



ANEXO IV

JUSTIFICACION DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN EN
DROGODEPENDENCIAS

MEMORIA CIENTÍFICA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

FINAL

Número Expediente: 2008/I/070
Investigador Principal: Emilio Ambrosio Flores

Otros Investigadores:

Carmen García Lecumberri
Miguel Miguéns Vázquez
Alejandro Higuera Matas
Gonzalo López Montoya
Óscar Olías Calvo

Título Proyecto: *Participación de la formación hipocampal en las alteraciones neuropsicológicas de la dependencia de cocaína*

Organismo: Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED)

Centro: Facultad de Psicología

Departamento: Psicobiología

Comunidad Autónoma: Madrid

Duración: Tres años

Fecha de inicio: 1 de Enero de 2009

Fecha de finalización: 31 de Diciembre de 2011

Año Convocatoria: 2008 (BOE nº 164 de 8 de Julio de 2008)

Área Temática: Investigaciones sobre estrategias terapéuticas, buscando nuevos métodos de tratamiento, incluyendo identificación de dianas terapéuticas y diseño de nuevos fármacos e investigaciones sobre comorbilidad y complicaciones derivadas del consumo de cocaína.

Palabras Clave: neuropsicología; neuroimagen; autoadministración; cocaína; glutamato; GABA; CRF; metabolismo cerebral de la glucosa; microPET; microdiálisis; autorradiografía; potenciación a largo plazo (LTP).



RESUMEN: (Objetivo, ámbito de estudio, sujetos de estudio, instrumentalización, resultados, conclusiones. Máximo 2.000 palabras.)

Tal y como estaba previsto en esta tercera anualidad, continuamos haciendo experimentos para 1) determinar si la exposición crónica a cocaína podía modificar la plasticidad neuronal hipocámpica en las cepas Lewis y Fischer 344 y afectar a la memoria espacial; y 2) estudiar el metabolismo cerebral, mediante tomografía por emisión de positrones en el animal pequeño (microPET), tras la administración de cocaína a animales adultos expuestos previamente durante su adolescencia a un agonista cannabinoide. Estos dos objetivos concretos cubiertos en la presente anualidad tratan de contribuir al objetivo esencial y general del Proyecto que es el de avanzar en el conocimiento de los procesos psicobiológicos que pueden estar operando en las alteraciones neuropsicológicas inducidas por la cocaína.

1) Estudio del efecto de la administración crónica de cocaína sobre la plasticidad neural en el hipocampo y la memoria espacial.

Para llevar a cabo este primer objetivo, complementando los estudios ya descritos en la anualidad segunda, en los de esta tercera anualidad estudiamos el efecto sobre los posibles cambios en la densidad de las espinas dendríticas en neuronas de la capa CA1 del hipocampo después de la administración crónica de la droga en animales que habían sido sometidos previamente a una tarea de memoria espacial en el laberinto de 8 brazos, tarea que, como es sabido, es dependiente del hipocampo.

1.1. Metodología

Los animales eran machos adultos de ambas cepas que se entrenaron en el laberinto radial de 8 brazos siguiendo tres fases: a) habituación durante dos sesiones; b) adquisición de la tarea durante cuatro sesiones; y c) retención de lo aprendido a las 24 horas y a las 48 horas desde la última sesión de adquisición. Antes de empezar estas fases experimentales los animales recibieron intraperitonealmente durante 16 días inyecciones de 15 mg/kg de cocaína (grupo experimental) o de suero salino (grupo control). Después del último día de retención (es decir, a la finalización de la tarea de memoria espacial) los animales se sacrificaron, sus hipocampos se extrajeron y las neuronas piramidales de la capa CA1 se tiñieron mediante el procedimiento de la tinción de Golgi, a fin de poder cuantificar la densidad de espinas dendríticas y analizar su morfología.

1.2. Resultados

Los resultados indicaron que los animales Fischer 344 tardaron más en aprender la tarea de memoria y cometieron más errores que los Lewis, pero el tratamiento con cocaína no mejoró la realización de la tarea en ninguna de las dos cepas. Cuando se evaluó la plasticidad neuronal mediante el análisis de las espinas dendríticas, se comprobó que los animales Fischer 344 tenían más número de espinas dendríticas en la capa CA1 del hipocampo que los Lewis, a nivel basal, y que el tratamiento con cocaína aumentó dicho número en ambas cepas, especial y significativamente en la raza Fischer 344. No obstante, después de la exposición crónica a esta droga, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambas cepas en lo que se refiere al aprendizaje de la tarea espacial. En la Figura 1, que se presenta a continuación pueden verse las diferencias en la adquisición de la tarea de memoria entre ambas cepas y en la Figura 2 la medición de la densidad de las espinas dendríticas. Estos resultados se han publicado en un artículo científico (Fole et al., 2011), que cita más adelante en el apartado correspondiente de este Informe.



FIGURA 1

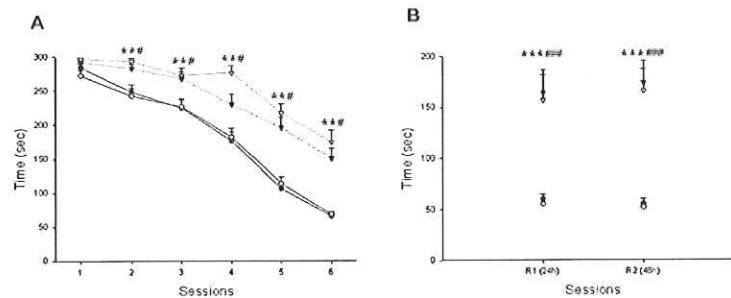
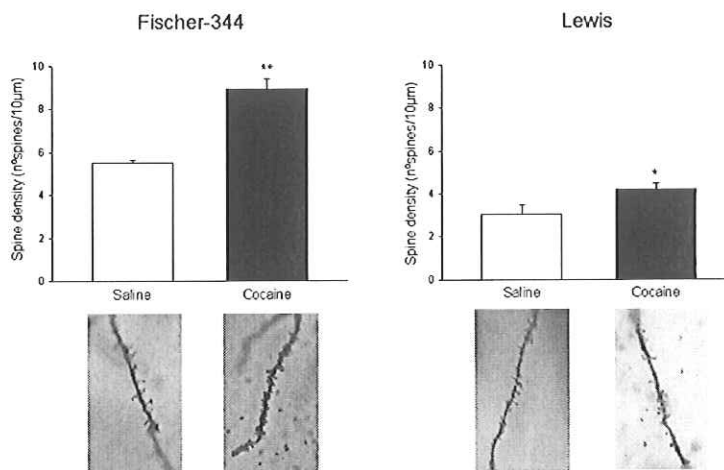


FIGURA 2



1.3. Conclusiones

En conjunto, estos resultados sugieren que las diferencias en el aprendizaje de la tarea de memoria espacial que se han encontrado en ambas cepas probablemente obedecen a diferencias genéticas en sí mismas, que no se modifican por la administración crónica de cocaína. La exposición continuada de esta droga, por otra parte, afecta al hipocampo aumentando la densidad de espinas dendríticas en animales de ambas cepas, pero este aumento no correlaciona significativamente en términos estadísticos con el aprendizaje de la tarea espacial exhibido por



ambas razas. No obstante, es interesante decir que, a nivel basal, la cepa Fischer 344 tiene más densidad de espinas dendríticas en el hipocampo que la Lewis y que la exposición crónica a cocaína aumentó más esa densidad en la cepa Fischer 344 que en la Lewis. Teniendo presente que la cepa Fischer 344 mostró más déficits en el aprendizaje de la tarea de memoria espacial tanto a nivel basal como tras la administración crónica de cocaína, la mayor presencia de espinas dendríticas en el hipocampo de los animales de esta raza apunta a que ciertas deficiencias en el aprendizaje de tareas de memoria espacial pueden estar relacionadas con un aumento de la densidad de espinas dendríticas hipocámpicas.

2) Estudio del metabolismo cerebral mediante microPET tras la administración de cocaína a animales adultos que habían sido expuestos previamente en su adolescencia a un agonista cannabinoide.

Como ya se ha dicho, siguiendo lo indicado en la Memoria del Proyecto en su momento, en esta tercera anualidad ha sido de nuestro interés estudiar si la exposición a cocaína modificaba el metabolismo cerebral de la glucosa, en cuanto indicador indirecto de la actividad neuronal, en animales adultos que, en su adolescencia, habían sido expuestos a un agonista cannabinoide sintético, el CP 55,940. Además, este estudio complementaba los realizados en la primera y segunda anualidad.

2.1. Metodologías:

Como en el caso de las anualidades anteriores, para llevar a cabo el presente trabajo, se trataron animales de ambos sexos con 0,4 mg/kg i.p de CP 55,940 (un agonista sintético de los receptores CB1 de cannabinoides) desde la edad de 28 días postnatal a la de 38 días postnatal (11 días de tratamiento en esa etapa de la vida de los animales que es similar al inicio de la adolescencia en humanos) y a sus correspondientes controles con la solución vehículo empleada para disolver el agonista CP 55940. Después de finalizar este tratamiento, se dejó que los animales se hicieran adultos sin ningún otro tipo de intervención experimental y al llegar a la edad de 100 días se les implantó un catéter en la vena yugular. Tras siete días de recuperación post-operatoria, los sujetos se expusieron a la cocaína (1 mg/kg) o a suero salino antes de someterse el estudio de neuroimagen mediante Tomografía por Emisión de Positrones (TEP; PET en inglés). A tal fin, diez minutos después de la administración de la droga o del suero salino, los animales recibieron 2-deoxy-2-[18F]fluoro-D-glucosa (FDG: 1.99 ± 0.24 mCi) y se permitió la captación de la glucosa durante 35 minutos. Posteriormente, se tomaron imágenes cerebrales tomográficas durante 60 minutos que, después, se analizaron estadísticamente mediante la metodología de Mapas Paramétricos Estadísticos (SPM).

2.2. Resultados:

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos tras la cuantificación de las imágenes y en las Figuras 3 y 4 imágenes representativas de las tomografías realizadas sobrepuestas a imágenes de resonancia magnética para obtener una mayor resolución anatómica.



Los resultados indicaron que, a nivel basal, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en el metabolismo cerebral de la glucosa entre los animales adultos machos expuestos y no expuestos al cannabinoide sintético durante una etapa de su adolescencia pero, tras la administración de cocaína, los niveles metabólicos de la glucosa disminuyeron en la región del estriado dorsal en los animales expuestos a vehículo (VH, en la Tabla 1) en su etapa adolescente, en comparación con los expuestos al agonista cannabinoide (CP, en la Tabla 1). En el caso de las hembras, las expuestas a CP mostraron un metabolismo de la glucosa mayor que el de sus controles, especialmente en la región de los núcleos septales, pero la administración de cocaína anuló esas diferencias porque la presencia de la droga disminuyó el metabolismo cerebral en los núcleos septales. Los animales hembras de los grupos controles no mostraron ningún cambio en su metabolismo cerebral de la glucosa después de la administración de cocaína.

Tabla 1.

Variables		Regions	Z score (max.)	Cluster Size*
<i>Males</i>	VH (Saline) > VH (Cocaine)	Dorsal Striatum (Right + Left)	4.41	75
	VH (Cocaine) < CP (Cocaine)	Dorsal Striatum (Right + Left)	4.68	101
<i>Females</i>	CP (Saline) > CP (Cocaine)	Septal Nuclei	4.79	79
	CP (Saline) > VH (Saline)	Septal Nuclei	3.82	23

FIGURA 3

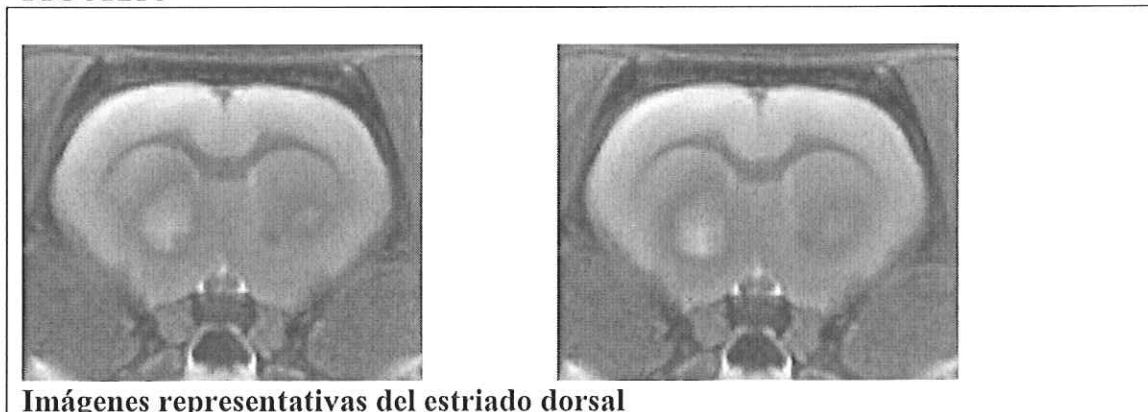
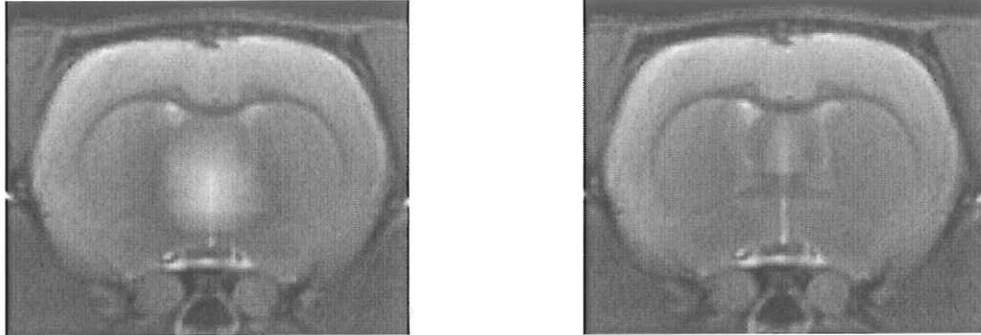




FIGURA 4



Imágenes representativas de los núcleos septales.

2.3. Conclusiones

Teniendo presente que este estudio se ha realizado en animales adultos expuestos durante una etapa de su adolescencia a un cannabinoide sintético, los resultados encontrados en los núcleos septales son especialmente interesantes porque dichas estructuras son la principal fuente de inervación colinérgica al hipocampo y, como es sabido, el hipocampo inhibe la actividad dopaminérgica del estriado ventral, incluido el núcleo accumbens. Este hecho puede indicar que el mayor metabolismo basal de la glucosa en los núcleos septales de los animales expuestos al agonista cannabinoide sintético CP 55, 940 (CP) de nuestro estudio podría traducirse en una hiposensibilidad a los efectos reforzantes de la cocaína en el núcleo accumbens, dada la citada inhibición de la actividad dopaminérgica de este núcleo ejercida por el hipocampo. En consecuencia, sería necesario en estos animales la presencia de una mayor cantidad de cocaína para que esta droga tuviera efectos reforzantes y ello podría explicar resultados previos de nuestro grupo que demuestran que animales hembras adultas expuestas en una etapa de su adolescencia a CP se autoadministran más cocaína que sus correspondientes controles (Higuera-Matas et al., 2008).

ARTÍCULOS PUBLICADOS COMO CONSECUENCIA DE LA ACCIÓN: (Se adjuntarán tres separatas de cada uno de ellos)

Fole, A., González-Martín, C., Huarte, C., Alguacil, L.F., Ambrosio, E., del Olmo, N. (2011). Effects of chronic cocaine administration on spatial learning and hippocampal spine density in two genetically different strains of rats. *Neurobiology of Learning and Memory* 95(4), 491-497.

Higuera-Matas, A., Soto-Montenegro, M.L., Montoya, G.L., García-Vázquez, V., Pascau, J., Miguéns, M., Del Olmo, N., Vaquero, J.J., García-Lecumberri, C., Desco, M., Ambrosio, E. (2011). Chronic cannabinoid administration to periadolescent rats modulates the metabolic response to acute cocaine in the adult brain. *Molecular Imaging and Biology*, 13(3), 411-415.





MODIFICACIONES DE LA METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO SOBRE LOS PROYECTADOS Y SU JUSTIFICACIÓN:

Durante esta tercera anualidad, tampoco hemos hecho ningún cambio en la metodología ni en el plan de trabajo proyectado en desde la primera anualidad.

OBJETIVOS PLANTEADOS :(Transcribir los del proyecto original)

Estudiar en animales de razas genéticamente seleccionadas que muestran diferente vulnerabilidad ante los efectos reforzantes positivos de la cocaína (las cepas Lewis y Fischer 344):

- 3) la plasticidad sináptica, mediante registros electrofisiológicos en rodajas de hipocampo para determinar el grado de potenciación a largo plazo (LTP) y
- 4) el metabolismo cerebral, mediante tomografía por emisión de positrones en el animal pequeño (microPET).

OBJETIVOS CONCRETOS ALCANZADOS: (Ordenar de igual forma que los planteados. En el caso de proyectos coordinados, el coordinador deberá describir además el desarrollo de la coordinación entre subproyectos en este año, y los resultados de dicha coordinación con relación a los objetivos globales del proyecto).

Consideramos que los dos objetivos previstos para la tercera y última anualidad se han alcanzado correctamente, por lo que podemos afirmar que:

- 1) Se ha determinado si la exposición crónica a cocaína podía modificar la plasticidad neuronal hipocámpica en las cepas Lewis y Fischer 344 y afectar a la memoria espacial; y
- 2) Se ha estudiado el metabolismo cerebral de la glucosa tras la administración de cocaína a animales adultos expuestos previamente durante su adolescencia al agonista cannabinoide sintético CP55, 940.

APLICABILIDAD Y UTILIDAD PRÁCTICA DE LOS RESULTADOS EN EL ÁREA DE LAS DROGODEPENDENCIAS. (En caso de memoria final)

Al ser un proyecto de investigación básica, la aplicabilidad y utilización de sus resultados sería posible a medio y largo plazo. De modo más inmediato, estos resultados pueden utilizarse para divulgar el avance en el conocimiento sobre las bases psicobiológicas de la conducta adictiva a la sociedad en general y, particularmente, a todos aquellos colectivos específicos que lo requieran.

PATENTES U OTROS RESULTADOS EXPLOTABLES COMERCIALMENTE QUE SEAN CONSECUENCIA DEL PROYECTO. (En caso de memoria final)

Como se acaba de decir, este es un proyecto de investigación básica y, en consecuencia, sus resultados sólo podrían dar lugar a productos explotables comercialmente a medio y largo plazo.



MINISTERIO
DE SANIDAD
Y POLÍTICA SOCIAL

SECRETARÍA GENERAL DE
POLÍTICA SOCIAL

DELEGACIÓN DEL GOBIERNO
PARA EL PLAN NACIONAL
SOBRE DROGAS

OTRAS SUBVENCIONES O AYUDAS RECIBIDAS PARA ESTE PROYECTO:

origen, cantidad, en qué se aplica

No ha habido otras subvenciones o ayudas para la realización de este proyecto

OTRAS CONSIDERACIONES QUE SE DESEE HACER CONSTAR

Damos las gracias al PNSD por la ayuda de investigación recibida que ha permitido contribuir a la continuación en nuestra línea de investigación y a la formación de nuevos doctores.

En esta fecha se remite también por correo electrónico, a la dirección pndinvestigación@msps la presente memoria.

En Madrid a 15 de Abril de 2012

FIRMA: Emilio Ambrosio Flores