

Diss. ETH No. 19465

# **Cannabinoids and CB<sub>1</sub> Receptors in Spinal Nociceptive Processing**

A Dissertation Submitted to the  
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY  
ETH ZURICH

for the Degree of  
Doctor of Sciences

Presented by

**AKO KATO**

Eidg.dipl.pharm., University of Basel

Born 24.12.1981

Citizen of Coldrerio TI, Switzerland

Accepted on the Recommendation of  
Prof. Dr. Hanns Ulrich Zeilhofer, examiner  
Prof. Dr. Kaspar Vogt, co-examiner  
Prof. Dr. Urs Gerber, co-examiner  
Prof. Dr. David Wolfer, co-examiner

2010

## Summary

The medicinal uses of *cannabis* have been known for more than 4000 years especially for the treatment of pain. However, these days *cannabis* is more commonly known for its use as a recreational drug second only to alcohol and tobacco, whereas its use for pain therapy still remains a matter for debate. On one hand *cannabis*-based molecules are potential analgesics and on the other hand they can elicit harmful, psychotropic, side effects. In recent years, a large number of preclinical studies have provided strong evidence supporting analgesic effects of cannabinoids particularly in the treatment of chronic pain. Furthermore, the discovery of the cannabinoid CB<sub>1</sub> receptors and their endogenous ligands (endocannabinoids) prompted the investigation of possible mechanisms involved in cannabinoid-mediated analgesia. It is known that CB<sub>1</sub> receptors are densely expressed in the superficial dorsal horn of the spinal cord, where they reduce transmitter release both from primary afferent fibers and from inhibitory dorsal horn interneurons. However, it is unknown how these synaptic effects relate to the pain modulating actions of *cannabis*.

The 1<sup>st</sup> project of this dissertation provides a provocative insight into the role of the endocannabinoids in a specific form of heterosynaptic pain sensitization induced by intense C fiber stimulation. This attributes to endocannabinoids a novel and unexpected pro-nociceptive function which may limit the analgesic efficacy of spinal cannabinoids.

The 2<sup>nd</sup> project focuses on CB<sub>1</sub>-dependent long-term depression (LTD) at the level of primary afferent nociceptor synapses as a possible mechanism of cannabinoid-mediated anti-nociception. Strikingly, even though electrophysiological recordings demonstrate that activation of CB<sub>1</sub> receptors on primary nociceptive afferents induces LTD, the antihyperalgesic action of cannabinoids were retained in mice lacking CB<sub>1</sub> receptors on primary nociceptors.

The 3<sup>rd</sup> project addresses alternative mechanisms of spinal cannabinoid-mediated antihyperalgesia. Electrophysiological and behavioral experiments performed in this project suggest that a CB<sub>1</sub> receptor-mediated reduction in glycine release not only interferes with synaptic inhibition but also with the activation of NMDA receptors. Normally, NMDA receptors require the binding of both glutamate and glycine for full

activation. Thus, reduced availability of glycine at NMDA receptors might contribute to the spinal analgesia by cannabinoids.

This thesis contributes therefore to a better understanding of the relevance of the endocannabinoid-system in the modulation of spinal pain processing. New hypothesis describing a possible mechanism underlying cannabinoid-mediated analgesia are proposed.

## Riassunto

L'uso terapeutico di preparati medicinali a base di *cannabis* è noto da più di 4000 anni in particolare per il trattamento del dolore. Tuttavia, al giorno d'oggi la *cannabis* è più popolare per il suo uso ricreazionale come droga nelle prime classifiche dopo l'alcool e il tabacco, mentre il suo uso nella terapia del dolore rimane ancora un argomento di discussione. Da un lato le molecole naturali o i derivati sintetici dalla *cannabis* sono potenziali analgesici, dall'altro possono provocare effetti collaterali dannosi, soprattutto psicotropici. Tuttavia negli ultimi anni, un gran numero di studi preclinici hanno fornito risultati promettenti a sostegno dei cannabinoidi come analgesici acquistando un grande interesse in particolare nel trattamento del dolore cronico. Inoltre, la scoperta dei recettori CB<sub>1</sub> dei cannabinoidi e dei loro ligandi endogeni (endocannabinoidi), ha portato ad investigare possibili meccanismi coinvolti nell'analgesia mediata dai cannabinoidi. È risaputo che i recettori CB<sub>1</sub> sono densamente localizzati nel corno dorsale superficiale del midollo spinale, dove inibiscono il rilascio dei neurotrasmettitori dalle fibre afferenti primarie e dagli interneuroni inibitori del corno dorsale. Ciò nonostante è ancora incerto il coinvolgimento di questi effetti sinaptici mediati dai cannabinoidi in relazione alla modulazione del dolore.

Il primo progetto di questa tesi fornisce una visione provocatoria del ruolo degli endocannabinoidi in una forma specifica di sensibilizzazione centrale etero-sinaptica del dolore indotto da un'intensa stimolazione delle fibre C. Ciò attribuisce agli endocannabinoidi un ruolo funzionale inaspettato. La loro azione pro-nocicettiva suggerisce, infatti, una limitazione dell'efficacia analgesica dei cannabinoidi somministrati per via spinale.

Il secondo progetto si concentra su una forma di depressione a lungo termine (LTD) CB<sub>1</sub> dipendente a livello di sinapsi tra nocicettori afferenti primari e neuroni di secondo ordine come possibile meccanismo di anti-nocicezione mediata dai cannabinoidi. Sorprendentemente, anche se le analisi elettrofisiologiche dimostrano che l'attivazione dei recettori CB<sub>1</sub> sulle afferenze nocicettive primarie induce LTD, l'azione anti-iperalgica dei cannabinoidi è ancora presente nei topi privi di recettori CB<sub>1</sub> specificamente sulle afferenze nocicettive.

Il terzo progetto tratta un meccanismo anti-iperalgesico alternativo mediato dall'attivazione dei recettori CB<sub>1</sub> a livello spinale. Analisi elettrofisiologiche e test comportamentali in un modello di dolore infiammatorio nei topi indicano che una riduzione del rilascio della glicina mediata dai CB<sub>1</sub> non soltanto interferisce con l'inibizione sinaptica, ma anche con l'attivazione dei recettori eccitatori NMDA. Normalmente, il recettore NMDA richiede il legame nello stesso tempo di glutammato e glicina per la sua completa attivazione. La ridotta disponibilità di glicina a livello dei recettori NMDA può contribuire ad un possibile meccanismo di analgesia spinale mediata dall'attivazione dei CB<sub>1</sub>.

Questa tesi contribuisce quindi ad una migliore comprensione della rilevanza del sistema endocannabinoide nella modulazione del processo spinale nocicettivo. Inoltre, si propone una nuova ipotesi sui cannabinoidi somministrati per via spinale che coinvolge un meccanismo alternativo per la mediazione del loro effetto analgesico.