



IKER  
GAZTE  
NAZIOARTEKO  
IKERKETA EUSKARAZ

# I. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2015eko maiatzaren 13, 14 eta 15  
Durango, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:  
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

## OSASUNA

**Kannabidiolaren eragina hipoxia-iskemia eragin zaien arratoi jaioberrien eremuan**

*S. Achicallende, M. Ceprián,  
L. Reguero, N. Puente, I. Buceta,  
I. Gerrickagoitia, I. Elezgarai,  
J. Martínez-Orgado eta P. Grandes*

832-837 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.i.116>

ANTOLATZAILEA:



BABESLEAK:



LAGUNTZAILEAK:



## **Kannabidiolaren eragina hipoxia-iskemia eragin zaien arratoi jaioberrien ereduan**

<sup>1</sup>Achicallende S, <sup>2</sup>Ceprián M, <sup>1</sup>Reguero L, <sup>1</sup>Puente N, <sup>1</sup>Buceta I, <sup>1</sup>Gerrikagoitia I, <sup>1</sup>Elezgarai I, <sup>2</sup>Martínez-Orgado J, <sup>1</sup>Grandes P

<sup>1</sup>Neurozientziak saila, Medikuntza eta Odontologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea E-48940 Leioa,

<sup>2</sup>Instituto de Investigación Puerta De Hierro Majadahonda, Madril (sachicallend001@ikasle.ehu.es)

### ***Laburpena***

Jaioberrietan gertatzen den garuneko kalte iraunkorren arrazoi nagusia hipoxia perinatala da, jaiotzen %1-6 inguruan jazotzen baita. Pertsona hauetako asko hil egiten dira, eta bizirik jarraitzen dutenek hainbat urritasun garatzen dituzte, besteak beste, koordinazio motorra, zein kognizioa eta jokabidearekin erlazionaturikoak. Azken urteotan, kannabinoideak etorkizun oparoko agente neurobabesle gisa azaleratu dira, hainbat garuneko kaltetan. Esaterako, kannabidiol fitokannabinoideak (CBD) hipoxia-iskemia (HI) eragin zaien animaliengan gertatzen diren garuneko kalteak ekiditen ditu hein handi batean, bai arlo kognitibo eta motorrean eta bai eta maila molekularrean eta zelularrean ere. Proiektu honetan, HI eragin zaien arratoien garun-eskualde minduetan, CBD-ak duen eragina aztertu da egitura mailan.

### ***Abstract***

*Perinatal hypoxic-ischemic (HI) encephalopathy is the principal reason for permanent brain damage in new-borns, with a 1-6% incidence. Many of these new-borns die, but those who survive develop severe disabilities such as cognition delays, coordination impairments and behavioural alterations. In the last years, cannabinoids (CBs) have emerged as promising neuroprotective agents, in several brain damages. One of these compounds is the phytocannabinoid cannabidiol (CBD) which prevents brain damage caused by HI in several animal models. In this project, we have studied the effects of CBD in brain areas damaged by HI at structural level.*

### **1. Sarrera eta motibazioa**

Hipoxia, odolean, zeluletan edota ehun batean gertatzen den oxigeno-gabezia da, hauen biziraupena kaltetzen duelarik. Iskemia, berriz, odol-fluxuaren jaitsieraren ondorioz emandako estres zelularra da, honek hipoxiaz gain, elikagaien murrizketa eta metabolismo-hondakinen kanporatzea oztopatzen du. Hipoxia-iskemia egoera honek burmuina kaltetuz gero, oso zaila izaten da eragindako mina sendatzea, izan ere, bizirik mantentzea lortzen duten pertsonak, hainbat urritasun pairatuko dituzte.

Hipoxia kasu larrietako bat hipoxia-iskemia perinatala (HI) da, munduko jaiotzen %1-6 inguruan gertatzen dena, eta kareina edo birika-mailan gertatzen den oxigeno-trukearen gabezia edo murrizketa bortitza da honen kausa. Ondorioz, hipoxemia (odoleko [O<sub>2</sub>] jaitsi), hiperkapnia (odoleko [CO<sub>2</sub>] igo) eta hipoxia tisularra agertzen dira, azidosi metabolikoarekin batera. Gainera, kasu askotan hipoxia larriegia izatearen ondorioz, zelulak beraien metabolismoa aldatzera behartuta aurkitzen dira, askotan heriotza zelularra eraginez.

Hipoxia-iskemia perinatalak organo ezberdinak kaltetzen dituen arren, denetan kaltetuena burmuina izaten da. Oxigeno eta odol-fluxuaren gabeziak fosforilazio oxidatiboa murrizten du, jaioberriaren burmuinari metabolismo anaerobioa erabiltzera bultzatuz. Honen ondorioz, erradikal libreak askatzen dira, kaltzio intrazelularren kontzentrazioa igotzen da, neurotransmisore kitzikatzaileen askapena areagotzen da (exzitotoxizitatea), eta azkenik, garuneko zelulen funtzionaltasuna kaltetua egotean, heriotza zelularra (nekrosia) gertatzen da (Ming-Chi eta San-Nan, 2011).

Jaiotzean gertatzen den hipoxia hau normalean hilkorra da (%60), eta bizirik irauten dutenen %25ak hainbat urritasun garatzen dituzte, besteak beste, koordinazio motorra, zein kognizioa eta jokabidearekin erlazionaturikoak (Saigal eta Doyle, 2008). Horrek, epe luzearako gastu sozioekonomiko esanguratsuak ekartzen ditu familia zein gizarte-mailan (Cilio eta Ferreira, 2010). Hala ere, ikusi da jaioberrien garunak helduenak baino gaitasun hobea daukala hipoxia-iskemia egoerei aurre egiteko, bere plastikotasuna helduena baino askoz handiagoa delako.

Gaur egun hipoxia-iskemia perinatale tratatzeko erabiltzen den teknika hipotermia da. Honen funtsa, jaioberriaren garunaren tenperatura 30-35°C ingurura jaitea da, honela metabolismo zelularra jaitsiz, oxigeno eta glukosaren eskariak murrizten dira endekapen-prozesuak atzeratuz, eta hein batean heriotza zelularra ekidinez. Tratamendu hau jaio eta sei orduko tartean burutu behar da, epe hori gaindituz gero beranduegi delako. Dena den, hipotermiak oso larriak ez diren kasuen heriotza-tasa eta ondorio gogorak gutxitzen ditu. Hipoxia bortitza jasan dutenen kasuetarako, berriz, ez dago oraindik tratamendurik. Ondorioz, garrantzitsua litzateke oso, hipotermiarekin batera, erabil litezkeen tratamendu osagarriak garatzea, honen ahalmen neurobabeslea emendatzeko edota bere leihoko terapeutiko tenporala luzatzeko.

Azken urteotan, asko hitz egin eta ikertu da kannabinoideek (CB) duten ahalmen neurobabesle eta neuromodulatzaileari buruz. Izan ere, CB-ek hainbat ondorio onuragarri dutela ikusi da, esaterako, aktibitate mitokondrial kaltetua eta kaltzioaren homeostasi anormala saihestuz, apoptosi-tasa murrizten baitute. Gainera, propietate antiinflamatorio eta antioxidatzaileak dituzte, glutamatoak eragindako exzitotoxizitatea ere ekidin dezakete, bai eta oxido nitriko induzigarria (iNOS) inhibititu ere, besteak beste (Castillo et al., 2007; Pazos et al., 2012).

Orokorrean, uste izan da, CB-en artean, CB<sub>1</sub> hartzailearen agonistak direnak direla neurobabesle hoberenak, bai garun helduan (Martínez-Orgado et al., 2007), bai eta garun gaztean ere (Fernández-López et al., 2007). Hala ere, ikerketa batzuen arabera, baliteke CB<sub>1</sub> hartzailearen hiper-aktibazioak ondorio latzak ekartzea garun heldugabeen (Ferreiro, 2008). Guzti hau kontuan izanik, azkenaldian CB<sub>1</sub> hartzailearen agonistak ez diren CB-ekin lan asko egin dira garun heldugabeen.

Kannabidiol fitokannabinoidea (CBD) *Cannabis sativa* landarearen konposatu ez psikoaktibo nagusia da. Efektu psikoaktiboen gabezia, CB<sub>1</sub> hartzaileari lotzeko gaitasunik ez daukalako da, eta CB<sub>2</sub> eta adenosina hartzaileari lotzearen ondorioz hainbat propietate neurobabesle ditu CBD-k (Castillo et al., 2010).

Guzti hau kontutan izanik, interesgarria izango litzateke CBD-ak hipoxia-iskemia perinatalean dituen efektuak aztertzea, arlo kognitibo, koordinazio-motor, zelular eta biokimikoan, bai eta egitura-mailan ere.

## 2. Arloko egoera eta ikerketaren helburuak

Azken urteetan zenbait ikerketa burutu da hipoxia-iskemia eragin zaien animaliak CBD-arekin tratatuz (Lafuente et al., 2011; Pazos et al., 2012). Esaterako, *in vitro* ereduetan, non sagu jaioberrien garun xerrak glukosa eta oxigeno-kontzentrazio baxuetan jartzen diren (hipoxia garatzeko), ikusi da CBD-ak zelulen apoptosia eta nekrosia gutxitzen duela, exitotoxizitatea, inflamazioa eta oxido nitriko toxikoaren ekoizpena modulatu (Castillo et al., 2010). Gainera, *in vivo* ereduetan ere onurak ikusi dira, HI egoera bat eragin zaien txerrikumeengan, CBD hipoxia egoera eta berehala emanez gero, neurona eta astrozitoak babestu, aktibitate zerebrala mantendu, kaltetutako egiturak murriztu, eta txerrien portaera neurologiko orokorra hobetu egiten baita (Lafuente et al. 2011).

Arratoi jaioberrien kasuan ere, CBD-ak hainbat onura dakar, portaera neurologiko orokorra inolako hipoxiarik garatu ez duten arratoien mailan mantentzen baitu, esaterako RotaRod, CRT (cylinder rear test) eta NOR (novel object recognition) testetan. Gainera, HI-ren ondorioz eragindako garuneko kalte tisularra murrizten du, HI eragin eta hilabete batera CBD-z tratatu diren arratoien garunaren eremu kaltetua, kontrolarekin konparatuz %17an gutxitzen baita. Era berean, Western Blot bidez egindako analisietan ikusi denez, zelulak nekrosi edo apoptosira bultzatzen duten bidezidorren aktibazioa ekiditen du, adibidez TNF $\alpha$ -ren produkzioa jaitsiz (Pazos et al., 2012).

Azken ikerketen arabera, badirudi HI egoera baten ostean ematen den paralisiaren arrazoi nagusia, patologia honetan agertzen den hipomielinizazioa dela. HI kalteak aitzindari oligodendrozitikoaren proliferazioa bultzatzen du, bai aitzindari goiztiarrena (OPC) bai berantiarrena (preOL). Hala ere, nahiz eta hauen proliferazioa gertatu, ez dira gai egoera heldura iristeko, ezta behar bezala mielinizatze ere, eta ondorioz, hipomielinizazioa gertatzen da.

Gure ikerketaren interesa HI eragin zaien arratoietan CBD-ak izan dezakeen eragina oligodendroziro eta axoietan aztertzean datza. Honetarako, hiru arratoi mota erabili dira, 3 tratamendu ezberdinekin: kontrolak (SHM/SHMV), SHAM arratoiak HI eragin gabe, garraio-substantzia besterik jaso ez dutenak; HI eragin eta garraio-substantziak tratatu direnak (HV); eta azkenik, HI eragin eta berehala CBD eman zaienak (HC). Hiru tratamenduak jasan dituzten saguen garuna mikroskopio fokukidean eta elektronikoan behatzeko prestatu dira.

### 3. Ikerketaren muina

Ikerketarako erabilitako modeloa Rice-Vanucci deritzona izan zen, aldaketa txiki batzuekin. 7-10 egun zituzten (P7-P10) Wistar arratoiei (Harlan Laboratories, Bartzelona, Espainia) ezkerreko karotida elektrokoagulatu eta 3 orduz, 112 minututako hipoxia (%10 O<sub>2</sub> 37°C-tara) egoera bat eragin zitzaion, garuneko kaltea ezkerreko hemisferioan beste inon eragin gabe. Hipoxiatik suspertu ondoren (10 minutu inguru), arratoiak garraio-substantzia edo CBD-aren (1 mg/kg) dosi bakarrarekin tratatu ziren. SHAM arratoiak erabili ziren kontrol moduan, eta hauek bakarrik garraio-substantziaz tratatu ziren, arinagoko ikerketetan CBD-ak arratoi hauengan eraginik ez zuela ikusi baitzen (Pazos et al., 2012). Arratoiei eutanasia aplikatu zitzaion, HI eragin eta 24 ordu, 7 egun (P14), eta hilabete batera (P37). Jarraian, bihotzean zehar perfusioa egin zen %4 formaldehidoarekin (PFH) (argi mikroskopiarako). PFH-az gain %1 glutaraldehidoa gehitu zitzaion mikroskopia elektronikoko behatuko ziren animalien finkatzaileari eta ondoren garunak erauzi ziren.

Mikroskopia fokukide mailan garuneko bi gune aztertu ziren: kanpoaldeko kapsula eta kortexa. Immunohistokimikaren bitartez, gune hauetako hainbat zelula-mota eta egitura aztertu ziren, mota bakoitzaren markatzaile espezifiko baten aurkako antigorputzak erabiliz (**1. taula**). Gainera, CBD-ak axoietan izan ditzakeen onurak maila ultraegiturealean aztertzeke, mikroskopia elektronikoa erabili zen.

**1. taula.** Immunohistokimikan erabilitako antigorputzak zelula edo egitura bakoitza identifikatzeko. Markatzaile hauen aurkako antigorputzen bidez burutu zen markaketa. Mikroskopia fokukideko analisi estatistikoan zelula-kopurua bi ikerlari ezberdinek independenteki kontatu ondoren, ANOVA testari esker estatistikoki analizatu zen ( $p < 0,05$  kontsideratu zen estatistikoki esanguratsua).

Zelula edo egitura	Markatzailea	Denborak
Zelula proliferatiboa	Ki67	24h, 7 egun
Aitzindari oligodendrozitiko goiztiarra (OPC)	Olig2	24h, 7 egun
Aitzindari oligodendrozitiko berantiarra (preOL)	Sox10	24h, 7 egun
Oligodendrozito heldua	GST- $\pi$	Hilabete bat
Mielina	MBP	Hilabete bat

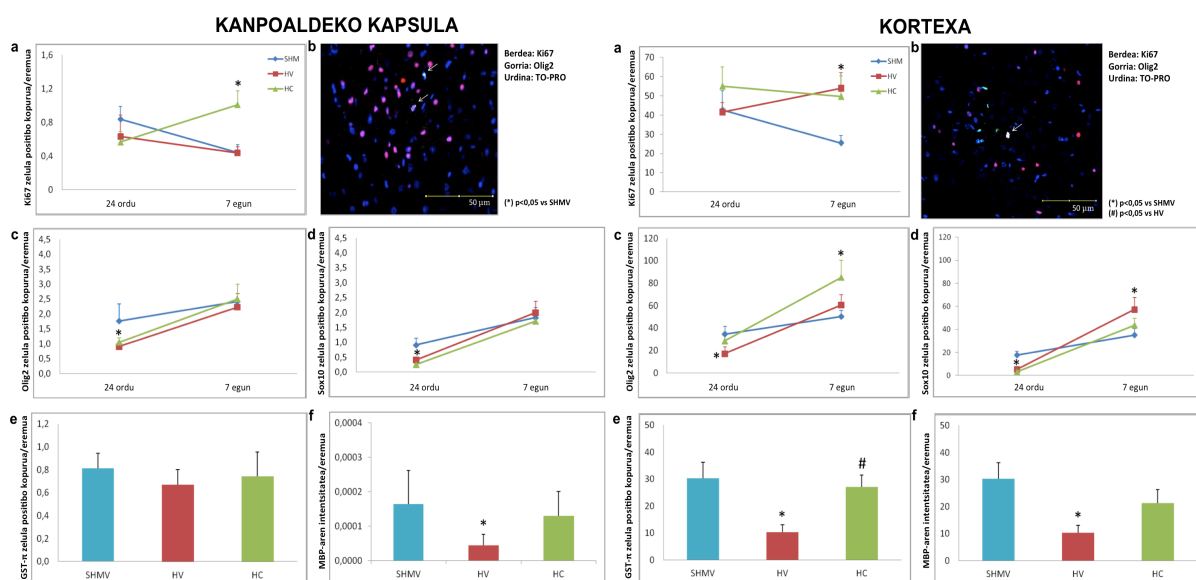
Kanpoaldeko kapsulari dagokionez (**1. irudia**), CBD-ak zelulen proliferazioa areagotzen du (Ki67 positiboak), HI eragin eta 7 egunetara (P14) (1.a. irudia). Proliferazio-tasa emendatu hau, partzialki OPC-ekin (Olig2 positiboak) kolokalizaturik agertzen da (1.b. irudia). Nahiz eta CBD-aren tratamenduak ez zuen eraginik preOL (Sox10 positiboak) eta oligodendrozito helduen (GST- $\pi$  positiboak) proliferazioan (1.c./1.d./1.e. irudiak), CBD-aren ondorioz ehuneko mielinak kantitatea (MBP-aren intentsitatea neurtuz kalkulatu da) emendatua agertzen da hilabete batera (P37) (1.f. irudia). Garraio-substantziaz tratatu diren arratoiekin konparatuz, CBD-aren tratamenduak oligodendrozitoen proliferazio eta heltze-prozesuan ezberdintasunik agertzen ez duen arren, Ki67 positibo diren zelula-kopurua eta MBP-aren intentsitatea emendatzen du. Gainera, esanguratsua da HC tratatutako arratoiek SHAM arratoiek baino Ki67 positibo diren zelula gehiago dituztela kanpoaldeko kapsulan, eta oligodendrozitoen proliferazio-maila HI eragin ez zaien arratoi hauen maila berean mantentzen duela 7. egunean. Mielina kantitateari dagokionez ere, CBD-ak arratoi kontrolen mailara igotzea lortzen du. Laburbilduz, kanpoaldeko kapsulan CBD-ak zelulen proliferazioa bultzatzen du, nahiz eta gune honetako oligodendrozitoetan eraginik ez izan, mielinak kantitatea handitzen du.

Kortexean, ordea, bestelako ondorio batzuk atera daitezke (**2. irudia**). Izan ere, CBD-ak ez du eraginik Ki67 positibo diren zelulen kopuruan, HV arratoien kortexean zelula proliferatibo gehien agertzen direlarik (2.a. irudia). Hala ere, kasu honetan, ezberdintasunik oligodendrozitoen proliferazio eta heldutasun-mailan agertzen dira (2.c./2.d./2.e. irudiak). HI eragin eta 7 egunetara CBD-ak OPC eta preOL-en proliferazioa bultzatzen du, eta hilabete batera oligodendrozito heldu gehiago agertzea lortzen du. Aipagarria da aitzindari oligodendrozitiko goiztiarren kopurua SHAM arratoietan baino handiagoa dela, eta ia oligodendrozito helduen kopurua berdintzea lortzen duela. Aitzindari oligodendrozitiko berantiarren kasuan, HI eragin eta inolako tratamendurik jasan ez duten arratoien kasuan agertzen dira kopuru handiengan, eta hilabete batera agertzen duten mielinaren ekoizpenerako gabezia azaldu dezake. CBD-ak OPC-en proliferazioa bultzatzen duenez, ehuneko mielinak-kantitatea

emendatzen du tratamendu gabeko ehunekin konparatuz gero (2.f. irudia), nahiz eta SHAM arratoiien ehunen MBP intentsitate mailara ez heldu. Beraz, kortexean HI kasuetan CBD-aren tratamenduak oligodendrozitoen proliferazioa eta heltzea aktibatzen ditu, eta ehuneko mielina kantitatea emendatua agertzea lortzen du.

**1. irudia.** CBD tratamenduak kanpoaldeko kapsulan, Ki67 positibo diren zelula kopurua emendatzen du, zeina partzialki Olig2-arekin kolokalizaturik agertzen den. CBD emateak ez du eraginik oligodendrozitoen proliferazio eta heltze-prozesuan, baina hilabete batera mielina kantitatea handitzen du. **a)** Zelula proliferatiboen kopurua (Ki67 positibo). **b)** Mikroskopia fokalkideko argazkia, zelula proliferatibo eta OPC-ak markaturik agertzen dira bertan. **c)** OPC-en kopurua (Olig2 positibo). **d)** preOL-en kopurua (Sox10 positibo). **e)** Oligodendrozito helduen kopurua (GST-  $\pi$  positibo). **f)** Mielinaren-kantitatea HI eragin eta hilabete batera (MBP-aren intentsitatea neurtuz kalkulatu).

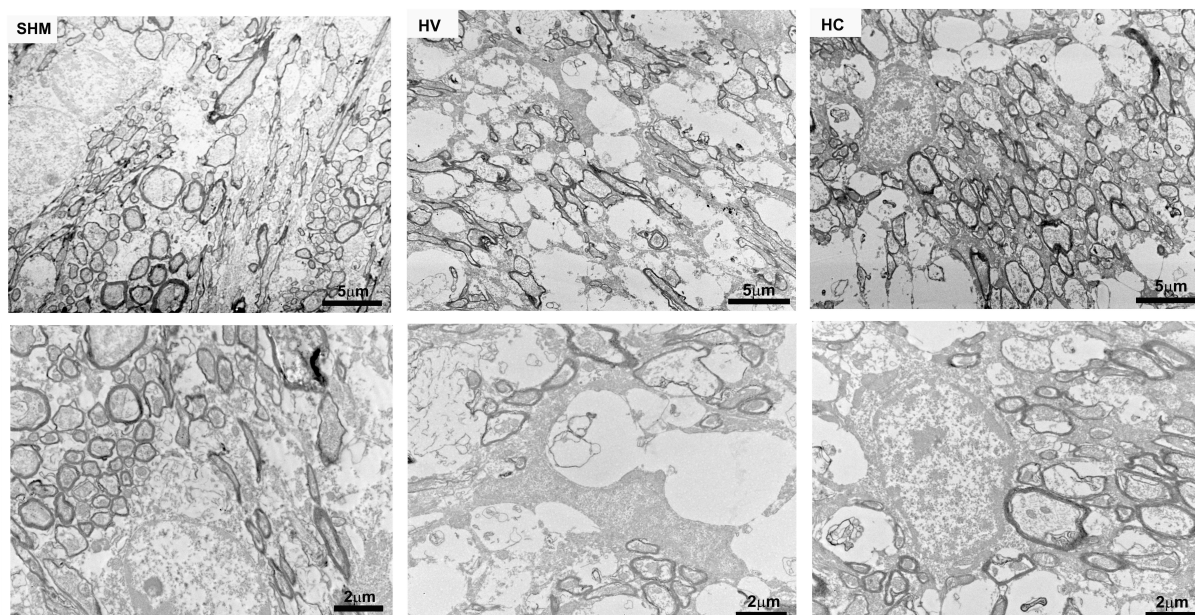
**2. irudia.** Kortexean, CBD-aren tratamenduak ez du inolako eraginik zelula proliferatiboen kopuruan, baina oligodendrozitoen proloferazio eta heltze-prozesua aktibatzen du. Gainera, mielinaren sintesia emendatua agertzen da HI eragin eta hilabete batera. **a)** Zelula proliferatiboen kopurua (Ki67 positibo). **b)** Mikroskopia konfokaleko argazkia, non zelula proliferatibo eta OPC-ak markaturik agertzen diren. **c)** OPC-en kopurua (Olig2 positibo). **d)** preOL-en kopurua (Sox10 positibo). **e)** Oligodendrozito helduen kopurua (GST-  $\pi$  positibo). **f)** Mielinaren-kantitatea HI eragin eta hilabete batera (MBP-aren intentsitatea neurtuz kalkulatu).



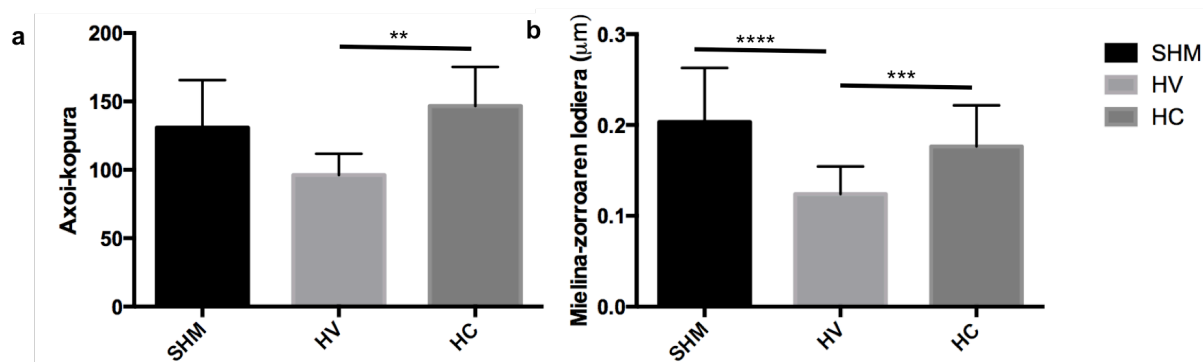
Transmisio-mikroskopia elektronikoa erabiliz, axoien egitura azertu zen kanpoko kapsulan (**3. irudia**). Beha daiteke, HC kasuan, hau da, CBD-az tratatu diren saguen kasuan, axoi kopurua garraio-substantziak tratatu diren saguen kasuan baino nabarmenki handiagoa dela. Gainera, CBD-ak HI jasan duen ehunaren ultraegitura, SHAM arratoiien ehunaren itxurara hurbiltzea lortzen du. Axoien mielinazio-maila handiagoa da HC tratamenduan, izan ere, kasu honetan erraz aurkitzen baitira ezaugarri morfologiko ohikoak agertzen dituzten oligodendrozitoak (esaterako heterokromatina multzo elektrodentsoez betetako nukleoa). Beraz, HI egoera batean CBD-arekin tratatzeak, axoi-kopurua emendatzen du, bai eta hauen mielinazio-maila, eta oligodendrozito kopurua ere.

Azkenik, argazkiak aztertuz, hiru tratamenduetako axoi-kopuru eta mielina-zorroaren analisi estatistikoa burutu da (**4. irudia**). Axoi-kopuruari dagokionez (4.a. irudia), CBD-ak HI-ren ondoriozko jaitiera ekiditen du, HV arratoiak baino axoi gehiago edukitzea eraginez. Gainera, axoi hauen mielina-zorroaren lodiera SHAM arratoiaren parekoa mantentzen da, inolako tratamendurik jasan ez duten arratoiaren axoien kasuan finagoa den bitartean (4.b. irudia).

**3. irudia.** CBDaren tratamenduaren eragina transmisio-mikroskopia elektronikoaren mailan. Ikusi HC kasuan axoi-kopurua nabarmenki handiagoa dela HV kasuan baino; kontrol egoerantz hurbilduz. Bestalde HC-an erraz aurkitzen dira ezaugarri morfologiko ohikoak aurkezten dituzten oligodendroitoak, hala nola, heterokromatina multzo elektrodentesoz betetako nukleoa. (**SHM:** garraio-substantzia jarri zaion animalia kontrola; **HV:** hipoxia-iskemia eragin eta garraio-substantzia jarri zaion animalia; **HC:** hipoxia-iskemia eragin eta CBDarekin tratatu den animalia.)



**4. irudia.** Mikroskopia elektronikoko argazkiak ImageJ programari esker analisatu dira, eta GraphPad programaren bitartez estatistikoki aztertu. **a)** CBD-ak HI-ren ondoriozko axoi-kopuruaren jaitsiera ekiditen du, SHAM arratoietan baino gehiago izatea lortuz, HC kasua HV kasuarekiko estatistikoki esanguratsua delarik (HC vs. HV, \*\*,  $p < 0,05$ , analisatutako argazkien handipena 3500x). **b)** Axoien mielina-zorroaren lodiera ere SHAM arratoien antzekoa da, balio bi hauek HV kasuarekiko estatistikoki esanguratsuak izanik (SHM vs. HV \*\*\*\*, HC vs. HV \*\*\*,  $p < 0,05$ , analisatutako argazkien handipena 14000x).



#### 4. Ondorioak

Kannabidiol fitokannabinoidak hainbat onura dakar HI eragin zaien arratoien garunetan. Kanpoaldeko kapsulan (**1. irudia**) zelulen proliferazioa aktibatzen du, nahiz eta oligodendroitoetan ez izan eragin handirik. Hala ere, CBD-ak hipoxia-iskemiak eragindako hipomielinizazioa saihesten du, garraio-substantzia beste ezerekin tratatu ez diren arratoien kasuan baino mielina gehiago agertzen baita. Baliteke garunaren gune honetara, beste gune batzuetako oligodendroito helduek migratzea, ikusi dugun bezala oligodendroitoen proliferazioan eraginik ez duen arren, mielina-kantitatea emendatua agertzen baita.

Kortexean (**2. irudia**), aldiz, zelula proliferatiboen kopuruan eraginik izan ez arren, oligodendroitoen proliferazio eta heltze-prozesua bultzatzen du, batez ere aitzindari oligodendroitoiko goiztiarra (OPC). Garraio-substantzia tratatu diren animalien kasuan, kopuruan emendatua agertzen diren aitzindari oligodendroitoak, berantiarak dira. Hau datu garrantzitsua da, izan ere preOL-ek oligodendroito heldu izateko zailtasun gehiago dituzte, eta ondorioz, mielina ekoizteko gaitasun gutxiago dute. Emaitzetan argi ikus daiteke hau, HI eragin eta hilabete batera CBD-arekin tratatu diren

animalien kortexean oligodendrozito helduen kopurua eta mielina-kantitatea handiagoa baita. Beraz, CBD-ak kortexean OPC-en proliferazioa aktibatzen du, hilabete batera oligodendrozito helduen kopurua eta mielina-kantitatea emendatzea eraginez.

Transmisio-mikroskopio elektronikoko emaitzak eta hauetatik ateratako analisi estatistikoak ere bat datoz arinagokoekin (**3. irudia, 4. irudia**). CBD-arekin tratatutako animalien ehunek SHAM arratoien ehunen antza hartzen dute, axoi-kopurua berdina izanik, eta gainera axoi hauen mielina-zorroaren lodiera arratoi kontrolen balioetan mantentzen da.

## 5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Ikerketa honen arabera, kannabidiol fitokannabinoidak hainbat onura dakar hipoxia-iskemia eragin zaien arratoietan. Batez ere, HI-ak eragindako hipomielinizazioa sahiesten du, HI-ren ondoriozko paralisi gehienen arrazoi nagusia. Gaur egun erabilitako tratamenduak, hipotermiak, hutsune batzuk dituenek, sarreran esan bezala tratamendu osagarrien beharra dago. CBD-a tratamendu egokia izango litzateke, dosi bakarrarekin ehunaren mielinizazio-maila emendatzen baitu animali ereduetan. Beraz, interesgarria izango litzateke CBD-arekin fase kliniko bat hastea, hipotermiarekin batera HI jasan duten jaioberriei emanaz.

Laborategian ere, bestelako ikerketa batzuk burutu ahal izango lirateke. Esaterako, interesgarria izango litzateke bentríkulu azpiko guneko zelula amak markatu, eta hauen migrazioa aztertzea. Beharbada, kanpoaldeko gunean ematen den mielinizazioa hemendik migratutako zelula ametatik eratorritako oligodendrozitoek burutzen dute. Gainera, baliteke CBD-ak zelula hauen proliferazio eta migrazioa emendatzea, eta esperimentu honi esker argituko litzateke.

## 6. Erreferentziak

- Castillo A., Tolón M.R., Fernández-Ruiz J., Romero J., Martínez-Orgado J. (2010). "The neuroprotective effect of cannabidiol in an in vitro model of newborn hypoxic-ischemic brain damage in mice is mediated by CB2 and adenosine receptors". *Neurobiology of Disease*, 37, 7895-7900.
- Cilio M.R. eta Ferreiro D.M. (2010). "Synergistic neuroprotective therapies with hypothermia". *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 15, 293-298.
- Fernández-López D., Pazos M.R., Tolón R.M., Moro M.A., Romero J., Lizasoain I., Martínez-Orgado J., (2007). "The cannabinoid WIN55212 reduces brain damage in an in vivo model of hypoxic-ischemic encephalopathy in newborn rats". *Pediatric Research*, 62, 255-260.
- Ferreiro D.M. (2008). "Cannabinoids-can what hurts you make you stronger?". *Pediatric Research*, 64, 590-591.
- Lafuente, H., Alvarez, F.J., Pazos, M.R., Alvarez, A., Rey-Santano, M.C., Mielgo, V., Murgia-Esteve, X., Hilario, E., Martínez-Orgado, J. (2011): "Cannabidiol reduces brain damage and improves functional recovery after acute hypoxia-ischemia in newborn pigs". *Pediatric Research*, 70, 272-277.
- Martínez-Orgado J., Fernández-López D., Lizasoain I., Romero J. (2007). "The seek of neuroprotection: introducing cannabinoids". *Recent Patents on CNS Drug Discovery*, 2, 131-139.
- Ming-Chi L. Eta San-Nan Y. (2011). "Perinatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy". *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011, ID: 609813.
- Pazos M.R., Cquina V., Gómez a., Layunta R., Santos M., Fernández-Ruiz J., Martínez-Orgado J. (2012). "Cannabidiol administration after hypoxia-ischemia to newborn rats reduces long-term brain injury and restores neurobehavioral function". *Neuropharmacology*, 63, 776-783.
- Saigal S. Eta Doyle L.W. (2008). "An overview of mortality and sequelae of preterm birth from infancy to adulthood". *Lancet*, 371, 261-269.

## 7. Eskerrak eta oharrak

Ikerketa honek honako diru-laguntzak izan ditu: Eusko Jaurlaritzak BCG IT764-13; Euskal Herriko Unibertsitatea UPV/EHU UFI11/41; Ekonomia eta Lehiakortasun Ministerioa (MINECO) BFU2012-33334 eta Droga-menpekotasun Arazoen Sarea (RTA) - Carlos III. Osasun-Institutua RD12/0028/0004. Eskerrak UPV/EHU-ko Euskara Zerbitzuko Agustín Otsoa Eribeko itzultzaileari.