

## ANEXO IV

JUSTIFICACION DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN EN DROGODEPENDENCIAS
---

**MEMORIA CIENTÍFICA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN (CONTIENE 17 HOJAS)**1ª ANUALIDAD 2ª ANUALIDAD FINAL **Número Expediente:****Investigador Principal:** Dra. Mª Paz Viveros Hernando. DNI: 50680535, Catedrática de Universidad**Otros Investigadores:** Dra Carmen Prada DNI 28425033 (UCM, catedrática), Dra. Meritxell López Gallardo DNI 50821758 (UCM, Profesor Contratado Doctor), Dr Luis Miguel García Segura DNI 00647599 (CSIC, Profesor de Investigación), Ricardo Llorente de Miguel DNI 70244875 (Profesor UEM, colaborador postdoctoral Honorífico Dept Fisiol Fac Med UCM), Alvaro Llorente Berzal DNI 53390976 (UCM, contratado predoctoral)**Título Proyecto o subproyecto:** “Un modelo experimental para la investigación de factores de vulnerabilidad en el contexto de la patología dual”**Título Proyecto coordinado en el que se integra** (Sólo en caso de ser un subproyecto)**Organismo:** Universidad Complutense de Madrid (UCM)**Centro:** Facultad de Ciencias Biológicas**Departamento:** Departamento de Fisiología (Fisiología Animal II)**Comunidad Autónoma: Madrid****Duración:** 3 años**Fecha de inicio:** 26/10/2009**Fecha de finalización:** 25/10/2012**Año Convocatoria:** 2009**Área Temática:** El presente proyecto se incardina en las siguientes líneas temáticas:

1. Investigaciones sobre comorbilidad y complicaciones derivadas del consumo de cocaína.
2. Investigaciones sobre determinantes biológicos y culturales del policonsumo de drogas.

Además, aunque se trata de un proyecto de investigación preclínica, ESTUDIAMOS LAS DIFERENCIAS SEXUALES EN NUESTROS EXPERIMENTOS, lo cual se relaciona con la línea temática 3 que hace referencia a diferencias entre hombres y mujeres en relación con las adicciones

**Palabras Clave:** Modelos animales, estrés neonatal, consumo de drogas en adolescencia, cannabinoides, MDMA, cocaína, patología dual, diferencias sexuales

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

**EXPONEMOS A CONTINUACION LOS RESÚMENOS DE RESULTADOS RELATIVOS A CADA FASE Y DEBAJO, EN EL APARTADO CORRESPONDIENTE, LAS PUBLICACIONES Y CONGRESOS A LOS QUE CADA FASE DEL TRABAJO HA DADO LUGAR**

**Fase I:**

**CONSECUENCIAS, A LARGO PLAZO, DE LA EXPOSICIÓN DE RATAS MACHO Y HEMBRA A SEPARACIÓN MATERNA NEONATAL Y/O A UN AGONISTA CANNABINOIDE EN EDAD JUVENIL**

En roedores, separación materna (SM) en ratas Wistar neonatales [24 horas a día postnatal (PND) proporciona un modelo válido y muy útil para investigar los mecanismos neurobiológicos subyacentes a las psicopatologías asociadas a la exposición precoz a situaciones adversas (Marco et al., 2009; Viveros et al., 2009). Hay que destacar que en nuestro grupo, hemos observado también numerosos efectos celulares (neuronas y glía) y neuroquímicos, sexo-dependientes debidos al procedimiento de SM ya mencionado (López-Gallardo et al., 2008; Llorente et al., 2007, 2008, 2009, 2010), así como una desregulación sexo-dependiente del receptor cannabinoide CB<sub>1</sub> (Suárez et al., 2009). La adolescencia es otra fase crítica del desarrollo durante la cual el sistema nervioso muestra una plasticidad única. Durante este periodo, todavía tiene lugar la maduración y reorganización de la mayor parte de los sistemas de neurotransmisores, entre ellos el sistema endocannabinoide. En general, se producen importantes cambios en la estructura y funcionalidad de diversas áreas cerebrales importantes para la cognición, la emoción, la motivación y la reactividad al estrés como son la corteza prefrontal y diversas estructuras límbicas (para una revisión ver Spear, 2000; Ernst et al., 2009). Además, durante el periodo periadolescente parece existir una mayor vulnerabilidad a la aparición de ciertos desórdenes neuropsiquiátricos así como un aumento en la susceptibilidad al desarrollo de conductas adictivas. Se sabe que, en población predispuesta, la exposición temprana al cannabis puede aumentar el riesgo de desarrollar esquizofrenia, y, en pacientes psicóticos, la exposición a cannabis podría incrementar la gravedad de los síntomas psicóticos (Fernández-Espejo et al., 2009; Sewell et al., 2009). Nos planteamos una hipótesis de trabajo según la cual, la combinación de la SM con un tratamiento con un agonista cannabinoide en edad periadolescente podría proporcionar un modelo adecuado para el estudio de la teoría de los dos impactos (*two hit theory*). Así pues nuestro objetivo general consistió en analizar la posible interacción entre la SM (primer impacto) y la exposición adolescente a un agonista cannabinoide, CP 55,940 (segundo impacto), examinando los efectos a largo plazo de estos dos tratamientos a diferentes niveles de la fisiología y el comportamiento de los individuos sujetos de nuestro estudio. Esperábamos que la combinación de ambos desafíos en etapas críticas del desarrollo pudiera dar lugar a efectos que podrían ser suma o incluso potenciación de los efectos de cada uno de los dos impactos por separado. Como expusimos en la solicitud, en todos los experimentos se han considerado animales machos y hembras por separado dado que, de acuerdo con nuestra experiencia previa tanto con la separación materna (Viveros et al., 2009) como con los tratamientos de agonistas cannabinoides en periodo adolescente (Biscaia et al., 2003, 2008; Mateos et al., 2010) esperábamos obtener dimorfismos sexuales. Con el fin de poner a prueba nuestra hipótesis hemos estudiado una serie de parámetros que nos proporcionarían un cuadro diverso de posibles alteraciones psicofisiológicas, a saber:

- Inhibición prepulso (PPI) de la respuesta de sobresalto.
- Actividad locomotora y exploratoria en el tablero con agujeros
- Respuestas relacionadas con ansiedad en el laberinto en cruz elevado
- Función del eje hipotálamo-hipofisis-adrenal (HHA) en respuesta a situaciones de estrés
- Evolución del peso corporal y valoración de los niveles séricos de leptina en relación con el papel de esta hormona en el control del balance energético.

\*Además, realizamos un estudio inmunohistoquímico, atendiendo a los siguientes parámetros: receptores cannabinoides CB1, células positivas para la proteína fibrilar ácida de la glía (GFAP; del inglés Glial Fibrillary Acidic Protein) y expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF; del inglés Brain-Derived Neurotrophic Factor) en el hipocampo de los mismos animales

#### Resumen de resultados

Los presentes resultados muestran que ambos, la separación materna (SM) temprana y la exposición adolescente al agonista cannabinoide CP55940 (CP) causaron diversas modificaciones sexo-dependientes a largo plazo. Además, se observaron interacciones funcionales de ambos tratamientos sobre los niveles de GFAP, de receptores CB1 y de BDNF hipocampales. Este es el primer estudio que proporciona una medida sistemática del comportamiento materno tras este procedimiento específico de separación materna, y en concreto encontramos que la SM causó un aumento del comportamiento materno. A nivel conductual la SM causó en ratas macho un incremento significativo del tiempo pasado en las áreas abiertas del laberinto en cruz elevado (LCE). La SM en las presentes condiciones no produjo una alteración de la capacidad de inhibición prepulso de la respuesta de sobresalto (PPI) en ninguno de los sexos. Es posible que los efectos deletéreos de la SM sobre este parámetro hayan sido de alguna manera revertidos por la manipulación a la que los animales fueron sometidos para su pesado e inyección durante el periodo adolescente. El tratamiento adolescente con CP, sin embargo, sí que causó una disminución de la PPI, cuando la intensidad del prepulso fue de 80 dB, en hembras adultas, aunque no en machos. Igualmente en hembras, el tratamiento con CP produjo un aumento del comportamiento exploratorio (head-dipping) y una disminución de las conductas de ansiedad (aumento de la deambulación interna) en el test del tablero con agujeros (Holeboard, TCA). Respecto al eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal (HHA), el tratamiento adolescente con CP provocó un incremento de ACTH y corticosterona en respuesta a la prueba de la PPI en machos, mientras que no se vio ningún efecto del CP en la respuesta del eje HHA en las hembras. En resumen, en lo concerniente al estudio de comportamiento y respuesta al estrés, En machos, la SM parece reducir la ansiedad o incrementar el comportamiento de toma de riesgos mientras que la exposición adolescente a compuestos cannabinoides no tuvo unos importantes efectos conductuales pero sí causó un aumento de la respuesta del eje HHA a un estrés de nivel moderado. En hembras, la SM no produjo ningún efecto, pero la exposición adolescente a un compuesto cannabinoide puede haber promovido que muestren en la adultez conductas de búsqueda de la novedad y una disminución de las capacidades atencionales. La administración de CP durante la adolescencia disminuyó la ganancia de peso corporal durante el periodo del tratamiento tanto en machos como en hembras. La SM, por su parte, también causó una disminución a largo plazo del peso corporal. Posiblemente relacionado con esto último, las ratas SM adultas de ambos sexos mostraron una reducción de los niveles plasmáticos de leptina. En cuanto al efecto de nuestros tratamientos detectado en el análisis inmunohistoquímico, Los presentes resultados muestran que tanto la SM como la exposición adolescente a un compuesto cannabinoide causaron efectos sexo-dependientes y a largo plazo sobre los niveles de GFAP (marcador de astrocitos), de receptores cannabinoides CB1 y de factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) hipocampales. En cuanto al GFAP hipocampal, encontramos que las hembras control adultas presentaron un mayor número basal de células de glía GFAP + en la capa celular polimórfica del del giro dentado (GD) que los correspondientes machos. La SM causó en machos un incremento significativo del número de células GFAP + en las áreas CA1, CA3 y en la capa polimórfica del GD. En estas dos últimas regiones el tratamiento con CP tuvo una tendencia a contrarrestar los efectos de la SM. El tratamiento con un compuesto cannabinoide durante la adolescencia también causó, en machos control no-SM, un aumento significativo del número de células GFAP + en la capa polimórfica (GD). Estos resultados sugieren que los machos fueron más vulnerables que las hembras a los efectos de la SM y del tratamiento juvenil con el compuesto cannabinoide sobre los astrocitos hipocampales. Un importante hallazgo del presente estudio es la aparición de diferencias sexuales en la inmunorreactividad al receptor CB1 entre los animales control (tratados con vehículo y no-SM), mostrando las hembras una menor inmunorreactividad

al receptor CB1 en diversas áreas de la región hipocampal. La SM causó una disminución de la expresión de CB1 en machos y hembras adultos. A su vez, la exposición a un compuesto cannabinoide durante la adolescencia causó, en machos no-SM, una disminución general de la inmunorreactividad a CB1 en la edad adulta que fue más marcada en el CA1 y en la capa polimórfica del GD. En contraste, las hembras no-SM tratadas con CP mostraron una tendencia a incrementar la inmunorreactividad a CB1 en el hipocampo. Los animales macho que recibieron los dos tratamientos mostraron una cierta “normalización” de la expresión de CB1 en el hipocampo, indicativo de interacciones funcionales entre la SM neonatal y la exposición adolescente al compuesto cannabinoide. Con respecto al BDNF, también observamos una tendencia a interacción entre tratamientos. Así, la exposición adolescente a CP tendió a reducir la expresión de BDNF en CA1 y CA3 de hembras mientras que la SM contrarrestó la influencia del CP e incrementó el BDNF hipocampal. En conjunto, los resultados presentados en este primer capítulo sugieren que tanto experiencias estresantes durante la infancia como la exposición a cannabis durante la adolescencia pueden producir efectos a largo plazo sobre las conductas cognitivas y emocionales. Por otra parte, los datos inmunohistoquímicos aquí aportados apoyan la idea de que las células gliales, en particular los astrocitos, y los receptores CB1 constituyen dianas relevantes respecto a los efectos a largo plazo de ambos tipos de tratamientos.

## **Fase II**

### **EFFECTOS A LARGO PLAZO SEXO-DEPENDIENTES DE LA SEPARACIÓN MATERNA Y/O UN TRATAMIENTO JUVENIL CON COCAÍNA SOBRE RECEPTORES CANNABINOIDES CB1 CEREBRALES Y CB2 PERIFÉRICOS**

La cocaína es una de las drogas ilícitas más consumidas en Europa, y es normalmente consumida por adolescentes, y el sistema endocannabinoide está crucialmente implicado en procesos relacionados con la adicción. Se ha planteado como hipótesis que la exposición a situaciones estresantes durante los primeros años de vida contribuyen a la etiología de enfermedades psiquiátricas graves y recientemente se ha demostrado que un modelo animal de estrés en periodos tempranos del desarrollo, como es la separación materna (SM) durante 24 horas a día posnatal (dpn) 9, produce entre otras alteraciones neurales, conductuales, endocrinas y bioquímicas, un claro impacto en el sistema endocannabinoide. En el presente estudio hemos investigado los efectos a largo plazo de la administración adolescente de cocaína y/o la SM sobre los receptores CB1 (RCB1). Además, teniendo en cuenta la comorbilidad de las drogas de abuso con numerosas enfermedades infecciosas y el papel clave que juega el sistema endocannabinoide en la función inmune, se evaluaron también los RCB2 periféricos. Ratas Wistar, tanto machos como hembras, separadas de su madre durante 24 horas a dpn 9 fueron administradas con cocaína (8 mg/kg/día) durante 15 días durante la adolescencia (dpn 28-42) y se evaluaron la expresión y funcionalidad del RCB1 en el cerebro junto con la expresión del RCB2 en tejidos inmunes durante la etapa adulta (dpn 85). Se analizó la expresión del RCB1 usando técnicas de binding autorradiográfico con [3H]-CP55,940 en áreas concretas del cerebro mientras que la actividad del receptor se evaluó mediante técnicas de binding con [35S]-GTP $\gamma$ S estimulada con WIN55,212-2. Se observaron pequeños cambios en la expresión del RCB1 debido a la administración durante la adolescencia de cocaína y a la SM mientras que se detectaron unas marcadas y claras diferencias en relación a la actividad del RCB1 en las mismas regiones cerebrales analizadas. De forma notable, se evidenciaron interesantes diferencias sexuales. Cabe remarcar que la administración de cocaína produjo una disminución significativa de la expresión del RCB1 en el córtex prefrontal de machos junto a un incremento de la actividad del mismo receptor en el caudado-putamen y en el área tegmental ventral, efecto que no se observó ni en animales SM ni entre las hembras. La SM y el tratamiento con cocaína interactuaron significativamente en sus efectos sobre la expresión periférica del RCB2 medido por western blot. La administración de cocaína pareció contrarrestar el incremento de la expresión del RCB2 producido por la SM en bazo, y el mismo perfil se observó en médula ósea. El consumo de cocaína entre la población juvenil es un problema sanitario público de orden mundial con importantes complicaciones neuroinmunológicas cuyos efectos pueden depender de una exposición previa a eventos estresantes, particularmente en etapas tempranas del

desarrollo; la combinación de los dos modelos animales empleados en este estudio pueden contribuir a aclarar la participación del sistema endocannabinoide.

### Fase III

#### **LA SEPARACIÓN MATERNA EN RATAS NEONATALES AFECTA AL CONDICIONAMIENTO DE PREFERENCIA DE LUGAR INDUCIDO POR MDMA DE FORMA DEPENDIENTE DEL SEXO. POSIBLES CORRELATOS NEUROQUÍMICOS.**

Dado que la separación materna [24 horas a día postnatal (PND) 9, SM] en ratas induce modificaciones en los sistemas endocannabinoide y serotoninérgico y que ambos son afectados por la MDMA, propusimos como hipótesis que la SM podría modular los efectos de esta droga. Analizamos los efectos de la SM sobre el condicionamiento de preferencia de lugar (CPL) inducido por 2.5 mg/kg de MDMA en ratas adolescentes, utilizando un procedimiento no sesgado con tres fases: Pre-C (PND34), condicionamiento en días alternos con MDMA (PND 35, 37, 39 y 41) y salino (PND 36, 38, 40 y 42) y Post-C (PND 43). También se evaluó la actividad exploratoria en un campo abierto (CA) (PND 60). Los animales fueron sacrificados a PND 68-75 y se analizaron los siguientes parámetros: 1. niveles de DA, 5-HT, DOPAC, HVA y 5-HIAA en estriado, y de 5-HT y 5-HIAA en hipocampo y córtex (HPLC) 2. expresión de receptores CB1 en hipocampo (Western-Blot) y 3. niveles plasmáticos de corticosterona (RIA) y leptina (ELISA). Sólo los machos controles mostraron CPL tras la administración de MDMA, mientras que la droga no indujo CPL ni en los machos sometidos a SM ni en ningún grupo de hembras. Los machos SM mostraron un incremento en la expresión de receptores hipocampales CB1 y una reducción de 5-HT en estriado e hipocampo. Se observaron diferencias sexuales a nivel comportamental, neuroquímico y endocrino, independientes de la SM: los machos pasaron más tiempo en la periferia e hicieron menos *rearing* en el CA, presentaron niveles superiores de 5-HIAA en córtex y mayor concentración de leptina y menor concentración de corticosterona en plasma. Los principales resultados de este estudio indican que la SM puede alterar los efectos reforzantes de la MDMA, especialmente en machos, y sugieren una correlación con las modificaciones del sistema serotoninérgico encontradas en estos mismos animales.

#### **EFFECTOS A LARGO PLAZO DEL THC Y LA MDMA EN UN MODELO EN RATA DE CONSUMO ADOLESCENTE DE DROGAS**

El éxtasis es un droga recreacional ampliamente utilizada y que se consume junto al cannabis. A pesar de que estas drogas ilícitas son empleadas frecuentemente por adolescentes, muy pocos estudios animales han analizado su interacción durante la adolescencia. Se investigaron las consecuencias fisiológicas y conductuales de la administración en ratas Wistar, tanto machos como hembras, durante el periodo adolescente de cannabis (empleando su principal componente psicoactivo, el delta-9-tetrahidrocannabinol, THC) y de éxtasis (3,4-metilenedioximetanfetamina, MDMA).

Los animales recibieron dosis crecientes de THC (2.5, 5 y 10 mg/kg i.p.) durante la adolescencia (días postnatales, dpn 28 a 45) junto con 2 dosis diarias de MDMA (10 mg/kg, s.c.) cada 5 días desde el dpn 30. Se seleccionó este programa de administración de drogas para mimetizar el patrón de consumo en humanos: THC crónico desde la adolescencia temprana seguido de un consumo de "fin de semana" de MDMA. Los animales realizaron las pruebas del tablero con agujeros (HB, del inglés holeboard) y del laberinto en cruz elevado (EPM, del inglés elevated plus maze) un día después de haber terminado el tratamiento farmacológico (dpn 46), mientras que la prueba de reconocimiento de objetos (NOT, del inglés novel object test) y la prueba de inhibición prepulso en respuesta al sobresalto (PPI, del inglés prepulse inhibition) se realizaron durante la etapa adulta (dpn 89-92). Además se evaluó por western blot la fosforilación de la quinasa regulada por señales extracelulares (pERK) en el córtex prefrontal (CPF) mientras que los niveles circulantes de corticosterona (CORT) y leptina fueron evaluados por RIA y por ELISA respectivamente.

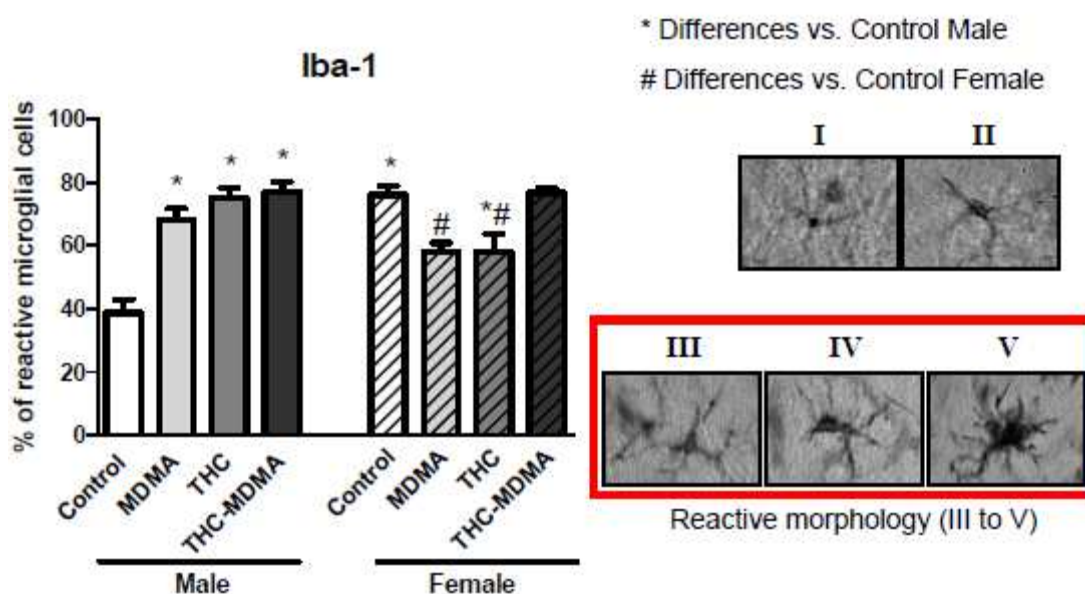
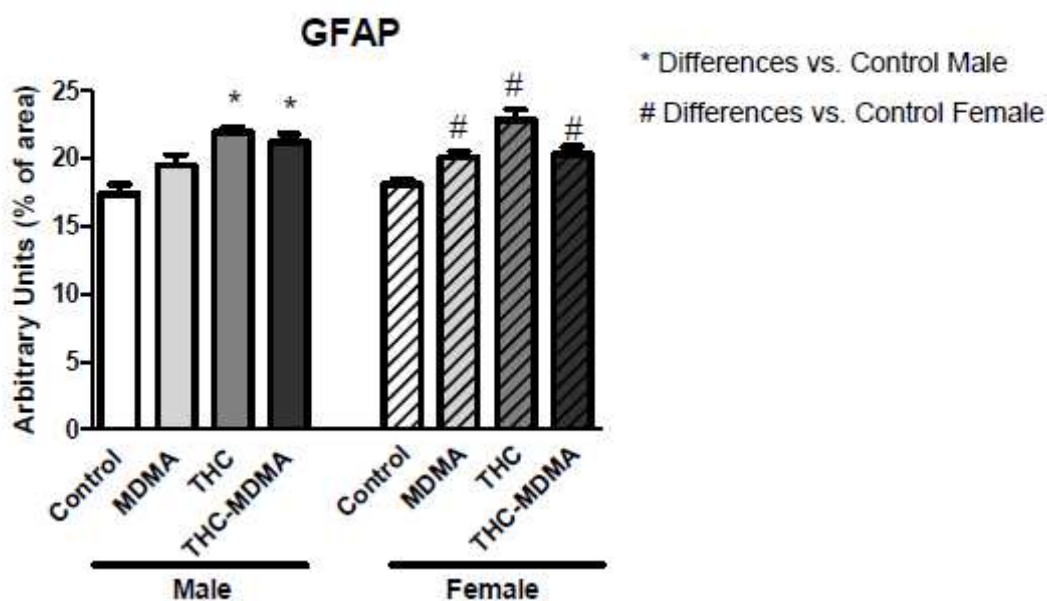
**Este manuscrito está en fase de elaboración por eso no se incluye en las separatas:**

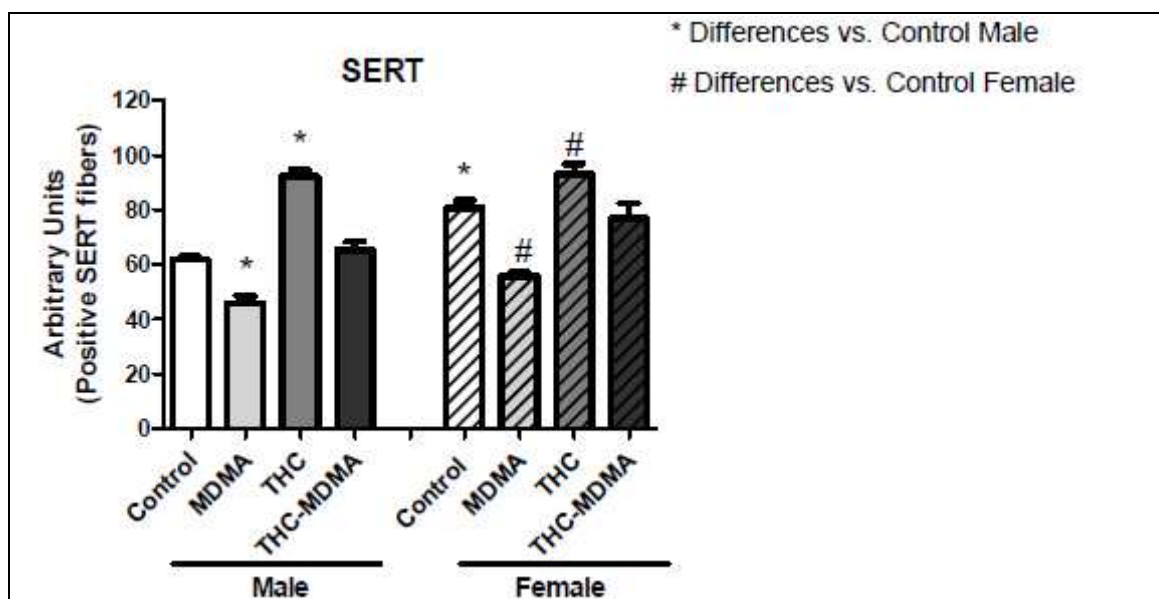
Los resultados muestran que la exposición durante la adolescencia a un tratamiento crónico con THC y/o a un modelo animal de consumo de MDMA de fin de semana produce diversas modificaciones psicofisiológicas a largo plazo en ratas de ambos sexos. Tal como esperábamos, el tratamiento con MDMA causó, en ambos sexos, un incremento significativo de la temperatura corporal tras su administración, y, además, no se observó tolerancia a dicho efecto hiperpirético. El tratamiento crónico con THC que empleamos no alteró el incremento de temperatura corporal inducido por la MDMA. Un día después del final del tratamiento farmacológico, la administración de MDMA produjo una disminución del comportamiento exploratorio en el tablero con agujeros junto con un aumento significativo del tiempo en brazos abiertos en el laberinto en cruz elevado. Asimismo, merece la pena destacar que los animales tratados con MDMA mostraron un índice de caídas del laberinto en cruz superior a las ratas tratadas con salino por lo que nos inclinamos a pensar que nuestro modelo de consumo de MDMA de fin de semana produce un incremento del comportamiento de toma de riesgos, probablemente como consecuencia de impulsividad. El tratamiento durante la adolescencia con THC causó en animales adultos de ambos sexos una disminución del tiempo de exploración del interior del campo abierto, indicativo de un aumento de emocionalidad/ansiedad. La MDMA produjo un efecto similar que sólo fue evidente entre los animales tratados con vehículo. En el test del reconocimiento de objetos (memoria de trabajo) se observó una grave alteración de la función cognitiva debido al tratamiento adolescente con THC en las hembras, pero no en los machos. La exposición a MDMA causó una disminución de la conducta de exploración de los objetos en este test así como una disminución de la inhibición prepulso de la respuesta de sobresalto (PPI; del inglés prepulse inhibition) a la mayor intensidad prepulso estudiada (80 dB) y la combinación con el tratamiento con THC produjo una disminución del porcentaje de PPI también a 75 dB. En los tests conductuales realizados sobre los animales adultos observamos una gran variedad de dimorfismos sexuales en los animales controles de manera que los machos exhibieron unos mayores niveles de PPI e índice de discriminación y una menor actividad locomotora que las hembras. Como era de esperar, la ganancia de peso corporal fue mayor en machos que en hembras. Durante el tratamiento farmacológico, tanto el THC como la MDMA causaron per se una reducción de la ganancia del peso corporal en ratas adolescentes de ambos sexos, aunque no se vio un efecto aditivo de ambos tratamientos. A largo plazo (hasta 25 días después del final del tratamiento), sólo los machos tratados con THC mostraron una disminución significativa de la ganancia de peso corporal, mientras que no se observaron diferencias en las hembras ni en los animales de ambos sexo previamente expuestos a la MDMA. Posiblemente relacionado con esto último, las ratas macho tratadas con THC mostraron a largo plazo una disminución de los niveles hipotalámicos de ARNm para la prepro-orexina, proteína precursora de la hormona orexina, entre cuyas principales acciones se encuentra la del control hipotalámico de la ingesta de alimentos. El tratamiento adolescente con THC produjo una disminución significativa de la expresión de la proteína asociada al citoesqueleto regulada por actividad (Arc; del inglés activity-regulated cytoskeleton-associated protein) en el córtex prefrontal de hembras adultas, no en machos, mientras que en el hipocampo esta reducción fue independiente del sexo. La MDMA causó una reducción de la inmunoreactividad de Arc exclusivamente en el hipocampo de hembras tratadas con THC. En cuanto a la fosfo-quinasa regulada por señal extracelular (pERK, del inglés extracellular signal-regulated kinases) el tratamiento durante la adolescencia con MDMA causó una disminución significativa de su inmunoreactividad en el córtex prefrontal de machos adultos. Ninguno de los dos tratamientos alteró a largo plazo la expresión de pERK en el hipocampo de machos o en la corteza prefrontal y el hipocampo de hembras. A nivel hormonal, el tratamiento con THC produjo a corto plazo una disminución de los niveles circulantes de leptina en hembras, pero no en machos. Asimismo, aunque a día postnatal (DP) 50 no encontramos ningún dimorfismo sexual, en el presente estudio, al igual que en estudios previos de nuestro grupo, encontramos una diferencia sexual en los niveles plasmáticos de leptina en animales adultos, exhibiendo los machos unos mayores niveles circulantes que las hembras. Respecto a los niveles plasmáticos de corticosterona, tanto en jóvenes adultos como durante la etapa adulta observamos que las hembras exhibían una mayor concentración de esta hormona que los machos. El tratamiento

adolescente con THC no afectó a los niveles basales de corticosterona, sin embargo, nuestro modelo de consumo de fin de semana de MDMA produjo una disminución de la corticosterona circulante en machos a largo plazo. En su conjunto, los presentes resultados muestran los efectos conductuales y neuroendocrinos a largo plazo y sexo-dependientes de la exposición adolescente a THC y MDMA y destacan el impacto deletéreo de su consumo combinado durante la adolescencia.

### **ANÁLISIS NEUROQUÍMICO E INMUNOHISTOQUÍMICO REALIZADO HASTA EL MOMENTO EN LOS CEREBROS DE LOS MISMOS ANIMALES.**

**Con objeto de no alargar demasiado el texto de este informe, se incluyen debajo las gráficas de los parámetros analizados hasta el momento: Efectos sobre astrocitos, microglía reactiva y transportador de serotonina**





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

**EN TODAS LAS PUBLICACIONES QUE SE INDICAN A CONTINUACIÓN CONSTA AGRADECIMIENTO A ESTE PROYECTO FINANCIADO POR EL PLAN NACIONAL SOBRE DROGAS**

#### Artículos

-Llorente-Berzal A, Fuentes S, Gagliano H, López-Gallardo M, Armario A, Viveros MP, Nadal R. Sex-dependent effects of maternal deprivation and adolescent cannabinoid treatment on adult rat behaviour. *Addict Biol.* 2011 Oct;16(4):624-37.

-López-Gallardo M, López-Rodríguez AB, Llorente-Berzal Á, Rotllant D, Mackie K, Armario A, Nadal R, Viveros MP. Maternal deprivation and adolescent cannabinoid exposure impact hippocampal astrocytes, CB1 receptors and brain-derived neurotrophic factor in a sexually dimorphic fashion. *Neuroscience.* 2012 Mar 1;204:90-103.

-Llorente-Berzal A, Manzanedo C, Daza-Losada M, Valero M, López-Gallardo M, Aguilar MA, Rodríguez-Arias M, Miñarro J, Viveros MP. Sex-dependent effects of early maternal deprivation on MDMA-induced conditioned place preference in adolescent rats: possible neurochemical correlates. *Toxicology.* 2012 Dec 13. doi:pii: S0300-483X(12)00422-2. 10.1016/j.tox.2012.12.003. [Epub ahead of print]

- Llorente-Berzal A, Assis MA, Rubino T, Zamberlett E, Marco EM, Parolaro D, Ambrosio E, Viveros MP. Long-term changes in cannabinoid receptors due to early life stress and adolescent cocaine exposure in male and female rats. *Pharmacological Research* (enviado y en fase de revision)

*En preparación:*

-A. Llorente-Berzal, E. Puighermanal, A. Burokas, A. Ozaita, R. Maldonado, E.M. Marco, M.P. Viveros Adolescent exposure to THC and/or MDMA induces long term sex-dependent psychophysiological and molecular effects in rats. *Revista prevista: European Neuropsychopharmacology*

- Long-term impact of chronic treatments with THC and/or MDMA in young rats on brain serotonergic and cannabinoid systems and glial cells. A.B. López Rodríguez, A. Llorente-



Berzal, U Gómez, Luis Miguel García Segura, Maria-Paz Viveros. Revista prevista: British Journal of Pharmacology

### Revisiones

-Bermudez-Silva FJ, Viveros MP, McPartland JM, Rodriguez de Fonseca F. The endocannabinoid system, eating behavior and energy homeostasis: the end or a new beginning? Pharmacol Biochem Behav. 2010 Jun;95(4):375-82.

- Viveros MP, Marco EM, López-Gallardo M, Garcia-Segura LM, Wagner EJ. Framework for sex differences in adolescent neurobiology: a focus on cannabinoids. Neurosci Biobehav Rev. 2011 Aug;35(8):1740-51.

- Viveros MP, Francisco-Javier Bermúdez-Silva, Ana-Belén Lopez-Rodriguez and Edward J. Wagner. The Endocannabinoid System as Pharmacological Target Derived from Its CNS Role in Energy Homeostasis and Reward. Applications in Eating Disorders and Addiction. Incluido en el Special Issue "Drug Abuse Targets" , A special issue of Pharmaceuticals (ISSN 1424-8247). Editor: Dr. Juan J. Canales Pharmaceuticals 2011, 4(8), 1101-1136;

-Marco EM, García-Gutiérrez M, Bermúdez-Silva F, Moreira F, Guimarães F, Manzanares J and Viveros M (2011). Endocannabinoid system and psychiatry: in search of a neurobiological basis for detrimental and potential therapeutic effects. Front. Behav. Neurosci. 5:63. doi: 10.3389/fnbeh.2011.00063

-Marco EM, Romero-Zerbo SY, Viveros MP, Bermudez-Silva FJ. The role of the endocannabinoid system in eating disorders: pharmacological implications. Behav Pharmacol. 2012 Sep;23(5-6):526-36

- Viveros MP, Llorente R, Suarez J, Llorente-Berzal A, López-Gallardo M, de Fonseca FR. The endocannabinoid system in critical neurodevelopmental periods: sex differences and neuropsychiatric implications. J Psychopharmacol. 2012 Jan;26(1):164-76.

Viveros MP, Mendrek A, Paus T, López-Rodríguez AB, Marco EM, Yehuda R, Cohen H, Lehrner A, Wagner EJ. A comparative, developmental, and clinical perspective of neurobehavioral sexual dimorphisms. Front Neurosci. 2012;6:84.

### Editorial

Finn DP, Viveros MP, Marco EM. The endocannabinoid system and emotional processing: pathophysiology and therapeutic potential. J Psychopharmacol. 2012 Jan;26(1):3-6. doi: 10.1177/0269881111428526.

### Editor Invitado:

-Journal of Psychopharmacology Special Issue entitled "The endocannabinoid system and emotional processing: pathophysiology and therapeutic potential". Guest Editors: David Finn, Maria-Paz Viveros and Eva M Marco

*Otros artículos que de alguna manera, especialmente gracias a la financiación para personal, se han beneficiado de este Proyecto y en los que también consta el agradecimiento al Plan Nacional sobre drogas*

-López Rodríguez AB, Mateos Vicente B, Romero-Zerbo SY, Rodriguez-Rodriguez N, Bellini MJ, Rodriguez de Fonseca F, Bermudez-Silva FJ, Azcoitia I, Garcia-Segura LM, Viveros MP. Estradiol decreases cortical reactive astrogliosis after brain injury by a mechanism involving cannabinoid receptors. Cereb Cortex. 2011

Sep;21(9):2046-55.

-Mateos B, Borcel E, Loriga R, Luesu W, Bini V, Llorente R, Castelli MP, Viveros MP. Adolescent exposure to nicotine and/or the cannabinoid agonist CP 55,940 induces gender-dependent long-lasting memory impairments and changes in brain nicotinic and CB(1) cannabinoid receptors. *J Psychopharmacol.* 2011, Dec;25(12):1676-90.

**Comunicaciones a Congresos EN TODOS LOS ABSTRACTS Y RESÚMENES QUE SE INDICAN A CONTINUACIÓN CONSTA AGRADECIMIENTO A ESTE PROYECTO FINANCIADO POR EL PLAN NACIONAL SOBRE DROGAS**

-Maternal deprivation effects on MDMA induced conditioned place preference in adolescent rats and sex- dependent changes in hippocampal CB1 receptor. Llorente-Berzal A, C Manzanedo, J. Miñarro, M.P. Viveros. 11ª Reunión Anual de la Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides. Pontevedra, 25-27 de noviembre de 2010. Oral. Libro de Abstracts. Página 45, O-3.4

-Maternal deprivation and adolescent cannabinoid exposure induce long-term sex-dependent effects on hippocampal astrocytes and CB1 cannabinoid receptors López-Gallardo M, Alvaro Llorente-Berzal, Ana Belén López Rodríguez, David Rotllant, Ken Mackie, Antonio Armario, Roser Nadal, Maria-Paz Viveros.. Reunión de la Red Glial Española, Málaga, 16 y 17 de Diciembre de 2010. Oral. Libro de Resúmenes página 25

- Efectos a largo plazo de la administración de cocaína durante la edad adolescente sobre receptores cannabinoides CB1 y CB2 en un modelo animal de separación materna temprana. Dimorfismos sexuales. A. Llorente-Berzal, A. Assis, T. Rubino, E. Zamberletti, E. M. Marco, D. Parolaro, E. Ambrosio and M. P. Viveros. XX Reunión de Farmacólogos de la Comunidad de Madrid. UNED, Cuatro de julio de 2011. Oral.. Publicado en FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA, 2011, Vol. 1 No. 1:2, doi: 10:3823/601

-Emotional and cognitive consequences of repeated cannabis administration and intermittent MDMA (“ecstasy”) exposure in adolescent male and female rats. Llorente-Berzal A, Llorente R, Viveros MP & Marco EM. 8th IBRO World Congress of Neuroscience - Florence, July 14/18, 2011. Poster Libro de abstracts (CD) A350.

-Sex-dependent long term effects of maternal deprivation and/or juvenile cocaine exposure on brain CB1 and peripheral CB2 cannabinoid receptors. A. Llorente-Berzal, A. Assis, T. Rubino, E. Zamberletti, E. M. Marco, D. Parolaro, E. Ambrosio and M. P. Viveros Poster. IDARS/ISN Satellite Meeting, ISTANBUL, Turkey August 23-26, 2011. Libro de abstracts 77, pag. 104.

-Long-lasting effects of THC and MDMA in a rat model of adolescent drug consumption. E.M. Marco, A. Llorente-Berzal, R. Llorente, E. Puighermanal, A. Burokas, A. Ozaita, R. Maldonado, M.P. Viveros. II Reunion conjunta red de trastornos adictivos (RTA)-sociedad española de neurociencia(SENC)-CIBERSAM en Asociación con el Congreso de la Sociedad Española de Neurociencia. Salamanca, 27-28 de septiembre de 2011. Oral. Libro de abstracts O12, pag. 23

-Expresion de CB2 en celulas inmunes en modelos de patologia dual. MA Assis, A Llorente, A Higuera-Matas, SM Coria, GL Montoya, M Miguéns, MP Viveros y E Ambrosio II Reunion conjunta red de trastornos adictivos (RTA)-sociedad española de neurociencia (SENC)-CIBERSAM en Asociación con el Congreso de la Sociedad Española de Neurociencia. Salamanca, 27-28 de septiembre de 2011. Oral Libro de abstracts O14, pag. 25.

- La separación materna en ratas neonatales afecta al condicionamiento de preferencia de lugar inducido por MDMA de forma dependiente del sexo. Posibles correlatos neuroquímicos. Manzanedo C, Llorente-Berzal A, Mérida A, Daza-Losada M, Aguilar MA, Rodríguez-Arias M, Viveros MP y Miñarro J. II Reunion conjunta red de trastornos adictivos (RTA)-sociedad española de neurociencia(SENC)-CIBERSAM en Asociación con el Congreso de la Sociedad Española de Neurociencia. Salamanca, 27-28 de septiembre de 2011. Poster Libro de abstracts P20, pag.63.

- Enduring behavioural and neuroendocrine effects of THC and MDMA in adolescent rats of both sexes. E.M. Marco, A., Llorente-Berzal, R. Llorente, E. Puighermanal, A. Burokas, A. Ozaita, R. Maldonado, M.P. Viveros Congreso Nacional de la Sociedad Española de Neurociencia (SENC). Del 28/09/2011 al 30/09/2011. Salamanca, Spain. Poster Libro de abstracts P92, pag. 85

-Sexually dimorphic effects of maternal deprivation and/or juvenile cannabinoid exposure on adult rats: a behavioural, endocrine and immunohistochemical study. A. Llorente-Berzal, M. López-Gallardo, A.B. López-Rodríguez, D. Rotllant, K. Mackie, A. Armario, R. Nadal, M.P. Viveros. 12 Congreso de la SEIC (Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides). Comunicación en forma de póster. Pamplona (España). 24-26 Noviembre 2011. Libro de Resúmenes página 71 Poster 11.

- Sex dependent behavioral and molecular effects of THC and MDMA in an animal model of adolescent drug consumption. A. Llorente-Berzal, E. Puighermanal, A. Burokas, A. Ozaita, R. Maldonado, E.M. Marco, M.P. Viveros 22nd Annual ICRS (International Cannabinoid Research Society) Symposium. Comunicación en forma de póster. Freiburg im Breisgau (Alemania). 22-27 Julio 2012. P2-21

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

Debido al alto coste de las técnicas de neuroimagen (PET), no hemos podido incluirlas en el proyecto, sin embargo, hemos añadido a los objetivos previstos (cumplidos como se refleja en este informe) un profundo y extenso trabajo, pionero en diversos aspectos, sobre impacto a largo plazo de tratamientos combinados con THC y MDMA crónicos en ratas adolescentes de ambos sexos del que se derivan dos publicaciones en proceso de elaboración además de diversas comunicaciones a Congresos

### **OBJETIVOS PLANTEADOS :**(Transcribir los del proyecto original)

Proponemos un modelo animal basado en la teoría de los dos impactos (*two hits*), para el estudio de las relaciones entre consumo de drogas en etapa juvenil y desórdenes neuropsiquiátricos, en individuos vulnerables. Según nuestra hipótesis la privación materna temprana, que es un modelo animal de al menos ciertos síntomas psicóticos, representa un factor ambiental de vulnerabilidad que actúa sobre una base genética (cepa Wistar). Sobre estos individuos vulnerables, esperamos que los tratamientos con cannabinoides, cocaína o MDMA induzcan efectos más marcados que en sujetos no vulnerables (no sometidos a privación materna) sobre diversos parámetros psiconeuroendocrinos. Nuestro objetivo general es, para poner a prueba esta hipótesis, analizar la posible interacción entre un estrés de privación materna temprana, (primer factor de impacto que hace al individuo más vulnerable), y la administración crónica de un agonista cannabinoide, cocaína o MDMA en etapa juvenil (segundo factor de impacto). Como objetivos específicos nos proponemos:

1) Comprobar si la administración de cannabis, cocaína o MDMA y la privación materna se potencian en lo que se refiere a efectos sobre la inhibición prepulso en la respuesta de sobresalto (que se ve afectada en pacientes esquizofrénicos) así como sobre diversos parámetros comportamentales relacionados son ansiedad y depresión, y, en el caso de la cocaína,

fenómenos de sensibilización. Las tres drogas analizadas y la privación materna modifican el peso corporal, por lo que así mismo analizaremos los efectos sobre ingesta, peso de los animales y diversos parámetros metabólicos

2) Evaluar hasta qué punto el estrés neonatal de separación de la madre podría afectar la proclividad al consumo de estas drogas. Para este fin utilizaremos el modelo de preferencia de plaza condicionada que representa un abordaje válido para valorar los efectos reforzantes de diferentes tipos de drogas de abuso.

3) Comprobar si la administración de nuestras drogas de estudio y la privación materna se potencian en lo que se refiere a efectos sobre neuronas y glía (esperamos efectos neurotóxicos-neurodegenerativos) y sobre receptores CB1 cannabinoides, en áreas del cerebro que se sabe que están afectadas en esquizofrenia y también por la acción de las drogas. Queremos resaltar aquí que el estudio de las células de glía, cuyas implicaciones funcionales y patológicas, han empezado a comprenderse hace pocos años, es uno de los aspectos originales de este estudio. Como complemento, se evaluarán posibles cambios en función/metabolismo cerebral mediante técnicas de neuroimagen (PET)

4) Tanto en relación con desórdenes neuropsiquiátricos como en lo que respecta al abuso de drogas, se observan con mucha frecuencia diferencias sexuales. Sin embargo la atención que reciben estas diferencias tanto en estudios en humanos como en estudios experimentales es todavía insuficiente. Nuestro grupo de investigación se ha caracterizado desde hace muchos años por hacer un especial hincapié en los dimorfismos sexuales y su base neurobiológica. En este proyecto, pretendemos evaluar el efecto del sexo en todos nuestros experimentos.

Temporización prevista en la solicitud:

Fase I –

Meses 1-9: Experimentos in vivo correspondientes a tratamientos de privación materna y administración en edad juvenil con el agonista cannabinoide.

Meses: 10-15: Estudios bioquímicos e inmunohistoquímicos correspondientes a fase I

Fase II-

Meses 12-20: Experimentos in vivo correspondientes a tratamientos de privación materna y administración en edad juvenil con cocaína

Meses 21-26: Estudios bioquímicos e inmunohistoquímicos correspondientes a fase II

Fase III

Meses 23-31: Experimentos in vivo correspondientes a tratamientos de privación materna y administración en edad juvenil con MDMA

Meses 32-36: Estudios bioquímicos e inmunohistoquímicos correspondientes a fase III

**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)

- **Fase I**

Meses 1-9: Experimentos in vivo correspondientes a tratamientos de privación materna y administración en edad juvenil con el agonista cannabinoide.

Meses: 10-15: Estudios bioquímicos e inmunohistoquímicos correspondientes a fase I

*Ver arriba resumen de resultados. Estos estudios han dado lugar a dos artículos originales y varias comunicaciones a congresos y (ver arriba). Colaboración con el grupo de Antonio Armario y Roser Nadal, ambos miembros de la Red de Trastornos adictivos*

**Fase II**

-Meses 12-20: Experimentos in vivo correspondientes a tratamientos de privación materna y administración en edad juvenil con cocaína

Meses 21-26: Estudios bioquímicos e inmunohistoquímicos correspondientes a fase II

Se han realizado los experimentos consistentes en el estudio de los efectos a largo plazo sexo-dependientes de la separación materna y/o un tratamiento juvenil con cocaína sobre receptores CB1 cerebrales y CB2 periféricos *Ver arriba resumen de resultados Estos estudios han dado lugar a un artículo original y varias comunicaciones a congresos y (ver arriba). Colaboración con el grupo de Emilio Ambrosio, miembro de la Red de Trastornos adictivos*

**Fase III**

Meses 23-31: Experimentos in vivo correspondientes a tratamientos de privación materna y administración en edad juvenil con MDMA

Meses 32-36: Estudios bioquímicos e inmunohistoquímicos correspondientes a fase III

**En colaboración con el Dr D José Miñarro y su equipo**, hemos demostrado que la separación materna modula la preferencia de lugar condicionada a MDMA en edad juvenil, de una manera sexo-dependiente y hemos realizado en el mismo estudio el análisis de parámetros neuroquímicos y endocrinos que, a nuestro juicio, pueden al menos en parte considerarse como sustratos neurobiológicos de los efectos comportamentales observados

*Ver arriba resumen de resultados. Estos estudios han dado lugar a un artículo original y a varias comunicaciones a congresos (ver arriba)*

**-Hemos realizado además, en colaboración con el Dr D Rafael Maldonado y su equipo**, un estudio sobre efectos a largo plazo del THC y la MDMA en un modelo en rata de consumo adolescente de drogas. *Ver arriba resumen de resultados y comunicaciones a congresos resultantes hasta el momento). Estos estudios han dado lugar a un manuscrito que esta fase avanzada de elaboración, así como a diversas comunicaciones a Congresos (ver arriba)*

-Como complemento a este artículo, estamos terminando un análisis neuroquímico e inmunohistoquímico en los cerebros de los mismos animales, *que será objeto de otra publicación (para un número especial que se publicará coincidiendo con la celebración del 6th European Workshop on Cannabinoid Research, 18 April 2013 - 20 April 2013 , Dublín, en el que la Dra Viveros es conferenciante. ver arriba resumen de resultados*

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

Los resultados de este proyecto se enmarcan dentro de una línea de Investigación básica que pretende aportar datos relevantes en relación a los sustratos neurobiológicos que subyacen a la comorbilidad psiquiátrica en pacientes drogodependientes con especial atención a la sintomatología de tipo psicótico y depresivo y su asociación al consumo de cannabis y estimulantes en sujetos adolescentes. De forma resumida, los datos obtenidos aportan información original y relevante sobre mecanismos neurobiológicos relacionados con los siguientes aspectos fundamentales: Cómo experiencias estresantes en períodos críticos de la vida temprana pueden modular los efectos de drogas de abuso como el cannabis, la cocaína y el éxtasis; los efectos negativos a largo plazo del consumo combinado de éxtasis y cannabis, la importancia del factor “sexo” o “género” en cuanto a la naturaleza e intensidad de los efectos de los tratamientos probados a lo largo de los diferentes experimentos. Por ejemplo, nuestros resultados indican que el género y los retos a los que un individuo se haya tenido que enfrentar durante etapas tempranas de la vida son factores que pueden modificar el grado en el que la MDMA produce efectos gratificantes y dependencia, y deberían ser tenidos en consideración al tratar individuos que hayan desarrollado algún trastorno relacionado con la MDMA. Así mismo tanto las experiencias estresantes durante la vida temprana como el factor sexo pueden modular

los efectos psicofisiológicos de las drogas analizadas, lo que debe tenerse en cuenta a la hora de plantear estrategias terapéuticas y de rehabilitación. Somos conscientes de las limitaciones de extrapolación que plantean los estudios experimentales con animales, y también de que los modelos que hemos utilizado intentan “modelizar” no tanto de entidades psicopatológicas propiamente dichas como de síntomas específicos, y en esto sí pueden ayudar los modelos propuestos. Más aún, los modelos animales permiten el control de una serie de variables que son prácticamente inabordables cuando se trata de poblaciones humanas así como aproximaciones experimentales que no son posibles en seres humanos. Nuestro estudio pluridisciplinar ha proporcionado importantes datos no sólo a nivel conductual sino también endocrino y molecular, y los análisis inmunohistoquímicos han revelado, por ejemplo, cómo las células gliales son dianas muy importantes en cuanto al impacto de las drogas de abuso que han sido objeto de nuestro análisis. Este impacto a largo plazo de la exposición a drogas en el período crítico adolescente sobre un tipo de células cuya interacción con las neuronas es imprescindible para el buen funcionamiento del cerebro, ayuda a comprender el efecto devastador de drogas como el cannabis, el éxtasis o la cocaína sobre el cerebro.

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

**OTRAS SUBVENCIONES O AYUDAS RECIBIDAS PARA ESTE PROYECTO:**  
origen, cantidad, en qué se aplica

**NINGUNA**

**OTRAS CONSIDERACIONES QUE SE DESEE HACER CONSTAR**

-Parte de los resultados obtenidos en este proyecto se han presentado para la obtención del **DEA (Diploma de estudios avanzados)** por D Alvaro Llorente-Berzal que forma parte del equipo investigador:

\* **Alvaro Llorente Berzal**

Título: **Efectos sexo-dimórficos de la deprivación materna y un tratamiento cannabinoide durante la adolescencia sobre el comportamiento de ratas adultas**

Organismo: Depto. de Fisiología (Fisiología Animal II), Facultad de CC. Biológicas, U.C.M.

**Directora: M<sup>a</sup> Paz Viveros Hernando**

Calificación: APTO, siendo las 2 únicas posibilidades apto-no apto

Fecha: 30 de Septiembre de 2010

Programa de Doctorado: Comportamiento animal y humano. Una perspectiva ecológica. Con mención de calidad referencia MCD2006-00016. Regulado por el RD 778/1998

-El grueso de los resultados de este proyecto formarán parte de la **Tesis Doctoral de Alvaro Llorente Berzal**, que actualmente está en su fase final, habiéndose ya comenzado su redacción

\* **Título: Modelos animales para el estudio de factores de vulnerabilidad en el contexto de desórdenes neuropsiquiátricos y de adicción a drogas**

**Autor: Álvaro Llorente Berzal, Becario FPU**

Organismos: Depto. de Fisiología (Fisiología Animal II), Facultad de CC. Biológicas, U.C.M, Madrid

Directoras: M<sup>a</sup> Paz Viveros Hernando y Eva Maria Marco  
 Programa de Doctorado: Comportamiento animal y humano. Una perspectiva ecológica. Con mención de calidad referencia MCD2006-00016. Regulado por el RD 778/1998

**Ponencias recientes (ultimos 3 años) por invitación en las que se han discutido datos relativos a la temática de este proyecto**

- "Sistemas endocannabinoide y períodos críticos del desarrollo: implicaciones fisiológicas y psicofisiopatológicas", 5 de febrero de 2010 en en Instituto Cajal. Seminario organizado por el Dr. L.Miguel García Segura.

- "Stress, emotionality and the endocannabinoid system" 11/02/2010. Centre for Pain Research, Pharmacology & Therapeutics, School of Medicine, National University of Ireland, Galway, Ireland. Invitada por el Dr David Finn

- ¿Por qué el genero importa? Lo que nos enseñan los modelos animales. SEMINARIOS DE FISILOGÍA Y FARMACOLOGIA 2010, 18 de Febrero 2010. Departamento de Fisiología y Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Complutense

- "Neurobiología del consumo de cannabis en la adolescencia". Ponencia dentro de la mesa Actualización sobre la relación entre el cannabis y las enfermedades psiquiátricas (22 de abril de 2010), XXXVII JORNADAS NACIONALES DE SOCIDROGALCOHOL, Auditorio Palacio de Congresos Príncipe Felipe, Oviedo, 22-24 de abril de 2010.

- "El sistema endocannabinoide, guardián de la homeostasis; problemas por exceso o déficit" Profesora invitada en XI CURSO NACIONAL DE NEUROCIENCIA, Hotel Alcázar de la Reina, Carmona, Sevilla, España, 21 al 25 de Junio de 2010. Organizadores José M. Delgado García, Univ. Pablo de Olavide, Sevilla y Alberto Ferrús, Instituto Cajal, C.S.I.C., Madrid

- "Modelos Animales en Neurociencia", dentro del Curso: "Responsable del diseño y dirección de procedimientos con animales: Modulo actualización para Cat. B", 28 junio - 8 julio 2010 - UAH - UAM – UCM. Ponencia impartida el 30 de Junio de 2010

- "Sex differences affecting the endocannabinoid system and its interactions with early life stress and other drugs of abuse" within the Session topic "Cannabis addiction and dependence: to be or not to be?" , 23rd European College of Neuropsychopharmacology Congress (ECNP). 1 September 2010. Chairperson during the 23rd European College of Neuropsychopharmacology (ECNP) Congress. Session topic "Cannabis addiction and dependence: to be or not to be?" , 1 September 2010.

- "Aportaciones de los modelos animales al estudio de la interacción gen ambiente en trastornos neuropsiquiatricos con un origen en el neurodesarrollo: ¿Por qué son relevantes las diferencias de sexo?" Ponencia. Viernes, 19 Noviembre de 2010 dentro de la Sesión plenaria acerca de Estrategias metodologicas para el estudio de la interacción gen-ambiente en las psicosis en la 8ª Reunión Internacional sobre las Fases Tempranas de las Enfermedades Mentales. Santander 18-20 Noviembre, 2010. Libro de Resúmenes página 11

- "Modelos animales en neurociencia" dentro del Curso sobre "Responsable del diseño y dirección de procedimientos con animales: Modulo actualización para Cat. B". Duración del Curso: 31 enero a 10 de febrero 2011 Organización: UAH □ UAM □ UCM. Fecha de impartición de la charla: 2 de febrero de 2011

- "Psychophysiological implications of the endocannabinoid system". Université Paris Descartes-UFR Pharmacie. Laboratoire de Pharmacologie EA4475. 4 de Febrero de 2011

- “Sistema endocannabinoide y psicopatología: Qué hay de nuevo?” Dentro de la sesión “Investigación traslacional en el estudio de las consecuencias de exposición perinatal y adolescente a drogas” en las XXXVIII Jornadas Nacionales de Socidrogalcohol, Madrid, 7-9 abril de 2011. Organizadora: Maria Paz Viveros. Libro de resúmenes página 110
- “What neonatal and adolescent rodent models tell us about sex differences in psychiatric alterations and addiction?” ponente en el Workshop “ Sex differences in the brain of birds, rodents, and primates” Uppsala, Sweden. September 12-14, 2011
- “Consumo de cannabis y otras drogas de abuso en edades tempranas en relación con un adelanto en la aparición de la esquizofrenia.” Ponente en la Mesa Organizada por Jose Antonio Ramos en “II Congreso Internacional de Patología Dual que se celebrará en Barcelona del 5 al 8 de Octubre de 2011 ”¿Qué puede aportar la investigación básica al mejor conocimiento de la patología dual??”
- “Consumo de cannabis y neurodesarrollo: ¿Por qué son relevantes las diferencias de género?”. ponente en la “JORNADA CONSUMO DE CANNABIS, JUVENTUD Y GÉNERO” dentro de la Mesa “Cannabis y neurodesarrollo” Fecha: Granada 28 de octubre de 2011, Lugar: Salón de Actos. Facultad de Psicología. Universidad Granada. Coordinadores: Antonio Verdejo García y Luis Felipe Callado Hernando.
- “Sex-dependent behavioral, physiological, and immunological effects of developmental stress and drug use.?”.Ponente en el simposium de la Society for Neuroscience (SfN) 2011. Sex, Stress, Immunity, and Neural Development. Cairman: Geert J. de Vries. Título de la charla impartida Washington , Noviembre 12-16.
- “Ventajas y limitaciones de modelos animales en Neurociencia” Seminario de Investigación del Instituto de Investigación Sanitaria Hospital Clínico S Carlos IdISSC, 10 de enero de 2012 en el Hospital Clínico San Carlos.
- “Modelos animales en Neurociencia” dentro del Curso de RESPONSABLE DEL DISEÑO Y DIRECCIÓN DE PROCEDIMIENTOS CON ANIMALES: Categoría C (Acreditado por la C.A.M.), Modulo actualización para personal acreditado en la Categoría B (Código 0334). Facultad de Veterinaria – UCM, Aulas H – Hospital Clínico Veterinario 30 de enero a 10 de febrero de 2012. Coorganizan Universidad Complutense, Universidad Autónoma de Madrid y Universidad de Alcalá, 15:00 – 20:30 h Ponencia impartida el 1 de febrero 2012 a las 18:30: título
- “Impacto de desafíos de carácter estresante y farmacológico durante el periodo perinatal: Aportaciones de la investigación básica” Jornada de Trabajo de Salud Mental Perinatal (The International Marcé Society for Perinatal Mental Health), 11 de mayo de 2012
- "Homeostatic role of the endocannabinoid system and consequences of its dysregulation on emotional states” Ponencia invitada en el symposium “"Endocannabinoids in the control of > memory and emotions" Dentro del 4th Mediterranean Conference of Neuroscience organized by the Mediterranean Neuroscience Society. Istanbul, Turkey September 30-October 3, 2012.
- “The endocannabinoid system in neurodevelopmental processes: A focus on sex differences” 6th European Workshop on Cannabinoid Research, Trinity College Dublin, Ireland, 18-20 April 2013 (próxima presentación)

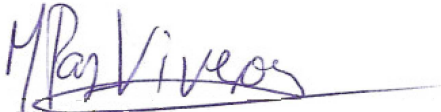
**OBSERVACION: Se adjuntan por correo electrónico los PDFs de todas las publicaciones y comunicaciones a Congresos indicados en el apartado correspondiente de esta memoria. Además, se presentan en papel 3 copias de cada separata y 3 copias de cada abstract presentado en Congresos**



En esta fecha se remite también por correo electrónico, a la dirección [pndinvestigacion@mssi.es](mailto:pndinvestigacion@mssi.es) la presente memoria.

En MADRID a 24 de DICIEMBRE de 2012

FIRMA

A handwritten signature in purple ink, reading "M Paz Viveros", with a long horizontal line extending to the right.

Dra M<sup>a</sup> Paz Viveros Hernando, IP  
Catedrática de Universidad  
Departamento de Fisiología (Fisiología Animal II)  
Facultad de Biología  
Universidad Complutense  
Ciudad Universitaria  
C/ Jose Antonio Novais nº 2  
28040 Madrid  
Spain  
Phone: 34-91-3944993, Fax: 34-91-3944935 e-mail: [pazviver@bio.ucm.es](mailto:pazviver@bio.ucm.es)