestran un nuevo ejemplo de cómo el sistema endocannbinoide tiene una importante capacidad de autorregulación en determinadas respuestas biológicas.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto SAF-2004-00926

PAPEL DEL SISTEMA CANNABINOIDE ENDÓGENO EN LA DIFERENCIACIÓN DE PROGENITORES DE OLIGODENDROCITO

Oscar Gómez, Angel Arévalo-Martín, Daniel García-Ovejero, Ana Rubio-Araiz, Beatriz Navarro, Carlos Hagen, Eduardo Molina-Holgado

Departamento de Neuroinflamación. Hospital Nacional de Paraplégicos de Toledo (SESCAM)

En nuestro laboratorio se ha demostrado la existencia de receptores de cannabinoides tipo 1 (CB1) en oligodendrocitos *in vivo* e *in vitro*, estas células también expresan el receptor tipo 2 (CB2). La activación de los receptores CBs *in vitro* induce la supervivencia de progenitores de oligodendrocitos y ejerce un efecto positivo sobre la remielinización en ratones infectados con el virus de Theiler, usado como modelo de Esclerosis Múltiple. Además, recientemente hemos publicado un trabajo que demuestra el efecto de la administración exógena de cannabinoides sobre la mielinización post natal en la cápsula externa, así como el efecto sobre la proliferación de células madre *in vitro* a través de CB2. A pesar de estos datos, poco se sabe sobre el eventual efecto fisiológico del sistema endocannabinoide sobre los oligodendrocitos. Datos previos del laboratorio (aún sin publicar) demostraban que el bloqueo de receptores de cannabinoides, empleando antagonistas específicos SR141716 (para CB1) y AM630 (para CB2), reducían la expresión de MBP (proteína básica de la mielina) en oligodendrocitos *in vitro*. El primer objetivo del presente estudio fue estudiar determinar el eventual papel del sistema cannabinoide endógeno en la maduración de oligodendrocitos *in vivo*. El tratamiento de ratas neonatales desde el día 1 al 14 con el antagonista del receptor CB1 SR141716, redujo la expresión de MBP (empleado comúnmente como índice de mielinización) en varias áreas de mielinización temprana en cerebro. Empleando un anticuerpo específico se demostró la presencia de la DAGL- α (enzima que cataliza la conversión de diacilglicerol en 2-AG; uno de los endocannabinoides mayoritarios), en la estirpe oligodendroglial en varias fases de maduración tanto *in vivo* como *in vitro*. En progenitores de oligodendrocitos, purificados a partir de corteza cerebral de rata neonatal, el bloqueo de esta enzima con el inhibidor RHC-80267, inhibió la diferenciación de oligodendrocitos y fue revertido mediante la administración de 2-AG exógeno. Una de las vías intracelulares activada por cannabinoides en varios tipos celulares es la ERK/ MAP Kinasa. Recientemente se ha implicado su activación por pH o BDNF en la diferenciación de oligodendrocitos. Sin embargo, la activación de esta vía por cannabinoides así como su eventual efecto sobre diferenciación de oligodendrocitos no ha sido demostrada. El tratamiento, tanto con SR141716 como con AM630 redujo la fosforilación basal de ERK1/2 cuando se administraron a progenitores de oligodendrocito durante 10 minutos. Del mismo modo, al bloquear la DAG lipasa mediante la administración de RHC-80267 durante 1, 2 y 3, horas redujo la fosforilación basal de ERK1/2 y este efecto fue revertido por la adición de 2-AG durante 2 minutos. Todos estos resultados indican un papel fundamental del sistema endocannabinoide en la diferenciación de los progenitores de oligodendrocitos. La activación constitutiva de ambos receptores debe de ser consecuencia de una síntesis basal de 2-AG, que actuando de forma autocrina induce la diferenciación de estas células. Esta acción es dependiente de la activación de la vía intracelular ERK/MAP Kinasa.

NEW EVIDENCE OF THE CONTROL OF CELL ADHESION MOLECULE L1 EXERTED BY THE CANNABINOID SIGNALING DURING THE BRAIN DEVELOPMENT IN RODENTS

María Gómez¹, Mariluz Hernández^{1,2}, Maribel Cebeira¹, Iria Sánchez-Lobo¹, Javier Fernández-Ruiz¹

¹*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Facultad de Medicina, and*

²*Departamento de Psicobiología, Facultad de Psicología, Universidad Complutense de Madrid, 28040-Madrid*

We have recently reported that the administration of the cannabinoid agonist Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) during fetal and early postnatal periods in rats affects the expression of L1 protein in certain forebrain regions, which play key roles in processes related to cell proliferation and migration, neuritic elongation and guidance, and synaptogenesis. This supports the notion that the neurodevelopmental effects of cannabinoids may be mediated, among others, by their capability to affect the function of this cell adhesion molecule. The present study has been designed to further explore the interactions between cannabinoids and L1, by analyzing the levels of L1-mRNA in the fetal brain of wild-type mice in comparison with animals bearing a genetic deletion of the CB₁ receptor, the major cannabinoid receptor type that seems to be involved in the effects of Δ^9 -THC during brain development. The analyses were done with tissues obtained at the gestational day 18 for both groups of animals. Our results revealed a significant increase in the levels of L1 transcripts in different white matter structures (e.g. fimbria, stria terminalis and stria medullaris) and a trend towards an increase in the corpus callosum of CB₁-deficient mice, which were equivalent to the increases previously found in these regions after the administration of Δ^9 -THC in rat fetuses. By contrast, we observed similar values for L1-mRNA levels in grey matter regions (e.g. cerebral cortex, caudate-putamen and septum) of CB₁-deficient and wild-type mice. On the other hand, using cultured fetal rat cortical neurons, we also observed that the activation of cannabinoid receptors, either CB₁ or CB₂, with the non-selective agonist HU-210 increased the levels of L1 but reduced the post-translational processing of this protein by modifying the generation of some biological fragments of L1 that have been associated with specific steps in the process of neuritic elongation in cultured neurons. Interestingly, these effects depended on the stage of maturation of neurons *in vitro*. Therefore, the present data support again that the expression of L1, and also its post-translational processing, in the developing brain are under the control of the cannabinoid signaling system, an effect particularly relevant in different forebrain white matter structures. However, the present data also indicate that the regulation of L1 by cannabinoids might be different in mice compared to rats, or, alternatively, that this regulation might be dual, independently of animal species, involving a negative control exerted by CB₁ receptors and a positive effect presumably exerted by other cannabinoid receptors.

Acknowledgements: Supported by grants from MEC (SAF2006-11333), CIBERNED (CB06/05/0089) and CAM (S-SAL-0261/2006). Authors are indebted to Dr. B. Lutz and Dr. G. Marsicano for kindly providing the CB₁-deficient mice.

CARACTERIZACIÓN DE LOS MECANISMOS VASODILATADORES DE LA METANANDAMIDA EN AORTA DE RATA

E. Herradón^a, M.T. Dannert^b, A. Alsasua^b, M.I. Martín^a, V. López-Miranda^a

^aUniversidad Rey Juan Carlos, Facultad Ciencias de la Salud, Dpto. Ciencias de la Salud III, Área de Farmacología. Alcorcón, Madrid. ^bUniversidad Complutense de Madrid, Facultad de Medicina, Dpto. Farmacología. Madrid

Estudios en preparaciones aisladas procedentes de vasos de pequeño calibre (vasos de resistencia) demuestran que diferentes cannabinoides tanto endógenos como naturales o sintéticos, producen vasodilatación. Sin embargo, no existen muchos estudios en los que se investigue si los cannabinoides producen también relajación en vasos de mayor calibre (vasos de conductancia) y, si dicho efecto se produce cuáles son los mecanismos implicados. Estudios llevados a cabo en nuestro laboratorio han demostrado que la anandamida y la metanandamida producen vasodilatación en un vaso de conductancia (la aorta de rata). Recientemente nuestro grupo ha caracterizado los mecanismos por los que la anandamida produce dicho efecto. El objetivo del presente trabajo es la caracterización de los mecanismos implicados en el efecto vasodilatador de la metanandamida en aorta de rata.

En preparaciones aisladas de anillos de aorta procedentes de ratas Wistar macho adultas, se realizaron curvas concentración-respuesta de metanandamida (10^{-9} M - 10^{-4} M) evaluándose los cambios en la tensión isométrica de los anillos tras cada administración. Se ha evaluado la posible participación de factores vasorelajantes derivados del endotelio (utilizando inhibidores de la síntesis de óxido nítrico (L-NAME, 100 μ M), prostaglandinas (indometacina 10 μ M) y factor hiperpolarizante (Apamina 100nM + Charibdotoxina 100nM)), de receptores acoplados a proteínas Gi (bloqueándolas con toxina pertussis 300ng/ml), de receptores cannabinoides (CB1, CB2 y noCB1/noCB2) y vanilloides (TRPV1) (con los antagonistas rimonabant 1 y 3 μ M, SR144528 1y 3 μ M, cannabidiol 1 μ M y capsazepina 100nM respectivamente), de la liberación del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) (con el antagonista CGRP₈₋₃₇ 3 μ M), de la posible síntesis de metabolitos vasodilatadores (con inhibidores de la FAAH, URB597 1 μ M, y del citocromo P450, el ácido 17-ODYA 5 μ M), de la participación de canales de potasio activados por calcio (con el bloqueante iberiotoxina 100nM), así como de la participación del transportador de membrana propuesto para la anandamida (con el inhibidor AM404 10 μ M).

La metanandamida causó una vasodilatación endotelio y concentración dependiente en aorta de rata, siendo la vasodilatación máxima obtenida de alrededor del 60%. En cuanto a los mecanismos estudiados, el efecto vasodilatador de la metanandamida fue significativamente disminuido por L-NAME, toxina pertussis, rimonabant y SR144528 a las dos concentraciones ensayadas, capsazepina, CGRP₈₋₃₇, el ácido 17-ODYA así como por la iberiotoxina. El pretratamiento de los anillos con indometacina, apamina+charibdotoxina, cannabidiol, URB597 o AM404 no afectó la vasodilatación causada por metanandamida.

Nuestros resultados demuestran, por primera vez, la participación de dos vías en el efecto vasodilatador de la metanandamida: una sería extracelular, ya que la metanandamida actuaría en los receptores CB1, CB2 y TRPV1 localizados a nivel de la membrana endotelial y otra vía sería intracelular en la que se requeriría el metabolismo del cannabinode a través del citocromo-P450 a un metabolito hiperpolarizante, probablemente el ácido 5',6'-epoxieicosatrienoico (EET), que actuaría a través de canales de potasio activados por calcio como los TRPV4.

Agradecimientos: SAF2003-08003-C02-01, SAF2006-13391-C03-01, URJC-CM-2006-BIO-0604 y S-SAL/0261/2006.

EFFECTOS BENEFICIOSOS CARDIORRESPIRATORIOS DEL CANNABIDIOL EN CERDITOS RECIEN NACIDOS ASFICTICOS

Lafuente H (1), Rey-Santano MC (1), Mielgo VE (1), Gastiasoro E (1), Serna P (1), Romero J (2), Martínez-Orgado J (2), Loureiro B (1), Alvarez FJ (1)

(1) *Laboratorio de Fisiopatología Perinatal Experimental, Gurutzetako Ospitalea, Bilbo, Bizkaia*; (2) *Laboratorio de Apoyo a la Investigación, Fundación Hospital Alcorcón, Madrid*

Antecedentes: Es bien conocido que un episodio asfíctico puede inducir daño cerebral en el neonato. Sin embargo, la asfixia perinatal también se asocia a una afectación multiorgánica, especialmente cardiorrespiratoria, que puede comprometer la supervivencia y agravar el daño cerebral del neonato. En el presente trabajo se analizan los efectos cardiorrespiratorios de la administración de cannabidiol en un modelo de asfixia neonatal en cerditos recién nacidos.

Material y métodos: El trabajo fue llevado a cabo en 18 cerdos de 3-5 días de edad, según normativa vigente (RD 1201/05). Los cerdos fueron traqueotomizados y conectados a un respirador, estudiándose la mecánica pulmonar: presión media en la vía aérea, volúmenes respiratorios, distensibilidad pulmonar (Índice de compliance dinámica: $C_{L,din}$) y dificultad para oxigenar (medida como Índice de Oxigenación, IO). Se introdujeron catéteres para la obtención de muestras de sangre (pH, P_{O_2} , P_{CO_2} , $SatO_2$), determinación del gasto cardiaco (CO), frecuencia cardiaca (FC) y tensión arterial media (TAM). Finalmente se expusieron ambas arterias carótidas, midiéndose en una de ellas el flujo sanguíneo carotideo (FSC). El evento HI se indujo durante 20 min mediante la oclusión reversible de las arterias carótidas y la disminución de la $FiO_2 < 10\%$. Tras la HI, los animales fueron estabilizados, y a los 15 min y 4 h se administró: vehículo –suero salino- (VEH, n=8) o cannabidiol 0.1 mg/Kg i.v. (CBD, n=8). Animales control sin HI se manejaron de forma similar durante el mismo tiempo (CTL, n=2). En las 6 h posteriores a la HI se registraron los datos anteriormente referidos. Cuando fue necesario se modificaron los parámetros ventilatorios para mantener una P_{O_2} y $SatO_2$ estables, se administraron tampones (bicarbonato, THAM) para mantener el pH neutro, y se administraron cardiotónicos (dopamina o adrenalina) para mantener la TAM. Los datos, representados como media \pm DE, fueron comparados mediante análisis unifactorial (ANOVA) y multifactorial (MANOVA) de la varianza ($p < 0,05$).

Resultados: No hubo diferencias en valores de FC, CO y TAM entre VEH y CBD, aunque para ello los VEH necesitaron más dosis de dopamina (1.93 ± 0.3 vs. 1.3 ± 0.3 mL/h, $p < 0,05$). En VEH se consiguió normalizar el pH a las 2 h y la P_{CO_2} a las 4 h, mientras que en CBD se consiguió en 1 hora. En relación a la mecánica pulmonar, no hubo diferencias entre VEH y CBD en presión o frecuencia respiratoria, pero en VEH se apreció una progresiva disminución de la distensibilidad (variación del $C_{L,din}$: $-24.3 \pm 6.5\%$), mientras que en CBD se mantuvo estable durante el estudio (var. $C_{L,din}$: $-3.7 \pm 4.3\%$, $p < 0.05$). Además, la dificultad para oxigenar aumentó durante el estudio en VEH (var. del IO de $+69.3 \pm 17\%$), mientras que en CBD se mantuvo estable (var. del IO: $+13.6 \pm 11\%$, $p < 0.05$).

Conclusiones: En cerditos recién nacidos asfícticos, la administración de CBD induce efectos beneficiosos cardiocirculatorios y metabólicos. En relación a la ventilación, el CBD induce una mejora en la oxigenación y ventilación, junto con un efecto protector de la distensibilidad, lo que en conjunto sugiere un efecto beneficioso sobre el parénquima pulmonar, probablemente en relación con sus propiedades antiinflamatorias.

Financiado con becas FIS PI061085, PI060839, GV2006111020 y SAF 2004-00237.

EL RECEPTOR CANNABINOIDE CB₂ ESTÁ PRESENTE EN LOS ESPERMATOZOIDES HUMANOS Y REGULA LA MOVILIDAD ESPERMÁTICA DE MANERA DISTINTA AL RECEPTOR CB₁

Ekaitz Agirregoitia*, Nerea Subirán*, Asier Valdivia*, Carmen Ochoa**, Jon Irazusta*

**Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina y Odontología UPV/EHU*

***Laboratorio de Seminología y Embriología Clínica. Clínica Euskalduna, Bilbao*

Introducción; Los cannabinoides ejercen su efecto a través de los receptores cannabinoides CB₁ y CB₂. Hasta la fecha sólo se ha descrito la presencia del endocannabinoide anandamida (AEA) tanto el tracto reproductor femenino como en el masculino, sugiriendo que el espermatozoide podría estar expuesto a esta sustancia en su tránsito hasta el ovocito. De hecho, existen trabajos que sugieren una implicación directa de la AEA en funciones espermáticas requeridas para la fertilización. Esta implicación se ha visto reforzada con la descripción del receptor cannabinoide CB₁ en espermatozoides humanos realizada recientemente por varios grupos, entre ellos el nuestro.

Objetivo; El objetivo del presente estudio es describir la presencia del receptor CB₂ en espermatozoides humanos y determinar el papel que los receptores cannabinoides pudieran tener en la movilidad espermática tras la incubación con agonistas y antagonistas específicos para cada receptor.

Materiales y métodos; La muestra seminal se recoge de donantes normozoospermicos y los espermatozoides más móviles se recuperan mediante *swim-up*. Tras resuspenderlos en medio *Tyrode* modificado, se evalúa el efecto de la activación de cada receptor cannabinoide mediante incubaciones con concentraciones ascendentes del agonista específico (10^{-7} M, 10^{-6} M y 10^{-5} M). El antagonismo se analizó mediante co-incubación con dosis equimoleculares del antagonista específico. Finalmente realizamos controles paralelos para ver si la incubación con antagonista, sólo, variaba la movilidad espermática. Se utilizaron los agonistas ACEA y JWH-015 y los antagonistas SR141716A y SR144528 para los receptores cannabinoides CB₁ y CB₂ respectivamente. La determinación de los distintos grados de motilidad se realizó mediante un sistema computerizado de análisis de espermatozoides a los tiempos 0, 0.5, 1 y 2 horas.

Resultados; La velocidad progresiva rápida (tipo a), parámetro seminal importante para evaluar la fertilidad masculina, es afectada de manera diferente tras la modulación de los receptores cannabinoides. El agonista de receptores CB₁, ACEA, reduce de manera significativa el porcentaje de espermatozoides “tipo a” con respecto al control de manera dosis-dependiente, aumentando el porcentaje de espermatozoides “tipo d” (inmóviles). El antagonista SR141716A muestra un comportamiento similar al agonista en los “tipo a” pero no en los “tipo b”, sin embargo, en los dos tipos la acción del agonista se ve potenciada al co-incubarlo con el antagonista. El agonista para receptores CB₂, JWH-015, reduce significativamente la movilidad “tipo a” durante el tiempo de manera dosis-dependiente aumentando el porcentaje de los “tipo b” y esta reducción es revertida al tratar la muestra con el antagonista específico SR144528. Este antagonista solo, no muestra ninguna acción.

Conclusión; En base a estos datos, podemos sugerir que el sistema cannabinoide, mediante la síntesis y degradación de diferentes ligandos, podría regular estrechamente la movilidad espermática en diferentes etapas del proceso reproductivo, ya que la activación selectiva de uno u otro receptor conduce a un cambio diferente en el patrón de movilidad. De esta manera, continuamos avanzando en la comprensión de la desconocida bioquímica y fisiología del espermatozoide humano, la cual, debe traer avances en la comprensión y tratamiento más dirigido y personalizado de los problemas de fertilidad masculina.

ANÁLISIS RADIOLÓGICO DEL EFECTO DE DOS TRATAMIENTOS CRÓNICOS CON WIN 55,212-2 EN LA MOTILIDAD DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE LA RATA

R. Abalo¹, P.A. Cabezos¹, G. Vera¹, M. Castillo¹, R. Fernández-Pujol² y M.I. Martín¹
Áreas de Farmacología¹ y Medicina Física y Radiología², Depto. de Ciencias de la Salud III, Fac. de Ciencias de la Salud. Universidad Rey Juan Carlos. Alcorcón, Madrid

Introducción. Cada vez hay más evidencias de la utilidad de los cannabinoides en patologías crónicas. La utilidad de estos tratamientos podría verse limitada por la presentación de efectos adversos en diferentes sistemas, como el gastrointestinal.

Objetivo. Evaluar, mediante métodos radiológicos, los efectos de dos tipos de tratamiento crónico (diario y semanal), en la motilidad del tracto gastrointestinal.

Metodología. Se utilizaron ratas Wistar macho (240-280 g) que se dividieron al azar en dos grupos, uno para el tratamiento crónico semanal (una administración cada semana durante cuatro semanas consecutivas), y otro para el tratamiento crónico diario (una administración diaria durante 14 días consecutivos). A su vez, para cada tipo de tratamiento se establecieron cuatro grupos de animales que recibieron: salino, vehículo o el agonista mixto cannabinoide WIN 55,212-2 (WIN) a 0.5 o a 5 mg/kg/administración. A diferentes tiempos (después de la primera y la última administración en cada tipo de tratamiento, así como una semana después de haber finalizado el mismo), se evaluó la motilidad gastrointestinal mediante métodos radiológicos, y se determinó la ganancia de peso.

Resultados. En cuanto a la motilidad gástrica, se observó un retraso en el vaciamiento tras la primera administración de WIN a la dosis de 5 mg/kg, pero no a la de 0.5 mg/kg. Este efecto se mantuvo tras la última administración diaria y se acentuó tras la última administración semanal. En cuanto a la motilidad intestinal, tras la primera administración del cannabinoide, se manifestó un retraso dosis-dependiente. Este efecto desapareció en los animales tratados semanalmente con la dosis de 0.5 mg/kg, pero se acentuó en los tratados con la dosis de 5 mg/kg. En cambio, tras la última administración diaria sólo se produjo un leve retraso en el tránsito en los animales tratados con el cannabinoide. Una semana después de la última administración, semanal o diaria, no se evidenció ningún tipo de efecto residual en la motilidad gastrointestinal. La ganancia de peso en los animales tratados con el cannabinoide a dosis altas se redujo, especialmente en aquellos que recibieron el tratamiento diariamente.

Conclusiones. La administración de dosis bajas de cannabinoide, sea de modo diario o semanal, no ocasiona alteraciones importantes de la motilidad gastrointestinal. En cambio, la administración de dosis altas produce alteraciones significativas, sobre todo en la motilidad gástrica, lo que puede estar relacionado con la menor ganancia de peso observada en estos animales.

Agradecimientos. Financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (SAF2003-08003-C02-01 y SAF2006-13391-C03-01) y la Universidad Rey Juan Carlos - Comunidad de Madrid- (URJC-CM-2006-BIO-0604) y la Comunidad de Madrid (S-SAL/0261/2006). Agradecemos a Óscar Gutiérrez (Servicio de Radiología, Clínica Universitaria, Universidad Rey Juan Carlos) su ayuda con las técnicas radiológicas.

PAPEL DEL RECEPTOR CB1 EN LA EXPRESIÓN DE MARCADORES PRO-INFLAMATORIOS Y LA SECRECIÓN DE IgA INDUCIDA POR ESTRÉS EN MUCOSA COLÓNICA

JR Caso, JLM Madrigal, I Marín-Jiménez, J Manzanares, L Menchén, JC Leza
Dpto. de Farmacología. Fac. Medicina Universidad Complutense de Madrid (UCM). Servicio de Aparato Digestivo HGUGM, UCM, Instituto de Neurociencias, Universidad Miguel Hernández-CSIC, Alicante

La exposición a estrés psicológico es un factor implicado en el inicio y curso clínico de ciertas patologías del tracto gastrointestinal (t.g.i.) como la enfermedad inflamatoria intestinal y el síndrome del intestino irritable. Existe amplia evidencia experimental sobre la inducción de inflamación mucosa y disfunción de la barrera intestinal tras exposición a estrés por inmovilización, con una consecuente translocación bacteriana. En el t.g.i. se han identificado tanto endocannabinoides como receptores CB1 y CB2, vanilloides, FAAH y transportadores de membrana. En particular, el receptor de cannabinoides tipo 1 (CB1) controla varios aspectos de la fisiología del t.g.i. (tránsito, defecación y secreciones). Con el objeto de identificar posibles dianas terapéuticas para el manejo de las patologías del t.g.i. inducidas por estrés, se ha diseñado el siguiente estudio: ratones modificados genéticamente deficientes en CB1 (**CB1^{-/-}**) y sus controles normales (*wild-type*, **wt**) se han sometido a un protocolo de estrés por inmovilización más exposición a ultrasonidos durante 4 días, 2 horas al día. Un tercer grupo de ratones wt recibieron la administración i.p. de un antagonista CB1 (SR141716A, rimonabant) antes de cada exposición diaria a estrés a dosis de 2mg/kg (**wt+RMB**). Tras el sacrificio, el colon se procesó para la realización de las siguientes determinaciones: expresión de las enzimas pro-inflamatorias sintasa inducible de óxido nítrico (NOS2) y ciclooxigenasa 2 (COX2) mediante WB y niveles de IgA, reguladora de la respuesta inmune local, mediante ELISA. Resultados: la exposición a estrés induce en la mucosa colónica un incremento de la expresión de NOS2 y de COX2 en ratones CB1^{-/-} mayor que en ratones wt. Igualmente, la expresión de ambas enzimas incrementa en colon de ratones wt+RMB. Por otra parte, la secreción basal de IgA en ratones CB1^{-/-} es significativamente menor que en ratones wt (10.3±2.0 vs. 21.3±4.8 ng/mg proteína, P<0.05) y se reduce de forma drástica tras exposición a estrés por inmovilización (6.45±2.0 ng/mg proteína, P<0.05 vs. control). Estos resultados indican que el receptor CB1 ejerce un papel protector de la mucosa colónica tras exposición a estrés mediante la regulación a la baja de las enzimas pro-inflamatorias NOS2 y COX2, en un mecanismo posiblemente mediado por la regulación de la secreción colónica de IgA. Estos datos sugieren un papel importante en los CB1 en el manejo de la inflamación y disfunción de barrera intestinal inducida por estrés.

EFECTO DEL TRATAMIENTO CRÓNICO CON WIN 55,212-2 EN EL TRÁNSITO INTESTINAL E HISTOLOGÍA DEL TRACTO GASTROINTESTINAL DE LA RATA. ESTUDIO PRELIMINAR

G. Vera, P.A. Cabezos, M. Castillo, M.I. Martín y R. Abalo

*Área de Farmacología, Depto. de Ciencias de la Salud III, Fac. de Ciencias de la Salud.
Universidad Rey Juan Carlos. Alcorcón, Madrid*

Introducción. Cada vez hay más evidencias de la utilidad de los cannabinoides en patologías crónicas. La utilidad de estos tratamientos podría verse limitada por la aparición de efectos adversos en diferentes sistemas, como el gastrointestinal. Mediante técnicas radiológicas hemos comprobado que se producen alteraciones en la función gastrointestinal durante este tipo de tratamientos, que podrían persistir una vez finalizado el mismo.

Objetivo. Evaluar los efectos de dos tratamientos crónicos diferentes con WIN 55,212-2, en el tránsito intestinal y la histología del tracto digestivo en rata.

Metodología. Se utilizaron ratas Wistar macho (240-280 g) que se dividieron al azar en dos grupos, uno para el tratamiento crónico semanal (una administración cada semana durante cuatro semanas consecutivas), y otro para el tratamiento crónico diario (una administración diaria durante 14 días consecutivos). A su vez, para cada tipo de tratamiento se establecieron tres grupos de animales que recibieron: solución salina, o el agonista mixto cannabinoide WIN 55,212-2 (WIN) a 0.5 ó 5 mg/kg. Una semana después de la finalización de los tratamientos, se registró el peso de los animales y se evaluó el tránsito intestinal mediante la técnica del carbón vegetal. Asimismo, se tomaron muestras de estómago e íleon y se realizaron secciones que se procesaron para su estudio histológico. En una de estas secciones se realizó una tinción inmunohistoquímica con enolasa específica de neuronas (NSE) en la que se evaluó el número de células que había por ganglio en el plexo mientérico. Otra sección se tiñó con hematoxilina-eosina y se evaluó la aparición de daño histológico utilizando criterios convencionales (Galeazzi *et al*, 1999).

Resultados. De acuerdo con los resultados del análisis radiológico paralelo, no se observaron modificaciones en el tránsito intestinal a la semana de finalizar los tratamientos crónicos. Tampoco se observaron modificaciones ni en el número de células por ganglio ni en las características histológicas de estómago e íleon de animales tratados crónicamente con el cannabinoide.

Conclusiones. Aunque la administración de cannabinoides en tratamientos crónicos produce alteraciones funcionales en el tracto gastrointestinal, éstas no son persistentes ni tienen repercusión histológica aparente.

Agradecimientos. Financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (SAF2003-08003-C02-01 y SAF2006-13391-C03-01); la Universidad Rey Juan Carlos - Comunidad de Madrid (URJC-CM-2006-BIO-0604) y la Comunidad de Madrid (S-SAL/0261/2006).

ENDOCANNABINOID SYSTEM-MEDIATED MODULATION OF HORMONAL SECRETION FROM THE HUMAN ENDOCRINE PANCREAS

F.J. Bermudez-Silva¹, J. Suárez-Pérez¹, E. Baixeras¹, M.D. Bautista², P. Juan-Picó³, E. Fuentes³, A.Nadal³, G. Milman⁴, R. Mechoulam⁴, F. Rodríguez de Fonseca¹

¹*Lab. Medicina Regenerativa, Fundación IMABIS, Hospital Carlos Haya, 29010 Málaga*

²*Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Carlos Haya, 29010 Málaga*

³*Instituto de Bioingeniería, Universidad Miguel Hernández de Elche, Elche 03202 Alicante*

⁴*Hebrew University Department of Medicinal Chemistry and Natural Products, Ein Kerem Campus, Jerusalem, Israel*

Previously we have described the presence of cannabinoid CB1 and CB2 receptors in rodent and human endocrine pancreas. The distribution of both types of G protein-coupled receptors is species-specific with CB1 mainly located in alpha cells of rat, mouse and human and expressed at lower level in rat and human beta cells. However, cannabinoid CB2 receptor is scarce in human but conspicuously expressed in alpha and beta cells from rodent. Indeed, we have also reported that human endocrine pancreas displays the enzymes implicated in the synthesis and degradation of 2-AG and the anandamide-degrading enzyme FAAH. Now we have got new data regarding distribution and functionality of this system in the human endocrine pancreas. We have measured 2-AG level in islets exposed to low and high glucose and their content increases in glucose-stimulated islets, suggesting a local modulator role of 2-AG in islet physiology. Double immunofluorescence demonstrates that somatostatin-secreting delta cells express CB2 receptors. Specific stimulation of CB1 induces an increase of insulin secretion in human isolated islets. This effect is fully counteracted with previous exposition to the CB1 antagonist AM251. However, CB2 stimulation decreases insulin release suggesting opposing roles of both CB1 and CB2 signaling. Regarding the glucagon hormone, specific CB1 activation increases their secretion and AM251 pre-treatment abolish it. Somatostatin secretion is also modulated by cannabinoids; selective CB1 stimulation in low glucose increases somatostatin secretion, probably as a negative feedback mechanism for controlling glucagon secretion, since there is no CB1 in delta cells. Surprisingly, CB2 stimulation do not alter somatostatin secretion although delta cells express CB2 receptors. Further research is needed to clarify CB2 role in delta cells. Taken together, these results point out to an important role of CB1 and 2-AG in modulating human islet physiology.

ANTI-OBESITY DESIGNED MULTIPLE LIGANDS: SYNTHESIS OF PYRAZOLE FATTY ACID AMIDES AND EVALUATION AS HYPOPHAGIC AGENTS.

Mario Alvarado,^[a] Pilar Goya,^{*[a]} Manuel Macías-González,^[b] Francisco Javier Pavón,^[d] Antonia Serrano,^[d] Nadine Jagerovic,^[a] José Elguero,^[a] Ángel Gutiérrez-Rodríguez,^[c] Santiago García-Granda,^[c] Margarita Suardíaz,^[d] and Fernando Rodríguez de Fonseca^{*[d]}
 [a] Instituto de Química Médica, CSIC, Juan de la Cierva 3, 28006, Madrid, Spain. [b] CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición, CB06/03, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. [c] Departamento de Química Física y Analítica, Facultad de Química, Universidad de Oviedo, 33006, Oviedo, Spain. [d] Fundación IMABIS, Hospital Carlos Haya, Avda. Carlos Haya 82, 29010, Málaga, Spain

The fact that there are different targets for antiobesity therapy together with a growing interest in multiple ligands prompted us to apply this strategy to design potential hypophagic agents capable to target not only appetite, but also lipid and carbohydrate metabolism (F. Rodríguez de Fonseca, *et al.*, *Neuropharmacology* (2007), doi:10.1016/ j.neuropharm.2007.03.007). Taking in consideration the convergent mechanisms of peroxisome proliferator activated receptors alpha and cannabinoid receptor antagonists as modulators of appetite, lipid metabolism and carbohydrate management by the liver and adipose tissue, we decided to explore the idea of synthesizing a dual cannabinoid/ PPAR α ligand (M. Alvarado, P. Goya, N. Jagerovic, J. Elguero, M. Macías-González, A. Serrano and F. Rodríguez de Fonseca, Pat. ES. P200702691, 2007) (Figure 1).

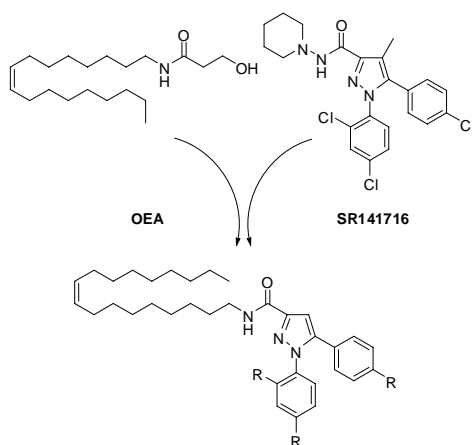


Figure 1. Structures of OEA, SR141716 and designed multiple ligands

Thus, a new series of fatty acid amide derivatives of 1,5-diarylpyrazole have been synthesized in one step procedure (N. Jagerovic, *et al.*, *Eur. J. Med. Chem.* 2006, 41, 114) by treatment of the corresponding carboxylate with an aluminium complex prepared *in situ* reacting trimethylaluminium with the corresponding *N*-oleyl and *N*-hexadecylamine. The compounds have been evaluated *in vivo* and *in vitro* as PPAR α activators. Cannabinoid agonist/antagonist activities have been evaluated in two of the mouse tetrad test (temperature and locomotor activity). Additionally, the anorexic effects of the new compounds have been studied *in vivo* in food deprived rats. Some compounds have shown PPAR α agonist properties and induced feeding inhibition. One compound was found to be anorectic without activating PPAR α receptor-dependent transcription. No significant cannabinoid properties have been observed in any of the compounds synthesized.

LACK OF FAAH INCREASES FOOD MOTIVATION AND DECREASES LIPID METABOLISM

C. Touriño¹, F. Oveisi³, D. Piomelli³, R. Maldonado²

1.Grupo de Neurobiología del Comportamiento y 2.Unidad de Neurofarmacología, Universitat Pompeu Fabra, PRBB, C/ Doctor Aiguader 88, 08003 Barcelona. 3.Department of Pharmacology, G NRF, University of California, Irvine

Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH) is the enzyme involved in the hydrolysis of amides of ethanolamine (Thomas et al., 1997). Anandamide (AEA) and oleylethanolamide (OEA) belong to these group of molecules and both regulate food intake and energy balance, but with opposite effects. AEA binds to cannabinoid receptors and increases food and energy intake (Di Marzo & Matias., 2005). OEA binds to peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR- α), decreases food intake and stimulates lipolysis (Fu et al., 2003; Guzman et al., 2004). In this study, the effects of FAAH genetic ablation were assessed on food intake and lipid metabolism to elucidate the interaction between AEA (orexigenic) and OEA (anorexigenic) in the control of these physiological parameters.

Body weight and food intake of regular chow and high fat diet were evaluated in FAAH knockout mice and their wild-type littermates for 9 weeks. Feeding behavior was also monitored in these mice. Animals were sacrificed at the end of the experiment and all tissues related to food intake and metabolism were removed. Triglycerides levels in liver and adipose tissue were determined. Levels of AEA, 2-arachidonoyl glycerol and OEA were also evaluated in small intestine, hypothalamus, liver and pancreas. A second set of animals was used to determine the motivation for different types of food (regular food, chocolate and high fat food) in both FAAH knockout and wild-type animals in an operant behavior paradigm.

Weekly food intake was similar in both genotypes but body weight gain was increased in knockout mice. Furthermore, food intake in the dark cycle and satiety ratio were significantly higher in FAAH knockout than in wild type littermates. Finally, showed an enhanced operant behaviour to obtain regular food and chocolate but not high fat food. The reinforcing strength of all types of food was higher in mutant animals than in wild-types.

In conclusion, lack of FAAH improves food intake, reduces satiety during dark cycle and increases motivation for food. Moreover, lipid turnover was reduced in animals lacking FAAH. Then, AEA seems to have a higher efficacy in the control of energy balance and feeding behavior than OEA.

References:

- Thomas EA, Cravatt BF, Danielson PE, et al.. Fatty acid amide hydrolase, the degradative enzyme for anandamide and oleamide, has selective distribution in neurons within the rat central nervous system. *J Neurosci Res.* 1997;50:1047-52.
- Di Marzo V, Matias I. Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat Neurosci.* 2005;8:585-9.
- Fu J, Gaetani S, Oveisi F, et al., Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR- α . *Nature.* 2003;425:90-3.
- Guzman M, Lo Verme J, Fu J, et al., Oleylethanolamide stimulates lipolysis by activating the nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR- α). *J Biol Chem.* 2004;279:27849-54

MODULACIÓN DE PROTEÍNAS APOPTÓTICAS POR EL RECEPTOR CANNABINOIDE CB₁ EN CEREBRO DE RATÓN

M. Álvaro^a, S. Esteban^a, A. Miralles^a, O. Valverde^b, J.A. García-Sevilla^a

^aLaboratori de Neurofarmacologia, IUNICS, Universitat de les Illes Balears, 07122 Palma de Mallorca. ^bNeurobiologia del Comportament, Universitat Pompeu Fabra, 08003 Barcelona

Durante los últimos años se ha demostrado que los cannabinoides son capaces tanto de evitar como de inducir la muerte neuronal (1). El propósito de este trabajo fue estudiar *in vivo* la interacción entre el receptor cannabinoide CB₁ y la vía apoptótica extrínseca en ratones con deficiencia genética del receptor CB₁ (CB₁ KO) (2), así como en ratones CD1 swiss tratados con el agonista cannabinoide WIN 55,212-2 y el antagonista/agonista inverso cannabinoide AM281. Se analizaron elementos del receptor Fas, la proteína FADD (Fas-associated protein with death domain) en sus formas fosforilada y no fosforilada y PARP (polimerasa cuya fragmentación implica activación de caspasa-3) en cerebro de ratones mediante técnicas inmunológicas cuantitativas (Western blot). En ratones CB₁ KO, no se observaron cambios en la forma nativa de Fas (~35 kDa) ni en las formas glicosiladas (~51/48/45 kDa) respecto al control (Wild type, WT), en ninguna región cerebral (corteza cerebral, cerebelo y estriado). Sin embargo, se observó una reducción en los agregados de Fas (~203/116 kDa) en corteza cerebral (18 %, p<0,05, n=8) y cerebelo (18 %, p<0,05, n=8). Además, la proteína FADD (dímeros de ~52 kDa) disminuyó en la corteza cerebral (20 %, p<0,05, n=8), sin producirse cambios en su forma fosforilada (homodímeros de ~116 kDa). Tampoco hubo cambios en la fragmentación de PARP (~ 85 kDa). Estos resultados podrían indicar la existencia de un modesto tono basal estimulador del receptor CB₁ sobre la vía apoptótica extrínseca mediada por el complejo Fas/FADD en corteza cerebral. En ratones CD1, WIN 55,212-2 (1 mg/kg, i.p., 1h), redujo las formas nativa (17%), glicosiladas (14%) y agregados de Fas (19%, p<0,05, n=8) en corteza, mientras que AM 281 (10 mg/kg, i.p., 4 días, n=9) no provocó cambios. El contenido de FADD fue reducido por WIN (10%, p<0,05, n=9) e incrementado por AM 281 (24%, p<0,05, n=9), mientras que, por el contrario, WIN incrementó la forma fosforilada de FADD y el AM 281 la redujo (24% y 32 % respectivamente, p<0,05). En ningún caso, se observaron cambios en la fragmentación de la PARP. Dado que Fas/FADD se moduló en cerebro en la misma dirección en ratones CB₁ KO y tras la administración de WIN (reducciones) se concluye una regulación heteróloga tras la delección del receptor CB₁. Por otra parte, la reducción de Fas/FADD y el aumento de p-FADD inducidos por el agonista WIN sugiere que el receptor CB₁ puede inducir efectos anti-apoptóticos.

(1) Guzmán M, Sánchez C, Galve-Roperh I. Cannabinoids and cell fate. *Pharmacol Ther.* 95: 175-184 (2002).

(2) Ledent C, Valverde O, Cossu G, Petitet F, Aubert JF, Beslot F, Böhme GA, Imperato A, Pedrazzini T, Roques BP, Vassart G, Fratta W, Parmentier M. *Science* 283: 401-404 (1999).

Trabajo financiado por MEC-FEDER (SAF2004-03685) y MSC (RETICS RD06/001/003); M.A. está contratada por RETICS

EFEECTO NEUROPROTECTOR DEL AGONISTA CANNABINOIDE WIN55212 EN UN MODELO DE ASFIXIA PERINATAL EN CORDEROS PRETÉRMINO

D. Alonso Alconada¹, A. Alvarez¹, F. Goñi de Cerio¹, J. Lacalle¹, F.J. Alvarez², A. Caballero³, M.C. Rey-Santano², V.E. Mielgo², A. Valls i Soler^{2,4}, J. Martínez-Orgado⁵ y E. Hilario¹

¹*Biología Celular e Histología*, ²*Unidad de Investigación en Pediatría*, ³*Neurociencias y* ⁴*Pediatría. Facultad de Medicina. Universidad del País Vasco, Vizcaya.* ⁵*Área de Pediatría y Neonatología, Fundación Hospital Alcorcón, Madrid*

Objetivo. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto neuroprotector del agonista cannabinoide WIN-55212 en un modelo experimental de encefalopatía hipóxico-isquémica (HI) neonatal.

Material y Métodos. Se utilizó un modelo experimental de asfixia perinatal en corderos prematuros. Los corderos fueron asignados a tres grupos experimentales: **un grupo control sano** (sacrificado tres horas después del nacimiento) y **dos grupos hipóxico-isquémicos** que recibieron, o no, tratamiento con 0,1 mg/kg de WIN55212 (diluido 1:1000) y administrado en una sola dosis intravenosa durante 1 minuto. Todos los corderos fueron mantenidos con ventilación mecánica convencional durante tres horas y posteriormente sacrificados. El evento hipóxico-isquémico fue inducido mediante la oclusión parcial del cordón umbilical (PCO) durante 60 minutos. Se obtuvieron muestras cerebrales en las que se cuantificó la apoptosis mediante el método TUNEL y la integridad mitocondrial y el grado de expresión de la proteína astrogliar S-100 mediante citometría de flujo.

Resultados. En el grupo HI tratado con WIN-55212, se observó un descenso en el número de células apoptóticas, en comparación con el grupo HI no tratado, en todas las regiones estudiadas (corteza: 7.55 ± 2.1 vs. 80.5 ± 15.5 ; zonas internas cerebrales: 6.15 ± 3.19 vs. 28 ± 9.2 ; cerebelo: 4.56 ± 1.7 vs. 104 ± 15). También se observó un aumento en el porcentaje de células que mantenían su integridad mitocondrial marcadas mediante NAO (corteza: 93.55 ± 5.67 vs. 65.2 ± 13.1 ; zonas internas cerebrales: 96.93 ± 2.34 vs. 71.1 ± 21.9 ; cerebelo: 97.5 ± 3.08 vs. 68.0 ± 10.2). Con respecto al nivel de expresión de la proteína S-100 los animales tratados con WIN-55212 también presentaron un incremento (corteza: 15.69 ± 9.85 vs. 8.7 ± 5.5 ; zonas internas cerebrales: 41.91 ± 12.89 vs. 9.5 ± 6.2 ; cerebelo: 39.4 ± 6.62 vs. 9.7 ± 4.6).

Conclusión. Nuestros resultados sugieren que la administración del WIN-55212 tras agresión hipóxico-isquémica en corderos prematuros genera un efecto neuroprotector, reduciendo el número de células apoptóticas presentes y preservando la integridad mitocondrial y la barrera hematoencefálica.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado con los proyectos de investigación EHU06/99 de la Universidad del País Vasco y los proyectos PI060839 y PI060908 del Fondo de Investigaciones Sanitarias del Ministerio de Sanidad.

ENHANCING ENDOCANNABINOID SIGNALLING PROMOTES DIFFERENTIAL EFFECTS ON AMPA- AND NMDA-INDUCED NEURONAL CELL DEATH

F. Loría, F. Docagne, L. Mestre, M. Hernangómez, F. Correa, A. Spagnolo and C. Guaza
Neuroimmunology Group, Functional and Systems Neurobiology, Cajal Institute (CSIC), Madrid, Spain

Excitatory amino acids-induced cell death (excitotoxicity) plays a central role in various acute neurodegenerative diseases -such as ischemia or head trauma- as well as in chronic diseases such as multiple sclerosis. This death mechanism can target two types of cells in the central nervous system: neurones and oligodendrocytes, as both cells express the two subtypes of receptors responsible for excitotoxic processes: the NMDA and the AMPA/Kainate receptors. In this study, we investigated *in vitro* the effects of the endocannabinoid system in different paradigms of excitotoxic cell death in oligodendrocytes and neurons.

First, we induced cell death in oligodendrocyte progenitor cells by the addition of AMPA. The co-application of HU210 (250-1000nM) or WIN55,212-2 (25nM-100nM) did not induce any effect in this paradigm of cell death. Then, we tested the effects of HU210 (62.5-1000nM) on AMPA-induced excitotoxicity in mixed cultures of neurons and astrocytes. We observed that this cannabinoid induced a dose-dependent neuroprotective effect. A comparable effect was observed with HU210 on NMDA-induced excitotoxic cell death.

Our next step was to investigate the implication of the endocannabinoid system in AMPA- and NMDA-induced neuronal cell death. Although anandamide (AEA) protected neurons in both paradigms, 2-AG was neuroprotective only against AMPA-induced cell death, but failed to exert any effect on NMDA-induced toxicity. Accordingly, the inhibitor of AEA transport, UCM707 was protective against AMPA- but not NMDA-induced cell death. We are currently investigating the molecular mechanisms responsible for UCM707-induced neuroprotection against AMPA-induced cell death.

Together, these data would indicate that, although exogenously administered cannabinoids can protect neurons against both AMPA- and NMDA-induced cell death, strategies based on the enhancement of endocannabinoid signalling -for instance by AEA uptake inhibitors- would provide differential effects on these two mechanisms of cell death.

Supported by grants from the MEC (SAF-2004/0416) and CAM (S-SAL/ 0261/ 2006).

EFECTO NEUROPROTECTOR DEL CANNABIDIOL EN UN MODELO DE LESION CEREBRAL HIPOXICO-ISQUEMICA EN LECHON RECIEN NACIDO

Alvarez FJ (1), Lafuente H (1), Rey-Santano MC (1), Mielgo VE (1), Gastiasoro E (1), Romero J (2), Martínez-Orgado J (2)

(1) *Laboratorio de Fisiopatología Perinatal Experimental, Gurutzetako Ospitalea, Bilbo, Bizkaia*; (2) *Laboratorio de Apoyo a la Investigación, Fundación Hospital Alcorcón, Madrid*

Antecedentes: Los agonistas cannabinoides como el WIN55212 han demostrado un potente efecto neuroprotector in vitro e in vivo en modelos experimentales de lesión hipóxico-isquémica neonatal en ratas. En el presente trabajo, pretendemos: a) utilizar un modelo más cercano al humano, como es el de lechón recién nacido; y b) investigar el efecto neuroprotector de un cannabinoide sin efecto psicoactivo, como es el cannabidiol.

Material y métodos: lechones de 3-5 días de vida anestesiados fueron intubados y ventilados mecánicamente. En el cráneo se dispuso un sensor para medición de flujo sanguíneo local, volumen sanguíneo cerebral (CBV) y metabolismo cerebral de oxígeno, mediante espectroscopia cercana al infrarrojo (NIRS; NIRO200). Asimismo se dispusieron electrodos para monitorización continua de EEG amplificado (aEEG; BrainZ). Finalmente se expusieron ambas arterias carótidas, midiéndose en una de ellas el flujo cerebral (CBF; Transonics). Durante todo el experimento se monitorizaron y controlaron los parámetros homeostáticos (cardíacos, respiratorios, temperatura, etc.). El episodio de hipoxia-isquemia (HI) se indujo mediante la compresión reversible de ambas carótidas y la disminución de la FiO_2 hasta el 8-10% durante 20 min. Posteriormente se estabilizó al animal, y 15 min y 3 h después se administró vehículo (suero salino) (VEH, n=8) o cannabidiol 0.1 mg/Kg i.v. (CBD, n=8). En las 6 h posteriores a la HI se recogieron de forma continua los datos de monitorización. 2 animales sin HI se manejaron similarmente el mismo tiempo (controles, CTL). Finalizado el experimento, el animal fue sacrificado y el cerebro extraído para estudio. Secciones coronales del cerebro fueron fijadas y conservadas con paraformaldehído, para en su momento teñir secciones de 5 μ m con técnica de Nissl.

Resultados: la HI se asoció a una caída del CBF total y local (según NIRS), sucedida de una fase de hiperemia y una posterior normalización (respuesta autorreguladora global); no hubo diferencias entre VEH y CBD. En VEH, el CBV se mantuvo elevado vs. CTL, indicando pérdida de la autorregulación de la microcirculación; en cambio en CBD, el CBV se normalizó. La HI se asoció a una severa depresión eléctrica cerebral, con descenso de línea de base y amplitud del aEEG a un 11-18% del basal, que con VEH no se recuperó en las 6 h subsiguientes; en CBD, sin embargo, consiguió una recuperación precoz de la actividad eléctrica que alcanzó el $57.1 \pm 11\%$ para la línea de base y $63.1 \pm 12\%$ para la amplitud (ambos ANOVA $p < 0.05$). En VEH se apreció un aumento progresivo de la impedancia tisular cerebral, indicativa de edema cerebral, de hasta el $62.6 \pm 8\%$; con CBD, este aumento de impedancia fue solo del $22.3 \pm 11\%$ ($p < 0.05$). En el estudio histológico, la HI se asoció a una reducción del número de neuronas normales visibles en estriado y cortex parietal (328 ± 12 n/mm² y 653 ± 6 n/mm² respect., en CTL, vs. 158 ± 21 n/mm² y 371.4 ± 21 n/mm² respect., en VEH, ambos $p < 0.05$) y sobre todo hipocampo (240 ± 10 n/mm² en CTL, vs. 81 ± 9 n/mm² en VEH, $p < 0.05$; CBD aumentó el número de neuronas normales en todas las zonas (223 ± 21 en estriado, 482 ± 21 en cortex, y 159 ± 10 n/mm² en hipocampo, todos $p < 0.05$ vs. VEH).

Conclusiones: la administración de CBD después de un episodio HI en lechones recién nacidos reduce la destrucción neuronal y mejora la recuperación de la actividad eléctrica cerebral, efectos asociados a la preservación de la autorregulación de la microcirculación y la prevención de la aparición de edema cerebral.

Financiado con becas FIS PI061085 y PI060839, y SAF 2004-00237.

EFFECTO NEUROPROTECTOR DEL CANNABIDIOL EN UN MODELO IN VITRO DE HIPOXIA-ISQUEMIA EN RATONES RECIEN NACIDOS

A. Castillo, C. Benito, R. Tolón, J. Romero, J. Martínez Orgado

Laboratorio de Apoyo a la Investigación, Fundación Hospital Alcorcón, Madrid

Antecedentes y objetivos: la privación de oxígeno y glucosa (POG) de secciones de cerebro anterior de roedor es un modelo útil para cuantificar y caracterizar el efecto neuroprotector de fármacos. Con este método hemos demostrado que el cannabinoide WIN55212 ejerce un potente efecto neuroprotector en cerebro de rata recién nacida. En el presente trabajo hemos tenido 2 objetivos: 1) poner a punto este modelo en ratón recién nacido, comprobando que los resultados sean comparables a los de rata; y 2) estudiar el efecto neuroprotector de un cannabinoide sin efecto psicoactivo, el cannabidiol.

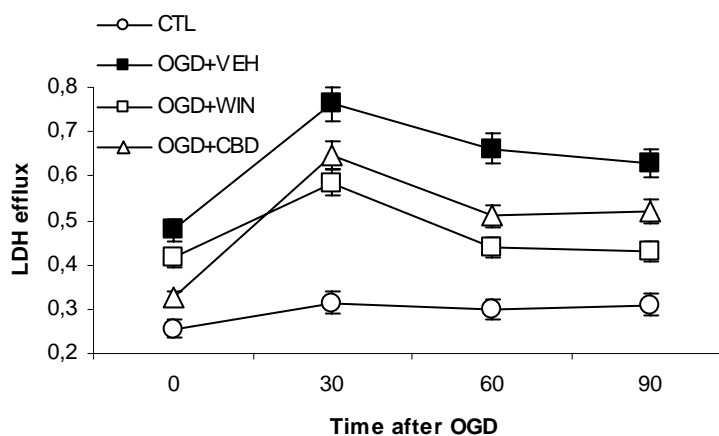
Material y métodos: se dispusieron secciones de cerebro de 500 μm de grosor, obtenidas de crías de ratón C57BL6J de 7-10 días de vida rata, en viales conteniendo solución de Krebs-Henseleit modificada, calentada a 37 $^{\circ}\text{C}$ y burbujeada con 95% O_2 + 5% CO_2 (carbógeno). Tras un período de estabilización, en unos viales la solución de incubación se cambió por otra idéntica pero sin glucosa, y el carbógeno se reemplazó por una mezcla de 95% N_2 + 5% CO_2 para disponer las secciones en un medio sin oxígeno ni glucosa (POG, n=30); se estudiaron diferentes tiempos de POG hasta determinar el óptimo. Posteriormente se recuperaron las condiciones normales durante 90 min. Otras secciones permanecieron en condiciones estándar (control, n=30). En unas secciones la POG se realizó en presencia de WIN-55212 (50 μM) (WIN, n=14) o de Cannabidiol (0.1-1000 μM) (CBD, n=10-16 para cada grupo). En todos los grupos se determinó mediante espectrofotometría la lactato deshidrogenasa (LDH) liberada al medio por las células dañadas, como marcador cuantitativo de necrosis tisular cerebral.

Resultados: se definió como tiempo óptimo de POG 25 min. Durante un período similar, las secciones cerebrales CTL permanecieron estables. En estas condiciones, WIN redujo la muerte celular de forma significativa, aunque con una potencia menor a la previamente observada en ratas. El CBD mostró también un efecto

neuroprotector a partir de una dosis de 1 μM , con un efecto máximo a 100 μM ; por encima de esta dosis el CBD fue tóxico. El efecto neuroprotector de CBD 100 μM fue similar a WIN.

Conclusiones: 1) la POG de secciones cerebrales de ratón recién nacido se confirma como un modelo viable de estudio in vitro de neuroprotección en hipoxia-isquemia neonatal; 2) el WIN 50 μM se confirma como neuroprotector también en ratón, aunque con menos potencia que en ratas; 3) el CBD 100 μM demuestra un efecto neuroprotector similar en este modelo.

Financiado con becas FIS PI061085 y PI060839, y SAF 2004-00237.



ANANDAMIDE NEGATIVELY REGULATES IL-12P70 AND IL-23 EXPRESSION IN MICROGLIA BY ACTIVATING ERK1/2 AND JNK KINASES

F. Correa, M. Hernangómez, L. Mestre, F. Docagne, F. Loría, A. Spagnolo and C. Guaza
Neuroimmunology Group, Department of Functional and Systems Neurobiology, Cajal Institute (CSIC), Madrid

IL-12p70 and IL-23 are two related heterodimeric cytokines mainly produced by microglia within the brain. These cytokines play a pivotal role in the initiation and the establishment of a Th1 type response. Biologically active IL-12p70 is a heterodimer of p35 and p40 subunits whereas IL-23 is a disulfide-linked heterodimer of p19 and p40. These cytokines act in a sequential fashion: IL-12p70 fully activates naïve CD4⁺ T cells and IL-23 stimulates memory T lymphocytes. In this sense, these cytokines bridge both innate and adaptive immunity. Dysregulated production of these cytokines has been associated with several autoimmune disorders and chronic inflammatory processes.

Microglia are activated early in response to infection or injury and are major players in both innate and immune-mediated brain responses, performing both scavenger and antigen presenting cell (APC) functions. Overactivation of microglial cells could lead to the perpetuation of an inflammatory disease, thus augmenting the damage of the CNS.

Cannabinoids have been proved to be efficacious in attenuating symptomatology in animal models of CNS inflammatory diseases, such as multiple sclerosis, but the underlying mechanisms of their effects are not yet fully understood. In the present study, we have investigated the molecular mechanisms by which anandamide (AEA) negatively regulates the production of IL-12p70 and IL-23 by human and rodent microglial cells primary culture.

We show that AEA potentiates the phosphorylation of ERK1/2 and JNK kinases pathways activated by the *in vitro* infection of microglia with the Theiler virus (TMEV). Pharmacological inhibition of the signalling cascade of these kinases leads to an increased production of p35, p40 and p19 subunits induced by TMEV *in vitro* infection, thus confirming the negative involvement of these pathways in the regulation of these cytokines. These findings give new insights on the molecular mechanisms of action of endocannabinoids as regulators of immune responses at microglial cells and point out their interest as therapeutic targets in neuroimmune disorders.

Supported by grants from the MEC (SAF-2004/0416) and CAM (S-SAL/0261/2006)

ACTIVACIÓN DEL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE EN RESPUESTA A UNA LESIÓN MEDULAR EN LA RATA

C. Hagen¹, D. García-Ovejero¹, A. Arévalo-Martín¹, S. Petrosino^{2,3}, F. Docagne⁴, T. Bisogno², C. Guaza⁴, V. Di Marzo², E. Molina-Holgado¹

¹Laboratorio de Neuroinflamación, Hospital Nacional de Paraplégicos, Toledo, España..

²Endocannabinoid Research Group, Institute of Biomolecular Chemistry, C.N.R., Pozzuoli (NA), Italia; ³Department of Pharmaceutical Sciences, University of Salerno, Fisciano, Italia.

⁴Laboratorio de Neuroinmunología, Instituto Cajal, Madrid, España

Una gran parte de las lesiones medulares se produce por contusión o compresión transitoria de la médula espinal. En este trabajo hemos estudiado la modulación del sistema cannabinoide endógeno después de una contusión medular en rata. Para ello, hemos sometido a ratas macho adultas a una laminectomía de la octava vértebra torácica y a una contusión moderada de la médula espinal, sacrificándolas a distintos tiempos después de la lesión (de 1 a 28 días). Utilizando Espectrometría de masas/Cromatografía líquida por dilución de isótopos (LC-APCI-MS), encontramos aumentos significativos de la concentración de anandamida y 2-araquidonilglicerol en la médula lesionada. También observamos un notable aumento de la palmitoil-etanolamida. Adicionalmente, hemos estudiado por PCR cuantitativa o inmunohistoquímica la expresión de los receptores cannabinoide CB1 y CB2, las enzimas formadoras de anandamida (NAPE-PLD) y 2-araquidonilglicerol (DGL alfa) y la enzima degradativa de la anandamida (FAAH). Nuestros resultados muestran que una contusión en la médula espinal activa el sistema endocannabinoide de la rata, subrayándolo como posible diana de estudio en la patología o el tratamiento de la lesión medular.

**FUNCIÓN Y EXPRESIÓN DE RECEPTORES CB₁ EN EL ESTRIADO:
LOCALIZACIÓN Y EFECTOS EN CONDUCTAS MOTORAS MEDIADAS POR
RECEPTORES D₁ Y D₂ DE DOPAMINA**

Ana Belén Martín¹, Emilio Fernández Espejo², Belén Ferrer^{3,4}, Miguel Angel Gorriti⁴,
Ainhoa Bilbao³, Miguel Navarro⁴ (q.e.p.d.), Fernando Rodríguez de Fonseca^{3,4}, Rosario
Moratalla¹

1. Instituto Cajal, CSIC, Dr. Arce 37, 28002, Madrid; 2. Depto. de Fisiología Médica, Fac. de Medicina, Univ de Sevilla, 41009 Sevilla; 3. Fundación IMABIS, Hosp.. Reg. Univ. Carlos Haya, 29010 Málaga; 4. Instituto Universitario de Drogodependencias, Depto. de Psicobiología, Universidad Complutense, 28223 Madrid.

Los receptores CB₁ se expresan densamente en las neuronas de proyección estriatales, y colocalizan con receptores D₁ o D₂ de dopamina, pero la distribución neuronal específica de los receptores CB₁ no se conoce con precisión. El sistema endocannabinoide modula la conducta mediada por receptores D₂, pero el papel de los receptores D₁ y CB₁ en la conducta motora no está claro.

En el estudio se mostró mediante hibridización in situ que los receptores CB₁ están presentes en las neuronas estriatonigricas que expresan sustancia P y receptores D₁ (vía directa), así como en las estriatopalidales que expresan receptores D₂ (vía indirecta), siendo mayor la expresión en las neuronas de la vía directa (60% vs. 40%). Además se observó que los receptores CB₁ también se expresan en las interneuronas que expresan PVB y GAD67 pero no en las colinérgicas o las que expresan somatostatina, siendo las primeras las que reciben aferencias corticales.

Se estudió la relevancia funcional de la interacción entre los receptores D₁ y D₂ respecto a los CB₁. Así la potenciación de los niveles de anandamida/2-araquidonilglicerol por medio de AM404 bloqueó la conducta de autoaseo (*grooming*) mediada por receptores D₁ así como las estereotipias orales mediadas por receptores D₂. El giro contralateral en la rata inducido por la infusión intraestriatal de agonistas D₁ se bloqueaba por AM404 y se potenciaba por el antagonista/agonista inverso cannabinoide SR141716A. Los resultados indican que el sistema endocannabinoide modula negativamente no sólo las conductas mediadas por receptores D₂ sino también D₁. El efecto de AM404 en la conducta de autoaseo era dependiente de receptores D₁ porque no se observó el efecto inhibitorio en ratones *knockout* del receptor D₁. El estudio indica que el sistema endocannabinoide es un modulador negativo de conductas motoras mediadas por receptores D₁ y D₂ estriatales.

Financiado por MEC 04-07762, SAF2003-4864, PNSD y FIS (Red de Trastornos Adictivos, G03/05, C03/06/02/NAC) a RM, EFE, MN y FRF.

EFFECTO DE LOS CANNABINOIDES SOBRE LA ACTIVIDAD NEURONAL DEL NÚCLEO SUBTALÁMICO DE RATAS LESIONADAS CON 6-HIDROXIDOPAMINA

Morera-Herreras T., Ruiz-Ortega JA., Linazasoro G., Ugedo L

Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa, Vizcaya

Estudios previos han sugerido que los compuestos cannabinoides pueden tener un papel potencialmente terapéutico en la enfermedad de Parkinson. El núcleo subtalámico actúa como modulador de la actividad de los núcleos de salida de los ganglios basales y juega un papel importante en los trastornos del movimiento, como la enfermedad de Parkinson.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de los compuestos cannabinoides Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC), WIN55,212-2 y el endocannabinoide anandamida sobre la actividad eléctrica del núcleo subtalámico (NST) en ratas lesionadas con 6-OHDA (4 μ l, 2 μ g/ μ l en la vía nigroestriatal) mediante registro electrofisiológico uni-extracelular en rata anestesiada.

Como otros autores han descrito previamente, las células del NST de ratas lesionadas con 6-OHDA mostraron una frecuencia de descarga basal mayor que las ratas control (frecuencia de descarga basal 14.0 ± 1.2 Hz; n=22 y 7.1 ± 0.5 Hz; n=61 respectivamente, Student's t-test, $p < 0.0001$). Así mismo, el número de neuronas que descargaban en salvas estaba aumentado en el grupo de ratas lesionadas con 6-OHDA.

La administración sistémica de Δ^9 -THC (250-2000 μ g/kg, n=9) o WIN 55,212-2 (31.25-250 μ g/kg, n=8) y la administración intracerebroventricular de anandamida (50-150 μ g, n=5) produjo una disminución de la frecuencia de descarga de las neuronas del NST (la inhibición máxima media fue $57 \pm 13\%$, $51 \pm 13\%$ y $79 \pm 12\%$, respectivamente). Además, el antagonista de los receptores cannabinoides CB1, rimonabant (1 mg/kg, i.v.), revirtió los efectos de los agonistas cannabinoides. Sin embargo, en un estudio previo habíamos observado que la administración de cannabinoides en ratas intactas produce dos efectos opuestos sobre la actividad de las neuronas del NST (inhibición o estimulación dependiendo de su localización).

Estos resultados sugieren que los efectos de los cannabinoides sobre la actividad neuronal del NST son diferentes en rata intacta y en rata lesionada con 6-OHDA. Por otro lado, como el NST está hiperactivado en la enfermedad de Parkinson, el efecto inhibitorio producido por estos derivados cannabinoides podría tener un potencial efecto beneficioso como tratamiento de la enfermedad parkinsoniana.

Supported by UPV/EHU 9/UPV /00026-327-13590/2001 and FIS PI021600

CB₁ RECEPTORS ARE ALTERED IN THE BASAL GANGLIA OF MICE WITH DELETION OR MUTATION OF SPECIFIC *PARK* GENES INDICATING THAT THESE RECEPTORS MAY SERVE AS MARKERS OF EARLY PARKINSONISM

Moisés García-Arencibia, Onintza Sagredo, Eva de Lago, M^a Ruth Pazos, José A. Ramos, Javier Fernández-Ruiz

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, y Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid

There is evidence that losses and/or malfunctioning of the cannabinoid signaling system, in particular at the level of CB₁ receptors, may be an early event in the pathogenesis of different chronic neurodegenerative disorders. These losses might trigger excitotoxicity, inflammation or other cytotoxic events that are normally under the control of CB₁ receptors. In the present study, we addressed the case of Parkinson's disease (PD), by examining the status of CB₁ receptors in the basal ganglia in different mouse models with genetic deletion or overexpression of mutated forms for some of the different genes that have been linked with the development of parkinsonism in humans. We have included in this study: (i) male mice deficient in the *PARK-1* (α -synuclein) gene [Cabin et al., *J. Neurosci.* 22, 8797-8807 (2002)], (ii) male mice overexpressing a mutated form of *PARK-1* (α -synuclein) gene [Gispert et al., *Mol. Cell. Neurosci.* 24, 419-429 (2003)], and (iii) male mice deficient in the *PARK-2* (parkin) gene [Itier et al., *Hum. Mol. Genet.* 12, 2277-2291 (2003)]. We also plan to extend soon these analyses to additional mouse models for *PARK-6* (protein kinase PINK1) gene that are presently underway. The advantage of these genetic models is that, used at adult age (3-5 months), mice exhibit progressive changes in the control of movement and subtle alterations in the synthesis, release or inactivation of dopamine in nigrostriatal neurons, but no evidence for protein aggregation or neurodegeneration, so they can be considered that represent a stage of early parkinsonism in humans with no evidence of neurological decline. Our data revealed that mRNA levels for the CB₁ receptor were reduced in the striatum of mice with genetic alterations of *PARK-1* gene, in parallel to a marked reduction in the number of binding sites in the globus pallidus and, in particular, the substantia nigra. Interestingly, these down-regulatory responses found for CB₁ receptors in both models were more marked in the case of mice lacking α -synuclein than in the mice overexpressing a mutated form of this protein. A reduction in the number of binding sites for CB₁ receptors was also found in the striatum of mice deficient in *PARK-2* gene, although no changes were evident in other basal ganglia structures and in mRNA levels for this receptor type. Therefore, our data are consistent with the idea that early parkinsonism is associated with CB₁ receptor losses that would occur in a situation where dopaminergic dysfunction rather than neuronal death is the major event that takes place, thus stressing the notion that this might be an early event presumably involved in the pathogenic process.

Acknowledgements: Supported by grants from MEC (SAF2003-08269 and SAF2006-11333), CIBERNED (CB06/05/0089) and CAM (S-SAL-0261/2006). Authors are indebted to Dr. G. Auburger and Dr. M.A. Mena for kindly providing the brains of the different animal models used in this study.

EFFECTO DE LA AUTOADMINISTRACIÓN DE CANNABIS SOBRE LOS SÍNTOMAS Y CALIDAD DE VIDA DE PACIENTES CON FIBROMIALGIA

Jimena Fiz^{1,2}, Marta Duran³, Dolors Capellà^{2,3}, Magí Farré^{1,2}

¹ *Unidad de Investigación en Farmacología, Institut Municipal d'Investigació Mèdica – Hospital del Mar (IMIM), Barcelona, España.* ² *Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.* ³ *Fundació Institut Català de Farmacologia, Barcelona, Spain*

Introducción: La Fibromialgia (FM) es una enfermedad crónica caracterizada por dolor músculo esquelético generalizado y síntomas asociados, como rigidez, fatiga, alteraciones del sueño y del estado de ánimo. Debido al desconocimiento de su fisiopatología, el tratamiento farmacológico es sintomático y con pobres resultados terapéuticos. Algunos pacientes con fibromialgia utilizan cannabis para aliviar los síntomas. El objetivo principal de este estudio es describir las características y alivio percibido por este grupo de pacientes tras la administración de cannabis. El objetivo secundario es compararlo con otro grupo de pacientes que no utiliza cannabis, en términos de calidad de vida.

Métodos: Estudio observacional, transversal y analítico. Los pacientes fueron reclutados de 15 asociaciones de fibromialgia, una asociación de cannabis y del Servicio de Reumatología del Hospital de la Esperanza de Barcelona. Las características sociodemográficas, clínicas y patrones de uso de cannabis fueron recogidos a través de cuestionarios específicamente diseñados. Además, los usuarios de cannabis cumplieron escalas analógicas visuales (EAV), de dolor, rigidez, relajación, somnolencia y bienestar, antes y 2 horas después de la administración de cannabis. Ambos grupos de pacientes (usuarios de cannabis y controles) completaron 3 cuestionarios: Cuestionario de Impacto de Fibromialgia (FIQ), Índice de Calidad del Sueño de Pittsburg (PSQI) y Cuestionario de Salud SF-36.

Resultados: Se incluyeron en el estudio 28 pacientes usuarios de cannabis y 28 pacientes no usuarios de cannabis. Ambos grupos fueron similares en edad, género, duración de la FM, síntomas asociados, enfermedades concomitantes y uso de medicación. La duración del uso de cannabis era de entre 1 y 3 años en el 32% de los pacientes, más de 3 años en el 29%, menos de 6 meses en el 29%, y entre 6 meses y 1 año en el 11%. Todos los pacientes usaban marihuana, administrada por vía fumada (54%) u oral (46%). Las dosis y frecuencia de uso fueron muy variables. La mayoría (43%) usaba cannabis diariamente, un 18% de 2 a 4 veces por semana, un 11% menos de 2 veces por semana y un 29% lo hacía solo ocasionalmente. El 68% de pacientes usuarios de cannabis redujeron su medicación habitual. El análisis de las EAVs indicó una reducción significativa del dolor (-37mm: 95%-CI 26-48.1) y rigidez (-40mm: 95%-CI 29.1-52.3) e incremento de la relajación (27mm: 95%-CI 48.2-7), somnolencia (20mm: 95%-CI 38.8-1.1) y bienestar (40mm: 95%-CI 52.6-27.3) tras la administración de cannabis.

En comparación con el grupo control, en el grupo de usuarios de cannabis se observó una mejoría estadísticamente significativa en el componente sumario de salud mental del cuestionario SF-36. No se encontraron diferencias significativas en el resto de cuestionarios administrados a ambos grupos.

Conclusiones: En esta muestra de pacientes el uso de cannabis produce alivio de algunos síntomas de la fibromialgia. Se necesitan más estudios para evaluar la eficacia de los cannabinoides en la fibromialgia así como para conocer la implicación del sistema endocannabinoide en su fisiopatología.

ENHANCED MANIFESTATIONS OF NEUROPATHIC PAIN IN CANNABINOID CB2 RECEPTOR KNOCK-OUT MICE

Xavier Nadal¹, Ildiko Racz², Miquel Martín¹, Josep E. Baños¹, Jennifer Rehnelt², Andreas Zimmer², Rafael Maldonado¹

¹*Laboratori de Neurofarmacologia, Facultat de Ciències de la Salut i de la Vida, Universitat Pompeu Fabra, C/Dr Aiguader 80, 08003 Barcelona, Spain;* ²*Institute of Molecular Psychiatry, University of Bonn, Sigmund-Freud-Str 25, 53105 Bonn, Germany*

Neuropathic pain is a clinical manifestation of nerve injury difficult to treat even with potent analgesic compounds. Here, we have used CB2 cannabinoid receptor knock-out mice to evaluate the behavioural, histological and molecular consequences of neuropathic pain induced by sciatic nerve injury. Sciatic nerve injury similarly enhanced thermal hyperalgesia and induced mechanical and thermal allodynia in the ipsilateral paw in both CB2^{-/-} and CB2^{+/+} mice. Most strikingly, however, the same degree of thermal hyperalgesia and mechanical allodynia also developed in the contralateral paw of CB2^{-/-} mice revealing a mirror image of pain. This mirror image was not observed in CB2^{+/+} mice. At the histological level sciatic nerve injury induced a similar enhancement of total microglia cell staining in the dorsal and ventral ipsilateral horn of the spinal cord in CB2^{-/-} and CB2^{+/+} mice. Interestingly, a similar microglial reaction was also observed in the contralateral site in CB2^{-/-}, but not in CB2^{+/+} mice. The same result was also found in astrocytic responses, with a similar activation in the ipsilateral horns in CB2^{-/-} and CB2^{+/+} mice, and a selective reaction in the contralateral horns only in CB2^{-/-} mice. Thus, remarkably, the glial cell activation profile matched exactly the pattern of nociceptive hypersensitivity. Next, we performed microarrays experiments in these animals to evaluate transcriptional events at the level of the spinal cord that may underline the increased pain sensitivity in CB2^{-/-} after sciatic nerve injury. We found with microarray analysis 490 genes differentially expressed in tissues from animals with nerve injury compared to sham control. These transcripts included a large number of genes with a function in cell-signaling, regulation of gene expression and immune responses. Most striking was the large number of gamma-interferon induced genes, among those that were more strongly regulated in the absence of CB2 receptors, suggesting an enhanced gamma-interferon response in CB2^{-/-} mice after nerve injury. These transcripts included several members of the 47-kDa and 65-kDa families of GTPases. Validation of three of these genes using Taqman real-time PCR analysis confirmed their stronger induction in CB2^{-/-} animals. These GTPases have been implicated in the regulation of immune responses. We also found an enhanced induction of Cox-2 (Ptgs2) in knockouts, which may have contributed to the pain phenotype. Then, Cox-2 expression was evaluated by immunohistochemistry in CB2^{+/+} and CB2^{-/-} mice after sciatic nerve injury or sham operation. Interestingly, Cox-2 overexpression profile also draws a parallel with the pattern of enhanced nociceptive responses. Our findings reveal the crucial role played by the CB2 receptor in the modulation of central immune responses during neuropathic pain and identify CB2 receptors as a new potential therapeutic target for neuropathic pain.

PREVENCIÓN DEL DESARROLLO DE DOLOR CRÓNICO NEUROPÁTICO INDUCIDO POR ANTITUMORALES MEDIANTE ADMINISTRACIÓN DE UN AGONISTA CANNABINOIDE

Elisa Burgos, Gema Vera, David Pascual, Raquel Abalo, M. Isabel Martín y Carlos Goicoechea

Unidad de Farmacología. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Rey Juan Carlos. Avda de Atenas s/n. 28922 Alcorcón. Madrid

El paclitaxel y el cisplatino son agentes antineoplásicos muy efectivos en el tratamiento de tumores sólidos. Uno de los efectos adversos más importantes que aparecen asociados al uso de estos fármacos es la aparición de neuropatía sensitiva periférica, que en muchas ocasiones se mantiene incluso una vez finalizado el tratamiento farmacológico.

Ya que la administración aguda del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 (WIN) muestra un efecto analgésico en modelos animales con neuropatía periférica inducida tanto por cisplatino como paclitaxel, el **objetivo** de este estudio fue determinar si la administración crónica de WIN, durante el tratamiento con ambos antineoplásicos, era capaz de evitar el desarrollo de la neuropatía.

Se llevaron a cabo modelos experimentales tratados con paclitaxel y con cisplatino, valorando la hiperalgesia térmica (mediante el “plantar test”) y la alodinia mecánica (mediante los filamentos de von Frey) como signos característicos de la neuropatía periférica. Los estímulos nociceptivos fueron aplicados en la planta de las patas traseras (territorio inervado por el nervio ciático). El tratamiento con paclitaxel consistió en la administración del fármaco (1 mg/kg) por vía intraperitoneal (i.p.) durante cuatro días alternos (día 1, 3, 5 y 7) mientras que el cisplatino (1 mg/kg) fue administrado, también por vía i.p., una vez a la semana durante 5 semanas. El cannabinoide WIN fue administrado por vía i.p. a las dosis de 0.5 y 1 mg/kg durante los primeros 14 días en el tratamiento con paclitaxel y una vez a la semana (durante 5 semanas) en el tratamiento con cisplatino.

El tratamiento con paclitaxel provocó el desarrollo de alodinia mecánica (disminución del umbral de presión del 34%) e hiperalgesia térmica (descenso del umbral térmico del 32%), en ambas patas. El cisplatino produjo únicamente alodinia mecánica (disminución del umbral de presión del 67%), también en ambas patas.

La administración crónica de WIN fue capaz de prevenir, a ambas dosis, tanto la alodinia mecánica como la hiperalgesia térmica en los animales tratados con paclitaxel como la alodinia mecánica en los animales tratados con cisplatino, ya que se obtuvieron valores similares a los controles (antes de comenzar los tratamientos antitumorales).

Aunque se trata de resultados preliminares, los datos obtenidos sugieren que la modulación farmacológica del sistema cannabinoide podría ser útil para el tratamiento del dolor crónico inducido por los antineoplásicos cisplatino y paclitaxel.

Agradecimientos. Financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia (SAF2003-08003-C02-01 y SAF2006-13391-C03-01); la Universidad Rey Juan Carlos - Comunidad de Madrid (URJC-CM-2006-BIO-0604) y la Comunidad de Madrid (S-SAL/0261/2006).

**ATTENUATED DEVELOPMENT OF NEUROPATHIC PAIN IN MICE
OVEREXPRESSING CB2 CANNABINOID RECEPTORS**

Miquel Martin¹, Xavier Nadal¹, Alfonso Gutierrez-Adan², Jorge Manzanares³, Rafael Maldonado¹

¹*Laboratori de Neurofarmacologia. Facultat de Ciències de la Salut i de la Vida. Universitat Pompeu Fabra, C/Dr. Aiguader 80, 08003 Barcelona, Spain.*

²*Departamento de Reproducción animal y Conservación de Recursos Zoogenéticos, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria, 28040 Madrid, Spain.*

³*Instituto de Neurociencias de Alicante, Universidad Miguel Hernandez-CSIC, 18 03550, Alicante, Spain*

Cannabis derivatives have been used for centuries as analgesic compounds and cannabinoid agonists have been reported to be effective on several animal models of acute and chronic pain. However, the psychoactive effects of these agonists could represent a serious limitation for their clinical use. The identification of CB2 receptors in glial cells and more recently in neurons has opened new therapeutic approaches for these ligands. CB2 receptor activation induces analgesic effects in several animal models, and selective CB2 agonists could be devoid of the psychoactive side effects of CB1 agonists.

We investigated the role of CB2 cannabinoid receptors in the development of neuropathic pain by using mice overexpressing CB2-R. CB2 transgenic mice were generated by using a murine PrP promoter that specifically expressed in neurons and glial cells. Mice with a high expression of transgenic CB2 receptor in the spinal cord were chosen for the present experiments. A partial ligation of the sciatic nerve at mid-thigh level just proximal to the trifurcation was performed with one thigh ligature to induce neuropathic pain.

The results showed that no differences in baseline responses in CB2 transgenic mice and CB2^{+/+} littermates were observed in the three nociceptive models used (Von Frey, Cold Plate and Plantar Tests) and sham operation did not produce any modification in the nociceptive thresholds. However, thermal hyperalgesia and mechanical and thermal allodynia induced by sciatic nerve injury in the ipsilateral paw in CB2^{+/+} mice were all strongly attenuated in CB2 transgenic mice. To further investigate the involvement of CB2-R in neuropathic pain, spinal cord activated microglia was evaluated. Sciatic nerve injury robustly enhanced microglial response in the ipsilateral horn of the spinal cord in CB2^{+/+} mice and this response was significantly attenuated in CB2 transgenic mice. Microglial staining was not significantly modified in the contralateral horn in these groups of mice. Similarly, astrocytic staining was significantly enhanced in the ipsilateral horn of the spinal cord in CB2^{+/+} mice, but this enhancement was not observed in the CB2 transgenic mice nor in the contralateral side in any experimental group. The decreased hyperalgesia, allodynia and spinal glial activation in these transgenic mice could be related to the strong overexpression of CB2 receptors at the level of the spinal cord. However, the enhanced expression of CB2 receptors in supraspinal structures involved in pain transmission, such as the thalamus and the periaqueductal gray matter could also participate in the decreased manifestations of neuropathic pain. The opposite phenotype revealed in transgenic mice overexpressing CB2 receptors and CB2^{-/-} mice (see abstract by Nadal et al.) underlines the relevance of these receptors in mediating the manifestations of neuropathic pain.

R(+)-METANANDAMIDA INDUCE SÍNTESIS *DE NOVO* DE CERAMIDAS EN CÉLULAS DE CÁNCER DE PRÓSTATA

Nuria Olea Herrero, Sophie Malagarie-Cazenave, Ana María Sánchez García, Diana Vara and Inés Díaz-Laviada

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Medicina. Universidad de Alcalá. 28871 Madrid

Numerosos trabajos de investigación demuestran la importancia de los cannabinoides en la regulación de la muerte celular en distintos tipos celulares, incluyendo células de próstata. Nuestro grupo de investigación ha descrito la existencia de los receptores de cannabinoides CB1 y CB2 en células de cáncer de próstata PC-3 y LNCap (andrógeno-independiente y andrógeno-dependiente, respectivamente) (1). Con estos antecedentes nos propusimos estudiar los efectos de R(+)-Metanandamida en células PC-3.

En este estudio hemos observado que R(+)-Metanandamida induce una disminución dosis-dependiente de la viabilidad celular. La preincubación con SR1 no bloquea esta inducción, pero sí lo hace parcialmente la preincubación con SR2. Por otra parte, se ha observado un incremento dosis-dependiente de los niveles intracelulares de ceramida provocado por R(+)-Metanandamida, que es bloqueado por Fumonisin B1, (inhibidor de ceramida sintasa). Sin embargo, la preincubación con D-609 (inhibidor de esfingomielinasa) no afecta a este aumento. Adicionalmente, la incubación con R(+)-Metanandamida produce un incremento en la secreción de interleuquina 6 (IL-6), que es revertido por SR2.

Nuestros resultados sugieren que R(+)-Metanandamida provoca en células PC-3 una disminución en la viabilidad celular, probablemente a través el receptor CB2, pudiendo estar implicada la síntesis de ceramida *de novo*. También se ha visto un efecto en la secreción de IL-6, dato que ha de ser estudiado con más detalle.

1. Sánchez M.G. *et al.* Activation of phosphoinositide 3-kinase/PKB pathway by CB(1) and CB(2) cannabinoid receptors expressed in prostate PC-3 cells. Involvement in Raf-1 stimulation and NGF induction. Cell Signal. 2003 Sep;15(9):851-9

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por el MCYT (Grant SAF 2002-01572), UAH-CAM (CCG06-UAH/SAL-0562) y la Comunidad de Madrid (S-SAL-0261-2006). Los autores agradecen a Sanofi Recherche la donación de SR1 y SR2. N.O.H. y D. V. están becadas por la Universidad de Alcalá.

EFECTO DEL CANNABIS NO PSICOACTIVO SOBRE LA INFLAMACIÓN Y CARCINOGENESIS INTESTINAL

A. García de Vinuesa, C. Navarrete, J. Peña, I. M. Jimena, B. Fiebich **, G. Appendino* y E. Muñoz

Departamento de Biología Celular, Fisiología e Inmunología. Universidad de Córdoba;
**Universidad de Novara, Italia; ** Vivacell Biotechnology España*

La relación entre inflamación y cáncer ya fue sugerida por Virchow en el siglo XIX pero solo hasta hace pocos años se ha empezado a conocer en detalle esta relación. Actualmente se conoce que las infecciones e inflamaciones crónicas son un factor de riesgo alto para el desarrollo de tumores. En el 15-20% de todos los cánceres se ha identificado una enfermedad crónica infecciosa/inflamatoria subyacente. Uno de los mediadores moleculares más importantes en la inflamación es el factor de transcripción NF- κ B (nuclear factor *kappa* B), que también está involucrado en los procesos de tumorigénesis. La activación de NF- κ B en la inflamación crónica es especialmente relevante en la carcinogénesis gastrointestinal, y más en concreto el cáncer asociado a colitis (CAC) que representan hasta el 5% de todos los cánceres colorectales y la incidencia acumulada de CAC en pacientes con colitis ulcerosa varía entre un 8 y un 43%.

El uso del *Cannabis* medicinal se remonta a miles de años y aunque muchas de sus aplicaciones terapéuticas son atribuidas a su principio psicoactivo, el Δ^9 -THC, se conoce que esta planta contiene más de 60 cannabinoides y otros compuestos bioactivos no psicotrópicos que pueden ser relevantes para explicar y explotar las propiedades terapéuticas del *Cannabis*. En nuestro laboratorio hemos seleccionado una variedad de *Canabis Sativa* con bajo contenido en Δ^9 -THC y bien estandarizada en relación a otros compuestos del tipo cannabinoides, fenólicos y antraquinonas.

En ensayos “in vitro” observamos que este extracto induce la apoptosis en diferentes líneas tumorales de colon e inhibe la producción de citoquinas pro-inflamatorias en monocitos humanos aislados de sangre periférica. A nivel molecular nos encontramos que el extracto es un potente inhibidor de la ruta canónica de NF- κ B y de la ruta de Wnt sin afectar la activación de las MAPKs (p38, ERK 1+2 y JNK).

En modelos animales de carcinogénesis intestinal asociada a inflamación (CAC) encontramos que este extracto de *Cannabis sativa* por vía oral previene la inflamación intestinal y la enfermedad tumoral. Los resultados de nuestro grupo vienen a sumarse a los datos de muchos otros grupos de investigación que avalan el potencial terapéutico de los compuestos no psicoactivos presentes en una planta medicinal empleada durante milenios para el tratamiento de diferentes tipos de dolencias.

LOS CANNABINOIDES INDUCEN APOPTOSIS EN CÉLULAS TUMORALES A TRAVÉS DE UN MECANISMO QUE IMPLICA ESTRÉS DE RETÍCULO Y AUTOFAGIA

María Salazar^{1,*}, Arkaitz Carracedo^{1,*}, §, Íñigo J. Salanueva¹, Sonia Hernández¹, Cristina Blázquez¹, Mar Lorente¹, Ainara Egia^{1,§}, Patricia Vázquez², Sofía Torres¹, María M. Caffarel¹, Manuel Guzmán¹, Patricia Boya² and Guillermo Velasco¹

¹*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Facultad de Biología, Universidad, Complutense, Madrid, España*

²*Departamento de Biología Celular y Desarrollo, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid, España*

*Estos autores contribuyeron por igual al desarrollo del trabajo.

§Dirección actual: *Department of Pathology, Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston, MA 02115*

En estudios previos hemos demostrado que los cannabinoides conducen a apoptosis en células tumorales, a través de un mecanismo que implica estrés de retículo e inducción de la proteína proapoptótica p8. En este trabajo quisimos analizar los cambios morfológicos provocados por THC en este orgánulo, y observamos una marcada dilatación de retículo endoplásmico, así como la aparición de vesículas autofágicas a tiempos más tardíos. Experimentos de inhibición genética y farmacológica de proteínas implicadas en autofagia revelaron que este proceso precede a la apoptosis inducida por cannabinoides en las células tumorales. Además, el tratamiento con THC en tumores generados a partir de células deficientes en autofagia mostró que su papel es esencial en la acción antitumoral de los cannabinoides. Estos datos sugieren que la activación de la autofagia como una posible estrategia terapéutica para la inhibición del crecimiento tumoral.

LA PROTEÍNA DE ESTRÉS P8 Y SU DIANA TRB3 CONECTAN EL ESTRÉS DE RETÍCULO Y LA AUTOFAGIA EN LA MUERTE CELULAR INDUCIDA POR CANNABINOIDES

María Salazar^{1,*}, Arkaitz Carracedo^{1,*}, §, Íñigo J. Salanueva¹, Sonia Hernández¹, Cristina Blázquez¹, Mar Lorente¹, Ainara Egia^{1,§}, Patricia Vázquez², Sofía Torres¹, María M. Caffarel¹, Manuel Guzmán¹, Patricia Boya² and Guillermo Velasco¹

¹*Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Facultad de Biología, Universidad, Complutense, Madrid, España*

²*Departamento de Biología Celular y Desarrollo, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid, España*

*Estos autores contribuyeron por igual al desarrollo del trabajo.

§Dirección actual: *Department of Pathology, Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston, MA 02115*

En este trabajo demostramos que el Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC), el principal componente de la marihuana, induce la muerte en células tumorales a través de la activación de un proceso celular denominado autofagia. Nuestros datos revelan además las bases moleculares de esta acción, mostrando cómo el THC provoca la acumulación de ceramida, estrés de retículo endoplásmico y aumento de la síntesis de proteínas relacionadas con estrés, como p8 y TRB3. Experimentos de silenciamiento de estas proteínas por siRNA, así como el uso de células MEF deficientes en p8, mostraron que son esenciales en la inducción de autofagia por THC. Comprobamos que TRB3 inhibe la cascada de señalización Akt/ mTORC1, y de esa forma activa la autofagia en células tratadas con THC. Por último, demostramos que la administración de THC correlaciona con la activación del mecanismo de muerte celular por autofagia en tumores generados en ratones, así como en muestras de pacientes humanos sometidos a un ensayo clínico.

**EFFECTOS COGNITIVOS Y EMOCIONALES A LARGO PLAZO DE UN
TRATAMIENTO CRÓNICO EN EDAD ADOLESCENTE CON EL AGONISTA
CANNABINOIDE CP 55,940 EN RATAS WISTAR DE AMBOS SEXOS**

A. Higuera-Matas, F. Botreau, N. Del Olmo, M. Miguéns, L. Pérez-Álvarez, E. Borcel, C.
García-Lecumberri y E. Ambrosio

Departamento de Psicobiología. Facultad de Psicología. UNED

El tratamiento con cannabinoides durante la adolescencia provoca déficits a largo plazo en procesos cognitivos (tales como la memoria de referencia o la memoria de trabajo) y alteraciones en respuestas conductuales relacionadas con la ansiedad. Sin embargo, los sustratos neurales que pueden mediar en estos cambios aún no se conocen bien. En este trabajo utilizamos un tratamiento crónico (P28-P38, una inyección diaria intraperitoneal) con el agonista cannabinoide CP 55,950 (CP; 0.4 mg/kg; 2ml/kg) para estudiar sus efectos en la edad adulta (P100 en adelante) en animales adolescentes de ambos sexos. Estudiamos las respuestas de ansiedad en el laberinto en cruz elevado, así como la memoria de reconocimiento (paradigma de reconocimiento de objetos) y la memoria espacial (tanto de referencia como de trabajo) en el laberinto acuático de Morris. Con el fin de comprender mejor los efectos neuroendocrinos de nuestro tratamiento, medimos también la expresión de diferentes moléculas relacionadas con plasticidad sináptica (NCAM y PSA-NCAM) en EL hipocampo y LA corteza frontal, así como la inducción de la potenciación sináptica de larga duración (potenciación a largo plazo-PLP) en la región CA1 del hipocampo. Además, determinamos mediante radioinmunoensayo los niveles plasmáticos de corticoesterona y estradiol.

Nuestros resultados demostraron una ansiolisis duradera (en la línea de otros autores- Biscaia et al. 2003) Y una mejora en el aprendizaje espacial en el laberinto de Morris en los animales tratados con el agonista cannabinoide. Encontramos, además, una tendencia a recordar mejor la posición de la plataforma en la prueba de Morris en el grupo de las hembras tratadas, algo que no se observó en los demás grupos. A nivel bioquímico, encontramos una mayor expresión de PSA-NCAM en el hipocampo de los machos tratados con CP. Sin embargo no obtuvimos diferencias en los niveles de NCAM total ni en ninguna de sus tres isoformas (180, 140, 120). A nivel endocrino, sólo detectamos diferencias sexuales en los niveles de corticoesterona y de estradiol (mayores en las hembras, en ambos casos), descartando una posible explicación hormonal de los efectos del tratamiento sobre la ansiedad y la memoria de referencia.

En este trabajo se informa por vez primera de una mejora en las capacidades mnésicas de animales adultos inducida por un tratamiento crónico con agonistas cannabinoides durante la adolescencia

Financiado por: FIS G03/05 (Red de Trastornos Adictivos), BSO2001-1099, FIS 01-05-01, Plan Nacional sobre Drogas (PNSD) 2001–2003, PNSD 2004–2007, GR-SAL/0260/2004 y VI Premio de Investigación en Prevención de Drogodependencias de la Agencia Antidroga de la Comunidad de Madrid.

EFFECTS OF CHRONIC TREATMENTS WITH SURINABANT AND NICOTINE ON ENERGY METABOLISM AND BEHAVIORAL RESPONSES, IN AN ANIMAL MODEL OF ADOLESCENCE

María-Paz Viveros¹, Laura Lamota¹, Francisco Javier Bermudez-Silva², Ricardo Llorente¹,
Eva-María Marco¹, Fernando Rodríguez de Fonseca²

(1) *Departamento de Fisiología (Fisiología Animal II) Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid, Spain.* (2) *Fundacion IMABIS, Hospital Carlos Haya de Málaga, Laboratorio de Medicina Regenerativa, Avenida 29010 Málaga, Spain*

Both, cannabinoid compounds and nicotine affect appetite and metabolism as well as emotional responses. In view of the high incidence of drug abuse, emotional disturbances and weight concerns among adolescents, experimental analysis of cannabinoids-nicotine functional interactions in this period is of special relevance. We have studied the effects of chronic treatments with nicotine and the CB₁ cannabinoid receptor antagonist Surinabant, on energy metabolism and behavioral responses, in an animal model of adolescence. Chronic Surinabant administration reduced food intake and body weight gain, as well as plasma glucose levels and triglycerides. The drug also reduced insulin and leptin concentrations and increased adiponectin and corticosterone levels. Previous nicotine administration appeared to modulate some of these effects. With respect to behavioral tests, Surinabant, when given alone, decreased motor and exploratory activity in the holeboard and induced a modest though significant increase of the time spent floating in the forced swimming test, whereas no significant effects were found on anxiety-related responses in the elevated plus-maze. However, the CB₁ cannabinoid antagonist induced some signs of anxiogenic-like behavior in nicotine abstinent animals. In turn, certain effects of the cannabinoid antagonist seemed to be attenuated by a previous chronic exposure to nicotine. Acute nicotine abstinence, *per se*, resulted in decreased holeboard exploratory activity and reduced internal ambulation, though no significant anxiogenic-like effects were found in the plus-maze. After several days of abstinence, the nicotine injected animals showed increased floating times in the forced swimming test that were reversed by Surinabant. Numerous sexual dimorphisms were found for both, metabolic and behavioral parameters. We have provided the first evidences for sex-dependent metabolic, endocrine and behavioral effects of Surinabant in adolescent rats and extend our previous studies regarding nicotine-cannabinoids functional interactions.

Acknowledgements: Ministerio de Sanidad y Consumo (PND) 3SI/05/08; Red de Trastornos Adictivos (RD06/001); Sanofi-Aventis for Surinabant.

EVALUATION OF THE CB₁ RECEPTOR FUNCTIONALITY IN POSTMORTEM BRAIN MEMBRANES OF ALCOHOLIC SUBJECTS

Amaia M. Erdozain, Leyre Urigüen, J. Javier Meana, Luis F. Callado

Department of Pharmacology, University of the Basque Country (UPV/EHU), Leioa, Spain

There is a great amount of reports suggesting the implication of the endogenous cannabinoid system in cerebral mechanisms underlying drug addiction, including the alcoholism. It is known that cannabinoids and alcohol activate the same reward pathways, and it has been suggested that the CB₁ receptors are involved in the regulation of the positive reinforcing properties of alcohol. In this way, behavioural studies in rodents have shown that the administration of the CB₁ antagonist rimonabant reduces alcohol intake, while CB₁ agonists increase it. Furthermore, mice lacking the CB₁ receptor consume less ethanol than their wild type counterparts. On the other way, alcohol intake also modifies the activity of the endocannabinoid system. Thus, rodents chronically exposed to ethanol exhibit a downregulation of CB₁ receptors and CB₁ receptor agonist-stimulated GTP γ S binding. Differences in the CB₁ receptor binding have also been found in rat strains differing in their preference for alcohol. Finally, human genetic studies suggest the involvement of a CB₁ coding gene polymorphism in the alcoholism.

The aim of this study was to evaluate the functionality of the CB₁ receptors in different regions of the post-mortem human brain of subjects with a previous history of alcoholism, to confirm the data obtained in animal research, suggesting the involvement of the endocannabinoid system in alcohol addiction.

For this purpose, [³⁵S]GTP γ S binding assays were performed in membranes from human post-mortem brain. The experiments were carried out in buffer containing 0.5 nM [³⁵S]GTP γ S, the cannabinoid agonist WIN 55,212-2 (10⁻¹²-10⁻³ M, 10 concentrations), and 30 μ g of protein. The CB₁ receptor functionality was measured in four different populations: 1) non-suicidal alcoholic subjects (n=6), 2) alcoholic suicidal subjects (n=6), 3) non-alcoholic suicidal subjects (n=6), and 4) controls (n=6). All groups were matched for sex, age and postmortem delay. For each of the subjects three brain regions were studied: prefrontal cortex, hippocampus and cerebellum.

The results of the present work showed no statistically significant differences between the different populations in any of the studied brain regions nor in the potency (EC₅₀) neither in the maximal effect (E_{max}) produced by WIN 55,212-2 in the [³⁵S]GTP γ S binding.

These preliminary data exhibited no changes in the CB₁ receptor functionality in human post-mortem alcoholic brain, analyzed with WIN 55,212-2 stimulated [³⁵S]GTP γ S binding assays. However, further studies, such as protein quantitative studies or RT-PCR, would be required to evaluate the role of the endocannabinoid system in alcoholism.

Supported by Plan Nacional sobre Drogas (PI 2006I045) to L.F.C. A.M.E. is recipient of a predoctoral fellowship from the Basque Government.

SHORT-TERM EXPOSURE TO ALCOHOL IN RATS AFFECTS BRAIN LEVELS OF ANANDAMIDE, OTHER *N*-ACYLETHANOLAMINES AND 2-ARACHIDONOYL-GLYCEROL

Marina Rubio, Rosario de Miguel, Patricia Rodríguez-Valsero, Javier Fernández-Ruiz, José A. Ramos

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid (Spain)

Chronic alcohol exposure leads to significant changes in the levels of endocannabinoids and their receptors in the brains of humans and laboratory animals, as well as in cultured neuronal cells. However, little is known about the effects of short-term periods of alcohol exposure. In the present study, we examined the changes in endocannabinoid levels (anandamide and 2-arachidonoylglycerol), as well as four additional *N*-acylethanolamines, in four brain regions of rats exposed to alcohol through the liquid diet for a period of 24 hours. The levels of *N*-acylethanolamines were diminished 24 hours after the onset of alcohol exposure. This was particularly evident for anandamide in the hypothalamus, amygdala and caudate-putamen, for *N*-palmitoylethanolamine in the caudate-putamen, for *N*-oleoylethanolamine in the hypothalamus, caudate-putamen and prefrontal cortex, and for *N*-stearoylethanolamine in the amygdala. The only exception was *N*-linoleoylethanolamine for which the levels increased in the amygdala after the exposure to alcohol. The levels of the other major endocannabinoid, 2-arachidonoylglycerol, were also reduced with marked effects in the prefrontal cortex. These results support the notion that short-term alcohol exposure reduces endocannabinoid levels in the brain accompanied by a reduction in several related *N*-acylethanolamines.

Supported by grant from “Plan Nacional sobre Drogas” and CAM (GR/SAL/0355/2004)

BEHAVIOURAL AND NEUROCHEMICAL EFFECTS OF COMBINED MDMA AND THC ADMINISTRATION: DOPAMINE AND SEROTONIN TRANSMISSION IN MICE

Maria J Orejarena S¹ José M. Trigo¹, Rafael Maldonado¹, Patricia Robledo^{1,2}

Laboratori de Neurofarmacologia, Departament de Ciències Experimentals i de la Salut. Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain; (2) Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM), Barcelona, Spain.

Rationale: Cannabis is the illicit drug most widely consumed in association with methylenedioxymethamphetamine (MDMA). Previous studies performed in our laboratory demonstrated that the combined administration of sub-threshold doses of MDMA (3 mg/kg) and delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) (0.3 mg/kg) produce rewarding effects in conditioned place preference (CPP) and self-administration paradigms. Microdialysis studies have revealed that a low dose of THC increased dopamine (DA) outflow in the nucleus accumbens (NAc), while a low dose of MDMA did not. When MDMA was administered before THC, DA levels decreased with respect to THC. However, when THC was administered before MDMA, DA levels were not significantly modified with respect to THC (Robledo et al., 2007). **Objectives:** This study examines whether low doses of MDMA and THC produce changes in serotonin (5-HT) outflow in the prefrontal cortex (PFC) following single or combined administration of these compounds by using in vivo microdialysis techniques. **Results:** In contrast to our data on dopaminergic transmission, a low dose of MDMA significantly increased 5-HT outflow in the PFC while THC did not. Combined administration of these two substances did not modify 5-HT outflow with respect to MDMA alone, thus THC does not modulate the enhancement of 5-HT in the prefrontal cortex induced by MDMA. **Conclusions:** Taken together these results suggest that a parallel increase of both monoamines could be involved in the behavioural synergism observed when MDMA and THC are administered together.

Robledo P, Trigo J M, Panayi F, de la T R and Maldonado R (2007) Behavioural and Neurochemical Effects of Combined MDMA and THC Administration in Mice. *Psychopharmacology (Berl)* in press.

LACK OF CB₁ RECEPTOR ALTERS SEROTONIN SYSTEM: AN ELECTROPHYSIOLOGICAL AND *IN VIVO* MICRODIALYSIS STUDY

E. Aso¹, T. Renoir², A. Ozaita³, C. Ledent⁴, M. Hamon², R. Maldonado³, L. Lanfumey², O. Valverde¹

¹*Grup de Neurobiologia del Comportament, ³Laboratori de Neurofarmacologia, Departament de Ciències Experimentals i de la Salut, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain*

²*INSERM UMR 677, Faculté Médecine La Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, Paris, France*

⁴*IRIBHM, Université Libre de Bruxelles, Brussels B-1070, Belgium*

Serotonergic and endocannabinoid systems are involved in the pathophysiology of mood disorders and animals lacking CB₁ cannabinoid receptor exhibited a depressive-like phenotype. Several studies suggest that the endocannabinoid system modulates the activity of serotonergic neurons. The aim of the present study was to investigate the regulation of serotonin neurotransmission in the absence of the activity of CB₁ cannabinoid receptor in mice.

In vivo microdialysis experiments revealed that fluoxetine-induced increase of serotonin extracellular levels was reduced in the frontal cortex of CB₁ knockout mice. In order to investigate if this decreased serotonin release was due to the attenuation in the firing rate of the serotonergic neurons, we performed extracellular recordings in the dorsal raphe nucleus (DRN) in the presence of dose-increasing 5-HT_{1A} agonist ipsapirone. The somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptor negatively controls the electrophysiological activity of serotonergic cells. We observed a desensitization of 5-HT_{1A} autoreceptors in CB₁ knockout mice and in animals receiving a chronic treatment (14 days, 3mg/kg/day) of the CB₁ antagonist rimonabant. In addition, the hypothermia induced by the 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT was reduced in CB₁ knockout mice, supporting the desensitization of this autoreceptor when CB₁ receptors are inactivated.

We hypothesize that the desensitization of the 5-HT_{1A} autoreceptor could be a compensatory mechanism to equilibrate the serotonin release deregulation revealed in microdialysis study.

INFLUENCIA DE LA VIA DE ADMINISTRACIÓN SOBRE LA SEÑALIZACIÓN DEL RECEPTOR CB₁ TRAS TRATAMIENTO CRÓNICO CON FLUOXETINA

E.M. Valdizán, E. Castro, S. Mato, E. del Olmo* y A. Pazos

*Departamento de Fisiología y Farmacología. Universidad de Cantabria. Instituto de Biomedicina y Biotecnología de Cantabria IBBTEC (CSIC-UC-IDICAN), Santander. * FAES FARMA S.A.*

La terapia antidepresiva actual se basa en fármacos que inhiben la recaptación de aminas y los estudios tras tratamiento crónico con antidepresivos en el animal de experimentación indican que dan lugar a cambios regulatorios en las propiedades de los receptores para serotonina y noradrenalina. El papel que el sistema cannabinoide endógeno juega como modulador de la actividad de los distintos sistemas de neurotransmisión aminérgicas es bien conocido. Recientemente se han presentado evidencias de que las propiedades de los receptores CB₁ se encuentran modificadas en muestras cerebrales *postmortem* de sujetos deprimidos, y que estas modificaciones parecen depender del cumplimiento de un tratamiento antidepresivo. Algunos datos también sugieren que la manipulación del sistema endocannabinoide podría ser de utilidad en el tratamiento de la depresión.

En el presente trabajo hemos analizado la influencia de tres vías de administración de fluoxetina (10 mg/kg/día): vía oral (21 días), intraperitoneal (21 días) e infusión continua (14 días) mediante la implantación de minibombas osmóticas, sobre el mecanismo de transducción acoplado a los receptores CB₁.

El tratamiento durante 14 días mediante minibombas osmóticas produjo un incremento, estadísticamente significativo, en la eficacia del agonista CB₁ WIN55,212-2 para inhibir la acumulación de AMPc estimulada por forskolina en corteza frontal de rata ($Imax_{veh} = 30,1 \pm 2,5\%$ vs $Imax_{fluox} = 41,8 \pm 2,9\%$; $p < 0,05$ Student *t*-test) sin cambios en la potencia. De forma similar, la administración intraperitoneal durante 21 días de fluoxetina produjo un incremento sobre la inhibición de la AC acoplada a receptores CB₁, aunque sin alcanzar la significación estadística ($Imax_{veh} = 23,8 \pm 1,8\%$ vs $Imax_{fluox} = 35,6 \pm 3,2\%$). Finalmente, cuando el antidepresivo se administró por vía oral no se observaron cambios de la capacidad inhibitoria del agonista CB₁ sobre la AC estimulada por forskolina ($Imax_{veh} = 27,7 \pm 2,1\%$ vs $Imax_{fluox} = 27,9 \pm 2,5\%$) en la corteza frontal de rata.

El efecto sobre los niveles basales de AMPc tras el tratamiento crónico con fluoxetina transcurrió de forma paralela a lo observada sobre los niveles de AMPc. Se produjo un incremento significativo sobre los niveles basales de AMPc ($22,6 \pm 1,6$ vs $32,7 \pm 6,0$ pmol/min/mg de proteína) en la administración mediante la implantación de minibombas osmóticas y una tendencia al aumento ($26,4 \pm 1,2$ vs $35,1 \pm 2,9$ pmol/min/mg de proteína) sin alcanzar la significación estadística tras el tratamiento por vía intraperitoneal. Por el contrario, la administración oral del antidepresivo no alteró los niveles basales de AMPc ($66,6 \pm 1,6$ vs $60,7 \pm 13,4$ pmol/min/mg de proteína).

No se han observado cambios en la densidad receptorial en el grado de acople del receptor CB₁ a la proteína G en corteza frontal para ninguna de las vías de administración ensayadas.

Estos resultados indican claramente que el tratamiento crónico con fluoxetina provoca modificaciones en la funcionalidad de los receptores CB₁, en función de la vía de administración y/o el tiempo de tratamiento.

Proyecto financiado por CICYT (SAF04-00941) y Plan Nacional sobre Drogas. Instituto de Salud Carlos III (Red de Investigación de Enfermedades Mentales, REMTAP).

**ALTERED ENDOCANNABINOID-DEPENDENT SIGNALLING IN THE
PREFRONTAL CORTEX OF AN ANIMAL MODEL OF DEPRESSION:
REVERSION BY CHRONIC FLUOXETINE**

A. Díaz, A. Rodríguez-Gaztelumendi, E. Marrón, M. L. Rojo, M. J. Castillo, E. M. Valdizán,
A. Pazos

*Departamento de Fisiología y Farmacología, Universidad de Cantabria-Instituto de
Biomedicina y Biotecnología de Cantabria, IBBTEC, (CSIC-UC-IDICAN). Santander, Spain*

In the last years, the role of cannabinoid receptors has attracted much attention in relation to diverse neuropsychiatric disorders such a major depression. Among the animal models of depression, the bilateral olfactory bulbectomy syndrome in rats (OB) has been proposed to be a valid paradigm since its exhibits quite similar neurochemical and behavioural changes to those observed in depressed patients. Moreover, its main pharmacological feature is the response to chronic, but not acute, antidepressant treatment. Therefore, it could be interesting to study the endocannabinoid system and its modulation by antidepressants in this animal model of depression. We have analyzed the expression (receptor density) and functionality ($[^{35}\text{S}]\text{GTP}\gamma\text{S}$ binding and adenylyl cyclase activity) of CB_1 receptors in frontal cortex homogenates from OB rats before and after chronic fluoxetine (10 mg/kg/day, 14 days). We have detected an up-regulation of CB_1 receptors labelled with $[^3\text{H}]\text{CP55,490}$ associated to an increase of CB_1 receptor-induced stimulation of $[^{35}\text{S}]\text{GTP}\gamma\text{S}$ binding by the selective agonist WIN55.212 in the prefrontal of OBX rats compared to control animals. Chronic administration of fluoxetine attenuated OB-induced hyperactivity in a novel "open-field". Interestingly, antidepressant treatment completely reversed the enhanced endocannabinoid signalling and it also augmented the efficacy of the CB_1 agonist to inhibit forskolin-induced cAMP accumulation. These results are discussed in the context of a similar endocannabinoid dysfunction observed in depressed suicides.

Supported by Instituto de Salud Carlos III (Red de Investigación de Enfermedades Mentales, REMTAP), Fundación Mutua Madrileña and Plan Nacional de Drogas (2006).

CANNABINOIDES Y ESTIMULANTES COMO CATALIZADORES EN EL COMIENZO DE LA PSICOSIS

José Luis Rubio¹, Marisa Barrigón², Maite Ferrín³, Miguel Ruiz-Veguilla⁴, Manuel Gurpegui⁵, Jorge Cervilla⁶

1. Complejo Hospitalario de Jaén, Psicólogo; 2. Departamento de Psiquiatría, Hospital Universitario San Cecilio e Instituto de Neurociencias, Universidad de Granada; 3. Unidad de Salud Mental Infantil, Complejo Hospitalario de Jaén; 4. Servicio de Psiquiatría, Complejo Hospitalario de Jaén; 5. Departamento de Psiquiatría, Hospital Universitario San Cecilio e Instituto de Neurociencias, Universidad de Granada; 6. Departamento de Psiquiatría, Hospital Universitario San Cecilio e Instituto de Neurociencias, Universidad de Granada

Introducción y objetivo: La asociación entre el consumo de drogas y una menor edad de inicio de las psicosis es un hallazgo frecuente en los estudios de los últimos años. Por otra parte, es clásicamente conocida la presentación de la psicosis a edad más temprana en los varones y más tardías en las mujeres. El objetivo de este trabajo es estudiar la influencia del consumo de drogas en la edad de inicio de la psicosis no afectivas (EIP), controlando el efecto del sexo.

Método: Se reclutaron 72 pacientes con un primer episodio de psicosis no afectiva (PEPNA) entre diciembre de 2003 y junio de 2006 en las provincias de Granada y Jaén. En todos ellos se determinó la EIP (la edad a la que el paciente contacta con algún dispositivo de Salud Mental por sintomatología psicótica) y se recogió información sociodemográfica básica y sobre el consumo de drogas (legales e ilegales), además de otras variables no empleadas en el presente estudio. Se comparó la EIP entre los consumidores y los no consumidores de drogas de abuso, por una parte, y entre varones y mujeres, por otra. Mediante un análisis de supervivencia, comparamos el riesgo acumulado de psicosis (*cumulative hazard curves*) de los consumidores con el de los no consumidores, ajustando por el efecto de sexo.

Resultados: De los 72 pacientes, 48 (67%) eran varones. El 64% de los pacientes (46) tenían historia de consumo de drogas, fundamentalmente cannabis (45 de los 46). La mediana de la EIP (percentil 25, percentil 75) de los consumidores [23 años (19, 28)] fue significativamente menor ($t=2,6$; $gl=70$; $p=0,01$) que la de los no consumidores [30 años (21, 39)]. También los varones presentaron una EIP más temprana que las mujeres: 23 años (19, 32) frente a 28 (24, 35) respectivamente ($t=2,0$; $gl=70$; $p=0,046$). Las curvas acumulativas de riesgo de psicosis fueron de pendiente significativamente más elevada en los consumidores que en los no consumidores, incluso tras controlar el efecto del sexo (*log rank* ajustado por sexo: $\chi^2=4,8$; $gl=1$; $P=0,03$). Antes de los 20 años las dos poblaciones tienen un riesgo similar de desarrollar psicosis, pero a partir de esa edad las tasas de psicosis son mayores para los consumidores de drogas.

Conclusión: El consumo de drogas ilegales acelera la presentación de la psicosis. Podemos decir, por tanto, que tiene un efecto catalizador en su comienzo.

CONSUMO CRÓNICO DE CANNABIS Y EJECUCIÓN COGNITIVA

Lloret D., Segura M., Hernández P.

Instituto de Investigación de Drogodependencias (INID), Universidad Miguel Hernández de Elche (UMH)

Objetivo: Analizar la relación entre consumo crónico de cannabis y la ejecución de tareas cognitivas.

Conocer si los parámetros de consumo, como la cronicidad, la frecuencia y la intensidad afectan a los resultados.

Metodología: Un grupo experimental (N<50) y un grupo de control equiparado completan una batería de pruebas cognitivas sobre atención, razonamiento y percepción, validadas para población general. Así mismo, se evalúan variables sociodemográficas y se mide la presencia de variables que pudieran afectar a la ejecución cognitiva. Por último, se recogen datos sobre consumo de cannabis y otras drogas. El criterio de inclusión para el grupo experimental es ser consumidor de cannabis. Quedan excluidos aquellos sujetos que hubieran consumido cannabis en las 6 horas precedentes a la realización de las pruebas. Los criterios de exclusión para ambos grupos son: padecer o haber padecido algún trastorno psiquiátrico, haber padecido traumatismo cráneo-encefálico y ser consumidor de alcohol u otras drogas de abuso.

Resultados: Los resultados preliminares apuntan a que ambos grupos, experimental y control, arrojan resultados similares en las pruebas de ejecución cognitiva. La variable “actividad cognitiva”, independientemente del uso de cannabis, podría explicar en parte las diferencias en los resultados que obtienen los sujetos del grupo experimental en los tests cognitivos.

Conclusiones: La evidencia sobre el deterioro cognitivo no resulta concluyente, según se desprende del meta-análisis que incluye 28 investigaciones sobre diferentes aspectos de la ejecución cognitiva y el consumo crónico de cannabis, realizado por los autores. Los resultados de la presente investigación son coherentes con los hallados en estudios previos.

El uso de pruebas de mayor dificultad podría llegar a discriminar mejor las puntuaciones de ambos grupos. Los autores consideran que las pruebas utilizadas resultan demasiado simples, y por lo tanto, no alcanzan a detectar el eventual deterioro cognitivo producido por el consumo crónico de cannabis.

Se precisa una mayor investigación del papel mediador de la “actividad cognitiva”, aunque para ello se requeriría una metodología que permitiera analizar de forma más ajustada y eficaz, el papel que juega esta variable.