

ACCIÓN NEUROPROTECTORA Y NEURORREGENERADORA DE LAS SALES DE ÁCIDOS RESÍNICOS AISLADOS DE COLOFONIA DE CONÍFERAS DEL OCCIDENTE DE CUBA

NEUROPROTECTIVE AND NEUROREGENERATIVE ACTION OF SALTS OF ISOLATED RESIN ACIDS OF CONIFERS ROSIN FROM WESTERN CUBA

Yasiel Arteaga-Crespo¹; Leila Rosa Carballo-Abreu¹; Juan Enrique Tacoronte-Morales²; Yanier Nuñez-Figueroa³.

¹Universidad de Pinar del Río (UPR), Pinar del Río, Cuba. Correo-e: yasiel@al.upr.edu.cu (¹Autor para correspondencia).

²Centro de Investigación e Ingeniería Química (CIQ), Ciudad de La Habana, Cuba.

³Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM), Ciudad de La Habana, Cuba.

RESUMEN

Las enfermedades neuropsiquiátricas afectan a más de 10 % de la población cubana y alcanzan 25 % a nivel mundial. La mayoría de los fármacos empleados para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central son costosos y generan severas reacciones colaterales. Actualmente, se desarrollan esfuerzos para la aplicación de metabolitos secundarios como fuentes ecológicamente sostenibles para tratamiento de patologías del sistema nervioso -incluyendo isquemias y otras neuropatologías tipo Parkinson, Alzheimer y trastornos motores de Huntington-, que permitan una neuroprotección efectiva, así como una neuroregeneración en cortos periodos, con mínimas secuelas. El objetivo del trabajo fue evaluar la acción neuroregeneradora y neuroprotectora de la sal de sodio de ácidos resínicos aislados de colofonia de coníferas cubanas; los resultados del estudio sugieren que esta sal puede utilizarse en calidad de precursores estructurales de isoanálogos bioisostéricos con acción terapéutica específica tipo neuroprotectora y neuroregeneradora en el tratamiento de patologías isquémicas.

ABSTRACT

Neuropsychiatric diseases affect more than 10 % of the Cuban population and 25 % worldwide. Most drugs used to treat central nervous system disorders are expensive and create severe side reactions. Efforts are currently being developed for the implementation of secondary metabolites such as environmentally sustainable sources for the treatment of nervous system diseases, including stroke and other Parkinson's-type neuropathologies, and Huntington's motor disorders, enabling an effective neuroprotection as well as short periods of neuroregeneration time with minimal sequels. The objective was to evaluate the neuroprotective and neuroregenerative action of sodium salts of isolated resin acids from Cuban conifers. The study results suggest that the sodium salt of resin acids can be used as a structural bioisosteric isoanalogue precursor with specific therapeutic actions such as neuroregeneration and neuroprotection in the treatment of ischemic diseases.

Recibido: 14 de octubre, 2010
Aceptado: 28 de septiembre, 2011
DOI : 10.5154/r.rchscfa.2010.10.092
<http://www.chapingo.mx/revistas>

PALABRAS CLAVE: Colofonia, sistema nervioso central, neuropatologías, neuroprotección, neuroregeneración.

KEYWORDS: Rosin, central nervous system, neuropathologies, neuroprotection, neuroregeneration.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades neuropsiquiátricas afectan a más de 10 % de la población cubana y alcanzan 25 % a nivel mundial (WHO, 2010). Para el tratamiento de las enfermedades psiquiátricas, la farmacología del sistema nervioso central (SNC) comprende dos tipos de fármacos: los estimulantes nerviosos, cuyo mecanismo de acción es la despolarización celular, y los depresores (sedantes) nerviosos, que impiden la despolarización. La mayoría de los fármacos empleados (imipramina, ruboxetina, entre otros) para el tratamiento de trastornos del SNC son costosos y generan severas reacciones colaterales (Millán, 2003; File y Seth, 2003; Carrasco y

INTRODUCTION

Neuropsychiatric diseases affect more than 10 % of the Cuban population and 25 % worldwide (WHO, 2010). For the treatment of psychiatric diseases, the pharmacology of central nervous system (CNS) comprises two types of drugs: nervous stimulant, whose mechanism of action is the cell depolarization, and nervous depressants (sedatives) that prevent depolarization. Most drugs used (imipramine, ruboxetina, among others) to treat CNS disorders are expensive and generate severe side reactions (Millán, 2003; File y Seth, 2003; Carrasco y Van de Kar, 2003). Today, efforts are developed for the implementation of secondary metabolites as environmentally

Van de Kar, 2003). En la actualidad, se desarrollan esfuerzos para la aplicación de metabolitos secundarios como fuentes ecológicamente sostenibles de sintones y nuevas entidades farmacéuticas (NEF) para tratamiento de patologías del SNC, incluyendo isquemias y otras neuropatologías tipo Parkinson, Alzheimer y trastornos motores de Huntington, que permitan una neuroprotección efectiva así como una neuroregeneración en cortos periodos, con mínimas secuelas.

Los cannabinoides son mediadores lipídicos (derivados de la *Cannabis sativa*), sintéticos y los endocannabinoides o cannabinoides endógenos (Cho *et al.*, 2005; Piomelli, 2005), que se destacan por su capacidad para disminuir la producción de citocinas proinflamatorias (Panikashvili *et al.*, 2005) e inhibir la liberación de noradrenalina y dopamina (Millán, 2003), facilitando la recuperación de eventos isquémicos y vascular-neuroencefálicos.

Dada la similitud estructural entre cannabinoides y los ácidos resínicos, se fortalece el diseño de derivados sintéticos a partir de estos precursores naturales ecosostenibles (Figura 1). Se puede aseverar que los ácidos resínicos constituyen potenciales agentes con funciones fisiológicas típicas para cannabinoides naturales y sintéticos, como su capacidad para antagonizar los receptores SNC (Chen, 2005), disminuir la producción de citocinas proinflamatorias (Panikashvili, 2005) e inhibir la liberación de noradrenalina y dopamina (Millán, 2003).

sustainable sources (synthons and new pharmaceutical entities) for treatment of CNS disorders, including stroke and other Parkinson, Alzheimer's-type neuropathologies, and Huntington's motor disorders, enabling an effective neuroprotection as well as short periods of neuroregeneration time with minimal sequelae.

Cannabinoids are lipid (derived from the *Cannabis sativa*) synthetic and endocannabinoids or endogenous cannabinoids mediators (Cho *et al.*, 2005; Piomelli, 2005), which are noted for their ability to decrease the production of proinflammatory cytokines (Panikashvili *et al.*, 2005) and inhibit the release of norepinephrine and dopamine (Millan, 2003), facilitating the recovery of ischemic and vascular-neuroencephalic events.

Given the structural similarity between cannabinoids and resin acids, strengthens the design of synthetic derivatives from these eco-sustainable natural precursors (Figure 1). It can be said that resin acids are potential agents with physiological functions typical for natural and synthetic cannabinoids, have the capacity to antagonize the CNS receptors (Chen, 2005), decrease the production of proinflammatory cytokines (Panikashvili, 2005) and inhibit the release of noradrenaline and dopamine (Millan, 2003).

There are also numerous studies showing the effectiveness thereof in anxiety disorders (Witkin *et al.*, 2005; Wotjak, 2005; Viveros, 2005), depression (Ashton *et al.*, 2005) and epilepsy (Bradley, 2004) among others.

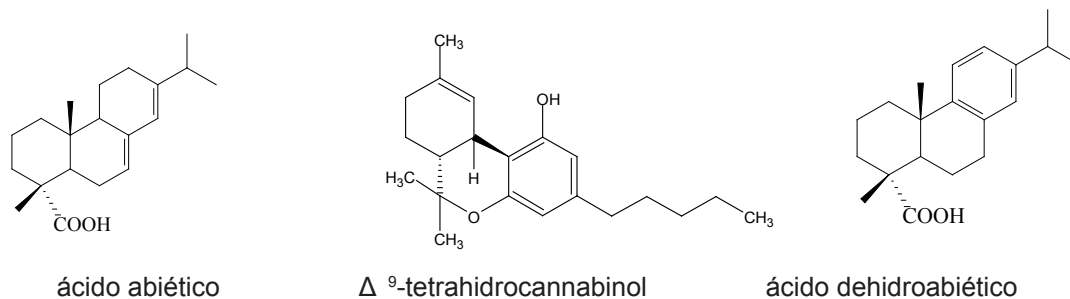


FIGURA1. Similitud estructural entre ácidos resínicos y cannabinoides naturales.

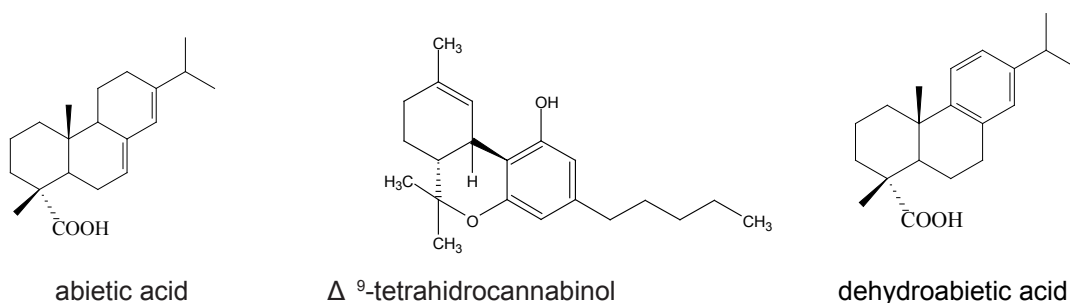


FIGURE 1. Structural similarity between resin acids and natural cannabinoids.

También existen numerosos estudios que demuestran la efectividad de los mismos en trastornos de ansiedad (Witkin *et al.*, 2005; Wotjak, 2005; Viveros, 2005), depresión (Ashton *et al.*, 2005) y epilepsia (Bradley, 2004), entre otros. Teniendo en cuenta el desbalance neurobioquímico que se produce en los trastornos emocionales y las propiedades endógenas de los cannabinoides, se apoya la hipótesis de que moléculas precursoras de éstos, con similar estructura química, obtenidas a partir de fuentes naturales o con la introducción de pequeñas modificaciones en su estructura, puedan resultar efectivas para el tratamiento de estados patológicos del SNC.

En los últimos años se ha progresado de forma importante en el conocimiento de sustancias que actúan como neuroprotectores y neuroregeneradores, a partir del estudio en animales de experimentación y ensayos clínicos en el humano (García-Galloway *et al.*, 2003; Cardona *et al.*, 2003). Las investigaciones que se realizan a nivel mundial, en la temática de las enfermedades cerebrovasculares, siguen dos direcciones fundamentales: una dirigida al conocimiento de la fisiopatología de estas enfermedades, y otra que se orienta al desarrollo de agentes y procedimientos terapéuticos para disminuir los índices de mortalidad y discapacidad. En ambas direcciones, el aporte conferido por los modelos animales ha sido decisivo, permitiendo estudiar la seguridad y la eficacia de nuevos agentes terapéuticos, así como el desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico que sirvan para detectar tejido potencialmente salvable. Por último, han mostrado muchas de las alteraciones celulares que tienen lugar durante la isquemia, así como su perfil temporal (Siesjö, 1992; Hossmann, 1994).

El modelo experimental de isquemia unilateral permanente comprende el seguimiento de la incidencia de infarto cerebral histológico y clínico en el periodo agudo, así como el surgimiento de disfunciones cognitivas inducidas por la isquemia en la etapa crónica. En este modelo se produce una disminución del flujo sanguíneo en un hemisferio cerebral que produce la muerte de algunos individuos en los primeros días posteriores a la oclusión de la carótida correspondiente (Kwakkel *et al.*, 2004).

El sector forestal en Cuba procesa alrededor de 500 t de resina por año de especies endémicas de la provincia de Pinar del Río, *Pinus caribaea* var. *caribaea* y *Pinus tropicalis* Morelet (Herrero, 2010), por lo que la búsqueda de nuevas entidades moleculares con acción terapéutica específica, a partir de esta materia prima nacional y renovable, merece la atención. Esto orienta hacia el desarrollo y diseño en el mercado de la industria forestal nacional cubana y sus subproductos no madereros, de nuevos productos generados a partir de colofonias modificadas (Arteaga *et al.*, 2007, 2010).

El objetivo del trabajo fue evaluar la acción neuroregeneradora y neuroprotectora de la sal de sodio

Given the neuro-biochemical imbalance that occurs in emotional disorders and endogenous properties of cannabinoids, it supports the hypothesis that their precursor molecules with similar chemical structure, obtained from natural sources or from small changes in their structure, can be effective for the treatment of CNS disease states.

In recent years, significant progress has been made in understanding substances that act as neuroprotective and neuroregenerative, from experimental animal studies and clinical trials in humans (García-Galloway *et al.*, 2003; Cardona *et al.*, 2003). The research being conducted worldwide, on the subject of cerebral vascular disease, follow two main directions: one aimed to the understanding of the pathophysiology of these diseases, and the other focuses on the development of agents and therapeutic procedures to reduce disability and mortality rates. In both directions, the contribution given by animal models has been crucial, allowing to study the safety and efficacy of new therapeutic agents and the development of new diagnostic techniques that serve to detect potentially salvageable tissue. Finally, many of the cellular changes that occur during ischemia as well as its temporal profile have been shown (Siesjö, 1992; Hossmann, 1994).

The experimental model of permanent unilateral ischemia includes monitoring the incidence of histological and clinical stroke in the acute period, and the emergence of cognitive dysfunction induced by ischemia in the chronic stage. In this model there is a decrease in blood flow in one hemisphere of the brain that causes death of some individuals in the early days of the corresponding carotid occlusion (Kwakkel *et al.*, 2004).

The forest sector in Cuba processes about 500 tons of resin of endemic species (per year) from the Pinar del Río province, *Pinus caribaea* var. *caribaea* and *Pinus tropicalis* Morelet (Herrero, 2010), so the search for new molecular entities with specific therapeutic action deserves attention, from this national and renewable raw material. This focuses on the development and design, in the market for Cuban national forest industry and their non-timber products, of new products generated from modified rosins (Arteaga *et al.*, 2007, 2010).

The objective was to evaluate the neuroprotective and neuroregenerative action of sodium salts of isolated resin acids from Cuban conifers (*Pinus caribaea* var. *caribaea* and *Pinus tropicalis* Morelet), using experimental biomodels to determine the activity of the resin acid salt on the central nervous system.

MATERIALS AND METHODS

Obtaining rosin samples

Rosin was obtained by distillation of the *Pinus caribaea* var. *caribaea* and *Pinus tropicalis* Morelet resin

de ácidos resínicos aislados de mezcla de colofonia de pináceas cubanas (*Pinus caribaea* var. *caribaea* y *Pinus tropicalis* Morelet), haciendo uso de biomodelos experimentales para determinar la actividad de la sal de ácidos resínicos sobre el sistema nervioso central.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la muestras de colofonia

La colofonia se obtuvo por destilación de mezclas de resinas de *Pinus caribaea* var. *caribaea* y *Pinus tropicalis* Morelet procedentes de la planta de destilación de resinas, ciudad Industrial, Pinar del Río, Cuba.

Obtención de ácidos resínicos a partir de colofonia

La colofonia se sometió a un proceso de tratamiento hidrotermal durante dos horas, en un intervalo de temperaturas de 80-85 °C, con agitación de 500 rpm y presencia de atmósfera de nitrógeno; se le adicionaron 25 mL de agua destilada y se mantuvo el proceso calentamiento-agitación hasta que se fundió la masa resinosa, que facilitó la purificación y separación de ácidos resínicos totales. La purificación procedió al adicionar una disolución de hidróxido de sodio al 25 % a la masa de colofonia, se filtró a vacío, se enfrió hasta 10-15 °C y se añadió directamente disolución concentrada de ácido clorhídrico en frío para precipitar la mezcla de ácidos resínicos que se secaron a 100 °C y permitió obtener 92 % de ácidos resínicos totales.

Obtención de mezclas de la sal de sodio de los ácidos resínicos

Se preparó una solución de bicarbonato ácido de sodio (NaHCO_3) a 25 %, se calentó a 80 °C y se añadió lentamente a 10 g de ácidos resínicos purificados, hasta su disolución total (35 min, con agitación a 250 rpm y relación molar 1:1). Se mantuvo al sistema durante una hora con agitación y posteriormente se llevó a sequedad con una temperatura de fusión $T_f > 325$ °C.

Biomodelo experimental para determinar la actividad de la sal de ácidos resínicos sobre el sistema nervioso central

Isquemia por oclusión permanente de la carótida derecha

Actividad exploratoria en animales sometidos a isquemia unilateral permanente.

Se emplearon ratones albinos suizos machos de 25 a 30 g de masa corporal, procedentes de la colonia de la UCTB Control Biológico, del Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Los animales se

mixtures, from the resin distillation plant, ciudad Industrial, Pinar del Río, Cuba.

Obtaining resin acid from rosin

Rosin was submitted to a hydrothermal treatment process for two hours, in a temperature range of 80-85 °C, with agitation of 500 rpm and presence of nitrogen atmosphere; 25 mL of distilled water were added and the process was maintained in heating-stirring until resin mass melted, which facilitated the purification and separation of total resin acids. Purification proceeded by adding a sodium hydroxide solution, at 25 % to the rosin mass, it was vacuum filtered, cooled to 10-15 °C; cold concentrated solution of hydrochloric acid was added directly to precipitate the mixture of resin acids, which were dried at 100 °C, allowing to obtain 92 % of total resin acids.

Obtaining mixtures of the sodium salt of resin acid

A solution of sodium hydrogen bicarbonate (NaHCO_3) at 25 % was prepared, heated at 80 °C and 10 g purified rosin acids were slowly added until complete dissolution (35 min, with stirring at 250 rpm and molar ratio 1:1). The system was maintained for one hour with stirring, and then taken to dryness with a melting temperature $T_m > 325$ °C.

Experimental biomodel to determine the activity salt of resin acids on the central nervous system

Ischemia by permanent occlusion of the right carotid

Exploratory activity in animals submitted to permanent unilateral ischemia

Male Swiss albino mice of 25 to 30 g body mass were used, coming from the UCTB Control Biológico, Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (Center for Research and Drug Development) (CIDEM). Animals were kept in a controlled room temperature 20 ± 2 °C, with a cycle of light/darkness of 12-12 h. Feeding consisted of palletized feed (CMO 1000) for mice from the Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (Cuba) and water *ad libitum*. All procedures were carried out in accordance with ethical standards dictated by the EU for animal experimentation.

Treatment scheme

Treatment consisted of oral application of sodium salt of resin acids of *Pinaceae* in doses 100, 200 and 400 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Arteaga *et al.*, 2009) and distilled water three times a day for two days, and the treatment started immediately after surgery. The last administration was performed 16 h before slaughter.

mantuvieron en un cuarto a temperatura controlada, de 20 ± 2 °C, con un ciclo de luz/oscuridad de 12-12 h. La alimentación consistió en pienso paletizado (CMO 1000) para ratones, procedente del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (Cuba) y agua a libre demanda. Todos los procedimientos se ejecutaron de acuerdo con las normas éticas dictadas por la Unión Europea para la experimentación animal.

Esquema de tratamiento

El tratamiento consistió en la aplicación oral de sal de sodio de ácidos resínicos de pináceas en las dosis de 100, 200 y 400 mg·kg⁻¹ (Arteaga *et al.*, 2009) y agua destilada tres veces al día, durante dos días, y se comenzó inmediatamente después de la cirugía. La última administración se realizó 16 h antes del sacrificio.

Procedimiento experimental

Oclusión permanente de la arteria carótida derecha en ratones albinos suizos con sacrificio a diferentes tiempos

Los animales se anestesiaron con una dosis de 30 mg·kg⁻¹ de pentobarbital sódico. Los mismos se dividieron en cinco grupos experimentales (n=25 por grupo); cuatro de ellos se sometieron a la oclusión permanente de la carótida derecha, con un procedimiento similar al reportado para los gerbils de Mongolia (Soza y Garcia, 2007); se les realizó una incisión en la parte anterior del cuello y se aisló la carótida derecha; la misma se ligó en dos extremos proximales, para después realizar una arterioectomía entre las dos ligaduras. Posteriormente, los animales se suturaron y mantuvieron a 37 °C hasta su recuperación, y se sacrificaron 48 h después de la inducción del daño; el quinto grupo fue control sham. Inmediatamente antes del sacrificio, a cada animal se le realizó la prueba de actividad exploratoria; cada ratón se colocó en el centro de una caja de actividad exploratoria y se contaron los empujones que realizaron los roedores sobre sus patas traseras para explorar, en un intervalo de nueve minutos, divididos en tres tercios de tres minutos cada uno. Seguidamente, los animales se perfundieron transcárdialmente, con 10 mL de formaldehído neutro a 10 % y sus cerebros se removieron para analizarlos histopatológicamente (presencia de daño celular, gliosis, necrosis, edema y pérdida neuronal en diferentes zonas cerebrales) mediante una tinción de hematoxilina-eosina.

A los animales pertenecientes al grupo sham, solamente se les practicó la incisión en la parte anterior del cuello, hasta la localización de la arteria carótida derecha, sin ligadura de la misma, y se sometieron a las mismas pruebas conductuales que los animales dañados.

Experimental procedure

Permanent occlusion of the right carotid artery in Swiss albino mice slaughtered at different periods

Animals were anesthetized with a dose of 30 mg·kg⁻¹ sodium pentobarbital. Animals were divided into five experimental groups (n = 25 per group), four of them underwent permanent occlusion of the right carotid artery, with a procedure similar to that reported for the Mongolian gerbils (Soza and Garcia, 2007); they underwent an incision in the neck and the right carotid artery was isolated; it was ligated into two proximal ends, then a arteriotomy between the two ligatures was performed. Subsequently, animals were sutured and maintained at 37 °C until recovery, and sacrificed 48 h after induction of injury, the fifth group was sham control. Immediately before slaughter, each animal was tested for exploratory activity; each mouse was placed in the center of an exploration box, and the stands ups to explore made by the rodents, were counted in a nine-minute interval, divided into three thirds of three minutes each. Then, animals were perfused transcárdially with 10 mL of 10 % neutral formaldehyde and their brains were removed for a histopathology analysis (presence of cellular damage, gliosis, necrosis, edema and neuronal loss in different brain areas), by hematoxylin-eosin staining.

Animals belonging to the sham group only underwent the neck incision to locate the right carotid artery, without ligation of this artery and were submitted to

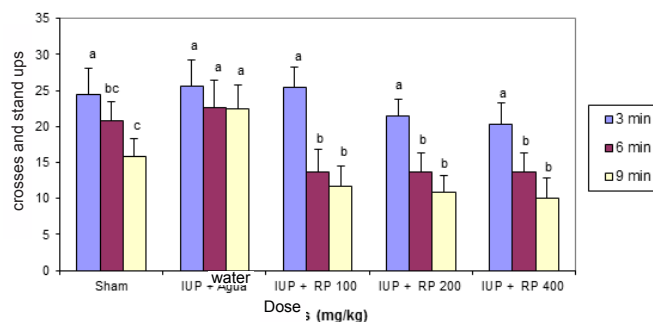


FIGURE 2. Behavior of the exploration activity in animals submitted to permanent unilateral ischemia (different letters in each group differ at $P < 0.05$).

IUP: permanent unilateral ischemia, RP: pine resinates (100, 200, 300), dose of salts used in mg·kg⁻¹.

the same behavioral tests than the damaged animals.

RESULTS AND DISCUSSION

Figure 2 shows the behavior of the exploratory activity in animals submitted to permanent unilateral ischemia treated with sodium salt. Sodium salt was ob-

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2 se muestra el comportamiento de la actividad exploratoria en animales sometidos a isquemia unilateral permanente, tratados con la sal sódica. Se obtuvo la sal de sodio para lograr la solubilidad en agua de los ácidos resínicos, que presupone un paso a través de la barrera hematoencefálica (Arteaga *et al.*, 2007, 2009). Los animales asignados al grupo control (tratados con agua destilada) presentaron extensas áreas de necrosis en el hemisferio privado de irrigación sanguínea; este daño se hizo evidente en las zonas del hipocampo, estriado, corteza, *gyrus* dentado y presencia de interneuronas oscuras en el asta de *amons* (Persson *et al.*, 1998). Paralelamente, el ensayo de campo abierto mostró una incapacidad de habituación total de estos animales, relacionado con un deterioro de la capacidad cognitiva de éstos (Van der Worp *et al.*, 2005; Tamura *et al.*, 1981).

Por otra parte, los animales sometidos a isquemia por oclusión permanente de la carótida derecha y tratados con las diferentes dosis de la sal sódica, mostraron una efectiva protección al daño neuronal frente a este insulto isquémico (Mergenthaler, *et al.*, 2004); los estudios histopatológicos mostraron sólo ligeras alteraciones definidas como gliosis, en 20 % de los animales tratados con la dosis de 100 mg·kg⁻¹; el resto no presentaron alteraciones aparentes con la técnica histológica empleada.

Estos resultados se confirmaron con el ensayo de campo abierto, donde los animales tratados con las diferentes dosis de sal no mostraron disfunciones cognitivas significativas, disminuyendo el número de empujamientos en los últimos tercios de tiempo del ensayo, con respecto al primer tercio. Los resultados mostraron que no existe diferencia significativa en el comportamiento de los animales para seis y nueve minutos de aplicada la dosis. La respuesta de éstos a los tres minutos de aplicadas las dosis disminuyen en la medida que aumenta la concentración de ácidos resínicos.

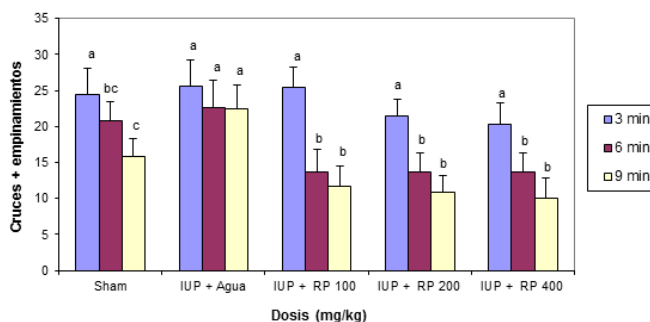


FIGURA 2. Comportamiento de la actividad exploratoria en animales sometidos a isquemia unilateral permanente (letras distintas en cada grupo difieren para $P < 0.05$).

IUP: isquemia unilateral permanente, RP: resinato de pino (100, 200, 300), dosis de sales empleadas en mg·kg⁻¹.

tained to achieve water solubility of resin acids, which presupposes a pass through blood-brain barrier (Arteaga *et al.*, 2007, 2009). Animals assigned to the control group (treated with distilled water) had large necrosis areas in the private hemisphere of blood supply; this damage was evident in the zones of hippocampus, striatum, cortex, dentate gyrus and the presence of dark interneurons in the dorsal horn of *amons* (Persson *et al.*, 1998). Similarly, the open field test showed an inability to habituation of these animals associated with deterioration in their cognitive ability (Van der Worp *et al.*, 2005; Tamura *et al.*, 1981).

Moreover, the animals submitted to ischemia by permanent occlusion of the right carotid artery and treated with various doses of sodium salt showed effective protection to neuronal damage against the ischemia (Mergenthaler, *et al.*, 2004); histopathological studies showed only slight alterations defined as gliosis in 20 % of animals treated with doses of 100 mg·kg⁻¹; the rest showed no apparent alterations in the histological technique used.

These results were confirmed with the open field test, where animals treated with different doses of salt showed no significant cognitive dysfunction, decreasing the number of stand ups in the last third of the test, with respect to the first third. For six and nine minutes after the dose was applied, results showed no significant difference in the behavior of the animals. The response of these animals decreases insofar as the concentration of resin acids increases.

These results indicate a potential neuroprotective effect of sodium salt of resin acid against ischemia-induced neuronal damage, and constitute a potential source of obtaining new therapeutic alternatives for the treatment of these pathologies.

CONCLUSIONS

The mixture of sodium salts of resin acids showed specific therapeutic (neuroprotective and neuroregenerative) action in animals submitted to neuronal damage induced by permanent unilateral ischemia.

ACKNOWLEDGEMENTS

We express our appreciation to the Centro de Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ciudad de La Habana, Cuba.

End of English Version

Estos resultados indican un posible efecto neuroprotector de la sal de sodio de ácidos resínicos frente a daños neuronales inducidos por isquemia, y constituyen

una potencial fuente de obtención de nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de estas patologías.

CONCLUSIONES

La mezcla de sales de sodio de los ácidos resínicos manifestó acción terapéutica específica tipo neuroprotectora y neuroregeneradora, en animales sometidos a daños neuronales inducidos por isquemia unilateral permanente.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos expresar nuestro agradecimiento al Centro de Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). Ciudad de La Habana, Cuba.

LITERATURA CITADA

- Arteaga, Y., Carballo, L., Tiomno, O., Sotolongo, R., Tacoronte, J. E., & Hevia, Y. (2010). Colofonia de pináceas cubanas para el control de enfermedades tropicales transmitidas por moluscos. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 16(1), 31-36.
- Arteaga, Y., Carballo, L., Tiomno, O., Casal, A., Tacoronte, J. E. & Cruz, R. (2007). Resina de pino: química verde y potencialidades biológicas. *Revista Cubana de Química* 19(1), 91-93.
- Arteaga, Y., Carballo, L., Tiomno, O., Casal, A., Tacoronte, J. E., & Cruz, R. (2009). Resina de pino: Materia prima renovable para la obtención de productos farmacológicos. *CIGET Pinar del Río* 11(3), 35-40.
- Ashton, CH., Moore, P. B., Gallagher, P., & Young, A. H. (2005). The endocannabinoid system as an emerging target of P pharmacotherapy. *Journal Psychopharmacol* 19(3), 293-300.
- Bradley, E. A. (2004). Endocannabinoids and their implications for epilepsy. *Epilepsy curr.* 4(5), 169-173.
- Cardona, G. P., Arango, D. C., Gallego, G. J., Pimienta, H. & García, L. M. (2004). Estrogens inhibit glycogen synthase kinase-3b and modulates the interaction of the microtubule-associated protein Tau with glutamate receptor subunits in post-ischemic hippocampus: implications for hormonal neuroprotective mechanisms. *Molecular Brain Research.* 25,178-187.
- Carrasco, G. A. & Van de Kar, L. (2003). Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur. J. Pharmacol.* 463, 235-272.
- Chen, J., Lee C. T., Errico, S., Deng, X., Cadet, J. L., & Freed, W. J. (2005). Protective effects of delta(9)-tetrahydrocannabinol against N-methyl-d-aspartate-induced AF5 cell death. *Molecular Brain Research* 4; 134(2), 215-225.
- Cho, C. M., Hirsch, R., & Johnstone, S. (2005). General and oral health implications of cannabis use. *Australian Dental Journal* 50(2), 70-74.
- File, S. E. & Seth, P. (2003). A review of 25 years of the social interaction test. *European Journal of Pharmacology* 463, 35-53.
- García-Galloway, E., Arango, C., Pons, S., & Torres-Alemán, I. (2003). Glutamate excitotoxicity attenuates insulin-like growth factor-I prosurvival signaling. *Molecular and Cellular Neuroscience* 24, 1027-1037.
- Herrero, J. A. (2010). Tendencias y perspectivas del sector forestal hasta el año 2020. República de Cuba. Ministerio de la Agricultura. Dirección Forestal.
- Hossmann, K. A. (1994). Viability thresholds and the penumbra of focal ischemia. *Annals of Neurology* 36, 557-65.
- Kwakkel, G., Kollen, B., & Lindeman E. (2004). Understanding the pattern of functional recovery after stroke: Facts and theories. *Restorative Neurology and Neuroscience* 22, 281-299.
- Mergenthaler, P., Dirnagl, U., & Meisel, A. (2004). Pathophysiology of stroke: lessons from animal models. *Metabolic Brain Disease* 19(3/4), 102-112.
- Millán, M. J. (2003). The neurobiology and control of anxious states. *Progress in Neurobiology* 70, 83-244.
- Soza, T.I. (2007). Neuroprotección en la isquemia cerebral. Experiencias con la eritropoyetina humana recombinante. *Revista Ecuatoriana de Neurología.* 16(2), 63-75.
- Panikashvili, D., Mechoulam, R., Beni, S. M., Alexandrovich, A., & Shohami, E. (2005). CB₁ cannabinoid receptors are involved in neuroprotection via NF- κ B inhibition. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 25(4), 477-484.
- Persson, L., Hårdemark, H. G., Bolander, H. G., Hillered, L., & Olsson, Y. (1998). Neurologic and neuropathologic outcome after middle cerebral artery occlusion in rats. *Stroke* 20, 641-645.
- Piomelli, D. (2005). The endocannabinoid system: a drug discovery perspective. *Curr Opin Investig Drugs* 6(7), 672-679.
- Siesjö, B. K. (1992). Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. *Journal Neurosurgery* 77, 169-84.
- Tamura, A., Graham, D. I., McCulloch, J. & Teasdale, G. M. (1981). Focal cerebral ischemia in the rat: Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion.

- Journal of *Cerebral Blood Flow & Metabolism* 1, 53-60.
- Van der Worp, H. B.; de Haan, P., Morrema, E. & Kalkman C. J. (2005). Methodological quality of animal studies on neuroprotection in focal cerebral ischaemia. *Journal Neurology*, 252, 1108-14.
- Viveros, M. P., Marco, E. M., & File, S. E. (2005). Endocannabinoid system and stress and anxiety responses. *Pharmacology Biochemistry Behav.* 81 (2), 331-42.
- Witkin, J. M., Tzavara, E. T., & Nomikos, G. G. (2005). A role for cannabinoid CB1 receptors in mood and anxiety disorders. *Behavioural Pharmacology* 16(5-6), 315-331.
- Wotjak, C. T. (2005). Role of endogenous cannabinoids in cognition and emotionality. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 5(7), 659-670.
- WHO, (World Health Organization) (2010). Prevention of mental disorders: Effective interventions and policy options: abridged report / a report of the World Health organization. Research Center at the Universities of Nijmegen and Maastricht.