

# ACTUALIZACIÓN SOBRE EL POTENCIAL TERAPÉUTICO DE LOS CANNABINOIDES



**Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides**

ISBN: 978-84-692-0828-1

Depósito Legal: M-13638-2009

Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides (SEIC)

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular

Facultad de Medicina

Universidad Complutense de Madrid

28040 Madrid

e-mail: [seic@med.ucm.es](mailto:seic@med.ucm.es)

<http://www.ucm.es/info/seic-web/>

teléfonos: 91 394 14 50 / 91 394 46 68

Fax: 91 396 16 91

# Índice

---

Prólogo	7
Capítulo 1. Estado actual de los conocimientos sobre la bioquímica y la fisiología del SCE	9
Capítulo 2. Avances recientes en la farmacología del sistema endocannabinoide	29
Capítulo 3. Potencial de los cannabinoides en el tratamiento del dolor	49
Capítulo 4. Potencial de los cannabinoides en el tratamiento de la isquemia	63
Capítulo 5. Potencial de los cannabinoides en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.	85
Capítulo 6. Potencial de los cannabinoides en el tratamiento de la enfermedad de Huntington.	105
Capítulo 7. Potencial de los cannabinoides en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.	127
Capítulo 8. Potencial de los cannabinoides en el tratamiento de la esclerosis múltiple.	141

Capítulo 9. Potencial de los cannabinoides en el tratamiento de la lesión medular.. ..... 153

Capítulo 10. Potencial antiemético de los cannabinoides 169

Capítulo 11. Potencial antitumoral de los cannabinoides 183

Capítulo 12. Potencial orexígeno de los cannabinoides. 193

Capítulo 13. Potencial del sistema cannabinoide en el tratamiento de la dependencia a drogas de abuso..... 219

Capítulo 14. Relación del sistema cannabinoide con la fisiopatología y el tratamiento de la esquizofrenia..... 239

Capítulo 15. Relación del sistema cannabinoide con la fisiopatología y el tratamiento de la depresión.. ..... 257

Autores ..... 271

## Prólogo

---

Aunque en realidad no haya pasado tanto tiempo, quedan ya muy lejos las etapas iniciales de investigación en el campo de los cannabinoides. Aquellos estudios pioneros en los que se aislaron y caracterizaron los principales componentes del cannabis fueron rápidamente desbordados por el descubrimiento de la existencia en el cuerpo humano de un sistema cannabinoide, implicado en múltiples procesos fisiológicos y cuya alteración estaba relacionada con muy diversos tipos de patologías.

Nuestro cerebro, así como muchos órganos periféricos, fabrican, contienen y utilizan una serie de moléculas que denominamos cannabinoides endógenos o “endocannabinoides” que, aunque estructuralmente diferentes a los cannabinoides presentes en la marihuana, el hachís o cualquier otra preparación de la *cannabis sativa*, forman parte de un sistema de modulación del organismo que contiene las dianas sobre las que actúan los cannabinoides vegetales.

Una parte del auge que ha experimentado la investigación sobre los cannabinoides deriva de las expectativas que se han creado en torno a las posibles aplicaciones terapéuticas de estas sustancias, un tema de evidente actualidad y que desborda de hecho la frontera de lo estrictamente científico o clínico. Las investigaciones realizadas están poniendo de manifiesto que la manipulación farmacológica de este nuevo sistema de modulación con moléculas progresivamente más selectivas, en cuanto a las dianas sobre las que pueden actuar, puede proporcionar beneficio terapéutico en diversas patologías, algunas de ellas huérfanas hasta el momento de eficaces tratamientos farmacológicos.

En el año 2003 la Agencia Antidroga de la Comunidad de Madrid financió un libro, en el que participamos los miembros

de la SEIC, titulado “Actualización de los conocimientos acerca del uso terapéutico de los cannabinoides” en el que se intentaba “revisar de forma precisa, el estado de la ciencia en cuanto al conocimiento del sistema cannabinoide y actualizar los conocimientos acerca de la utilización terapéutica de los mismos”.

Sin embargo, dada la velocidad a la que se desarrollan los conocimientos en el campo de los cannabinoides, los datos presentados en aquel libro ya pertenecen al pasado. Hemos creído, por tanto, conveniente realizar una actualización en la que presentamos los avances producidos en los últimos años. Para ello, la presente monografía aborda de manera exhaustiva el estado actual de la investigación sobre aquellas patologías en las que pueda estar implicado el sistema cannabinoide, a la búsqueda de las posibles aplicaciones terapéuticas de los cannabinoides. Los autores de cada uno de los capítulos son expertos en el tema y sus publicaciones han aparecido en revistas internacionales de reconocido prestigio. Todo ello es garantía, no solo de la actualidad de los resultados presentados, sino también de la calidad del análisis realizado sobre las posibles aplicaciones de los cannabinoides a los diferentes tipos de patologías que son consideradas a lo largo del libro.

# Sistema cannabinoide endógeno: aspectos bioquímicos e implicación fisiológica

---

# 1

*I. Díaz-Laviada Marturet*

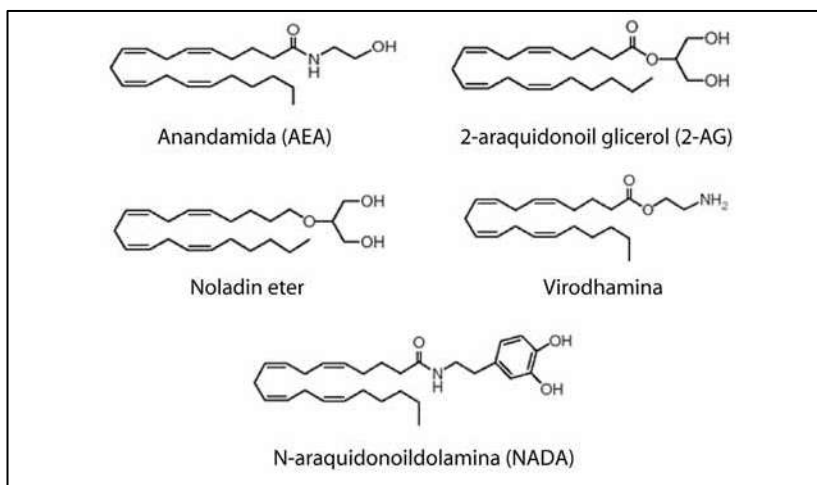
## 1.1. Introducción

El Sistema Cannabinoide Endógeno (SCE) o Endocannabinoide es un nuevo sistema regulador capaz de modular gran variedad de efectos fisiológicos, formado por ligandos endógenos, receptores específicos y mecanismos de síntesis y degradación. Los ligandos endógenos, son una nueva clase de reguladores lipídicos entre los que se encuentran amidas y ésteres de ácidos grasos de cadena poliinsaturada. Sus principales dianas moleculares son los receptores de cannabinoides tipo 1 y tipo 2, a los que también se unen varios de los componentes psicoactivos de la planta *Cannabis sativa* y por ello, los endocannabinoides muestran una actividad cannabimimética, es decir, reproducen la mayoría de los efectos descritos para los derivados del *Cannabis*. Una vez sintetizados y liberados, los endocannabinoides son internalizados de nuevo en la células mediante un sistema de recaptación que incluye diversas enzimas hidrolíticas. Algunos de los endocannabinoides pueden unirse, además, a otros receptores entre los que se encuentra el receptor de vanilloides TRPV1 y el receptor nuclear PPAR. Todo ello forma parte del SCE, que se detalla a continuación.

## 1.2. Cannabinoides endógenos o endocannabinoides

Los endocannabinoides se definen como compuestos endógenos, producidos en diferentes órganos y tejidos, capaces de unirse a los receptores de cannabinoides. En la actualidad se han identificado varios tipos de cannabinoides endógenos, todos de

naturaleza lipídica y derivados de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga. Las amidas de ácidos grasos poliinsaturados están formadas por etanolamina unida mediante enlace amida a un ácido graso de al menos 20 carbonos y tres dobles enlaces. En este grupo se encuentra el primer endocannabinoide descubierto, la anandamida (*N*-araquidonoiletanolamina, AEA) (Devane y cols., 1992), así como la *N*-homolinolenoiletanolamina y la *N*-docosatetraenoiletanolamina (Bisogno, 2008). El 2-araquidonoilglicerol (2-AG) es un éster entre el ácido araquidónico y el glicerol, fue aislado de intestino canino (Mechoulam y cols., 1995) y parece ser el agonista cannabinoide selectivo por excelencia (Sugiura y cols., 2002). Los otros tipos incluyen los endocannabinoides recientemente descritos, 2-araquidonil gliceril éter (noladin eter), *O*-araquidonoiletanolamina (virodhamina), (Porter y cols., 2002), *N*-araquidonoil dopamina (NADA) y *N*-oleoildopamina (Pertwee y cols., 2008 ), cuya relevancia fisiológica está aún por determinar. En la Fig. 1.1 se representan las estructuras químicas de los principales endocannabinoides.



**Figura 1.1.:** Estructura química de algunos cannabinoides endógenos.

Además se han descrito otros lípidos relacionados, que presentan actividades biológicas similares a los cannabinoides pero que no se unen a los receptores, a los que se denomina de forma general compuestos cannabimiméticos, como la palmitoiletanolamida que exhibe efectos analgésicos y antiinflamatorios o la es-



tearoiletanolamida que ejerce efectos anorexígenos, cuyo mecanismo de acción está todavía por esclarecer (Bisogno, 2008).

A pesar de la estructura similar de estos dos endocannabinoides, existen diferencias sustanciales entre ellos. Las acciones de la AEA y 2-AG sobre los receptores CB<sub>1</sub> son diferentes. Mientras que el 2-AG parece ser agonista total, la AEA exhibe una eficacia menor, actuando como agonista parcial, al menos en aquellas zonas en las que la densidad de receptores CB<sub>1</sub> es menor.

En humanos, se ha descrito la presencia de anandamida en cerebro y en tejidos periféricos como bazo, corazón, testículos, útero (Felder y cols., 1996) y endotelio vascular (Randall, 2007). Las áreas del cerebro que tienen mayor concentración de anandamida (corteza hipocámpal, estriado y cerebelo) coinciden con las zonas en las que la expresión de CB<sub>1</sub> es mayor (Felder y cols., 1996). Sin embargo, los niveles encontrados en fluidos corporales, plasma, suero o líquido cefalorraquídeo son relativamente bajos, lo que apoya la idea de que la anandamida actúa localmente, produciéndose cerca de sus lugares de acción. Uno de los tejidos con mayor concentración de anandamida es el útero, lo que indica el papel relevante de esta sustancia en la reproducción, como se verá más adelante. Por otra parte, se ha detectado la presencia de 2-AG en cerebro, intestino, páncreas, bazo hígado, pulmón y riñón (Sugiura y cols., 2002). El hecho de que los niveles de 2-AG en cerebro sean unas 200 veces superiores a los de anandamida, y que el 2-AG se comporte como agonista total frente a CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub> hace proponer a algunos autores que este compuesto sea el verdadero agonista endógeno (Sugiura y cols., 2006).

Los niveles de estos endocannabinoides varían en respuesta a diferentes estímulos, en los distintos estadios del desarrollo y en diversas situaciones patológicas (Di Marzo y cols., 2007), lo que resalta la importancia fisiopatológica del SCE y posibilita la intervención sobre este sistema con fines terapéuticos.

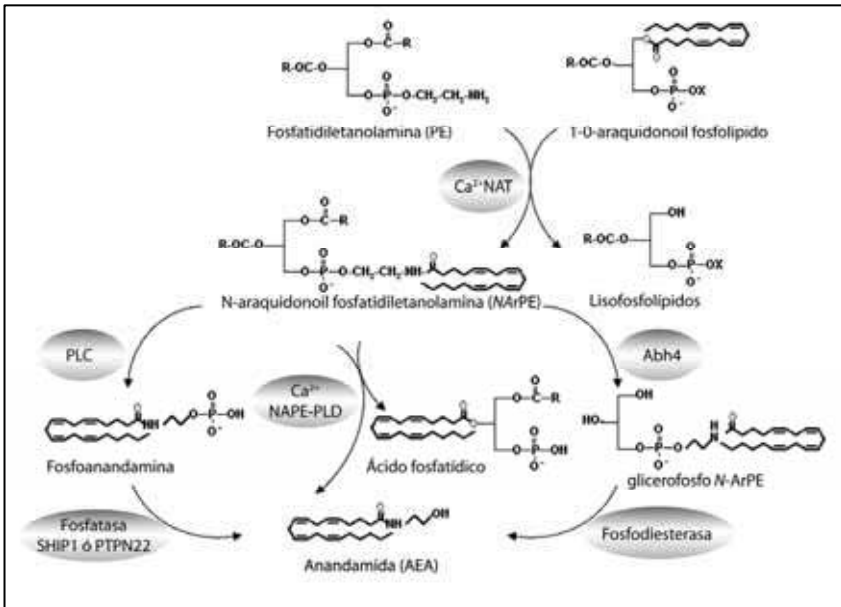
### **1.3. Biosíntesis y degradación de anandamida y 2-araquidonoilglicerol**

Los cannabinoides se sintetizan “a demanda”, en el momento en que se necesitan, y se liberan al exterior inmediatamente después de su producción. En este sentido son similares a otros moduladores, como prostaglandinas y leucotrienos y diferentes a los neurotransmisores clásicos, que se almacenan en

vesículas antes de ser liberados. Los cannabinoides endógenos se sintetizan y liberan en respuesta a un incremento en la concentración intracelular de calcio, producida por una despolarización, o tras activación de un receptor metabotrópico acoplado a  $G_{q/11}$ , lo que sugiere que se producen en momentos de intensa actividad del Sistema Nervioso Central (Mackie, 2006).

Todavía no se ha descrito un mecanismo realmente eficiente para la biosíntesis de anandamida. La AEA se puede formar a partir de ácido araquidónico (AA) y etanolamina, mediante una reacción catalizada por la amidohidrolasa de ácidos grasos (FAAH) (Ueda y cols., 1995). Sin embargo, es posible que esta vía no tenga relevancia fisiológica, ya que para que se produzca esta reacción se requieren concentraciones excesivamente elevadas de los sustratos (Okamoto y cols., 2007). La AEA también se puede formar a partir de la fosfatidiletanolamina (PE) presente en las membranas tras ser hidrolizada por fosfodiesterasas. Esta ruta se desarrolla en dos pasos. En primer lugar se forma el precursor *N*-araquidonoilfosfatidiletanolamina (*N*-ArPE) mediante transferencia de un ácido graso desde la posición sn-1 de un glicerofosfolípido (sn-1 *O*-araquidonoil fosfolípido) al grupo amino de la PE. La enzima responsable de esta reacción, una *N*-acil transferasa dependiente de calcio (NAT), no ha sido clonada todavía aunque ha sido parcialmente purificada de cerebro y testículo de rata y de cerebro y corazón de perro (revisado en Okamoto y cols., 2007). Por otra parte, se ha aislado parcialmente una enzima de cerebro de rata que presenta actividad *N*-aciltransferasa que también podría participar en la síntesis del precursor (Jin y cols., 2007). En segundo lugar, se ha de producir la hidrólisis de *N*-ArPE liberándose ácido fosfátídico y anandamida. Esta reacción está catalizada por una fosfolipasa D (NAPE-PLD) dependiente de calcio, diferente a las PLDs conocidas, que ha sido clonada recientemente y que pertenece al grupo de las metalo- $\beta$ -lactamasas (Okamoto y cols., 2007; Jin y cols., 2007; Okamoto y cols., 2004; Wang y cols., 2006). Esta enzima hidroliza preferentemente *N*-acil fosfatidiletanolamina (NAPE) frente a glicerofosfolípidos, pero no presenta selectividad entre los diferentes ácidos grasos de las posiciones sn-1 y sn-2. La NAPE-PLD es constitutivamente activa, por lo que la etapa limitante de la síntesis de anandamida debe de ser la primera. Esta reacción es también la ruta principal de síntesis de otras *N*-aciletanolaminas como *N*-palmitoiletanolamina, *N*-oleoiletanolamina (OEA) o *N*-estearoiletanolamina y por ello la sín-

tesis de AEA suele producirse conjuntamente con estas *N*-aciletanolaminas. Aunque estos congéneres de AEA no se unen a CB<sub>1</sub> ni a CB<sub>2</sub>, presentan propiedades antinociceptivas y antiinflamatorias (Dalle Carbonare y *cols.*, 2008) y recientemente se ha descrito que podrían unirse a otros receptores del SCE como TRPV1, GPR55, GPR119 o PPAR $\alpha$ . Estudios de hibridación *in situ* y de microscopía indican que la NAPE-PLD se localiza preferentemente en los axones presinápticos en giro dentado (Egertová y *cols.*, 2008) y en hipocampo, lo que contrasta con el posible papel de la anandamida como neurotransmisor retrógrado (Egertová y *cols.*, 2008). Por otro lado, esta ruta tampoco parece ser muy eficiente ya que los niveles del precursor *N*-ArPE detectados en el cerebro son excesivamente bajos.

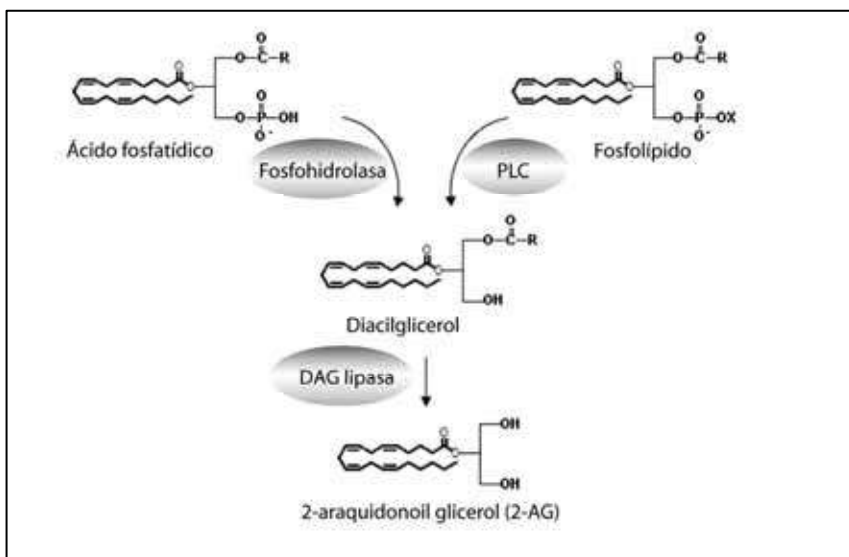


**Figura 1.2.:** Posibles rutas de biosíntesis de Anandamida.

Datos recientes indican que pueden existir otros dos mecanismos de síntesis de AEA. Uno de ellos sería la hidrólisis de *N*-ArPE por una fosfolipasa C (PLC) para rendir fosfoanandamida que sería posteriormente desfosforilada por fosfatasas entre las que se incluyen la inositol 5'fosfatasa SHIP1 y la tirosina fosfatasa PTPN22 (Liu y *cols.*, 2008). En el otro mecanismo, se produci-

ría una doble desacilación de *N*-ArPE por una hidrolasa (Abh4) (Simon y *cols.*, 2006) y posterior hidrólisis del glicerofosfo *N*-ArPE para dar anandamida y glicerol-P (Fig. 1.2) (Liu y *cols.*, 2008).

En cuanto a la biosíntesis de 2-AG, se produce fundamentalmente a partir de diacilglicerol (DAG) con AA en la posición 2 (Fig. 1.3). El DAG es un mediador lipídico habitual en las células y puede formarse bien a través de la hidrólisis de fosfoinositol-bis-fosfato (PIP<sub>2</sub>) por una fosfolipasa C o a tras la retirada del grupo fosfato del ácido fosfatídico (PA) por una fosfohidrolasa. El paso de DAG a 2-AG está catalizado por dos DAG lipasas (DAGL $\alpha$  y DAGL $\beta$ ) selectivas para la posición 1, que han sido recientemente clonadas (Bisogno y *cols.*, 2008). Estas enzimas están localizadas en la membrana plasmática, son estimuladas por Ca<sup>2+</sup> y por glutation y contienen una secuencia típica de serina lipasas (Bisogno y *cols.*, 2008). Recientemente se ha sugerido que debe de existir otra vía de síntesis de 2-AG que sería responsable de mantener los niveles basales de este mediador (Wettschureck y *cols.*, 2006).



**Figura 1.3.:** Principales rutas de biosíntesis de 2-AG.

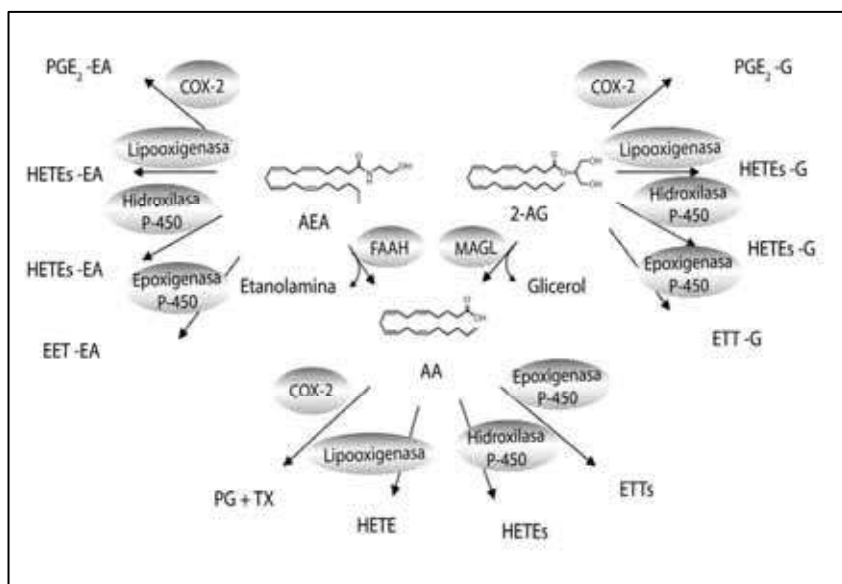
La degradación de los endocannabinoides es intracelular por lo que es necesario que estos compuestos vuelvan a entrar

en la célula para ser posteriormente metabolizados. Al ser compuestos lipofílicos podrían atravesar la membrana por difusión y por ello actualmente hay controversia sobre la existencia de un mecanismo de transporte facilitado (Hillard y cols., 2003; McFarland y cols., 2004). Sin embargo, hay muchos datos que indican que el transporte de anandamida es un proceso saturable e inhibible farmacológicamente, habiéndose demostrado la eficacia de los inhibidores en diversos modelos patológicos (Fowler y Jacobsson, 2002). El mecanismo de transporte de los endocannabinoides sería bidireccional y podría funcionar tanto para introducir los cannabinoides liberados como para liberar estos compuestos tras su síntesis (Di Marzo, 2008). Los cannabinoides también podrían introducirse por un mecanismo rápido de endocitosis tras su concentración en *lipid rafts* ricos en caveolina (Danise y cols., 2007). Una vez dentro de la célula, la anandamida se hidroliza a etanolamina y AA por la acción de una anandamida amidohidrolasa o amido hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) localizada en membrana, que presenta una secuencia rica en serina, glicina y alanina, conservada en la mayoría de las amidasas. FAAH puede hidrolizar también 2-AG, oleamida y otras amidas de ácidos grasos (Labar y Michaux, 2007). El hecho de que FAAH se localice preferentemente en las neuronas postsinápticas coincidiendo con el receptor CB<sub>1</sub> hace pensar que esta enzima podría tener un papel en la regulación de la actividad de CB<sub>1</sub> (Gulyas y cols., 2004). Estudios de proteómica funcional han revelado la existencia en humanos, de otra amidohidrolasa (FAAH-2) codificada en otra región del DNA, que tiene un 20% de homología con FAAH pero que presenta un perfil similar de localización tisular, inhibición farmacológica y especificidad de sustrato (Wei y cols., 2006). Recientemente se ha clonado otra enzima (NAAA) capaz de catalizar la misma reacción que FAAH, con un pH óptimo de 4,5-5, localizada en los lisosomas cuya secuencia no guarda homología con FAAH (Tsuboi y cols., 2007).

La hidrólisis de 2-AG en glicerol y AA se realiza mayoritariamente por la monoacilglicerol lipasa (MAGL), una serina lipasa aislada originalmente de tejido adiposo, pero muy abundante en terminales presinápticos del tejido nervioso (Di Marzo, 2008).

La formación de AA tras la hidrólisis de estos dos endocannabinoides, no sólo supone la finalización de la señal sino

que puede ser el punto de partida para la formación de compuestos derivados del AA con funciones biológicas múltiples (Fig. 1.4). Por otro lado, tanto la AEA como el 2-AG son sustratos de algunas enzimas del metabolismo de AA como COX-2, 12- y 15-lipooxigenasas y oxigenasas dependientes de citocromo P-450, lo que añade complejidad al metabolismo de los cannabinoides y potencialmente amplía la generación de moléculas bioactivas (Fig. 1.4) (Guindon y Hohmann, 2008).



**Figura 1.4.:** Metabolismo oxidativo de los endocannabinoides (modificado de Guindon y Hohmann, 2008).

Así por ejemplo, recientemente se ha descrito que COX-2 transforma el 2-AG en prostaglandina E<sub>2</sub> glicerol éster (PGE<sub>2</sub>-G), un compuesto que produce hiperalgesia in vivo (Hu y cols., 2008). Otra vía de degradación de la anandamida y del 2-AG es la oxigenación enzimática por hidroxilasas y lipooxigenasas dependientes de citocromo P-450 generándose epóxidos (ácido epoxieicosatetraenoico, EET) e hidroxiaácidos (ácido hidroxieicosatetraenoico, HETE). Estos productos derivados del metabolismo de AEA y 2-AG, tienen diversas propiedades biológicas como regulación de la viabilidad celular, movilización de calcio y

modulación de la transmisión sináptica (Fowler, 2007) lo que incrementa la complejidad del sistema cannabinoide endógeno.

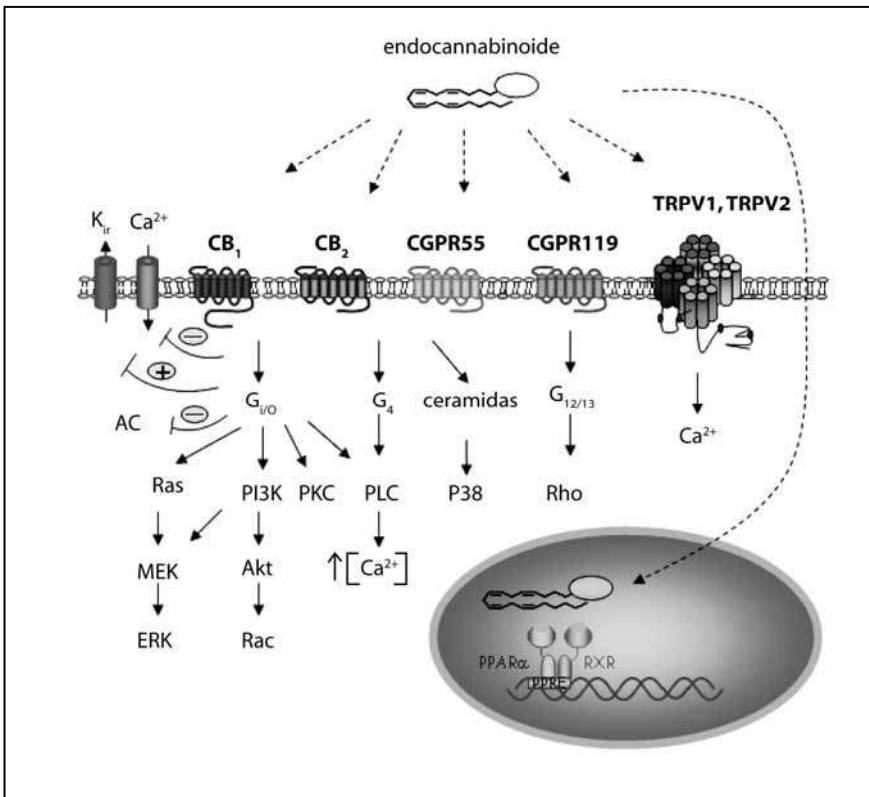
#### 1.4. Receptores de cannabinoides y mecanismo de señalización

Los receptores de cannabinoides se denominan por las siglas CB y un subíndice que indica el orden en el que fueron descubiertos (Howlett, 2002). Hasta el momento hay dos tipos de receptores de cannabinoides identificados CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub>, aunque se ha encontrado un nuevo receptor, CPR55, que también puede unir ligandos cannabinoides y que podría convertirse en CB<sub>3</sub> y se propone que el receptor huérfano GPR119 podría ser el receptor de oleoiletanolamida in vivo. Estos cuatro receptores pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G (GPCRs) que atraviesan 7 veces la membrana plasmática.

El receptor CB<sub>1</sub> está ampliamente distribuido por el sistema nervioso central, presentando mayor abundancia en ganglio basal, cerebelo, neocórtex e hipocampo, una zona esencial en procesos de aprendizaje y memoria (Herkenham y cols., 1991). CB<sub>1</sub> está también presente en tejidos periféricos como corazón, testículo, próstata, tejido vascular y sistema inmune. CB<sub>2</sub> juega un papel importante en la respuesta inmune y en la inflamación, expresándose abundantemente en células del sistema inmune y hematopoyéticas, aunque también está presente en el sistema nervioso, especialmente en situaciones patológicas y neuroinflamatorias.

Desde un punto de vista filogenético, CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub> se asemejan a los receptores de esfingosina-1-P (S1P<sub>1-5</sub>) implicados en la regulación de la supervivencia y crecimiento celular (Huwiler y cols., 2008). Los receptores CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub> están acoplados a través de proteínas G<sub>i/o</sub>, negativamente a adenilil ciclasa y positivamente a MAPK (Fig. 1.5). Además pueden regular canales iónicos a través de G<sub>i/o</sub>. En particular, activan canales de potasio transitorios de tipo A (colaboran en la repolarización) y canales de potasio rectificadores del interior, mientras que inhiben canales de potasio de tipo D (activan la onda inicial de entrada de calcio) y canales de calcio de tipo N y P/Q. La activación de estos mecanismos de señalización por CB<sub>1</sub> en las terminales presinápticas ocasiona la inhibición de la neurotransmisión y de la excitabilidad neuronal, una de las principa-

les manifestaciones fisiológicas de los cannabinoides, como se verá más adelante. En determinadas circunstancias los receptores CB<sub>1</sub> también pueden acoplarse a G<sub>s</sub> y a G<sub>q/11</sub> (revisado en Díaz-Laviada y cols., 2005; Childers, 2006; Demuth y Molleman, 2006). Además, se ha observado en numerosas ocasiones que los ligandos cannabinoides inducen un incremento en la concentración intracelular de calcio. Este acción se produce fundamentalmente mediante la activación de fosfolipasa C y activación de los receptores de IP<sub>3</sub> del retículo (Díaz-Laviada y Ruiz-Llorente, 2005; De Petrocellis y cols., 2007).



**Figura 1.5.:** Principales receptores de cannabinoides y sus vías de señalización.

Entre los mecanismos de señalización intracelular activados por cannabinoides se encuentran tanto cascadas pro-mitogénicas



como cascadas de estrés. Los cannabinoides activan Raf/MEK/ERK en multitud de células y tejidos *in vitro* (revisado en Demuth y Molleman, 2006) e *in vivo* (Moranta y cols., 2007). El mecanismo por el cuál se activa esta vía no está del todo claro y depende del tipo celular. En algunas ocasiones es una disminución del cAMP intracelular con la consiguiente inhibición de PKA, lo que produce activación de la ruta de ERK. Otras posibles vías incluyen interacción con  $\beta$ -arrestinas y activación de PI3K/Akt. Los cannabinoides activan la cascada de PI3K/Akt en distintos tipos celulares, lo que suele estar relacionado con respuestas de supervivencia y protección celular (Diaz-Laviada y Ruiz-Llorente, 2005; Ozaita y cols., 2007). Sin embargo, y en concordancia con el efecto bifásico de los cannabinoides, también hay estudios que demuestran una inhibición tanto de MEK/ERK como de PI3K/Akt (Ellert-Miklaszewska y cols., 2005; Greenhough y cols., 2007), aunque la participación de los receptores de cannabinoides en estas acciones no siempre está demostrada.

Por otro lado, los cannabinoides también activan vías de estrés, como la acumulación de ceramida y la cascada de p38 MAPK, a través de la cual inhiben el crecimiento celular (Gustafsson y cols., 2006).

GPR55 está acoplado a  $G_{12/13}$  y es activado por los cannabinoides endógenos anandamida, 2-AG, virodamina, palmitoiletanolamida y oleoiletanolamida (Pertwee, 2007). La activación de este receptor en neuronas del ganglio dorsal, induce movilización del reservorio intracelular de calcio a través de un mecanismo que implica a  $G_q$ ,  $G_{12/13}$ , RhoA y PLC (Lauckner y cols., 2008), lo que indica que la señalización de GPR55 es diferente de la de  $CB_1$ .

GPR119 es un receptor huérfano que se expresa fundamentalmente en páncreas y tracto gastrointestinal y que está probablemente acoplado a  $G_s$  (Brown, 2007). Es activado por oleoiletanolamida *in vitro* aunque su papel fisiológico está aún por determinar.

Además, algunos endocannabinoides pueden unirse al receptor de vanilloides tipo 1 (TRPV1), canal catiónico no selectivo (permeable a  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ , y  $H^+$ ) que pertenece a la familia de los receptores activados por potencial transitorio (TRPs). TRPV1 media la sensación de dolor en respuesta al calor ya que se estimula por temperaturas superiores a  $42^\circ C$ . Farmacológicamente se activa por capsaicina, el componente picante de los pimientos rojos y del chile, por cannabinoides endógenos y por metabolitos de la

lipooxigenasa (Vennekens y *cols.*, 2008). Algunos autores consideran que podría ser el receptor ionotrópico del SCE. Así, los endocannabinoides podrían regular algunas funciones fisiopatológicas a través de este receptor. Por ejemplo, recientemente se ha descrito que la *N*-estearoiletanolamina, inhibe la reacción alérgica inflamatoria mediante la activación de TRPV1 (Dalle Carbonare y *cols.*, 2008). Datos recientes indican que algunos cannabinoides, como el THC podrían activar también el receptor 2 de vanilloides TRPV2 (Neeper y *cols.*, 2007).

Además de unirse a receptores de membrana, los endocannabinoides son ligandos potenciales de los receptores nucleares activados por proliferados de peroxisomas (PPAR). Los PPAR son una familia de receptores nucleares o factores de transcripción activados por ligandos, con gran relevancia en la regulación del metabolismo lipídico, homeostasis de la glucosa y sensibilidad a insulina. Hay tres subfamilias denominadas PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta$  y PPAR $\gamma$  que presentan diferente distribución tisular (Stahel y *cols.*, 2008). Estos receptores dimerizan con el receptor de retinoides RXR para regular la transcripción de aquéllos genes con elementos de respuesta a PPAR (PPRE). Los ligandos endógenos de estos receptores son ácidos grasos y derivados de eicosanoides. Recientemente se ha observado que la OEA ejerce sus efectos orexígenos a través de la unión a PPAR $\alpha$ . También AEA, noladin eter y virhodamina se pueden unir a PPAR $\alpha$  (Sun y Bennett, 2007). Otros cannabinoides naturales como THC o el ácido ajulémico se unen a PPAR $\gamma$  a través del cuál ejercen efectos antiinflamatorios (Burstein, 2005). Por otra parte, la degradación de los endocannabinoides bien por FAAH y MAGL o por lipooxigenasas y ciclooxigenasas, puede generar nuevos ligandos de los PPARs produciéndose mecanismos de regulación cruzados y ampliando enormemente el potencial regulador de los endocannabinoides.

### 1.5. Acciones fisiológicas

El espectro de las acciones fisiológicas de los cannabinoides ha aumentado espectacularmente en los últimos años y podría decirse que el sistema endocannabinoide es un sistema modulador que influye en los tres sistemas esenciales de regu-

lación fisiológica: el sistema neurotransmisor, el sistema inmune y el sistema endocrino.

### 1.5.1. *Regulación de la plasticidad neuronal*

Una de las acciones de los cannabinoides mejor establecidas es la atenuación de la neurotransmisión. La activación de los receptores de cannabinoides en la neurona presináptica produce una inhibición, en diferentes regiones del cerebro, de la liberación de neurotransmisores excitadores e inhibidores como, GABA, Glutámico, serotonina, noradrenalina, dopamina o acetilcolina. De manera que el cannabinoide se produce en la neurona postsináptica, se libera en la hendidura sináptica y actúa sobre los receptores localizados en la neurona presináptica. La activación de estos receptores, a través de las diferentes vías de señalización intracelular y tras la modulación de los diferentes canales iónicos, produciría una inhibición del neurotransmisor de la neurona presináptica. Para que se sintetice el endocannabinoide, la neurona postsináptica tiene que aumentar su concentración intracelular de calcio, es decir, ha de sufrir una despolarización. Por ello se dice que los endocannabinoides son neurotransmisores retrógrados, porque actúan en sentido inverso, desde la neurona postsináptica hacia la presináptica. Si la sinapsis es de tipo excitatorio, la acción del cannabinoide será la de suprimir una excitación y en ese caso se habla de “supresión de excitación inducida por despolarización” (DSE, del inglés *depolarization-induced suppression of excitation*), mientras que si la sinapsis es de tipo inhibitorio, el cannabinoide producirá una “supresión de inhibición inducida por despolarización” (DSI, del inglés *depolarization-induced suppression of inhibition*) (Mackie, 2008). Aunque todavía quedan algunas cuestiones por aclarar, este sería el mecanismo por el cual el sistema cannabinoide endógeno regularía la plasticidad neuronal produciendo los efectos fisiológicos conocidos sobre la memoria, aprendizaje, procesos de recompensa (Solinas y cols., 2008), funciones motoras, respuesta al dolor y control del apetito (Matias y cols., 2006).

### 1.5.2. *Interacción con el Sistema Endocrino*

De forma análoga a lo que ocurre en la neurotransmisión, el efecto general del SCE sobre el sistema endocrino es inhibito-

rio, observándose una alteración de las hormonas sexuales, la prolactina, la hormona de crecimiento y las hormonas tiroideas (Brown y Dobbs, 2002). Los cannabinoides ejercen efectos negativos sobre el sistema hipotálamo-hipófiso-gonadal, encontrándose una disminución tanto de la secreción de LH como de FSH en la que participan los receptores CB<sub>1</sub> que se expresan en la hipófisis anterior (Battista y cols., 2008). Los machos son más sensibles a la regulación de las hormonas sexuales por cannabinoides que las hembras. Por otra parte, los cannabinoides producen una alteración global de la función sexual masculina, inhibiendo la espermatogénesis, motilidad y capacitación espermática y la reacción acrosómica (Rossato, 2008).

El SCE también ejerce una regulación del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal. Aunque estudios previos, utilizando cannabinoides sintéticos, parecían indicar que se producía un incremento en la producción de hormonas córticosuprarrenales, los datos recientes asignan al SCE un papel modulador inhibitorio del eje hipotálamo-hipófiso-adrenal, de manera que en estado basal, existe un tono endocannabinoide que inhibe tanto la secreción de la hormona adrenocorticotropa (ACTH) como de glucocorticoides (Cota, 2008). De esta manera, los endocannabinoides inhibirían la activación del eje frente a un estímulo estresante.

### 1.5.3. *Metabolismo y balance energético*

Como se verá más adelante (capítulo 12), cada vez son más numerosos los datos que indican que los endocannabinoides actúan como mediadores orexígenos. El SCE interviene en la regulación del apetito en áreas mesolímbicas del cerebro y actuando a través de los receptores CB<sub>1</sub> del hipotálamo (Bellocchino y cols., 2008). Los niveles de AEA y 2-AG aumentan en situaciones de ayuno (revisado en Matias y cols., 2006). Recientemente se ha descrito que los niveles de endocannabinoides y de *N*-aciletanolaminas están influenciados por el tipo de dieta. Concretamente el aceite de oliva y dietas ricas en ácidos grasos poliinsaturados aumentan los niveles de AEA (Artmann y cols., 2008). Por otro lado, el SCE promueve la gluconeogénesis y la síntesis de ácidos grasos en tejidos periféricos. El papel del SEC en la regulación del apetito y del metabolismo energético se debe en gran parte a su acción sobre la quinasa activada por adenosina 5'-monofosfato (AMP quinasa o AMPK). La AMPK es una

ser/thr quinasa que actúa como sensor del estado energético celular. Es activada por cualquier estímulo que reduzca los niveles de ATP aumentando los de AMP. Su activación pone en marcha reacciones catabólicas mientras que inhibe vías anabólicas (Kola y cols.; 2006). La AMPK está finamente regulada por varias hormonas entre las que se encuentran adiponectina, leptina y ghrelina. Los cannabinoides estimulan AMPK en el hipotálamo, induciendo un aumento del apetito, mientras que inhiben la AMPK del hígado y tejido adiposo produciendo efectos lipogénicos y diabotogénicos (Kola y cols, 2006; Van Thuijl y cols., 2008 ). Por otro lado, las hormonas que regulan AMPK también pueden regular el SCE. Concretamente la leptina induce la expresión de FAAH y por lo tanto disminuye los niveles de AEA mientras que la administración exógena de ghrelina aumenta el contenido endocannabinoide del hipotálamo. Todo ello establece una red de conexiones entre el Sistema Cannabinoide Endógeno, el Sistema Nervios Central y el Sistema Endocrino que permite una regulación fina y eficaz del balance energético y aumenta el potencial terapéutico de los cannabinoides, como se verá en el capítulo 12.

Otras acciones fisiológicas de los cannabinoides no detalladas aquí, incluyen la regulación del sueño, regulación del remodelado óseo, regulación del desarrollo y diferenciación y modulación del sistema inmune.

## Bibliografía

- Artmann A, Petersen G, Hellgren LI, Boberg J, Skonberg C, Nelleman C y cols (2008). Influence of dietary fatty acids on endocannabinoid and N-acylethanolamine levels in rat brain, liver and small intestine. *Biochi Biophys Acta*; **1781**:200-12.
- Battista N, Rapino C, di Tommaso M, Bari M, Pasquariello N y Maccarrone M (2008). Regulation of male fertility by the endocannabinoid system. *Mol Cell Endocrinol*; **286S**:S17-23.
- Belloccino L, Cervino C, Pasquali R y Pagotto U (2008). The endocannabinoid system and energy metabolism. *J Neuroendocrinol*; **20**:850-7.
- Bisogno T (2008). Endogenous cannabinoids: Structure and metabolism. *J Neuroendocrinol*; **20**:1-9.
- Brown AJ (2007). Novel cannabinoid receptors. *Br J Pharmacol*; **152**:567-75.

- Brown TT y Dobbs AS (2002). Endocrine effects of marijuana. *J Clin Pharmacol*; **42**:90S-96S.
- Burstein S (2005). PPAR-gamma: a nuclear receptor with affinity for cannabinoids. *Life Sci*; **77**:1674-84
- Childers SR (2006). Activation of G-proteins in brain by endogenous and exogenous cannabinoids. *AAPS J*; **8**:E112-7.
- Cota D (2008). The role of the endocannabinoid system in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *J Neuroendocrinol*; **20**(suppl 1):35-8.
- Dalle Carbonare M, Del Giudice E, Stecca A, Colavito D, Fabris M, D'Arrido A y cols (2008). A saturated N-acylethanolamine other than N-palmitoyl ethanolamine with anti-inflammatory properties: a neglected story. *J Neuroendocrinol*; **20** Suppl **1**:26-34.
- Danise E, Oddi S, Bari M y Maccarrone M (2007). Modulation of the endocannabinoid system by lipid rafts. *Curr Med Chem*; **14**:2702-15.
- De Petrocellis L, Marini P, Matias I, Moriello AS, Starowicz K, Cristino L y cols (2007). Mechanisms for the coupling of cannabinoid receptors to intracellular calcium mobilization in rat insulinoma beta-cells. *Exp Cell Res*; **313**:2993-3004.
- Demuth DG y Molleman A (2006). Cannabinoid signalling. *Life Sci*; **78**:549-63.
- Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G y cols (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*; **258**:1946-49
- Di Marzo V (2008). Endocannabinoids: synthesis and degradation. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*; **160**:1-24.
- Di Marzo V y Petrosino S (2007). Endocannabinoids and the regulation of their levels in health and disease. *Curr Opin Lipidol*; **18**:129-40.
- Díaz-Laviada I y Ruiz-Llorente L (2005). Signal transduction activated by cannabinoid receptors. *Mini Rev Med Chem*; **5**:619-30.
- Egertová M, Simon GM, Cravatt BF y Elphick MR (2008). Localization of N-acyl phosphatidylethanolamine phospholipase D (NAPE-PLD) expression in mouse brain: A new perspective on N-acylethanolamines as neural signaling molecules. *J Comp Neurol*; **506**:604-15.
- Ellert-Miklaszewska A, Kaminska B y Konarska L (2005). Cannabinoids down-regulate PI3K/Akt and Erk signalling pathways and activate proapoptotic function of Bad protein. *Cell Signal*; **17**:25-37.
- Felder CC, Nielsen A, Briley EM, Palkovits M, Priller J, Axelrod J y cols (1996). Isolation and measurement of the endogenous cannabinoid receptor agonist, anandamide, in brain and peripheral tissues of human and rat. *FEBS Lett*; **393**:231-5.

- Fowler CJ (2007). The contribution of cyclooxygenase-2 to endocannabinoid metabolism and action. *Br J Pharmacol*; **152**:594-601.
- Fowler CJ y Jacobsson SO (2002). Cellular transport of anandamide, 2-arachidonoylglycerol and palmitoylethanolamide targets for drug development? Prostaglandins *Leukot Essent Fatty Acids*; **66**:193-200.
- Greenhough A, Pastos HA, Williams AC y Paraskeva C (2007). The cannabinoid delta(9)-tetrahydrocannabinol inhibits RAS-MAPK and PI3K-AKT survival signalling and induces BAD-mediated apoptosis in colorectal cancer cells. *Int J Cancer*; **121**:2172-80.
- Guindon J y Hohmann AG (2008). A physiological role for endocannabinoid-derived products of cyclooxygenase-2-mediated oxidative metabolism. *Br J Pharmacol*; **153**:1341-3.
- Gulyas AI, Cravatt BF, Bracey MH, Dinh TP, Piomelli D, Boscia F y Freund TF (2004). Segregation of two endocannabinoid-hydrolyzing enzymes into pre- and postsynaptic compartments in the rat hippocampus, cerebellum and amygdala. *Eur J Neurosci*; **20**:441-58.
- Gustafsson K, Christensson B, Sander B y Flygare J (2006). Cannabinoid receptor-mediated apoptosis induced by R(+)-methanandamide and Win55,212-2 is associated with ceramide accumulation and p38 activation in mantle cell lymphoma. *Mol Pharmacol*; **70**:1612-20.
- Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR y Rice KC (1991). Characterization and localization of cannabinoid receptors in the rat brain: A quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci*; **11**:563-83.
- Hillard CJ y Jarrahan A (2003). Cellular accumulation of anandamide: consensus and controversy. *Br J Pharmacol*; **140**:802-8.
- Howlett AC (2002). The cannabinoid receptors. *Prostaglandins Other Lipid Media.*; **68-69**:619-31.
- Hu SSJ, Bradshaw HB, Chen JSC, Tan B y Walker JM (2008). Prostaglandin E2 glycerol ester, an endogenous COX-2 metabolite of 2-arachidonoylglycerol that produces hyperalgesia and modulates NFκB activity. *Br J Pharmacol*; **153**:1538-49.
- Huwiler A y Pfeilschifter J (2008). New players on the center stage: sphingosine 1-phosphate and its receptors as drug targets. *Biochem Pharmacol*; **75**:1893-900.
- Jin XH, Okamoto Y, Morishita J, Tsuboi K, Tonai T y Ueda N (2007). Discovery and characterization of a Ca<sup>2+</sup>-independent phosphatidylethanolamine N-acyltransferase generating the anandamide precursor and its congeners. *J Biol Chem*; **282**:3614-23.

- Kola B, Boscaro M, Rutter GA, Grossman AB y Korbonitis M (2006). Expanding role of AMPK in endocrinology. *Trends Endocrinol Metab*; **17**:205-15.
- Labar G y Michaux C (2007). Fatty acid amide hydrolase: from characterization to therapeutics. *Chem Biodivers*; **4**:1882-902.
- Lauckner JE, Jensen JB, Chen HY, Lu HC, Hille B y Mackie K (2008). GPR55 is a cannabinoid receptor that increases intracellular calcium and inhibits M current. *Proc Natl Acad Sci USA*; **105**:2699-704
- Liu J, Wang L, Harvey-White J, Huang BX, Kim H y cols (2008). Multiple pathways involved in the biosynthesis of anandamide. *Neuropharmacol*; **54**:1-7.
- Mackie K (2006). Mechanisms of CB1 receptor signalling: endocannabinoid modulation of synaptic strength. *Int J Obesity*; **30**:S19-S23.
- Mackie K (2008). Signaling via CNS cannabinoid receptors. *Mol Cell Endocrinol*; **286S**:S60-5.
- Matias I, Bisogno T y Di Marzo V (2006). Endogenous cannabinoids in the brain and peripheral tissues: regulation of their levels and control of food intake. *Int J Obesity*; **30**:S7-S12.
- McFarland MJ y Barker EL (2004). Anandamide transport. *Pharmacol Ther*; **104**:117-35.
- Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR y cols (1995). Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol*; **50**:83-90.
- Moranta D, Esteban S y Garcia-Sevilla JA (2007). Acute, chronic and withdrawal effects of the cannabinoid receptor agonist WIN55212-2 on the sequential activation of MAPK/Raf-MEK-ERK signaling in the rat cerebral frontal cortex: short-term regulation by intrinsic and extrinsic pathways. *J Neurosci Res*; **85**:656-67.
- Neeper MP, Liu Y, Hutchinson TL, Wang Y, Flores CM y Quin N (2007). Activation properties of heterologously expressed mammalian TRPV2: evidence for species dependence. *J Biol Chem*; **282**:15894-902.61.
- O'Sullivan SE (2007). Cannabinoids go nuclear: evidence for activation of peroxisome proliferator-activated receptors. *Br J Pharmacol*; **152**:576-8.
- Okamoto Y, Wang J, Morishita J y Ueda T (2007). Biosynthetic pathways of the endocannabinoid anandamide. *Chem Biodivers*; **4**:1842-57.
- Ozaita A, Puighermanal E y Maldonado R (2007). Regulation of PI3K/Akt/GSK-3 pathway by cannabinoids in the brain. *J Neurochem*; **102**:1105-14.



- Pertwee RG (2007). GPR55: a new member of the cannabinoid receptor clan? *Br J Pharmacol*; **152**: 984-6.
- Pertwee RG (2008). Ligands that target cannabinoid receptors in the brain: from THC to anandamide and beyond. *Addict Biol*; **13**:147-59.
- Randall MD (2007). Endocannabinoids and the haematological system. *Br J Pharmacol*; **152**:671-75.
- Rossato M (2008). Endocannabinoids, sperm functions and energy metabolism. *Mol Cell Endocrinol*; **286S**:S31-5.
- Simon GM y Cravatt BF (2006). Endocannabinoid biosynthesis proceeding through glycerophospho-N-acylethanolamine and a role for alpha/beta-hydrolase 4 in this pathway. *J Biol Chem*; **281**:26465-72.
- Solinas M, Goldberg SR y Piomelli D (2008). The endocannabinoid system in brain reward processes. *Br J Pharmacol*; **154**:369-83.
- Stahel PF, Smith WR, Bruchis J y Rabb CH (2008). Peroxisome proliferator-activated receptors: "key" regulators of neuroinflammation after traumatic brain injury. *PPAR Res*; **2008**:538141-8.
- Sugiura T, Kishimoto S, Oka S y Gokoh M (2006). Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. *Prog Lipid Res*; **45**:405-46.
- Sugiura T, Waku K (2002) Cannabinoid receptors and their endogenous ligands. *Biochem J*; **132**:7-12.
- Sun Y y Bennett A (2007). Cannabinoids: a new group of agonists of PPARs. *PPAR Res*; **2007**:23513-20.
- Tsuboi K, Takezaki N y Ueda N (2007). The N-acylethanolamine-hydrolyzing acid amidase (NAAA). *Chem Biodivers*; **4**:1914-25.
- Van Thuijl H, Kola B y Korbonits M (2008). Appetite and metabolic effects of ghrelin and cannabinoids: involvement of AMP-activated protein kinase. *Vitam Horm*; **77**:121-48.
- Venekens R, Owsianik G y Nilius B (2008). Vanilloid transient receptor potential cation channels: an overview. *Curr Pharm Des*; **14**:18-31.
- Wei BQ, Mikkelsen TS, McKinney MK, Lander ES y Cravatt BF (2006). A second fatty acid amide hydrolase with variable distribution among placental mammals. *J Biol Chem*; **281**:36569-78.
- Wettschureck N, van der Stelt M, Tsubokawa H, Krestel H, Moers A, Petrosino S y cols (2006). Forebrain-specific inactivation of Gq/G11 family G proteins results in age-dependent epilepsy and impaired endocannabinoid formation. *Mol Cell Biol*; **26**:5888-94.



# Avances recientes en la farmacología del sistema endocannabinoide

---

# 2

R. Vidal, E. Castro y A. Pazos

## 2.1. Receptores para compuestos cannabinoides

Los productos derivados de la planta *Cannabis sativa* ejercen un amplio espectro de acciones sobre la actividad fisiológica normal, la mayor parte de las cuales son atribuibles al  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC). Entre los efectos asociados al consumo agudo de derivados cannabinoides destacan las acciones sobre la esfera cognitiva y psicológica, incluyendo una marcada sensación de euforia, relajación y sedación. Pero la administración de compuestos cannabinoides se asocia además a la aparición de efectos analgésicos, antieméticos, acciones sobre la actividad muscular, efectos cardiovasculares, neuroendocrinos, inmunomoduladores y antiproliferativos, entre otros.

La mayoría de las acciones farmacológicas evocadas por los compuestos cannabinoides se deben a su interacción con, al menos, dos tipos diferentes de proteína receptora, pertenecientes a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G. El primer receptor caracterizado por métodos radiométricos fue el receptor cannabinoide central o CB<sub>1</sub> (Devane y cols., 1988). Las proteínas CB<sub>1</sub> contienen 472-473 aminoácidos organizados en una secuencia típica, altamente conservada entre las distintas especies estudiadas, y se expresan preferentemente sobre poblaciones neuronales del cerebro de mamíferos (Howlett y cols., 2002), habiéndose descrito densidades en estructuras cerebrales como caudado-putamen, núcleo accumbens, sustancia negra y globo pálido así como en la sustancia gris periacueductal y el asta dorsal de la médula espinal (Farquhar-Smith y cols., 2000). Se ha señalado la existencia de una variante de procesamiento alternativo del ADN que codifica el

receptor  $CB_1$ , en el ser humano y en la rata (Shire y cols., 1995), denominada  $CB_{1(b)}$ , con distribución y propiedades similares a las del receptor  $CB_1$  tanto dentro como fuera del sistema nervioso central, si bien su nivel de expresión es mucho menor. Hasta el momento, no existen pruebas concluyentes sobre el papel de esta variante a nivel fisiopatológico.

Poco después de la caracterización molecular de los receptores  $CB_1$ , Munro y cols. (1993) describieron la existencia de un segundo receptor para compuestos cannabinoides (de 360 aminoácidos). Estos receptores cannabinoides, denominados  $CB_2$  se localizan preferentemente, a nivel periférico, en las células inmunes, cuya activación promueve procesos de migración celular y liberación de citoquinas (Lunn y cols., 2006). También ha sido implicado en el control de la proliferación, diferenciación y supervivencia de células tanto neuronales como no neuronales (Fernández-Ruiz y cols., 2007). Más recientemente se ha descrito, mediante técnicas de inmunohistoquímica e hibridación *in situ*, la presencia del receptor  $CB_2$  en diversas áreas del sistema nervioso central (corteza cerebral, estriado, hipocampo, sustancia negra y cerebelo), aunque el papel neuronal de estos receptores no ha sido establecido (Onaivi y cols., 2008).

Desde el punto de vista molecular, la estructura secundaria de los receptores cannabinoides  $CB_1$  y  $CB_2$  comparte los motivos estructurales que definen a la familia de receptores acoplados a proteínas G. La transducción de señales a través de estos receptores tiene lugar fundamentalmente debido a su interacción con proteínas G del subtipo  $G_{i/o}$ , aunque existen evidencias de que también pueden estar acoplados a Gs. Su acoplamiento a  $G_{i/o}$  conduce, entre otros, a la inhibición del enzima adenililciclase y a la estimulación de la vía de las quinasas activadas por mitógeno o MAP quinasas, puestas de manifiesto en distintos sistemas (Howlett y cols., 2002; Pertwee, 2008). Además, los receptores cannabinoides  $CB_1$  están acoplados específicamente, a través de proteínas  $G_{i/o}$ , a canales iónicos de distinto tipo: por un lado de forma negativa a canales de calcio de tipo  $-N$  y  $-P/Q$  y canales de potasio de tipo  $-D$  y, por otro lado, positivamente a canales de potasio tipo  $-A$  y corrientes rectificadoras de potasio (Howlett y cols., 2002). Es posible que este acoplamiento esté relacionado con la implicación del sistema endocannabionide en la regulación de la liberación de otros neurotransmisores.

Finalmente, hay que reseñar algunos hechos que sugieren la presencia de otros sitios de fijación adicionales a los receptores CB<sub>1</sub>/CB<sub>2</sub>: la relativamente baja afinidad por ellos exhibida por parte de moléculas como el cannabinoil y el cannabidiol, y los estudios realizados en ratones KO confirman, además, la existencia de actividad cannabinoide que no parece estar mediada a través de los receptores CB<sub>1</sub>/CB<sub>2</sub> (Di Marzo y cols., 2000). Hasta el momento dos receptores huérfanos, acoplados a proteínas G, son los posibles candidatos para mediar sus acciones: el receptor GPR119 (Brown, 2007), que se ha propuesto como receptor para la oleiletanolamida y el GPR55 que puede ser activado por múltiples ligandos cannabinoides (Pertwee, 2007) (tabla 2.1).

TABLA 2.1

*Perfil de la eficacia funcional (fijación de [<sup>35</sup>S]GTPγS) en cultivos celulares transfectados con hGPR55, hCB<sub>1</sub> o hCB<sub>2</sub> (modificado de Pertwee, 2007).*

	<i>CE<sub>50</sub> (nM)</i>		
	<b>GPR55</b>	<b>CB<sub>1</sub></b>	<b>CB<sub>2</sub></b>
Anandamida	18	31	27
2-AG	3	519	618
Δ <sup>9</sup> -THC	8	6	0,4
Noladin éter	10	37	>30000
Virodamine	12	2920	381
CP55,940	5	0,2	0,3
WIN55212-2	>30000	18	1
HU-210	26	0,2	0,5
0-1602	13	>30000	>30000

## **2.2. Ligandos del sistema endocannabinoide. Su manipulación farmacológica**

Desde el punto de vista de la modulación farmacológica de las respuestas asociadas al sistema endocannabinoide, existen dos aproximaciones fundamentales: potenciación o bloqueo de los efectos asociados a los ligandos endógenos. La

primera aproximación pasa fundamentalmente por el desarrollo de agonistas específicos de sus receptores, y, más recientemente, de inhibidores de los enzimas degradadores o de sus mecanismos de recaptación. La segunda aproximación, la inhibición del sistema, supone el desarrollo de fármacos antagonistas de los receptores cannabinoides. A continuación se revisan la mayor parte de las moléculas de estos grupos.

### 2.2.1. Agonistas

Existe una amplia variedad de moléculas que se comportan como agonistas de los receptores cannabinoides, es decir, activadores de las respuestas mediadas por éstos. Desde el punto de vista farmacológico estos ligandos se clasifican en agonistas no selectivos, agonistas selectivos CB<sub>1</sub> y agonistas selectivos CB<sub>2</sub>.

**Agonistas no selectivos:** Los ligandos agonistas no selectivos, a su vez, se dividen en cuatro grupos con estructura química bien diferenciada: cannabinoides clásicos, no clásicos, aminoalquilindoles y eicosanoides.

El grupo de *cannabinoides clásicos* incluye compuestos con estructura de dibenzopirano, como son los cannabinoides derivados de *Cannabis sativa* ( $\Delta^9$ -THC,  $\Delta^8$ -THC, cannabinol y cannabidiol), y análogos sintéticos del  $\Delta^9$ -THC, como el 11-hidroxi- $\Delta^8$ -THC-dimetilheptilo (HU-210), el 11-hidroxi-hexahidrocannabinol-dimetilheptilo (HU-243) y la nabilona. Por último, dentro de esta familia de compuestos cannabimiméticos merece mencionarse el 3-(5'-ciano-1',1'-dimetilpentil)-1-(4-N-morfolinobutiliroxi)- $\Delta^8$ -THC (O-1057), por su carácter hidrosoluble (tabla 2.2).

Los cannabinoides *no clásicos* son análogos bicíclicos y tricíclicos del  $\Delta^9$ -THC que carecen del anillo pirano. El principal representante de este grupo es el CP55,940, cuya forma tritrida se utilizó para demostrar, por primera vez, la presencia de receptores específicos para cannabinoides en cerebro de rata (Devane y cols., 1988). Otros agonistas cannabinoides no clásicos son el CP55,244, CP50,556 (levonantradol) y el desacetillevonantradol (DALN) (tabla 2.2).

El tercer grupo de compuestos cannabimiméticos no selectivos son los *aminoalquilindoles*, cuyo principal representante es el WIN55,212-2. Esta familia incluye moléculas cuya estructura química deriva de la pravadolina, y difiere bastante de los anterior-

res grupos farmacológicos. En este sentido, y aunque existen evidencias de que el WIN55,212-2 interacciona con los receptores cannabinoides de manera distinta a como lo hacen los cannabinoides clásicos y no clásicos, se ha descrito que los tres tipos de compuestos son capaces de desplazarse mutuamente de su unión a receptores CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub> (Pertwee, 2008) (tabla 2.2).

TABLA 2.2

*Características farmacológicas de los principales agonistas de los receptores cannabinoides (modificado de Howlett et al 2002; Pertwee, 2008).*

<b>Agonistas no selectivos CB<sub>1</sub>/CB<sub>2</sub></b>				
	<b>Afinidad (K<sub>i</sub>, nM)</b>		<b>Eficacia relativa</b>	
	<b>CB<sub>1</sub></b>	<b>CB<sub>2</sub></b>	<b>CB<sub>1</sub></b>	<b>CB<sub>2</sub></b>
Δ <sup>9</sup> -THC	40,7	36,4	+++	+
Δ <sup>8</sup> -THC	47,6	39,3	+	+++
HU-210	0,06	0,52	+++++	+++++
O-1057	7,86	7,95	+++	++++
CP-55,940	0,58	0,69	+++++	+++++
CP-56,667	61,7	23,6	N.D.	N.D.
WIN55,212-2	1,9	0,28	+++++	+++++
Anandamida	89*	371*	++++	+
2-AG	13,9**	58**	++++	++
NADA	250	12000	N.D.	N.D.
O-585	8,6	324	N.D.	N.D.
O-689	5,7	132	+++	+
<b>Agonistas CB<sub>1</sub> selectivos</b>				
ACEA	1,4	>2000		
ACPA	2,2	715		
Metanandamida	17,9	868		
O-1812	3,4	3870		
Noladín éter	21,2	>3000		
<b>Agonistas CB<sub>2</sub> selectivos</b>				
JWH-133	677	3,4		
HU-308	>10000	22,7		
L-759633	1043	6,4		
L-759656	4888	11,8		
AM1241	280	3,4		
JWH-015	383	13,8		

\* En presencia de PMSF; \*\*En presencia de inhibidores de la hidrólisis enzimática de 2-AG; N.D. = no detectado.

La última familia de moléculas con actividad cannabimimética se ha desarrollado a partir del descubrimiento de la existencia de ligandos cannabinoides endógenos (Devane y cols., 1992). Este grupo incluye una serie de compuestos estructuralmente derivados del ácido araquidónico, cuyo principal representante es la N-araquidoniletanolamida (anandamida) considerada el ligando endógeno por excelencia del sistema. Otros miembros pertenecientes a esta familia son también ligandos endógenos, como el 2-araquidonilglicerol (2-AG), la N-dihomo- $\gamma$ -linoleoiletanolamina, la N-docosatetraenoiletanolamina, el O-araquidonoiletanolamina (virodamina) y el N-araquidonildopamina (NADA). Todos ellos son altamente sensibles a la hidrólisis enzimática por acción de la amido-hidrolasa de los ácidos grasos (FAAH). En el grupo de los eicosanoides se incluyen algunos derivados sintéticos más estables a la hidrólisis enzimática que los cannabinoides endógenos, como son la (R)-(+)-araquidonil-1'-hidroxi-2'-propilamida (metanandamida), la araquidonil-(2'-fluoroetil)amida (O-585) y la 2-metilaraquidonil-(2'-fluoroetil)amida (O-689) (tabla 2.2).

En términos de eficacia, tanto el  $\Delta^9$ -THC como la anandamida se comportan como agonistas parciales no selectivos con una ligera menor eficacia por los receptores CB<sub>2</sub> que por los CB<sub>1</sub> comportándose, en algunos ensayos *in vitro*, como antagonistas CB<sub>2</sub> (Howlett y cols., 2002; Pertwee, 2008). El HU-210, un análogo sintético del  $\Delta^8$ -THC, presenta una mayor potencia y eficacia que el  $\Delta^9$ -THC y la anandamida, propiedad que se atribuye fundamentalmente a la sustitución de la cadena pentil lateral del  $\Delta^8$ -THC por un grupo dimetilfenil (Howlett y cols., 2002). Finalmente, el CP55,940 y el R-(+)-WIN55212-2 poseen una eficacia relativamente alta y aunque la afinidad es similar por ambos receptores, el R-(+)-WIN55,212-2 muestra una ligera selectividad CB<sub>2</sub> (tabla 2.2).

Desde el punto de vista de la relación estructura-actividad se ha descrito que los enantiómeros (-)trans de los cannabinoides clásicos y no clásicos son generalmente más potentes que los enantiómeros (+) cis, una norma que se aplica al HU-210 y CP55,940 y sus correspondientes (+)-enantiómeros (HU-211 y CP56,667) así como al  $\Delta^9$ -THC (Howlett y cols., 2002).

**Agonistas CB<sub>1</sub> selectivos:** La araquidonil-2'-cloroetilamida (ACEA) y la araquidonilciclopropilamida (ACPA) son fármacos altamente selectivos, no resistentes a la hidrólisis enzimática, que se comportan como potentes agonistas CB<sub>1</sub> de alta eficacia (How-



lett y cols., 2002). Los derivados estructurales de la anandamida: metanandamida y el (R)-(20-ciano 16,16-dimetildocosa-*cis*-5,8,11,14-tetraenoyl)-1'-hidroxi-2'-propilamina (O-1812) son más resistentes a la hidrólisis por acción de la FAAH. Dentro de este grupo también se incluye el endocannabinoide endógeno: 2-araquidonoilgliceril éter (noladin éter) (tabla 2.2).

**Agonistas CB<sub>2</sub> selectivos:** Los primeros agonistas selectivos CB<sub>2</sub> que se han desarrollado comparten patrón estructural con los no selectivos cannabinoides clásicos y no clásicos: algunos carecen del grupo hidroxilo en la posición del C1 como es el caso del JWH-133, otros poseen un grupo metoxi en dicha posición como por ejemplo el HU-308; también pertenecen a este grupo indoles cannabinomiméticos como el L-759633 y el L-759656 (Howlett y cols., 2002; Pertwee, 2008). Otros agonistas CB<sub>2</sub> selectivos incluyen el JWH-015 y el AM1241, aunque sobre este último se ha descrito recientemente que *in vitro* se comporta como agonista proteínico del receptor CB<sub>2</sub>, sugiriendo que la eficacia funcional del AM1241 depende del nivel de actividad constitutiva del receptor en el sistema de ensayo (Yao y cols., 2006). La mayoría de estos fármacos están desprovistos de los efectos psicoactivos derivados de los cannabinoides, por lo que representan una buena alternativa para el tratamiento de algunos trastornos neurológicos (Sagredo y cols., 2007) (tabla 2.2).

### 2.2.2. Antagonistas/Agonistas inversos

En los últimos años se han desarrollado diversas moléculas capaces de antagonizar, de forma selectiva, los efectos cannabinomiméticos mediados por los receptores CB<sub>1</sub> o CB<sub>2</sub>, y que han supuesto una herramienta fundamental para la caracterización farmacológica de estas proteínas. Una de las moléculas más potente y más ampliamente utilizada como antagonista de los receptores cannabinoides CB<sub>1</sub> es el *rimonabant* (SR141716A, Rinaldi-Carmona y cols., 1994) que presenta una marcada selectividad por los receptores CB<sub>1</sub> frente a los CB<sub>2</sub>, y frente a otros tipos de receptores para neurotransmisores, de forma que revierte las acciones de los agonistas cannabinoides que actúan a través de CB<sub>1</sub> tanto *in vitro*, como *in vivo* (Pertwee, 2008). Basándose en sus óptimas propiedades farmacológicas y farmacocinéticas en lo que a la afinidad, selectividad y biodisponibilidad por vía oral

se refiere y a la buena accesibilidad de su ruta de síntesis, el rimonabant fue el fármaco elegido como punto de partida para el diseño de nuevos antagonistas cannabinoides CB<sub>1</sub>. La mayoría de estos antagonistas son derivados pirazólicos como el AM-281 y el AM-251 que inhiben de forma selectiva los efectos canabimiméticos mediados por la activación del receptor CB<sub>1</sub> aunque, el AM-251, exhibe *in vivo* del orden de 6 veces menor potencia que el rimonabant (McMahon y Koek, 2007). En este mismo grupo y debido a su buena biodisponibilidad es importante mencionar al *surinabant* (SR14778) cuya afinidad, funcionalidad y potencia son muy similares a las descritas para el rimonabant, aunque su selectividad es ligeramente inferior (tabla 2.3). También se han sintetizado antagonistas competitivos de los receptores CB<sub>1</sub> que difieren estructuralmente del rimonabant, como es el caso del LY320135.

Las investigaciones más recientes en el campo de los antagonistas CB<sub>1</sub> se centraron en el desarrollo de análogos rígidos del rimonabant con la finalidad de mejorar su farmacología. Entre estos derivados se encuentra el NESS0327, que presenta una elevada selectividad y cuya afinidad se sitúa en el rango femtomolar, sin embargo, carece de actividad *in vivo* tras su administración oral, probablemente debido a su elevado carácter lipofílico. Finalmente, otra clase de antagonistas CB<sub>1</sub> con buena selectividad y biodisponibilidad comprenden el *taranabant* (MK-0364) o el SLV319.

En relación con los receptores cannabinoides CB<sub>2</sub>, la primera molécula sintetizada es el SR144528, un análogo del rimonabant (Rinaldi-Carmona *y cols.*, 1998). Otros fármacos utilizados como antagonistas cannabinoides selectivos para los receptores CB<sub>2</sub> son la 6-iodopravadolina (AM630), el cannabinoide clásico 6'-azidohept-2'-ino- $\Delta^8$ -THC (O-1184) o moléculas de reciente desarrollo como el JTE-907 (tabla 2.3).

Además de su habilidad para prevenir las acciones canabimiméticas, muchos de estos antagonistas son capaces de evocar, por sí solos, efectos opuestos a los derivados de una activación del sistema endocannabinoide. Aunque tradicionalmente esta propiedad de los fármacos antagonistas se ha atribuido a un bloqueo del tono endógeno, los datos existentes en la literatura sugieren que la gran mayoría de estos compuestos cannabinoides se comportan como agonistas inversos en algunos sistemas. Hasta el momento, la molécula para la que se han descrito y estudiado

en mayor detalle respuestas compatibles con un perfil de agonista inverso de los receptores cannabinoides es el rimonabant. El mecanismo a través del cual éste y otros compuestos provocan una disminución en la actividad constitutiva de los sistemas cannabinoides es todavía motivo de controversia. Se ha descrito que la potencia del rimonabant para bloquear acciones cannabimiméticas es mayor que su capacidad para inducir, por sí sólo, efectos contrarios a los evocados por los agonistas cannabinoides. Esta aparente discrepancia podría deberse a que el rimonabant se una con una afinidad relativamente baja a un sitio específico en la proteína CB<sub>1</sub>, diferente del sitio de unión de los agonistas cannabinoides, por el que presentaría una mayor afinidad (Sim-Selley y cols., 2001). Los otros derivados pirazólicos CB<sub>1</sub> selectivos también han demostrado cierta capacidad de agonismo inverso. Por el contrario, el AM 4113 cuya potencia es del orden de 10 veces superior al rimonabant parece exhibir un perfil de antagonista neutro CB<sub>1</sub> al menos en lo que al sistema de la adenililciclasa se refiere (Bergman y cols., 2008).

TABLA 2.3

*Parámetros de afinidad (K<sub>i</sub>, nM) de los principales antagonistas/agonistas inversos sobre los receptores cannabinoides (modificado de Howlett y cols. 2002 y Pertwee, 2008).*

	CB <sub>1</sub>	CB <sub>2</sub>
<b><i>Antagonistas CB<sub>1</sub> selectivos</i></b>		
NESS0327	0,350 x 10 <sup>-3</sup>	0,5
Surinabant	0,56	400
AM4113	0,80	>100
Taranabant	3,0	290
SLV319	8	7943
SLV326	36	3515
<b><i>Antagonistas CB<sub>1</sub> selectivos con perfil de agonismo inverso</i></b>		
Rimonabant	1,8	>1000
AM251	7,49	2290
AM281	12	4200
LY320135	141	14900
<b><i>Antagonistas CB<sub>2</sub> selectivos con perfil de agonismo inverso</i></b>		
SR144528	437	0,6
AM630	5152	31,2
JTE-907	2370	35,9

### 2.2.3. Inhibidores del transportador de endocannabinoides

Dado que los endocannabinoides endógenos son eliminados del espacio extracelular mediante un sistema de transporte de alta afinidad en la membrana plasmática, cuya activación incrementa los niveles circulantes de anandamida, este sistema constituye una clara diana farmacológica. Hasta la fecha, se han desarrollado varios inhibidores del transportador de la anandamida entre los que cabe destacar un análogo estructural, el N-(4-hidroxifenil) araquidonil-etanolamida o AM404. Sin embargo, esta molécula presenta una selectividad relativa, pues también se fija a los receptores vainilloides (TRPV1) en un rango de concentraciones similares a las descritas para inhibir el transporte de endocannabinoides, así como a canales de sodio y calcio (La Rana y cols., 2008). Otras moléculas no alifáticas, estructuralmente diferentes a la anandamida y con potencia superior al AM404, son el ácido 5-bifenil-4-ilmetil-tetrazol-1-carboxílico, dimetilamida (LY2183240) y el ácido 5-[(4-azido-3-iodo-benzoilamino)-metil]-tetrazol-1-carboxílico, dimetilamida (LY2318912) (Moore y cols., 2005) (tabla 2.4).

TABLA 2.4

*Características farmacológicas de las moléculas que modifican los niveles de endocannabinoides.*

	<i>Inhibidor</i>	<i>Transporte anandamida</i> <i>CI<sub>50</sub> (M)</i>	<i>FAAH</i> <i>CI<sub>50</sub> (M)</i>	<i>MGL</i> <i>CI<sub>50</sub> (M)</i>
<i>Transporte anandamida</i>	AM404	14,9 x 10 <sup>-6</sup>	--	--
	LY2183240	0,27 x 10 <sup>-9</sup>	--	--
	LY2318912	7,3 x 10 <sup>-9</sup>	--	--
<i>FAAH</i>	<i>Irreversibles</i>			
	O-1887	--	15 x 10 <sup>-9</sup>	--
	URB597	--	0,5 x 10 <sup>-9</sup>	> 30 x 10 <sup>-6</sup>
	<i>Reversibles</i>			
	OL-135	--	2,1 x 10 <sup>-9</sup>	> 10 <sup>-4</sup>
	AA-5HT	--	1-12 x 10 <sup>-6</sup>	--
<i>MGL</i>	URB602	--	17 x 10 <sup>-6</sup> > 10 <sup>-4</sup>	25-28 x 10 <sup>-6</sup>
	URB754	--	--	200 x 10 <sup>-9</sup>

*Tomado de Moore y cols. 2005; Maione y cols. 2007; Saario y cols. 2007; Pertwee, 2008.*

#### 2.2.4. Inhibidores de la amidohidrolasa de ácidos grasos (FAAH) y monoacilglicerol lipasa (MGL)

Como se detalla en otros capítulos del presente volumen, los endocannabinoides endógenos son degradados por rutas metabólicas diferentes. La anandamida se metaboliza principalmente mediante hidrólisis enzimática en un proceso catalizado por la amido-hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) y, en menor medida, por la acción de la *N*-aciletanolamina amidasa y la amido-hidrolasa de ácidos grasos tipo II. Por el contrario, la principal ruta de inactivación del 2-AG es a través de la monoacilglicerol lipasa (MGL) y, en menor grado, por la FAAH (Saario y Laitinen, 2007).

Dada la relevancia de la FAAH en los procesos de inactivación de la anandamida, en los últimos años se han desarrollado una serie de moléculas dirigidas a inhibir de forma reversible e irreversible este enzima. Los principales inhibidores de la FAAH se pueden clasificar en dos grandes grupos:

- *Inhibidores irreversibles*. Este grupo incluye una serie de moléculas derivadas del ácido carbámico, cuyo principal representante es el URB597 y su análogo URB532 (Pertwee, 2008). Es importante destacar que el compuesto URB597 presenta entre 7.000 y 25.000 veces mayor selectividad por la FAAH que por otras dianas farmacológicas de los endocannabinoides incluidos los receptores CB<sub>1</sub>, CB<sub>2</sub>, el transportador y el MGL. Esta elevada selectividad le confiere al URB597 la propiedad de elevar el tono cannabinoide sin provocar los efectos secundarios mediados por los agonistas CB<sub>1</sub> (Saario y Laitinen, 2007). Debido a su buena disponibilidad y perfil de seguridad, esta molécula constituye una diana terapéutica como potencial antidepresivo/ansiolítico (Piomelli y cols., 2006) (tabla 2.4). Otros inhibidores irreversibles incluyen el MAFP (metilaraquidonilfluorofosfonato) y su análogo estructural O-1887.
- *Inhibidores reversibles*. En este grupo destacan una serie de moléculas estructuralmente relacionadas con la anandamida (hidroxi-peroxi anandamidas, OL-135 y OL-92) y el ácido araquidónico (AA-5-HT, o araquidonoilserotonina). Los estudios *in vivo* han demostrado claramente la eficacia del OL-135; sin embargo, aunque el OL-92 exhibe una mayor potencia *in vitro*, no ha podido ponerse de manifiesto su efica-

cia *in vivo*. Por último el AA-5-HT, posee un mecanismo de acción dual, ya que se comporta, además, como antagonista de los receptores vainilloides (TRPV1) (Saario y Laitinen, 2007; Pertwee, 2008) (tabla 2.4).

De forma casi simultánea al desarrollo de los inhibidores de la FAAH surgió el diseño de nuevas sustancias capaces de inhibir la MGL. Hasta este momento se ha descrito la existencia de dos moléculas URB602 y URB754 que presentan una afinidad relevante por el enzima (tabla 2.4). Aunque varios estudios han demostrado la eficacia analgésica del URB602, su aparente selectividad por el MGL vs la FAAH continúa siendo objeto de debate (Saario y Laitinen, 2007; Pertwee, 2008).

### **2.3. Respuestas fisiológicas reguladas por el sistema endocannabinoide: una base para su posible aprovechamiento terapéutico**

De forma resumida, el estímulo de receptores cannabinoides, ya sea por ligandos endógenos o exógenos, puede dar lugar a las siguientes respuestas:

- Modificaciones del estado de ánimo, sensación de euforia, sedación y relajación.
- Alteraciones de la percepción temporal (sobreestimación del tiempo transcurrido) y de la memoria reciente.
- Actividad analgésica y antiinflamatoria.
- Actividad orexígena y antiemética.
- Acciones sobre el tono muscular y la coordinación motora (ataxia, debilidad muscular).
- Disminución de la presión intraocular.
- Hipotermia.
- Broncodilatación.
- Efectos cardiovasculares (hipotensión y taquicardia).
- Efectos neuroendocrinos (disminución en la liberación de distintas hormonas sexuales, e incrementos en la liberación de hormonas relacionadas con la respuesta al estrés).
- Efectos inmunomoduladores (inmunoestimulación a dosis bajas e inmunosupresión a dosis altas).
- Efectos antiproliferativos.

Es importante destacar que la mayoría de las acciones evocadas por los agonistas cannabinoides sobre el sistema nervioso central parecen depender principalmente de la activa-

ción de receptores CB<sub>1</sub>: efectos cognitivos y psicológicos, motores, antieméticos y analgésicos, aunque en alguno de ellos no puede descartarse la participación CB<sub>2</sub>. En cambio, el papel de los receptores CB<sub>2</sub> es fundamental en otras acciones periféricas, como es el caso de los efectos inmunomoduladores y antiproliferativos.

La amplia variedad de acciones biológicas asociadas al sistema cannabinoide ha abierto la posibilidad de desarrollar compuestos farmacológicamente activos sobre sus receptores y mecanismos de regulación de sus niveles, que puedan ser útiles en el tratamiento de diversas patologías. La perspectiva real de éxito de estas aproximaciones dependerá finalmente de la valoración objetiva de la relaciones beneficio/riesgo. Como ya se ha comentado, la modulación farmacológica del sistema incluye fundamentalmente la activación directa mediante agonistas específicos, la potenciación, ya sea a través de inhibidores de los enzimas FAAH y MGL o del recaptador de anandamida, y la disminución de las respuestas, es decir, el uso de fármacos antagonistas o agonistas inversos.

Tanto para el estímulo o potenciación cannabinoide como para su bloqueo se han propuesto diversas dianas terapéuticas, algunas ya claramente contrastadas y otras que aun necesitan una confirmación clínica consistente. Dichas dianas se abordarán con detalle en sucesivos capítulos de este volumen y, de forma mucho más general, en el siguiente apartado. En todo caso, la constatación real del grado de eficacia y seguridad de los fármacos activos sobre el sistema cannabinoide en las diversas patologías requiere que puedan llevarse a cabo ensayos clínicos de forma estricta y controlada. También es necesario evitar que se mezclen en el mismo debate la cuestión del uso médico de los cannabinoides con la de su despenalización para fines recreacionales.

## **2.4. Aplicaciones terapéuticas de los fármacos activos sobre el sistema endocannabinoide: *presente y futuro***

### *2.4.1. Potenciación cannabinoide*

El espectro de las posibles aplicaciones terapéuticas del estímulo farmacológico cannabinoide se ha ido ampliando en

los últimos años; sin embargo, la amplitud de posibles indicaciones para los agonistas de los receptores CB no guarda todavía proporcionalidad con la relación, más bien corta, de moléculas ya aprobadas para su uso en clínica. Dentro de las indicaciones que se apoyan en evidencias totalmente contrastadas se encuentran: 1) *la acción analgésica*, ya sea en dolor postoperatorio o neuropático, en particular en pacientes con trastornos espásticos o neoplásicos; 2) el tratamiento de las *náuseas y vómitos inducidos por quimioterapia*; 3) los *trastornos espásticos* y otros síntomas relacionados, sobre todo en pacientes con esclerosis múltiple, Huntington o lesiones medulares; 4) *síndromes caquético-anoréxicos* en pacientes con SIDA o cáncer terminal. Otras indicaciones de interés teórico, aunque todavía faltas de una evidencia clínica definitiva incluyen el glaucoma, los trastornos inflamatorios del tubo digestivo, ciertos tipos de shock, trastornos de carácter ansioso, depresión y patología tumoral. Esta última indicación es de especial interés: se ha demostrado la capacidad de agonistas cannabinoides para inhibir el crecimiento de ciertos tumores tanto del sistema nervioso central como periférico. Como se ha indicado anteriormente, la mayoría de las acciones relacionadas con patología del sistema nervioso central (efectos cognitivos, antieméticos) están más asociadas a estímulo de receptores CB<sub>1</sub>, pero en otras indicaciones el papel del subtipo CB<sub>2</sub> es fundamental: es el caso de las acciones sobre la proliferación celular, el dolor neuropático (parcialmente) y sobre la inflamación: los agonistas inversos CB<sub>2</sub> pueden presentar interés porque inhiben la migración y el tráfico leucocitario tanto *in vivo* como *in vitro* y pueden presentar interés en el manejo de los procesos inflamatorios (Lun y cols., 2006; Pertwee, 2008). Finalmente, otras posibles aplicaciones de fármacos CB<sub>1</sub>/CB<sub>2</sub> incluyen la osteoporosis, las alteraciones motoras de la enfermedad de Parkinson, incluyendo las discinesias inducidas por el tratamiento de levodopa en este trastorno (Sagredo y cols., 2007; Pertwee, 2008) y la patología hepática crónica.

Desde el punto de vista del uso clínico, un extracto de cannabis que contiene cantidades similares de  $\Delta^9$ -THC y cannabidiol, el sativex, está autorizado en varios países europeos y en Canadá para el tratamiento sintomático del dolor neuropático en adultos con esclerosis múltiple y también como coadyuvante del tratamiento con analgésicos en pacientes adultos



con cáncer avanzado. Derivados sintéticos del  $\Delta^9$ -THC, como dronabinol y nabilona están aprobados en Estados Unidos y en Europa para el tratamiento de las náuseas y vómitos secundarios a quimioterapia anticancerosa. Por otra parte, la indicación terapéutica en neuroprotección y memoria ha sido también ensayada, aunque los resultados de las fases clínicas con *dexanabinol*, un análogo sintético que también interactúa con el sistema NMDA, no han sido satisfactorios hasta ahora. Es posible que una segunda generación de agonistas cannabinoides que presentan mayor selectividad que el  $\Delta^9$ -THC o la nabilona puedan ser introducidos pronto en clínica.

Además de la activación directa de sus receptores, la elevación de los niveles de endocannabinoides endógenos mediante la inhibición de su degradación ha dado lugar ya a diversas moléculas con interés clínico, puesto que representa una nueva aproximación terapéutica para el tratamiento de ciertos trastornos en los que se requiere una mayor actividad del sistema endocannabinoide. Una de las principales ventajas de la inhibición de la enzima FAAH sobre la estimulación directa de los agonistas cannabinoides puede ser su mayor selectividad. Sin embargo, una desventaja teórica sería que, como la FAAH cataliza también la degradación de varios lípidos *in vivo*, su inactivación podría conducir a la acumulación de otros lípidos bioactivos además de la AEA (Saario y Laitinen, 2007). Dentro de este grupo, la molécula URB 597, que produce una inhibición rápida y persistente de la actividad enzimática de FAAH tanto *in vivo* como *in vitro*, aunque incrementa los niveles de anandamida cerebrales, no mimetiza el espectro de respuestas farmacológicas producidas por los agonistas típicos CB<sub>1</sub>. Por ej., por vía parenteral, no provoca catalepsia, hipotermia o hiperfagia, tres efectos indeseados de la intoxicación por cannabinoides. A expensas de los resultados de su posible evaluación clínica, se ha propuesto su utilidad en el tratamiento del dolor inflamatorio o neuropático, la ansiedad y la depresión (Piomelli y cols., 2006).

El potencial terapéutico de los inhibidores del enzima MGL, como el URB602, es, hasta el momento desconocido, aunque se ha sugerido su posible implicación en la supresión del dolor.

La última aproximación farmacológica a la potenciación del sistema cannabinoide, es decir, la inhibición del transporte

de anandamida, es también prometedora, aunque aun no hay resultados clínicos concluyentes. Se ha descrito que el AM404 reduce la extravasación plasmática en un modelo de dolor neuropático (La Rana y cols., 2008), y también que podría presentar un potencial terapéutico en ciertas adicciones.

#### 2.4.2. Antagonismo cannabinoide

Dado el importante papel que el sistema cannabinoide juega en la fisiología del ser humano, las perspectivas para las aplicaciones terapéuticas de los antagonistas del receptor CB<sub>1</sub> son importantes. Se sabe que el uso de la marihuana está asociado con un incremento del apetito en el ser humano, y se cree que este efecto está mediado por la activación de receptores CB<sub>1</sub>. Hace 10 años se demostró que el antagonista selectivo CB<sub>1</sub>, rimonabant, inducía una supresión del apetito, así como la pérdida de peso en ratas adultas. Debido a que la obesidad se ha convertido en un problema de salud pública a nivel mundial en los últimos años, estas observaciones han estimulado la búsqueda de nuevos antagonistas CB<sub>1</sub>. Estudios clínicos han demostrado la eficacia del rimonabant en el tratamiento de la obesidad así como sobre parámetros metabólicos asociados a la obesidad tales como niveles de triglicéridos y de colesterol. Estos hallazgos clínicos apuntan hacia un papel potencial de los antagonistas del receptor CB<sub>1</sub> sobre enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2. Estudios adicionales han demostrado la interacción entre el receptor CB<sub>1</sub> y sus ligandos endógenos, así como con mediadores orexigénicos y anoréxicos como leptina, neuropeptido Y, grelina, orexina y opioides endógenos (Lange y Kruse, 2008). El rimonabant ha sido recientemente registrado y comercializado en Europa para el tratamiento de la obesidad, aunque aún está pendiente su aprobación por la United States Food and Drug Administration, debido a la aparición de efectos secundarios tales como ansiedad y depresión, náuseas, vómitos y diarrea. Otros antagonistas para este receptor están actualmente bajo estudio clínico, incluyendo el surinabant, que se encuentra actualmente en ensayos clínicos en fase II para el tratamiento del tabaquismo y el taranabant, en fase III para el tratamiento de la obesidad y del tabaquismo. Otras moléculas están en diversas fases de desarrollo clínico, tanto para las dos indicaciones terapéuticas

para las que la eficacia de antagonistas cannabinoides está totalmente comprobada (obesidad, adicción a drogas) como para otras en las que también se ha propuesto su utilidad (isquemia cerebral, diabetes, íleo paralítico, Alzheimer, esquizofrenia).

## Bibliografía

- Bergman J, Delatte MS, Paronis CA, Vemuri K, Thakur GA y Makriyannis A (2008). Some effects of CB1 antagonists with inverse agonist and neutral biochemical properties. *Physiol Behav*; **93**:666-670.
- Brown AJ (2007). Novel cannabinoid receptors. *Br. J. Pharmacol.* **152**:567-575.
- Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS y Howlett AC (1988). Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*; **34**:605-613.
- Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G y cols (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*; **258**:1946-1949.
- Di Marzo V, Breivogel CS, Tao Q, Bridgen DT, Razdan RK, Zimmer AM y cols (2000). Levels, metabolism, and pharmacological activity of anandamide in CB(1) cannabinoid receptor knockout mice: evidence for non-CB(1), non-CB(2) receptor-mediated actions of anandamide in mouse brain. *J Neurochem*; **75**:2434-2444.
- Farquhar-Smith WP, Egertová M, Bradbury EJ, McMahon SB, Rice AS y Elphick MR (2000). Cannabinoid CB(1) receptor expression in rat spinal cord. *Mol Cell Neurosci*; **15**:510-521.
- Fernández-Ruiz J, Romero J, Velasco G, Tolón RM, Ramos JA y Guzmán M (2007). Cannabinoid CB<sub>2</sub> receptor: a new target for controlling neural cell survival?. *Trends Pharmacol Sci*; **28**:39-45.
- Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA y cols (2002). International Union of Pharmacology XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev*; **54**:161-202.
- La Rana G, Russo R, D'Agostino GD, Sasso O, Mattace Raso G, Iacono A y cols (2008). AM404, an anandamide transport inhibitor, reduces plasma extravasation in a model of neuropathic pain in rat: role for cannabinoid receptors. *Neuropharmacology*; **54**:521-529.

- Lange JH y Kruse CG (2008). Cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor antagonists in therapeutic and structural perspectives. *Chem Rec*; **8**:156-168.
- Lunn CA, Fine JS, Rojas-Triana A, Jackson JV, Fan X, Kung TT y cols (2006). A novel cannabinoid peripheral cannabinoid receptor-selective inverse agonist blocks leukocyte recruitment in vivo. *J Pharmacol Exp Ther*; **316**:780-788.
- Maione S, De Petrocellis L, de Novellis V, Schiano Moriello A, Petrosino S, Palazzo E y cols (2007). Analgesic actions of N-arachidonoyl-serotonin, a fatty acid amide hydrolase inhibitor with antagonistic activity at vanilloid TRPV1 receptors. *Br J Pharmacol*; **150**:766-781.
- McMahon LR y Koek W (2007). Differences in the relative potency of SR 141716A and AM251 as antagonists of various in vivo effects of cannabinoid agonists in C57BL/6J mice. *Eur J Pharmacol*; **569**:70-76.
- Moore SA, Nomikos GG, Dickason-Chesterfield AK, Schober DA, Schaus JM, Ying B-P y cols (2005). Identification of a high-affinity binding site involved in the transport of endocannabinoids. *PNAS*; **102**:17852-17857.
- Munro S, Thomas K y Abu-Shaar M (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*; **365**:61-65.
- Onaivi ES, Ishiguro H, Gong JP, Patel S, Meozzi PA, Myers L y cols (2008). Brain neuronal CB<sub>2</sub> cannabinoid receptors in drug abuse and depression: from mice to human subjects. *PLoS ONE*; **3**:e1640.
- Pertwee RG (2007). GPR55: a new member of the cannabinoid receptor clan?. *Br J Pharmacol*; **152**:984-986.
- Pertwee RG (2008). Ligands that target cannabinoid receptors in the brain: from THC to anandamide and beyond. *Addict Biol*; **13**:147-159.
- Piomelli D, Tarzia G, Duranti A, Tontini A, Mor M, Compton TR y cols (2006). Pharmacological profile of the selective FAAH inhibitor KDS-4103 (URB597). *CNS Drug Rev*; **12**:21-38.
- Rinaldi-Carmona M, Barth F, Héaulme M, Shire D, Calandra B, Martinez S y cols (1994). SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Lett*; **350**:240-244.
- Rinaldi-Carmona M, Barth F, Millan J, Derocq JM, Casellas P, Congy C y cols (1998). SR 144528, the first potent and selective antagonist of the CB<sub>2</sub> cannabinoid receptor. *J Pharmacol Exp Ther*; **284**:644-650.

- Saario SM y Laitinen JT (2007). Therapeutic potencial of endocannabinoid-hydrolysing enzyme inhibitors. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*; **101**:287-293.
- Sagredo O, García-Arencibia M, de Lago E, Finetti S, Decio A y Fernández-Ruiz J (2007). Cannabinoids and neuroprotection in basal ganglia disorders. *Mol Neurobiol*; **36**:82-91.
- Shire D, Carillon C, Kaghad M, Calandra B, Rinaldi-Carmona M, Le Fur y cols (1995). An amino-terminal variant of the central cannabinoid receptor resulting from alternative splicing. *J Biol Chem*; **270**:3726-3731.
- Sim-Selley LJ, Brunk LK y Selley DE (2001). Inhibitory effects of SR141716A on G-protein activation in rat brain. *Eur J Pharmacol*; **414**:135-143.
- Yao BB, Mukherjee S, Fan Y, Garrison TR, Daza AV, Grayson GK y cols (2006). *In vitro* pharmacological characterization of AM1241: a protean agonist at the cannabinoid CB<sub>2</sub> receptor?. *Br J Pharmacol*; **149**:145-154.



# Potencial de los cannabinoides en el tratamiento del dolor

# 3

M.I. Martín Fontelles y C. Goicoechea García

## 3.1. Los cannabinoides y el tratamiento del dolor: antecedentes históricos

El uso terapéutico del *Cannabis* en el tratamiento de diferentes tipos de dolor es posiblemente tan antiguo como el conocimiento de esta planta. Para no remontarnos a testimonios que podrían considerarse poco fiables, baste con señalar que desde los primeros ensayos clínicos realizados por el Dr. O'Shaughnessy en 1843 para determinar, con una base científica, las propiedades terapéuticas de este antiguo remedio ya se propuso, como una de las indicaciones más claras, su utilidad como analgésico. De hecho, su uso llegó a ser tan reconocido que en 1890, J. Russell Reynolds, el médico personal de la Reina Victoria escribía a propósito de las propiedades analgésicas del *Cannabis*: "In almost all of painful maladies I have found Indian hemp by far the most useful of drugs" (En casi todas las enfermedades que cursan con dolor he encontrado que el cáñamo indio es de lejos la más útil de las drogas) (Reynolds, 1890). En esta misma época la literatura recoge numerosos testimonios como los de Horatio Wood, en 1886, que afirma en su *Treatise on Therapeutics* que "*Cannabis* is used chiefly for the relief of pain; especially of neuralgic character, although it will palliate even pain of organic origin" (El *Cannabis* se utiliza fundamentalmente para el tratamiento del dolor; especialmente de carácter neurálgico, aunque puede paliar incluso dolor de origen orgánico) o de Hobart Hare, en 1892: "*Cannabis* is very valuable for the relief of pain, particularly that depending on nerve disturbances" (El

*Cannabis* es muy valioso para evitar el dolor, particularmente el que depende de trastornos de los nervios).

Con la prohibición de su consumo, promovida desde los Estados Unidos (Marijuana Tax, 1937), y el rechazo social consiguiente, las indicaciones terapéuticas del *Cannabis* se redujeron notablemente durante el pasado siglo, hasta que el conocimiento del sistema endocannabinoide y las recientes demostraciones de su utilidad en el tratamiento de diferentes patologías, han vuelto a convertir a los cannabinoides en una opción terapéutica interesante y digna de ser considerada.

En el caso de su uso como analgésicos no se pueden considerar, por el momento, un tratamiento de primera elección, si bien es cierto que, cuando otras alternativas han fallado, los Cannabinoides están demostrando que mejoran la calidad de vida de algunos pacientes que sufren dolores que responden mal a los tratamientos convencionales. Además, su uso está apoyado por el hecho de que los Cannabinoides han mostrado, desde hace años, eficacia en modelos animales experimentales de dolor tanto agudo (Buxbaum y cols., 1972; Pertwee, 2001; De Vry y cols., 2004; Romero-Sandoval y cols., 2007), como inflamatorio y neuropático (Smith y cols., 1998; Dajani y cols., 1999; Amaya y cols., 2006), y recientemente se han publicado también revisiones que apoyan su eficacia terapéutica sobre todo en dolores de tipo neuropático.

### **3.2. Sistema endocannabinoide y neurotransmisión dolorosa**

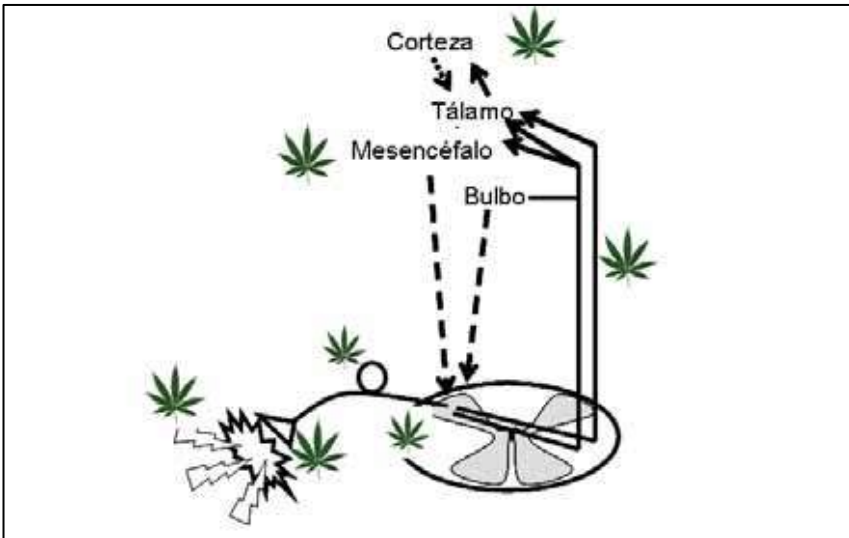
Para entender las posibilidades reales que puede ofrecer el uso de Cannabinoides en el tratamiento del dolor, el primer paso es analizar las relaciones del sistema endocannabinoide en la transmisión del estímulo doloroso. Para ello hay que conocer:

- Su localización en estructuras implicadas en la transmisión del estímulo nocivo,
- su capacidad para modular la transmisión del estímulo doloroso,
- sus relaciones con otros sistemas de neurotransmisión responsables de la modulación de la percepción del dolor.



3.2.1. Localización en las vías de transmisión nociceptiva

En la fig. 3.1 se muestra esquemáticamente como en la vía de transmisión del estímulo nociceptivo se localizan receptores cannabinoides; la presencia de estos receptores en estos puntos clave es uno de los hechos que apoyan la implicación del sistema endocannabinoide en la transmisión del estímulo nociceptivo. Además es importante señalar que las lesiones neurales periféricas incrementan la expresión de receptores cannabinoides CB-1 en áreas relacionadas con la transmisión del dolor, como la médula y el tálamo (Siegling y cols., 2001) y que en dolores crónicos que se acompañan de lesiones neurales, pero no en dolores de origen inflamatorio, se incrementa la expresión de receptores CB-2 en la microglía (Zang y cols., 2003). Por otro lado, el bloqueo de la actividad cannabinoide CB-1 reduce la actividad inhibitoria descendente que modula la transmisión del dolor crónico (Monhemius y cols., 2001).



**Figura 3.1.:** Vías de transmisión de la señal dolorosa y localización de receptores cannabinoides. Los receptores se localizan en: tejidos periféricos no neurales, terminaciones nerviosas periféricas, ganglios dorsales, asta posterior, diferentes puntos de las vías ascendentes y en centros encefálicos que controlan no sólo la transmisión del estímulo sino también la actividad de las vías descendentes inhibitorias (trazo discontinuo).

Los estudios experimentales han demostrado que el efecto antinociceptivo agudo está mediado por estimulación de receptores CB-1 (Mechoulam y cols., 1995) localizados en el Sistema Nervioso Central (SNC), aunque no se descarta la participación de receptores CB-2. En el dolor de tipo inflamatorio ambos subtipos de receptores juegan un papel importante, se han descrito mecanismos centrales (CB-2: Romero-Sandoval y cols., 2007; CB-1: Martín y cols., 1999) y periféricos (CB-2: Calignano y cols., 1998; Guidon y cols., 2007; CB-1: Amaya y cols., 2006). Es interesante señalar la participación de otros tipos de receptores en los efectos de los Cannabinoides, como los no-CB-1/CB-2 o los TPRV1 (Transient Potential Receptor subtype V1, también conocidos como receptores vanilloides V1) (Jeske y cols., 2006).

Recientemente se ha demostrado también un incremento en la presencia de receptores CB-2, después de lesiones nerviosas periféricas, en los ganglios dorsales, en las mismas neuronas sensoriales en las que se expresan los receptores CB-1 y TPRV1 (Anand y cols., 2008), Esta importante localización en la ruta de transmisión del dolor incrementa el interés del estudio de la participación del receptor CB-2 en la modulación de la percepción del dolor.

### 3.2.2. *Modulación de la transmisión del estímulo doloroso*

Las características de la activación del sistema endocanabinoide se han estudiado en capítulos anteriores, aquí sólo recordaremos que la principal vía de actuación de los Cannabinoides, naturales o sintéticos, es la activación de receptores CB-1 ó CB-2, generalmente acoplados a proteínas G inhibitorias, que inhiben la activación de la adenilato ciclasa y la entrada de calcio al interior celular y favorecen la salida de potasio (Pertwee y cols., 1997). Como consecuencia disminuyen la excitabilidad de la membrana y la actividad neuronal, por lo tanto, el resultado final es la reducción de la liberación de neurotransmisores.

Además, la transmisión del estímulo doloroso es directamente dependiente de la liberación de diferentes mediadores tanto en tejidos periféricos, donde se liberan sustancias proinflamatorias y proalgésicas en respuesta a estímulos nocivos, como en el SNC donde la transmisión del estímulo doloroso

depende, inicialmente, de la liberación de glutamato en el asta posterior de la médula espinal y en la que también se implican otros neurotransmisores o mediadores como la Sustancia P, el ATP, diferentes interleuquinas o TNF entre otros. Estas sustancias, que son liberadas por neuronas y/o células gliales, mantienen y potencian la transmisión dolorosa, son responsables de la cronificación del dolor y juegan un papel fundamental en el desarrollo de los dolores neuropáticos. El dolor con componente neuropático es el más rebelde a los tratamientos tradicionales y es en el tratamiento de este tipo de dolor donde los Cannabinoides pueden jugar un papel más importante.

En el apartado anterior ya se hizo referencia a la localización de los receptores cannabinoides en las neuronas implicadas en la vía de transmisión de los estímulos nocivos, pues bien, estos receptores no sólo se localizan en las neuronas sino también en las células gliales (Yiangou, 2006) que juegan un importante papel en la amplificación del estímulo y en la cronificación del dolor. La activación de estos receptores reduce la actividad de las células gliales y evita la liberación de los mediadores que contribuyen a la cronificación del dolor.

### 3.2.3. *Relaciones con otros sistemas de neurotransmisión*

Las interrelaciones entre sistema cannabinoide endógeno y otros sistemas implicados en la transmisión del dolor han despertado interés desde el descubrimiento del sistema endocannabinoide (Johnson y cols., 1982).

El sistema endocannabinoide se colocaliza frecuentemente con el más potente y mejor conocido sistema endógeno de control del dolor: el sistema opioide. Ambos coinciden en las principales estructuras nerviosas implicadas en la transmisión del dolor, e incluso el efecto analgésico de los Cannabinoides ha sido también atribuido a su capacidad para liberar beta-endorfinas en tejidos periféricos (Ibrahim y cols., 2005).

Además también regulan la liberación de otros neurotransmisores implicados en la transmisión del estímulo doloroso como la serotonina o noradrenalina, contribuyendo a la modulación de la actividad de estos sistemas.

Considerados en conjunto, los factores expuestos en los apartados anteriores ofrecen una sólida base que apoya la uti-

lidad de los Cannabinoides como una opción terapéutica en la modulación de la percepción del dolor.

### **3.3. Uso terapéutico de los Cannabinoides en el tratamiento del dolor**

La etiología del dolor es múltiple, por lo mismo, su tratamiento es complejo y suele requerir un abordaje multidisciplinar. Los dolores agudos, nociceptivos, como los que se provocan por accidentes o intervenciones quirúrgicas, son fácilmente controlables con analgésicos tradicionales como analgésicos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), opioides o incluso anestésicos y su tratamiento no suele representar un problema si se planifica adecuadamente. Lo mismo podríamos decir de los dolores puramente inflamatorios: mientras no se compliquen con alteraciones de la transmisión del estímulo, suelen responder bien a los fármacos de que disponemos. El panorama se complica, y el fracaso terapéutico es mucho más frecuente, en los dolores de origen neuropático y en los dolores de larga duración, en los que la cronificación hace que se desarrollen mecanismos de sensibilización, tanto en la periferia como en el SNC, que hacen que al estímulo nociceptivo se unan componentes neuropáticos de difícil tratamiento.

En estos casos sí es necesario buscar nuevas alternativas terapéuticas y es donde el uso de los Cannabinoides, sustentado por los datos experimentales arriba descritos, puede tener interés.

Centrándonos en la utilidad de los Cannabinoides en el tratamiento del dolor neuropático de curso crónico, es interesante analizar:

- cuáles son los compuestos que se utilizan,
- en qué patologías se ha demostrado fehacientemente su utilidad, y
- cuál es el riesgo que puede asociarse al consumo de estos fármacos.

En todos los casos, los datos que aquí se incluyen corresponden a información obtenida de ensayos controlados y randomizados o de revisiones restringidas a este tipo de ensayos, con el fin de que tengan validez científica basada en la evidencia.

### 3.3.1. Presentaciones farmacéuticas de los Cannabinoides utilizados en el tratamiento del dolor

Las presentaciones sobre las que existen datos clínicos que fundamenten su eficacia terapéutica en el tratamiento del dolor son:

- Los extractos naturales ( $\Delta^9$ -THC y Cannabidiol),
- La Marihuana inhalada,
- El Dronabinol ( $\Delta^9$ -THC sintético),
- La Nabilona (análogo sintético del  $\Delta^9$ -THC) y
- El Ácido Ajulémico (AJA), también llamado CT-3 (metabolito sintético del  $\Delta^9$ -THC).

#### - *Extractos naturales*

Se utilizan, generalmente, en forma de spray para administración en la mucosa oral, envasados en cápsulas y obtenidos de cultivos genéticamente controlados, que garantizan la pureza de los componentes y las proporciones de principios activos, y son, con diferencia, la forma más común de administración. Contienen  $\Delta^9$ -THC y Cannabidiol en proporción 1:1 (2,7 mg : 2,5 mg por pulverización). Las dosificaciones eficaces son muy variables según los diferentes ensayos, de 5 a 120 mg/día (Zajicek y cols., 2003, 2005; Wade y cols., 2003; Rog y cols., 2005), generalmente la limitación es la tolerancia individual a los efectos indeseables.

#### - *Marihuana inhalada*

La utilización de la marihuana por vía inhalatoria (mediante vaporizadores o fumada) es relativamente frecuente en pacientes con dolor de diversos orígenes (Martin y cols., 2007) pero hay muy pocos ensayos controlados. Otro inconveniente de estas formas de administración es que la dosificación es inevitablemente irregular, tanto por las variaciones debidas al método, como por la diferente riqueza de productos activos en plantas que no están sometidas a controles de producción estandarizados. Y, aunque esto pueda ser considerado un problema menor, también tiene el inconveniente de que el riesgo de abuso es mayor y, en algunos casos, pueden aparecer presiones sociales en contra de esta práctica. En el único ensayo controlado de esta forma de administración se recomiendan 3 cigarrillos al día (Zajicek y cols., 2003; Abrams y cols., 2007).

- *Dronabinol*

Es  $\Delta^9$ -THC obtenido por síntesis, se presenta en cápsulas gelatinosas que contienen 2,5, 5 ó 10 mg de  $\Delta^9$ -THC, se utiliza menos en el tratamiento del dolor aunque algunos estudios han demostrado que puede ser eficaz. Su principal indicación es el tratamiento de las náuseas y vómitos provocados por quimioterapia. La dosis recomendada es de 10 a 25 mg/día (Svendsen y cols., 2004).

- *Nabilona*

Este fármaco es un análogo sintético que se expende en cápsulas gelatinosas que contienen 0,5 ó 1 mg de producto activo, con una posología recomendada de 1 a 2 mg /día, está comercializado, como en el caso del Dronabinol, para el tratamiento de las náuseas y vómitos que no responden a otros tratamientos, pero algunos ensayos clínicos han demostrado su potencial como analgésico. Las dosis que se proponen varían entre 1 y 4 mg/día (Wissel y cols., 2006; Pinsger y cols., 2006).

- *Ácido Ajulémico*

El AJA o CT-3 es un metabolito del  $\Delta^9$ -THC que para uso farmacológico se obtiene por síntesis y que ha demostrado potente efecto antialodínico y analgésico en ensayos animales tanto en dolor inflamatorio como neuropático (Burstein y cols., 2005) cuya utilidad terapéutica está siendo estudiada, aunque aun se encuentra en fases iniciales. En los ensayos clínicos realizados se han utilizado dosis de 40 u 80 mg/día (Salim y cols., 2005; Karst y cols., 2003). Se esperaba de él que tuviera menos efectos psicoactivos, pero los últimos datos experimentales no parecen confirmar esta posibilidad y cuando se utilizan dosis equianalgésicas los efectos psicoactivos son similares a los de  $\Delta^9$ -THC; si esto se confirma en ensayos clínicos, su utilización posiblemente no aporte grandes ventajas respecto al uso de los Cannabinoides ya disponibles.

### 3.3.2. *Patologías en las que los derivados del Cannabis alivian el dolor*

Las principales entidades en las que se ha estudiado, con ensayos controlados, la utilidad de los Cannabinoides para paliar el dolor son:

- La esclerosis múltiple

- La avulsión del plexo braquial,
- El dolor en enfermos infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y,
- Dolores neuropáticos de orígenes diversos resistentes a otros tratamientos.

- *Esclerosis múltiple*

Es, con diferencia, la patología en la que más se ha estudiado la utilidad de los Cannabinoides en el tratamiento del dolor. La razón de este interés es que a su efecto analgésico se suma su eficacia como antiespástico, de este modo la mejoría en la calidad de vida de estos pacientes es el resultado de los dos factores. Los ensayos con mayor número de pacientes (667) fueron publicados por Zajicek en 2003 y 2004 y demuestran que la administración de extractos de *Cannabis* o de  $\Delta^9$ -THC es capaz de mejorar la espasticidad y reducir el dolor de forma significativa en tratamientos de larga duración. Similares resultados se han obtenido en ensayos con menor número de participantes, pero que son útiles para confirmar la validez tanto de los extractos de *Cannabis* (Wade y cols., 2003; Rog y cols., 2005) como del Dronabinol (Svendsen y cols., 2004). Aunque las mejorías no son completas, sí son suficientes para mejorar la calidad de vida de estos pacientes.

Recientemente se ha ensayado también la eficacia de la Nabilona para controlar el dolor en la esclerosis múltiple (Wissel y cols., 2006). Este análogo del  $\Delta^9$ -THC tiene la ventaja de provocar menos efectos psicotrópicos y la desventaja de que, aunque sí reduce el dolor, no mejora la espasticidad.

- *Avulsión del plexo braquial*

Las lesiones por estiramiento del plexo braquial se encuentran entre las lesiones traumáticas de nervios periféricos más frecuentes, provocan incapacidad funcional y dolor difícil de controlar que además puede ser de larga duración. La administración de extractos de *Cannabis*, o de Dronabinol, a pacientes con dolor moderado a severo (más de 4 en una escala de 11) y resistente a otros tratamientos, se sigue de una mejoría parcial pero significativa del dolor (Bremner y cols., 2004) sin que las dosis utilizadas provoquen efectos indeseables importantes. En cualquier caso el valor de los Cannabinoides en este tipo de pacientes aun necesita de

más evidencias para poder considerarlos una opción en la práctica diaria.

- *Dolor en pacientes con VIH*

Las infecciones por VIH se acompañan con frecuencia de neuropatías periféricas que provocan dolor, además muchos de los fármacos utilizados también pueden provocarlo, con lo cual una elevada proporción de estos enfermos sufre de dolores con un importante componente neuropático.

Para el tratamiento de estos pacientes se ha administrado *Cannabis* por vía inhalatoria y se ha confirmado que el tratamiento agudo es capaz de reducir la hiperalgesia asociada a neuropatía sensorial periférica, sin que se produzcan problemas de intolerancia graves (Abrams y cols., 2007) Aun no hay datos fiables sobre la efectividad del tratamiento a largo plazo.

- *Dolor neuropático de diferentes etiologías*

En este apartado se hace referencia al uso de Cannabinoides en el tratamiento de dolores neuropáticos que tienen en común curso crónico (más de dos meses) y mala respuesta a los tratamientos tradicionales, independientemente de la etiología que los ha iniciado (lesiones de médula espinal, amputación de un miembro, cefaleas y otros de origen no especificado). En todos los casos los Cannabinoides utilizados: extractos naturales (Wade y cols., 2003), Nabilona (Pinsger y cols., 2006) o AJA (Karst y cols., 2003) han mostrado efecto analgésico significativamente superior a placebo y aunque, como en los casos anteriores, su eficacia analgésica no es alta, no se debe olvidar que se trata de pacientes en los que otros tratamientos han fracasado.

### **3.4. Efectos indeseables**

No se va a hacer referencia en este capítulo a los efectos tóxicos o indeseables generales que el consumo de *Cannabis* produce, sobre todo cuando se consume con fines recreativos. Se describen exclusivamente los efectos indeseables que refieren los pacientes con dolor que reciben las dosis expuestas en los apartados anteriores.



El problema principal del consumo de *Cannabis* y de sus derivados son sus efectos psicotrópicos, para tratar de minimizar estos efectos se han sintetizado nuevas moléculas menos psicoactivas y en la actualidad se está intentando introducir el uso de agonistas del receptor CB-2 que posiblemente tendrían ventajas en este campo.

En ningún caso se describen efectos graves y siempre son reversibles tras la suspensión del tratamiento. En la Tabla 3.1 se presenta una relación, por orden de frecuencia de presentación, de los efectos indeseables más frecuentes.

TABLA 3.1

*Efectos indeseables del uso de Cannabinoides en el tratamiento del dolor.*

<b>Efectos centrales</b>	<b>Periféricos</b>
Mareo	Boca seca
Cansancio y/o debilidad	Nauseas
Somnolencia	Hipotensión transitoria
Alteraciones de la memoria	Mialgias o debilidad muscular

### 3.5. Conclusiones

El uso de Cannabinoides en el tratamiento del dolor es un campo en rápido desarrollo que despierta el interés tanto de los profesionales de la salud como de la industria farmacéutica. En el momento actual, a partir de los datos existentes, se puede afirmar que:

- el uso de Cannabinoides como analgésicos se apoya en sólidos datos experimentales,
- los ensayos clínicos fiables demuestran que pueden ser una alternativa cuando otras terapias fallan,
- Sin embargo:
- su potencia analgésica es limitada,
- sus efectos indeseables frecuentes aunque leves, y
- faltan ensayos comparativos con otros analgésicos administrados en idénticas condiciones.

Por lo tanto en el momento actual son una alternativa terapéutica pero nunca un tratamiento de primera elección. Hay que considerar que esto no les resta interés, fundamentalmente

cuando se habla de dolores neuropáticos, en los que una baja eficacia en los tratamientos suele ser la norma y en los que cualquier mejoría percibida por el paciente se traduce en un incremento en la calidad de vida.

## Bibliografía

- Abrams DI, Jay CA, Shade SB, Vizoso H, Reda H, Press S y cols (2007). Cannabis in painful HIV-associated sensory neuropathy: a randomized placebo-controlled trial. *Neurology*; **68**(7):515-21.
- Amaya F, Shimosato G, Kawasaki Y, Hashimoto S, Tanaka Y, Ji RR y cols (2006). Induction of CB1 cannabinoid receptor by inflammation in primary afferent neurons facilitates antihyperalgesic effect of peripheral CB1 agonist. *Pain*; **124**(1-2):175-83.
- Anand U, Otto WR, Sanchez-Herrera D, Facer P, Yiangou Y, Korchev Y, Birch R, y cols (2008). Cannabinoid receptor CB2 localisation and agonist-mediated inhibition of capsaicin responses in human sensory neurons. *Pain*; **138**(3):667-680
- Berman JS, Symonds C y Birch R (2004). Efficacy of two cannabis based medicinal extracts for relief of central neuropathic pain from brachial plexus avulsion: results of a randomised controlled trial. *Pain*; **112**(3): 299-36.
- Burstein S (2005). Ajulemic acid (IP-751): synthesis, proof of principle, toxicity studies, and clinical trials. *AAPS Journal*; **7**(1):E143-8.
- Calignano A, La Rana G, Loubet-Lescoulié P y Piomelli D (1998). Control of pain initiation by endogenous cannabinoids. *Nature*; **396**:277-81.
- De Vry J, Denzer D, Reissmueller E, Eijckenboom M, Heil M, Meier H y cols (2004). 3-[2-cyano-3-(trifluoromethyl)phenoxy]phenyl-4,4,4-trifluoro-1-butananesulfonate (BAY 59-3074): a novel cannabinoid Cb1/Cb2 receptor partial agonist with antihyperalgesic and antiallodynic effects. *J Pharmacol Exper Ther*; **310**(2):620-32.
- Guindon J, Desroches J y Beaulieu P (2007). The antinociceptive effects of intraplantar injections of 2-arachidonoyl glycerol are mediated by cannabinoid CB2 receptors. *Br J Pharmacol*; **150**(6):693-701.
- Hare HA y Christie W (1892). A System of Practical Therapeutics, Vol. 3. ed Philadelphia: Lee Brothers.
- Ibrahim MM, Porreca F, Lai J, Albrecht PJ, Rice FL, Khodorova A, y cols (2005). CB2 cannabinoid receptor activation produces antinociception by stimulating peripheral release of endogenous opioids. *PNAS*; **102**:3093-8.

- Jeske NA, Patwardhan AM, Gamper N, Price TJ, Akopian AN y Hargreaves KM (2006). Cannabinoid WIN 55.212-2 regulates TRPV1 phosphorylation in sensory neurons. *J Biol Chem*; **281**(43):32879-90.
- Karst M, Salim K, Burstein S, Conrad I, Hoy L y Schneider U (2003). Analgesic effect of the synthetic cannabinoid CT-3 on chronic neuropathic pain: a randomized controlled trial. *JAMA*; **290**(13):1757-62
- Martin CW (2007). Efficacy of marijuana in treating chronic non cancer pain. A short review. workers' compensation board of British Columbia. Evidence based practice group. Available from URL: [http://www.worksafebc.com/health\\_care\\_providers/Assets/PDF/marijuana\\_medicinal\\_purposes\\_update.pdf](http://www.worksafebc.com/health_care_providers/Assets/PDF/marijuana_medicinal_purposes_update.pdf) [accessed 2007 may 21]
- Martin WJ, Loo CM y Basbaum AI (1999). Spinal cannabinoids are anti-allodynic in rats with persistent inflammation. *Pain*; **82**(2):199-205.
- Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR y cols (1995). Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol*; **50**:83-90.
- Monhemius R, Azami J, Green DL y Roberts MHT (2001). CB1 receptor mediated analgesia from the Nucleus Reticularis Gigantocellularis pars alpha is activated in an animal model of neuropathic pain. *Brain Res*; **908**: 67-74.
- Pertwee RG (1997). Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacol Ther*; **74**:129-80.
- Petersen KL y Rowbotham MC (1999). A new human experimental pain model: the heat/capsaicin sensitization model [published erratum appears in *Neuroreport* 2002 Jan **21**;13(1): inside back cover]. *Neuroreport*; **10**(7):1511-6.
- Pinsger M, Schimetta W, Volc D, Hiermann E, Riederer F y Pölz W (2006). Benefits of an add-on treatment with the synthetic cannabinomimetic nabilone on patients with chronic pain – a randomized controlled trial. *Wien Klin Wochenschr*; **118**(11-12): 327-35.
- Reynolds JR (1890). Therapeutical uses and toxic effects of Cannabis Indica. *Lancet*; **22**:637.
- Rog DJ, Nurmikko TJ, Friede T y Young CA (2005). Randomized, controlled trial of cannabis-based medicine in central pain in multiple sclerosis. *Neurology*; **65**(6):812- 9.
- Romero-Sandoval A Eisenach JC (2007). Spinal cannabinoid receptor type 2 activation reduces hypersensitivity and spinal cord glial activation after paw incision. *Anesthesiology*; **106**(4):787-94.

- Salim K, Schneider U, Burstein S, Hoy L y Karst M (2005). Pain measurements and side effect profile of the novel cannabinoid ajulemic acid. *Neuropharmacology*; **48**(8):1164-71.
- Siegling A, Hofmann HA, Denzer D, Mauler F y De Vry J (2001). Cannabinoid CB(1) receptor upregulation in a rat model of chronic neuropathic pain. *Eur Pharmacol*; **415**:R5-R7.
- Svendson KB, Jensen TS y Bach FW (2004). Does the cannabinoid dronabinol reduce central pain in multiple sclerosis? Randomised double blind placebo controlled crossover trial. *Br Med J*; **329**(7460):253.
- Wade DT, Makela P, Robson P, House H y Bateman C (2004). Do cannabis-based medicinal extracts have general or specific effects on symptoms in multiple sclerosis? A double-blind, randomized, placebo-controlled study on 160 patients. *Multiple Sclerosis*; **10**(4):434-41.
- Wade DT, Robson P, House H, Makela P y Aram J (2003). A preliminary controlled study to determine whether whole-plant cannabis extracts can improve intractable neurogenic symptoms. *Clinical Rehab*; **17**(1):21-9.
- Wissel J, Haydn T, Müller J, Brenneis C, Berger T, Poewe W y cols (2006). Low dose treatment with the synthetic cannabinoid Nabilone significantly reduces spasticity-related pain: a double-blind placebo-controlled cross-over trial. *J Neurol*; **253**(10):1337-41.
- Wood HC (1886). *Treatise on Therapeutics*. ed Philadelphia: JB Lippincott and co.
- Yiangou Y, Facer P, Durrenberger P, Chessell IP, Naylor A, Bountra C y cols (2006). COX-2, CB2 and P2X7-immunoreactivities are increased in activated microglial cells/macrophages of multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis spinal cord. *BMC*; **6**:12.
- Zajicek J, Fox P, Sanders H, Wright D, Vickery J, Nunn A y cols (2003). Cannabinoids for treatment of spasticity and other symptoms related to multiple sclerosis (CAMS study): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet*; **362**(9395):1517-26.
- Zajicek P, Sanders HP, Wright DE, Vickery PJ, Ingram WM, Reilly SM y cols (2005). Cannabinoids and multiple sclerosis (CAMS) study: safety and efficacy data for 12 month follow up. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*; **76**:1664-69.
- Zhang J, Hoffert C, Vu HK, Groblewski T, Ahmad S y O'Donnell D (2003). Induction of CB2 receptor expression in the rat spinal cord of neuropathic but not inflammatory chronic pain models. *European Journal of Neuroscience*; **17**(12):2750-4.

# Potencial de los cannabinoides en el tratamiento de la isquemia cerebral

---

# 4

*J. Martínez-Orgado, A.I. Castillo y F.J. Álvarez*

## 4.1. Introducción

La isquemia cerebral en el adulto, el denominado ictus, es una enfermedad prevalente en la población mayor de 65 años en los países industrializados, con una incidencia de cerca del 3/1000, y una causa frecuente de mortalidad: es responsable de cerca de 150000 muertes (48/100.000) al año sólo en USA, estimándose que este número se duplicará en las 3 próximas décadas (Martínez-Orgado y cols., 2007). Aunque menos conocido, el daño hipóxico-isquémico (EHIN) neonatal tiene también una gran trascendencia. La encefalopatía hipóxico-isquémica neonatal afecta a entre 2 y 9 de cada 1000 recién nacidos vivos, produciéndose un cuadro grave en casi 1 de cada 1000 recién nacidos vivos; por ello, se calcula que cerca de un millón de recién nacidos a término, en muchas ocasiones sanos hasta ese momento, fallecen cada año en el mundo por complicaciones derivadas de la EHIN (Volpe, 2001). Además del riesgo de muerte, la encefalopatía hipóxico-isquémica neonatal representa una temible fuente de secuelas físicas y psíquicas para los niños afectados, con los consiguientes costes sociales (de falta de desarrollo pleno del enfermo y su familia) y económicos.

## 4.2. Daño cerebral hipóxico-isquémico

### 4.2.1. Fisiopatología

El cerebro necesita un aporte constante de oxígeno y glucosa para mantener su integridad morfológica y funcional. Cuando

se interrumpe este aporte, como en la Hipoxia-Isquemia (HI) se pone en marcha una cascada de acontecimientos que culmina con la muerte celular.

El acontecimiento determinante en la aparición de lesión cerebral por HI es la depleción de energía, que ocurre en dos fases: una inmediata, seguida de un período de aparente recuperación; y otra tardía, tras la reperfusión, proporcional a la primera fase, y que tiene un alto valor pronóstico al relacionarse estrechamente con la puesta en marcha de procesos de muerte neuronal tardía (Volpe, 2001; Ferriero, 2004). La depleción energética induce la disfunción de las bombas iónicas para el  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ , dependientes de ATP, comprometiendo la polaridad de la membrana y permitiendo la acumulación intracelular de cationes (especialmente  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{2+}$ ) que causan un edema citotóxico (du Plessis y Volpe, 2002; Martínez-Orgado y cols., 2006) y una activación de sistemas enzimáticos como sintetasas de óxido nítrico (NO) y del ciclo del ácido tricarbóxico (Volpe, 2001; Ferriero, 2004). Asimismo, se produce una acumulación de purinas derivadas del metabolismo anaeróbico del ATP que serán el sustrato responsable de la generación de radicales libres durante la fase de reoxigenación. Además, también durante la asfisia hay un incremento de la producción de radicales libres de oxígeno, atribuido a cambios en el funcionamiento de los componentes que integran la cadena respiratoria, especialmente el complejo citocromo oxidasa. A ello se une la inhibición de la actividad de la superóxido dismutasa que impide la neutralización del anión superóxido, el radical libre más común. Estas circunstancias, junto con cambios celulares específicos que afectan a la actividad enzimática, la función mitocondrial, la estructura citoesquelética, el transporte de membrana y las defensas antioxidantes, van a predisponer a los tejidos a una amplificación del daño durante la fase de reoxigenación (Warner y cols., 2004).

Los procesos señalados anteriormente conducen a una alteración de la polaridad de la membrana neuronal provocando la liberación y acumulación de aminoácidos excitotóxicos como el glutamato. El glutamato es una pieza decisiva en la cadena de acontecimientos que culminan en la lesión cerebral, ya que induce la entrada masiva de  $\text{Ca}^{2+}$  por la apertura de canales acoplados a los receptores NMDA, AMPA y metabotropos (Berger y Garnier, 2000; Johnston, 2001). Además, el glutama-

to estimula la síntesis de  $\text{TNF}\alpha$  e induce la expresión de la sintetasa inducible de NO (iNOS), dos factores lesivos de gran relevancia en la HI (Fernandez-Lopez y cols., 2005; Martinez-Orgado y cols., 2006).

La acumulación intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  determina la activación de varias enzimas (fosfolipasas, endonucleasas, proteasas y caspasas) que inducen daño estructural, agravan el déficit energético, aumentan el estrés oxidativo y participan en mecanismos de apoptosis (Berger y Garnier, 2000). Otro evento importante es la producción masiva de NO por la inducción de la actividad de la NOS neuronal (nNOS) y especialmente la iNOS (du Plessis y Volpe, 2002; Ferriero, 2004; Fernandez-Lopez y cols., 2005; Martinez-Orgado y cols., 2006). Diversos factores, como citoquinas, glutamato o el exceso de calcio, inducen la producción excesiva de NO; en estas circunstancias, si además existen concentraciones elevadas de anión superóxido, como ocurre en la reperusión, su asociación con el NO genera un potente radical libre, el peroxinitrito (Berger y Garnier, 2000; Martinez-Orgado y cols., 2006). Además, el NO producido en cantidades masivas agrava por sí mismo el fallo energético, bloqueando la cadena mitocondrial de forma irreversible por consumir todo el glutation, y lesiona el DNA (Berger y Garnier, 2000; Martinez-Orgado y cols., 2006).

Es creciente la relevancia otorgada a la respuesta inflamatoria (Allan y Rothwell, 2001). La respuesta inflamatoria tras un episodio HI se caracteriza por el reclutamiento de polimorfonucleares, seguido de la activación de monocitos y microglía, en virtud de la expresión de factores de adhesión y de quimiotaxis, lo que junto con el aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE) permite la acumulación de células inflamatorias en las zonas de lesión (Volpe, 2001; Silveira y Procianny, 2003). La microglía juega un papel muy importante, ya que se considera la principal productora de citoquinas en la neuroinflamación tras HI (Silveira y Procianny, 2003; Ashton y Glass, 2007). En un modelo *ex vivo* de lesión hipóxico-isquémica cerebral neonatal, en el que secciones de cerebro de rata recién nacida son privadas de oxígeno y glucosa (POG), nuestro grupo ha demostrado un aumento de la liberación de  $\text{TNF}\alpha$  en las 2 horas siguientes, en relación con la aparición de daño histológico y bioquímico (Fernandez-Lopez y cols., 2005); una respuesta similar se observa en secciones de

hipocampo expuestas a LPS (Jensen y cols., 2003). En consonancia, se ha demostrado que apenas 1 hora después de un episodio hipóxico-isquémico in vivo ya existe un aumento de la concentración de TNF $\alpha$  e interleukina-1 (IL-1), que en este caso incluso precede a la aparición de lesión histológica (Allan y Rothwell, 2001); los niveles en LCR de TNF $\alpha$  e IL-1 decaen a partir de las 6 h (Oygür y cols., 1998). Estas citoquinas son producidas in situ, ya que se ha observado en LCR de neonatos asfícticos mayores concentraciones de las mismas en que en niños sanos, mientras que los niveles plasmáticos son similares en ambos grupos (Oygür y cols., 1998; Silveira y Procianoy, 2003). El aumento de producción de TNF $\alpha$  e IL-1 tras la asfixia correlaciona con el riesgo de muerte o de secuelas neurológicas (Oygür y cols., 1998). Es conocido que las citoquinas inducen daño cerebral directo, afectando especialmente la supervivencia de oligodendrocitos, en los que inducen apoptosis, provocando una degeneración vacuolar de la mielina (du Plessis y Volpe, 2002). Uno de los factores más importantes en la lesión inducida por citoquinas es la potenciación de la excitotoxicidad ya que, especialmente TNF $\alpha$  e IL-1, inhiben la recaptación astrocitaria de glutamato, aparentemente por infligir a estas células daño oxidativo directo (du Plessis y Volpe, 2002). Además, las citoquinas estimulan la diferenciación, proliferación e infiltración por leucocitos en el parénquima cerebral (Silveira y Procianoy, 2003). Por otra parte, las citoquinas aumentan la permeabilidad de la BHE, en relación con un aumento de la producción de NO y VEGF, permitiendo la entrada al parénquima cerebral de distintas células y mediadores que inducen daño (Huleibel y cols., 2004; Hagberg and Mallard, 2005). Paralelamente, el aumento de liberación de TNF $\alpha$  se asocia a una reducción de la captación de oxígeno cerebral, una elevación de la presión intracraneal y a la aparición de fenómenos trombóticos (Huleibel y cols., 2004). Otros mecanismos propuestos para el daño cerebral por inflamación incluyen: el aumento de la liberación de endotelina-1, un potente vasoconstrictor que reduce el flujo cerebral; el estímulo del metabolismo del ácido araquidónico, cuyos metabolitos aumentan el daño por estrés oxidativo; y la inhibición de la síntesis astrocitaria de factores neurotróficos (BDNF y NGF, especialmente) (Huleibel y cols., 2004). El cerebro inmaduro parece particularmente sensible a los efectos de citoquinas, sobre to-



do en el 2º trimestre (Volpe, 2001; Hagberg y Mallard, 2005). Esta mayor vulnerabilidad se aprecia sobre todo en los precursores oligodendrogiales (Volpe, 2001; Huleibel y cols., 2004), por lo que puede tener consecuencias sobre la mielinización, explicando el mayor riesgo de leucomalacia periventricular (Jensen y cols., 2003; Volpe, 2001). Así, la exposición de precursores oligodendrogiales en cultivo a  $TNF\alpha$  (Jensen y cols., 2003) o interferón (Volpe, 2001) se asocia a un aumento significativo del porcentaje de células apoptóticas, efecto no observado en células maduras. Además de por el daño directo, la infección/inflamación aumentaría el riesgo de lesión cerebral en el pretérmino por mecanismos indirectos; uno, por afectar a los mecanismos de redistribución circulatoria, lo que aumentaría la probabilidad de daño hipóxico-isquémico (Jensen y cols., 2003; du Plessis y Volpe, 2002); otro, por ser causa frecuente de la propia prematuridad (Volpe, 2001). El efecto neurotóxico es sinérgico, esto es la adición de IL-1 y  $TNF\alpha$ , o de interferón  $\gamma$  (IFG) y  $TNF\alpha$ , es más dañina que los elementos por separado (Volpe, 2001; Huleibel y cols., 2004). Existe abundante literatura demostrando la asociación entre inflamación prenatal y aumento de riesgo de parálisis cerebral (Volpe, 2001; Wu y cols., 2003; Huleibel y cols., 2004; Hagberg y Mallard, 2005). La importancia del  $TNF\alpha$  se evidencia por el efecto neuroprotector observado con los inhibidores de sus receptores o de su proteína transportadora (Allan y Rothwell, 2001).

Finalmente, en los últimos años se confirma la importancia de la glía, especialmente de los astrocitos, en la modulación del daño cerebral en la EHIN (Takuma y cols., 2004). Los astrocitos acumulan glucógeno, garantizando la disponibilidad de una fuente de energía para las neuronas; sintetizan y liberan factores neurotróficos; y, finalmente, ayudan a reducir la acumulación perineuronal de NO y otros oxidantes, y de citoquinas, y son los principales responsables de evitar la acumulación de glutamato (Volpe, 2001; Takuma y cols., 2004). Tras un episodio hipóxico-isquémico, los astrocitos sufren muerte inmediata o inician procesos de apoptosis. La reducción de la celularidad astrocítica sería un factor de agravamiento de la lesión cerebral, por lo que se considera que las estrategias protectoras de astrocitos serían también neuroprotectoras (Takuma y cols., 2004).

Aunque estos elementos actúan similarmente en el cerebro maduro e inmaduro, éste último presenta una serie de peculiaridades que le hacen especialmente vulnerable al daño HI. Así:

1. El cerebro en el período neonatal se caracteriza por una mayor sensibilidad postsináptica a los neurotransmisores (Johnston, 2001), de modo que un estímulo excesivo por un neurotransmisor como el glutamato, que por otra parte es necesario para los procesos de maduración, produce una respuesta más intensa y prolongada que en el cerebro maduro (Johnston, 2001); sirva de ejemplo de la gran importancia de la excitotoxicidad en la HI neonatal el que en el modelo *in vitro* de POG de secciones de cerebro de rata recién nacida, existe una correlación directa entre la liberación de glutamato y la severidad del daño cerebral HI (Fernandez-Lopez y cols., 2005).
2. El proceso de crecimiento rápido implica una alta tasa metabólica y de extracción de oxígeno, lo que junto a la inmadurez de los mecanismos de recaptación de glucosa hace que la hipoglucemia sea particularmente dañina para el cerebro neonatal (Volpe, 2001; Ferriero, 2004); así, aunque el cerebro inmaduro está habituado a un ambiente hipóxico –el fetal-, cuando se asocia a una hipoxia la interrupción del aporte de glucosa, como en la HI, se produce el daño. Este efecto es fácilmente reproducible *in vitro*, simplemente retirando el oxígeno y la glucosa del medio en que se incuban secciones de cerebro neonatal de rata (Fernandez-Lopez y cols., 2005).
3. Las células gliales inmaduras presentan un metabolismo férrico acentuado, lo que junto a su carencia relativa de antioxidantes les hace muy susceptibles al efecto de los radicales libres; por todo ello, tras HI la lesión de sustancia blanca es más extensa y severa en el cerebro inmaduro que en el maduro (du Plessis y Volpe, 2002).
4. La plasticidad del cerebro en desarrollo se basa en gran medida en procesos apoptóticos controlados, lo que predispone al predominio de factores pro-apoptóticos tras situaciones de daño cerebral (du Plessis y Volpe, 2002).
5. El flujo sanguíneo cerebral (FSC) del neonato tiene un rango de autorregulación más limitado que en edades posteriores, y peor cuanto menor es la edad gestacional; es además muy

dependiente de una actividad endotelial normal, que se pierde rápidamente durante hipoxia moderada (Martinez-Orgado y cols., 2006). La circulación cerebral es terminal, la distribución arterial inmadura, y el acoplamiento metabolismo-microcirculación es muy intenso y con grandes diferencias regionales, lo que determina también que las distintas zonas del cerebro neonatal muestren diferente vulnerabilidad a la asfixia (Volpe, 2001; Martinez-Orgado y cols., 2006).

6. Por el contrario, el cerebro inmaduro ha demostrado una enorme capacidad plástica de recuperación tras una HI, incrementando la producción de precursores neuronales en la zona subventricular, que migran a las zonas neocorticales lesionadas (Ong y cols., 2005; Yang y cols., 2007). Este proceso coincide con la proliferación y migración de células gliales, que se han demostrado imprescindibles para la supervivencia de los precursores neuronales migrados (Ong y cols., 2005).

### 4.3. Neuroprotección

Las diferentes estrategias de neuroprotección posibles ante la HI se ven condicionadas por una serie de circunstancias: i) la constatación de la existencia de una “ventana terapéutica”, definida como un período de tiempo (entre 6 a 10 horas) que transcurre desde que se produce el episodio HI hasta que se activan los diferentes mecanismos que regulan la muerte neuronal tardía (Berger y Garnier, 2000; Volpe, 2001); ii) la enorme dificultad para diagnosticar con precisión el momento de inicio de un cuadro de HI, así como de conseguir el número de pacientes suficiente y con la homogeneidad adecuada que permita realizar ensayos clínicos sobre estrategias de neuroprotección con la significación estadística suficiente; y iii) la gran complejidad de la fisiopatología de la lesión cerebral HI, que implica que sólo terapéuticas combinadas, o tratamientos que actúen simultáneamente a distintos niveles, sean eficaces (Volpe, 2001; Ferriero, 2004; Martinez-Orgado y cols., 2006). Un ejemplo sería la hipotermia, con prometedores resultados iniciales en recién nacidos asfícticos (Martinez-Orgado y cols., 2007). En este sentido, los cannabinoides ganan terreno como candidatos a ser una eficaz terapia multifactorial de

la lesión cerebral por HI (Mechoulam y cols., 2002; Baker y cols., 2003).

#### 4.3.1. Características neuroprotectoras de los cannabinoides

La activación de los receptores CB conduce al cierre de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$ , limitando así el aumento intracelular de este catión (Howlett y cols., 2004), por lo que actúan directamente sobre uno de los factores cruciales que conducen a la muerte celular tras HI (Volpe, 2001); este efecto depende en parte de la concentración de cAMP (Fowler, 2003).

Por otra parte, el cierre de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  parece ser el principal responsable de otro efecto importante para el potencial neuroprotector de los cannabinoides: la reducción de la liberación de glutamato (Hajos y cols., 2001). Este efecto ha sido demostrado por nuestro grupo en secciones cerebrales de rata neonatal privadas de oxígeno y glucosa (Fernandez-Lopez y cols., 2006). El que el efecto de los cannabinoides sea sobre la liberación y no exclusivamente sobre los receptores de glutamato es especialmente relevante, ya que los bloqueantes de receptores de glutamato han demostrado ser neurotóxicos en el cerebro inmaduro (Hamrick y Ferriero, 2003). Además, los cannabinoides actúan como bloqueantes de receptores de glutamato tipo AMPA, que son los responsables de la excitotoxicidad glial (Shouman y cols., 2006; Docagne y cols., 2007). Finalmente, los cannabinoides modulan la toxicidad mediada por NMDA mediante la inhibición retrógrada de la vía Protein Kinasa A y de la producción de NO (Kim y cols., 2006).

Los cannabinoides han demostrado un efecto inhibitorio de la expresión glial de iNOS tras diferentes estímulos (Waksman y cols., 1999; Molina-Holgado y cols., 2003; Fowler, 2003). Nuestro grupo lo ha demostrado tras POG de secciones cerebrales de rata neonatal (Fernandez-Lopez y cols., 2006). Se ha propuesto que este efecto sea debido, al menos en parte, a la inhibición de la actividad transcripcional del NF- $\kappa$ B (Nuclear Factor- $\kappa$ B) (Waksman y cols., 1999); también podría deberse al aumento de la liberación del antagonista del receptor de IL-1 (IL-1ra), un efecto descrito en varios cannabinoides (Molina-Holgado y cols., 2003). El efecto inhibitorio de los cannabinoides sobre la actividad del NF- $\kappa$ B tiene una importancia adicional: este es el mecanismo propuesto por el que el glutamato induce la expresión de

la iNOS (Martinez-Orgado y cols., 2006). Además del efecto modulador de la expresión de la iNOS; los cannabinoides reducen la producción tóxica de NO debida a la activación de la nNOS, ya que esta activación depende del aumento de la concentración intracelular de  $Ca^{++}$  (Fowler, 2003).

Otro efecto potencialmente neuroprotector de los cannabinoides es la inmunomodulación (Croxford y Yamamura, 2005; Klein, 2005; Ashton y Glass, 2007). Los cannabinoides inhiben *in vivo* e *in vitro* el aumento de producción de  $TNF\alpha$  en respuesta a diversos estímulos inmunológicos, controlando la actividad de varios factores de transcripción (Croxford y Yamamura, 2005; Klein, 2005) y potenciando la liberación del IL-1ra endógeno (Molina-Holgado y cols., 2003). Se ha demostrado la reducción de la producción tóxica de citoquinas por cannabinoides en cultivos de astrocitos y microglía (Ortega-Gutierrez y cols., 2005; Eljaschewitsch y cols., 2006); nuestro grupo lo ha demostrado tras POG de secciones cerebrales de rata neonatal (Fernandez-Lopez y cols., 2006). Además, los cannabinoides reducen la activación microglial tras episodios HI (Ashton y Glass, 2007).

Los endocannabinoides son potentes antioxidantes, un efecto relacionado con su estructura molecular (Marsicano y cols., 2003). Varios estudios *in vitro* (Hampson y cols., 1998; Marsicano y cols., 2002) e *in vivo* (Lastres-Becker y cols., 2005) han demostrado que la neuroprotección mediada por cannabinoides se debía, al menos en parte, a su efecto antioxidante.

Es bien conocido que los cannabinoides reducen la temperatura corporal (Pertwee y cols., 1991). Estudios con ratas adultas han conseguido demostrar que la hipotermia era parte importante de su efecto neuroprotector, ya que al mantener normotérmicos a los animales el efecto neuroprotector se reducía sustancialmente (Leker y cols., 2003).

Un aspecto de creciente importancia es el efecto de los cannabinoides sobre la glía. Como se dijo previamente, la protección de estas células es esencial para reducir el daño cerebral HI y mantener la regeneración neuronal (Ong y cols., 2005; Yang y cols., 2007). Los cannabinoides aumentan la actividad energética de los astrocitos (Fowler, 2003), y han demostrado un efecto protector de estas células ante estímulos citotóxicos (Docagne y cols., 2007) y proapoptóticos (Gomez y cols., 2002). Además, es muy interesante el papel de los cannabi-

noides en procesos neuroproliferativos (Fernandez-Ruiz y cols., 2000; Aguado y cols., 2006): los cannabinoides promueven la proliferación y generación de neuroesferas *in vitro*, tienen un efecto remielinizante, demostrado en modelos animales de desmielinización, y promueven la diferenciación de precursores gliales en células de estirpe astroglial (Aguado y cols., 2006). Los cannabinoides, asimismo, participan en procesos de plasticidad (Basavarajappa, 2007) y proliferación neuronal (Fernández-Ruiz y cols., 2000).

Hay otros efectos de los cannabinoides que pueden tener un papel en la neuroprotección mediada por cannabinoides tras HI: los cannabinoides son vasodilatadores cerebrales (Golech y cols., 2004), y estabilizan la BHE (Mechoulam y cols., 2002).

Finalmente, se ha descrito que los cannabinoides aumentan la concentración de ceramidas en el cerebro HI, sustancias con un conocido componente proapoptótico; este efecto, empero, no desdice necesariamente el potencial neuroprotector de los cannabinoides, ya que se hipotetiza que así los cannabinoides ayudarían a acelerar la muerte de las células irreversiblemente dañadas, limitando en el tiempo su posible efecto lesivo sobre otras células supervivientes (Fowler, 2003).

#### 4.3.2. Demostración del efecto neuroprotector de los cannabinoides tras HI

Hace casi una década, varios estudios demostraron que la incubación con cannabinoides reducía la muerte de neuronas en cultivo privadas de oxígeno y glucosa (Nagayama y cols., 1999). Nuestro grupo ha empleado un modelo *in vitro* más complejo, la POG de secciones cerebrales de rata recién nacida, que ofrece la ventaja frente a los cultivos celulares de que preserva en mucha medida la arquitectura cerebral y las conexiones intercelulares (Fernandez-Lopez y cols., 2006); en este modelo, el agonista cannabinoide WIN55212 demostró prevenir casi completamente la muerte celular, cuantificada bioquímica e histológicamente (Fernandez-Lopez y cols., 2006). El efecto neuroprotector del WIN55212 en este modelo se vinculaba a la disminución de la liberación de glutamato y citoquinas, y de la inducción de la iNOS, es decir, actuando sobre algunos de los principales artífices de la muerte neuronal tras HI (Fernandez-Lopez y cols., 2006). Para conseguir este efecto neuroprotector parece necesaria la

activación conjunta de receptores CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub>, ya que el bloqueo de cualquiera de ambos reducía el efecto protector, y el efecto del WIN55212 (agonista CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub>) fue superior al de un agonista CB<sub>1</sub> puro (la araquidonil-2-cloroetilamida, ACEA) o CB<sub>2</sub> puro (1,1-dimethylbutyl-1-deoxi- $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol, JWH133) (Fernandez-Lopez *y cols.*, 2006).

El efecto neuroprotector de los cannabinoides también se ha demostrado *in vivo* (Mechoulam *y cols.*, 2002; Mechoulam y Lichtman, 2003; Baker *y cols.*, 2003; Fowler, 2003), siendo cada vez más evidente que este efecto depende de la especie estudiada, la edad y el tipo y severidad del daño cerebral (Mechoulam *y cols.*, 2002). En ratas adultas, la administración de WIN55212 reduce la lesión cerebral tras episodios de isquemia global o focal (stroke) (Nagayama *y cols.*, 1999). En ratas recién nacidas, el THC reduce la lesión cerebral inducida por inyección directa de excitotóxicos (van der Stelt *y cols.*, 2001a). Nuestro grupo ha demostrado que la administración de WIN55212 tras un episodio asfíctico (Martinez-Orgado *y cols.*, 2003) o HI (Fernandez-Lopez *y cols.*, 2007) en ratas recién nacidas reduce drásticamente la lesión cerebral. De hecho, en ese modelo HI, en el que se induce el daño mediante la exposición a hipoxia tras ligadura de la arteria carótida izquierda, la lesión inicial, demostrada mediante Resonancia Magnética, era similar en las ratas recién nacidas tratadas con WIN o con vehículo; pero mientras éstas últimas evolucionaban hacia la necrosis de la zona dañada en los días sucesivos, en las crías tratadas con WIN la lesión evolucionaba hacia la recuperación (Fernandez-Lopez *y cols.*, 2007). Un aspecto de extraordinaria relevancia es que este efecto protector se consiguió administrando el cannabinoide después del episodio HI, lo que lo hace más factible cara a su uso en condiciones clínicas reales.

Recientemente, nuestro grupo ha utilizado un modelo *in vivo* de HI con lechón recién nacido –hipoxia junto con oclusión temporal de las arterias carótidas–, considerado como mucho más próximo a la situación clínica real (Alvarez *y cols.*, 2008). En este modelo, la administración de cannabidiol tras el episodio HI reduce la lesión cerebral, un efecto asociado a la disminución de la disfunción hemodinámica cerebral, la mejoría de la actividad metabólica y eléctrica, la reducción del edema cerebral y la prevención de las convulsiones (Alvarez *y cols.*,

2008). El cannabidiol ya había demostrado efectos neuroprotectores en modelos *in vitro* e *in vivo* de HI en cerebro maduro (Pertwee, 2004). Su utilidad post-HI y la ausencia de efectos secundarios significativos lo convierten en un candidato atractivo a ser empleado en humanos.

De todos modos, pese a todos estos prometedores resultados en experimentación animal, hasta la fecha no hay datos del empleo de cannabinoides en humanos con HI. Hace más de una década se inició un ensayo clínico con HU-211 en casos de trauma cerebral en adultos; tras unos buenos resultados preliminares (Shohami y cols., 1993), el estudio completo, aleatorizado controlado con placebo, no mostró ventajas significativas (Knoller y cols., 2002).

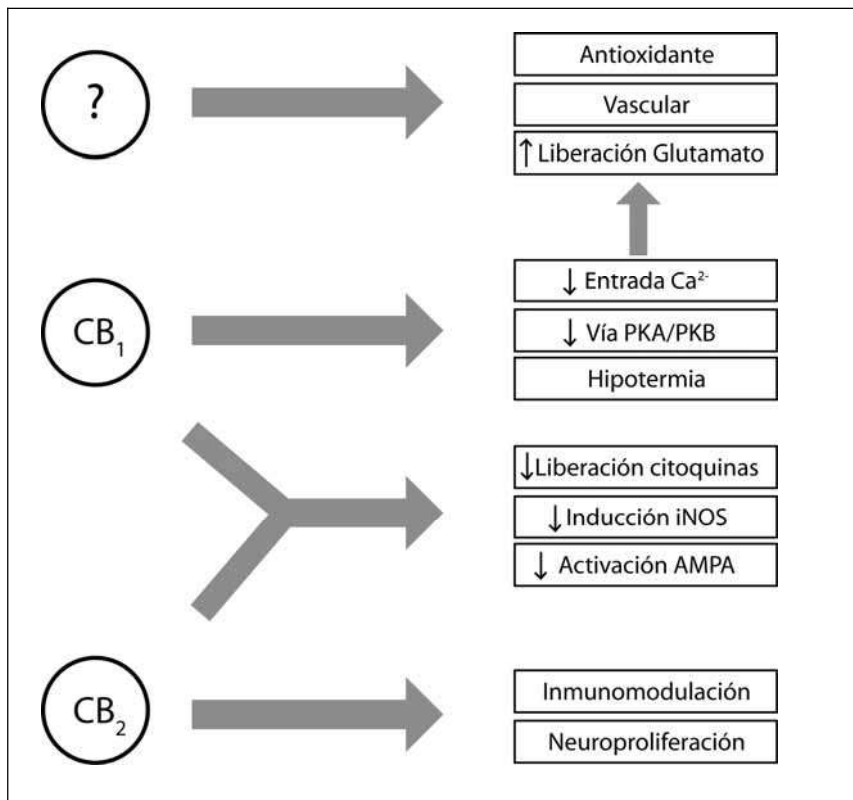
#### 4.3.3. El sistema cannabinoide endógeno en la HI

Se ha descrito que la concentración de endocannabinoides, especialmente de N-acetiletanolaminas y sus precursores, aumenta tras un episodio isquémico o traumático en el cerebro maduro (Franklin y cols., 2003) e inmaduro (Hansen y cols., 2001). Además, la administración exógena de anandamida o de 2-araquinoilglicerol ha demostrado efectos neuroprotectores en modelos *in vitro* e *in vivo* de lesión cerebral aguda (Panikashvili y cols., 2001; van der Stelt y cols., 2001b).

También se ha descrito un aumento en la expresión del receptor CB<sub>1</sub> en cortex cerebral tras episodios HI *in vivo* (Jin y cols., 2000) e *in vitro* (Fernandez-Lopez y cols., 2006). Este aumento de expresión es casi instantáneo, siendo demostrable una hora después del episodio (Jin y cols., 2000; Fernandez-Lopez y cols., 2006; Zhang y cols., 2008) y máximo a las 6 horas (Zhang y cols., 2008). El receptor CB<sub>1</sub> juega un papel fundamental en la neuroprotección mediada por cannabinoides, ya que su antagonismo anula o reduce, según los casos, el efecto neuroprotector de los cannabinoides (Nagayama y cols., 1999; van der Stelt y cols., 2001a; van der Stelt y cols., 2001b; Fernandez-Lopez y cols., 2006; Fernandez-Lopez y cols., 2007) (Fig. 4.1). Sin embargo, no parece ser el único involucrado, ya que por ejemplo en nuestro modelo de lesión asfíctica aguda en rata neonatal, el antagonista CB<sub>1</sub> SR141716 anuló el efecto preventivo de WIN55212 frente a la muerte neuronal precoz pero no frente a la tardía (Martinez-Orgado y cols., 2003). Al-



gunos de los efectos neuroprotectores de los cannabinoides, como la inhibición de la liberación de glutamato, siguen vigentes en ratones knock-out para CB<sub>1</sub> (Hajos y cols., 2001); otros efectos son independientes de los receptores CB, como el antioxidante (Hampson y cols., 1998) o el vasodilatador (Zygmunt y cols., 1999).



**Figura 4.1.:** Papel propuesto para los receptores CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub> en la neuroprotección por cannabinoides.

Crece la importancia del papel atribuido a los receptores CB<sub>2</sub> en la neuroprotección mediada por cannabinoides (Fernández-Ruiz y cols., 2008) (Fig. 4.1). Aunque se acepta que las neuronas corticales no expresan receptores CB<sub>2</sub> (Howlett y cols., 2004), sí se ha demostrado la presencia de estos receptores en células gliales y algunas subpoblaciones neuronales

extracerebrales, al menos tras episodios que inducen una respuesta inflamatoria en el sistema nervioso (Howlett y cols., 2002; Ashton y cols., 2007; Benito y cols., 2007), incluidos episodios HI (Ashton y cols., 2007; Zhang y cols., 2008; Fernandez-Ruiz y cols., 2008). En éste último caso, el aumento de expresión de CB<sub>2</sub> es más lento pero más duradero que la de CB<sub>1</sub> (Zhang y cols., 2008). Por otra parte, la administración de agonistas puros CB<sub>2</sub> ha demostrado reducir el daño cerebral HI tanto en modelos *in vitro* (Fernandez-Lopez y cols., 2006) como *in vivo* (Zhang y cols., 2007). Los receptores CB<sub>2</sub> median los efectos antiinflamatorios e inmunomoduladores de los cannabinoides (Fernandez-Ruiz y cols., 2007; Ashton y Glass, 2007), efecto de gran importancia en la HI (Allan y Rothwell, 2001); además, intervienen en algunos de los efectos proliferativos de los cannabinoides (Fernandez-Ruiz y cols., 2007; Fernandez-Ruiz y cols., 2008). Este posible papel neuroprotector de la activación de receptores CB<sub>2</sub> es de excepcional relevancia, ya que estaría libre de efectos secundarios psicoactivos (Howlett y cols., 2004).

Un aspecto muy interesante es el posible efecto beneficioso de la activación simultánea de receptores CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub> (Fig. 4.1). Las células gliales activadas expresan ambos receptores (Howlett y cols., 2002; Ashton y cols., 2007; Benito y cols., 2007), habiéndose sugerido que varios de los efectos de los cannabinoides sobre las células gliales dependen de la activación simultánea de ambos receptores. Así, por ejemplo, se ha demostrado que los cannabinoides evitan la toxicidad celular por AMPA en cultivos mixtos corticales de ratón mediante la activación simultánea de receptores CB<sub>1</sub> en neuronas y CB<sub>2</sub> en astrocitos (Docagne y cols., 2007). Además, el antagonismo tanto de los receptores CB<sub>1</sub> como de los CB<sub>2</sub> anula la inhibición por cannabinoides de la producción tóxica de NO y citoquinas por células astrocíticas o microgliales en cultivo (Ortega-Gutierrez y cols., 2005; Eljaschewitsch y cols., 2006). En este sentido, los trabajos de nuestro grupo también han demostrado que la administración de un antagonista CB<sub>1</sub> o CB<sub>2</sub> revierte la neuroprotección obtenida con WIN55212 en rata recién nacida, tanto en modelos de HI *in vitro* (Fernandez-Lopez y cols., 2006) como *in vivo* (Fernandez-Lopez y cols., 2007). También se ha demostrado que los receptores CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub> se expresan constitutivamente en los vasos cerebrales

(Golech y cols., 2004); en este caso, a diferencia de lo referido para células gliales, los mejores resultados se han obtenido asociando un antagonista CB<sub>1</sub> a un agonista CB<sub>2</sub>, lo que ha demostrado aumentar el flujo intralesional durante la HI (Zhang y cols., 2008).

Sin embargo, existen mecanismos de neuroprotección por cannabinoides que no están mediados por receptores CB<sub>1</sub> o CB<sub>2</sub> (Fig. 4.1). Un ejemplo preclaro es el del cannabidiol, que no es agonista CB<sub>1</sub> y se une muy débilmente a CB<sub>2</sub> (Pertwee, 2004). Sus efectos neuroprotectores se deben en muy buena medida a su efecto antioxidante, dependiente de su estructura molecular (Marsicano y cols., 2002), y al antiinflamatorio (Pertwee, 2004), que parece relacionado con la inhibición de la recaptación de adenosina (Carrier y cols., 2006); en este sentido, en un modelo de POG de secciones cerebrales de ratón recién nacido, nuestro grupo ha comprobado que el cannabidiol inhibe la expresión de COX-2 inducida por HI y reduce la liberación de IL-6 (Castillo y cols., datos no publicados). Además, el cannabidiol inhibe el transporte transmembrana de Ca<sup>2+</sup>, la recaptación e hidrólisis de anandamida, y la expresión de iNOS y la activación de NF-κB, todo ello por mecanismos aún desconocidos pero independientes de CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub> (Pertwee, 2004).

En conjunto, todos estos datos han promovido la consideración del endocannabinoide endógeno como un sistema natural de neuroprotección (Mechoulam y Lichtman, 2003; Fowler, 2003), lo que a su vez abre la posibilidad de la manipulación del “tono endocannabinoide” como una estrategia neuroprotectora (Baker y cols., 2003). Esta estrategia ha demostrado reducir el daño cerebral en otros modelos de neurodegeneración aguda y crónica (Karanian y cols., 2005; Cabranes y cols., 2005), y tendría la ventaja de una cierta especificidad de acción, ya que la síntesis de endocannabinoides y la expresión de los receptores parece estar selectivamente aumentada en las zonas lesionadas (Baker y cols., 2003).

#### 4.4. Conclusiones

Los cannabinoides se consolidan como una alternativa factible y realista para la prevención o reducción del daño cerebral tras HI, probablemente porque forman parte de un sistema natu-

ral de control del daño y promoción de la recuperación en diversas patologías. Su atractivo principal radica en su actuación simultánea sobre varios de los factores decisivos en la cascada de acontecimientos que conducen a la muerte neuronal tras HI: impiden el aumento masivo de la concentración intracelular de  $Ca^{2+}$ , la producción tóxica de NO y citoquinas, son antioxidantes e inmunomoduladores, y extienden su efecto protector a las células gliales, garantes de los mecanismos de neuroreparación. La recientemente demostrada utilidad de cannabinoides no psicoactivos, como el cannabidiol o los agonistas CB<sub>2</sub>, y el que este efecto se consiga con su administración *a posteriori* del episodio HI y virtualmente sin efectos secundarios relevantes, suponen un valor añadido cara a plantear su uso en humanos. Otra estrategia prometedora podría ser la potenciación del tono cannabinoide endógeno, que a sus escasos efectos secundarios uniría una elevada selectividad gráfica en su acción.

## Bibliografía

- Aguado T, Palazuelos J, Monory K, Stella N, Cravatt B, Lutz B y cols (2006). The endocannabinoid system promotes astroglial differentiation by acting on neural progenitor cells. *J Neurosci*; **26**:1551-1561.
- Allan SM, Rothwell NJ (2001). Cytokines and acute neurodegeneration. *Nat Rev Neurosci*; **2**:734-740.
- Alvarez FJ, Lafuente H, Rey-Santano MC, Mielgo VE, Gastiasoro E, Rueda M y cols (2008). Neuroprotective effects of the non-psychoactive cannabinoid cannabidiol in hypoxic-ischemic newborn piglets. *Pediatr Res*; **64**:653-8.
- Ashton JC y Glass M (2007). The cannabinoid CB<sub>2</sub> receptor as a target for inflammation-dependent neurodegeneration. *Curr Neuropharmacol*; **5**:73-80.
- Ashton JC, Rahman RMA, Nair SM, Sutherland BA, Glass M y Appleton I (2007). Cerebral hypoxia-ischemia and middle cerebral artery occlusion induce expression of the cannabinoid CB<sub>2</sub> receptor in the brain. *Neurosci Lett*; **412**:114-117.
- Baker D, Pryce G, Giuffrida A y Thompson A (2003). The therapeutical potential of cannabis. *Lancet Neurol*; **2**:291-298.
- Basavarajappa BS (2007). Neuropharmacology of the endocannabinoid signaling system-molecular mechanisms, biological actions and synaptic plasticity. *Curr Neuropharmacol*; **5**:81-97.

- Benito C, Romero JP, Tolon RM, Clemente D, Docagne F, Hillard CJ y cols (2007). Cannabinoid CB1 and CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are specific markers of plaque cell subtypes in human multiple sclerosis. *J Neurosci*; **27**:2396-2402.
- Berger R y Garnier Y (2000). Perinatal brain injury. *J Perinat Med*; **28**:261-285.
- Cabranes A, Venderova K, de Lago E, Fezza F, Sanchez A, Mestre L y cols (2005). Decreased endocannabinoid levels in the brain and beneficial effects of agents activating cannabinoid and/or vanilloid receptors in a rat model of multiple sclerosis. *Neurobiol Dis*; **20**:207-217.
- Carrier EJ, Auchampach JA y Hillard CJ (2006). Inhibition of an equilibrative nucleoside transporter by cannabidiol: a mechanism of cannabinoid immunosuppression. *Proc Natl Acad Sci USA*; **103**:7895-7900.
- Croxford JL y Yamamura T (2005). Cannabinoids and the immune system: potential for the treatment of inflammatory diseases? *J Neuroimmunol*; **166**:3-18.
- Docagne F, Muñetón V, Clemente D, Ali C, Loría F, Correa F y cols (2007). Excitotoxicity in a chronic model of multiple sclerosis: neuroprotective effect of cannabinoids through CB1 and CB2 receptor activation. *Mol Cell Neurosci*; **34**:551-61
- du Plessis AJ y Volpe JJ (2002). Perinatal brain injury in the preterm and term newborn. *Curr Opin Neurol*; **15**:151-157.
- Eljaschewitsch E, Witting A, Mawrin C, Lee T, Schmidt PM, Wolf S y cols (2006). The endocannabinoid anandamide protects neurons during CNS inflammation by induction of MKP-1 in microglial cells. *Neuron*; **49**:67-79.
- Fernández-Lopez D, Martínez-Orgado J, Casanova I, Bonet B, Leza JC, Lorenzo P y cols (2005). Immature rat brain slices exposed to oxygen-glucose deprivation as an in vitro model of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Neurosci Methods*; **145**:205-212.
- Fernández-Lopez D, Martínez-Orgado J, Nunez E, Romero J, Lorenzo P, Moro MA y cols (2006). Characterization of the neuroprotective effect of the cannabinoid agonist win-55212 in an in vitro model of hypoxic-ischemic brain damage in newborn rats. *Pediatr Res*; **60**:169-173.
- Fernández-Lopez D, Pazos MR, Tolon RM, Moro MA, Romero J, Liza-soain I y cols. (2007). The cannabinoid agonist WIN55212 reduces brain damage in an in vivo model of hypoxic-ischemic encephalopathy in newborn rats. *Pediatr Res*; **62**:255-260.
- Fernández-Ruiz J, Berrendero F, Hernandez ML y Ramos JA (2000). The endogenous cannabinoid system and brain development. *Trends Neurosci*; **23**:14-20.

- Fernández-Ruiz J, Pazos MR, Garcia-Arencibia M, Sagredo O y Ramos JA (2008). Role of CB2 receptors in neuroprotective effects of cannabinoids. *Mol Cell Endocrinol*; **286**:S91-S96.
- Fernández-Ruiz J, Romero J, Velasco G, Tolon RM, Ramos JA y Guzman M (2007). Cannabinoid CB2 receptor: a new target for controlling neural cell survival? *Trends Pharmacol Sci*; **28**:39-45.
- Ferriero DM (2004). Neonatal brain injury. *N Engl J Med*; **351**:1985-1995.
- Fowler CJ (2003). Plant-derived, synthetic and endogenous cannabinoids as neuroprotective agents. Non-psychoactive cannabinoids, 'entourage' compounds and inhibitors of N-acyl ethanolamine breakdown as therapeutic strategies to avoid psychotropic effects. *Brain Res Brain Res Rev*; **41**:26-43.
- Franklin A, Parmentier-Batteur S, Walter L, Greenberg DA y Stella N (2003). Palmitoylethanolamide increases after focal cerebral ischemia and potentiates microglial cell motility. *J Neurosci*; **23**:7767-7775.
- Golech SA, McCarron RM, Chen Y, Bembry J, Lenz F, Mechoulam R y cols (2004). Human brain endothelium: coexpression and function of vanilloid and endocannabinoid receptors. *Brain Res Mol Brain Res*; **132**:87-92.
- Gomez del Pulgar J, De Ceballos ML, Guzman M y Velasco G (2002). Cannabinoids protect astrocytes from ceramide-induced apoptosis through the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway. *J Biol Chem*; **277**:36527-36533.
- Hagberg H y Mallard C (2005). Effect of inflammation on central nervous system development and vulnerability. *Curr Opin Neurol*; **18**:117-123.
- Hajos N, Ledent C y Freund TF (2001). Novel cannabinoid-sensitive receptor mediates inhibition of glutamatergic synaptic transmission in the hippocampus. *Neuroscience*; **106**:1-4.
- Hampson AJ, Grimaldi M, Axelrod J y Wink D (1998). Cannabidiol and (-)-Delta9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. *Proc Natl Acad Sci USA*; **95**:8268-8273.
- Hamrick SE y Ferriero DM (2003). The injury response in the term newborn brain: can we neuroprotect? *Curr Opin Neurol*; **16**:147-154.
- Hansen HH, Schmid PC, Bittigau P, Lastres-Becker I, Berrendero F, Manzanares J y cols (2001). Anandamide, but not 2-arachidonoylglycerol, accumulates during in vivo neurodegeneration. *J Neurochem*; **78**:1415-1427.
- Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA F y cols (2002). International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev*; **54**:161-202.

- Howlett AC, Breivogel C, Childers SR, Deadwyler SA, Hampson RE y Porrino LJ (2004). Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. *Neuropharmacology*; **47**:345-358.
- Huleibel M, Golan H y Hallak M (2004). Intrauterine infection/inflammation during pregnancy and offspring brain damages: Possible mechanisms involved. *Reprod Biol Endocrinol*; **2**:17-25.
- Jensen A, Garnier Y, Middelanis J y Berger R (2003). Perinatal brain damage-from pathophysiology to prevention. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*; **110**:S70-S79.
- Jin KL y Mao XO, Goldsmith PC, Greenberg DA (2000). CB1 cannabinoid receptor induction in experimental stroke. *Ann Neurol*. **48**:257-261.
- Johnston MV (2001). Excitotoxicity in neonatal hypoxia. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*; **7**:229-234.
- Karanian DA, Brown QB, Makriyannis A, Kosten TA y Bahr BA (2005). Dual modulation of endocannabinoid transport and fatty acid amide hydrolase protects against excitotoxicity. *J Neurosci*; **25**:7813-7820.
- Kim SH, Won SJ, Mao XO, Jin K y Greenberg DA (2006). Molecular mechanisms of cannabinoid protection from neuronal excitotoxicity. *Mol Pharmacol*; **69**:691-696.
- Klein TW (2005). Cannabinoid-based drugs as anti-inflammatory therapeutics. *Nature Rev*; **5**:400-411.
- Knoller N, Levi L, Shoshan I, Reichental E, Razon N, Rappaport ZH y cols (2002). Dexanabinol (HU-211) in the treatment of severe closed head injury: A randomized, placebo-controlled, phase II clinical trial\*. *Crit Care Med*; **30**:548-554.
- Lastres-Becker I, Molina-Holgado F, Ramos JA, Mechoulam R y Fernandez-Ruiz J (2005). Cannabinoids provide neuroprotection against 6-hydroxydopamine toxicity in vivo and in vitro: relevance to Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*; **19**:96-107.
- Leker RR, Gai N, Mechoulam R y Ovadia H (2003). Drug-induced hypothermia reduces ischemic damage: effects of the cannabinoid HU-210. *Stroke*; **34**:2000-2006.
- Marsicano G, Goodenough S, Monory K, Hermann H, Eder M, Cannich A y cols (2003). CB1 cannabinoid receptors and on-demand defense against excitotoxicity. *Science*; **302**:84-88.
- Marsicano G, Moosmann B, Hermann H, Lutz B y Behl C (2002). Neuroprotective properties of cannabinoids against oxidative stress: role of the cannabinoid receptor CB1. *J Neurochem*; **80**:448-456.
- Martinez-Orgado J, Fernandez-Frutos B, Gonzalez R, Romero E, Uri-guen L, Romero J y cols (2003). Neuroprotection by the

- cannabinoid agonist WIN-55212 in an in vivo newborn rat model of acute severe asphyxia. *Brain Res Mol Brain Res*; **114**:132-139.
- Martinez-Orgado J, Fernandez-Lopez D, Lizasoain I y Romero J (2007). The seek of neuroprotection: introducing cannabinoids. Recent Patents *CNS Drug Discov*; **2**:131-139.
- Martinez-Orgado J, Fernandez-Lopez D, Moro MA y Lizasoain I (2006). Nitric oxide synthase as a target for the prevention of hypoxic-ischemic newborn brain damage. *Curr Enzym Inhib*; **2**:219-229.
- Mechoulam R y Lichtman AH (2003). Stout guards of the central nervous system. *Science*; **302**:65-67.
- Mechoulam R, Panikashvili D y Shohami E (2002). Cannabinoids and brain injury: therapeutic implications. *Trends Mol Med*; **8**:58-61.
- Molina-Holgado F, Pinteaux E, Moore JD, Molina-Holgado E, Guaza C, Gibson RM y cols (2003). Endogenous interleukin-1 receptor antagonist mediates anti-inflammatory and neuroprotective actions of cannabinoids in neurons and glia. *J Neurosci*; **23**:6470-6474.
- Nagayama T, Sinor AD, Simon RP, Chen J, Graham SH, Jin K y cols (1999). Cannabinoids and neuroprotection in global and focal cerebral ischemia and in neuronal cultures. *J Neurosci*; **19**:2987-2995.
- Ong J, Plane JM, Parent JM y Silverstein FS (2005). Hypoxic-ischemic injury stimulates subventricular zone proliferation and neurogenesis in the neonatal rat. *Pediatr Res*; **58**:600-606.
- Ortega-Gutierrez S, Molina-Holgado E y Guaza C (2005). Effect of anandamide uptake inhibition in the production of nitric oxide and in the release of cytokines in astrocyte cultures. *Glia*; **52**:163-168.
- Oygür N, Sönmez O, Saka O y Yegin O (1998). Predictive value of plasma and cerebrospinal fluid tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-1 $\alpha$  concentrations on outcome of full term infants with hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 79F:F190-F193.
- Panikashvili D, Simeonidou C, Ben Shabat S, Hanus L, Breuer A, Mechoulam R y cols (2001). An endogenous cannabinoid (2-AG) is neuroprotective after brain injury. *Nature*; **413**:527-531.
- Pertwee RG (2004). The pharmacology and therapeutic potential of cannabidiol. In: Cannabinoids. Ed. V. Di Marzo. Kluwer *Academic/Plenum Publishers*; pp. 32-83.
- Pertwee RG, Nash K y Trayhurn P (1991). Evidence that the hypothermic response of mice to delta-9-tetrahydrocannabinol



- is not mediated by changes in thermogenesis in brown adipose tissue. *Can J Physiol Pharmacol*; **69**:767-770.
- Shohami E, Novikov M y Mechoulam R (1993). A nonpsychotropic cannabinoid, HU-211, has cerebroprotective effects after closed head injury in the rat. *J Neurotrauma*; **10**:109-119.
- Shouman B, Fontaine RH, Baud O, Schwendimann L, Keller M, Spedding M y cols (2006). Endocannabinoids potently protect the newborn brain against AMPA-kainate receptor-mediated excitotoxic damage. *Br J Pharmacol*; **148**:442-451.
- Silveira RC y Procianny RS (2003). Interleukin-6 and Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  levels in plasma and cerebrospinal fluid of term newborn infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *J Pediatr*; **143**:625-629.
- Takuma K, Baba A y Matsuda T (2004). Astrocyte apoptosis: implications for neuroprotection. *Prog Neurobiol*; **72**:111-127.
- van der Stelt M, Veldhuis WB, Bar PR, Veldink GA, Vliedhart JF y Nicolay K (2001a). Neuroprotection by Delta9-tetrahydrocannabinol, the main active compound in marijuana, against ouabain-induced in vivo excitotoxicity. *J Neurosci*; **21**:6475-6479.
- van der Stelt M, Veldhuis WB, van Haaften GW, Fezza F, Bisogno T, Bar PR y cols (2001b). Exogenous anandamide protects rat brain against acute neuronal injury in vivo. *J Neurosci*; **21**:8765-8771.
- Volpe JJ (2001). Hypoxic-ischemic encephalopathy: neuropathology and pathogenesis. In: *Neurology of the Newborn* (Volpe JJ, ed), pp 296-330. Philadelphia: WB Saunders Co.
- Waksman Y, Olson JM, Carlisle SJ y Cabral GA (1999). The central cannabinoid receptor (CB1) mediates inhibition of nitric oxide production by rat microglial cells. *J Pharmacol Exp Ther*; **288**:1357-1366.
- Warner DS, Sheng H y Batinic-Haberle I (2004). Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *J Exp Biol*; **207**:3221-3231.
- Wu YW, Escobar GJ, Grether JK, Croen LA, Greene JD y Newman TB (2003). Chorioamnionitis and cerebral palsy in term and near-term infants. *JAMA*; **290**:2677-2684.
- Yang Z, Covey MV, Bitel CL, Ni L, Jonakait GM y Levison SW (2007). Sustained neocortical neurogenesis after neonatal hypoxic/ischemic injury. *Ann Neurol*; **61**:199-208.
- Zhang M, Martin BR, Adler MW, Razdan RK, Ganea D y Tuma RF (2008). Modulation of the balance between cannabinoid CB(1) and CB(2) receptor activation during cerebral ischemic/reperfusion injury. *Neuroscience*; **152**:753-760.
- Zhang M, Martin BR, Adler MW, Razdan RK, Jallo JI y Tuma RF (2007). Cannabinoid CB(2) receptor activation decreases cerebral

infarction in a mouse focal ischemia/reperfusion model. *J Cereb Blood Flow Metab* doi; 10.1038/sj.jcbfm.9600447.

Zygmunt PM, Petersson J, Andersson DA, Chuang H, Sorgard M, Di Marzo V y cols (1999). Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature*; **400**:452-457.

# Potencial de los cannabinoides en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson

---

# 5

*E. Fernández Espejo*

## **5.1. El sistema endocannabinoide está involucrado en mecanismos de señalización del control motor y de neuroprotección**

Originariamente se sabía que los cannabinoides causaban hipolocomoción e hipocinesia, lo que ya manifestaba su importante rol motor. El descubrimiento del sistema endocannabinoide resaltó este aspecto, pues dicho sistema está involucrado en mecanismos de señalización en varias regiones cerebrales relacionadas con el control motor, destacando los ganglios basales y el cerebelo. De hecho la regulación endocannabinoide de diversos sistemas neurotransmisores en los ganglios basales origina importantes cambios motores. No es de extrañar que los datos de numerosos experimentos en modelos animales de neurodegeneración apoyan que los endocannabinoides deben jugar un papel importante en desórdenes motores como la enfermedad de Parkinson. Sin embargo, el conocimiento de la fisiología motora de los ganglios basales indica que hay multiplicidad de sitios donde actúan los endocannabinoides, y que el resultado final “clínico” sobre la regulación motora es difícil de predecir, lo que explicaría las inconsistencias experimentales. Es conveniente al respecto tener un conocimiento amplio de la estructura funcional de los ganglios basales, de la disposición del sistema endocannabinoide en los mismos, y cómo se alteran en la enfermedad de Parkinson. Por otra parte, los endocannabinoides pueden jugar un papel en signos de parkinsonismo avanzado y originados por la medicación, como son las discinesias. También podrán jugar un papel neuroprotector, que limitaría el avance de la neurodegeneración. Son tres frentes de experimentación donde la regulación

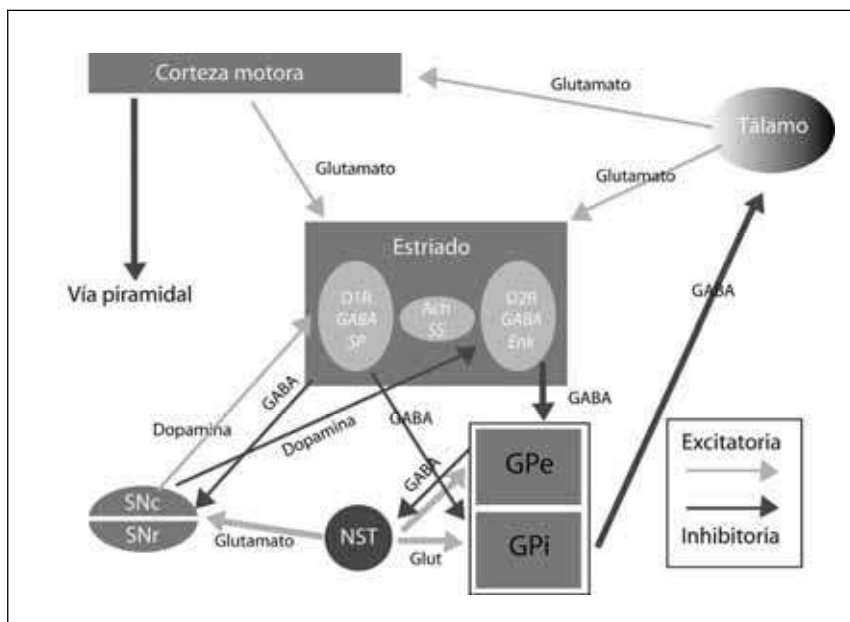
endocannabinoide puede ser importante: el desorden motor parkinsoniano, las discinesias yatrogénicas, y la neurodegeneración.

## 5.2. Esquema neuroquímico del circuito de los ganglios basales

El estriado dorsal (caudado-putamen) recibe estímulos excitatorios, glutamatérgicos, de las áreas corticales motoras. El “feed-back” último del estriado dorsal a la corteza lo lleva a cabo el tálamo motor y se dirige directamente a la corteza motora, donde se encuentran las áreas implicadas en la organización del movimiento. Más del 90% de las neuronas del estriado son neuronas GABAérgicas de mediano tamaño que proyectan fuera del estriado y tienen múltiples espinas, por lo que se les conoce como *neuronas espinosas de mediano tamaño*.

Un modelo simplificado del funcionamiento de los ganglios basales comprende dos circuitos, uno directo y otro indirecto (fig. 5.1). Las neuronas glutamatérgicas de la corteza motora inervan dos tipos principales de neuronas GABAérgicas del estriado. Un tipo de neuronas coexpresa los neuropéptidos dinorfina (dyn) y sustancia P (SP) y posee receptores dopaminérgicos D<sub>1</sub>. Estas neuronas proyectan directamente al globo pálido parte interna (GPi) –núcleo entopeduncular en roedores– y a la sustancia negra (compacta y reticulata), con una acción inhibitoria sobre ambas (vía directa). El otro tipo de neuronas GABAérgicas expresa encefalina (enk) y receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>. Estas neuronas proyectan indirectamente al GPi y sustancia negra (SN) a través del globo pálido parte externa (GPe) y el núcleo subtalámico (NST). En primer lugar envían estímulos inhibitorios al GPe, que a su vez ejerce efecto inhibitorio (acción GABA) sobre el NST. Este último ejerce efecto excitatorio glutamatérgico sobre el GPe, GPi y SN (vía indirecta). Las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra pars compacta (SNc) modulan los impulsos estriatales. Parece ser que ejercen efecto excitatorio sobre las neuronas GABAérgicas estriatales con receptores D<sub>1</sub> y efecto inhibitorio sobre las neuronas GABAérgicas con receptores D<sub>2</sub>. La actividad de estas neuronas dopaminérgicas está controlada por las proyecciones GABAérgicas desde el estriado y por las proyecciones glutamatérgicas del núcleo subtalámico (NST). La principal vía de salida de los ganglios basales tiene lugar desde neuronas GABAérgicas

del GPi, que proyectan al tálamo motor. El modelo mencionado es simplificado, y no explica el papel de un porcentaje (10%) de neuronas GABAérgicas del estriado que expresan tanto receptores D<sub>1</sub> como D<sub>2</sub>, así como el papel de las interneuronas colinérgicas del estriado, que expresan también somatostatina (Abercrombie y DeBoer, 1997; Aizman y cols., 2000).

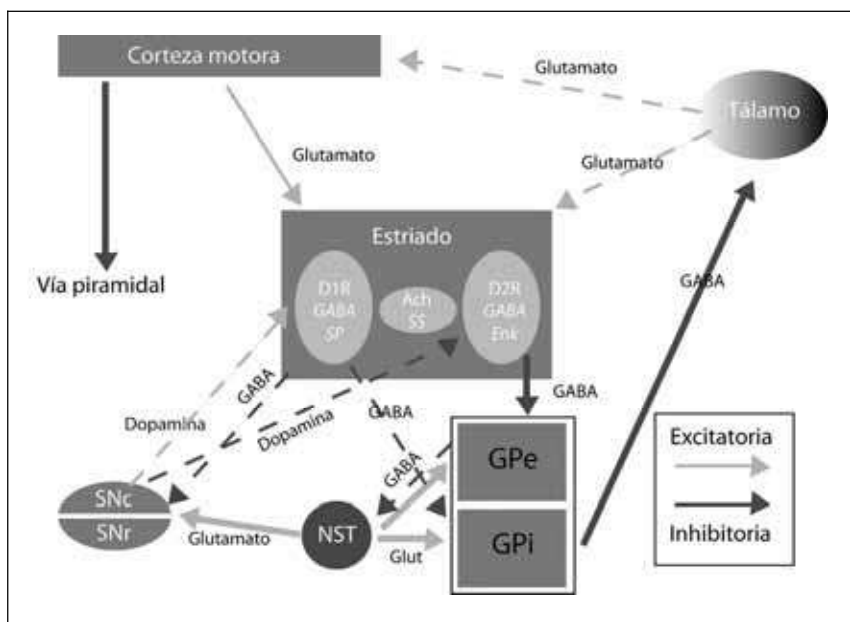


**Figura 5.1.:** Esquema simplificado de conexiones de los ganglios basales. Los bloques representan los núcleos de los ganglios basales. Las flechas indican las interacciones entre los distintos núcleos con efecto excitatorio o inhibitorio. Abreviaturas empleadas: D<sub>1</sub>R, receptor D<sub>1</sub> de dopamina; D<sub>2</sub>R, receptor D<sub>2</sub> de dopamina; SP, sustancia P; Enk, encefalina; Glut, glutamato; Ach, acetilcolina; SS, somatostatina; NST, núcleo subtalámico; GPe, globo pálido externo; GPi, globo pálido interno; SNc, sustancia negra pars compacta; SNr, sustancia negra pars reticulata.

### 5.3. Fisiopatología de la enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson está causada por la muerte de neuronas dopaminérgicas en la pars compacta de la sustancia negra, lo que conlleva la pérdida de dopamina

en el núcleo caudado y putamen. Las manifestaciones patológicas incluyen cambios degenerativos, tales como la muerte neuronal, la depigmentación en la sustancia negra, y la aparición de inclusiones intracelulares en las neuronas dopaminérgicas denominadas cuerpos de Lewy. La muerte de neuronas dopaminérgicas en la VTA y de otras neuronas monoaminérgicas (por ejemplo, neuronas noradrenérgicas del locus coeruleus y serotoninérgicas del rafe) también ocurre aunque en mucha menor medida, y es más tardía. Los efectos funcionales de la pérdida de dopamina en los pacientes con Parkinson pueden ser entendidos según el mecanismo comentado del circuito de los ganglios basales (Fig. 5.2). Normalmente, la dopamina ejerce un efecto inhibitorio sobre las neuronas GABAérgicas del estriado con receptores  $D_2$  (vía indirecta) y un efecto excitatorio en las neuronas con receptores  $D_1$  (vía directa). Al disminuir el efecto inhibitorio sobre neuronas con receptores  $D_2$ , aumenta la acción inhibitoria GABAérgica del estriado sobre el GPe, frenando la acción inhibitoria del GPe sobre el NST. Se produce así una liberación del NST al desaparecer dicho freno, con lo que aumenta el estímulo excitatorio de dicho núcleo a todos los niveles: SN, GPe y GPi. Por otro lado, la disminución de la acción dopaminérgica sobre neuronas con receptores  $D_1$  estriatales conlleva una amortiguación de la acción inhibitoria GABAérgica de las neuronas estriatales sobre el GPi. Por lo tanto, como resultado final, en ambas vías directa e indirecta se produce un incremento de la acción GABAérgica del GPi. Esta hiperactividad causa la inhibición del tálamo motor que es el responsable del control motor de las áreas corticales implicadas en la iniciación de los movimientos. La hipoactividad glutamatérgica tálamo-cortical se relaciona con síntomas como la rigidez, lentitud de movimientos, acinesia, etc. El temblor se cree debido al "escape" del tálamo motor a la potente inhibición procedente del GPi, originando ráfagas de disparo (cada 125-250 ms) hacia la corteza que son causantes del temblor muscular (4-8 veces por segundo).



**Figura 5.2.:** Esquema simplificado de conexiones en los ganglios basales en la enfermedad de Parkinson. Los bloques representan los núcleos de los ganglios basales. Las flechas indican las interacciones entre los distintos núcleos con efecto excitatorio o inhibitorio, discontinuas cuando su efecto está disminuido y de mayor grosor cuando está potenciada la acción. Abreviaturas empleadas: D<sub>1</sub>R, receptor D1 de dopamina; D<sub>2</sub>R, receptor D<sub>2</sub> de dopamina; Glut, glutamato; SP, sustancia P; Enk, encefalina; Ach, acetilcolina; SS, somatostatina; NST, núcleo subtalámico; GPe, globo pálido externo; GPi, globo pálido interno; SNc, sustancia negra pars compacta; SNr, sustancia negra pars reticulata.

Los individuos sanos poseen una amplia reserva de neuronas dopaminérgicas nigroestriatales; por lo que la aparición de los síntomas parkinsonianos no ocurre hasta que se ha perdido un 80% de las neuronas aproximadamente. La actividad compensadora en las neuronas restantes, tales como el aumento de la síntesis de la tirosina-hidroxilasa produciendo mayor cantidad de dopamina, así como el desarrollo de hipersensibilidad de receptores dopaminérgicos actúan como mecanismos de neuroadaptación. La reserva funcional a través de estas adaptaciones explica la progresión de la enfermedad de Parkinson, retrasando la aparición de los síntomas de la

enfermedad. Las lesiones de evolución rápida, tales como las producidas por neurotoxinas, también producen síntomas parkinsonianos. Se ha postulado que algún insulto de tipo tóxico ó vírico podría acelerar la degeneración progresiva neuronal. Es interesante recordar que la pérdida lenta y progresiva de neuronas dopaminérgicas también se produce en individuos normales durante la vida adulta en ausencia de enfermedad de Parkinson, sin alcanzar una pérdida superior al 80% de las neuronas dopaminérgicas.

#### **5.4. El sistema endocannabinoide y la enfermedad de Parkinson**

Los receptores cannabinoideos CB<sub>1</sub> se encuentran en una alta densidad en las neuronas del cerebelo y de los ganglios basales, importantes centros motores, como se ha explicado en el capítulo 1. Esto explica las acciones tras su administración aguda: ataxia, inmovilidad y catalepsia. En el cerebelo los receptores CB<sub>1</sub> se expresan en gran número en neuronas de tipo GABAérgico, fundamentalmente en la capa molecular de la corteza cerebelosa. Es de destacar la gran abundancia de este receptor, mucho mayor que la de otros receptores de neurotransmisores acoplados a proteína G, junto con su alta especificidad por determinadas localizaciones de los ganglios basales. La mayor densidad se encuentra en el globo pálido interno, sustancia negra pars reticulata, y el globo pálido externo. Además existe una alta densidad en el putamen, las capas moleculares del cerebelo, hipocampo y amígdala. En el resto de las áreas, como el núcleo caudado, capas del neocórtex, colículo superior y habénula existen una cantidad moderada de estos receptores.

Mediante estudios de hibridación *in situ* se han localizado estos receptores en las neuronas GABAérgicas espinosas de mediano tamaño del estriado (Herkenham y *cols.*, 1991b; Martín y *cols.*, 2008) y en las neuronas glutamatérgicas del núcleo subtalámico. En estas células, los receptores CB<sub>1</sub> parecen concentrarse en los axones terminales, así la mayor especificidad de unión se halla en la SNr, GPe y GPi, donde terminan las proyecciones neuronales del estriado y el núcleo subtalámico (Herkenham y *cols.*, 1989; Herkenham y *cols.*, 1991a, b; Mailleux y Vanderhaegen, 1992). De hecho, cuando se produce una lesión excitotóxica en el estriado se reduce un 80% la es-



pecificidad de unión cannabinoide en dichas localizaciones. Además, las proyecciones estriatales de las neuronas glutamatergicas de la corteza expresan una moderada cantidad de CB<sub>1</sub> en sus terminaciones axonales. Se sabe, además, que la localización de los receptores CB<sub>1</sub> en estas estructuras es preferentemente presináptica, lo cual coincide en buena medida con el efecto inhibitorio que los cannabinoides ejercen sobre la liberación de varios neurotransmisores (Pertwee, 1999). La localización de los receptores CB<sub>1</sub> se especifica en la Tabla 5.1.

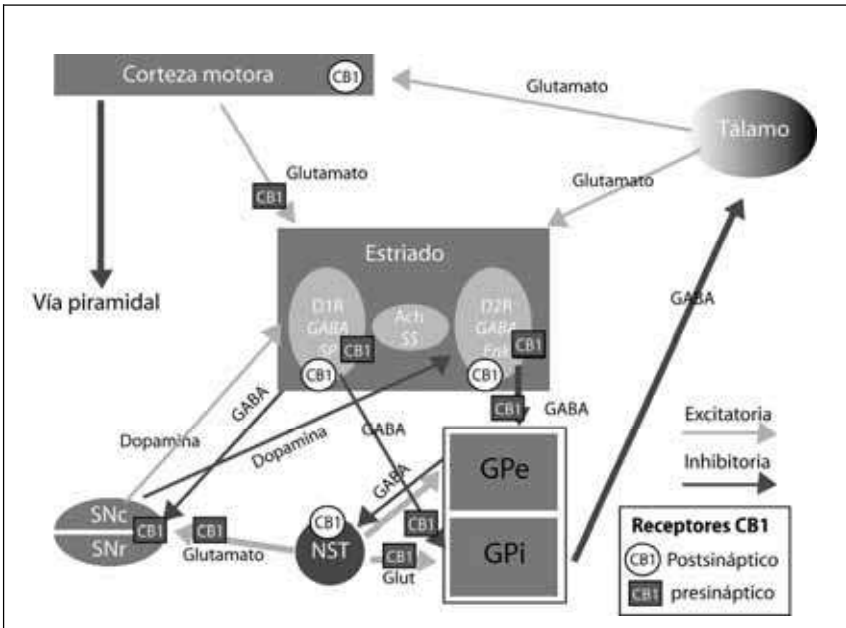
TABLA 5.1.  
*Localización de receptores CB<sub>1</sub> en los ganglios basales*

<b>Presinápticos</b>	<b>Postsinápticos</b>
Estriato-palidales	Neuronas GABAérgicas del estriado (colaterales)
Estriato-nígricas	
Intraestriatales (interneuronas)	Neuronas glutamatergicas del núcleo subtálamico
Subtálamo-palidales	
Subtálamo-nígricas	Neuronas corticales
Córtico-estriatales	

Los receptores CB<sub>1</sub> no están presentes en las neuronas dopaminérgicas de la SNc, aunque colocalizan junto a receptores D<sub>1</sub> y D<sub>2</sub> dopaminérgicos, 5-HT<sub>1B</sub> de serotonina y opioides μ en las neuronas GABAérgicas del estriado, y podrían también coexpresarse con receptores dopaminérgicos en el núcleo subtálamico. Las manipulaciones farmacológicas de los neurotransmisores dopaminérgicos, serotoninérgicos, opioides y glutamatergicos en los ganglios basales afectan a la expresión de receptores cannabinoides en el estriado (Rodríguez de Fonseca y cols., 1994, 1998), al igual que sucede en la enfermedad de Parkinson.

En la EP parece ser que se regula “al alza” la expresión de los receptores CB<sub>1</sub>, lo que junto al hecho de que los agonistas cannabinoides producen efectos hipocinéticos, ha permitido proponer que la actividad endocannabinoide está hiperactivada. La regulación al alza de CB<sub>1</sub> ha sido demostrado tanto en estudios de los ganglios basales postmortem de los pacientes afectados por la EP (Lastres-Becker y cols., 2001), como en monos lesionados con MPTP (Lastres-Becker y cols., 2001), ratas tratadas con reserpina (Di Marzo y cols., 2000) o ratas con lesiones unilatera-

les causadas por 6-hidroxi-dopamina (Romero y cols., 2000). Sin embargo la regulación al alza endocannabinoide es motivo de controversia, pues algunos estudios indican que los niveles de receptores CB<sub>1</sub> están disminuidos en los ganglios basales de cerebros de enfermos de Parkinson, aunque este hecho podría relacionarse con el tratamiento con levodopa. Otros estudios indican que más que una regulación al alza de receptores CB<sub>1</sub>, hay un incremento de la funcionalidad de los mismos. Así existe un aumento de la actividad GTP-gamma-S tras WIN-55212,2, indicando que el acoplamiento de los receptores CB<sub>1</sub> a proteínas G es hiperactivo (Di Marzo, 2000).



**Figura 5.3.:** Distribución de receptores cannabinoides CB<sub>1</sub> en los ganglios basales. Respecto a los receptores CB<sub>1</sub>, las figuras rectangulares son receptores CB<sub>1</sub> presinápticos en los terminales axonales y los círculos representan receptores CB<sub>1</sub> postsinápticos en los cuerpos neuronales. Los receptores presinápticos del estriado se localizan en las colaterales intrínsecas. Abreviaturas empleadas: D<sub>1</sub>R, receptor D<sub>1</sub> de dopamina; D<sub>2</sub>R, receptor D<sub>2</sub> de dopamina; SP, sustancia P; Enk, encefalina; SS, somatostatina; NST, núcleo subtalámico; GPe, globo pálido externo; GPi, globo pálido interno; SNc, sustancia negra pars compacta; SNr, sustancia negra pars reticulata.

Asumiendo que hay una hiperactividad CB<sub>1</sub> en la enfermedad de Parkinson, en principio los antagonistas cannabinoídes han de ser útiles para el tratamiento, pero es de destacar que el efecto cannabinoide no es el mismo en cada ganglio basal, o en otras palabras, la hiperactividad CB<sub>1</sub> en la sustancia negra tiene consecuencias motoras distintas a la hiperactividad CB<sub>1</sub> en el estriado dorsal. Esto explicaría que el efecto final en modelos animales con antagonistas y agonistas es inconsistente. Recordemos que la infusión de agonistas cannabinoídes en la sustancia negra de animales intactos produce rotación contralateral (Sañudo-Peña y cols., 1996), mientras que en el pálido o en el estriado induce rotación ipsilateral (Sañudo-Peña y cols., 1999, Fernández-Espejo y cols., 2004; Martin y cols., 2008). Los esquemas dados en las figuras 5.2 y 5.3 nos permiten entender cómo influiría dicha hiperactividad en la fisiopatología de la EP, que se resume a continuación.

### **5.5. Hay una disregulación endocannabinoide en los ganglios basales en la enfermedad de Parkinson con efectos fisiológicos complejos**

A nivel estriatal, la acción agonista endocannabinoide sobre las neuronas espinosas de mediano tamaño es negativa sobre la funcionalidad tanto de neuronas de la vía directa que expresan D<sub>1</sub> como las de la vía indirecta que expresan D<sub>2</sub>. De hecho los agonistas dopaminérgicos de receptores D<sub>1</sub> o D<sub>2</sub> bloquean la acción cannabinoide en el estriado denervado (Sañudo-Peña y cols., 1996). Sin embargo, el efecto de antagonistas cannabinoídes como SR141716A o AM251 es distinto, pues es positivo sobre neuronas con receptores D<sub>1</sub> pero negativo sobre los D<sub>2</sub> (El Banoua y cols., 2004), hecho que merece ser comentado para explicar el efecto agonista o antagonista a nivel estriatal. La hiperfuncionalidad cannabinoide en la EP originaría una mayor disregulación de la vía directa a nivel de las neuronas de salida, y agravaría aún más el déficit dopaminérgico nigroestriatal. Este hecho ayudaría a explicar los efectos positivos de antagonistas cannabinoídes sobre la sintomatología motora, pues actuarían facilitando la acción de la vía directa que expresa receptores D<sub>1</sub> (El Banoua y cols., 2004; Fernández-Espejo y cols., 2005), aunque también compensarían la vía indi-

recta inhibiendo la actividad neuronal, al igual que hace la dopamina a través de los receptores  $D_2$ . También es de mencionar que la hipoactividad glutamatérgica procedente de la corteza motora sería aún más agravada por un exceso cannabinoide a nivel estriatal, lo que podría ser compensado mediante el uso de antagonistas cannabinoides (García-Arencibia y cols., 2008).

A nivel palidal externo, la vía indirecta en la EP se caracteriza por una excesiva actividad GABA de salida desde el estriado hacia el pálido, y la hiperactividad  $CB_1$  presináptica en estas terminales estriato-palidales podría ser un mecanismo compensador tendente a suprimir dicha hiperactividad GABA. Sin embargo los datos experimentales indican lo contrario, pues la infusión de antagonistas en el pálido disminuye el giro en ratas parkinsonianas (Fernandez-Espejo y cols., 2005), lo que a su vez concuerda con que el aumento endocannabinoide en el pálido se asocia a hipocinesia en ratas (Di Marzo y cols., 2000). Estos hechos podrían ser debidos a que la hiperactividad cannabinoide a nivel palidal ejerce un efecto negativo sobre la actividad dopaminérgica mediada por receptores  $D_1$  (El Banoua y cols., 2004) y  $D_2$  (Sañudo-Peña y Walker, 1998). Es conocido que las neuronas palidales expresan receptores  $D_1$  y  $D_2$  (Carlson y cols., 1988; Pan y cols., 1990), y la infusión intrapalidal de dopamina restaura hasta un 50% la actividad motora en ratas denervadas con 6-OHDA (Galvan y cols., 2001). A nivel palidal, los antagonistas  $CB_1$  podrían por tanto ser efectivos.

En la vía directa lo principal es una salida GABA disminuida desde el estriado hacia el pálido interno (o núcleo entopeduncular en roedores) y la sustancia negra, de modo que la hiperactividad  $CB_1$  en esta zona del circuito podría agravar la hipoactividad GABA, lo que podría compensarse con el uso de antagonistas cannabinoides. A nivel del núcleo subtalámico, que se torna hiperactivo en la EP, la hiperfunción cannabinoide actuaría como un mecanismo compensador, pues disminuiría la salida glutamatérgica hacia la sustancia negra (que incide sobre neuronas GABA de la pars reticulata) y el globo pálido interno (que incide sobre las neuronas GABA que proyectan al tálamo motor). Diversos estudios confirman que, tras denervación dopaminérgica, la infusión de agonistas cannabinoides en NST resulta en facilitación del movimiento (Sañudo-Peña y Walker, 1997).

La acción sobre la sustancia negra parece ser crítica en el efecto sistémico de los cannabinoides en la EP. Se sabe que la entrada directa GABAérgica a la sustancia negra está hipoactiva, pero la acción glutamatérgica procedente del NST está aumentada, y es predominante (Papa, 2008). La hiperactividad cannabinoide actuaría como un mecanismo compensador de la hiperactividad glutamatérgica, debido a que la probable modulación negativa sobre unas terminales estriato-nígricas hipoactivas es descartable. En estadios avanzados de la enfermedad, con una sustancia negra degenerada, el papel endocannabinoide en este centro motor habría desaparecido.

Es evidente por lo expuesto que el empleo de agonistas o antagonistas cannabinoides a nivel sistémico origina resultados inconsistentes. A nivel estriatal y palidal, el empleo de antagonistas estaría justificado. Sin embargo, a nivel subtalámico el empleo de agonistas sería más efectivo. A nivel nígrico, los datos experimentales revelan que el uso de antagonistas es inefectivo porque agravarían la hiperactividad glutamatérgica procedente del NST, mientras que los agonistas reducirían aún más la funcionalidad dopaminérgica nígrica. Sin embargo, estos hechos dependen del grado de lesión de la sustancia negra: estudios en roedores realizados en mi laboratorio indican que si el grado de lesión es muy elevado (>95%, lo que concuerda con una EP muy avanzada), la acción glutamatérgica sobre una sustancia negra prácticamente desaparecida es descartable (Fernández-Espejo y cols., 2005). En este caso, los antagonistas cannabinoides son efectivos probablemente por sus acciones estriatales y palidales. Este hecho también ayudaría a explicar datos contradictorios obtenidos con el empleo experimental de antagonistas cannabinoides. Así éstos son efectivos en el modelo de reserpina en roedores (Di Marzo y cols., 2000), y la reserpina se sabe que induce una muy fuerte depleción dopaminérgica (Trugman y James, 1992). Por otra parte, los antagonistas cannabinoides CB<sub>1</sub> no son efectivos en monos tratados con MPTP (Meschler y cols., 2001), pero es sabido que dosis efectivas de MPTP producen un daño nígrico máximo del 70-80% con más del 95% de depleción dopaminérgica estriatal (Di Monte y cols., 2000). Todo permite postular que el grado de lesión de la sustancia negra sería predictivo de la acción antagonista cannabinoide CB<sub>1</sub>, y dichos fármacos podrían

ser útiles en estadios avanzados de la enfermedad donde la medicación actual pierde eficacia.

## **5.6. Los agonistas cannabinoides ejercen una acción antidiscinética**

Las discinesias o movimientos involuntarios, junto a fluctuaciones motoras, son complicaciones del tratamiento a largo plazo con levodopa en la EP (Nutt, 2000; Obeso, 2000; Jenner, 2008). La discinesia es un fenómeno complejo que incluye la ejecución de movimientos involuntarios en respuesta a la levodopa, así como el establecimiento de una alteración persistente o “priming” del movimiento a nivel del estriado. La degeneración dopaminérgica nigroestriatal mantenida es la base neurofisiológica del “priming”, ocasionando que el sistema responda de modo anómalo a la levodopa. Actualmente se considera que las discinesias se deben a una respuesta anormal por hipersensibilidad de los receptores  $D_1$  del estriado, así como a una entrada glutamatergica cortico-estriatal alterada. Tanto los antagonistas como agonistas cannabinoides  $CB_1$  podrían actuar sobre dicho fenómeno (Segovia y cols., 2003), contrarrestando la hipersensibilidad dopaminérgica y la disregulación glutamatergica.

Los datos al respecto con antagonistas cannabinoides son inconsistentes. Así, el antagonista rimonabant reduce las discinesias en monos marmoset parkinsonianos y tratados con levodopa (van der Stelt y cols., 2005), pero el antagonismo  $CB_1$  es inefectivo en monos rhesus (Cao y cols., 2007). Los efectos “positivos” de los antagonistas podrían ser debidos a su acción sobre la entrada glutamatergica (García-Arencibia y cols., 2008), pero los “negativos” se relacionarían con su incapacidad de contrarrestar la hipersensibilidad de receptores  $D_1$ . Por otra parte, los agonistas cannabinoides parecen ser más efectivos. El agonista WIN 55,212-2 muestra eficacia antidiscinética en roedores (Ferrer y cols., 2003), y la nabilona reduce las discinesias en monos y pacientes parkinsonianos (Sieradzan y cols., 2001; Fox y cols., 2002). El empleo de cannabis en enfermos de EP ha dado resultado confusos e inconsistentes (Carroll y cols., 2004; Benarroch, 2007), aunque es interesante que las discinesias se ven reducidas en un grupo significativo de pacientes checos al mes de cesar el uso “terapéutico” de cannabis, sin una explicación clara (Venderova y cols., 2004). La acción cannabinoide agonista podría

contrarrestar la hipersensibilidad dopaminérgica (Martín y cols., 2008), e incluso modular la disregulación glutamatérgica de un modo indirecto. Sin embargo, es de reseñar que los agonistas indirectos, inhibidores de la recaptación de anandamida, no muestran eficacia antidiscinética (Segovia y cols., 2003). A este respecto, en la acción discinética de los cannabinoides también podría participar otro receptor, el TRPV1 (receptor vanilloide tipo 1). El incremento de los niveles de anandamida mediante agonistas indirectos o inhibidores de FAAH (enzima degradadora de anandamida) no tiene eficacia antidiscinética salvo si se coadministra capsazepina, antagonista de los receptores TRPV1. Por este motivo el WIN 55,212-2, agonista CB<sub>1</sub> pero también bloqueante TRPV1, sí posee eficacia antidiscinética. En conclusión, parece ser que los agonistas directos cannabinoides que tengan eficacia bloqueante vanilloide añadida poseen propiedades antidiscinéticas, y podrían ser efectivos en la reducción de la aparición de este fenómeno tras un tratamiento prolongado con levodopa en enfermos de EP.

### **5.7. Eficacia neuroprotectora de los cannabinoides en la enfermedad de Parkinson**

En la enfermedad de Parkinson, el daño en la sustancia negra y en el circuito nigroestriado se considera debido fundamentalmente a estrés oxidativo, el cual es la “fuerza motriz” de la neurodegeneración, y su causa es desconocida (Fernández-Espejo, 2004). Hay diversos indicadores de que la sustancia negra en la EP está sujeta a estrés oxidativo. Los niveles de hierro están incrementados un 129% (Sofic y cols., 1988; Morris y Edwardson, 1994), y los del péptido antioxidante glutatión están disminuidos un 40% (Shapira y cols., 1989), lo cual podría facilitar la aparición de reacciones de Fenton con la formación de radicales fuertemente oxidantes, como ión superóxido. La enzima sintetasa de óxido nítrico también está aumentada en la glía de la sustancia negra (Hunot y cols., 1996), lo que lleva a la formación de peroxinitritos y radicales hidroxilo, altamente oxidantes. La formación excesiva de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno conlleva daño en proteínas, lípidos, ADN y ARN. Los niveles de carbonilos de proteínas, marcadores de oxidación proteica, están dos veces elevados en la sustancia negra de enfermos de EP (Floor y Wetzel,

1998). Los niveles de hidroperóxidos lipídicos, indicadores de oxidación lipídica, están diez veces aumentados (Dexter y cols., 1989). Finalmente, la 8-hidroxi-guanina, indicador de daño oxidativo en el ARN y ADN, está también aumentada (Alam y cols., 1997). Además del estrés oxidativo, existe un ciclo tóxico neurodegenerativo caracterizado por disfunción mitocondrial, excitotoxicidad mediada por glutamato, e inflamación en la sustancia negra. Todo esto explica la rápida progresión de la EP una vez que la sintomatología se manifiesta.

Los cannabinoides pueden actuar, con eficacia neuroprotectora, sobre algunas de los fenómenos comentados relacionados con el daño nigroestriado, lo que podría ser de utilidad para disminuir o enlentecer el curso de la enfermedad. Tanto cannabinoides exógenos como endógenos (que incluyen a los clásicos como anandamida y 2-araquidonilglicerol y a los análogos cannabinoides como la oleiletanolamida u OEA y la palmitoiletanolamida o PEA), poseen eficacia neuroprotectora. Los análogos cannabinoides actúan principalmente a través de receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR), que incluyen PPARalfa, PPARbeta y PPARgamma (Rodríguez de Fonseca y cols., 2001; Fu y cols., 2003).

Ciertos cannabinoides, como el cannabidiol, delta-9-THC, cannabinol, nabilona, etc., tienen capacidad de disminuir el estrés oxidativo (Marsicano y cols., 2002). Estudios con modelos animales de Parkinson así lo confirman, y sus efectos parecen ser debidos a propiedades antioxidantes per se, pues no actúan a través de los receptores cannabinoides CB<sub>1</sub> o CB<sub>2</sub> (Lastres-Becker y cols., 2005). En cultivos celulares de neuronas de dopamina de la sustancia negra el delta-9-THC también muestra actividad antioxidante contra el tóxico 6-OHDA, sin participar los receptores CB<sub>1</sub> (Fernández-Espejo, datos sin publicar). La OEA y la PEA también poseen propiedades antioxidantes, pues la acción agonista sobre PPAR $\alpha$  disminuye el estrés oxidativo inducido por 6-OHDA (Beltowski y cols., 2002), reduce la actividad de la enzima iNOS, sintetasa de óxido nítrico, de gran importancia oxidativa como se ha comentado (Jellinger y cols., 1995), e incrementa la actividad de las enzimas antioxidantes cerebrales (Deplanque y cols., 2003). Estos análogos cannabinoides son candidatos muy interesantes como compuestos neuroprotectores porque son producidos por las propias neuronas y glía en respuesta al estrés oxidativo (Berdishev y cols., 2000; Schabitz y



cols., 2002). Diversos experimentos han puesto de manifiesto dicha eficacia, pero también un posible efecto “ventana” (solo ciertas dosis son efectivas) que podría limitar su uso. Este efecto se debe a que coactúan sobre el receptor TRPV1, ya comentado, y la activación de este receptor posee acciones deletéreas sobre neuronas dopaminérgicas (Kim y cols., 2005; Marinelli y cols., 2006). Al igual que sucede con las acciones antidiscinéticas de los agonistas cannabinoides, compuestos que posean actividad estimuladora PPAR $\alpha$  y bloqueante TRPV1 podrían ser de una mayor eficacia neuroprotectora.

Los agonistas cannabinoides poseen capacidad antiexcitotóxica, disminuyendo la liberación de glutamato, a través de receptores CB<sub>1</sub> presinápticos (Grundy y cols., 2001; van der Stelt y cols., 2001). Pueden ser eficaces en disminuir el exceso de actividad glutamatérgica procedente del núcleo subtalámico, centro hiperactivo en la EP, al igual que hacen otros fármacos como el riluzol, actualmente en ensayo clínico. Los agonistas cannabinoides CB<sub>1</sub> también atesoran propiedades antiinflamatorias, pues disminuyen los niveles de citocinas inflamatorias como TNF-alfa, IL-12 o incrementan los niveles de IL-10, citocina antiinflamatoria (Smith y cols., 2000). Los agonistas PPAR $\alpha$  disminuyen la actividad de factores proinflamatorios como NF $\kappa$ B, AP-1 y NFAT.

En resumen, diversos cannabinoides muestran eficacia neuroprotectora sobre las neuronas de dopamina, a través de una acción antioxidante, antiinflamatoria o antiexcitotóxica. La liberación endógena de cannabinoides tras daño neuronal constituye una respuesta fisiológica protectora. Si esta función neuroprotectora debida a la acción antioxidante per se o a la activación de receptores cannabinoides se transfiere a la clínica, se constituiría un marco muy atractivo para el desarrollo de agentes neuroprotectores.

## Bibliografía

- Abercrombie E Y DeBoer P (1997). Substantia nigra D1 receptors and stimulation of striatal cholinergic interneurons by dopamine: a propose circuit mechanism. *J Neurosci*; **17**: 8498-8505.
- Aizman O, Brismar H, Uhlen P, Zettergen E, Levey AI, Forssberg H, y cols (2000). Anatomical and physiological evidence for D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> dopamine receptor colocalization in neostriatal neurons. *Nat Neurosci*; **3**:226-230.

- Alam ZI, Zenner A, Daniel SA, Lees AJ, Cairns N, Marsden CD, et al (1997). Oxidative DNA damage in the parkinsonian brain: an apparent selective increase in 8-hydroxyguanine levels in substantia nigra. *J Neurochem* **69**:1196-1203.
- Beltowski J, Wojcicka G, Mydlarczyk M y Jamroz A (2002). The effect of peroxisome proliferator-activated receptors alpha (PPARalpha) agonist, fenofibrate, on lipid peroxidation, total antioxidant capacity, and plasma paraoxonase 1 (PON 1) activity. *J Physiol Pharmacol*; **53**:463-475.
- Benarroch E (2007). Endocannabinoids in basal ganglia circuits: implications for Parkinson disease. *Neurology*; **69(3)**:306-309.
- Berdyshev EV, Schmid PC, Dong Z y Schmid HH (2000). Stress-induced generation of N-acylethanolamines in mouse epidermal JB6 P+ cells. *Biochem J*; **346**:369-374.
- Cao X, Liang L, Hadcock JR, Iredale PA, Griffith DA, Menniti FS y cols (2007). Blockade of cannabinoid type 1 receptors augments the antiparkinsonian action of levodopa without affecting dyskinesias in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-treated rhesus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther*; **323**:318-326.
- Carlson JH, Bergstrom DA, Demo SD y Walters JR (1988). Acute reduction of dopamine levels alters responses of basal ganglia neurons to selective D-1 and D-2 dopamine receptor stimulation. *Eur J Pharmacol*; **152**:289-300.
- Carroll CB, Bain PG, Teare L, Liu X, Joint C, Wroath C, et al (2004). Cannabis for dyskinesia in Parkinson disease: a randomized double-blind crossover study. *Neurology*; **63(7)**:1245-1250.
- Dexter DT, Carter CJ, Wells FR, Javoy-Agid F, Agid Y, Lees A y cols (1989). Basal lipid peroxidation in substantia nigra is increased in Parkinson's disease. *J Neurochem*; **52**:381-389.
- Deplanque D, Gele P, Petraut O, Six I, Furman C, Bouly M y cols (2003). Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activation as a mechanism of preventive neuroprotection induced by chronic fenofibrate treatment. *J Neurosci*; **23**:6264-6271.
- Di Marzo V, Hill MP, Bisogno T, Crossman AR y Brotchie JM (2000). Enhanced levels of endogenous cannabinoids in the globus pallidus are associated with reduction in the movement of an animal model of Parkinson's disease. *FASEB J*; **14**:1432-1438.
- DiMonte DA, McCormack A, Petzinger G, Janson AM, Quik M y Langston WJ (2000). Relationship among nigrostriatal denervation, parkinsonism, and dyskinesias in the MPTP primate model. *Mov Disord*; **15**:459-466.
- El Banoua F, Caraballo I, Flores JA, Galan-Rodriguez B y Fernández-Espejo E (2004). Effects on turning of microinjections into basal ganglia of D1 and D2 dopamine receptors agonists, and the

- cannabinoid CB<sub>1</sub> antagonist SR141716A in a rat Parkinson's model. *Neurobiol Disease*; **16**:377-385.
- Fernández-Espejo E, Caraballo I, Rodríguez de Fonseca F, El Banoua F, Ferrer B, Flores JA y Galán-Rodríguez B (2005). Cannabinoid CB<sub>1</sub> antagonists possess antiparkinsonian efficacy only in rats with very severe nigral lesion in experimental parkinsonism. *Neurobiol Disease*; **18**:591-601.
- Fernández-Espejo E (2004). Pathogenesis of Parkinson's disease: prospects of neuroprotective and restorative therapies. *Mol Neurobiol*; **29**:15-30.
- Fernández-Espejo E, Rodríguez de Fonseca F, El Banoua F, Caraballo I, Ferrer B, Flores JA y Galán-Rodríguez B (2004). Experimental parkinsonism alters anandamide precursor synthesis, and functional deficits are improved by AM404, a modulator of endocannabinoid function. *Neuropsychopharmacol*; **29**:1134-1142.
- Ferrer B, Asbrock N, Kathuria S, Piomelli D y Giuffrida A (2003). Effects of levodopa on endocannabinoid levels in rat basal ganglia: implications for the treatment of levodopa-induced dyskinesias. *Eur J Neurosci*; **18**:1607-1614.
- Floor E y Wetzel MG (1998). Increased protein oxidation in human substantia nigra pars compacta in comparison with basal ganglia and prefrontal cortex measured with an improved dinitrophenylhydrazine assay. *J Neurochem*; **70**:2682-2675.
- Fox SH, Henry B, Hill M, Crossman A y Brotchie J (2002). Stimulation of cannabinoid receptors reduces levodopa-induced dyskinesia in the MPTP-lesioned nonhuman primate model of Parkinson's disease. *Mov Disord*; **17**:1180-1187.
- Fu J, Gaetani S, Oveisi F, Lo Verme J, Serrano A, Rodriguez De Fonseca F y cols (2003). Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR-alpha. *Nature*; **425**:90-93.
- Galvan A, Floran B, Erlij D y Aceves J (2001). Intrapallidal dopamine restores motor deficits induced by 6-hydroxydopamine in the rat. *J Neural Transm*; **108**:153-166.
- García-Arencibia M, Ferraro L, Tanganelli S y Fernández-Ruiz J (2008). Enhanced striatal glutamate release after the administration of rimonabant to 6-hydroxydopamine-lesioned rats. *Neurosci Lett*; **438**(1):10-13.
- Grundy RI, Rabuffetti M y Beltramo M (2001). Cannabinoids and neuroprotection. *Mol Neurobiol*; **24**:29-51.
- Herkenham M, Lynn AB, de Costa BR y Richfield EK (1991a). Neuronal localization of cannabinoid receptors in the basal ganglia of the rat. *Brain Res*; **547**:264-267.

- Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR y Rice KC (1991b). Characterization and localization of cannabinoid receptors in the rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci*; **11**:563-583.
- Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR y cols (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci USA*; **87**:1932-1936.
- Hunot S, Boissiere F, Faucheux B, Brugg B, Mouatt-Prigent A, Agid Y y Hirsch EC (1996). Nitric oxide synthase and neuronal vulnerability in Parkinson's disease. *Neuroscience*; **72**:355-363.
- Jenner P (2008) Molecular mechanisms of L-dopa-induced dyskinesia. *Nature Rev Neurosci*; **9**:665-677.
- Jellinger K, Linert L, Kienzl E, Herlinger E y Youdim MBH (1995). Chemical evidence for 6-hydroxydopamine to be an endogenous toxic factor in the pathogenesis of Parkinson's disease. *J Neural Transm*; **46**:297-314.
- Kim SR, Lee DY, Chung ES, Oh UT, Kim SU y Jin BK (2005). Transient receptor potential vanilloid subtype 1 mediates cell death of mesencephalic dopaminergic neurons in vivo and in vitro. *J Neurosci*; **25**:662-671.
- Lastres-Becker I, Cebeira M, de Ceballos M, Zeng B-Y, Jenner P, Ramos JA y Fernández-Ruiz JJ (2001). Increased cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor binding and activation of GTP-binding proteins in the basal ganglia of patients with Parkinson's disease and MPTP-treated marmosets. *Eur J Neurosci*; **14**:1827-1831.
- Lastres-Becker I, Molina-Holgado F, Ramos JA, Mechoulam R y Fernández-Ruiz J (2005). Cannabinoids provide neuroprotection against 6-hydroxydopamine toxicity in vivo and in vitro: relevance to Parkinson's disease. *Neurobiol Dis*; **19**:96-107.
- Mailleux P y Vanderhaeghen JJ (1992). Distribution of the neuronal cannabinoid receptor in the adult rat brain: a comparative receptor binding radioautography and in situ hybridization histochemistry. *Neuroscience*; **48**:655-688.
- Marinelli S, Di Marzo V, Florenzano F, Fezza F, Viscomi MT, van der Stelt M y cols (2006). N-Arachidonoyl-dopamine tunes synaptic transmission onto dopaminergic neurons by activating both cannabinoid and vanilloid receptors. *Neuropsychopharmacol*; **32**:298-308.
- Marsicano G, Moosmann B, Hermann H, Lutz B y Behl C (2002). Neuroprotective properties of cannabinoids against oxidative stress: role of the cannabinoid receptor CB<sub>1</sub>. *J Neurochem*; **80**(3):448-456.
- Martín AB, Fernández-Espejo E, Ferrer B, Gorriti MA, Bilbao A, Navarro M y cols (2008). Expression and function of CB<sub>1</sub> receptors in the

- rat striatum: localization and effects on D<sub>1</sub> and D<sub>2</sub> dopamine receptor-mediated motor behaviors. *Neuropsychopharmacol*; **33**: 667-1679.
- Meschler JP, Howlett AC y Madras BK (2001). Cannabinoid receptor agonist and antagonist effects on motor function in normal and 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine (MPTP)-treated non-human primates. *Psychopharmacology*; **156**:79-85.
- Morris CM y Edwardson JA (1994). Iron histochemistry of the substantia nigra in Parkinson's disease. *Neurodegeneration*; **3**:277-282.
- Nutt JG (2000). Response to L-dopa in PD: the long and the short of it. *Neurology*; **54**:1884-1885.
- Obeso JA, Olanow CW y Nutt JG (200). Levodopa motor complications in Parkinson's disease. *Trends Neurosci*; **23(10 Suppl)**:S2-7.
- Pan HS, Engber TM, Chase TN y Walters JR (1990). The effects of striatal lesion on turning behavior and globus pallidus single unit response to dopamine agonist administration. *Life Sci*; **46**:73-80.
- Papa SM (2008). The cannabinoid system in Parkinson's disease: Multiple targets to motor effects. *Exp Neurol*; **211**: 334-338.
- Pertwee RG (2001). Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Toxicol Review*, 16.
- Rodríguez de Fonseca F, Del Arco I, Martín-Calderón JL, Gorriti MA y Navarro M (1998). Role of the endogenous cannabinoid system in the regulation of motor activity. *Neurobiol Disease*; **5**:483-501.
- Rodríguez de Fonseca F, Martín-Calderón JL, Mechoulam R y Navarro M (1994). Down regulation of rat brain cannabinoid signalling binding sites after chronic  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol treatment. *Pharmacol Biochem Behav*; **47**:33-40.
- Rodríguez de Fonseca F, Navarro M, Gomez R, Escuredo L, Nava F, Fu J y cols (2001). An anorexic lipid mediator regulated by feeding. *Nature*; **414**:209-212.
- Romero J, Berrendero F, Pérez-Rosado A, Manzanares J, Rojo A, Fernández-Ruiz JJ y cols (2000). Unilateral 6-hydroxydopamine lesions of nigrostriatal dopaminergic neurons increased CB<sub>1</sub> receptor mRNA levels in the caudate-putamen. *Life Sci*; **66**:485-494.
- Sañudo-Peña MC, Patrick SL, Patrick RL y Walker JM (1996). Effects of intranigral cannabinoids on rotational behavior in rats: interactions with the dopaminergic system. *Neurosci Lett*; **206**:21-24.
- Sañudo-Peña MC y Walker JM (1997). Role of the subthalamic nucleus in cannabinoid actions in the substantia nigra of the rat. *J Neurophysiol*; **77**:1635-1638.
- Sañudo-Peña MC, Tsou K y Walker JM (1999). Motor actions of cannabinoids in the basal ganglia output nuclei. *Life Sci*; **65**:703-713.
- Sañudo-Peña MC y Walker JM (1998). Effects of intrapallidal

- cannabinoids on rotational behavior in rats: Interaction with the dopaminergic system. *Synapse*; **28**:2-32.
- Segovia G, Mora F, Crossman AR y Brotchie JM (2003). Effects of CB1 cannabinoid receptor modulating compounds on the hyperkinesia induced by high-dose levodopa in the reserpine-treated rat model of Parkinson's disease. *Mov Disord*; **18(2)**:138-149.
- Schabitz WR, Giuffrida A, Berger C, Aschoff A, Schwaninger M, Schwab S y Piomelli D (2002). Release of fatty acid amides in a patient with hemispheric stroke: a microdialysis study. *Stroke*; **33**: 2112-2114.
- Shapira AHV, Cooper JM y Dexter D (1989). Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Lancet*; **1**:1269.
- Sieradzan KA, Fox SH, Hill M, Dick JP, Crossman AR y Brotchie JM (2001). Cannabinoids reduce levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease: a pilot study. *Neurology*; **57(11)**:2108-2111.
- Smith SR, Terminelli C y Denhardt G (2000). Effects of cannabinoid receptor agonist and antagonist ligands on production of inflammatory cytokines and anti-inflammatory interleukin-10 in endotoxemic mice. *J Pharmacol Exp Ther*; **293**:136-150.
- Sofic E, Riederer P, Heinsen H, Beckman H, Reynolds GP, Hebenstreit G y Youdim MB (1988). Increased iron (III) and total iron content in postmortem substantia nigra of parkinsonian brain. *J Neural Trans*; **74**:199-205.
- Trugman JM y James CL (1992). Rapid development of dopaminergic supersensitivity in reserpine-treated rats demonstrated with 14C-2-deoxyglucose autoradiography. *J Neurosci*; **12**:2875-2879.
- Van der Stelt M, Fox SH, Hill M, Crossman AR, Petrosino S, Di Marzo V y Brotchie JM (2005). A role for endocannabinoids in the generation of parkinsonism and levodopa-induced dyskinesia in MPTP-lesioned non-human primate models of Parkinson's disease. *FASEB J*; **19**:1140-1142.
- van der Stelt M, Veldhuis WB, van Haften GW, Fezza F, Bisogno T, Bar PR y cols (2001). Exogenous anandamide protects rat brain against acute neuronal injury in vivo. *J Neurosci*; **21(22)**:8765-8771.
- Venderová K, Růžicka E, Voríšek V y Visnovský P (2004). Survey on cannabis use in Parkinson's disease: subjective improvement of motor symptoms. *Mov Disord*; **19**:1102-1106.

# Potencial de los cannabinoides en el tratamiento de la enfermedad de Huntington

# 6

*J. Fernández-Ruiz, O. Sagredo y M.R. Pazos*

## 6.1. Introducción

La enfermedad de Huntington (EH) es un trastorno neurodegenerativo hereditario y progresivo causado por la expansión del aminoácido glutamina en el extremo N-terminal de una proteína identificada en el estudio de esta enfermedad a la que se ha llamado huntingtina (Cattaneo y cols., 2005). La expansión de poliglutamina se debe a un exceso de repeticiones del triplete CAG en el gen que codifica para la huntingtina, llamado *IT15*, y que está localizado en el cromosoma 4 (Cattaneo y cols., 2005). Los individuos normales tienen un número de repeticiones del triplete que siempre es inferior a 35, mientras que individuos con un número de repeticiones entre 36-39 pueden o no desarrollar la enfermedad. Quienes siempre la desarrollan son aquellos sujetos con un número de repeticiones superior a 40, pero tanto la edad de inicio de la enfermedad y la velocidad a la que ésta progresa, como la severidad del daño neuronal y de los déficits neurológicos, dependen de forma crítica del número de glutaminas encontradas en la huntingtina (Walker, 2007). La enfermedad se transmite de forma autosómica dominante.

La huntingtina es una proteína constitutiva, por lo que se expresa en todas las células aunque, cuando está mutada, solo resulta tóxica para unas pocas subpoblaciones de neuronas. Las razones para esta extrema selectividad no son bien conocidas y éste es, posiblemente, uno de los principales desafíos a los que se enfrentan actualmente quienes investigan en esta enfermedad, ya que, una vez se expliquen las razones de esta selectividad, se estará en condiciones de comprender como se

producen la neurodegeneración y las deficiencias neurológicas que se han observado en la EH. La huntingtina mutada afecta principalmente a ciertos grupos de neuronas en el cuerpo estriado y en la corteza cerebral, lo que explica porqué los principales síntomas neurológicos son de tipo motor (corea) o de tipo cognitivo (demencia), respectivamente. Otro desafío importante de la investigación en esta enfermedad es la elucidación de el(los) mecanismo(s) molecular(es) a través de los que la mutación de la huntingtina produce la muerte de ciertos grupos de neuronas. Existe cierto consenso en cuanto que deben ser varios los mecanismos moleculares y celulares implicados en el inicio y la progresión de la enfermedad (Li y Li, 2004), entre los que se incluirían los siguientes:

- distintos tipos de cambios conformacionales en la huntingtina producidos por la expansión de poliglutaminas, cambios que alterarían las interacciones proteína-proteína y causarían la agregación de éstas y alteraciones en la proteólisis, y que se producirían principalmente en el inicio y las primeras fases de la progresión de la enfermedad (Li y Li, 2004; Borrell-Pages y cols., 2006)
- disregulación transcripcional que afectaría a distintos tipos de genes implicados en procesos de supervivencia neuronal, por ejemplo, el gen del BDNF (Cha, 2007)
- alteraciones a nivel mitocondrial que afectarían principalmente al complejo II, de forma que los pacientes con esta enfermedad presentan deficiencia en este complejo (Gu y cols., 1996)
- procesos de tipo excitotóxico y estrés oxidativo (Pérez de la Cruz y Santamaría, 2007)
- activación de células gliales (astrocitos y aparición de microglía reactiva), lo que origina que se produzcan episodios de inflamación en las zonas de lesión (Tai y cols., 2007)

Esta secuencia temporal de episodios citotóxicos acabaría provocando muerte celular en aquellas estructuras donde se localizan aquellos tipos de neuronas más vulnerables a la huntingtina mutada, principalmente las neuronas de proyección en el cuerpo estriado (las llamadas “medium-spiny neurons”) y ciertos grupos de neuronas piramidales en la corteza



cerebral (Gu y cols., 1996; Borrell-Pages y cols., 2006; Cha, 2007; Pérez-De La Cruz y Santamaría, 2007; Tai y cols., 2007).

La EH es desafortunadamente una enfermedad sin cura de forma que los pacientes acaban muriendo aproximadamente a los 10-20 años de ser diagnosticados. Los tratamientos que están actualmente siendo utilizados incluyen varios tipos de sustancias antidopaminérgicas, utilizadas con el fin de aliviar la hiperquinesia típica de las primeras fases de la enfermedad (Factor y Friedman, 1997), o sustancias antiglutamatergias, utilizadas con el fin de reducir la excitotoxicidad (Kieburz, 1999). Sin embargo, ambos tipos de tratamiento resultan ser muy poco efectivos y apenas alteran la progresión de la enfermedad y/o mejoran la calidad de vida de los pacientes. Existen algunos nuevos fármacos (ácidos grasos insaturados, coenzima Q10, minociclina o inhibidores de las desacetilasas de histonas) que están actualmente en fase de evaluación clínica (Butler y Bates, 2006; Bonelli y Wenning, 2006; Walker, 2007), mientras que diferentes tipos de agonistas cannabinoides han evidenciado una prometedora capacidad terapéutica en esta enfermedad en diferentes tipos de estudios preclínicos (Lastres-Becker y cols., 2003a; Fernández-Ruiz y González, 2005; Pazos y cols., 2008). Este potencial incluiría:

- el alivio de ciertos síntomas de la enfermedad, principalmente la hiperquinesia, propiedad que se basaría en el marcado perfil hipoquinético de la mayor parte de los agonistas cannabinoides (Lastres-Becker y cols., 2003a; Fernández-Ruiz y González, 2005; Pazos y cols., 2008)
- capacidad para retrasar la progresión de la enfermedad derivada de su potencial como sustancias neuroprotectoras y/o neuroregeneradoras (Fernández-Ruiz y cols., 2005 y 2007; Pazos y cols., 2008)

Ambas aplicaciones terapéuticas son compatibles con el tipo de cambios que se producen en el sistema de señalización cannabinoide durante el desarrollo de la degeneración estriatal típica de la EH: pérdida de los receptores CB<sub>1</sub> que se localizan en las neuronas de proyección estriatal, seguida de inducción de los receptores CB<sub>2</sub> localizados en células gliales (Sagredo y cols., 2007a; Pazos y cols., 2008), como se describirá con más detalle en la siguiente sección.

## 6.2. Alteraciones del sistema cannabinoide en la enfermedad de Huntington

Mediante el empleo de muestras post-mortem obtenidas de pacientes con EH, se ha podido determinar que existe una progresiva pérdida de receptores CB<sub>1</sub> en diferentes estructuras de los ganglios basales: cuerpo estriado, globo pálido y sustantia nigra (Glass y cols., 1993 y 2000; Richfield y Herkenham, 1994). Estos datos fueron corroborados posteriormente en estudios con modelos experimentales de la enfermedad (Fernández-Ruiz y González, 2005; Sagredo y cols., 2007a; Pazos y cols., 2008) como en el caso de:

- ratones transgénicos que hiperexpresan diferentes formas mutadas de la huntingtina, R6/1, R6/2 o HD94 (Denovan-Wright y Robertson, 2000; Lastres-Becker y cols., 2002a; Naver y cols., 2003; McCaw y cols., 2004), en los que se ha observado que la reducción en el número de receptores CB<sub>1</sub> correlaciona con el número de repeticiones del triplete CAG en las diferentes formas de huntingtina mutada usadas para generar esos ratones (McCaw y cols., 2004). Además de la pérdida de receptores CB<sub>1</sub>, los ratones R6/2 también presentan una marcada reducción de los niveles de endocannabinoides en el cuerpo estriado (Bisogno y cols., 2008).
- ratas con atrofia estriatal provocada por la administración de excitotoxinas (quinolinato) o toxinas mitocondriales (3-nitropropionato o malonato), en las que la reducción de los receptores CB<sub>1</sub> es consecuencia directa de la muerte de las neuronas de proyección estriatal (Page y cols., 2000; Lastres-Becker y cols., 2001, 2002b y 2002c). También en este tipo de modelos, se han visto reducciones de los niveles de endocannabinoides en el cuerpo estriado (Lastres-Becker y cols., 2001).

Por tanto, se puede decir que la actividad del sistema cannabinoide se reduce de forma notable en los ganglios basales en la EH, lo que encajaría con el perfil hiperquinético de esta enfermedad y con la posibilidad de que aquellos compuestos capaces de aumentar la actividad de este sistema, actuando preferentemente a través del receptor CB<sub>1</sub>, pudieran servir para aliviar algunos de los síntomas más prominentes de

la enfermedad como los movimientos coreicos, lo que se discutirá más adelante. Por otro lado, es importante indicar que, aunque el descenso en el número de receptores CB<sub>1</sub> observado tanto en pacientes como en modelos experimentales, se ha interpretado inicialmente como el resultado lógico de la muerte progresiva y selectiva de las neuronas de proyección estriatal donde estos receptores están localizados (Herkenham y cols., 1991; Hohmann y Herkenham, 2000), existen también algunas evidencias que señalan que la reducción de los receptores CB<sub>1</sub> ocurre de forma temprana y antes de que se produzcan los primeros indicios de daño estriatal o cuando éste aún es mínimo. Este es el caso del estudio de Glass y cols. (2000) quienes utilizaron muestras postmortem de pacientes que habían fallecido antes de la aparición de los síntomas motores más prominentes, en fases tempranas de la enfermedad (grado 0), por tanto, en una situación en la que la muerte de las neuronas estriatales debería ser muy pequeña. En estos pacientes, la pérdida de receptores CB<sub>1</sub> ya era evidente (Glass y cols., 2000). Los estudios realizados en modelos transgénicos de la enfermedad también aportaron datos en el mismo sentido ya que los análisis se realizaron a edades de estos animales en las que aún no había pérdida de las neuronas de proyección estriatal, existiendo tan solo evidencia de un funcionamiento anómalo de estas neuronas y de sus sinapsis (Denovan-Wright y Robertson, 2000; Lastres-Becker y cols., 2002a; Naver y cols., 2003; McCaw y cols., 2004). Este sería el caso de los estudios desarrollados por el grupo de Mauro Maccarrone que describio, utilizando ratones R6/2 a edades presintomáticas, que estos animales tienen un importante deterioro en la sensibilidad de las sinapsis GABAérgicas a los agonistas cannabinoides (Centone y cols., 2005; Maccarrone y cols., 2007). Se ha sugerido que este hecho podría estar relacionado con un deterioro de la capacidad de los receptores CB<sub>1</sub> localizados en estas sinapsis para activar ciertas señales intracelulares, como demuestra el hecho de que la unión de [<sup>35</sup>S]-GTPγS estimulada por agonistas cannabinoides sea significativamente más baja en ratas tratadas con 3-nitropropionato, y que este efecto ocurra antes de que se pongan de manifiesto los primeros signos de degeneración o deterioro neurológico en estas ratas y también antes de que ocurra cualquier otro cambio en la síntesis o en el número de los receptores CB<sub>1</sub> (Lastres-Becker y cols.,

2004). Todos estos datos han llevado a considerar que la pérdida de los receptores CB<sub>1</sub> podría ser algo más que una mera consecuencia de la muerte de las neuronas estriatales, es decir, podría ser un episodio temprano que estaría relacionado de una u otra manera con el inicio y/o las primeras fases del proceso patogénico en la EH. De hecho, para algunos autores (Glass y cols., 2000; Denovan-Wright y Robertson, 2000), esta reducción en la actividad de los receptores CB<sub>1</sub> podría representar un mecanismo de tipo protector dirigido a aminorar, a través de un incremento en la liberación de GABA, que diferentes tipos de estímulos citotóxicos, principalmente excitotóxicos, puedan dañar a las neuronas estriatales (Maccarrone y cols., 2007). Sin embargo, para otros autores, más que una respuesta protectora, la reducción de los receptores CB<sub>1</sub> contribuiría al inicio y/o a la progresión de la enfermedad ya que facilitaría que las neuronas estriatales fuesen más vulnerables a diferentes tipos de estímulos citotóxicos que han sido implicados en el daño celular en la EH, como estrés oxidativo, excitotoxicidad o inflamación (van der Stelt y cols., 2002; Fernández-Ruiz y cols., 2005). Si éste fuera el caso, se podría hipotetizar que la activación de estos receptores podría servir como estrategia neuroprotectora en esta enfermedad, como será discutido más adelante.

Además de la pérdida de receptores CB<sub>1</sub> y de la reducción de los niveles de endocannabinoides descritos en la EH, también se han observado cambios en otros elementos constituyentes del sistema cannabinoide, especialmente en estados avanzados de la enfermedad. Este es el caso de los receptores CB<sub>2</sub>, cuya presencia en el cerebro sano es muy escasa pero que experimentan una marcada elevación en respuesta a diferentes tipos de estímulos citotóxicos como los que se producen en la EH. Este incremento ocurre de forma exclusiva en células gliales, tanto astrocitos (que ya expresan de forma natural este receptor) como células de microglia reactiva (que solo expresan este receptor cuando proliferan, se activan y migran a los sitios de lesión) (Fernández-Ruiz y cols., 2005 y 2007; Sagredo y cols., 2007a), lo que contrasta con la reducción de los receptores CB<sub>1</sub> que ocurre en las neuronas estriatales donde este tipo de receptor se expresa de forma constitutiva (Fernández-Ruiz y González, 2005). Este tipo de respuesta, en la que la aparición de astrocitosis y/o microgliosis reactiva en torno a

zonas de lesión en el cerebro se asocia con un incremento del receptor CB<sub>2</sub> en ambos tipos de células gliales, se ha observado también en otras enfermedades neurodegenerativas o neuroinflamatorias como la enfermedad de Alzheimer, la esclerosis múltiple, el dolor neuropático, la isquemia y otras (Fernández-Ruiz y cols., 2007 y 2008). En el caso de la EH, se observó por primera vez en ratas con atrofia estriatal generada por la administración de toxinas mitocondriales (Fernández-Ruiz y cols., 2007 y 2008; Sagredo y cols., 2009), aunque existe evidencia de que también ocurre en modelos genéticos de la enfermedad como los ratones R6/1 y R6/2 (datos no publicados del grupo de Manuel Guzmán). Es bastante posible que este tipo de respuesta se dé también en los pacientes afectados por la EH, como atestigua el hecho de que: (i) el parénquima estriatal de los pacientes huntingtonianos presenta importantes signos de microgliosis reactiva (Pavese y cols., 2006), y (ii) el análisis mediante microchips de ADN de muestras de sangre de pacientes haya revelado diferentes tipos de cambios en el gen que codifica para el receptor CB<sub>2</sub> asociados con el desarrollo y la progresión de la enfermedad (Borovecki y cols., 2005). Si ésto se confirma, estaríamos ante la posibilidad de disponer de una importante diana terapéutica para el tratamiento de la neurodegeneración en la EH, algo que sería importantísimo en una enfermedad para la que no se dispone apenas de tratamientos efectivos. Como se describirá más adelante con más detalle, diversos estudios preclínicos ya han demostrado que la activación de los receptores CB<sub>2</sub> localizados en células gliales mejoraría la homeostasis y la supervivencia neuronal, bien a través de reducir los estímulos citotóxicos que las células de microglia reactiva ejercen sobre las neuronas, bien a través de incrementar el apoyo trófico que ejercen los astrocitos, o bien a través de la combinación de ámbos efectos (Fernández-Ruiz y cols., 2007 y 2008).

Por último, hay alguna evidencia experimental que sugiere que también se producen cambios en alguna de las enzimas implicadas en el metabolismo de los endocannabinoides en los pacientes o en modelos animales de la EH. Por ejemplo, en un reciente estudio, Battista y cols. (2007) analizaron la actividad de la enzima FAAH en linfocitos de pacientes y encontraron una importante reducción que luego confirmaron en muestras post-mortem de pacientes y que correlacionaba con un impor-

tante incremento de los niveles de anandamida. Estos autores propusieron que la enzima FAAH podría ser utilizada como un potencial biomarcador periférico indicativo de la progresión de la enfermedad (Battista y cols., 2007). Estos datos contrastan, sin embargo, con los datos obtenidos en modelos animales, por ejemplo los ratones R6/1 y R6/2, ya que se ha visto que los niveles de ARNm para la enzima FAAH se encuentran elevados en el cuerpo estriado de estos ratones cuando los animales se analizan a edades en las que la patología estriatal es ya evidente (datos no publicados del grupo de Manuel Guzmán), lo que correlaciona con los bajos niveles de endocannabinoides descritos en el estriado de estos ratones (Bisogno y cols., 2008) y en otros modelos animales de la enfermedad (Lastres-Becker y cols., 2001). Estos datos parecen indicar que existen, en algunos casos como el de la enzima FAAH, importantes diferencias interespecíficas, lo que viene avalado por las importantes diferencias encontradas entre el promotor del gen de la FAAH en humanos y en ratones (Maccarrone, 2006). En contraste con los datos obtenidos para la enzima FAAH, que metaboliza preferentemente la anandamida, parece que la enzima MAGL, que se encarga de la degradación del 2-araquidonoilglicerol, no presenta ninguna diferencia entre los ratones transgénicos de la EH y los ratones controles (datos no publicados del grupo de Manuel Guzmán).

### **6.3. Potencial del sistema cannabinoide en el tratamiento de la hiperquinesia**

Los datos descritos en la sección anterior demuestran de forma clara que, en la EH, el número y/o la función de los receptores CB<sub>1</sub> se reducen de forma significativa (Lastres-Becker y cols., 2003a; Fernández-Ruiz y González, 2005; Sagredo y cols., 2007a; Maccarrone y cols., 2007). Esto sugiere que aquellos compuestos que sean capaces de activar, de forma directa (agonistas selectivos o no-selectivos) o indirectamente (inhibidores de la inactivación de los endocannabinoides), los receptores CB<sub>1</sub> podrían servir como posibles sustancias antihiperquinéticas, máxime teniendo en cuenta la función de tipo inhibitor que este tipo de receptor ejerce sobre la actividad motora (Fernández-Ruiz y González, 2005). Sin embargo, la

masiva pérdida de receptores CB<sub>1</sub>, así como la aparición de aquinesia en vez de hiperquinesia en fases avanzadas de la enfermedad (Lastres-Becker y cols., 2002c), restringiría esta posibilidad exclusivamente a los grados 0-2 de la enfermedad que corresponden al periodo entre las fases iniciales e intermedias. En nuestro laboratorio se han llevado a cabo varios tipos de experimentos con diferentes tipos de compuestos que encajaban en el anterior perfil farmacológico, es decir agonistas CB<sub>1</sub>, inhibidores del transporte de endocannabinoides e inhibidores de la FAAH, utilizando para ello el modelo de ratas con atrofia estriatal generada por la administración intraestriatal de 3-nitropropionato. Este modelo experimental reproduce bastante bien el perfil bifásico de la enfermedad en humanos con la aparición de hiperquinesia en fases tempranas e intermedias, seguida de aquinesia en fases avanzadas (Lastres-Becker y cols., 2002b y 2002c; Fernández-Ruiz y González, 2005). Sin embargo, los resultados de estos experimentos llevaron a la conclusión de que el tipo de compuestos capaces de ejercer una clara acción antihiperquinética en estos animales fueron aquellos que combinaron cierta capacidad de aumentar el tono endocannabinoide gracias a su acción inhibitoria del transportador de estos ligandos (UCM707; de Lago y cols., 2006), pero que, sobre todo, eran capaces de activar de forma directa el receptor vanilloide TRPV<sub>1</sub> (AM404, arvanilo, capsaicina; Lastres-Becker y cols., 2002b y 2003b; de Lago y cols., 2005). De todos estos compuestos, el más prototípico fue el análogo de la anandamida AM404, compuesto que fue capaz de reducir la hiperquinesia a través de una recuperación transitoria de las deficiencias en la transmisión GABAérgica y en la de dopamina que caracterizan la fase hiperquinética de esta enfermedad en las ratas lesionadas con 3-nitropropionato (Lastres-Becker y cols., 2002b y 2003b). La importancia del receptor TRPV<sub>1</sub> en los efectos del AM404 fue corroborada en una serie de experimentos que demostraron:

- que los receptores TRPV<sub>1</sub>, a diferencia de los receptores CB<sub>1</sub>, no experimentan ninguna pérdida durante el desarrollo de la enfermedad (Fernández-Ruiz y González, 2005; Gerdeman y Fernández-Ruiz, 2008)
- que el efecto antihiperquinético del AM404 fue revertido por antagonistas de los receptores TRPV<sub>1</sub> pero no por antagonistas CB<sub>1</sub> (Lastres-Becker y cols., 2003b)

- que agonistas directos del receptor CB<sub>1</sub> carentes de actividad vanilloide, como el compuesto CP-55,940, solo produjeron efectos muy leves sobre la hiperquinesia de los animales (Lastres-Becker y cols., 2003b)
- que inhibidores de la inactivación de los endocannabinoides carentes de capacidad de activar de forma directa los receptores TRPV<sub>1</sub>, como son el VDM11 o el AM374, no presentaron ninguna eficacia como agentes antihiperquínéticos (Lastres-Becker y cols., 2003b), mientras que el UCM707, que es hasta la fecha el inhibidor de la recaptación de endocannabinoides con mayor potencia farmacológica, solo produjo efectos muy modestos (de Lago y cols., 2006)
- que el agonista vanilloide capsaicina fue capaz de reducir la hiperquinesia en estos animales a través de un efecto específico sobre la transmisión GABAérgica (Lastres-Becker y cols., 2003b), y lo mismo pasó con el arvanilo, un compuesto híbrido endocannabinoide/endovanilloide, aunque el arvanilo actuó preferentemente a través de un efecto normalizador de la transmisión excitatoria en el globo pálido (de Lago y cols., 2005).

Por consiguiente, estos datos, analizados de forma global, sugieren que, más que el receptor CB<sub>1</sub>, la diana más importante para el tratamiento de la hiperquinesia en las fases iniciales e intermedias de la EH parece ser el receptor vanilloide TRPV<sub>1</sub>. De hecho, la mejor opción para una posible terapia de la hiperquinesia en pacientes podría ser aquella basada en el desarrollo de compuestos híbridos con capacidad de poder activar indistintamente tanto el receptor TRPV<sub>1</sub> como el receptor CB<sub>1</sub>, aunque, en la medida en que la enfermedad vaya progresando, sería aconsejable que la contribución de ambos receptores pudiera ir variando en beneficio de una actividad más vanilloide que cannabinoide debido a la progresiva pérdida de receptores CB<sub>1</sub> sin cambios en los receptores TRPV<sub>1</sub> (Lastres-Becker y cols., 2003a; Fernández-Ruiz y González, 2005). Esta opción, no obstante, no ha sido aún estudiada a nivel clínico, pero es perfectamente deducible de la falta de eficacia que han mostrado aquellos compuestos cannabinoides que han estado sujetos a evaluación clínica en pacientes con EH. Este es el caso de diferentes tipos de fitocannabinoides (Consroe, 1998) o



de alguno de sus análogos sintéticos (Müller-Vahl y cols., 1999), compuestos que carecen de capacidad directa de activar el receptor TRPV<sub>1</sub>, motivo por el cual seguramente no mostraron ninguna eficacia clínica. Es cierto que, en un reciente estudio, Curtis y Richards (2006) describieron cierta eficacia de la nabilona, un análogo del  $\Delta^9$ -THC, en una mujer afectada por la EH, aunque las mejoras descritas por estos autores se referían más a la condición psiquiátrica de la paciente que a sus habilidades a nivel motor.

#### **6.4. Potencial neuroprotector/neurorregenerador de los cannabinoides en la enfermedad de Huntington**

Además de su potencial como posibles agentes antihiperquinéticos, los cannabinoides también podrían ser útiles en la EH para enlentecer o frenar la progresión de la lesión estriatal gracias a su capacidad de actuar como sustancias neuroprotectoras (Fernández-Ruiz y cols., 2005 y 2007; Sagredo y cols., 2007a; Pazos y cols., 2008), e incluso gracias a su hipotética capacidad como compuestos con actividad neurogénica (Galve-Roperh y cols., 2007). Este potencial lo apoyan diferentes resultados obtenidos en modelos animales (Lastres-Becker y cols., 2003c y 2004; Pintor y cols., 2006; Sagredo y cols., 2007b y 2008) o celulares (Aiken y cols., 2004; Wang y cols., 2005) de la enfermedad, y, aunque el tema aún no ha sido evaluado a nivel clínico, las expectativas que han ido apareciendo parecen prometedoras. A estas expectativas se suman el tipo de cambios que el desarrollo de la enfermedad produce en la actividad del sistema cannabinoide, por ejemplo:

- la disminución de la actividad observada en fases iniciales de la enfermedad en las que se ha descrito una reducción de los niveles de endocannabinoides, cuya síntesis podría estar inhibida (Bisogno y cols., 2008), y sobre todo una disminución y/o una pérdida de función de los receptores CB<sub>1</sub> (Glass y cols., 2000; Denovan-Wright y Robertson, 2000; Lastres-Becker y cols., 2002a y 2004; Naver y cols., 2003; McCaw y cols., 2004). Como se ha discutido con mayor detalle anteriormente, estos cambios parecen ocurrir antes de que aparezcan los principales signos histopatológicos de la enfermedad,

cuando la muerte celular no existe o es aún muy pequeña, por lo que se ha propuesto que estos cambios podrían formar parte del propio proceso patogénico durante el inicio o las primeras fases de la enfermedad (podrían, por ejemplo, provocar un desequilibrio en la homeostasis del glutamato que conduciría a la aparición de excitotoxicidad; Pazos y cols., 2008). Si esto fuera así, el incremento en la actividad endocannabinoide mediante la activación del receptor CB<sub>1</sub> podría servir para enlentecer la progresión del daño estriatal.

- El incremento de los receptores CB<sub>2</sub> observado en elementos gliales a medida que la degeneración progresa (Fernández-Ruiz y cols., 2007 y 2008), incremento que podría tener como función regular la forma en la que estas células (apoyo metabólico en el caso de los astrocitos, e influencia citotóxica en el caso de la microglia reactiva) influyen en la homeostasis y la supervivencia de las neuronas. Si esta hipótesis es correcta, aquellos cannabinoides capaces de activar los receptores CB<sub>2</sub> podrían contribuir a atenuar la degeneración estriatal en esta enfermedad.

Ambas dianas, el receptor CB<sub>1</sub> y el receptor CB<sub>2</sub>, parecen efectivamente proporcionar neuroprotección en la EH según atestiguan diferentes estudios *in vivo*. Por ejemplo, el receptor CB<sub>1</sub> podría ser eficaz cuando la muerte neuronal se produce como consecuencia principalmente de procesos excitotóxicos como los reproducidos en modelos de atrofia estriatal provocada por el agonista glutamatérgico quinolinato. Este es el caso del modelo utilizado por Pintor y cols. (2006), quienes observaron que el agonista no-selectivo WIN55,212-2 era capaz de reducir la lesión provocada en ratas por la excitotoxina y que este efecto solo era revertido por antagonistas de los receptores CB<sub>1</sub>. Sin embargo, los agonistas CB<sub>2</sub> fueron los únicos cannabinoides eficaces en ratas con lesiones estriatales provocadas por la toxina mitocondrial malonato (Fernández-Ruiz y cols., 2007; Sagredo y cols., 2009), modelo en el que la aparición de fenómenos de inflamación local provocados por la activación de elementos gliales, en particular de células de microglia reactiva, parece ser el mecanismo citotóxico predominante. Este efecto fue revertido por antagonistas selectivos del receptor

CB<sub>2</sub>, mientras que ratones deficientes en este tipo de receptor resultaron ser más vulnerables a la toxicidad causada por el malonato (Fernández-Ruiz y cols., 2007 y 2008; Sagredo y cols., 2009). Es importante destacar que los receptores CB<sub>2</sub> son relativamente escasos en el estriado en condiciones normales, pero sufren un importante incremento en respuesta a la lesión, incremento que se debe al aumento de la densidad de estos receptores en los astrocitos y a su aparición en células de microglia reactiva que proliferan y migran en torno al foco de lesión. En las células de microglia reactiva, los receptores CB<sub>2</sub> contribuirían a limitar la influencia citotóxica que estas células tienen sobre la homeostasis neuronal incrementando la supervivencia de las neuronas de proyección estriatal que degeneran en la EH. Esto lo harían reduciendo la generación de factores citotóxicos como especies reactivas de oxígeno y, sobre todo, citoquinas proinflamatorias como el TNF- $\alpha$  (Fernández-Ruiz y cols., 2007; Sagredo y cols., 2009). Como se ha mencionado anteriormente, este tipo de respuesta de los receptores CB<sub>2</sub> localizados en elementos gliales no es exclusivo de la EH, sino que se ha observado también en otras enfermedades neurodegenerativas o neuroinflamatorias (Fernández-Ruiz y cols., 2007 y 2008; Centone y cols., 2007), lo que sugiere que formaría parte, junto con las respuestas de otros elementos del sistema cannabinoide, de un mecanismo endógeno de protección frente al daño cerebral provocado por diferentes tipos de estímulos citotóxicos, que, en el caso del receptor CB<sub>2</sub>, serían principalmente de tipo inflamatorio. Esto convierte al receptor CB<sub>2</sub> en una potencial diana para controlar la influencia tóxica que las células de microglia reactiva ejercen sobre las neuronas, válida para la EH pero también para otras enfermedades neurodegenerativas.

Por último, junto con el potencial demostrado por los agonistas CB<sub>1</sub> frente al daño excitotóxico y por los agonistas CB<sub>2</sub> frente al daño inflamatorio, existiría una opción adicional para ciertos cannabinoides en la EH. Es el caso de aquellos cannabinoides, principalmente fitocannabinoides que, independientemente de su capacidad de activar ambos tipos de receptores, pueden también proporcionar neuroprotección a través de un efecto antioxidante que sería independiente de los receptores cannabinoides descritos hasta la fecha. Esto se ha visto en ratas intoxicadas con 3-nitropropionato en las que se

produce, entre otros procesos, un importante grado de estrés oxidativo que contribuye a la muerte de las neuronas estriatales. En estas ratas, compuestos del tipo del  $\Delta^9$ -THC (Lastres-Becker y cols., 2004) o del cannabidiol (Sagredo y cols., 2007b), que están entre los más importantes fitocannabinoides y que tienen un importante perfil antioxidante, fueron capaces de proteger a las neuronas estriatales de la muerte producida por el 3-nitropropionato. Se sabe que este efecto es independiente de algunos de los principales receptores a través de los que podrían actuar ambos tipos de compuestos, incluyendo los receptores CB<sub>1</sub>, CB<sub>2</sub>, TRPV<sub>1</sub> o adenosina A<sub>2a</sub> (Sagredo y cols., 2007b), por lo que se ha asociado a una posible acción como meros “lavadores” de radicales libres o bien a un efecto a través de la inducción de diferentes tipos de mecanismos antioxidantes endógenos (Sagredo y cols., 2007a; Pazos y cols., 2008).

Por consiguiente, se podría decir que los cannabinoides serían capaces de proteger a las neuronas estriatales de la muerte en la EH a través de tres mecanismos claves (ver esquema en la Fig. 6.1). En primer lugar, normalizando la homeostasis del glutamato y reduciendo la excitotoxicidad que se da en esta enfermedad, un efecto que sería mediado por los receptores CB<sub>1</sub>. En segundo lugar, reduciendo la influencia tóxica de la microglia reactiva que prolifera y migra a los focos de lesión en esta enfermedad, un efecto que sería mediado por los receptores CB<sub>2</sub>. Finalmente, ciertos cannabinoides antioxidantes podrían ser capaces de limitar el efecto tóxico provocado por la generación de especies reactivas de oxígeno durante la degeneración estriatal, un efecto que sería ejercido a través de mecanismos independientes de los receptores cannabinoides, al menos de aquellos descritos hasta la fecha. Ya que los tres tipos de mecanismos citotóxicos para los que se ha encontrado que grupos concretos de agonistas cannabinoides podrían ser neuroprotectores, se dan de forma cooperativa para producir la muerte de las neuronas estriatales en los pacientes afectados por EH, sería importante que el tipo de compuesto susceptible de evaluación clínica en esta enfermedad pudiera ser un cannabinoide de amplio espectro (o una combinación de varios cannabinoides) con potencial en cada uno de esos mecanismos, es decir con perfil antioxidante y con actividad tanto a ni-

vel de los receptores CB<sub>1</sub> como de los CB<sub>2</sub>. La opción del Sativex® sería muy razonable en esta enfermedad.



**Figura 6.1.:** Mecanismos que se han propuesto para explicar la capacidad de los cannabinoides para proteger las neuronas de proyección estriatal en la enfermedad de Huntington.

Lo descrito en los anteriores apartados demuestra el potencial de ciertos agonistas cannabinoides para proteger a las neuronas estriatales de la muerte provocada por diferentes tipos de estímulos citotóxicos que son operativos en la EH. Gracias a este potencial, los cannabinoides serían capaces de retrasar o frenar la progresión de esta enfermedad, pero ésto no permitiría la reparación del tejido dañado en el caso de que el tratamiento se iniciase después de que la degeneración estriatal hubiese ya comenzado o en el caso de que el tratamiento solo fuese capaz de enlentecer la progresión de la enfermedad. En muchos casos, a la estrategia neuroprotectora debería sumarse una estrategia neurorreparadora que los cannabinoides también podrían ofrecer gracias a su capacidad de influenciar la neurogénesis (Aguado y cols., 2005; Galve-Roperh y cols., 2007). En el cerebro adulto, la neurogénesis ocurre en unas pocas estructuras localizadas en el prosencéfalo, como son la zona subventricular y el giro dentado del hipocampo (Taupin y Gage, 2002). Se ha propuesto que la activación de estas estructuras neurogénicas, en las que existe actividad del sistema cannabinoide, podría servir como una nueva forma de terapia capaz de facilitar la sustitución de las neuronas lesionadas en varios tipos de enfermedades neurodegenerativas (Galve-Roperh y cols., 2006; Maccarrone y cols., 2007). En el caso de la EH, esto significaría que la manipulación del sistema cannabinoide debería facilitar la proliferación de progenitores neurales, su diferenciación a neuronas, y su migración al estriado dañado donde estas “nuevas neuronas” deberían adquirir el fenotipo correspondiente a las neuronas de proyección estriatal que se pierden en la enfermedad. Este tipo de modulación sería equivalente a la que se ha descrito que realizan diferentes tipos de factores de crecimiento del tipo del FGF-2 y del BDNF en varios modelos de la EH (Curtis y cols., 2003; Barnabe-Heider y Miller, 2003; Jin y cols., 2005). No obstante, aún no se dispone de evidencia experimental que demuestre que este tipo de neurorreparación por cannabinoides es posible en la EH, aunque se ha publicado de forma reciente un estudio que demuestra que existe una importante población de progenitores neurales, sensibles a cannabinoides, en la capa subependimial del cerebro de pacientes huntingtonianos (Curtis y cols., 2006), población que podrían representar una importante

fuentes de elementos celulares para la regeneración de las neuronas que se pierden en la enfermedad.

## Bibliografía

- Aguado T, Monory K, Palazuelos J, Stella N, Cravatt B, Lutz B y cols (2005). The endocannabinoid system drives neural progenitor proliferation. *FASEB J*; **19**:1704-1706.
- Aiken CT, Tobin AJ y Schweitzer ES (2004). A cell-based screen for drugs to treat Huntington's disease. *Neurobiol Dis*; **16**:546-555.
- Barnabe-Heider F y Miller FD (2003). Endogenously produced neurotrophins regulate survival and differentiation of cortical progenitors via distinct signaling pathways. *J Neurosci*; **23**:5149-5160.
- Battista N, Bari M, Tarditi A, Mariotti C, Bachoud-Lévi AC, Zuccato C y cols (2007) Severe deficiency of the fatty acid amide hydrolase (FAAH) activity segregates with the Huntington's disease mutation in peripheral lymphocytes. *Neurobiol Dis*; **27**:108-116.
- Bisogno T, Martire A, Petrosino S, Popoli P y Di Marzo V (2008). Symptom-related changes of endocannabinoid and palmitoylethanolamide levels in brain areas of R6/2 mice, a transgenic model of Huntington's disease. *Neurochem Int*. **52**:307-313.
- Bonelli RM y Wenning GK (2006). Pharmacological management of Huntington's disease: an evidence-based review. *Curr Pharm Des*; **12**:2701-2720.
- Borovecki F, Lovrecic L, Zhou J, Jeong H, Then F, Rosas HD y cols (2005). Genome-wide expression profiling of human blood reveals biomarkers for Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*; **102**:11023-11028.
- Borrell-Pages M, Zala D, Humbert S y Saudou F (2006). Huntington's disease: from huntingtin function and dysfunction to therapeutic strategies. *Cell Mol Life Sci*; **63**:2642-2660.
- Butler R, Bates GP (2006). Histone deacetylase inhibitors as therapeutics for polyglutamine disorders. *Nat Rev Neurosci*; **7**:784-796.
- Cattaneo E, Zuccato C y Tartari M (2005). Normal huntingtin function: an alternative approach to Huntington's disease. *Nat Rev Neurosci*; **6**:919-930.
- Centonze D, Rossi S, Prosperetti C, Tscherter A, Bernardi G, Maccarrone M y cols (2005). Abnormal sensitivity to cannabinoid receptor stimulation might contribute to altered gamma-aminobutyric acid transmission in the striatum of R6/2 Huntington's disease mice. *Biol Psychiatry*; **57**:1583-1589.

- Centonze D, Finazzi-Agro A, Bernardi G y Maccarrone M (2007). The endocannabinoid system in targeting inflammatory neurodegenerative diseases. *Trends Pharmacol Sci*; **28**:180-187.
- Cha JH (2007). Transcriptional signatures in Huntington's disease. *Prog Neurobiol*; **83**:228-248.
- Consroe P (1998). Brain cannabinoid systems as targets for the therapy of neurological disorders. *Neurobiol Dis*; **5**:534-551.
- Curtis A y Rickards H (2006). Nabilone could treat chorea and irritability in Huntington's disease. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*; **18**:553-554.
- Curtis MA, Penney EB, Pearson AG, van Roon-Mom WM, Butterworth NJ, Dragunow M y cols (2003). Increased cell proliferation and neurogenesis in the adult human Huntington's disease brain. *Proc Natl Acad Sci USA*; **100**:9023-9027.
- Curtis MA, Faull RL y Glass M (2006). A novel population of progenitor cells expressing cannabinoid receptors in the subependymal layer of the adult normal and Huntington's disease human brain. *J Chem Neuroanat*; **31**:210-215.
- de Lago E, Urbani P, Ramos JA, Di Marzo V y Fernández-Ruiz J (2005). Arvanil, a hybrid endocannabinoid and vanilloid compound, behaves as an antihyperkinetic agent in a rat model of Huntington's disease. *Brain Res*; **1050**:210-216.
- de Lago E, Fernández-Ruiz J, Ortega-Gutierrez S, Cabranes A, Pryce G, Baker D y cols (2006). UCM707, an inhibitor of the anandamide uptake, behaves as a symptom control agent in models of Huntington's disease and multiple sclerosis, but fails to delay/arrest the progression of different motor-related disorders. *Eur Neuropsychopharmacol*; **16**:7-18.
- Denovan-Wright EM y Robertson HA (2000). Cannabinoid receptor messenger RNA levels decrease in subset neurons of the lateral striatum, cortex and hippocampus of transgenic Huntington's disease mice. *Neuroscience*; **98**:705-713.
- Factor SA y Friedman JH (1997). The emerging role of clozapine in the treatment of movement disorders. *Mov Disord*; **12**:483-496.
- Fernández-Ruiz y González S (2005). Cannabinoid control of motor function at the basal ganglia. En: Handbook of Experimental Pharmacology –168– Cannabinoids, Pertwee RG (ed.). Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, 479-507.
- Fernández-Ruiz J, González S, Romero J y Ramos JA (2005). Cannabinoids in Neurodegeneration and Neuroprotection. En: Cannabinoids as Therapeutics (MDT), Mechoulam R (ed.), Birkhäuser Verlag, Switzerland; 79-109.
- Fernández-Ruiz J, Romero J, Velasco G, Tolón RM, Ramos JA y Guzmán M (2007). Cannabinoid CB<sub>2</sub> receptor: a new target for the control of neural cell survival? *Trends Pharmacol Sci*; **28**:39-45.



- Fernández-Ruiz J, Pazos MR, García-Arencibia M, Sagredo O y Ramos JA (2008). Role of CB<sub>2</sub> receptors in neuroprotective effects of cannabinoids. *Mol Cell Endocrinol*; **286**:S91-S96.
- Galve-Roperh I, Aguado T, Rueda D, Velasco G y Guzmán M (2006). Endocannabinoids: a new family of lipid mediators involved in the regulation of neural cell development. *Curr Pharm Des*; **12**:2319-2325.
- Galve-Roperh I, Aguado T, Palazuelos J y Guzman M (2007). The endocannabinoid system and neurogenesis in health and disease. *Neuroscientist*. **13**:109-114.
- Gerdeman GL y Fernández-Ruiz J (2008). The endocannabinoid system in the physiology and pathophysiology of the basal ganglia. En: *Cannabinoids and the Brain*. Kofalvi A (Ed.), Springer-Verlag, pp. 423-483.
- Glass M, Faull RLM y Dragunow M (1993). Loss of cannabinoid receptors in the substantia nigra in Huntington's disease. *Neuroscience*; **56**:523-527.
- Glass M, Dragunow M y Faull RLM (2000). The pattern of neurodegeneration in Huntington's disease: a comparative study of cannabinoid, dopamine, adenosine and GABA-A receptor alterations in the human basal ganglia in Huntington's disease. *Neuroscience*; **97**:505-519.
- Gu M, Gash MT, Mann VM, Javoy-Agid F, Cooper JM y Schapira AH (1996). Mitochondrial defect in Huntington's disease caudate nucleus. *Ann Neurol*; **39**:385-389.
- Herkenham M, Lynn AB, de Costa BR y Richfield EK (1991). Neuronal localization of cannabinoid receptors in the basal ganglia of the rat. *Brain Res*; **547**:267-264.
- Hohmann AG y Herkenham M (2000). Localization of cannabinoid CB1 receptor mRNA in neuronal subpopulations of rat striatum: a double-label *in situ* hybridization study. *Synapse*; **37**:71-80.
- Jin K, LaFevre-Bernt M, Sun Y, Chen S, Gafni J, Crippen D y cols (2005). FGF-2 promotes neurogenesis and neuroprotection and prolongs survival in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Proc Natl Acad Sci USA*; **102**:18189-18194.
- Kieburz K (1999). Antiglutamate therapies in Huntington's disease. *J Neural Transm Suppl*; **55**:97-102.
- Lastres-Becker I, Fezza F, Cebeira M, Bisogno T, Ramos JA, Milone A y cols (2001). Changes in endocannabinoid transmission in the basal ganglia in a rat model of Huntington's disease. *Neuroreport*; **12**:2125-2129.
- Lastres-Becker I, Berrendero F, Lucas JJ, Martín-Aparicio E, Yamamoto A, Ramos JA y cols (2002a). Loss of mRNA levels,

- binding and activation of GTP-binding proteins for cannabinoid CB<sub>1</sub> receptors in the basal ganglia of a transgenic model of Huntington's disease. *Brain Res*; **929**:236-242.
- Lastres-Becker I, Hansen HH, Berrendero F, de Miguel R, Pérez-Rosado A, Manzanares J *et cols* (2002b). Alleviation of motor hyperactivity and neurochemical deficits by endocannabinoid uptake inhibition in a rat model of Huntington's disease. *Synapse*; **44**:23-35.
- Lastres-Becker I, Gomez M, De Miguel R, Ramos JA y Fernández-Ruiz J (2002c). Loss of cannabinoid CB<sub>1</sub> receptors in the basal ganglia in the late akinetic phase of rats with experimental Huntington's disease. *Neurotox Res*; **4**:601-608.
- Lastres-Becker I, De Miguel R y Fernández-Ruiz J (2003a). The endocannabinoid system and Huntington's disease. *Curr Drug Target CNS Neurol Disord*; **2**:335-347.
- Lastres-Becker I, de Miguel R, De Petrocellis L, Makriyannis A, Di Marzo V y Fernández-Ruiz J (2003b). Compounds acting at the endocannabinoid and/or endovanilloid systems reduce hyperkinesia in a rat model of Huntington's disease. *J Neurochem*; **84**:1097-1109.
- Lastres-Becker I, Bizat N, Boyer F, Hantraye P, Brouillet E y Fernández-Ruiz J (2003c). Effects of cannabinoids in the rat model of Huntington's disease generated by an intrastriatal injection of malonate. *Neuroreport*; **14**:813-816.
- Lastres-Becker I, Bizat N, Boyer F, Hantraye P, Fernández-Ruiz J y Brouillet E (2004). Potential involvement of cannabinoid receptors in 3-nitropropionic acid toxicity in vivo. *Neuroreport*; **15**:2375-2379.
- Li SH y Li XJ (2004). Huntingtin and its role in neuronal degeneration. *Neuroscientist*; **10**:467-475.
- Maccarrone M (2006). Fatty acid amide hydrolase: a potential target for next generation of therapeutics. *Curr Pharm Des*; **12**:759-772.
- Maccarrone M, Battista N y Centonze D (2007). The endocannabinoid pathway in Huntington's disease: a comparison with other neurodegenerative diseases. *Prog Neurobiol*; **81**:349-379.
- McCaw EA, Hu H, Gomez GT, Hebb AL, Kelly ME y Denovan-Wright EM (2004). Structure, expression and regulation of the cannabinoid receptor gene (CB<sub>1</sub>) in Huntington's disease transgenic mice. *Eur J Biochem*; **271**:4909-4920.
- Müller-Vahl KR, Schneider U y Emrich HM (1999). Nabilone increases choreatic movements in Huntington's disease. *Mov Disord* **14**:1038-1040.
- Naver B, Stub C, Moller M, Fenger K, Hansen AK, Hasholt L *et cols* (2003). Molecular and behavioral analysis of the R6/1 Huntington's disease transgenic mouse. *Neuroscience*; **122**:1049-1057.

- Page KJ, Besret L, Jain M, Monaghan EM, Dunnett SB y Everitt BJ (2000). Effects of systemic 3-nitropropionic acid-induced lesions of the dorsal striatum on cannabinoid and mu-opioid receptor binding in the basal ganglia. *Exp Brain Res*; **130**:142-150.
- Pazos MR, Sagredo O y Fernández-Ruiz J (2008). The endocannabinoid system in Huntington's disease. *Curr Pharm Des*; **14**:2317-25.
- Pavese N, Gerhard A, Tai YF, Ho AK, Turkheimer F, Barker RA y cols (2006). Microglial activation correlates with severity in Huntington disease: a clinical and PET study. *Neurology*; **66**:1638-1643.
- Pérez-De La Cruz V, Santamaria A (2007). Integrative hypothesis for Huntington's disease: a brief review of experimental evidence. *Physiol Res*; **56**:513-526.
- Pintor A, Tebano MT, Martire A, Grieco R, Galluzzo M, Scattoni ML y cols (2006). The cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 attenuates the effects induced by quinolinic acid in the rat striatum. *Neuropharmacology*; **51**:1004-1012.
- Richfield EK y Herkenham M (1994). Selective vulnerability in Huntington's disease: preferential loss of cannabinoid receptors in lateral globus pallidus. *Ann Neurol*; **36**:577-584.
- Sagredo O, García-Arencibia M, de Lago E, Finetti S, Decio A y Fernández-Ruiz J (2007a). Cannabinoids and neuroprotection in basal ganglia disorders. *Mol Neurobiol*; **36**:82-91.
- Sagredo O, Ramos JA, Decio A, Mechoulam R y Fernández-Ruiz J (2007b). Cannabidiol reduced the striatal atrophy caused by 3-nitropropionic acid *in vivo* by mechanisms independent of the activation of cannabinoid receptors. *Eur J Neurosci*; **26**:843-851.
- Sagredo O, González S, Arroyo I, Pazos MR, Benito C, Lastres-Becker I y cols (2009). Cannabinoids CB<sub>2</sub> receptor agonists protect the striatum against malonate toxicity. Relevance for Huntington's disease Glia. En prensa.
- Tai YF, Pavese N, Gerhard A, Tabrizi SJ, Barker RA, Brooks DJ y cols (2007). Imaging microglial activation in Huntington's disease. *Brain Res Bull*; **72**:148-151.
- Taupin P y Gage FH (2002). Adult neurogenesis and neural stem cells of the central nervous system in mammals. *J Neurosci Res*; **69**:745-749.
- van der Stelt M, Veldhuis WB, Maccarrone M, Bar PR, Nicolay K, Veldink GA y cols (2002). Acute neuronal injury, excitotoxicity, and the endocannabinoid system. *Mol Neurobiol*; **26**:317-346.
- Walker FO (2007). Huntington's disease. *Lancet*; **369**:218-228.
- Wang W, Duan W, Igarashi S, Morita H, Nakamura M y Ross CA (2005). Compounds blocking mutant huntingtin toxicity identified using a Huntington's disease neuronal cell model. *Neurobiol Dis*; **20**:500-508



# Potencial de los cannabinoides en la enfermedad de Alzheimer

---

# 7

*J. Romero, R.M. Tolón y C. Benito*

## 7.1. Introducción

Entre las posibles utilidades terapéuticas que los cannabinoides podrían tener en un futuro cercano, el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (EA) aparece como una de las patologías más relevantes. Si bien es cierto que aún es pronto para poder hacer una estimación verosímil de esta utilidad, existen datos que invitan a profundizar en esta línea.

En el presente trabajo abordaremos el interés de los cannabinoides como posibles agentes terapéuticos en la EA desde una doble perspectiva. Tras un breve repaso de los conceptos básicos de la EA, en primer lugar trataremos de establecer, si quiera desde un punto de vista meramente teórico, la coincidencia entre las líneas actuales de desarrollo de nuevos fármacos para esta enfermedad con algunas de las propiedades farmacológicas conocidas de los cannabinoides. En un segundo bloque, revisaremos los datos experimentales de los que en este momento disponemos acerca de los efectos de los cannabinoides en modelos *in vivo* e *in vitro* de la EA.

## 7.2. La enfermedad de Alzheimer

La EA es el proceso neurodegenerativo más común asociado a la edad y es asimismo la causa más común de demencia entre los ancianos de tal modo que, de un total estimado de 37 millones de personas con demencia en todo el planeta, se estima que la EA afecta a aproximadamente 18 millones, previéndose que alcance los 34 millones en el año 2025 (Wimo

y cols., 2003; Ferri y cols., 2005). La edad es el principal factor de riesgo, de modo que a partir de los 65 años, la probabilidad de padecer esta enfermedad se duplica con cada 5 años. Por ello, la EA aparece como uno de los mayores problemas de salud actuales con un creciente impacto socio-económico en las próximas décadas (Mount y Downton, 2006). Las características clínicas de la EA incluyen la pérdida de la memoria, especialmente de los sucesos recientes en las etapas más tempranas del proceso, así como cambios en las capacidades cognitivas que interfieren con el estado de ánimo, el razonamiento y la expresión verbal. El curso de la enfermedad es insidioso y se estima que algunos pacientes de la EA pueden sobrevivir hasta 20 años después de ser diagnosticados, aunque la supervivencia media oscila entre los 5 y los 10 años.

La gran mayoría de casos de EA son esporádicos mientras que un pequeño porcentaje presenta un patrón hereditario, ligado fundamentalmente a un grupo de enzimas encargadas del procesamiento de un péptido de membrana (Walsh y Selkoe, 2004). En cualquier caso, la neuropatología de ambos tipos de EA es prácticamente idéntica e incluye tres características esenciales (Dickson, 1997): 1) la aparición de acúmulos extracelulares (denominados “placas neuríticas o seniles”) de una pequeña proteína, el péptido beta-amiloide ( $A\beta$ ), fundamentalmente en regiones límbicas del cerebro, tales como el hipocampo, corteza parahipocampal y amígdala; 2) el depósito intraneuronal (que da lugar a los “ovillos neurofibrilares”) de una forma modificada de una proteína perteneciente al citoesqueleto, la proteína tau; y 3) la pérdida de sinapsis funcionales, que se considera consecuencia de la muerte neuronal inducida por los dos primeros factores.

Aunque ha habido avances recientes en la capacidad de diagnóstico temprano de la EA (especialmente relevante puede ser el trabajo de Ray y cols., 2007, en el que los autores consiguieron identificar 18 marcadores séricos cuyos cambios tienen valor pronóstico respecto a la aparición de la enfermedad), a día de hoy el diagnóstico suele alcanzarse cuando comienzan a aparecer los síntomas clínicos y es confirmado tras el estudio neuropatológico postmortem. Esto es debido, en parte, a nuestro desconocimiento acerca de los mecanismos moleculares últimos que determinan la aparición de la enfermedad. Aunque la denominada “hipótesis amiloide” sigue siendo ma-

yoritaria en la actualidad, existen evidencias a favor y en contra de la misma y el papel de la proteína tau sigue considerándose esencial en el desarrollo del proceso. Investigaciones recientes han tratado de ofrecer una visión unitaria al respecto (Mandavilli, 2006).

En términos generales, se considera que el procesamiento errático de un péptido de membrana (péptido precursor de amiloide, APP) da lugar a la aparición de formas aberrantes de A $\beta$  que poseen una alta capacidad para formar agregados (Walsh y Selkoe, 2004). La concentración de A $\beta$  en el cerebro de pacientes de EA es alrededor de 2 micromolar, 10 veces mayor que en individuos sanos (Naslund y cols., 1994; Wu y cols., 2005). Las placas seniles, compuestas mayoritariamente por A $\beta$ 1-42, serían el resultado de este proceso y coexistirían con otras formas de A $\beta$ , tales como monómeros, dímeros y oligómeros. Cuál de estas formas es la responsable específica del daño neuronal es todavía materia de discusión (Walsh y Selkoe, 2004). En cualquier caso, su acumulación es dañina para las neuronas cercanas y desencadena un proceso inflamatorio en el que las células de la glía contribuirán de forma decisiva. Merece la pena destacar que, de forma contraria a lo que se pensaba, la formación de estas estructuras patológicas es un proceso rápido que puede dar lugar a la aparición de una placa senil en menos de 24h y conlleva el reclutamiento de células de microglía en un plazo de 1 ó 2 días (Meyer-Luehmann y cols., 2008).

### **7.3. Desarrollo de nuevos tratamientos para la EA: interés teórico de los cannabinoides**

En la actualidad el arsenal terapéutico disponible para el tratamiento de la EA sigue siendo muy limitado. Entre los fármacos más utilizados hoy en día destacan los inhibidores de la acetilcolinesterasa (donepezil, rivastigmina, tacrina), enzima responsable de la degradación del neurotransmisor acetilcolina (Lleó y cols., 2006). Su uso se justifica por la observación de que, en términos generales, el déficit colinérgico en el cerebro de pacientes con EA parece explicar algunas de las alteraciones cognitivas, funcionales y de comportamiento de estos enfermos. Sin embargo, existen otras líneas de desarrollo tera-

péutico que abordan distintos aspectos de la enfermedad y en las que el uso de agentes capaces de modular el tono endocannabinoide podría ser relevante. Entre ellas, cabe destacar el uso de agentes antiglutamatergicos, agentes antioxidantes y antiinflamatorios, así como el abordaje de algunos síntomas propios de la enfermedad, tales como la pérdida del apetito.

Es importante destacar que, si bien el uso de cannabinoides podría ser, *a priori*, contraproducente para el tratamiento de la EA, debido a sus efectos psicoactivos y sobre la memoria, existen otros aspectos de la sintomatología de la enfermedad sobre los que sí podrían ejercer efectos beneficiosos. Tal es el caso de la agitación nocturna, sobre la que el THC y el dronabinol parecen ejercer un efecto beneficioso (Walther y cols., 2006). También sus efectos estimulantes del apetito y antiemético pueden ser de utilidad para el tratamiento de estos pacientes (Volicer y cols., 1997).

### 7.3.1. Agentes antiglutamatergicos

De forma más reciente, compuestos con propiedades antagonistas sobre los receptores de glutamato de tipo NMDA han entrado a formar parte de las pautas de tratamiento de pacientes de EA en las fases moderadas del proceso (Reisberg y cols., 2003). Entre ellos, la memantina es probablemente el que más atención ha recibido y cuya aplicación en práctica clínica se ha extendido con mayor rapidez. Incluso se está estudiando su posible uso en combinación con agentes inhibidores de la acetilcolinesterasa. Sus efectos beneficiosos se relacionan fundamentalmente con la sintomatología del proceso, aunque en teoría es esperable que también ejerza un efecto neuroprotector (Lleó y cols., 2006).

El efecto antiglutamatergico de los cannabinoides es conocido desde hace tiempo y parece fundamentar las propiedades neuroprotectoras de estos compuestos (Grundy y cols., 2001). Así, mediante la activación de los receptores de tipo CB1, mayoritariamente presinápticos, los cannabinoides han demostrado inhibir la liberación de glutamato ejerciendo así un potente efecto anti-excitotóxico tanto *in vivo* como *in vitro*. Más aún, algunos cannabinoides tienen también características de antagonistas NMDA; así por ejemplo el HU211 (dexanabinol)



reduce de forma directa la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  dependiente de NMDA (Nadler y cols., 1995).

### 7.3.2. Agentes antioxidantes

Uno de los aspectos más relevantes en el progreso de la EA parece ser la producción de especies reactivas de oxígeno por parte de las células de la glía y, especialmente, de la microglía activada (Streit, 2005). Este tipo de células experimenta profundos cambios fenotípicos como consecuencia de la aparición de los depósitos patológicos de beta amiloide; entre estos cambios destaca la generación de especies reactivas de oxígeno que, producidas de forma mantenida, contribuyen al daño celular. La vitamina E (alfa-tocoferol) está siendo empleada actualmente en pacientes con Alzheimer moderado (Sano y cols., 1997). Algunos estudios clínicos han demostrado cierta mejoría en los pacientes tratados con esta vitamina, aunque con efectos relativamente modestos, relacionados fundamentalmente con un retraso en el momento de ingreso hospitalario; sin embargo, no hubo mejoras en la capacidad cognitiva. Igualmente se ha propuesto el posible interés de la administración preventiva de vitamina E; sin embargo, los estudios existentes hasta ahora no han logrado clarificar este punto (Lleó y cols., 2006).

Algunos agentes cannabinoides, por otra parte, son potentes agentes antioxidantes; entre ellos cabe destacar al cannabidiol (Hampson y cols., 1998), que parece tener interesantes propiedades de cara a su posible uso en la EA (Esposito y cols., 2007). Además, al carecer de efectos psicoactivos, su posible uso en la terapéutica es más plausible. Otros agentes cannabinoides en cuya estructura entra a formar parte un anillo fenólico (THC, cannabinol, levonantradol, etc) tienen también propiedades antioxidantes (ver Fernández-Ruiz y cols., 2005, para revisión).

### 7.3.3. Antiinflamatorios

La observación de que la EA posee un importante componente inflamatorio hizo que la comunidad científica volviera sus ojos hacia esta línea de investigación (Akiyama y cols., 2000). La aparición de placas neuríticas en el parénquima ce-

rebral desencadena una compleja reacción inflamatoria de tipo focal, en la que las células de la glía desempeñan un papel crucial. La generación continuada de citoquinas y otras moléculas de tipo inflamatorio por parte de estas células agrava el cuadro y aumenta el daño neuronal en las proximidades de estas estructuras patológicas. En los últimos años se ha propuesto que algunos fármacos antiinflamatorios podrían ser útiles para el tratamiento y/o prevención de la EA (revisado por Wyss-Coray y Mucke, 2002 y Wyss-Coray, 2006).

Las propiedades antiinflamatorias de los cannabinoides han quedado corroboradas en estudios realizados tanto *in vivo* como *in vitro* (Fernández-Ruiz y cols., 2005). Es interesante destacar que el efecto antiinflamatorio de estos compuestos parece involucrar tanto a los receptores CB1 como a los CB2. Así, la activación de receptores CB1 modula la producción de diversas citoquinas inflamatorias por parte de las células de la glía y, entre ellas, IL-1, TNF-alfa, IL6 e IL-12, que se sabe que desempeñan un importante papel en el desarrollo del daño asociado a procesos de neuroinflamación. En este efecto sobre la producción de citoquinas inflamatorias estaría probablemente involucrado el factor nuclear kappa B. La activación de los receptores CB1 también parece estar ligada a un aumento en la producción de moléculas antiinflamatorias (IL-10), factores tróficos y neurotrofinas que podrían rescatar a las neuronas de la muerte en un ambiente inflamatorio (Molina-Holgado, 2003; Fernández-Ruiz y cols., 2005).

Aunque la presencia de receptores CB2 en el SNC parece circunscribirse a elementos celulares específicos, su sobreexpresión en condiciones neuroinflamatorias se ha observado en diversos modelos experimentales y patologías humanas (Benito y cols., 2008). Especialmente digna de ser destacada es la población de CB2 presente en las células de microglía, dado que estas células juegan un papel crítico en la respuesta del SNC frente a estímulos dañinos, propios tanto de cuadros de inflamación aguda como crónica. Aún así, todavía desconocemos la función precisa que estos receptores pueden ejercer en estas células, ya que existen datos que apuntan tanto a un efecto antiinflamatorio (secreción de citoquinas, grado de activación celular, etc) como proinflamatorio (proliferación, migración, etc) (revisado en Benito y cols., 2008).

#### 7.3.4. Agentes anticolinesterásicos

Como se ha mencionado antes, los fármacos más ampliamente utilizados en el tratamiento de pacientes con EA son aquellos que incrementan el tono colinérgico y, especialmente, aquellos que inhiben la acción de la acetilcolinesterasa (Lleó y cols., 2006). En principio, los agonistas cannabinoides serían perjudiciales para el tratamiento de estos pacientes, ya que se ha demostrado que inhiben la liberación de acetilcolina (Howlett y cols., 2002). Sin embargo, un trabajo reciente de Eubanks y cols., (2006) ha demostrado que el THC parece ser capaz de inhibir de forma no competitiva la actividad de este enzima. Más aún, el THC también fue capaz de disminuir la agregación de A $\beta$  inducida por la acetilcolinesterasa con mayor potencia que algunos de los anticolinesterásicos clásicos (donepezil y tacrina). Los datos conformacionales y de “docking” indican que este efecto se debe a la interacción directa de la molécula de THC con el sitio periférico del enzima responsable de su capacidad amiloidogénica (Eubanks y cols., 2006).

#### 7.3.5. Terapias anti-A $\beta$

Como se ha mencionado anteriormente, la mayoría de placas neuríticas están formadas por el péptido A $\beta$ , generado a partir del procesamiento aberrante de un precursor de membrana (APP) mediante la acción secuencial de las enzimas  $\beta$  y  $\gamma$  secretasa (Walsh Y Selkoe, 2004). Existen datos crecientes acerca de la neurotoxicidad de los monómeros y oligómeros de esta proteína, los cuales desencadenarían toda una cascada de procesos que culminarían con la muerte de neuronas y la pérdida de sinapsis funcionales. Por ello, se ha propuesto que la reducción de la producción de A $\beta$  o el aumento de su “aclaramiento” podrían ser de utilidad (Citron, 2004). Mientras que la primera estrategia (el bloqueo de la actividad secretasa) parece haberse estancado debido a la falta de especificidad de los agentes utilizados (Lleó y cols., 2006), la potenciación de la retirada de A $\beta$  parece ser algo más prometedora. Ello se ha traducido en varios ensayos clínicos con vacunas anti-A $\beta$ . Aunque los datos en animales de experimentación parecían ser muy prometedores (Schenk y cols., 1999), los ensayos clínicos en humanos han tenido que enfrentar problemas graves (encefali-

tis) que han obligado a su suspensión, aunque con resultados preliminares muy esperanzadores (Hock y cols., 2003; Nicoll y cols., 2003).

En línea con esta vía de trabajo, Erhart y cols. (2005) han demostrado que la activación de receptores CB2 potencia la capacidad de las células de microglía para fagocitar el péptido A $\beta$  *in vitro*. Este efecto, al parecer, es ejercido a través de la inhibición de la expresión del receptor CD40. Datos obtenidos en nuestro laboratorio (Núñez y cols., enviado) vienen a corroborar este efecto estimulante de los agonistas CB2 sobre la actividad fagocítica macrofágica/microglial. La importancia de estas observaciones se acrecienta si tenemos en cuenta el carácter inducible de este tipo de receptor cannabinoide y la ausencia de efectos psicoactivos que se derivan de su activación.

#### **7.4. Datos experimentales acerca del interés terapéutico de los cannabinoides en la EA**

Como se ha mencionado antes, tanto cannabinoides exógenos como endógenos poseen propiedades neuroprotectoras en diferentes modelos de daño neuronal. Estudios *in vivo* e *in vitro* han venido a confirmar esta observación (Fernandez-Ruiz y cols., 2005).

Milton (2002) comprobó que la anandamida ejercía un potente efecto protector frente a la toxicidad inducida por A $\beta$  en una línea neuronal humana y que dicho efecto era mediado por el receptor CB1 a través de la ruta de las MAP-quinasas. En fechas más recientes se ha comprobado que no sólo la activación del receptor CB1 puede tener efectos beneficiosos *in vitro*. Así, los receptores CB2 microgliales parecen ser importantes moduladores de la reacción de estas células frente al A $\beta$ . Datos obtenidos por Ramírez y cols. (2005) demostraron que agonistas del tipo CB1 y también CB2, actuando exclusivamente sobre células de microglía, eran capaces de prevenir el daño neuronal así como la secreción de citoquinas inflamatorias tras exposición a A $\beta$ .

Además de estos efectos mediados por los receptores CB1 y CB2, existen datos acerca de otros efectos de los cannabinoides no mediados por ninguno de estos receptores. Así, el grupo de Iuvone y cols ha centrado sus trabajos en los efectos del

cannabidiol sobre la toxicidad inducida por A $\beta$ . De ellos se puede concluir que el cannabidiol ejerce un efecto neuroprotector frente a la exposición a A $\beta$  mediante mecanismos celulares que implican a las vías de la p38MAPK, NF- $\kappa$ B y Wnt/ $\beta$ -catenina (Esposito y cols., 2006a, b y c).

Por otro lado, diversos grupos han estudiado el posible efecto beneficioso de los cannabinoides en ratones tras la administración exógena de A $\beta$ . Mazzola y cols. (2003) exploraron el efecto del antagonista SR1 sobre la memoria. Dado que se sabe que los cannabinoides alteran los procesos de memoria al activar los receptores CB1 (abundantes en el hipocampo), estos autores hipotetizaron que su bloqueo farmacológico debería inducir una mejoría. Así, comprobaron que el tratamiento con SR1 efectivamente inducía una mejora en la amnesia presentada por ratones a los que se había administrado i.c.v. dos formas patogénicas de A $\beta$  (1-42 y 25-35). A diferencia de estos datos, Ramírez y cols. (2005) observaron que el agonista WIN55,212-2 era capaz de prevenir las alteraciones cognitivas inducidas por A $\beta$ 25-35 administrado a ratas i.c.v. Según estos autores, la neuroprotección inducida por este agonista cannabinoide explicaría este efecto, al preservar el número de neuronas, tal y como indicaba la cuantificación de marcadores específicos tales como la calbindina y la tubulina y, al mismo tiempo, disminuir la activación patológica de la microglía.

El trabajo realizado por Van der Stelt y cols. (2005) ha aportado datos interesantes acerca del potencial terapéutico del sistema endocannabinoide en la EA. Utilizando un modelo de administración de A $\beta$  en la corteza de ratas y ratones, estos autores comprobaron que inducía un notable incremento en la producción de endocannabinoides y, específicamente, de 2-AG. Esta observación se corresponde con lo observado en otros modelos experimentales de daño cerebral. Más relevante aún, este trabajo sugiere que el incremento temprano (pero no el tardío) del tono endocannabinoide (mediante la administración de agentes que inhiben la recaptación de los endocannabinoides, tales como el VDM-11, previene la pérdida neuronal y la respuesta inflamatoria inducidas por la administración del A $\beta$ . Este efecto beneficioso se veía además acompañado por una significativa mejora de la memoria de los animales expuestos al péptido. Por último, estos autores encontraron que la densidad de receptores CB1 no se veía modificada por el proceso

patológico (algo paradójico considerando la pérdida neuronal asociada al mismo) mientras que la expresión de CB2 aumentaba notablemente. Esta observación concuerda con lo descrito en otros modelos patológicos y apuntala el concepto de la expresión inducible del receptor CB2, frente a un patrón de expresión constitutiva aplicable al CB1 (Maresz y cols., 2005; Benito y cols., 2008).

Por último, el análisis postmortem de muestras de tejido cerebral humano ha aportado datos que sugieren un posible papel del sistema cannabinoide en la etiología de la EA. De forma resumida, podemos realizar varias afirmaciones (revisado en Benito y cols., 2008): i) el depósito de A $\beta$  en el parénquima cerebral humano se ve acompañado de cambios profundos en el patrón de expresión del receptor CB2 y de la enzima FAAH; ii) la expresión de receptores CB1 disminuye en ciertas regiones cerebrales de los pacientes con EA, tales como el hipocampo y los ganglios basales, pero no en otras regiones también relevantes para esta enfermedad, como es la corteza frontal; iii) la sobreexpresión de los receptores CB2 y la enzima FAAH en células de la glía asociadas a las placas neuríticas sugiere su posible participación en la modulación de la actividad de las mismas, tanto de células de microglía (en las que se induce la expresión de CB2) como en astrocitos (en los que se sobreexpresa la enzima FAAH); iv) estos cambios en la expresión de algunos elementos del sistema endocannabinoide se observan también en regiones de inflamación procedentes de pacientes de otras enfermedades neurodegenerativas, tales como la encefalitis por SIDA o la esclerosis múltiple.

Los datos obtenidos a partir de muestras humanas sugieren por tanto que los receptores CB2 y la enzima FAAH pudieran constituir nuevas dianas terapéuticas (Pazos y cols., 2005). La activación de los primeros podría tener propiedades antiinflamatorias, tal y como se ha discutido anteriormente, al tiempo que carecería de efectos psicoactivos. La modulación de la actividad del enzima FAAH (específicamente su inhibición) podría acarrear efectos beneficiosos a varios niveles ya que, al mismo tiempo que se verían incrementados los niveles de algunos endocannabinoides (con consecuencias neuroprotectoras), se frenaría el aporte de ácido araquidónico en la zona afectada por el proceso inflamatorio, ya que es éste uno de los

metabolitos producto de la degradación de, por ejemplo, la anandamida.

## Agradecimientos

El trabajo de los autores es financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación Tecnológica (SAF2007-61565), CIBERNED (CB06/05/1109), y la Comunidad de Madrid (S-SAL/0261/2006).

## Bibliografía

- Akiyama H, Barger S, Barnum S, Bradt B, Bauer J, Cole GM *y cols* (2000). Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*; **21**:383-421.
- Benito C, Tolón RM, Pazos MR, Núñez E, Castillo AI y Romero J (2008). Cannabinoid CB2 receptors in human brain inflammation. *Br J Pharmacol*; **153**:277-285.
- Citron M (2004). Strategies for disease modification in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*; **5**:677-685.
- Dickson DW (1997). The pathogenesis of senile plaques. *J. Neuropathol. Exp Neurol*; **56**:321-339.
- Ehrhart J, Obregon D, Mori T, Hou H, Sun N, Bai Y *y cols* (2005). Stimulation of cannabinoid receptor 2 (CB2) suppresses microglial activation. *J Neuroinflammation*; **2**:29-39.
- Esposito G, De Filippis D, Steardo L, Scuderi C, Savani C, Cuomo V *y cols* (2006a). CB1 receptor selective activation inhibits beta-amyloid-induced iNOS protein expression in C6 cells and subsequently blunts tau protein hyperphosphorylation in co-cultured neurons. *Neurosci Lett*; **404**:342-346.
- Esposito G, De Filippis D, Maiuri MC, De Stefano D, Carnuccio R y Iuvone T (2006b). Cannabidiol inhibits inducible nitric oxide synthase protein expression and nitric oxide production in beta-amyloid stimulated PC12 neurons through p38 MAP kinase and NF-kappaB involvement. *Neurosci Lett*; **399**:91-95.
- Esposito G, De Filippis D, Carnuccio R, Izzo AA y Iuvone T (2006c). The marijuana component cannabidiol inhibits beta-amyloid-induced tau protein hyperphosphorylation through Wnt/beta-catenin pathway rescue in PC12 cells. *J Mol Med*; **84**:253-258.
- Esposito G, Scuderi C, Savani C, Steardo L, De Filippis, Cottone P *y cols* (2007). Cannabidiol in vivo blunts beta-amyloid induced

- neuroinflammation by suppressing IL-1beta and iNOS expression. *Br J Pharmacol*; **151**:1272-1279.
- Eubanks LM, Rogers CJ, Beuscher AE, Koob GF, Olson AJ, Dickerson TJ y cols (2006). A molecular link between the active component of marijuana and Alzheimer's disease pathology. *Mol Phar*; **3**:773-777.
- Fernandez-Ruiz JJ, Gonzalez S, Romero J y Ramos JA (2005). Cannabinoids in neurodegeneration and neuroprotection. In *Cannabinoids as Therapeutics*, Mechoulam R., ed., Birkhäuser Verlag/Switzerland, pp. 79-109.
- Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganquli M y cols (2005). Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *The Lancet*; **366**:2112-2117.
- Grundy RI, Rabuffeti M y Beltramo M (2001). Cannabinoids and neuroprotection. *Mol Neurobiol*; **24**:29-52.
- Hampson AJ, Grimaldi M, Axelrod J y Wink D (1998). Cannabidiol and (-) $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. *Proc Natl Acad Sci USA*; **95**:8268-8273.
- Hock C, Konietzko U, Streffer JR, Tracy J, Signorell A, Müller-Tillmanns B y cols (2003). Antibodies against beta-amyloid slow cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neuron*; **38**:547-554.
- Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA y cols (2002). International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev*; **54**:161-202.
- Lleó A, Greenberg SM y Growdon JH (2006). Current pharmacotherapy for Alzheimer's disease. *Annu Rev Med*; **57**:513-533.
- Mandavilli A (2006). The amyloid code. *Nat. Med*; **12**:747-751.
- Maresz K, Carrier EJ, Ponomarev ED, Hillard CJ y Dittel BN (2005). Modulation of the cannabinoid CB receptor in microglial cells in response to inflammatory stimuli. *J Neurochem*; **95**:437-445.
- Mazzola C, Micale V y Drago F (2003). Amnesia induced by beta-amyloid fragments is counteracted by cannabinoid CB1 receptor blockade. *Eur J Pharmacol*; **477**:219-225.
- Meyer-Luehmann M, Spires-Jones TL, Prada C, Garcia-Alloza M, de Calignon A, Rozkalne A y cols (2008). Rapid appearance and local toxicity of amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nature*; **451**:720-725.
- Milton NG (2002). Anandamide and noladin ether prevent neurotoxicity of the human amyloid-beta peptide. *Neurosci Lett*; **332**:127-130.
- Molina-Holgado F, Pinteaux E, Moore JD, Molina-Holgado E, Guaza C, Gibson RM y Rothwell NJ (2003). Endogenous interleukin-1 receptor antagonist mediates anti-inflammatory and neuro-



- protective actions of cannabinoids in neurons and glia. *J Neurosci*; **23**:6470-6474.
- Mount C y Downton C (2006) Alzheimer disease: progress or profit. *Nat Med*; **12**:780-784.
- Nadler V, Biegon A, Beit-Yannai E, Adamchik J y Shohami E (1995). <sup>45</sup>Ca accumulation in rat brain after closed head injury; attenuation by the novel neuroprotective agent HU-211. *Brain Res*; **685**:1-11.
- Naslund J, Schierhorn A, Hellman U, Lannfelt L, Roses AD, Tjernberg LO y cols (1994). Relative abundance of Alzheimer A beta amyloid peptide variants in Alzheimer disease and normal aging. *Proc Natl Acad Sci USA*; **91**:8378-8382.
- Nicoll JA, Wilkinson D, Holmes C, Steart P, Markham H y Weller RO (2003). Neuropathology of human Alzheimer disease after immunization with amyloid-beta peptide: a case report. *Nat Med*; **9**:448-452.
- Pazos MR, Nunez E, Benito C, Tolon RM y Romero J (2005). Functional neuroanatomy of the endocannabinoid system. *Pharmacol Biochem Behav*; **81**:239-247.
- Ramirez BG, Blazquez C, Gomez GP, Guzman M y De Ceballos ML (2005). Prevention of Alzheimer's disease pathology by cannabinoids: neuroprotection mediated by blockade of microglial activation. *J Neurosci*; **25**:1904-1913.
- Ray S, Britschgi M, Herbert C, Takeda-Uchimura Y, Boxer A, Blennow K y cols (2007). Classification and prediction of clinical Alzheimer's diagnosis based on plasma signaling proteins. *Nat Med*; **13**:1359-1362.
- Reisberg B, Doody R, Stoffler A, Schmitt F, Ferris S, Möbius HJ y cols (2003). Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease. *N Engl J Med*; **348**:1333-1341.
- Sano M, Ernesto C, Thomas RG, Klauber MR, Schafer K, Grundman M y cols (1997). A controlled trial of selegiline, alpha-tocopherol, or both as treatment for Alzheimer's disease. The Alzheimer's Disease Cooperative Study. *N Eng J Med*; **336**:1216-1222.
- Schenk D, Barbour R, Dunn W, Gordon G, Grajeda H, Guido T y cols (1999). Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature*; **400**:173-177.
- Streit WJ (2005). Microglia and neuroprotection: implications for Alzheimer's disease. *Brain Res Rev*; **48**:234-239.
- Van der Stelt M, Mazzola C, Esposito G, Matias I, Petrosino S, De Filippis D y cols (2006). Endocannabinoids and beta-amyloid-induced neurotoxicity in vivo: effect of pharmacological

- elevation of endocannabinoid levels. *Cell Mol. Life Sci*; **63**:1410-1424.
- Volicer L, Stelly M, Morris J, McLaughlin J y Volicer BJ (1997). Effects of dronabinol on anorexia and disturbed behavior in patients with Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*; **12**:913-919.
- Walsh DM y Selkoe DJ (2004). Deciphering the molecular basis of memory failure in Alzheimer's disease. *Neuron*. **44**:181-193.
- Walther S, Mahlberg R, Eichmann U y Kunz D (2006). Delta-9-tetrahydrocannabinol for nighttime agitation in severe dementia. *Psychopharmacol*; **185**:524-528.
- Wimo A, Winblad B, Agüero Torres H y von Strauss E (2003). The magnitude of dementia occurrence in the world. *Alzheimer Dis. Assoc Disord*; **17**:63-67.
- Wu C, Pike VW y Wang Y (2005). Amyloid imaging: from benchtop to bedside. *Curr Topics Develop Biol*; **70**:171-213.
- Wyss-Coray T y Mucke L (2002). Inflammation in neurodegenerative disease--a double-edged sword. *Neuron*; **35**:419-432.
- Wyss-Coray T (2006). Inflammation in Alzheimer disease: driving force, bystander or beneficial response? *Nat Med*; **12**:1005-1015.

# Potencial de los cannabinoides en el tratamiento de la esclerosis múltiple

---

# 8

*L. Mestre, F. Correa y C. Guaza*

## 8.1. Introducción

A lo largo de la historia y de la geografía (India, Europa, África o América), se encuentran evidencias del consumo de marihuana con fines terapéuticos muy diversos como, calmante del dolor, de las convulsiones infantiles, migrañas, histeria, artritis, neuralgia, ciática o tétanos; también como febrífugo, para aumentar el apetito, como tónico general para aliviar la fatiga, diurético, para disminuir la hinchazón de testículos o incluso como afrodisíaco (Ramos y cols., 2002). Sin embargo, junto a esta finalidad terapéutica, el consumo de marihuana ha ido en paralelo con un objetivo recreativo debido a sus efectos psicotrópicos y que condujeron a la prohibición de su consumo en Estados Unidos en la década de los cincuenta.

Una concatenación de hechos críticos como el aislamiento del componente psicoactivo de la marihuana,  $\Delta^9$ -Tetrahidrocannabinol, ( $\Delta^9$ -THC) en 1964 (Gaoni and Mechoulam) junto con el descubrimiento de, tanto receptores específicos para cannabinoides (Devane y cols., 1988) como ligandos endógenos, como anandamida (Devane y cols., 1992) y 2-araquidonilglicerol (Mechoulam y cols., 1995), han impulsado exponencialmente, en los últimos años, el estudio de los cannabinoides como moléculas con fines terapéuticos pasando de 2 trabajos sobre terapia con cannabinoides, publicados en revistas científicas, en la década de los 60 a 1023 publicaciones en los últimos seis años.

En situaciones de neuroinflamación en el SNC los cannabinoides pueden afectar la patogénesis de enfermedades con un componente inmunológico como la esclerosis múltiple, así como de otras patologías neurodegenerativas como la enfer-

medad de Alzheimer. Estas acciones beneficiosas de los cannabinoides se han tratado de explicar en base a sus propiedades antiinflamatorias y neuroprotectoras. Por ello, determinar las dianas celulares, los modos de acción y los mecanismos de señalización del sistema cannabinoide es crucial para entender la fisiología y farmacología de estas moléculas y poder desarrollar nuevas estrategias terapéuticas.

Este capítulo está dirigido a presentar los últimos avances sobre la utilidad terapéutica de los cannabinoides en la esclerosis múltiple.

## **8.2. Cannabinoides y esclerosis múltiple**

La esclerosis múltiple (EM) es la enfermedad crónica inflamatoria desmielinizante más común del sistema nervioso central y la principal causa de discapacidad neurológica en adultos jóvenes. Este hecho implica una substancial pérdida de calidad de vida de estos pacientes durante gran parte de su vida, así como un importante desgaste social debido, no sólo a la incapacidad de estas personas a contribuir al desarrollo de la sociedad, sino a la necesidad permanente de ayuda por parte de la misma.

A pesar de los avances en el conocimiento de la EM, su etiología continúa siendo desconocida hasta la fecha, lo que implica que las terapias actuales se centran en aspectos paliativos más que curativos y se basan principalmente en la regulación de la respuesta inmune mediante la administración de inmunomoduladores como IFN- $\beta$  o acetato de glatiramer. Sin embargo, el hecho de que su eficacia en tratamientos a largo plazo sea cuestionada al observarse que los pacientes generan anticuerpos frente a estas moléculas (Dubois y cols., 2003), ha conducido al desarrollo de estrategias terapéuticas más específicas que incluyen tanto la prevención de la circulación y trans migración de las células T a través de la barrera hemoencefálica, como terapias que afectan a otros tipos celulares como células B o células NK (Linker y cols., 2008). Una de las terapias en desarrollo implicaría el uso de cannabinoides, como una nueva aproximación terapéutica en el tratamiento de enfermedades crónicas inflamatorias entre las que se incluye la EM. Este tema ha suscitado gran interés como se recoge del

número de revisiones sobre el mismo publicadas en la última década (Pertwee, 2002; Docagne y cols., 2008; Baker y Pryce, 2008). En particular, en el año 2003 se publicaron los resultados del primer estudio a gran escala con pacientes de EM en el que se analizaron los efectos terapéuticos de los cannabinoides, concretamente la administración de THC durante quince días. Este estudio, denominado CAMS (del inglés “Cannabinoids in Multiple Sclerosis Study”), reveló que a pesar de no observarse una variación significativa de la gravedad de los síntomas, el efecto de los cannabinoides podría resultar terapéuticamente relevante en términos de nocicepción y de facilitación del inicio del caminar (Zajicek y cols., 2003). Asimismo, la prolongación del experimento durante 12 meses sí mostró cambios en la sintomatología motora. Hay que resaltar sin embargo que uno de los principales inconvenientes planteados en este estudio hace referencia a la necesidad de realizar una evaluación de la relación riesgos/beneficios de esta terapia, ya que el uso prolongado de THC podría repercutir negativamente sobre la función cognitiva del paciente (Iversen 2005). Otro ensayo clínico realizado durante seis semanas en el que se administró Sativex (THC:CBD) permitió valorar una cierta mejoría de la espasticidad de los pacientes de EM que habían recibido el cannabinoide (Collin y cols., 2007). Por otro lado, son varios los ensayos clínicos realizados en pacientes de EM en los que se analiza el efecto analgésico de los cannabinoides con resultados poco concluyentes ya que en alguno de los casos se observó un claro efecto placebo (Hosking y Zajicek, 2008). Sin embargo, las variaciones en diferentes elementos del sistema cannabinoide endógeno que se han observado en estudios postmortem de pacientes con EM y en particular asociados a los diferentes tipos de placas son indicativas de la importancia de este sistema modulador en dicha enfermedad (Benito y cols., 2007).

Estudios en modelos animales de EM, como la encefalomiелitis alérgica experimental (EAE) o la enfermedad desmielinizante inducida por la infección con el virus de Theiler (TMEV-IDD), han mostrado una significativa mejoría de la función motora y espasticidad tras la administración de agonistas cannabinoides (Baker y cols., 2000; Arevalo-Martín y cols, Croxford y Miller, 2003), así como tras el tratamiento con endocannabinoides o compuestos que aumentan el tono endógeno (Mestre

y cols., 2005; Ortega-Gutiérrez, 2005; Cabranes y cols., 2005). Los mecanismos de acción por los que los cannabinoides afectan la sintomatología en modelos animales o en la propia EM no están totalmente esclarecidos debido a la gran variedad de dianas celulares susceptibles de ser reguladas por estos compuestos, por lo que continúan hoy siendo motivo de debate y estudio. Por ejemplo, que los cannabinoides disminuyen la espasticidad en animales con EAE se conoce desde el año 2000, sin embargo ha habido que esperar hasta el 2007 para conocer que este efecto está mediado por receptores CB1 y se descarta la participación de los receptores CB2 (Pryce y Baker, 2007). Sin embargo, ratones deficientes para el receptor CB2 presentan un mayor grado de severidad no sólo motora, sino a nivel de inflamación y daño axonal (Marez y cols., 2007; Palazuelos y cols., 2008). En la actualidad existen diversas líneas de investigación complementarias cuyo objetivo es investigar las bases celulares y moleculares de los efectos terapéuticos de los cannabinoides en la EM centrándose en su papel anti-inflamatorio y neuroprotector.

### 8.2.1. *Papel anti-inflamatorio del sistema cannabinoide*

Ya en 1989 Lyman apuntó que la reducción de la sintomatología clínica observada en animales con EAE tratados con  $\Delta^9$ -THC se debía a la acción inmunorreguladora de este compuesto (Lyman y cols., 1989). Son muchos los estudios que en años posteriores han demostrado que los cannabinoides pueden inducir la inhibición de moléculas estimuladoras y la producción de citoquinas implicadas en la presentación antigénica, inhibición de la autoinmunidad mediada por células Th1, inhibición de citoquinas proinflamatorias como IL-1, IL-2, IL-12, TNF- $\alpha$ , o IFN $\gamma$ , aumento de citoquinas anti-inflamatorias como el antagonista del receptor de IL-1, IL1Ra, IL-4 e IL-10, así como control de la apoptosis de células autorreactivas (Molina-Holgado y cols., 2002; Klein 2005, Maresz y cols. 2007). En el modelo de Theiler es probable que el sistema cannabinoide pueda afectar los mecanismos de inmunidad innata y adquirida frente al virus con una participación clave de la microglía como célula presentadora de antígenos en el cerebro. Un hecho significativo a este respecto es la inhibición por anandamida de la producción de citoquinas de la familia de la

IL-12 en células microgliales (Correa y *cols.*, 2005, 2008). Este grupo de citoquinas heterodiméricas (IL-12, IL-23, IL-27) juegan un papel clave en el desarrollo y establecimiento de respuestas de inmunidad adquirida y alteraciones en su producción se relacionan con procesos de autoinmunidad e inflamación crónica como es el caso de la EM.

Estudios encaminados a valorar los efectos de un aumento en el tono endocannabinoide refuerzan la importancia de la anandamida como regulador endógeno de las respuestas inmunoinflamatorias ya que un estudio publicado recientemente muestra que los niveles de anandamida en el parénquima cerebral de pacientes con EM en una fase activa es cuatro veces superior a los registrados en individuos sanos (Eljaschewitsch y *cols.*, 2006), sin embargo, no se registraban cambios significativos en los niveles de 2-AG. Consistente con estos hallazgos se ha descrito un incremento de los niveles de anandamida, no así de 2-AG, en líquido cefalorraquídeo de pacientes con EM (Centonze y *cols.*, 2007), lo cual sugiere una cierta especificidad de función de los distintos componentes del sistema endocannabinoide. En este mismo trabajo se mostraba que los niveles de anandamida estaban aumentados en el cerebro de ratones con EAE mientras que los niveles de 2-AG no sufrían cambios significativos. Sin embargo, cabe destacar, que los resultados obtenidos de las medidas de los niveles endógenos pueden ser diferentes dependiendo del modelo animal empleado y sobre todo del tiempo y grado de evolución de la enfermedad. Recientemente, se ha publicado en el modelo de Theiler que sesenta días después de la inoculación intracerebral de este virus los animales no presentaban modificaciones significativas en los niveles de anandamida y sin embargo si se observaba un incremento significativo tanto de 2-AG como de palmitoiletanolamida (PEA) (Loría y *cols.* 2008).

En otros estudios las modificaciones en los niveles de endocannabinoides en ratones con signos de espasticidad en un modelo crónico de EAE sugiere la implicación del sistema cannabinoide endógeno en la sintomatología motora asociada a la EM (Baker y Pryce 2001). Asimismo, la administración de los inhibidores de la recaptura de anandamida (OMDM<sub>1</sub> y OMDM<sub>2</sub>) en este mismo modelo (de Lago y *cols.*, 2004; Ligresti y *cols.*, 2006) parece indicar un posible efecto protector endógeno del sistema endocannabinoide.

Un aspecto importante a tener en cuenta es el papel que podría jugar el sistema cannabinoide en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y en la producción de moléculas de adhesión celular por el endotelio cerebral que tiene un especial interés en el caso de la EM. Hay algunos estudios tanto *in vivo* como *in vitro* que parecen sugerir que los cannabinoides podrían ejercer un efecto inhibitorio sobre el paso de linfocitos a través de la barrera hematoencefálica. Trabajos propios de nuestro grupo ya mencionados anteriormente indican que el tratamiento de ratones TMEV-IDD con agonistas cannabinoides reduce el número de linfocitos CD4<sup>+</sup> infiltrados en la médula espinal. También, métodos indirectos de modificación del sistema cannabinoide endógeno, mediante la administración del inhibidor de la recaptura de anandamida UCM 707, en ratones TMEV-IDD muestra una disminución de la presencia de infiltrados celulares en la médula espinal. *In vitro*, se han descrito evidencias acerca de un efecto inhibitorio del agonista selectivo del receptor CB<sub>2</sub> (JWH-015) sobre la migración de células T inducida por la quimioquina CXCL-2 a través de una monocapa de células endoteliales (HUVEC) (Ghost y cols., 2006). También, se ha observado en líneas celulares de astrocitos un efecto inhibitorio de WIN 55,212-2 sobre la expresión de las moléculas de adhesión ICAM-1 y VCAM-1, así como del proceso de trans migración de neutrófilos a través de células ECV304 en condiciones de inflamación (Curran y cols., 2005; Nilsson y cols., 2006). Los mecanismos que subyacen a estos efectos son desconocidos pero podrían sugerir una acción de los cannabinoides tanto a nivel de los propios leucocitos como sobre moléculas implicadas en el proceso de trans migración como podrían ser las quimioquinas o las moléculas de adhesión.

### 8.2.2. *Papel neuroprotector del sistema cannabinoide*

La sintomatología clínica de la EM se fundamenta en dos procesos íntimamente relacionados como son la inflamación y el daño axonal. Son fenómenos bidireccionales debido a que, aunque es conocido que la producción de citoquinas proinflamatorias desencadena en último término la desmielinización del axón y por tanto degeneración axonal, también se ha descrito la presencia de axones dañados previamente a la fase desmielinizante en la patología de EM. Esta controversia en re-



lación a qué proceso es el desencadenante también puede ser aplicada a los mecanismos por los que los cannabinoides ejercen sus efectos terapéuticos en la EM. En los últimos años se ha demostrado que la neurodegeneración en la EM progresiva es la principal causa de la discapacidad de esta patología (Compston y Coles, 2002; Bjartmar y Trapp 2003) y son varias las líneas de investigación centradas en el papel neuroprotector de los cannabinoides en EM que incluso podría preceder a sus efectos antiinflamatorios (Croxford y cols., 2008). De hecho, ya en 2003 el grupo del Dr. Baker observó un incremento de la pérdida axonal en ratones deficientes para el receptor CB1 y más recientemente se han descrito datos en la misma línea en ratones deficientes para el receptor CB2. En el modelo de Theiler se ha descrito una disminución del daño axonal en animales que fueron tratados con un agonista de los receptores CB1 y CB2 (HU-210). Además *in vitro* se observó una disminución de la muerte neuronal inducida por AMPA tras el tratamiento con este compuesto (Docagne y cols., 2007). En la misma línea el grupo de Ulrich mostró en 2006 en cultivos organotípicos hipocampales un papel neuroprotector de la anandamida al inhibir la muerte neuronal inducida por NMDA, pero especialmente en situaciones de inflamación. Por otra parte, los efectos de los cannabinoides sobre los procesos de preservación de la supervivencia de las células productoras de la mielina (Molina-Holgado y cols., 2002) y los procesos que favorecen la remielinización (Arevalo-Martín y cols., 2003; 2007) pueden subyacer a la disminución del daño axonal observado en modelos animales de EM.

### 8.3. Conclusión general

El análisis de los resultados obtenidos en la última década procedentes sobre todo de la investigación básica en el tema ha permitido establecer que son múltiples los mecanismos de actuación de los cannabinoides y en diferentes dianas celulares los que podrían sustentar las acciones beneficiosas del SEC en las patologías del SNC con inflamación crónica y en particular en la EM. Por un lado podemos considerar desde el punto de vista clínico los aspectos paliativos de mejora de la sintomatología que englobarían en parte acciones relacionadas con espasticidad muscular y dolor, también tendríamos que considerar los aspec-

tos relacionados con la reparación y recuperación funcional que estarían relacionados con la participación del sistema cannabinoide en la regulación del proceso inmunoinflamatorio, y en los mecanismos de neuroprotección y de remielinización, siendo estos datos mayormente procedentes de estudios con modelos animales. Se necesitará la convergencia de una investigación multidisciplinar para comprender la función fisiológica y fisiopatológica de este sistema de señalización lipídica y establecer si los cannabinoides constituyen una nueva herramienta terapéutica con ventajas sobre otros fármacos para el tratamiento de la esclerosis múltiple.

### Agradecimientos

Se agradece la financiación recibida por el MEC, actual Ministerio de Innovación y Ciencia (SAF2006/60038), de la CAM (S2006/SAL0261) y de RETICS (Red Española de Esclerosis Múltiple; REEM).

### Bibliografía

- Arévalo-Martín A, Vela JM, Molina-Holgado E, Borrell J y Guaza C (2003). Therapeutic action of cannabinoids in a murine model of multiple sclerosis. *J Neurosci*; **23**:2511-16.
- Arévalo-Martín A, García-Ovejero D, Rubio-Araiz A, Gómez O, Molina-Holgado F y cols (2007). Cannabinoids modulate Olig2 and polysialylated neural cell adhesion molecule expression in the subventricular zone of post-natal rats through cannabinoid receptor 1 and cannabinoid receptor 2. *Eur J Neurosci*; **26**:1548-59.
- Arévalo-Martín A, García-Ovejero D, Gómez O, Rubio-Araiz A, Navarro-Galve B, Guaza C y cols (2008). CB2 cannabinoid receptors as an emerging target for demyelinating diseases: from neuroimmune interactions to cell replacement strategies. *Br J Pharmacol*; **153**:216-25.
- Baker D, Pryce G, Croxford JL, Brown P, Pertwee RG, Huffman JW y cols (2000). Cannabinoids control spasticity and tremor in a multiple sclerosis model. *Nature*; **404**:84-7.
- Baker D, Pryce G, Croxford JL, Brown P, Pertwee RG, Makriyannis A y cols (2001). Endocannabinoids control spasticity in a multiple sclerosis model. *FASEB J*; **15**:300-2.

- Baker D y Pryce G (2008). The endocannabinoid system and multiple sclerosis. *Curr Pharm Des*; **14**:2326-36.
- Benito C, Romero JP, Tolón RM, Clemente D, Docagne F, Hillard CJ y cols (2007). Cannabinoid CB1 and CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are specific markers of plaque cell subtypes in human multiple sclerosis. *J Neurosci*; **27**: 2396-402.
- Bjartmar C y Trapp BD (2003). Axonal degeneration and progressive neurologic disability in multiple sclerosis. *Neurotox Res*; **5**:157-64.
- Cabranes A, Venderova K, de Lago E, Fezza F, Sánchez A, Mestre L y cols (2005). Decreased endocannabinoid levels in the brain and beneficial effects of agents activating cannabinoid and/or vanilloid receptors in a rat model of multiple sclerosis. *Neurobiol Dis*; **20**:207-17.
- Centonze D, Bari M, Rossi S, Prosperetti C, Furlan R, Fezza F y cols (2007). The endocannabinoid system is dysregulated in multiple sclerosis and in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain*; **130**:2543-53.
- Collin C, Davies P, Mutiboko IK y Ratcliffe S (2007). Sativex Spasticity in MS Study Group. Randomized controlled trial of cannabis-based medicine in spasticity caused by multiple sclerosis. *Eur J Neurol*; **14**:290-6.
- Compston A y Coles A (2002). Multiple sclerosis. *Lancet*; **359**:1221-31.
- Correa F, Mestre L, Docagne F y Guaza C (2005). Activation of cannabinoid CB2 receptor negatively regulates IL-12p40 production in murine macrophages: role of IL-10 and ERK1/2 kinase signaling. *Br J Pharmacol*; **145**:441-8.
- Correa F, Docagne F, Clemente D, Mestre L, Becker C y Guaza C (2008). Anandamide inhibits IL-12p40 production by acting on the promoter repressor element GA-12: possible involvement of the COX-2 metabolite prostamide E(2). *Biochem J*; **409**(3):761-70.
- Croxford JL y Miller SD (2003). Immunoregulation of a viral model of multiple sclerosis using the synthetic cannabinoid R+WIN55,212. *J Clin Invest*; **111**:1231-40.
- Croxford JL, Pryce G, Jackson SJ, Ledent C, Giovannoni G, Pertwee RG y cols (2008). Cannabinoid-mediated neuroprotection, not immunosuppression, may be more relevant to multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*; **193**:120-9.
- Curran NM, Griffin BD, O'Toole D, Brady KJ, Fitzgerald SN y Moynagh PN (2005). The synthetic cannabinoid R(+)-WIN 55,212-2 inhibits the interleukin-1 signaling pathway in human astrocytes in a cannabinoid receptor-independent manner. *J Biol Chem*; **280**:35797-806.
- de Lago E, Ligresti A, Ortas G, Morera E, Cabranes A, Pryce G y cols (2004). In vivo pharmacological actions of two novel inhibitors of anandamide cellular uptake. *Eur J Pharmacol*; **484**:249-57.

- Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS y Howlett AC (1988). Determination and characterization of a cannabinoid receptor in a rat brain. *Mol Pharmacol*; **34**:605-13.
- Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G y cols (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*; **258**:1946-49.
- Docagne F, Muñetón V, Clemente D, Ali C, Loría F, Correa F y cols (2007). Excitotoxicity in a chronic model of multiple sclerosis: Neuroprotective effects of cannabinoids through CB1 and CB2 receptor activation. *Mol Cell Neurosci*; **34**:551-61.
- Dubois BD, Keenan E, Porter BE, Kapoor R, Rudge P, Thompson AJ y cols (2003). Interferon beta in multiple sclerosis: experience in a British specialist multiple sclerosis centre. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*; **74**:946-49.
- Eljaschewitsch E, Witting A, Mawrin C, Lee T, Schmidt PM, Wolf S y cols (2006). The endocannabinoid anandamide protects neurons during CNS inflammation by induction of MKP-1 in microglial cells. *Neuron*; **49**:67-79.
- Gaoni Y y Mechoulam R (1964). Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J Am Chem Soc*; **86**:1646-47.
- Ghosh S, Preet A, Groopman JE y Ganju RK (2006). Cannabinoid receptor CB2 modulates the CXCL12/CXCR4-mediated chemotaxis of T lymphocytes. *Mol Immunol*; **43**:2169-79.
- Hosking RD y Zajicek JP (2008). Therapeutic potential of cannabis in pain medicine. *Br J Anaesth*; **101**:59-68.
- Iversen L (2005). Long-term effects of exposure to cannabis. *Curr Opin Pharmacol*; **5**:69-72.
- Klein TW (2005). Cannabinoid-based drugs as anti-inflammatory therapeutics. *Nat Rev Immunol*; **5**:400-11.
- Ligresti A, Cascio MG, Pryce G, Kulasegaram S, Beletskaya I, De Petrocellis L y cols (2006). New potent and selective inhibitors of anandamide reuptake with antispastic activity in a mouse model of multiple sclerosis. *Br J Pharmacol*; **147**:83-91.
- Linker RA, Kieseier BC y Gold R (2008). Identification and development of new therapeutics for multiple sclerosis. *Trends Pharmacol Sci*; en prensa
- Loría F, Petrosino S, Mestre L, Spagnolo A, Correa F, Hernangómez M y cols (2008). Study of the regulation of the endocannabinoid system in a virus model of multiple sclerosis reveals a therapeutic effect of palmitoylethanolamide. *Eur J Neurosci*; **28**:633-41.
- Lyman WD, Sonett JR, Brosnan CF, Elkin R y Bornstein MB (1989). Delta 9-tetrahydrocannabinol: a novel treatment for experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol*; **23**:73-81.

- Maresz K, Pryce G, Ponomarev ED, Marsicano G, Croxford JL, Shriver LP y cols (2007). Direct suppression of CNS autoimmune inflammation via the cannabinoid receptor CB1 on neurons and CB2 on autoreactive T cells. *Nat Med*; **13**:492-7.
- Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR y cols (1995). Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem. Pharmacol*; **50**:83-90.
- Mestre L, Correa F, Arévalo-Martín A, Molina-Holgado E, Valenti M, Ortar G y cols (2005). Pharmacological modulation of the endocannabinoid system in a viral model of multiple sclerosis. *J Neurochem*; **92**:1327-39.
- Molina-Holgado E, Vela JM, Arévalo-Martín A, Almazán G, Molina-Holgado F, Borrell J y cols (2002). Cannabinoids promote oligodendrocyte progenitor survival: involvement of cannabinoid receptors and phosphatidylinositol-3 kinase/Akt signaling. *J Neurosci*; **22**:9742-53.
- Molina-Holgado F, Pinteaux E, Moore J, Molina-Holgado E, Guaza C, Gibson RM y Rothwell N (2003). Endogenous interleukin-1 receptor antagonist mediates anti-inflammatory and neuroprotective actions of cannabinoids in neurons and glial cells. *J Neurosci*; **23**:6470-6474.
- Nilsson O, Fowler CJ y Jacobsson SO (2006). The cannabinoid agonist WIN 55,212-2 inhibits TNF-alpha-induced neutrophil transmigration across ECV304 cells. *Eur J Pharmacol*; **547**:165-73.
- Ortega-Gutiérrez S, Molina-Holgado E, Arevalo-Martin A, Correa F, Viso A, Lopez-Rodríguez ML y cols (2005). Activation of the endocannabinoid system as therapeutic approach in a murine model of multiple sclerosis. *FASEB J*; **19**:1338-40.
- Palazuelos J, Davoust N, Julien B, Hatterer E, Aguado T, Mechoulam R y cols (2008). The CB2 cannabinoid receptor controls myeloid progenitor trafficking. Involvement in the pathogenesis of an animal model of multiple sclerosis. *J Biol Chem*; **283**:13320-29.
- Pertwee RG (2002). Cannabinoids and multiple sclerosis. *Pharmacol Ther*; **95**:165-74.
- Pryce G y Baker D (2007). Control of spasticity in a multiple sclerosis model in mediated by CB1, not CB2, cannabinoid receptors. *Brit. J Pharmacol*; **150**:519-525.
- Ramos JA, Hernández ML y Cebeira M (2002). Los cannabinoides como medicamentos a lo largo de la historia. En: *Actualización de los conocimientos acerca del uso terapéutico de los cannabinoides*. Ed. Agencia antidroga de la comunidad de Madrid. p. 29-42.
- Zajicek J, Fox P, Sanders H, Wright D, Vickery J, Nunn A y cols (2003). Cannabinoids for treatment of spasticity and other symptoms related to multiple sclerosis (CAMS study): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet*; **362**:1517-26.



# Potencial de los cannabinoides en el tratamiento de la lesión medular

# 9

*D. García-Ovejero, E. Molina-Holgado y A. Arévalo-Martín*

## 9.1. Introducción

Durante las últimas décadas, desde el descubrimiento de la estructura química del  $\delta$ -9-tetrahidrocannabinol (THC) y de varios de los componentes del sistema cannabinoide endógeno, que incluye receptores específicos y ligandos o endocannabinoides, ha habido un interés creciente por conocer las dianas celulares y los mecanismos moleculares de acción de los fitocannabinoides obtenidos a partir de la *Cannabis sativa*, de sus derivados sintéticos o de los endocannabinoides, con el fin de aprovechar su potencial terapéutico. En efecto, desde hace años la literatura médica ha recogido informes de pacientes afectados de diversas patologías que aseguraban obtener beneficios substanciales del consumo de *Cannabis* inhalado (cigarrillos de marihuana) y aunque estas observaciones se han considerado anecdóticas, los usuarios reseñaban importantes mejoras, que según la patología incluía dolor, espasticidad, temblor, náuseas o apetito (Consroe y cols., 1997).

Recientemente, se ha autorizado en varios países de nuestro entorno la prescripción de fármacos que contienen fitocannabinoides o cannabinoides sintéticos como el Sativex, el Marinol y el Cesamet. Estos fármacos presentan propiedades analgésicas, estimulantes del apetito o inhibitorias de la náusea y el vómito. Utilizando alguno de ellos, se están llevando a cabo estudios en el ámbito académico y ensayos clínicos multicéntricos dirigidos a evaluar el potencial terapéutico de los cannabinoides en patologías motoras (enfermedad de Parkinson y corea de Huntington), en dolor neuropático, en alteraciones del apetito (efectos orexigénicos y anorexigénicos), en glaucoma y en

enfermedades inflamatorias crónicas (esclerosis múltiple y artritis reumatoide).

Quizás una de las aplicaciones terapéuticas más prometedoras de los cannabinoides como medicamentos es su utilización en la esclerosis múltiple, como se discute en otro capítulo de este mismo libro. En esta línea, se están empezando a publicar los resultados de los primeros ensayos clínicos utilizando diversos preparados que contienen cannabinoides, de los que deducimos que estos compuestos demuestran ciertos efectos beneficiosos en el dolor neuropático, en la espasticidad, en la ataxia, en la rigidez, en el temblor, y en el control de la vejiga (Zajicek y cols., 2003, 2005; Rog y cols., 2005; Wade y cols., 2006; Wissel y cols., 2006).

Los síntomas que se acaban de mencionar tienen una elevada prevalencia en pacientes que han sufrido lesiones de la médula espinal ya sean de origen traumático o consecuencia de una patología médica y contribuyen de forma significativa a la pérdida de calidad de vida de estas personas. La incidencia de lesión medular en España es de 25-30 casos nuevos al año por cada millón de habitantes, es decir, que se dan unos 1.000 nuevos casos cada año. La mayoría de estas lesiones son consecuencia de accidentes con vehículos a motor, deportes o simples caídas en el hogar que fracturan o dislocan la columna vertebral lo que resulta en una compresión, contusión o hiperextensión de la médula espinal. Como las lesiones medulares afectan en buena medida a gente joven, el coste tanto social como económico es muy elevado y no existen tratamientos aceptados de forma general que mejoren esta patología. Por lo tanto, y a la vista de los datos epidemiológicos, el desarrollo de estrategias terapéuticas que potencien la recuperación funcional tras una lesión medular es uno de los objetivos pendientes en la práctica clínica tanto por su repercusión más importante, que es la mejora de la calidad de vida de los pacientes, como por el gasto hospitalario que conlleva un paciente crónico que necesita de atención especializada multidisciplinar.

Desde un punto de vista patológico (revisado en Dalton y Dietrich, 2007), la extensión del daño inicial o primario que se produce tras una lesión medular es considerablemente menor que la que se observa tras varios días o semanas de producirse el traumatismo. El daño primario es la destrucción del tejido como resultado del traumatismo inicial que se circunscribe al



sitio de impacto. La rotura de la membrana de neuronas y de células endoteliales en la sustancia gris resulta en un núcleo necrótico hemorrágico y en el daño de los axones más próximos a la sustancia gris. La expansión de la zona de lesión se atribuye a lo que se conoce como daño secundario y engloba la cascada de eventos destructivos inducidos por la lesión primaria en las horas y días siguientes al evento traumático. La extensión de la hemorragia producida inicialmente junto con el edema resulta en la aparición de fenómenos de isquemia y excitotoxicidad que producirán una serie de alteraciones celulares entre las que destacan la inflamación, la activación astrocitaria y la necrosis y apoptosis de neuronas y oligodendrocitos que dañará aun más los tractos axonales que quedaron indemnes así como a los oligodendrocitos mielinizantes. Obviamente, considerando que el tamaño final de la lesión se relaciona de forma inequívoca con la pérdida de función neurológica parece razonable que estrategias terapéuticas que limiten la zona de lesión disminuirán la pérdida funcional. Los cannabinoides, ya sean sintéticos, naturales o endógenos, se presentan por sus propiedades inmunomoduladoras, neuroprotectoras y sus efectos sobre poblaciones de células madre/precursores neurales como potenciales agentes terapéuticos en modelos experimentales de lesiones de la médula espinal. Este capítulo repasará brevemente el estado actual del conocimiento acerca del potencial terapéutico de los cannabinoides en la lesión medular.

## **9.2. El sistema endocannabinoide en la médula espinal normal y lesionada**

Durante las últimas décadas se han acumulado numerosos indicios de la presencia del sistema endocannabinoide en la médula espinal. Desde los primeros estudios en los que se describía la acción de algunos componentes de la marihuana (delta9-THC, cannabidiol) sobre los reflejos medulares en el perro y el gato (Gough y Olley, 1977; Tramposch y cols., 1981; Gilbert, 1981; Turkanis y Karler 1983, 1986) a la constatación experimental de la acción anti-espástica del cannabis, previamente conocida por pacientes y médicos (Petro y Ellenberger, 1981; Maurer y cols., 1990) o a las distintas demostraciones de un componente espinal en la analgesia mediada por canna-

binoides (Lichtman y Martin 1991; Richardson y *cols.*, 1998; Hohmann y *cols.*, 1998).

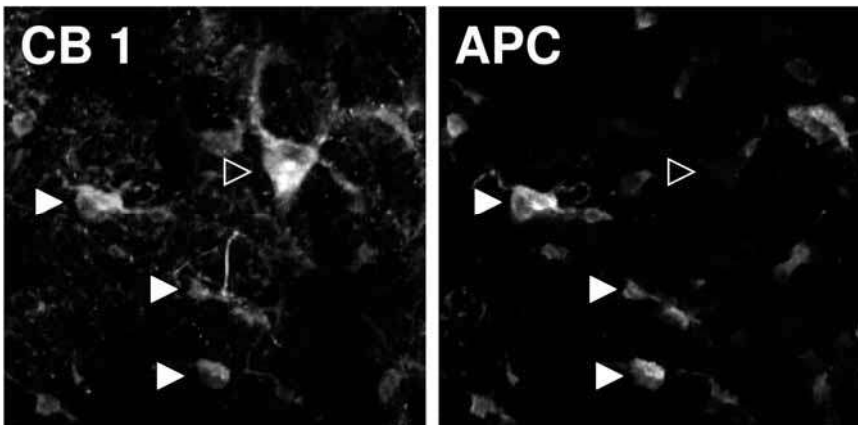
A medida que se han ido conociendo los distintos receptores cannabinoides (CB1 y CB2), sus ligandos endógenos (anandamida y 2-araquidonilglicerol, mayoritariamente) y las enzimas implicadas en la síntesis de los mismos, se ha intentado comprender cómo se estructura este sistema en la médula espinal de manera normal y en situaciones de lesión.

Las primeras pruebas de la existencia de receptores para cannabinoides en la médula se basan en la unión específica del ligando radiactivo  $^3\text{H}$ -CP55,940, que presenta afinidades similares por CB1 y CB2. Este ligando se concentraba en las astas dorsales y en el centro de la médula, en la lámina X. Además, aunque con menor intensidad, se observaba marcaje específico también en el asta posterior y en el núcleo intermedio-lateral, y con señal más difusa, en otras localizaciones de la sustancia gris. La unión de este ligando era similar en la rata y el humano (Herkenham y *cols.*, 1991; Glass y *cols.*, 1997). Con la llegada de nuevas herramientas experimentales, como la inmunohistoquímica, se han confirmado estas observaciones y se ha empezado a estudiar la expresión de cada receptor por separado obteniendo, además, resolución a nivel celular. Utilizando un anticuerpo dirigido contra la región N-terminal de CB1, se ha descrito que la señal autorradiográfica se corresponde muy bien con la presencia de receptores CB1, tanto en cuerpos celulares como en fibras nerviosas (Tsou y *cols.*, 1998; Ong y *cols.*, 1999; Salio y *cols.*, 2002a). Las células con expresión de CB1 abarcan desde interneuronas de pequeño diámetro en el asta dorsal (9-16 micras de diámetro), hasta neuronas de tamaño intermedio (40-60  $\mu\text{m}$ ) en la sustancia gris intermedia o grandes motoneuronas de las astas ventrales (60-100  $\mu\text{m}$ ) (Ong y *cols.*, 1999). Las neuronas de las láminas I y II del asta dorsal pertenecían a una población inhibitoria, con expresión del aminoácido GABA y de la enzima óxido nítrico sintasa (Salio y *cols.*, 2002a). En cuanto a su localización subcelular, las imágenes de microscopía electrónica mostraban que el receptor CB1 se encuentra en una localización postsináptica, en el asta dorsal, tanto en somas celulares como en dendritas. También se encuentra CB1 en axones de los nervios provenientes de neuronas del ganglio, y en prolongaciones gliales de las láminas I y II (Salio y *cols.*, 2002a y b). Es interesante notar

que, aunque no especificado en el texto, en alguno de estos trabajos se adivinan células con expresión de CB1 en la sustancia blanca, no distinguibles en los experimentos de autorradiografía anteriores, pero claramente dibujados en las imágenes de inmunohistoquímica. Es cierto, por otra parte, que la intensidad de marcaje es inferior a la descrita para la sustancia gris (Ong y *cols.*, 1999). En trabajos recientes de nuestro laboratorio, hemos descrito que la expresión de CB1 en la sustancia blanca de la médula espinal de la rata se encuentra mayoritariamente en oligodendrocitos (Fig. 9.1) (García-Ovejero y *cols.*, 2008). Se ha descrito un patrón similar de marcaje (asta dorsal, lámina X, núcleo intermedio-lateral, señal positiva pero menos intensa en el resto de láminas) utilizando un anticuerpo distinto, dirigido contra la región C-terminal del receptor. Este anticuerpo parece reconocer una conformación específica del receptor CB1 y ofrece un inmunomarcaje localizado, casi exclusivamente, en prolongaciones neuronales. Con esta herramienta, Farquhar-Smith y *cols.* (2000) muestran que en el asta dorsal, en realidad existe una doble banda de expresión de CB1 (láminas I y transición Ili/III). Además, determinan que, aunque presente en las mismas láminas donde llegan las fibras nociceptivas, el receptor CB1 no se encuentra dentro de ellas, no comparte localización con los marcadores clásicos de estas fibras, como son la sustancia P, el péptido derivado del gen de la calcitonina o CGRP, la isolectina B4, el receptor vanilloide VR1 o la subunidad beta de la toxina colérica. Por el contrario, la mayoría de la expresión de CB1 se encuentra en interneuronas espinales, identificadas con el marcador PKC gamma.

Después de una lesión medular traumática, la expresión del receptor CB1 en la médula cambia tanto en el lugar del impacto (epicentro) como en sus proximidades. En los primeros momentos después de la lesión (1-3 días), aún se mantiene la señal de CB1 en numerosas células cerca del epicentro, neuronas y oligodendrocitos, aunque aparecen muchas de ellas dañadas y rodeadas por células microgliales fagocíticas. Aparecen también en este momento pequeñas células CB1+ con morfología poco ramificada y expresión del marcador de precursores gliales Olig 2. En un segundo momento, al cabo de una semana de la lesión, se empieza a observar la inducción de CB1 en astrocitos reactivos. Esta inducción se mantiene, al menos, hasta los 28 días post-lesión (García-Ovejero y *cols.*,

2008). Los astrocitos son células que cumplen numerosísimas e importantes labores en el funcionamiento normal del sistema nervioso (controlan la función vascular, son un importante soporte trófico, participan en la sinapsis...). Además, después de una lesión, son los encargados de aislar el tejido lesionado, deben recuperar la impermeabilidad del sistema nervioso dañado y suponen un importante foco de factores de crecimiento y supervivencia para el resto de células y para sí mismos. La expresión del receptor CB1 en estas células, al igual que en las células encargadas de aislar los nervios mediante la vaina de mielina (los oligodendrocitos) o en las células encargadas de propagar los impulsos nerviosos (neuronas), podría indicarnos la función de este receptor, aún desconocida, en la médula normal y lesionada.



**Figura 9.1.:** El receptor CB1 se expresa en oligodendrocitos de la médula espinal. Las flechas blancas señalan células con expresión tanto de CB1 como del marcador oligodendrocitario APC. La flecha negra indica una célula con marcaje CB1 y ausencia del marcador APC.

La presencia del receptor CB2 dentro del sistema nervioso es aún un asunto controvertido. En la médula espinal este gen se encuentra expresado en muy baja cantidad (Zhang y cols., 2003; Shoemaker y cols., 2007; Romero-Sandoval y cols., 2008; Garcia-Ovejero y cols., 2008). Sin embargo, después de una lesión del nervio periférico, así como después de una lesión medular traumática en la rata, aumenta enormemente la

expresión de CB2. Tras la lesión del nervio, se observa un incremento de CB2 que unos trabajos localizan en la microglía (Romero-Sandoval y cols., 2008), mientras que otros proponen una localización neuronal, en terminales sensoriales del asta dorsal, marcados con GAP-43 y galanina (Wotherspoon y cols., 2005). La sobreexpresión de CB2 en macrófagos o microglía coincide con lo descrito para otras patologías de la médula espinal, como la esclerosis lateral amiotrófica, donde la expresión de CB2 acompaña a la progresión de la enfermedad (Yiangou y cols., 2006; Shoemaker y cols., 2007). Después de la lesión medular traumática se observa expresión de CB2 en infiltrados inmunitarios y macrófagos durante los primeros días post-lesión, y una fuerte inducción de CB2 en astrocitos reactivos a partir de 7 días, manteniéndose durante más de un mes. En este momento tardío post-lesión, se encuentra expresión de CB2 también en macrófagos perilesionales y en infiltrados inmunitarios (García-Ovejero y cols., 2008). Por tanto, CB2 podría estar implicado en la iniciación, modulación o mantenimiento de la respuesta inflamatoria que se produce en las lesiones medulares, así como en la función astrocitaria.

Se conoce que los cannabinoides son moléculas lábiles, que se sintetizan "bajo demanda" y actúan cerca de su lugar de producción. Por este motivo, se puede considerar que la existencia de receptores cannabinoides en la médula espinal implica la presencia cercana de sus ligandos. En efecto, hay una producción normal de anandamida y 2-AG en la médula no lesionada (Mestre y cols., 2005; Petrosino y cols., 2007; Bilsland y cols., 2006; García-Ovejero y cols., 2008). Se ha propuesto un papel para estos cannabinoides en la regulación de los reflejos medulares y la modulación de las aferencias sensoriales (Farquhar-Smith y cols., 2000; Clarke y cols., 2001; El Manira y cols., 2008). Tras una constricción del nervio ciático, se observa un aumento de anandamida en la médula, que permanece al menos hasta una semana después de la lesión. Por el contrario, el contenido medular de 2-AG no cambia a los 3 días pero disminuye a los 7 (Petrosino y cols., 2007). En la lesión medular traumática, el patrón de cambios es algo distinto: se observa un incremento agudo de los niveles de anandamida y su congénere palmitoiletanolamida (PEA), que vuelven a los niveles normales antes de una semana post-lesión. Este incremento agudo se podría deber tanto a una mayor actividad

biosintética como a una menor actividad degradativa, ya que en paralelo se sobreexpresa una de las principales enzimas formadoras de anandamida (la NAPE-PLD) y disminuye una importante enzima degradativa (la FAAH) (García-Ovejero y cols., 2008). El 2-AG no cambia en los primeros días de la lesión, pero luego aumenta a partir de 7 días, manteniéndose por encima de los niveles normales a 28 días. La acumulación de 2-AG parece depender de un aumento en su síntesis, pues se observa un incremento en la expresión de la enzima DAGL- $\alpha$ , que se localiza mayoritariamente en neuronas y en astrocitos (García-Ovejero y cols., 2008).

Desconocemos aún la función de los endocannabinoides en la progresión de la lesión medular o su función concreta después de este tipo de lesión. En el siguiente apartado, describiremos con más detalle el potencial terapéutico de estas moléculas en la lesión medular, así como los primeros datos que hemos obtenido después de un tratamiento con endocannabinoides en la rata.

### **9.3. Potencial terapéutico de los cannabinoides en la lesión medular**

Como se ha explicado anteriormente, tras una lesión medular traumática se producen una serie de alteraciones que contribuyen a expandir el daño inicial. Al daño secundario contribuyen, entre otros, fenómenos de isquemia, hipoxia, inflamación y excitotoxicidad, los cuales, finalmente, comprometen la supervivencia de los diversos tipos celulares de la médula espinal. Por tanto, cualquier intervención terapéutica dirigida a frenar el daño secundario debe interferir con estos procesos. Aunque, aún no se ha publicado ningún estudio científico en el que se demuestre que los endocannabinoides frenan el daño secundario en una lesión medular, sí se dispone de suficientes evidencias de que estos compuestos son efectivos en inhibir cada uno de los fenómenos patológicos citados. En este sentido, los cannabinoides podrían ser agentes terapéuticos en la isquemia-hipoxia neonatal (Fernández-López y cols., 2006), cuyos efectos se encuentran descritos en el capítulo 4 del presente libro.

Respecto a los efectos inmunomoduladores de los cannabinoides, merece la pena mencionar que los cannabinoides se han mostrados efectivos como agentes terapéuticos en varios paradigmas experimentales de inflamación aguda y crónica tanto en el sistema nervioso central, la esclerosis múltiple (Arévalo-Martín *y cols.*, 2003), como en periferia, la artritis reumatoide (Malfait *y cols.*, 2002) o la diabetes autoinmune (Li *y cols.*, 2001). Por tanto, parece razonable considerar que estos compuestos también podrían ejercer acciones inmunomoduladoras con resultados terapéuticos en la lesión medular traumática. En relación al otro componente de la lesión secundaria, la excitotoxicidad, los cannabinoides potencian la supervivencia neuronal en modelos de excitotoxicidad (Molina-Holgado *y cols.*, 2005; Docagne *y cols.*, 2007).

Entre los indicios más destacables de que los endocannabinoides pueden ser agentes terapéuticos en la lesión medular se encuentran los efectos del 2-AG observados en una patología similar a la que nos ocupa: la lesión cerebral traumática. En este modelo, el 2-AG reduce el volumen de una lesión cerebral traumática experimental en animales y mejora su recuperación funcional (Panikashvili *y cols.*, 2001). En las lesiones traumáticas cerebrales, el edema es uno de los factores que contribuyen a la expansión del daño por la isquemia e hipoxia que produce y, en este estudio, el 2-AG se mostró efectivo en reducir el volumen del edema y la muerte neuronal. Por tanto, el 2-AG puede prevenir la aparición de isquemia e hipoxia al disminuir la formación de edema cerebral. Además, en la lesión traumática cerebral, al igual que ocurre en la lesión medular, las citoquinas producidas por la respuesta inflamatoria que acontece pueden potenciar la formación del edema al alterar la permeabilidad de la barrera hematoencefálica. En este sentido, el 2-AG reduce la producción de citoquinas proinflamatorias y mantiene la integridad de la barrera hematoencefálica en el modelo experimental de lesión cerebral traumática (Panikashvili *y cols.*, 2005). En otros modelos experimentales que comparten mecanismos patogénicos con la lesión medular traumática, como la esclerosis múltiple, la potenciación de la actividad del sistema endocannabinoide mejora notablemente la función motora de animales de experimentación al disminuir la inflamación y la excitotoxicidad (ver capítulo 8). Resultados de nuestro laboratorio muestran que el tratamiento temprano

con 2-AG mejora la recuperación funcional de una lesión medular traumática experimental y que disminuye el volumen de lesión (Arévalo-Martín y *cols.*, 2008). Por tanto, el sistema endocannabinoide podría ser una herramienta terapéutica para inhibir el daño secundario tras una lesión medular traumática.

El otro tipo de actuaciones terapéuticas que se pueden ejercer en una lesión medular son las orientadas no a proteger el tejido del daño secundario sino a promover la reparación tisular. De las posibles estrategias reparadoras, una de las más factibles puede ser la recuperación de la envuelta de mielina en los tractos axonales preservados que no son funcionales por estar desmielinizados tras una lesión medular. Este proceso podría llevarse a cabo desde precursores de oligodendrocitos locales que se diferencien hacia oligodendrocitos maduros y desde células madre/precursores neurales que retomen el programa de desarrollo pre y postnatal y se diferencien en precursores de oligodendrocitos. Ambos tipos celulares expresan receptores cannabinoides CB1 y CB2 (Molina-Holgado y *cols.*, 2002; Aguado y *cols.*, 2005; Molina-Holgado y *cols.*, 2007) y el sistema endocannabinoide podría estar implicado en el programa de desarrollo que va desde la especificación de la células madre/precursores neurales a precursores de oligodendrocitos (Arévalo-Martín y *cols.*, 2007), a la supervivencia de estas células en condiciones desfavorables (Molina-Holgado y *cols.*, 2002) y a la maduración de estas células hacia oligodendrocitos mielinizantes (Gómez y *cols.*, 2008). Además, el sistema endocannabinoide potencia la proliferación de las células madre/precursores neurales (Aguado y *cols.*, 2005; Molina-Holgado y *cols.*, 2007), lo que es fundamental para amplificar el número de precursores de oligodendrocitos que puedan responder a la lesión.

Por tanto, y a modo de resumen, la modulación del sistema endocannabinoide se presenta como una potencial herramienta terapéutica tanto para la inhibición del daño secundario como para la reparación tisular en la lesión medular traumática.

## Bibliografía

Aguado T, Monory K, Palazuelos J, Stella N, Cravatt B, Lutz B y *cols* (2005). The endocannabinoid system drives neural progenitor proliferation. *FASEB J*; **19**:1704-1706.



- Arevalo-Martin A, Vela JM, Molina-Holgado E, Borrell J y Guaza C (2003). Therapeutic action of cannabinoids in a murine model of multiple sclerosis. *J Neurosci*; **23**:2511-2516.
- Arevalo-Martin A, Garcia-Ovejero D, Rubio-Araiz A, Gomez O, Molina-Holgado F y cols (2007). Cannabinoids modulate Olig2 and polysialylated neural cell adhesion molecule expression in the subventricular zone of post-natal rats through cannabinoid receptor 1 and cannabinoid receptor 2. *Eur J Neurosci*; **26**:1548-1559.
- Arevalo-Martin A., Garcia-Ovejero D, Hagen C y Molina-Holgado E (2008). Early 2-arachidonoylglycerol treatment improves recovery after incomplete spinal cord injury in rats. 6th FENS FORUM of European Neuroscience. Geneva (Switzerland), 12-16 July, 2008.
- Bilsland LG, Dick JR, Pryce G, Petrosino S, Di Marzo V, Baker D y cols (2006). Increasing cannabinoid levels by pharmacological and genetic manipulation delay disease progression in SOD1 mice. *FASEB J*; **20**:1003-5.
- Bramlett HM y Dietrich WD (2007). Progressive damage after brain and spinal cord injury: pathomechanisms and treatment strategies. *Progress in Brain Research*; **161**:125-141
- Clarke RW, Harris J, Jenkins S y Witton SK (2001). Cannabinoidergic and opioidergic inhibition of spinal reflexes in the decerebrated, spinalized rabbit. *Neuropharmacology*; **40**:570-7.
- Consroe P, Musty R, Rein J, Tillery W y Pertwee R (1997). The perceived effects of smoked cannabis on patients with multiple sclerosis. *Eur Neurol*; **38**:44-48.
- Docagne F, Muñetón V, Clemente D, Ali C, Loría F, Correa F y cols (2007). Excitotoxicity in a chronic model of multiple sclerosis: Neuroprotective effects of cannabinoids through CB1 and CB2 receptor activation. *Mol Cell Neurosci*; **34**:551-561.
- El Manira A, Kyriakatos A, Nanou E y Mahmood R (2008). Endocannabinoid signaling in the spinal locomotor circuitry. *Brain Res Rev*; **57**:29-36.
- Farquhar-Smith WP, Egertova M, Bradbury EJ, McMahan SB, Rice AS y Elphick MR (2000). Cannabinoid CB(1) receptor expression in rat spinal cord. *Mol Cell Neurosci*; **15**:510-21.
- Fernández-López D, Martínez-Orgado J, Nuñez E, Romero J, Lorenzo P, Moro MA y cols (2006). Characterization of the neuroprotective effect of the cannabinoid agonist WIN-55212 in an in vitro model of hypoxic-ischemic brain damage in newborn rats. *Pediatr Res*; **60**:169-173.
- García-Ovejero D, Arevalo-Martin A, Petrosino S, Docagne F, Hagen C, Bisogno T y cols (2009). The endocannabinoid system is

- modulated in response to spinal cord injury in rats. *Neurobiol Dis*; **33**:57-71
- Gilbert PE (1981). A comparison of THC, nantradol, nabilone, and morphine in the chronic spinal dog. *J Clin Pharmacol*; **21**(8-9 Suppl):311S-319S.
- Glass M, Dragunow M y Faull RL (1997). Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience*; **77**:299-318.
- Gómez O, Arévalo-Martín A, García-Ovejero D, Navarro B, Molina-Holgado F, Molina-Holgado E y cols (2008). The endogenous cannabinoid system is involved in the differentiation of oligodendrocyte progenitors. 6th *FENS FORUM of European Neuroscience*. Geneva (Switzerland), 12-16 July, 2008.
- Gough AL y Olley JE (1977). Delta9-Tetrahydrocannabinol and the extrapyramidal system. *Psychopharmacology (Berl)*; **54**:87-99.
- Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR y Rice KC (1991). Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci*; **11**:563-83.
- Hohmann AG, Tsou K y Walker JM (1998). Cannabinoid modulation of wide dynamic range neurons in the lumbar dorsal horn of the rat by spinally administered WIN55,212-2. *Neurosci Lett*; **257**:119-22.
- Li X, Kaminsky NE y Fischer LJ (2001). Examination of the immunosuppressive effect of delta-9-tetrahydrocannabinol in streptozotocin-induced autoimmune diabetes. *Int Immunopharmacol*; **1**:699-712.
- Lichtman AH y Martin BR (1991). Spinal and supraspinal components of cannabinoid-induced antinociception. *J Pharmacol Exp Ther*; **258**:517-23.
- Malfait AM, Gallily AR, Sumariwalla PF, Malik AS, Andreakos E, Mechoulam R y cols (2002). The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritis therapeutic in murine collagen-induced arthritis. *Proc Natl Acad Sci USA*; **97**:9561-9566
- Maurer M, Henn V, Dittrich A y Hofmann A (1990). Delta-9-tetrahydrocannabinol shows antispastic and analgesic effects in a single case double-blind trial. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*; **240**:1-4.
- Mestre L, Correa F, Arevalo-Martín A, Molina-Holgado E, Valenti M, Ortas G y cols (2005). Pharmacological modulation of the endocannabinoid system in a viral model of multiple sclerosis. *J Neurochem*; **92**:1327-39.

- Molina-Holgado E, Vela JM, Arevalo-Martin A, Almazan G, Molina-Holgado F y cols (2002). Cannabinoids promote oligodendrocyte progenitor survival: involvement of cannabinoid receptors and phosphatidylinositol-3 kinase/Akt signaling. *J Neurosci*; **22**:9742-9753.
- Molina-Holgado F, Pinteaux E, Heenan L, Moore JD, Rothwell NJ y Gibson RM (2005). Neuroprotective effects of the synthetic cannabinoid HU-210 in primary cortical neurons are mediated by phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling. *Mol Cell Neurosci*; **28**:189-194.
- Molina-Holgado F, Rubio-Araiz A, Garcia-Ovejero D, Williams RJ, Moore JD, Arevalo-Martin A y cols (2007). CB2 cannabinoid receptors promote mouse neural stem cell proliferation. *Eur J Neurosci*; **25**:629-634.
- Nagayama T, Sinor AD, Simon RP, Chen J, Graham SH, Jin K y cols (1999). Cannabinoids and neuroprotection in global and focal cerebral ischemia and in neuronal cultures. *J Neurosci*; **19**:2987-2995.
- Ong WY y Mackie K. (1999). A light and electron microscopic study of the CB1 cannabinoid receptor in the primate spinal cord. *J Neurocytol*; **28**:39-45.
- Panikashvili D, Shein NA, Mechoulam R, Trembovler V, Kohen R, Alexandrovich A y cols (2006). The endocannabinoid 2-AG protects the blood-brain barrier after closed head injury and inhibits mRNA expression of proinflammatory cytokines. *Neurobiol Dis*; **22**:257-264.
- Panikashvili D, Simeonidou C, Ben-Shabat S, Hanus L, Breuer A, Mechoulam R y cols (2001). An endogenous cannabinoid (2-AG) is neuroprotective after brain injury. *Nature*; **413**:527-531.
- Petro DJ y Ellenberger C Jr (1981). Treatment of human spasticity with delta 9-tetrahydrocannabinol. *J Clin Pharmacol*; **21**(8-9 Suppl):413S-416S.
- Petrosino S, Palazzo E, de Novellis V, Bisogno T, Rossi F, Maione S y cols (2007). Changes in spinal and supraspinal endocannabinoid levels in neuropathic rats. *Neuropharmacology*; **52**:415-22.
- Pryce G y Baker D (2005). Emerging properties of cannabinoid medicines in management of multiple sclerosis. *Trends Neurosci*; **28**:272-276.
- Richardson JD, Aanonsen L y Hargreaves KM (1998). Hypoactivity of the spinal cannabinoid system results in NMDA-dependent hyperalgesia. *J Neurosci*; **18**:451-7.
- Rog DJ, Nurmikko TJ, Friede T y Young CA (2005). Randomized, controlled trial of cannabis-based medicine in central pain in multiple sclerosis. *Neurology*; **65**:812-9.

- Romero-Sandoval A, Nutile-McMenemy N y DeLeo JA (2008). Spinal microglial and perivascular cell cannabinoid receptor type 2 activation reduces behavioral hypersensitivity without tolerance after peripheral nerve injury. *Anesthesiology*; **108**:722-34.
- Salio C, Fischer J, Franzoni MF y Conrath M (2002a). Pre- and postsynaptic localizations of the CB1 cannabinoid receptor in the dorsal horn of the rat spinal cord. *Neuroscience*; **110**:755-64.
- Salio C, Doly S, Fischer J, Franzoni MF y Conrath M (2002b). Neuronal and astrocytic localization of the cannabinoid receptor-1 in the dorsal horn of the rat spinal cord. *Neurosci Lett*; **329**:13-6.
- Shoemaker JL, Seely KA, Reed RL, Crow JP y Prather PL (2007). The CB2 cannabinoid agonist AM-1241 prolongs survival in a transgenic mouse model of amyotrophic lateral sclerosis when initiated at symptom onset. *J Neurochem*; **10**:87-98.
- Tramposch A, Sangdee C, Franz DN, Karler R y Turkanis SA (1981). Cannabinoid-induced enhancement and depression of cat monosynaptic reflexes. *Neuropharmacology*; **20**:617-21.
- Tsou K, Brown S, Sanudo-Pena MC, Mackie K y Walker JM (1998). Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience*; **83**:393-411.
- Wade DT, Makela PM, House H, Bateman C y Robson P (2006). Long-term use of a cannabis-based medicine in the treatment of spasticity and other symptoms in multiple sclerosis. *Mult Scler*; **12**: 639-645.
- Wissel J, Haydn T, Muller J, Brenneis C, Berger T, Poewe W y cols (2006). Low dose treatment with the synthetic cannabinoid Nabilone significantly reduces spasticity-related pain: a double-blind placebo-controlled cross-over trial. *J Neurol*; **253**:1337-1341.
- Wotherspoon G, Fox A, McIntyre P, Colley S, Bevan S y Winter J (2005). Peripheral nerve injury induces cannabinoid receptor 2 protein expression in rat sensory neurons. *Neuroscience*; **135**:235-45.
- Yiangou Y, Facer P, Durrenberger P, Chessell IP, Naylor A, Bountra C y cols (2006). COX-2, CB2 and P2X7-immunoreactivities are increased in activated microglial cells/macrophages of multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis spinal cord. *BMC Neurol*; **6**:12.
- Zajicek JP, Sanders HP, Wright DE, Vickery PJ, Ingram WM, Reilly SM y cols (2005). Cannabinoids in multiple sclerosis (CAMS) study: safety and efficacy data for 12 months follow up. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*; **76**:1664-9.

- Zajicek J, Fox P, Sanders H, Wright D, Vickery J, Nunn A, Thompson A y UK MS Research Group (2003). Cannabinoids for treatment of spasticity and other symptoms related to multiple sclerosis (CAMS study): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet*; **362**:1517-26.
- Zhang J, Hoffert C, Vu HK, Groblewski T, Ahmad S y O'Donnell D (2003). Induction of CB2 receptor expression in the rat spinal cord of neuropathic but not inflammatory chronic pain models. *Eur J Neurosci*; **17**:2750-4.



# Potencial antiemético de los cannabinoides

---

# 10

*M. Duran y D. Capellà*

## 10.1. Introducción

Las náuseas y los vómitos (NyV) son síntomas de diversas enfermedades gastrointestinales, metabólicas y nerviosas, así como reacciones adversas de muchos fármacos. También son frecuentes durante la primera mitad de la gestación, en caso de mareo y tras una intervención quirúrgica. Cuando el riesgo es elevado, por ejemplo en caso de quimioterapia antineoplásica (QT), puede estar indicada la profilaxis con antieméticos (Hesketh, 2008).

De toda la información clínica disponible sobre el posible uso terapéutico de los cannabinoides, la más contrastada es la relativa a su eficacia en el tratamiento de las NyV secundarios a la QT (Slatkin, 2007). De hecho tanto el  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol [THC o dronabinol (Marinol<sup>®</sup>)] como su análogo estructural (nabilona) tienen esta indicación aprobada en algunos países. La nabilona (Cesamet<sup>®</sup>, Nabilone<sup>®</sup>) se aprobó en España en junio de 2001 para el tratamiento de las NyV inducidos por la QT antineoplásica que no responden al tratamiento habitual. Se puede solicitar bajo el estatus administrativo de “medicación extranjera” a través de los servicios de farmacia de los hospitales.

En este capítulo se revisa el mecanismo de acción antiemético de los cannabinoides, las pruebas clínicas disponibles y su potencial terapéutico en esta indicación.

## 10.2. Fisiopatología de las náuseas y vómitos secundarios a la quimioterapia

Tanto la náusea como el vómito se pueden desencadenar por estímulos sobre el tubo digestivo, tronco cerebral o siste-

ma nervioso central (SNC). Sin embargo se producen por mecanismos distintos y se consideran dos entidades clínicas independientes (Hesketh, 2008).

El mecanismo fisiopatológico del vómito es mejor conocido que el de la náusea que es un síntoma subjetivo de difícil medición. El reflejo del vómito está regulado por dos centros bulbares funcionalmente distintos: el centro del vómito, situado en la formación reticular lateral, y la zona gatillo quimiorreceptora, localizada en el área postrema del suelo del IV ventrículo. El centro del vómito, que por sí mismo no es sensible a los fármacos, integra los estímulos procedentes del tubo digestivo, centros corticales, sistema vestibular laberíntico, núcleo del tracto solitario y de la zona gatillo quimiorreceptora, y desencadena el reflejo del vómito. Diversas sustancias endógenas (serotonina, dopamina, acetilcolina) y fármacos (opiáceos, cisplatino) que acceden fácilmente al área postrema pueden activar la zona gatillo quimiorreceptora (Hesketh, 2008).

### **10.3. Mecanismo de acción antiemético de los cannabinoides**

El mecanismo antiemético exacto de los cannabinoides se desconoce. Se han propuesto diversos mecanismos, algunos por acción sobre los receptores cannabinoides y otros no. En estudios de experimentación animal se ha visto que algunos cannabinoides pueden inhibir el vómito mediante su unión a los receptores CB1 del núcleo del tracto solitario (Van Sickle y *cols.*, 2001). Otros estudios muestran que los agonistas cannabinoides pueden inhibir la activación del receptor de serotonina (5-HT<sub>3</sub>) en neuronas ganglionares de la rata (Fan, 1995). Estos resultados sugieren que, aparte del mecanismo mediado por los receptores, la inhibición de la transmisión serotoninérgica contribuiría al efecto antiemético de los cannabinoides. En un estudio experimental en 13 voluntarios sanos a los cuales se les administró jarabe de ipecacuana, el cannabis inhalado con 8,4 y 16,9 mg de THC mostró un efecto antinauseoso importante y un efecto antiemético moderado, ambos superiores a placebo pero no a 8 mg de un antiemético inhibidor 5-HT<sub>3</sub>, el ondansetrón (Soderpalm y *cols.*, 2001). Más recientemente se ha descrito que el sistema endocannabinoide inhibiría la emisión de forma fisiológica mediante activación acoplada de recep-



tores CB1 y CB2, localizados en la zona de emplazamiento de la integración de los reflejos eméticos (núcleo del tracto solitario, área postrema y núcleo motor dorsal del vago). Esta activación también se produciría en el caso de administración exógena de cannabinoides (Van Sickle y cols., 2005).

Por otro lado, el cannabidiol (CBD), que tiene poca afinidad por los receptores cannabinoides, ha mostrado efecto antinauseoso en modelos experimentales de náusea en animales (Parker y cols., 2004; Parker y cols., 2003). Estos estudios sugieren que el efecto antinauseoso y antiemético del cannabis estaría producido por mecanismos y cannabinoides de la planta diferentes y podría explicar porqué algunos pacientes refieren que la combinación de cannabinoides naturales les reduce mejor las náuseas que el dronabinol o la nabilona por vía oral aunque no disponemos de estudios rigurosos que lo confirmen (Musty y cols., 2001). En base a estos argumentos la investigación clínica actual tiende a basarse en extractos de cannabis con un contenido conocido y estandarizado de principios activos que contienen tanto THC como CBD (Duran y cols., 2004; Scrip 2003) así como en el desarrollo de nuevas vías de administración como la sublingual, transdérmica, inhalada en aerosol o rectal para mejorar la baja biodisponibilidad de los cannabinoides comercializados que son de administración por vía oral (nabilona y dronabinol) (Grotenhermen, 2003).

Sativex<sup>®</sup> es el primer extracto de la planta *Cannabis sativa* con un contenido estandarizado de principios activos que está en fase de desarrollo clínico. Se administra en forma de spray sublingual y contiene THC y CBD en proporciones 1:1 y 5% de otros cannabinoides. Se ha evaluado como analgésico, antiemético en el tratamiento sintomático de la esclerosis múltiple y antiemético con resultados preliminares de eficacia y seguridad positivos (Notcutt y cols., 2005; Rog y cols., 2005; Wade y cols., 2003; Duran y cols., 2008) y está aprobado en Canadá para el tratamiento del dolor neuropático en pacientes con esclerosis múltiple. Actualmente se puede obtener en España su uso compasivo para las indicaciones evaluadas. Este compuesto tiene ventajas farmacocinéticas respecto a los cannabinoides de administración por vía oral que sufren un importante fenómeno de primer paso hepático y mayores posibilidades de inducir efectos psicoactivos (por mayor formación del metabolito 11-OH-THC) (Abanades y cols., 2005).

## 10.4. Eficacia antiemética de los cannabinoides

### 10.4.1. Náuseas y vómitos secundarios a quimioterapia antineoplásica

Las NyV son efectos indeseados frecuentes del tratamiento citostático. Se estima que un 75% de los pacientes sin tratamiento antiemético presentan síntomas (Hesketh, 2008). Ambos síntomas disminuyen la calidad de vida, pero es la náusea el efecto indeseado que los pacientes oncológicos refieren como más estresante. (Hesketh, 2008; Bloechl-Daum y cols., 2006) Según el momento de aparición, las NyV inducidos por la QT se clasifican en agudos (las primeras 24 h tras la administración del tratamiento), tardíos (a partir de las 24 h) o anticipatorios o condicionados (antes de la administración del tratamiento) (Hesketh, 2008).

Las guías de tratamiento antiemético publicadas por la Sociedad Americana de Oncología (ASCO) recomiendan triple terapia con antagonistas del receptor 5-HT<sub>3</sub>, inhibidores de la neurokinina-1 (NK<sub>1</sub>) y corticoides para prevenir las NyV agudos en pacientes que reciben QT de alto riesgo emetógeno; corticoides más antagonistas 5-HT<sub>3</sub> en las NyV agudos en pacientes de riesgo moderado y no recomiendan tratamiento en los de bajo riesgo. En las NyV tardíos se recomiendan metoclopramida o antagonistas 5-HT<sub>3</sub> más corticoides y en las NyV anticipatorios terapia conductual y benzodiacepinas (Kris y cols., 2006).

En ensayos clínicos en pacientes tratados con quimioterapia de alto riesgo emetógeno, la triple terapia con inhibidores NK-1, antagonistas 5-HT<sub>3</sub> y corticoides ha mostrado una eficacia del 90% en el tratamiento de los vomitos agudos (Kris y cols., 2006). No obstante la eficacia de estos tratamientos antieméticos en la prevención de las náuseas y las NyV tardíos es más limitada y sólo alrededor del 50% de los pacientes incluidos en los ensayos clínicos experimentan una mejoría (Molassiotis y cols., 2008; Kris, 2003; Fabi y cols., 2003; Hickok y cols., 2003). La información disponible sobre su efectividad, aunque es escasa, sugiere que la insatisfacción sería superior en la práctica clínica habitual, sobre todo en mujeres jóvenes con cáncer de mama que reciben quimioterapia moderadamente emetógena (Slatkin, 2007; Molassiotis y cols., 2008). De hecho, se conoce que este grupo de pacientes buscan alternativas te-

rapéuticas como el cannabis para paliar sus síntomas (Duran y cols., 2005).

La eficacia antiemética de los cannabinoides se basa en los resultados de series de pacientes, (Musty y cols., 2001; Vicengueira y cols., 1988; Duran y cols., 2007) de dos pequeños ensayos clínicos con marihuana fumada (Levitt y cols., 1984; Chang y cols., 1979) y de una revisión de 30 ensayos clínicos con nabilona y dronabinol (Tramèr y cols., 2001).

### *Series de pacientes*

En la década de los ochenta se publicaron los resultados de diversas series de pacientes oncológicos con NyV secundarios a la QT antineoplásica tratados con marihuana fumada cedida por el *National Institute of Drug Abuse* (NIDA) de Estados Unidos. Un 70 a 90% de los pacientes refirieron mejoría con marihuana fumada y THC por vía oral (Musty y cols., 2001). No obstante, la mayoría prefirieron la marihuana al THC por vía oral. En otra serie, Vicengueira y cols. encontraron que de los 74 pacientes tratados, 18 (24%) abandonaron el tratamiento. De los 56 restantes un 60% encontraron que el tratamiento era muy o moderadamente efectivo (Vicengueira y cols., 1988).

Recientemente se han publicado los resultados de un estudio cuyo promotor es el *Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya*. Se trata de un estudio descriptivo de seguimiento de 33 pacientes oncológicos con NyV que recibieron uso compasivo de Sativex<sup>®</sup> añadido a su tratamiento antiemético habitual. Una tercera parte de los pacientes con náuseas en el ciclo de QT previo a la entrada del estudio no las tuvieron en los ciclos sucesivos de tratamiento y todos los pacientes que persistieron con náuseas manifestaron una disminución de su duración e intensidad al final del tratamiento. Un 21,7% de los pacientes no presentaron vómitos en los ciclos sucesivos de tratamiento y al resto les disminuyó la duración y la intensidad media de éstos al final del tratamiento. A pesar de que un 87% de pacientes notificó algún efecto indeseado, éstos fueron leves (sequedad de boca, somnolencia, mareo, alteración del gusto) y bien tolerados (Duran y cols., 2007). En base a estos resultados actualmente se puede solicitar en nuestro país el uso compasivo de este fármaco para esta indicación.

### *Ensayos Clínicos*

También en la década de los ochenta se publicaron dos ensayos clínicos con marihuana fumada (Levitt y cols., 1984; Chang y cols., 1979). En uno de ellos (cruzado, a doble ciego y controlado con placebo) la marihuana fumada administrada cada 4 h durante las primeras 24 h posteriores a la QT mostró una eficacia antiemética (medida según la preferencia de los pacientes) superior a la de placebo y similar a la de THC administrado por vía oral en 20 pacientes con náuseas y vómitos secundarios al tratamiento citostático. Los efectos indeseados fueron leves, aunque 7 pacientes presentaron alteraciones de la percepción (Levitt y cols., 1984). En otro ensayo clínico cruzado doble ciego y comparado con placebo en 15 pacientes resistentes a dronabinol, los cigarrillos de marihuana con un contenido de 17,4 mg de THC inhalado cada 3 o 4 h durante los tres días posteriores a la QT mostraron una eficacia antiemética (reducción de la frecuencia y la intensidad de las NyV y del volumen del vómito) superior a la de placebo. En el grupo que recibió tratamiento activo la eficacia se correlacionó con los niveles plasmáticos de THC. Un 44% y un 6% de los pacientes presentaron NyV cuando los niveles plasmáticos de THC fueron de <5 ng/ml o >10 ng/ml respectivamente comparado con un 72% en el grupo placebo. Los niveles plasmáticos alcanzados por vía oral fueron más variables que los alcanzados por vía inhalada. No obstante, la mayoría de pacientes incluidos en el estudio eran jóvenes y con experiencia de uso previo de cannabis (Chang y cols., 1979).

Estos estudios presentan algunas limitaciones metodológicas que dificultan sacar conclusiones. Sin embargo, los resultados sugieren que la marihuana fumada produciría una mejoría subjetiva superior a la de placebo y similar a la de THC por vía oral.

Los resultados de un metanálisis de 30 ensayos clínicos publicados durante la misma década en un total de 1.366 pacientes muestran que en el subgrupo que recibió QT moderadamente emetógena la nabilona y el dronabinol tienen una eficacia superior a la de placebo y a la de otros antieméticos, como la proclorperacina o la metoclopramida, sobre todo en el control de la náuseas (Tramèr y cols., 2001).

En la mayoría de los ensayos clínicos incluidos en la revisión de Tramèr y cols. se registraron más efectos indeseados en los pacientes que recibieron dronabinol o nabilona que en los de los grupos control, siendo los más frecuentes somnolencia, sequedad de boca, vértigo, alteraciones visuales y disforia. A pesar de ello, en los ensayos clínicos cruzados los pacientes manifestaron preferencia por los cannabinoides para ciclos posteriores de quimioterapia. Los autores sugieren que determinados efectos indeseados como la sedación y la euforia, podrían considerarse más bien como potencialmente beneficiosos en el contexto, habitualmente angustioso, del paciente oncológico. Sin embargo, otros efectos indeseados más molestos, como el vértigo, la disforia, la depresión, las alucinaciones, la paranoia y la hipotensión, también fueron más frecuentes en el grupo tratado con cannabinoides, aunque menos frecuentes que los anteriormente comentados (Tramèr y cols., 2001).

Hasta hace poco no había estudios sobre la eficacia de los cannabinoides añadidos al tratamiento antiemético de referencia actual. Recientemente se ha publicado un ensayo clínico con 64 pacientes, en el cual el THC administrado por vía oral mostró una eficacia superior a placebo y similar a ondansetron en el control de las NyV agudos en pacientes que recibieron quimioterapia moderada y altamente emetógena (Meiri y cols., 2007). En otro ensayo clínico piloto realizado en nuestro país con 16 pacientes, multicéntrico, con asignación aleatoria, de grupos paralelos, doble ciego y controlado con placebo el Sativex<sup>®</sup> añadido al tratamiento de referencia para la prevención de las NyV tardíos producidos por la QT moderadamente emetógena mostró una eficacia superior al placebo. Un 71% (5/7) de los pacientes en el grupo Sativex<sup>®</sup> y un 22% (2/9) en el grupo placebo presentaron una respuesta completa en el control de las NyV tardíos. El porcentaje de efectos adversos fue superior en el grupo tratado con Sativex<sup>®</sup> (88% vs 67%). Sin embargo, éstos fueron leves y bien tolerados siendo los más frecuentes (sequedad de boca, somnolencia, mareo y alteración del gusto (Duran y cols., 2008).

#### 10.4.2. Náuseas y Vómitos en pacientes con SIDA

Las NyV son efectos indeseados frecuentes del tratamiento antirretroviral en los pacientes con SIDA. Además estos pa-

cientes pueden presentar infecciones gastrointestinales intercurrentes en estadios avanzados de la enfermedad que también se acompañan de NyV (Fellay y *cols.*, 2001).

La segunda indicación aprobada del dronabinol es su uso como estimulante del apetito en el síndrome caquético del SIDA. En los ensayos clínicos en los cuales se ha evaluado la eficacia de los cannabinoides como orexígenos, los pacientes han referido a su vez un alivio de las náuseas (Beal y *cols.*, 1995). También se han publicado casos anecdóticos de pacientes con SIDA en fase terminal que refieren mejoría de las náuseas secundarias a infecciones gastrointestinales que no respondían a otros antieméticos (Green y *cols.*, 1989; Fynn y *cols.*, 1992). Por otro lado, en un estudio piloto abierto (no controlado con placebo) con 27 pacientes con SIDA que recibían tratamiento antirretroviral, las náuseas se redujeron a la mitad en 23 de los 27 pacientes (IACM Bull 2000).

Desgraciadamente hay pocos estudios controlados que hayan conseguido documentar de modo objetivo los beneficios de los cannabinoides como antieméticos en los pacientes con sida, aunque al parecer el uso de cannabis por vía inhalada está bastante extendido entre ellos (Iversen, 2001). De hecho los pacientes con SIDA se podrían beneficiar de diversos efectos farmacológicos de los cannabinoides como son el orexígeno, analgésico, antiemético y sedante. Por otro lado, no queda claro si los efectos inmunosupresores del uso crónico de cannabinoides podrían limitar su uso en este grupo de pacientes. Sin embargo, en un ensayo clínico comparado con placebo en el cual se evaluó el efecto orexígeno de cannabis inhalado y dronabinol en pacientes con SIDA tratados con inhibidores de la proteasa, no se observó alteración de la carga viral en el grupo tratado con cannabinoides (Abrams y *cols.*, 2003).

## 10.5. Conclusiones

Aunque se han logrado grandes avances en el tratamiento de las NyV del paciente oncológico con la introducción de los antagonistas 5-HT<sub>3</sub> y más recientemente los inhibidores de NK-1, una proporción considerable de pacientes siguen presentando síntomas, sobre todo náuseas, a pesar de estos tratamientos. La información disponible sobre su efectividad, aun-

que es escasa, sugiere que la insatisfacción sería superior en la práctica clínica habitual, sobre todo en mujeres jóvenes con cáncer de mama que reciben quimioterapia moderadamente emetógena. En esta población es conocido el no despreciable fenómeno de automedicación con derivados del cannabis. No obstante, la información sobre la eficacia de los cannabinoides en esta indicación es de calidad limitada y se basa principalmente en un metaanálisis de 30 ensayos clínicos realizados mayoritariamente en la década de los ochenta. Sin embargo, existen razones para pensar que el potencial terapéutico de los cannabinoides ha sido infravalorado. En primer lugar, han aparecido nuevos estudios en el control de las NyV tardíos donde la administración de THC por vía oral ha mostrado una eficacia superior a placebo y similar a ondansetron más dexametasona. En segundo lugar, la mayoría de los estudios clínicos han sido realizados únicamente con THC y nabilona y exclusivamente por vía oral, lo que conlleva al menos tres desventajas; errática biodisponibilidad intra e inter-individual; un importante fenómeno de primer paso hepático (gran parte del THC se degrada previo paso a la circulación general); y mayores posibilidades de inducir efectos psicoactivos (por mayor formación del metabolito 11-OH-THC). En tercer lugar, el cannabidiol (CBD), ha mostrado eficacia antinauseosa en modelos experimentales de náusea en animales y la administración simultánea de THC y CBD añadida al tratamiento antiemético habitual ha mostrado resultados preliminares positivos y ha sido bien tolerado en un ensayo clínico piloto reciente con 16 pacientes. Estos resultados junto a los de un estudio prospectivo de pacientes que han recibido uso compasivo de THC y CBD añadido al antiemético habitual sugieren que los cannabinoides mejoran las NyV y pueden ofrecer algún beneficio sobre todo como antinauseosos, en pacientes oncológicos. Los efectos indeseados, sobre todo de los cannabinoides por vía oral, podrían limitar su uso pero en el contexto del paciente oncológico se debe valorar la relación beneficio riesgo de una manera individualizada y relativizar algunos de los efectos adversos como la sedación y la somnolencia.

Son necesarios estudios con mayor número de pacientes que confirmen los resultados preliminares citados anteriormente, así como establecer qué dosis, vías de administración y características galénicas de los diferentes cannabinoides son

más adecuadas para prevenir las NyV inducidos por la quimioterapia en pacientes oncológicos. Entretanto su uso debe reservarse para aquellos pacientes que no responden a las alternativas terapéuticas disponibles.

En relación a los pacientes con SIDA, la posible existencia de un fármaco con efectos terapéuticos sobre distintos síntomas de la enfermedad podría suponer una mejor adherencia al tratamiento, sobre todo si se tiene en cuenta la polimedición en esta población. Sin embargo, no disponemos de pruebas clínicas rigurosas que confirmen estas hipótesis. Hacen falta ensayos clínicos que evalúen si los cannabinoides pueden ofrecer algún beneficio como antieméticos, antinauseosos, analgésicos y orexígenos en este grupo de pacientes. Estos estudios deberían incluir variables de calidad de vida y evaluar la posible toxicidad sobre el sistema inmune.

## Bibliografía

- Abanades S, Cabrero A, Fiz J Y Farré M (2005). Farmacología Clínica del Cannabis. *Dolor*; **20**: 87-98.
- Abrams D, Hilton J F, Leiser R J, Shade S B, Elbeik T A, Aweeka FT y cols (2003). Short-term effects of cannabinoids in patients with HIV-1 infection. A randomized, placebo-controlled clinical trial. *Ann Intern Med*; **139**:258-66.
- Anónimo (2000). El THC reduce las náuseas y los vómitos asociados a la quimioterapia del VIH. [en línea] [accedido el día 8 de septiembre 2008],1 (2). URL disponible en: [http://www.cannabis-med.org/spanish/download/IACM\\_Bull\\_es2000.txt](http://www.cannabis-med.org/spanish/download/IACM_Bull_es2000.txt)
- Anónimo (2003). GW Pharma looks for cannabis partner. *Scrip*. **281**:8.
- Beal JE, Olson R, laubenstein L, Morales JO, Bellman P, Yangco B y cols (1995). Dronabinol as treatment for anorexia associated with weight loss in patients with AIDS. *J J Pain Symptom Manage*; **10**:89-97.
- Bloechl-Daum B, Deuson RR, Mavros P, Hansen M y Herrstedt J (2006). Delayed nausea and vomiting continue to reduce patients' quality of life after highly and moderately emetogenic chemotherapy despite antiemetic treatment. *J Clin Oncol*; **24**:4472-78.
- Chang AE, Shiling DJ, Stillman C, Goldberg NH, Seipp CA, Barofsky I y cols (1979). Delta-9-tetrahydrocannabinol as antiemetic in cancer patients receiving high dose methotrexate. *Ann Intern Med*; **91**:819-24.



- Duran M, Laporte JR y Capellà D (2004). Novedades sobre las potencialidades terapéuticas del Cannabis y el sistema cannabinoide. *Med Clin (Barc)*; **122**:390-8.
- Duran M, de las Heras MJ, Sabaté M, Laporte JR y Capellà D (2005). Uso terapéutico del cannabis: resultados de una entrevista prospectiva en Cataluña. *Med Clin (Barc)*; **124**:78-9.
- Duran M, Rabanal M, Ballarín E, Pérez E, Puig, Rams N, Manzanera R y cols i grup d'estudi SEGUIVEX-EMESI (2007). Estudi pilot de seguiment dels pacients que reben Sativex® com a ús compassiu des de cinc centres hospitalaris de Barcelona per al tractament de les nausees i vòmits induïts per la quimioteràpia. [en línea] [accedido el día 5 de septiembre de 2008]; 166. URL disponible en: <http://www.gencat.cat/salut/depsalut/pdf/seguivexemeinf.pdf>
- Duran M , Pérez E , Abanades S, Vidal X, Saura C, Majem M y cols y grupo de estudio SATEME (2008). Ensayo clínico piloto, aleatorizado, doble ciego, de grupos paralelos, controlado con placebo, para evaluar la eficacia preliminar y seguridad de un extracto estandarizado de cannabis administrado por vía sublingual (Sativex) añadido al tratamiento de referencia para la prevención y tratamiento de las náuseas y los vómitos tardíos inducidos por la quimioterapia moderadamente emetógena. [en línea] [pendiente de publicación; 93. URL disponible a: <http://www.gencat.net>
- Fabi A, Barduagni M, Lauro S, Portalone L, Mauri M y Marinis F (2003). Is delayed chemotherapy-induced emesis well managed in oncological clinical practice? An observational study. *Support. Care Cancer*; **11**:156-61.
- Fan P (1995). Cannabinoid agonists inhibit the activation of 5-HT3 receptors in rat nodose ganglion neurons. *J Neurophysiol*; **73**:907-10.
- Fellay J, Boubaker K, Ledergerber B, Bernasconi E, Furrer H, Battegay M y cols (2001). Prevalence of adverse events associated with potent antiretroviral treatment, Swiss HIV Cohort Study. *Lancet*; **358**:1322-27.
- Fynn J y Hanif N (1992). Nabilone for the management of intractable nausea and vomiting in terminally stage AIDS. *J Palliat.Care*; **8**:46-47.
- Green ST, Nathwani D, Goldberg DJ y Kennedy DH (1989). Nabilone as effective therapy for intractable nausea and vomiting in AIDS. *Br. J Clin Pharmacol*; **28**:494-95.
- Grotenhermen F (2003). Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. *Clin Pharmacokinet*; **42**:327-60.
- Hesketh PJ (2008). Chemotherapy-induced nausea and vomiting N. *Engl J Med*; **358**:2482-94.

- Hickok JT, Roscoe JA, Morrow GR, King DV, Atkins JN y Fitch TR (2003). Nausea and emesis remain significant problems of chemotherapy despite prophylaxis with 5-hydroxytryptamine-3 antiemetics. *Cancer*; **97**:2880-6.
- Kris MG (2003). Why do we need another antiemetic? Just Ask. *J Clin Oncol*; **21**:4077-80.
- Kris MG, Hesketh PJ, Somerfield MR, Feyer P, Clark-Snow R, Koeller JM y cols (2006). American Society of Clinical Oncology Guideline for antiemetics in Oncology: Update 2006. *J Clin Oncol*; **24**:2932-47.
- Leslie L Iversen (2001). Marihuana. Conocimiento científico actual. 1ª ed Barcelona. Ariel, 196-97.
- Levitt M, Faiman C, Hawks R y Wilson A (1984). Randomized double blind comparison of delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) and marihuana as chemotherapy antiemetics. ASCO. *Abstracts*; **3**:91.
- Meiri E, Jhangiani H, Vredenburg JJ, Barbato LM, Carter FJ, Yang HM y cols (2007). Efficacy of dronabinol alone and in combination with ondansetron versus ondansetron alone for delayed chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Curr Med Res Opin*; **23**:533-43.
- Molassiotis A, Saunders MP, Valle J, Wilson G, Lorigan P, Wardley A y cols (2008). A prospective observational study of chemotherapy-related nausea and vomiting in routine practice in a UK cancer centre. *Support Care Cancer*; **16**:201-8.
- Musty RE y Rossi R (2001). Effects of smoked cannabis and oral  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol on nausea and emesis after cancer chemotherapy, A review of state clinical trials. *J CANT [en línea]* [fecha de acceso el día 5 de septiembre de 2008],1, 29 (109). URL. Disponible en, <http://www.cannabis-med.org/science-international/JCANT.btm>
- Notcutt W, Price M, Miller R, Newport S, Phillips C, Simmons S y cols (2004). Initial experiences with medicinal extracts of cannabis for chronic pain: results from 34 'N of 1' studies. *Anaesthesia*; **59**:440-52.
- Parker LA, Mechoulam R, Schlievert C, Abbott L, Fudge ML y Burton P (2003). Effects of cannabinoids on lithium-induced conditioned rejection reactions in a rat model of nausea. *Psychopharmacology*; **166**:156-62.
- Parker LA, Kwiatkowska M, Burton P y Mechoulam R (2004). Effect of cannabinoids on lithium-induced vomiting in the *Suncus murinus* (house musk shrew). *Psychopharmacology*; **171**:156-61.
- Rog D, Nurmikko TJ, Friede T y Young CA (2005). Randomized controlled trial of cannabis-based medicine in central pain in multiple sclerosis. *Neurology*; **65**:812-19.

- Slatkin NE (2007). Cannabinoids in the treatment of chemotherapy-induced nausea and vomiting: beyond prevention of acute emesis. *J Support Oncol*; 5 Suppl **35**:1-9.
- Soderpalm AH, Schuster A y de Wit H (2001). Antiemetic efficacy of smoked marijuana, subjective and behavioral effects on nausea induced by syrup of ipecac. *Pharmacol Biochem Behav*; **69**:343-50.
- Tramèr MR, Carroll D, Campbell FA, Reynolds DJ, Moore RA y McQuay HJ (2001). Cannabinoids for control of chemotherapy induced nausea and vomiting: quantitative systematic review. *BMJ*. **323**:16-21.
- Van Sickle DD, Oland LD, Ho W, Hillard CJ, Mackie K, Davison JS y cols (2001). Cannabinoids inhibit emesis through CB1 receptors in the brainstem of the ferret. *Gastroenterology*; **121**:767-74.
- Van Sickle DD, Duncan M, Kingsley PJ, Mouihate A, Urbani P, Mackie K y cols (2005). Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science*; **310**:329-32.
- Vicinguerra V, Moore T y Brennan E (1988). Inhalation marijuana as an antiemetic for cancer chemotherapy. *NY State Med*; **88**:525-27.
- Wade DT, Robson P, House H, Makela P y Aram J (2003). A preliminary controlled study to determine whether whole-plant cannabis extracts can improve intractable neurogenic symptoms. *Clin Rehabil*; **17**:21-29.



# Potencial antitumoral de los cannabinoides

---

# 11

G. Velasco, C. Sánchez y M. Guzmán

Los cannabinoides, componentes activos de la planta *Cannabis sativa* L. (marihuana), ejercen diversos efectos paliativos en pacientes de cáncer tales como la atenuación de las náuseas y los vómitos provocados por la quimioterapia, la estimulación del apetito y la disminución del dolor. Además de ello, los cannabinoides inhiben el crecimiento de células tumorales en animales de laboratorio mediante mecanismos tales como la inducción de la muerte celular por apoptosis y la inhibición de la vascularización tumoral (angiogénesis). Es de destacar que los cannabinoides parecen ser agentes antineoplásicos selectivos, ya que pueden matar células tumorales sin afectar significativamente a la viabilidad de las células normales. Con base en estos resultados preclínicos se ha llevado recientemente a cabo un estudio clínico piloto en el que se administró  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) a pacientes con glioblastoma multiforme recidivado. El adecuado perfil de seguridad del  $\Delta^9$ -THC observado, junto con su posible acción inhibidora del crecimiento de las células neoplásicas, puede sentar las bases para futuros ensayos clínicos dirigidos a evaluar la actividad antitumoral de los cannabinoides.

Los derivados de la planta *Cannabis sativa* L. (marihuana) se han utilizado durante muchos siglos con fines medicinales y recreativos. Sin embargo, la estructura química de sus componentes activos –los cannabinoides– no fue establecida hasta principios de los años sesenta. Aunque la farmacología de la mayor parte de los cannabinoides sigue siendo desconocida, se acepta mayoritariamente que el  $\Delta^9$ -THC es el más importante debido a su alta potencia y elevada abundancia en la planta. Hoy en día sabemos que el  $\Delta^9$ -THC ejerce una amplia y variada

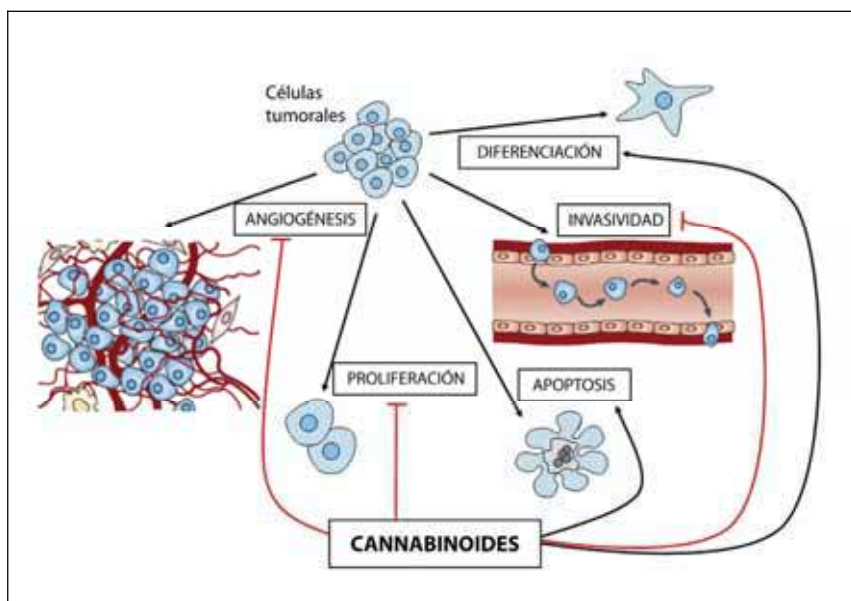
gama de efectos biológicos debido a que mimetiza la acción de unas moléculas endógenas –los endocannabinoides– que se unen y activan receptores específicos situados en la superficie celular, de los cuales hasta ahora dos –CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub>– han sido clonados y bien caracterizados molecular y funcionalmente (Howlett y cols., 2002; Pacher y cols., 2006).

Uno de los campos más activos de la investigación actual de los cannabinoides es el estudio de su potencial uso como agentes terapéuticos. Entre las posibles aplicaciones terapéuticas de los cannabinoides, se sabe desde principios de los años setenta que estos compuestos ejercen efectos sintomáticos en pacientes con cáncer (Guzmán, 2003; Hall y cols., 2005). El más conocido de ellos es la inhibición de las náuseas y los vómitos provocados por la quimioterapia. Actualmente están aprobadas en varios países cápsulas de  $\Delta^9$ -THC (Marinol®) y de su análogo sintético nabilona (Cesamet®) para dicha indicación. Otros posibles efectos sintomáticos de los cannabinoides en oncología –respaldados por ensayos clínicos en fase III– incluyen la estimulación del apetito y la inhibición del dolor (Guzmán, 2003; Hall y cols., 2005; Pacher y cols., 2006). En este sentido cabe destacar que el extracto de cannabis Sativex®, un aerosol oro-mucosal que contiene principalmente  $\Delta^9$ -THC y cannabidiol, ha sido recientemente aprobado en Canadá para la atenuación del dolor oncológico en pacientes refractarios al tratamiento con opioides.

Con base en experimentos realizados en sistemas de cultivos celulares y en modelos animales de cáncer, se ha propuesto también que los cannabinoides podrían ser utilizados como agentes antitumorales (Bifulco y Di Marzo, 2002; Guzmán, 2003; Velasco y cols., 2007). Las características antiproliferativas de los componentes del cannabis fueron observadas por primera vez hace ya más de 30 años, cuando se demostró que la administración oral de  $\Delta^9$ - a ratones inhibía el crecimiento de células de adenocarcinoma de pulmón (Munson y cols., 1975). Aunque estas observaciones eran prometedoras, no se volvieron a realizar estudios sobre el tema hasta finales de los años noventa (Bifulco y Di Marzo, 2002; Guzmán, 2003). Hoy en día se sabe que una amplia variedad de cannabinoides vegetales, sintéticos y endógenos ejerce efectos antiproliferativos sobre un gran número de células tumorales en cultivo. Es más, la administración de cannabinoides a ratones

frena el crecimiento de varios tipos de xenotransplantes de células tumorales, por ejemplo de glioma (Galve-Roperh y cols., 2000), epiteloma de tiroides (Bifulco y cols., 2001), linfoma (McKallip y cols., 2002) y melanoma (Blázquez y cols., 2006), así como de carcinoma de pulmón (Munson y cols., 1975), piel (Casanova y cols., 2003), páncreas (Carracedo y cols., 2006a) y mama (Ligresti y cols., 2006).

La mayor parte de las investigaciones de nuestro grupo sobre la acción antineoplásica de los cannabinoides se ha centrado en los gliomas, tumores cerebrales de origen glial que constituyen una de las formas de cáncer más agresivas. Los experimentos iniciales demostraron que la administración local, mediante inoculación intracraneal, de  $\Delta^9$ -THC y del agonista cannabinoide sintético WIN-55,212-2 reducía el crecimiento de células de glioma inoculadas en el cerebro de rata y concomitantemente aumentaba la supervivencia de estos animales (Galve-Roperh y cols., 2000). Se realizaron también estudios en ratones inmunodeficientes en los que se habían generado tumores mediante inyección subcutánea de células de glioma. La administración local de  $\Delta^9$ -THC, de WIN-55,212-2 o de JWH-133 (agonista selectivo del receptor cannabinoide CB<sub>2</sub>) disminuía el crecimiento de dichas células y, en consecuencia, de los correspondientes tumores (Galve-Roperh y cols., 2000; Sánchez y cols., 2001). Éstos y otros estudios posteriores han permitido dilucidar, mediante la utilización de diversas técnicas bioquímicas, farmacológicas y de biología molecular, que el efecto antitumoral de los cannabinoides está mediado, al menos en parte, por la activación de los receptores CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub> (Guzmán, 2003; Velasco y cols., 2007). Ello da lugar a su vez a varios eventos por los que se reduce la progresión tumoral, entre los que hasta ahora parecen destacar la muerte por apoptosis de las células tumorales (Galve-Roperh y cols., 2000; Carracedo y cols., 2006b) y la disminución de la vascularización (angiogénesis) de los tumores (Blázquez y cols., 2003, 2004, Portella y cols., 2003) (Fig. 11.1). Otros factores muy probablemente implicados en el bloqueo del crecimiento tumoral por cannabinoides incluyen la inhibición de la proliferación e invasividad de las células tumorales y la estimulación de la diferenciación de dichas células (Velasco y cols., 2007) (Fig. 11.1).

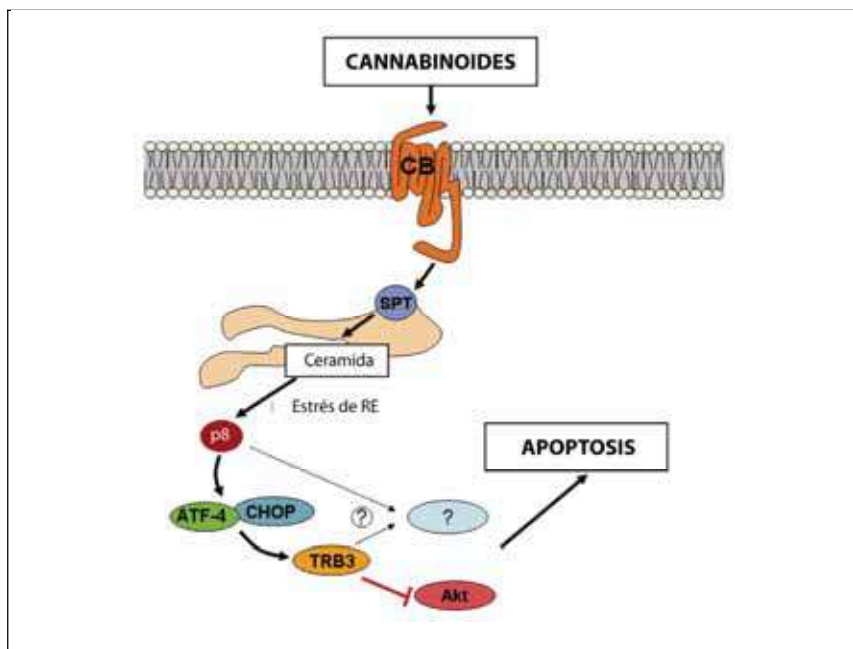


**Figura 11.1:** Posibles mecanismos del efecto antitumoral de los cannabinoides. Los cannabinoides parecen ejercer su acción antitumoral a través de diversos mecanismos, entre los que destacan la inducción de apoptosis de las células tumorales y la disminución de la angiogénesis tumoral, así como la inhibición de la proliferación e invasividad y la estimulación de la diferenciación de las células tumorales. Para más detalles ver Guzmán (2003) y Velasco y cols. (2007).

La inducción de los procesos antitumorales mencionados, y más en concreto el de la apoptosis, es posible gracias a la modulación que ejercen los receptores de cannabinoides sobre diversas rutas de señalización implicadas en el control de la proliferación y supervivencia celulares. Así, la acumulación de un mensajero proapoptótico como es el esfingolípido ceramida parece ser muy importante a la hora de disparar toda una cascada de eventos que incluyen la activación de la ruta de estrés de retículo endoplásmico y la inducción de los genes relacionados con esa respuesta, entre los que destacan el coactivador transcripcional p8 y la pseudoquinasa TRB3 (Guzmán, 2003; Velasco y cols., 2007). En la Fig. 11.2 se muestran más detalles de todo ello. Es de destacar además que los efectos antiproliferativos de los cannabinoides parecen ser selectivos de las células tumorales, ya que la supervi-



vencia de las correspondientes células “normales” no transformadas no se ve afectada (o incluso se ve favorecida) por la administración de estos compuestos (Guzmán, 2003). Ello respalda la idea de que los receptores cannabinoides regulan los mecanismos de supervivencia y muerte celulares de manera diferente en células tumorales y no tumorales.



**Figura 11.2:** Posible mecanismo por el que los cannabinoides inducen apoptosis en células de glioma. La activación de los receptores CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub> en la superficie de las células tumorales induce la generación del esfingolípido pro-apoptótico ceramida a través de la activación de la enzima serina palmitoiltransferasa (SPT) y, subsiguientemente, una respuesta de estrés de retículo endoplásmico (RE). La proteína de estrés p8 desempeña un papel fundamental en esta respuesta al controlar la expresión de los factores de transcripción ATF4 y CHOP, así como de la pseudoquinasa TRB3. Ello produce a su vez la inhibición de Akt (proteína quinasa implicada crucialmente en la supervivencia celular) y la activación de la vía mitocondrial de apoptosis. Es concebible que alguna vía independiente de Akt participe así mismo en la apoptosis inducida por cannabinoides. Para más detalles ver Guzmán (2003) y Velasco y cols. (2007).

Basándonos en los resultados de estos estudios preclínicos hemos llevado recientemente a cabo un ensayo clínico piloto en fase I con 9 pacientes con glioblastoma multiforme recidivado a los que se administró  $\Delta^9$ -THC directamente en el tumor (Guzmán y cols., 2003). En todos ellos había fallado previamente el tratamiento estándar (cirugía y radioterapia) y la neoplasia mostraba clara evidencia de progresión. El objetivo primario del estudio fue determinar la seguridad de la administración intracraneal de  $\Delta^9$ -THC. También evaluamos la acción del mismo sobre la supervivencia de los pacientes, el crecimiento de los tumores y diversos parámetros de las células tumorales. Se estableció un protocolo de dosis escalonada para el  $\Delta^9$ -THC. La administración del cannabinoide resultó aparentemente segura (no se observaron alteraciones significativas atribuibles al  $\Delta^9$ -THC en ninguno de los pacientes en lo que respecta a parámetros físicos, neurológicos, bioquímicos y hematológicos) y las dosis máximas se pudieron alcanzar sin provocar efectos psicoactivos llamativos. La supervivencia mediana de la cohorte tras la administración del cannabinoide fue de 24 semanas (95% CI: 15-33 semanas). En 2 pacientes se pudo constatar tras la administración de  $\Delta^9$ -THC una disminución de la proliferación de las células neoplásicas (determinado por inmunanálisis de Ki67, marcador de proliferación celular; Guzmán y cols., 2006) y un aumento en la apoptosis de las mismas (determinado por inmunanálisis de caspasa 3 activa, marcador de apoptosis; Carracedo y cols., 2006b). El perfil de seguridad del  $\Delta^9$ -THC observado en este estudio, junto con su posible acción antiproliferativa sobre las células tumorales, puede fijar una base para futuros ensayos clínicos dirigidos a evaluar la posible actividad antineoplásica de los cannabinoides. Para esos futuros ensayos podrían proponerse una o más de las siguientes opciones:

#### *Pacientes con tumores de nuevo diagnóstico*

Los ensayos pilotos controlados con placebo y temozolomida, un fármaco que daña el DNA y que constituye la quimioterapia de referencia actual en el tratamiento de los gliomas malignos, han demostrado un impacto muy leve en la supervivencia global de los pacientes con tumores recidivados (Dinnes y cols., 2002). Sin embargo, en un cierto porcentaje de pacientes con tumores recién diagnosticados se ha mostrado

una mejoría significativa en la eficacia terapéutica de la temozolomida mediante el establecimiento de distintos regímenes posológicos (Reardon y cols., 2006). Es lógico pensar que también se podrían obtener mejores resultados con los cannabinoides en casos de pacientes con tumores recién diagnosticados. Además, las técnicas actuales de diagnóstico molecular permiten aproximarse a la identificación de aquellos factores que se asocian a la efectividad de cada tipo de tratamiento. Por ello, podría ser de gran interés determinar cuáles son los factores asociados a la resistencia a la terapia con cannabinoides, de forma que estos compuestos puedan administrarse – solos o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos (véase más abajo)– de una manera selectiva a aquellos pacientes que tengan una mayor probabilidad de responder adecuadamente al tratamiento.

#### *$\Delta^9$ -THC combinado con otros agentes quimioterapéuticos*

El glioblastoma multiforme –y en concreto cuando recidiva– es una enfermedad extremadamente mortal. El posible éxito de su tratamiento se ve obstaculizado notablemente por diversos factores tales como el rápido crecimiento, la notable heterogeneidad, el alto grado de infiltración y la extrema resistencia a la quimioterapia exhibida por estos tumores. Por tanto, es concebible que las terapias combinadas podrían proporcionar mejores resultados que las que emplean un solo fármaco. Por ejemplo, la posible sinergia en la inducción de rutas de señalización pro-apoptótica del  $\Delta^9$ -THC y la temozolomida podría tener un impacto clínico más potente que la administración de  $\Delta^9$ -THC o temozolomida como agentes únicos.

#### *Rutas de administración no invasiva*

Aunque la administración intratumoral puede conseguir altas concentraciones locales de un fármaco *in situ*, en tumores recidivados de gran tamaño y en crecimiento activo la perfusión local a través de un catéter colocado en el interior del tumor constituye una obvia limitación de la técnica. En la práctica clínica sería deseable una ruta no invasiva, menos traumática y que permitiera un acceso del fármaco a zonas más amplias del tumor. Las opciones alternativas (o complementarias a la intracra-

neal) para la administración de  $\Delta^9$ -THC incluirían cápsulas de ingestión oral y aerosoles de absorción oro-mucosal. Estas preparaciones también podrían añadir en su composición cannabidiol, dado que dicho cannabinoide ha mostrado inhibir el crecimiento de los gliomas xenotrasplantados en ratones inmunodeprimidos (Massi *y cols.*, 2004) y puede atenuar algunos de los efectos indeseados que los pacientes presentan con un tratamiento con  $\Delta^9$ -THC (Russo y Guy, 2006).

### *Otros tipos de cánceres*

Tanto nosotros como otros grupos hemos demostrado que, en modelos animales, el  $\Delta^9$ -THC y los cannabinoides sintéticos, además de inhibir el crecimiento de gliomas, reducen el crecimiento de otros tipos de tumores xenotrasplantados (véase más arriba). En el futuro podrían pues llevarse a cabo ensayos clínicos en tumores en los que los cannabinoides han demostrado una buena eficacia preclínica y para los que no existen actualmente opciones terapéuticas válidas, como son por ejemplo los tumores de páncreas y los melanomas.

De forma general, los estudios aquí recogidos apoyan la idea de que los cannabinoides afectan al crecimiento de las células tumorales en modelos animales y por tanto podrían constituir la base de futuras estrategias quimioterapéuticas. Se precisa sin embargo más investigación preclínica y (sobre todo) ensayos clínicos exhaustivos para dilucidar si los cannabinoides podrán emplearse algún día (aparte de como paliativos) como agentes quimioterapéuticos en el tratamiento de pacientes de cáncer.

### **Bibliografía**

- Bifulco M y Di Marzo V (2002). Targeting the endocannabinoid system in cancer therapy: a call for further research. *Nat Med*; **8**:547-50.
- Bifulco M, Laezza C, Portella G, Vitale M, Orlando P, De Petrocellis L *y cols* (2001). Control by the endogenous cannabinoid system of ras oncogene-dependent tumor growth. *FASEB J*; **15**:2745-7.
- Blázquez C, Carracedo A, Barrado L, Real PJ, Fernández-Luna JL, Velasco G *y cols* (2006). Cannabinoid receptors as novel targets for the treatment of melanoma. *FASEB J*; **20**:2633-5.

- Blázquez C, Casanova ML, Planas A, del Pulgar TG, Villanueva C, Fernández-Aceñero MJ y cols (2003). Inhibition of tumor angiogenesis by cannabinoids. *FASEB J*; **17**:529-31.
- Blázquez C, González-Feria L, Álvarez L, Haro A, Casanova ML y Guzmán M (2004). Cannabinoids inhibit the vascular endothelial growth factor pathway in gliomas. *Cancer Res*; **64**:5617-23.
- Carracedo A, Gironella M, Lorente M, Garcia S, Guzmán M, Velasco G y cols (2006). Antitumoral effect of cannabinoids on pancreatic cancer. *Cancer Res*; **66**:6748-55.
- Carracedo A, Lorente M, Egia A, Blázquez C, Garcia S, Giroux V y cols. (2006). The stress-regulated protein p8 mediates cannabinoid-induced apoptosis of tumor cells. *Cancer Cell*; **9**:301-12.
- Casanova L, Blázquez C, Fernández-Aceñero MJ, Villanueva C, Huffman J, Jorcano JL y cols (2003). Inhibition of skin tumor growth and angiogenesis in vivo by activation of cannabinoid receptors. *J Clin Invest*; **111**:43-50.
- Dinnes J, Cave C, Huang S y Milne R (2002). A rapid and systematic review on the effectiveness of temozolomide for the treatment of recurrent malignant glioma. *Br J Cancer*; **86**:501-5.
- Galve-Roperh I, Sánchez C, Cortés ML, Gómez del Pulgar T y Izquierdo M, Guzmán M (2000). Anti-tumoral action of cannabinoids: involvement of sustained ceramide accumulation and extracellular signal-regulated kinase activation. *Nat Med*; **6**:313-19.
- Guzmán M (2003). Cannabinoids: potential anticancer agents. *Nat Rev Cancer*; **3**:745-55.
- Guzmán M, Duarte MJ, Blázquez C, Ravina J, Rosa MC, Galve-Roperh I y cols (2006). A pilot clinical study of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol in patients with recurrent glioblastoma multiforme. *Br J Cancer*; **95**:197-203.
- Hall W, Christie M, Currow D. (2005). Cannabinoids and cancer: causation, remediation, and palliation. *Lancet Oncol*; **6**:35-42.
- Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA y cols (2002). International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev*; **54**:161-202.
- Ligresti A, Moriello AS, Starowicz K, Matias I, Pisanti S, De Petrocellis L y cols (2006). Antitumor activity of plant cannabinoids with emphasis on the effect of cannabidiol on human breast carcinoma. *J Pharmacol Exp Ther*; **318**:1375-87.
- Massi P, Vaccani A, Ceruti S, Colombo A, Abbracchio MP y Parolaro D (2004). Antitumor effects of cannabidiol, a nonpsychoactive cannabinoid, on human glioma cell lines. *J Pharmacol Exp Ther*; **308**:838-45.

- McKallip RJ, Lombard C, Fisher M, Martin BR, Ryu S, Grant S y cols (2002). Targeting CB2 cannabinoid receptors as a novel therapy to treat malignant lymphoblastic disease. *Blood*; **100**:627-34.
- Munson AE, Harris LS, Friedman MA, Dewey WL y Carchman RA (1975). Antineoplastic activity of cannabinoids. *J Natl Cancer Inst*; **55**:597-602.
- Pacher P, Bátkai S y Kunos G (2006). The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol Rev*; **58**:389-462.
- Portella G, Laezza C, Laccetti P, De Petrocellis L, Di Marzo V y Bifulco M (2003). Inhibitory effects of cannabinoid CB1 receptor stimulation on tumor growth and metastatic spreading: actions on signals involved in angiogenesis and metastasis. *FASEB J*; **17**:1771-3.
- Reardon DA, Rich JN, Friedman HS y Bigner DD (2006). Recent advances in the treatment of malignant astrocytoma. *J Clin Oncol*; **24**:1253-65.
- Russo E y Guy GW (2006). A tale of two cannabinoids: the therapeutic rationale for combining tetrahydrocannabinol and cannabidiol. *Med Hypotheses*; **66**:234-46.
- Sánchez C, de Ceballos ML, Gómez del Pulgar T, Rueda D, Corbacho C, Velasco G y cols (2001). Inhibition of glioma growth in vivo by selective activation of the CB<sub>2</sub> cannabinoid receptor. *Cancer Res*; **61**:5784-9.
- Velasco G, Carracedo A, Blázquez C, Lorente M, Aguado T, Haro A y cols (2007). Cannabinoids and gliomas. *Mol Neurobiol*; **36**:60-7.

## **12.1. Introducción**

El mantenimiento del peso corporal es crítico para la supervivencia de los organismos superiores. Por ello, la evolución nos ha dotado de un complejo y redundante sistema de control de la homeostasis energética, de manera que el daño en una vía de señalización orexígena rara vez resulta en un fenotipo delgado. El sistema endocannabinoide (SEC) representa uno de estos circuitos orexígenos redundantes cuyo conocimiento y modulación farmacológica ha cobrado un creciente interés en los últimos años.

Desde hace siglos se han conocido los efectos estimulantes sobre el apetito del cannabis y con tal fin ha sido usado en distintas épocas y países. Dicho efecto es reconocido por los consumidores como típico del cannabis, lo mismo que puede ser el enrojecimiento conjuntival. Con la descripción del sistema endocannabinoide y su papel en la regulación de la conducta alimentaria se va obteniendo una explicación biológica de dicho hecho. Sin embargo, queda por perfilar su aplicación práctica en la clínica, establecer las indicaciones terapéuticas, valorar los derivados cannabinoides más adecuados para su uso clínico y su perfil de seguridad.

## **12.2. Neuroanatomía básica de la regulación de la conducta alimentaria**

A partir de una serie de estudios experimentales en animales llevados a cabo en las décadas de los años 40 y 50 pro-

vocándoles lesiones cerebrales localizadas, se implantó la hipótesis dual hipotalámica que ha estado vigente hasta recientemente. Según esta hipótesis existiría un centro de la saciedad (núcleo ventromedial hipotalámico, VMH) y un centro del hambre (núcleo lateral hipotalámico, LH). En la actualidad, se acepta que la regulación es más compleja e intervienen otros centros neurales distribuidos en el tronco del encéfalo, sistema límbico e hipotálamo. Así hay que destacar una serie de estructuras hipotalámicas como son los núcleos arcuato (ARC), VMH, LH, paraventricular (PVN), dorsomedial (DMH); además del núcleo accumbens (NAc) que forma parte de los circuitos de recompensa cerebral, el núcleo del tracto solitario (NTS) y núcleo parabraquial del tronco del encéfalo y diversas estructuras del cortex cerebral (Broberger, 2005; Berthoud, 2002).

El núcleo arcuato (ARC) se encuentra próximo a la eminencia media, donde a través de la mayor permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE) recibe información directa del torrente circulatorio (por ejemplo, estado de la glucemia). A este núcleo llega información del estado de los depósitos energéticos a través de hormonas como la leptina y la insulina que indican las reservas del tejido adiposo y la ghrelina que informa sobre el estado del tubo digestivo. En este centro existen dos grupos neuronales que expresan una serie de neuropéptidos relevantes en la regulación de la conducta alimentaria como el neuropéptido Y (NPY) y la proteína relacionada con el agouti (AgRP) de efecto orexígeno por un lado, y la proopiomelanocortina (POMC) y el transcrito regulado por anfetaminas y cocaína (CART) de efecto anorexígeno por otro (Wynne y cols., 2005). Ambos grupos neuronales (neuronas POMC y NPY) expresan receptores para leptina y ghrelina. En el núcleo VMH prevalece un péptido anorexígeno como el factor neurotrópico derivado del cerebro (BDNF), componente regulado igualmente por la leptina. Las células del núcleo DMH expresan principalmente NPY con extensas conexiones con otras áreas hipotalámicas. El núcleo LH, identificado como el centro del hambre, expresa dos potentes péptidos orexígenos como la hormona concentradora de melanina (MCH) y la orexina A, que se proyectan al córtex y áreas límbicas, incluido el sistema de recompensa cerebral. El núcleo PVN integra las señales de distintas regiones cerebrales y des-



encadena respuestas endocrinas a través de las hormonas CRH y TRH y respuestas autonómicas.

Los núcleos hipotalámicos conectan con el núcleo accumbens (NAc), interaccionando de esta forma los sistemas de regulación de la conducta alimentaria con los de recompensa cerebral. A su vez, ambos centros presentan aferencias y eferencias con los núcleos dorsales del vago y el núcleo del tracto solitario (NTS) del tronco del encéfalo que reciben la información fundamental de la periferia a través del nervio vago y a través de la sangre por la cercanía con el área postrema que es otra zona de mayor permeabilidad de la BHE (Wynne y cols., 2005).

Además de la regulación central, existe un complejo mecanismo de señales periféricas que regulan la ingesta y el metabolismo a corto y largo plazo. Hay que destacar el papel de las hormonas ya mencionadas, leptina e insulina, que informan sobre los depósitos grasos y la información procedente del tubo digestivo a través de dos vías, humoral y nerviosa. La ghrelina se libera en el estómago en situaciones de ayuno e informa al núcleo ARC vía humoral y a través del nervio vago. Es la primera hormona descrita del sistema digestivo que estimula la ingesta. La colecistokinina (CCK) liberada en el estómago es una de las principales señales de saciedad a corto plazo. El péptido YY (PYY) igualmente tiene efecto saciante, siendo liberado en íleon y colon. El nervio vago transmite a los núcleos dorsales del vago y al NTS información de señales físicas (distensión gástrica) y químicas (CCK).

El modelo de regulación de la homeostasis energética aceptado actualmente se expone a continuación. Durante la ingesta, la comida parcialmente digerida estimula la secreción en el tracto gastrointestinal de una serie de péptidos y enzimas importantes para la digestión, algunos de los cuales estimulan receptores en las fibras vagales aferentes. Las señales de saciedad, como la CCK, el péptido similar al glucagón 1 (GLP-1), péptido YY, enterostatina y glucagón, convergen en el NTS, que integra información química y mecánica del tracto gastrointestinal y de otras vísceras abdominales, desencadenando el cese de la ingesta en ausencia de otra información del hipotálamo o de la corteza cerebral. Por otro lado se suprime la secreción de ghrelina por el estómago y, por tanto, su señal orexígena. La leptina y la insulina potencian el efecto saciante de la CCK in-

formando al hipotálamo sobre los depósitos grasos del organismo mediante sus receptores en el núcleo arcuato. Ambos péptidos inhiben la secreción de NPY y de AgRP, ambas proteínas efectoras orexígenas, y estimulan la secreción de CART y  $\alpha$ MSH (péptido derivado del gen de la POMC), ambos anorexígenos. El resultado neto es la disminución de la ingesta mediante la activación secundaria de vías centrales anorexígenas (BDNF, CRH, TRH) y la inhibición de vías orexígenas (MCH, orexinas) y el aumento del gasto energético a través de la estimulación del sistema nervioso autónomo, que activa receptores adrenérgicos beta3 y beta 2 en músculo, tejido adiposo marrón y blanco, produciendo disipación de calor y lipólisis (Woods, 2007). El efecto inverso de todos estos cambios fisiológicos es observado en situaciones de ayuno.

Pues bien, cada vez disponemos de más datos que indican que el sistema endocannabinoide (SEC) tiene un papel fundamental en la regulación de la ingesta alimentaria y el metabolismo energético.

### **12.3. Los agonistas cannabinoides producen incremento del apetito y peso en experimentación animal**

Una serie de investigaciones se han centrado en el estudio del papel del SEC en la regulación del apetito, el peso y el balance energético en animales, apoyando un efecto estimulante del apetito de los agonistas cannabinoides y un efecto anorexígeno de los antagonistas. El uso de diversos modelos experimentales ha ocasionado algunos resultados discrepantes. Se han usado modelos de animales deprivados de alimentos desde 1 hora hasta 24 horas, posteriormente presaciados antes de la administración de la sustancia experimental o no presaciados (modelo de animales hiperfágicos en este último caso), y podían estar deprivados de agua o no simultáneamente. Otros autores han empleado modelos de animales con libre acceso a la comida, con dietas ricas en hidratos de carbono, ricas en grasas o dietas estándar. Por otro lado, son interesantes los datos aportados por los modelos animales de obesidad y los modelos de animales knock-out (KO) para el receptor CB1, es decir, carentes de este.

Los estudios iniciales con agonistas cannabinoides describían un efecto hipofágico pero fue debido al uso de dosis elevadas, predominando el efecto sedante. Los experimentos más recientes confirman el efecto orexígeno de los agonistas incluso en animales saciados y dicho efecto está mediado por los receptores CB1. Los agonistas cannabinoides más usados son el  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol (THC) y un agonista endógeno como la anandamida (AEA) que aumentan la ingesta en distintos procedimientos experimentales. Otros agonistas como el 2-araquidonilglicerol (2-AG) y el noladin eter producen un efecto similar. El  $\Delta^8$  THC, con menos efectos psicoactivos que el  $\Delta^9$  THC, podría tener un efecto orexígeno más potente.

El efecto orexígeno se observa con la administración de agonistas cannabinoides en centros cerebrales relacionados con la regulación de la ingesta, como el núcleo VMH; el núcleo accumbens (NAc) o el cuarto ventrículo por la proximidad del núcleo parabraquial.

#### **12.4. Los niveles de endocannabinoides se modifican según la situación de la ingesta alimentaria**

Los endocannabinoides parecen formar parte del sistema de señales que favorecen el inicio de la ingesta. Así, en situación de privación alimentaria, se incrementan los niveles de 2-AG hipotalámico y de 2-AG y AEA límbicos. Tras la ingesta disminuyen los niveles de 2-AG hipotalámicos. Sin embargo, no hay cambios en dichos niveles en animales saciados o en centros cerebrales no relacionados con la ingesta alimentaria (Kirsham y cols., 2002).

#### **12.5. Estudios en humanos: el consumo de marihuana incrementa el apetito**

Desde hace varias décadas se ha referido que el consumo de cannabis provoca un apetito voraz, con una mayor apetencia por los dulces. Tart (1970) refería que la intoxicación por marihuana producía en los sujetos la apreciación de nuevas cualidades de los alimentos. Hollister (1971) observó que la administración de THC oral en 12 voluntarios en situación de

saciedad y en ayuno producía un incremento de la ingesta en 7 de ellos. Abel (1971) sugirió una mayor apetencia por dulces. Greenberg y cols., (1976) observan que el THC fumado aumenta la ingesta y produce un incremento mayor de 2 kg en las tres semanas del experimento frente al grupo control. Igualmente, Foltin y cols., (1986) observan un aumento de las conductas de picar sin que aumente la cantidad de las comidas y, en otro experimento, un incremento de la ingesta de dulces y un aumento mayor del peso de lo esperable por la ingesta calórica (Foltin y cols., 1988). Mattes y cols., (1994) señalan que, en ciertas condiciones experimentales, el THC incrementa las conductas de picar.

Estos datos sugieren un incremento en el valor incentivo de los alimentos, dado que aumenta más la frecuencia de la ingesta y el adelanto del inicio de esta que la cantidad ingerida, pero además un posible aumento del valor hedónico de la comida o componente orosensorial del refuerzo por la preferencia de alimentos más apetitosos.

## **12.6. El sistema endocannabinoide es un elemento crucial en los mecanismos de regulación de la ingesta alimentaria**

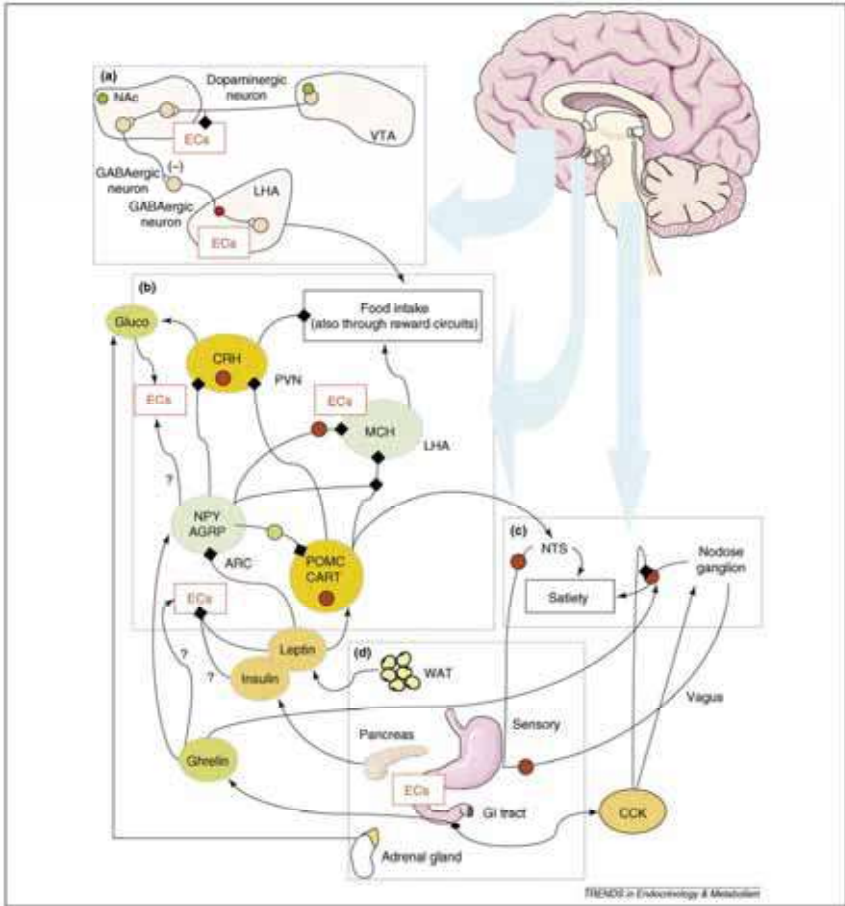
La identificación de los receptores cannabinoides CB1 posibilitó el desarrollo de potentes agonistas y antagonistas CB1 y de ratones transgénicos deficientes en receptor CB1. Esto condujo a la demostración de que dichos receptores son responsables del bien conocido efecto orexígeno del cannabis,  $\Delta^9$ -THC y de los endocannabinoides. El SEC es activado de forma transitoria en el cerebro tras un periodo breve de ayuno con objeto de regular los niveles de mediadores orexígenos y anorexígenos e inducir la ingesta. Los EC liberados de neuronas postsinápticas despolarizadas activan retrógradamente los receptores CB1 presinápticos, reduciendo tanto la neurotransmisión inhibitoria (por ejemplo, mediada por GABA) y excitadora (por ejemplo, mediada por glutamato). Se han localizado receptores CB1 en neuronas del núcleo arcuato que expresan CART y POMC, en neuronas del hipotálamo lateral que contienen MCH y orexinas y en neuronas del PVN que expresan CRH. La estimulación de receptores CB1 incrementa los niveles de NPY probablemente a través de un mecanismo

multisináptico, puesto que no se han encontrado receptores CB1 en neuronas hipotalámicas que expresan NPY y el bloqueo del receptor CB1 reduce la ingesta en ratones deficientes en NPY de forma tan eficaz como en ratones normales, lo que sugiere que la vía del NPY no es necesaria para la estimulación de la ingesta mediada por el SEC (Matias y Di Marzo, 2007).

La activación de receptores presinápticos CB1 por endocannabinoides (EC) liberados por neuronas del PVN en respuesta a corticoides reducen la actividad de las neuronas anorexígenas y, por tanto, la liberación de CRH mediante la inhibición de la liberación de glutamato presináptico. Del mismo modo, en el hipotálamo lateral, los EC producidos por neuronas liberadoras de MCH actúan retrógradamente sobre neuronas presinápticas gabaérgicas, lo que conduce a la desinhibición de la liberación de MCH en este área. Ambos efectos se encuentran bajo el control negativo de la leptina, que inhibe la síntesis de cannabinoides en el hipotálamo y bajo el control positivo de los glucocorticoides y quizás de NPY y ghrelina. Sin embargo, una liberación continuada de EC desde las neuronas productoras de POMC en el núcleo arcuato induce la activación de receptores CB1 en neuronas presinápticas gabaérgicas, lo que desinhibe la liberación de melanocortinas anorexígenas, un fenómeno que contrasta con el papel orexígeno general del SEC. Así pues, un ayuno de corta duración activaría puntualmente el SEC para inducir al sujeto a buscar alimento, mientras que una deprivación calórica más prolongada activaría de forma tónica el SEC y reduciría la motivación para buscar alimento con objeto de disminuir el gasto energético (Fride y cols., 2005). Los efectos del SEC sobre el control de la homeostasis energética se reflejan en la Fig. 12.1.

## **12.7. El sistema cannabinoide modula los efectos reforzantes de los alimentos**

El SEC forma parte del sistema de recompensa cerebral y tiene importancia en la biología de la conducta adictiva en general. Respecto a los aspectos motivacionales de la ingesta, el SEC posiblemente está implicado en las dos fases que se describen. Berridge (1996) diferencia la fase incentiva, “wanting” o de apetito, de la fase consumatoria, que denomina “liking”.



**Figura 12.1.:** Control central y periférico de la ingesta alimentaria y funciones potenciales del SEC. Los círculos expresan endocannabinoides y receptores CB1. Las flechas indican activación, facilitación o producción. Las flechas romboidales indican vías inhibitorias. Reproducido de Matias I y Di Marzo V. Endocannabinoids and the control of energy balance. Trends Endocrinol Metabol. 2007;18: 27-37.

Los receptores CB1 están localizados a nivel presináptico en las neuronas que liberan dopamina que partiendo del área tegmental ventral (VTA) alcanzan el NAc. Este circuito es clave en los procesos incentivos de la ingesta. Estas neuronas do-

paminérgicas liberan 2-araquidonilglicerol (2-AG). En el NAc (en la corteza, la más relevante en los procesos incentivos) existe una elevada densidad de receptores CB1. Los niveles de EC en el NAc aumentan tras el ayuno y están bajo el control negativo de la dopamina liberada de las neuronas del VTA. Además facilitan la desinhibición de núcleos hipotalámicos implicados en la ingesta de alimentos, como las neuronas que expresan MCH en el LH. La administración de 2-AG en la corteza del NAc ocasiona una de las respuestas hiperfágicas más intensas (Fride y cols., 2005).

Parece además existir una interacción positiva entre el SEC y el sistema opioide respecto a la ingesta alimentaría en el PVN del hipotálamo. El sistema serotoninérgico, sin embargo, parece actuar por un mecanismo independiente al del SEC (Pagotto y cols., 2006).

Diversos experimentos en animales sugieren que los agonistas cannabinoides incrementan el valor incentivo de los alimentos, dado que disminuyen la latencia para la ingesta e inducen la ingesta en animales saciados donde la motivación para comer es mínima (Higgs y cols., 2003). Por el contrario, los antagonistas cannabinoides disminuyen el valor incentivo de los alimentos (Duarte y cols., 2004).

Pero el SEC también media los aspectos orosensoriales de la ingesta. Los agonistas cannabinoides favorecen la toma de sustancias más apetitosas (Arnone y cols., 1997) y la anandamida amplifica la respuesta hedónica (el "liking") al dulce en la corteza del NAc (Mahler y cols., 2007).

Diversos experimentos en animales que han valorado los efectos en ambas fases, parecen confirmar que el SEC interviene en ambos componentes motivacionales. Así el antagonista cannabinoide rimonabant incrementa la latencia para la ingesta y disminuye el número de tomas de alimentos apetitosos (Freedland y cols., 2001).

La consecuencia de todo esto es que si la comida ingerida es particularmente apetitosa, o la situación social es agradable, los niveles de dopamina y opiáceos aumentarán en el NAc, una interneurona moduladora se activará y producirá un aumento en la síntesis de EC, que a su vez dará lugar a la inhibición presináptica de la liberación de neurotransmisores anorexígenos y a la desinhibición de neurotransmisores orexígenos, resultando finalmente en una prolongación de la comida (Woods, 2007).

### **12.8. El sistema cannabinoide regula el metabolismo energético a nivel periférico**

Los datos más recientes van subrayando la creciente importancia del SEC en la regulación periférica de la ingesta y el metabolismo energético. Este papel periférico se apoya, entre otros datos, por el efecto anorexígeno de antagonistas cannabinoideos que no atraviesan la BHE, los niveles elevados de AEA en el intestino delgado en ayunas, el efecto anorexígeno del rimonabant por interactuar con la CCK en la periferia o el efecto periférico sobre el apetito de la oleiletanolamina (OEA), un análogo de la anandamida aunque sin efecto sobre los receptores CB1. Además se va describiendo la presencia de receptores cannabinoideos en los tejidos periféricos relacionados con el metabolismo energético (tejido adiposo, tubo digestivo, hígado o músculo) y, también está descrita la presencia de receptores CB1 en neuronas vagales relacionadas con la ingesta y la motilidad digestiva.

El efecto de los EC sobre el metabolismo, aparte del papel sobre el apetito, se apoya en la pérdida de peso con antagonistas cannabinoideos a pesar de la tolerancia sobre el apetito tras unos días, la mayor pérdida de peso en animales emparejados por la ingesta en tratamiento con antagonistas que en controles y una serie de datos experimentales que como veremos indican un papel de los EC regulando el metabolismo glucídico y lipídico, favoreciendo la lipogénesis y el depósito energético en los tejidos.

### **12.9. El SEC regula el metabolismo lipídico en el tejido adiposo**

Los receptores CB1 están presentes en el tejido adiposo de animales (Cota y cols., 2003; Bensaid y cols., 2003) y humanos (Engeli y cols., 2005) y sus agonistas favorecen la lipogénesis. Los adipocitos expresan receptores CB1 y CB2, aunque el papel de estos últimos aún no está establecido, además de las enzimas necesarias para la síntesis y degradación de endocannabinoideos (Bellocchio y cols., 2008). Los adipocitos de animales obesos presentan una sobreexpresión de receptores CB1 (Bensaid y cols., 2003).



Por un lado, los agonistas cannabinoides estimulan la proliferación de adipocitos y su diferenciación como sugiere la mayor expresión de receptores CB1 en adipocitos maduros que en preadipocitos o por el hecho de que la anandamida aumenta el PPAR- $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptors), un marcador de adipogénesis.

Por otro lado, la estimulación de receptores CB1 disminuye la expresión y liberación de adiponectina en adipocitos. La adiponectina es una adipocitoquina secretada exclusivamente por el tejido adiposo que regula el metabolismo lipídico y glucídico, estimula la oxidación de ácidos grasos y reduce la hiperglucemia por favorecer la captación de glucosa por los tejidos y suprimir la producción hepática de glucosa, mejora la sensibilidad a la insulina y disminuye la hiperinsulinemia. Además favorece la expresión de visfatina y apelina en adipocitos, que son dos nuevas adipoquinas que favorecen la síntesis de triglicéridos y el acúmulo lipídico (Bellocchio y cols., 2008).

Por último, los agonistas cannabinoides actúan sobre enzimas implicadas en el metabolismo lipídico favoreciendo la lipogénesis. Así, dichos agonistas estimulan la lipoprotein lipasa en adipocitos favoreciendo la síntesis de triglicéridos, el factor de transcripción SREBP1 (sterol regulatory element-binding protein 1c) y sus dianas: las enzimas ACC1 (acetilcoenzima A carboxilasa-1) y FAS (sintetasa de ácidos grasos) favoreciendo la síntesis de ácidos grasos, o la estearil coA desaturasa 1 (interviene en la desaturación de ácidos grasos) o la diacilglicerolaciltransferasa 2 (implicada en la síntesis de triglicéridos) (Bellocchio y cols., 2008; Matias y cols., 2008).

Además la estimulación CB1 favorece la captación de glucosa en las células grasas y los endocannabinoides pueden activar los receptores nucleares PPAR- $\gamma$  que favorecen la adipogénesis (Pagano y cols., 2008), y dichos receptores PPAR- $\gamma$  regulan los niveles de EC. Además los agonistas cannabinoides pueden inhibir la actividad de la AMPK (AMP-activated protein kinase), directamente o a través de la inhibición de la adiponectina, dicha enzima disminuye la síntesis de ácidos grasos y estimula la oxidación de dichos ácidos en bastantes tejidos, con lo cual la inhibición de la AMPK en el tejido adiposo estimula la lipogénesis (Matias y cols., 2008).

Todo ello favorece la acumulación lipídica, la capacidad de depósito del tejido adiposo y, por lo tanto, las reservas energéticas.

### **12.10.El SEC modula el metabolismo lipídico en el hígado**

También se ha descrito la presencia de receptores CB1 en el hígado (Osei-Hyiaman y cols., 2005). El hígado es un órgano fundamental en la lipogénesis. Los cannabinoides promueven la lipogénesis hepática y favorecen la esteatosis a través de los receptores CB1. En animales con obesidad inducida por la dieta (DIO) existe un aumento de la síntesis de ácidos grasos mediados por los receptores CB1 hepáticos. En estos animales se producen niveles elevados de AEA hepática posiblemente por descenso de la actividad de su enzima catabólica, la amidohidrolasa de ácidos grasos (FAAH) (Osei-Hyiaman y cols., 2005). Estos autores usando un agonista cannabinoide observaron una sobrerregulación de genes hepáticos implicados en el metabolismo graso como el factor de transcripción lipogénico SREBP-1c y sus dianas las enzimas ACC1 y FAS y un aumento de la lipogénesis hepática. Al igual que en el tejido graso, la estimulación CB1 inhibe la AMPK, enzima que funciona como un sensor nutricional y cuya estimulación favorece la oxidación de ácidos grasos, la captación de glucosa y suprime la gluconeogénesis hepática. Por el contrario, en el hipotálamo, tanto los agonistas cannabinoides como la ghrelina estimulan la actividad de la AMPK favoreciendo el apetito (Osei-Hyiaman, 2007; Matias y cols., 2008).

### **12.11.El SEC modula el metabolismo en el músculo**

Los receptores CB1 también se expresan en el músculo estriado (Liu y cols., 2005). La activación CB1 disminuye el gasto energético, la captación de glucosa por el músculo y su oxidación (Matias y cols., 2008). En animales obesos existe una sobreexpresión de estos receptores en el músculo (Liu y cols., 2005).

### 12.12.El SEC en el páncreas

Los receptores CB1 se expresan en las células alfa productoras de glucagón y los CB2 en células beta en ratones, influyendo en la regulación de la liberación de insulina y la sensibilidad a la insulina (Nogueiras y cols., 2008). Otros autores han observado que la expresión de los receptores CB1, pero no de los CB2, en los islotes beta pancreáticos y los agonistas CB1 inhiben la secreción de insulina en ratones (Nakata y cols., 2008).

### 12.13.El SEC en el tubo digestivo

El equipo de investigación de nuestro hospital ha descrito la presencia de receptores CB1 en el plexo mientérico o plexo de Auerbach del estómago humano relacionado con la motilidad, en el plexo submucoso o plexo de Meissner relacionado con la secreción gástrica y en las células parietales de la mucosa gástrica y de la enzima FAAH en estas últimas células, lo que sugiere un papel en la secreción y en la motilidad gástrica (Pazos y cols., 2008). La distribución de los receptores CB1 similar a la de la ghrelina o al péptido similar al glucagón (GLP1, glucagón like peptide 1) y en estructuras neurales modulando transmisión colinérgica y no colinérgica sugieren que forman parte de las conexiones entre tubo digestivo y cerebro regulando la conducta alimentaria. Además, la estimulación CB1 favorece la secreción de ghrelina en células gástricas incrementando el apetito (Zbucki y cols., 2008).

La anandamida parece liberarse en el intestino como señal de hambre, mientras que la oleiletanolamida formaría parte de las señales de saciedad. Así el ayuno favorece la expresión de los receptores CB1 vagales y la liberación de anandamida en el intestino delgado, pero no en el estómago. Estos receptores se coexpresan con los de la CCK en aferentes vagales intestinales, la CCK es un péptido que funciona como señal de saciedad a corto plazo a través de neuronas vagales. Además, los agonistas cannabinoides alteran la motilidad gastrointestinal modulando de esta forma la ingesta (Capasso y cols., 2008; Fride y cols., 2005). La CCK puede inhibir la capa-

cidad de la anandamida periférica de estimular la ingesta vía vagal.

En la tabla 12.1 se resumen las principales acciones conocidas del SEC en el control del balance energético.

TABLA 12.1  
*Control del balance energético por el sistema endocannabinoide.*

	<b>El SEC local es</b>	<b>La activación del SEC conduce a</b>
<b>Hipotálamo</b>	Estimulado por el ayuno Estimulado por la ghrelina Inhibido por la leptina	Aumento de la acción de orexinas Regulación negativa de CRH Inhibición de acción de MC4R Aumento del apetito tras ayuno
<b>Sistema mesolímbico</b>	Estimulado por comida sabrosa (rica en grasa)	Señalización dopaminérgica aumentada en núcleo accumbens Sinergismo con el sistema opioide Paso a la acción de la ingesta.
<b>Tronco cerebral</b>	Estimulado por el ayuno  Inhibido por colecistoquinina	Efectos sobre el ganglio nodoso y neuronas del núcleo del tracto solitario  Inhibición de la saciedad y la emesis
<b>Tracto gastrointestinal (duodeno)</b>	Estimulado por el ayuno	Estimulación de neuronas CB1/canal vaniloide 1 en el nervio vago Inhibición de la saciedad
<b>Tejido adiposo blanco</b>	Hiperactivado por dieta rica en grasa	Regulación negativa de adiponectina Aumento de la lipogénesis
<b>Hígado</b>	Hiperactivado por dieta rica en grasa	Aumento de la lipogénesis Aumento liberación ácidos grasos libres

#### **12.14. El sistema endocannabinoide en la anorexia y la caquexia**

La anorexia se define como la pérdida del deseo de comer o la falta de apetito y acompaña con frecuencia a múltiples enfermedades agudas y crónicas. La caquexia es un síndrome complejo caracterizado por anorexia, pérdida involuntaria de peso, disminución de la masa muscular y del tejido adiposo, hiperlipemia y otras alteraciones metabólicas causadas por alteraciones en las hormonas reguladoras y las citocinas, que aparece habitualmente en estadios avanzados de enfermedades crónicas graves. Estos dos procesos, anorexia y caquexia, acompañan frecuentemente a pacientes con neoplasias avanza-

das, infección por VIH, cuadros depresivos severos, anorexia nerviosa o enfermedad de Alzheimer. (Osei-Hyiaman, 2007).

Existe actualmente una falta de estudios científicos sobre la interacción molecular entre los EC y el proceso caquéctico. Revisaremos a continuación los conocimientos existentes sobre el SEC en pacientes con desnutrición y la eficacia de la modulación farmacológica de este sistema en las enfermedades caquectizantes.

### **12.15. Sistema cannabinoide y trastornos de la conducta alimentaria**

En la etiología de los trastornos de la conducta alimentaria (TCA) intervienen factores genéticos y ambientales. Entre los factores genéticos se han investigado como posibles genes candidatos aquellos que codifican péptidos relacionados con la regulación de la ingesta alimentaria. Por lo tanto, el SEC como sistema relevante en dicha regulación es otro candidato para el estudio.

Estudios de ligamiento genético han identificado al cromosoma 1 como relevante en la genética de los TCA. En el brazo corto de dicho cromosoma se sitúa el gen que codifica la enzima FAAH, principal enzima catabólica de los endocannabinoides. De este gen se ha descrito un polimorfismo (C385A) que consiste en el cambio de una base de citosina por adenina, lo que conlleva la conversión de un residuo de prolina en treonina en la proteína, lo que la convierte en una enzima menos activa (Chiang y cols., 2004). Nosotros hemos investigado este polimorfismo en una muestra de 47 pacientes con TCA y 98 controles, sin observar diferencias significativas.

Otro gen candidato es el que codifica el receptor CB1, situado en el brazo largo del cromosoma 6, en el que se ha identificado un polimorfismo consistente en la repetición de un triplete de bases AAT de 7 a 15 veces, describiéndose 9 formas alélicas. Un primer estudio en 52 familias de pacientes con TCA observó una asociación de la anorexia nerviosa purgativa con una forma alélica y de la anorexia restrictiva con otro alelo distinto (Siegfried y cols., 2004). En nuestro estudio observamos una falta del alelo 8 y un exceso del alelo 7 en las mujeres con TCA que no alcanzó la significación estadística posiblemente por el pequeño tamaño muestral ( $p=0.1$ ). Por lo tanto,

no disponemos aún de datos consistentes que impliquen a factores genéticos relacionados con el SEC en la etiología de los TCA.

Un estudio investigó los niveles de AEA y 2-AG en sangre en pacientes con TCA. Se observó que los niveles de AEA estaban elevados en la anorexia nerviosa y en el trastorno por atracones pero no en la bulimia. Los autores sugieren que la AEA está implicada en los aspectos reforzantes de las alteraciones conductuales de la ingesta, pero según esta idea deberían estar alterados dichos niveles también en la bulimia. Además habría que verificar la procedencia de la AEA medida y como refleja los niveles plasmáticos de AEA la funcionalidad central del SEC. De mayor interés es la observación de una correlación negativa entre niveles de AEA y leptina, lo que sugiere un déficit de leptina en la anorexia nerviosa y una insensibilidad a la leptina en el trastorno por atracones que explicaría los niveles elevados de AEA en ambos (Monteleone y cols., 2005).

Respecto al uso de agonistas cannabinoides en los trastornos de la conducta alimentaria, sólo disponemos de un ensayo clínico publicado. Este ensayo, doble ciego y aleatorizado con la administración de THC en 11 pacientes con anorexia nerviosa, concluyó que el uso de THC era ineficaz y tenía efectos psíquicos adversos (Gross y cols., 1983). De cualquier forma, se ha referido que las dosis usadas de THC eran elevadas y estas dosis pueden tener un efecto anorexígeno, posiblemente a través de la liberación de CRH.

En resumen, con la información disponible no podemos decir que el SEC sea relevante en la fisiopatología de los TCA.

### **12.16. Aplicación en la clínica del efecto orexígeno de los cannabinoides**

Considerando las evidencias sobre el papel del sistema cannabinoide en la regulación de la ingesta, se han investigado las posibilidades terapéuticas de los agonistas cannabinoides como estimulantes del apetito. Ya hemos hecho referencia a su uso en un cuadro como la anorexia nerviosa. Otras patologías donde han sido estudiados son el cáncer y el SIDA. En estas son frecuentes la pérdida de apetito y la desnutrición severa y existen escasas alternativas terapéuticas eficaces, por lo que

los agonistas cannabinoides son una opción interesante dado que pueden mejorar el apetito y corregir las alteraciones metabólicas secundarias a la caquexia presente en los cuadros avanzados, donde aparecen atrofia muscular y del tejido graso, hiperlipidemia o resistencia insulínica. Los agonistas cannabinoides pueden regular positivamente un factor de transcripción como el SREBP1c que es relevante en la atrofia grasa de la caquexia y corregir la excesiva liberación de citoquinas circulantes resultado de la progresión cancerosa que inhiben la lipogénesis. Tanto la anandamida como los agonistas sintéticos del receptor CB1 inhiben significativamente la secreción de TNF $\alpha$  en células microgliales de rata estimuladas por lipopolisacáridos (Osei-Hyiaman, 2007).

La *Cannabis sativa* contiene alrededor de 60 cannabinoides, incluyendo el THC y el cannabidiol (CBD). La mayoría de ensayos clínicos publicados han evaluado un amplio rango de diferentes agonistas cannabinoides sintéticos en condiciones muy heterogéneas, lo que hace complicada la comparación de los diferentes resultados. Además en la mayoría de países el uso de cannabis medicinal es ilegal y por tanto no se dispone de productos estandarizados. En USA, sólo hay disponibles 2 cannabinoides orales (dronabinol, Marinol<sup>R</sup> y nabilona, Cesamet<sup>R</sup>). En Canadá está disponible un extracto sublingual de *C. Sativa* que contiene THC y CBD (Sativex). En Holanda se dispone de cannabis legal para uso clínico (Bedrocan, Bedrobinol y Bediol) con un contenido estandarizado de THC (18%, 13%, y 5%, respectivamente) y CBD (0.8%, 0.2%, y 6%, respectivamente) (Engels y cols., 2007).

Varios estudios con agonistas cannabinoides sugieren un efecto orexígeno, observándose un aumento del peso y el tejido graso en pacientes con SIDA (Abrams y cols., 2003), cáncer (Jatoi y cols., 2002) o enfermedad de Alzheimer (Volicer y cols., 1997). Sin embargo, disponemos aún de escasos ensayos clínicos con metodología adecuada para establecer conclusiones sobre su eficacia y tampoco se disponen de datos fiables sobre la seguridad y tolerancia de los preparados o cuáles pueden ser los más idóneos para su uso clínico.

En los últimos años, nuevos avances en la terapia antiretroviral frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) han originado diversas complicaciones, muchas de las cuales afectan al hábito corporal. Los síndromes de redistribución

grasa han creado un nuevo estigma asociado a estas terapias emergentes. Sin embargo, la caquexia asociada a la infección por VIH sigue existiendo, frecuentemente enmascarada por muchos de los cambios morfológicos que origina la terapia antirretroviral. Varios fármacos estimulantes del apetito pueden ser utilizados en pacientes con ingesta calórica inadecuada. Estos agentes típicamente incrementan el peso del paciente en forma de grasa, con un efecto limitado sobre la masa magra (Polsky y cols., 2004). En este contexto, varios ensayos clínicos con agonistas cannabinoides han sido publicados en pacientes con infección VIH, aunque ninguno ha valorado específicamente el efecto de estos fármacos sobre la lipodistrofia asociada al tratamiento antirretroviral.

El primer estudio piloto lo realizaron Plasse y cols., (1991) con dronabinol oral para corroborar lo que sus enfermos fumadores de marihuana le contaban, de mejoría de apetito, reducción de las náuseas y la ansiedad. El primer ensayo aleatorizado se debe a Beal y cols., (1995) con un seguimiento de 42 días de 139 pacientes con SIDA tratados con dronabinol a dosis de 5mg/día vía oral comparado con placebo, observando que los pacientes presentaban incremento de apetito, aunque la tendencia al incremento de peso no fue estadísticamente significativa. El 75% de los pacientes presentaron efectos secundarios leves-moderados, siendo el más frecuente la euforia, sin observarse una disminución en la cifra de linfocitos T ni progresión de la enfermedad. El incremento de peso puede deberse a un aumento de la grasa. Otros estudios confirman los efectos estimulantes del apetito en SIDA (Struwe y cols., 1993) (Tabla 12.2).

Timpone y cols., (1997) en un estudio aleatorio, abierto, compararon dronabinol (5 mg/día) con megestrol y la combinación de ambos en 52 sujetos con SIDA, indicando una superioridad del megestrol y efectos secundarios con el dronabinol como confusión, ansiedad o alucinaciones.

Abrams y cols., (2003), en sujetos con SIDA, exconsumidores de cannabis, compararon dronabinol a dosis de 7.5 mg/día con marihuana fumada (3.95% de THC, tres veces al día) durante 3 semanas y describieron un mayor incremento de peso que con el placebo.

Haney y cols., (2005), igualmente observaron un efecto positivo sobre la ingesta alimentaria en 30 sujetos con SIDA



consumidores de cannabis, comparando dronabinol a dosis de 10, 20 y 30mg diarios y marihuana fumada (hasta 3.9% de THC), de forma aleatoria, con escasos efectos secundarios excepto para el grupo de 30 mg de dronabinol. El efecto sobre el aumento de la ingesta fue superior en el grupo de pacientes con pérdida de masa muscular relevante.

TABLA 12.2  
*Ensayos clínicos aleatorizados con agonistas cannabinoides que han evaluado su efecto sobre el apetito.*

Estudio	Pacientes	Diseño del estudio	Resultados
Hollister y cols., 1971	24 voluntarios sanos	dc,cp,a,dx; THC 0,35-0,5 mg/kg	Se incrementó el apetito de forma significativa
Regelson y cols., 1976	54 pacientes con cáncer	dc,cp,a,dx; THC 0,1 mg/ Kg /8 horas.	THC significativamente superior a placebo. Efectos secundarios limitantes que obligó a retirar la medicación en un 25 % de casos.
Gross y cols.,1983	11 pacientes con AN	dc,cp,a,dx; THC 7,5-10 mg	THC no fue eficaz
Foltin y cols., 1986	9 voluntarios sanos	cp,a,dx; THC ( 1,84%, fumado)	Se incrementó el apetito de forma significativa
Beal y cols., 1995	139 pacientes con SIDA	dc,cp,a, dronabinol 2,5 mg/12 h	Dronabinol mejoró el apetito y disminuyó la nausea de forma significativa . No hubo incremento de peso significativo comparado con placebo.
Jatoi y cols., 2002	469 pacientes con cáncer	dc, cp,a Dronabinol 2.5 mg/12 h Megestrol 800 mg/d y combinación de ambos	Megestrol superior
Strasser y cols., 2006	243 pacientes con cáncer	dc, cp, a Extracto cannabis (THC y CBD), THC 2.5 mg	No diferencias en apetito frente placebo
Haney y cols.,2005	30 HIV consumidores	a, cp. Marihuana fumada (1,8%, 2,8% y 3,9% de THC), dronabinol oral (10, 20 y 30 mg diarios)	Aumento de ingesta en 15 pacientes con mayor pérdida de masa muscular. Buena tolerancia excepto con dronabinol a 30 mg/día
Haney y cols., 2007	10 pacientes HIV consumidores	dc, cp, a Marihuana fumada (2% y 3,9% de THC), dronabinol oral (5, 10 mg) cada 6 horas, durante 4 días	Ambos productos superiores al placebo en incremento de ingesta y de peso

dc: dobleciego; cp: controlado con placebo; a: aleatorio; dx: diseño cruzado

Haney y cols., (2007), en 10 pacientes con SIDA consumidores de marihuana, realizaron un ensayo clínico, doble ciego, controlado con placebo, con diseño intrasujetos, comparando marihuana fumada (2% y 3.9% de THC) y dronabinol oral (5 y 10 mg) cuatro veces al día durante 4 días. Ambos compuestos fueron superiores al placebo en mejorar la ingesta calórica y el peso. Los efectos de la intoxicación eran valorados positivamente por los sujetos. Describieron un aumento del número de ingestas aunque no las calorías de cada ingesta y un aumento de calorías procedentes de grasa, disminuyendo las de origen proteico. El consumo de marihuana (3.9%) fue superior en la mejora del sueño. A los 4 días, los pacientes incrementaron una media de 1.2 kg con dronabinol y 1.1 kg con marihuana. A pesar de las dosis elevadas de dronabinol no se describieron efectos secundarios destacados.

Dejesus y cols., (2007) publican un estudio retrospectivo con el uso de dronabinol en 117 pacientes HIV positivos seguidos durante 3-12 meses. Los autores refieren un aumento de una media de 1.7 kg en pacientes que usaron dronabinol durante un año y el porcentaje de pacientes con pérdida de apetito descendió un 45% el primer mes.

Respecto a pacientes con cáncer el primer estudio publicado fue el de Regelson y cols., (1976) (Tabla 12.2). Nelson y cols., (1994), usando dronabinol 7.5 mg diarios en 19 pacientes cancerosos observan una mejoría en 13, con efectos secundarios relevantes en el 20% de estos.

Jatoi y cols., (2002) en un ensayo clínico, doble ciego, controlado con placebo, con 469 pacientes con cáncer avanzado, seguidos durante un tiempo variable según la evolución, compararon megestrol oral a dosis de 800 mg/día con dronabinol 5 mg/día y la combinación de ambos. El grupo con megestrol mejoró en el apetito y el peso. La combinación de ambos productos no aportó mejores resultados estadísticamente significativos, aunque en el grupo con ambos fármacos un 11% más de pacientes presentaron un 10% de incremento de peso respecto al grupo de megestrol sólo. La tolerancia de dronabinol fue buena. Los autores reconocen y justifican las dosis bajas de dronabinol por el riesgo de posibles efectos secundarios.

Strasser y cols., (2006), compararon extracto de cannabis (2.5 mg de THC y 1 mg de cannabidiol) con THC 2.5 mg y placebo oral en 243 pacientes con cáncer, durante 6 semanas.

No observaron diferencias entre grupos, con incremento de apetito en 73%, 58% y 69% de los pacientes en el grupo de extracto de cannabis, THC y placebo respectivamente.

También ha sido estudiado el uso de agonistas cannabinoides en pacientes con enfermedad de Alzheimer con pérdida de apetito. En un estudio cruzado y controlado con placebo, con periodos de tratamiento de 6 semanas de duración, se investigó el efecto del dronabinol (2.5 mg 2 veces al día) en 15 pacientes con diagnóstico de enfermedad de Alzheimer que rechazaban ingesta oral. Once pacientes completaron el estudio. El peso corporal se incrementó más durante el tratamiento con dronabinol que durante el periodo placebo. Los pacientes ganaron de media 3.2 y 1.1 kg en el primer y segundo periodo respectivamente, mientras que con placebo ganaron 2.1 y 0.8 kg. El dronabinol redujo la severidad de la alteración del comportamiento. Los efectos adversos no requirieron la retirada del tratamiento (Volicer y cols., 1997).

Recientemente se ha publicado otro estudio, observacional y retrospectivo, en 28 ancianos con pérdida de peso, en el que el dronabinol oral durante 12 semanas mejoró el peso en un 53% de los pacientes, con una media de aumento de 1.4 kg, aunque 11 pacientes perdieron peso (Wilson y cols., 2007).

Por lo tanto, son necesarios más ensayos clínicos metodológicamente adecuados para poder valorar la posible utilidad clínica de los agonistas cannabinoides como estimulantes del apetito y en el tratamiento de los cuadros caquécticos de pacientes graves, valorar dosis adecuadas de estos, perfilar el perfil de tolerancia y los preparados idóneos. Los ensayos clínicos deberían ser aleatorizados, doble ciego, con principios activos estandarizados y con un tamaño muestral y duración suficientes para valorar no sólo cambios ponderales sino también variables pronósticas. Se deberían controlar estrictamente, además de la ingesta calórica y la actividad física, los cambios en la composición corporal para determinar el compartimento corporal que experimenta un mayor incremento. En la era de la moderna terapia antirretroviral, un interesante campo de investigación puede ser la utilidad de los agonistas cannabinoides en la lipodistrofia asociada al VIH.

## Bibliografía

- Abel EL (1971). Effects of marihuana on the solution of anagrams, memory and appetite. *Nature*; **231**:260-261.
- Abrams DI, Hilton JF, Leiser RJ, Shade SB, Elbeik TA, Aweeka FT y cols (2003). Short-term effects of cannabinoids in patients with HIV-1 infection: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Ann Intern Med*; **139**:258-266.
- Arnone M, Maruani J, Chaperon F, Thiebot MH, Poncelet M, Soubrie P y cols (1997). Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR 141716, an antagonist of central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacol*; **132**:104-106.
- Beal JE, Olson R, Laubenstein L, Morales JO, Bellamen P y Yangco B (1995). Dronabinol as a treatment for anorexia associated with weight loss in patients with AIDS. *J Pain Symptom Management*; **10**:89-97.
- Bellocchio L, Cervino C, Vicennati V, Pasquali R y Pagotto U (2008). Cannabinoid type 1 receptor: another arrow in the adipocytes' bow. *J Neuroendocrinol*; **20** (suppl. 1):130-138.
- Bensaid M, Gary-Bobo M, Esclangon A, Maffrand JP, Le Fur G, Oury-Donat F y cols (2003). The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 increases Acrp30 mRNA expression in adipose tissue of obese fa/fa rats and in cultured adipocyte cells. *Mol Pharmacol*; **63**:908-914.
- Berridge KC (1996). Food reward: brain substrates of wanting and liking. *Neurosci Biobehav Rev*; **20**:1-25.
- Berthoud HR (2002). Multiple neural systems controlling food intake and body weight. *Neurosci Biobehav Rev*; **26**:393-428.
- Broberger C (2005). Brain regulation of food intake and appetite: molecules and networks. *J Intern Med*; **258**:301-327.
- Capasso R y Izzo AA (2008). Gastrointestinal regulation of food intake: general aspects and focus on anandamide and oleoylethanolamide. *J Neuroendocrinol*; **20** (suppl. 1): 39-46.
- Chiang KP, Gerber AL, Sipe JC y Cravatt BF (2004). Reduced cellular expression and activity of the P129T mutant of human fatty acid amide hydrolase: evidence for a link between defects in the endocannabinoid system and problem drug use. *Hum Mol Gen*; **13**:2113-2119.
- Cota D, Marsicano G, Tschop M, Grubler Y, Flachskamm C, Schubert M y cols (2003). The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J Clin Invest*; **112**:423-431.
- Dejesus E, Rodwick BM, Bowers D, Cohen CJ y Pearce D (2007). Use of Dronabinol Improves appetite and reverses weight loss in

- HIV/AIDS-infected patients. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic Ill)*; **6**:95-100.
- Di Marzo V y Matias I (2005) Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat Neurosci*; **8**:585-589.
- Duarte C, Alonso R, Bichet N, Cohen C, Soubrie P y Thiebot MH (2004). Blockade by the cannabinoid CB1 receptor antagonist, rimonabant (SR141716), of the potentiation by quinelorane of food-primed reinstatement of food-seeking behavior. *Neuropsychopharmacol*; **29**:911-920.
- Engeli S, Bohnke J, Feldpausch M, Gorzelniak K, Janke J, Batkai S y cols (2005). Activation of the peripheral endocannabinoid system in human obesity. *Diabetes*; **54**:2838-2843.
- Engels FK, Jong FA, Mathijssen RHJ, Erkens JA, Herings RM y Verweij J (2007). Medicinal cannabis in oncology. *Europ J Cancer*; **42**:2638-2644.
- Foltin RW, Brady JV y Fischman M (1986). Behavioral analysis of marijuana effect on food intake in normals. *Pharmacol Biochem Behav*; **25**:573-582.
- Foltin RW, Fischman MW y Byrne MF (1988). Effects of smoked marijuana on food intake and body weight of humans living in a residential laboratory. *Appetite*; **11**:1-14.
- Freedland CS, Sharpe AL, Samson HH y Porrino LJ (2001). Effects of SR141716A on ethanol and sucrose self-administration. *Alc Clin Exp Res*; **25**:277-282.
- Fride E, Bregman T y Kirkham TC (2005). Endocannabinoids and food intake: newborn suckling and appetite regulation in adulthood. *Exp Biol Med*; **230**:225-234.
- Greenberg I, Kuehnle J, Mendelson JH y Bernstein JG (1976). Effects of marijuana use on body weight and caloric intake in humans. *Psychopharmacol*; (Berl). **49**:79-84.
- Gross H, Ebert MH y Faden VB (1983). A double-blind trial of delta 9-tetrahydrocannabinol in primary anorexia nervosa. *J Clin Psychopharmacol*; **3**:165-171.
- Haney M, Rabkin J, Gunderson E y Foltin RW (2005). Dronabinol and marijuana in HIV(+) marijuana smokers: acute effects on caloric intake and mood. *Psychopharmacol*; (Berl). **181**:170-178.
- Haney M, Gunderson EW, Rabkin J, Hart CL, Vosburg SK, Comer SD y cols (2007). Dronabinol and marijuana in HIV-positive marijuana smokers. Caloric intake, mood, and sleep. *J Acquir Immune Defic Syndr*; **45**:545-554.
- Higgs S, Williams CM y Kirkham TC (2003). Cannabinoid influences on palatability: microstructural analysis of sucrose drinking after delta(9)-tetrahydrocannabinol, anandamide, 2-arachidonoyl glycerol and SR141716. *Psychopharmacol (Berl)*; **165**:370-377.

- Hollister LE (1971). Hunger and appetite after single doses of marihuana, alcohol and dextroamphetamine. *Clin Pharmacol Ther*; **12**:44-49.
- Jatoi A, Windschitl HE, Loprinzi CL, Sloan JA, Dakhil SR, Mailliard JA y cols (2002). Dronabinol versus megestrol acetate versus combination therapy for cancer-associated anorexia: a North Central Cancer Treatment Group study. *J Clin Oncol*; **20**:567-573.
- Kirkham TC, Williams CM, Fezza F y Di Marzo V (2002). Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *Br J Pharmacol*; **136**:550-557.
- Liu YL, Connoley IP, Wilson CA y Stock MJ (2005). Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 on oxygen consumption and soleus muscle glucose uptake in Lep ob /Lep ob mice. *Int J Obes*; **29**:183-187.
- Matias I y Di Marzo V (2007). Endocannabinoids and the control of energy balance. *Trends Endocrinol Metab*; **18**:27-37.
- Matias I, Cristino L y Di Marzo V (2008). Endocannabinoids: some like it fat (and sweet too). *J Neuroendocrinol*; **20** (suppl. 1):100-109.
- Mattes RD, Engelman K, Shaw LM y Elsohly MA (1994). Cannabinoids and appetite stimulation. *Pharmacol Biochem Behav*; **49**:187-195.
- Mahler SV, Smith KS y Berridge KC (2007). Endocannabinoid hedonic hotspot for sensory pleasure: anandamide in nucleus accumbens shell enhances "liking" of a sweet reward. *Neuropsychopharmacol*; **32**:2267-2278.
- Monteleone P, Matias I, Martiadis V, De Petrocellis L, Maj M y Di Marzo V (2005). Blood levels of the endocannabinoid anandamide are increased in anorexia nervosa and in binge-eating disorder, but not in bulimia nervosa. *Neuropsychopharmacol*; **30**:1216-1221.
- Nakata M y Yada T (2008). Cannabinoids inhibit insulin secretion and cytosolic Ca(2+) oscillation in islet beta-cells vis CB1 receptors. *Regul Pept*; **145**:49-53.
- Nelson K, Walsh D, Deeter P y Sheehan F (1994). A phase II study of delta-9-tetrahydrocannabinol for appetite stimulation in cancer-associated anorexia. *J Palliat Care*; **10**:14-18.
- Nogueiras R, Rohner-Jeanrenaud F, Woods SC y Tschop MH (2008). The endocannabinoid system and the control of glucose homeostasis. *J Neuroendocrinol*; **20** (suppl. 1):147-151.
- Osei-Hyiaman D, DePetrillo M, Pacher P, Liu J, Radaeva S, Batkai S y cols (2005). Endocannabinoid activation at hepatic CB1

- receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J Clin Invest*; **115**:1298-1305.
- Osei-Hyiaman D (2007). Endocannabinoid system in cancer cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*; **10**:443-448.
- Pagano C, Rossato M y Vettor R (2008). Endocannabinoids, adipose tissue and lipid metabolism. *J Neuroendocrinol*; **20**(suppl. 1):124-129.
- Pagotto U, Marsicano G, Cota D, Lutz B y Pasquali R (2006). The emerging role of the endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance. *Endocrine Reviews*; **27**:73-100.
- Pazos MR, Tolón RM, Benito C, Rodríguez CF, Gorgojo JJ, Nevado M y cols (2008). Cannabinoid CB1 receptors are expressed by parietal cells of the human gastric mucosa. *J Histochem Cytochem*; **56**:511-516.
- Plasse TF, Gorter RW, Krasnow SH, Lane M, Shepard KV y Wadleigh RG (1991). Recent clinical experiences with dronabinol. *Pharmacol Biochem Behav*; **40**:695-700.
- Polsky B, Kotler D y Steinhart C (2004). Treatment guidelines for HIV-associated wasting. *HIV Clin Trials*; **5**:50-61.
- Regelson W, Butler JR, Schulz J, Kirk T, Peek L, Green ML y cols (1976). Delta-9-tetrahydrocannabinol as an effective antidepressant and appetite stimulating agent in advanced cancer patients. In: *Pharmacology of Marijuana*, vol. 2 (M.C. Braude, S. Szara). New York: Raven Press.
- Siegfried Z, Kanyas K, Latzer Y, Karni O, Bloch M, Lerer B y cols (2004). Association study of cannabinoid receptor gene (CNR1) alleles and anorexia nervosa: differences between restricting and bingeing/purging subtypes. *Am J Med Gen*; **125**:126-130.
- Strasser F, Luftner D, Possinger K, Ernst G, Ruhstaller T, Meissner W y cols (2006). Comparison of orally administered cannabis extract and delta-9-tetrahydrocannabinol in treating patients with cancer-related anorexia-cachexia syndrome: a multicenter, phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial from the Cannabis-In-Cachexia-Study-Group. *J Clin Oncol*; **24**:3394-3400.
- Struwe M, Kaempfer SH, Geiger CJ, Pavia AT, Plasse TF, Shepard KV y cols (1993). Effect of dronabinol on nutritional status in HIV infection. *Ann Pharmacother*; **27**:827-831.
- Tart CT (1970). Marijuana intoxication common experiences. *Nature*; **226**:701-704.
- Timpone JG, Wright DJ Li N, Egorin MJ, Enama ME, Mayers J y cols (1997). The safety and pharmacokinetics of single-agent and combination therapy with megestrol acetate and dronabinol for the treatment of HIV wasting syndrome. The DATRI 004 Study

- Group. Division of AIDS Treatment Research Initiative. *AIDS Res Hum Retroviruses*; **13**:305-315.
- Volicer L, Stelly M, Morris J, McLaughlin J y Volicer BJ (1997). Effects of dronabinol on anorexia and disturbed behavior in patients with Alzheimer's disease. *International J Geriatric Psychiatry*; **12**:913-919.
- Wilson MM, Philpot C y Morley JE (2007). Anorexia of aging in long term care: is dronabinol an effective appetite stimulant?-a pilot study. *J Nutr Health Aging*; **11**:195-198.
- Woods SC (2007). The endocannabinoid system: Mechanisms behind metabolic homeostasis and imbalance. *Am J Med*; **120**:S9-S17.
- Wynne K, Stanley S, McGowan B y Bloom S (2005). Appetite control. *J Endocrinol*; **184**:291-318.
- Zbucki RL, Sawicki B, Hryniewicz A y Winnicka MM (2008). Cannabinoids enhance gastric X/A-like cells activity. *Folia Histochem Cytobiol*; **46**:219-224.



# Potencial del sistema cannabinoide en el tratamiento de la adicción a las drogas

---

# 13

*F. Barrendero y R. Maldonado*

## 13.1. Introducción

La drogadicción es una enfermedad psiquiátrica que se caracteriza por el consumo abusivo de una sustancia con el fin de obtener una sensación de bienestar y/o prevenir las consecuencias negativas de su abstinencia, y que conlleva una búsqueda compulsiva de la droga, una pérdida de control en el consumo a pesar de las consecuencias negativas del mismo y recaídas sucesivas incluso tras largos periodos de abstinencia (Camí y Farré, 2003). Todas las drogas de abuso son capaces de iniciar el proceso adictivo debido a que poseen propiedades reforzantes. Sin embargo, otros procesos diferentes al refuerzo son los responsables del mantenimiento de la adicción, incluyendo las consecuencias negativas de la abstinencia y las diferentes situaciones que facilitan la recaída en la adicción como el estrés, la re-exposición a la droga y los estímulos condicionados asociados a la misma (Koob y LeMoal, 2008).

Una diversa variedad de compuestos que producen efectos farmacológicos muy diferentes son capaces de inducir un proceso adictivo entre los que se incluye a los opiáceos, psicoestimulantes, cannabinoides, alcohol y nicotina entre otros. El mecanismo de acción por el cual estos compuestos inducen sus efectos farmacológicos es también muy diverso e implica a diferentes sistemas neuroquímicos y estructuras cerebrales. Sin embargo, todas estas drogas producen alteraciones similares en determinados sistemas neuroquímicos en estructuras cerebrales bien definidas que conducen al desarrollo de la adicción (Nestler, 2005). En este sentido, múltiples estudios han demostrado la existencia de mecanismos neurobiológicos comunes para el

desarrollo de los procesos adictivos inducidos por las diferentes drogas de abuso. Así, el sistema dopaminérgico mesolímbico, el sistema opioide y los circuitos cerebrales responsables de las respuestas al estrés desempeñan un papel crucial en el desarrollo de todas las adicciones. Todas las drogas de abuso producen cambios adaptativos en estos sistemas neuroquímicos que originan importantes alteraciones en los circuitos cerebrales responsables de la motivación y el refuerzo (Koob y LeMoal, 2008). El circuito mesocorticolímbico representa la estructura cerebral común para los efectos reforzantes producidos por las diferentes drogas de abuso a través de la activación de los sistemas dopaminérgico y opioide localizados en dicho circuito (Maldonado, 2003). Los principales componentes de estas vías del refuerzo son el área tegmental ventral, que contiene los cuerpos de las neuronas dopaminérgicas y las áreas de proyección de dichas neuronas ubicadas en la zona anterior del cerebro y que incluyen el núcleo accumbens, la amígdala, los tubérculos olfatorios y el cortex límbico y prefrontal (Wise, 2004). Estos mismos circuitos cerebrales también se encuentran implicados en los efectos motivacionales negativos que se asocian a la abstinencia de las diferentes drogas de abuso (Koob y LeMoal, 2008). Por otra parte, el sistema dopaminérgico mesolímbico recibe información procedente del cortex cerebral y de otras estructuras superiores implicadas en las funciones cognitivas. La liberación de dopamina en estas estructuras del cerebro anterior ha sido propuesta como una de las principales señales neuroquímicas relacionadas con el aprendizaje. Los cambios plásticos producidos por las drogas en estas proyecciones del sistema límbico contribuyen en el mantenimiento del proceso adictivo al consolidar las conductas dirigidas hacia la búsqueda de los estímulos recompensantes (Hyman y Malenka, 2001; Kauer, 2004). Los circuitos cerebrales implicados en las respuestas al estrés también participan por su parte en los mecanismos comunes implicados en los efectos negativos de la abstinencia, los cuales juegan un papel fundamental en los procesos de recaída al consumo de drogas (Piazza y LeMoal, 1998). Sin embargo, los diferentes mecanismos que participan en el sustrato neurobiológico de los procesos adictivos no han sido aún completamente elucidados. Esta revisión está centrada en los recientes hallazgos que demuestran la participación del sistema endocannabinoide en el sustrato común

responsable de los procesos de adicción a las diferentes drogas de abuso.

### 13.2. Sistema endocannabinoide y el circuito de recompensa

El sistema endocannabinoide está constituido por receptores cannabinoides, ligandos endógenos y diversas proteínas responsables de su síntesis y degradación. Hasta el presente momento se han clonado dos receptores para cannabinoides, CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub>, ambos pertenecientes a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G caracterizados por la presencia de siete dominios transmembrana. El receptor CB<sub>1</sub> se localiza en el SNC y diversos tejidos periféricos, mientras que el CB<sub>2</sub> se encuentra fundamentalmente en células del sistema inmune, aunque de forma reciente se ha identificado también en neuronas del tallo cerebral, corteza y cerebelo (Van Sickle y cols., 2005; Ashton y cols., 2006; Gong y cols., 2006). Un nuevo receptor, GPR55, ha sido identificado como el posible tercer receptor cannabinoide en base a evidencias farmacológicas (Baker y cols., 2006). La anandamida y el 2-araquidonil glicerol son los cannabinoides endógenos mejor caracterizados hasta la fecha y se comportan como neuromoduladores, actuando como mensajeros retrógrados, en gran cantidad de procesos fisiológicos (Wilson y Nicoll, 2002). Así, los endocannabinoides liberados tras una despolarización a partir de neuronas postsinápticas activan receptores CB<sub>1</sub> presentes en neuronas presinápticas. Esta activación presináptica de los receptores cannabinoides implica la inhibición de la liberación de los neurotransmisores, excitadores o inhibidores, presentes en esa neurona. Esta vía retrógrada de control ha sido descrita inicialmente en el caso de la activación sináptica de receptores metabotrópicos de glutamato del grupo I y de receptores de dopamina D<sub>2</sub> (Melis y cols., 2004; Jung y cols., 2005).

Diferentes estudios indican que el sistema cannabinoide endógeno representa un nuevo candidato para el sustrato común de las propiedades reforzantes inducidas por las diferentes drogas de abuso (Maldonado y cols., 2006). En este sentido, los receptores cannabinoides CB<sub>1</sub> están expresados de forma abundante en los circuitos de recompensa cerebrales. Las neuronas dopaminérgicas de la vía mesocorticolímbica es-

tán controladas por transmisores excitadores e inhibidores que a su vez son modulados por la actividad de los receptores CB<sub>1</sub>. De esta forma, los endocannabinoides liberados tras una despolarización a partir del núcleo accumbens y del área tegmental ventral modulan las aferencias GABAérgicas y glutamatérgicas que actúan sobre las neuronas mesolímbicas, actuando como mensajeros retrógrados a través de la activación de los receptores CB<sub>1</sub>. La presencia de receptores CB<sub>1</sub> en otras estructuras relacionadas con la motivación y el refuerzo tales como la amígdala y el hipocampo parecen contribuir también a esta función del sistema endocannabinoide (Katona y cols., 2001). Además, los endocannabinoides participan de igual manera en la regulación de la plasticidad sináptica en el sistema mesolímbico. De esta forma, los endocannabinoides inducen depresión a largo plazo (LTD) en las sinapsis glutamatérgicas del núcleo accumbens (Robbe y cols., 2002; Mato y cols., 2008) así como en sinapsis inhibitorias del hipocampo y de la amígdala (Chevalleyre y cols., 2007). Estos efectos sobre la plasticidad son importantes en los procesos de aprendizaje relacionados con la conducta adictiva.

El sistema endocannabinoide constituye el sitio de acción primario sobre el que actúan los cannabinoides para inducir sus propiedades adictivas. Sin embargo, este sistema desempeña un papel más general en la modulación del circuito de recompensa. De acuerdo con esta hipótesis y como se describe en el presente capítulo, el sistema cannabinoide endógeno participa en las propiedades reforzantes y adictivas de las principales drogas de abuso.

### **13.3. Sistema endocannabinoide y adicción a la nicotina**

La adicción a la nicotina es un proceso complejo tanto desde el punto de vista neuroquímico como comportamental que implica a diferentes sistemas de neurotransmisión, entre ellos, el endocannabinoide (Le Foll y cols., 2008). Estudios farmacológicos indican que dosis subefectivas de nicotina y THC producen efectos reforzantes en el modelo de la preferencia de plaza condicionada cuando ambas drogas se administran conjuntamente (Valjent y cols., 2002). Además, las propiedades reforzantes de la nicotina se bloquean en ratones knockout carentes del receptor

cannabinoide CB<sub>1</sub> (Castañé y cols., 2002). Por el contrario, los mismos ratones mutantes son capaces de autoadministrarse nicotina (Cossu y cols., 2001), aunque en un modelo de autoadministración aguda en el que a los animales se les restringe el movimiento y que, por lo tanto, no evalúa el mantenimiento de una respuesta estable de autoadministración de la droga. Los estudios farmacológicos que han utilizado el antagonista de los receptores CB<sub>1</sub> rimonabant han confirmado el papel de estos receptores en los procesos de adicción a la nicotina. Así, el rimonabant reduce tanto la autoadministración de nicotina (Cohen y cols., 2002) como la preferencia de plaza condicionada inducida por la misma en ratas (Le Foll y Goldberg, 2004). No obstante, el efecto del rimonabant sobre la preferencia de plaza inducida por la nicotina no se observa si se evalúa 3 ó 12 semanas después de la fase inicial de condicionamiento (Forget y cols., 2005). El sistema endocannabinoide también media la recaída en la conducta de búsqueda de nicotina tras la abstinencia provocada por la presentación de un estímulo asociado a la droga. Así, en estudios llevados a cabo en ratas, el rimonabant atenúa la recaída inducida por la influencia de estos estímulos ambientales (Cohen y cols. 2005). Este efecto se ha relacionado recientemente con estructuras corticolímbicas tales como la amígdala basolateral, la corteza prelímbica y el núcleo accumbens (Kodas y cols., 2007). Por el contrario, los receptores CB<sub>1</sub> no participan en el desarrollo de la dependencia física inducida por la nicotina ya que el rimonabant no precipita manifestaciones de abstinencia física en ratones dependientes de la nicotina (Balerio y cols., 2004). Las manifestaciones somáticas de la abstinencia nicotínica tampoco se modifican en ratones deficientes en el receptor cannabinoide CB<sub>1</sub> (Castañé y cols., 2002). Los efectos de los endocannabinoides sobre las propiedades reforzantes de la nicotina se relacionan con la modulación que éstos ejercen sobre el sistema dopaminérgico mesolímbico. Los estudios de microdiálisis *in vivo* muestran que el rimonabant bloquea el incremento en los niveles extracelulares de dopamina en el núcleo accumbens inducido por la administración aguda de nicotina (Cohen y cols., 2002). De acuerdo con todos estos hallazgos procedentes de la investigación básica, los ensayos clínicos en fase III revelan que el rimonabant es efectivo en el cese del consumo del tabaco (STRATUS-North America y STRATUS-world-wide) y puede producir una fuerte tendencia en el cese de esta adicción en una población de mayor consumo de

tabaco diario (STRATUS-Europe). Un estudio reciente ha relacionado la existencia de polimorfismos en el gen para el receptor CB<sub>1</sub> con la vulnerabilidad para desarrollar una dependencia de nicotina (Chen y cols., 2008). En general, todos estos resultados sugieren que los receptores cannabinoides CB<sub>1</sub> representan una nueva diana potencial para el tratamiento de la adicción al tabaco.

### 13.4. Sistema endocannabinoide y adicción al alcohol

Los cannabinoides y el alcohol activan circuitos de recompensa similares y los receptores cannabinoides CB<sub>1</sub> también parecen regular las propiedades reforzantes del alcohol. Así, la administración aguda de agonistas cannabinoides estimula el consumo voluntario de alcohol en ratas Sardinian genéticamente seleccionadas por su preferencia al alcohol (sP) y en ratas Wistar (Colombo y cols., 2002). En la misma línea, el bloqueo de los receptores CB<sub>1</sub> reduce el consumo de alcohol en ratones C57BL/6 y en ratas sP y Wistar. En general, los resultados obtenidos con los ratones knockout para el receptor CB<sub>1</sub> han confirmado los datos farmacológicos previos ya que se ha descrito una reducción del consumo de alcohol así como un bloqueo de la preferencia de plaza inducida por esta droga en dichos animales knockout (Thanos y cols., 2005). Los receptores CB<sub>1</sub> también intervienen en los procesos de recaída al consumo de alcohol tras periodos de abstinencia (Alen y cols., 2008). Así, la exposición al agonista cannabinoide sintético WIN 55,212-2 o al THC induce la recaída al consumo de alcohol en ratas abstinentes (López-Moreno y cols., 2004; McGregor y cols., 2005), mientras que el rimonabant reduce el restablecimiento de un comportamiento de búsqueda de alcohol inducido por estímulos condicionados (Cippitelli y cols., 2005). El mecanismo por el cual el sistema endocannabinoide controla las propiedades reforzantes del alcohol también implica una modulación del sistema dopaminérgico mesolímbico. En efecto, el alcohol no incrementa los niveles extracelulares de dopamina en el núcleo accumbens en los ratones knockout deficientes en el receptor CB<sub>1</sub>, como fue demostrado mediante estudios de microdiálisis *in vivo* (Hungund y cols., 2003). Resultados similares se observaron cuando los ratones sin mutación

eran pretratados con rimonabant antes de la administración de alcohol (Hungund y cols., 2003). A pesar de todas las evidencias que relacionan al sistema endocannabinoide con la adicción alcohólica todavía disponemos de escasos datos clínicos sobre el posible uso de antagonistas cannabinoideos en el tratamiento de esta adicción. Los resultados de los estudios clínicos en curso con rimonabant para el tratamiento del alcoholismo podrán aportar nuevos datos de interés.

### **13.5. Sistema endocannabinoide y adicción a los opioides**

Existen numerosos estudios en la literatura científica acerca de la existencia de interacciones funcionales de carácter bidireccional entre los sistemas cannabinoide y opioide. Además, ambos sistemas participan en los circuitos neuronales responsables de la mediación de las propiedades adictivas de las principales drogas de abuso. Los receptores cannabinoideos CB<sub>1</sub> desempeñan un importante papel en la regulación de las propiedades reforzantes de los opioides. Así, la autoadministración intravenosa de morfina y la preferencia de plaza inducida por este mismo opioide son bloqueadas en los ratones knockout deficientes del receptor CB<sub>1</sub> (Ledent y cols., 1999; Martin y cols., 2000). El antagonista cannabinoide rimonabant también bloquea ambas respuestas opioides en ratones sin la citada mutación (De Vries y cols., 2003). Los efectos de este antagonista cannabinoide sobre la autoadministración de heroína son más pronunciados cuando se incrementa el esfuerzo requerido para la obtención de una infusión de la droga. En este sentido, el rimonabant reduce de forma importante la autoadministración de heroína bajo un protocolo de razón progresiva (en el que las respuestas requeridas para conseguir una infusión de la droga aumentan progresivamente durante la sesión de autoadministración), mientras que el efecto resulta más modesto en un protocolo de razón fija 5 (en el que se requieren 5 respuestas para obtener una inyección de la droga) y casi desaparece en un protocolo de razón fija 1 (una infusión de droga obtenida por cada respuesta en el manipulando activo) (Solinas y cols., 2003). El rimonabant también inhibe el comportamiento de búsqueda de heroína tras un largo periodo de abstinencia, mientras que el agonista cannabinoide HU-210 restablece esta respuesta de búsqueda (De Vries y cols., 2003;

Fattore y cols., 2003). A pesar de que los efectos reforzantes de los cannabinoides y opioides se basan en su efecto facilitador de la transmisión dopaminérgica mesolímbica, el rimonabant no modifica el incremento de la liberación de dopamina en el núcleo accumbens inducido por la heroína (Caille y Parsons, 2003).

Diversos estudios también demuestran la existencia de dependencia cruzada entre compuestos de naturaleza cannabinoide y opioide. Así, el rimonabant induce signos somáticos de abstinencia en animales dependientes de la morfina (Navarro y cols., 1998). De acuerdo con estos datos, el síndrome de abstinencia a la morfina es menor en ratones que carecen de los receptores CB<sub>1</sub> (Ledent y cols., 1999). El síndrome de abstinencia física tanto a los opioides como a los cannabinoides se asocia con cambios compensatorios en la vía del AMPc, aunque las estructuras cerebrales involucradas parecen ser diferentes según la droga de que se trate (Nestler, 2004). Cambios en la actividad de la vía de las MAP quinasas también se han relacionado con el desarrollo de la dependencia física a ambas drogas (Rubino y cols., 2005). Por consiguiente, el sistema endocannabinoide parece ser crucial tanto para la mediación de las propiedades reforzantes como para el desarrollo de la dependencia física de opioides. La existencia de interacciones bidireccionales entre los sistemas cannabinoide y opioide proporciona una base neurobiológica para esta función del sistema endocannabinoide.

### **13.6. Sistema endocannabinoide y adicción a los psicoestimulantes**

El mecanismo de acción de los psicoestimulantes se diferencia de otras drogas de abuso en que actúan directamente sobre los terminales dopaminérgicos del sistema mesolímbico. Los psicoestimulantes incrementan la actividad de las neuronas dopaminérgicas uniéndose directamente, entre otros, al transportador de dopamina inhibiendo de esta manera la recaptación de la misma. Este mecanismo en particular es importante para comprender el papel específico del sistema endocannabinoide en las propiedades reforzantes de los psicoestimulantes (Wiskerke y cols., 2008). Diversas respuestas comportamentales inducidas por la administración tanto aguda como crónica de psicoestimulantes no se modifican en los ratones



knockout deficientes en los receptores cannabinoides CB<sub>1</sub>. Así, la preferencia de plaza y la sensibilización a la actividad locomotora inducidas por la cocaína se mantienen en estos ratones mutantes (Martin y cols., 2000). La autoadministración de cocaína y anfetamina tampoco se modifica en estos animales bajo un protocolo de autoadministración aguda en el que se restringe el movimiento de los roedores (Cossu y cols., 2001). Estos resultados iniciales sugieren que los receptores CB<sub>1</sub> no están involucrados en los efectos reforzantes primarios de los psicoestimulantes. Un estudio reciente llevado a cabo en ratones deficientes en el receptor CB<sub>1</sub> ha aportado nuevos datos de interés sobre la interacción entre los psicoestimulantes y el sistema endocannabinoide (Soria y cols., 2005). Así, la adquisición de una respuesta operante de autoadministración de cocaína se ve afectada en estos ratones sobre todo cuando aumenta el esfuerzo requerido para obtener una infusión de la droga. Además, el esfuerzo máximo que el animal es capaz de realizar para obtener una infusión de cocaína, evaluado mediante un protocolo de razón progresiva, disminuye de manera importante en los ratones mutantes lo que indica una motivación menor por el consumo de la droga en ausencia del receptor CB<sub>1</sub> (Soria y cols., 2005). Un resultado similar se obtiene bajo estas mismas condiciones cuando se realiza un pretratamiento con rimonabant en animales sin mutación (Soria y cols., 2005). De acuerdo con estos resultados, la autoadministración intravenosa de MDMA (3,4-metilendioximetanfetamina) o éxtasis se bloquea en animales knockout deficientes en el receptor CB<sub>1</sub>, aunque la preferencia de plaza inducida por esta misma droga es similar en ratones knockout y en los que carecen de esta mutación (Touriño y cols., 2008). En conjunto, estos datos indican que el receptor CB<sub>1</sub> podría jugar un importante papel en la consolidación del proceso adictivo inducido por los psicoestimulantes. Los receptores CB<sub>1</sub> parecen estar igualmente implicados en los procesos de recaída a la cocaína. Así, el agonista cannabinoide HU-210 induce recaída a la búsqueda de cocaína tras un largo periodo de abstinencia, mientras que el rimonabant atenúa la recaída al consumo de cocaína asociada tanto a factores ambientales como a un nuevo contacto con la droga (De Vries y cols., 2001).

Los mecanismos precisos por lo cuales el sistema endocannabinoide modula las propiedades reforzantes de los psicoestimulantes parecen ser independientes de la activación

directa de la vía mesolímbica dopaminérgica. Así, el incremento en los niveles extracelulares de dopamina inducido por la cocaína y el MDMA en el núcleo accumbens no se modifica en los ratones knockout CB<sub>1</sub> (Soria y cols., 2005; Touriño y cols., 2008). La activación del circuito mesolímbico es esencial para que los psicoestimulantes establezcan sus efectos reforzantes primarios y, como hemos indicado con anterioridad, los receptores cannabinoides CB<sub>1</sub> no parecen participar en este proceso. La modulación del sistema endocannabinoide en el proceso de motivación necesaria para mantener la auto-administración de cocaína y de MDMA debe involucrar otros sistemas neuroquímicos distintos, también implicados en este complejo proceso adictivo. De acuerdo con esta hipótesis, la anfetamina produce LTD en la amígdala por un mecanismo independiente a la dopamina y que involucra la liberación de endocannabinoides y activación de los receptores CB<sub>1</sub> (Huang y cols., 2003). En resumen, aunque los endocannabinoides no participan en los efectos reforzantes primarios de los psicoestimulantes, son importantes para el mantenimiento de la conducta adictiva posiblemente a través de la modulación de los cambios en los procesos sinápticos inducidos por estas drogas.

### **13.7. Mecanismos involucrados en la modulación del circuito de recompensa por los endocannabinoides**

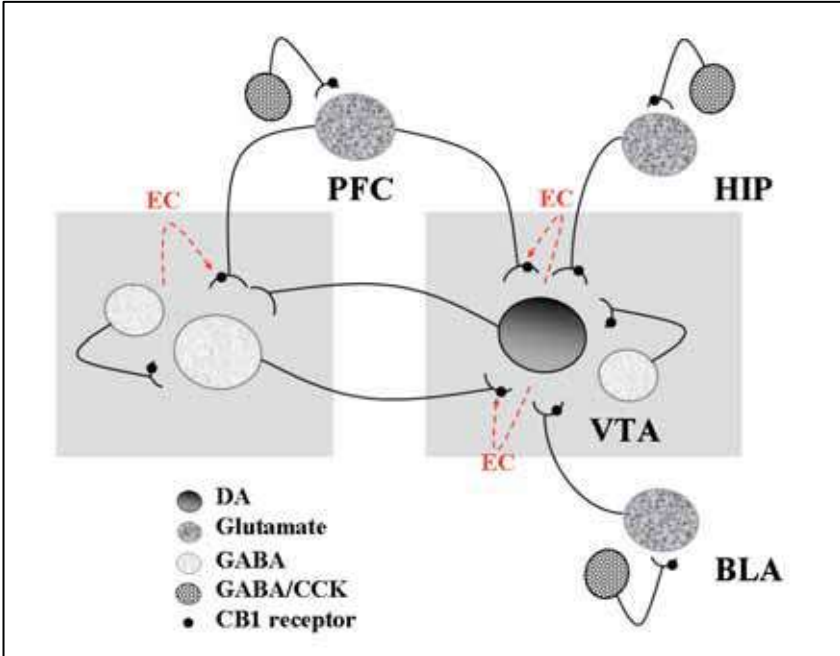
Los receptores cannabinoides CB<sub>1</sub> están presentes en diferentes regiones del circuito de recompensa del cerebro, entre ellas el área tegmental ventral y el núcleo accumbens, así como en distintas estructuras que proyectan a estos núcleos tales como la corteza prefrontal, la amígdala central y el hipocampo. Los endocannabinoides, actuando como mensajeros retrógrados, modulan las proyecciones glutamatérgicas excitatorias y GABAérgicas inhibitorias sobre el área tegmental ventral así como las proyecciones glutamatérgicas que alcanzan el núcleo accumbens (Lupica y Riegel, 2005) (Fig. 13.1). En primer lugar, la activación de los receptores CB<sub>1</sub> presentes en los terminales de las neuronas GABAérgicas en el área tegmental ventral inhiben la transmisión GABAérgica, eliminando así este freno inhibitorio sobre las neuronas dopaminérgicas. Las proyecciones glutamatérgicas que partiendo de la corteza prefrontal alcanzan el área tegmental

ventral y el núcleo accumbens serían moduladas de igual manera por el sistema endocannabinoide. El efecto final de la modulación del sistema endocannabinoide sobre la actividad dopaminérgica del sistema límbico dependerá del balance funcional entre estos factores excitatorios e inhibitorios, ambos frenados por los endocannabinoides bajo diferentes condiciones fisiológicas.

El efecto modulador que ejerce el sistema endocannabinoide sobre los efectos reforzantes primarios de las drogas de abuso podría ser dependiente de la liberación de endocannabinoides en el área tegmental ventral (Lupica y Riegel, 2005) (Fig. 13.1). Así, el sistema endocannabinoide parece estar involucrado en los efectos reforzantes primarios de los cannabinoides, opioides, nicotina y alcohol porque estas drogas inducen la despolarización de las neuronas dopaminérgicas haciendo así posible la liberación de endocannabinoides en el área tegmental ventral. Sin embargo, los psicoestimulantes incrementan los niveles de dopamina en el núcleo accumbens actuando directamente en este núcleo sobre los terminales axónicos dopaminérgicos. Este mecanismo de acción impide la liberación de endocannabinoides en el área tegmental ventral y, por tanto, podría explicar que la ausencia de los receptores CB<sub>1</sub> no modifique las propiedades reforzantes primarias de los psicoestimulantes (Le Foll y Goldberg, 2005; Lupica y Riegel, 2005). Además, el tratamiento crónico con THC, nicotina o alcohol incrementa el contenido de endocannabinoides en estructuras límbicas, mientras que la administración crónica de cocaína reduce el contenido de 2-araquidonil glicerol en estas mismas áreas cerebrales, lo que indica que ambos grupos de drogas regulan de manera diferente la transmisión endocannabinoide (González y cols., 2002a). En este mismo sentido, la administración crónica de cocaína, a diferencia de la de etanol y nicotina, disminuye los niveles de ARNm para el receptors CB<sub>1</sub> en diversas estructuras cerebrales (González y cols., 2002b).

Por otra parte, el sistema endocannabinoide modula la motivación por la búsqueda de psicoestimulantes y opioides por un mecanismo independiente de la liberación de dopamina en el núcleo accumbens. Los receptores CB<sub>1</sub> están presentes en la corteza prefrontal, estructura que constituye un nexo de unión para la integración sensorial, el procesamiento emocional y las experiencias hedónicas. Esta región cerebral es un componente importante del fenómeno adictivo ya que está involucrada en la

consolidación del refuerzo y su transformación en una experiencia hedónica (Kringelbach, 2005), pudiendo los endocannabinoides ejercer un importante papel en este proceso.



**Figura 13.1:** Lugares posibles de actuación de los endocannabinoides en la modulación de los efectos reforzantes de las drogas de abuso. En el área tegmental ventral (VTA), los receptores cannabinoides CB<sub>1</sub> están localizados a nivel presináptico sobre neuronas glutamatérgicas y GABAérgicas. Por el contrario, las neuronas dopaminérgicas del VTA no sintetizan receptores cannabinoides CB<sub>1</sub>. La activación de estos receptores en el VTA por los endocannabinoides inhibe la liberación de GABA, eliminando así el efecto inhibitorio de estas células GABAérgicas sobre las neuronas dopaminérgicas. Además, el incremento en la actividad de las neuronas dopaminérgicas induce la liberación de endocannabinoides a partir de las mismas, los cuales, actuando como mensajeros retrógrados sobre receptores CB<sub>1</sub> presinápticos inhiben tanto las proyecciones GABAérgicas inhibitorias como las glutamatérgicas excitatorias que proyectan sobre estas neuronas dopaminérgicas. Las proyecciones glutamatérgicas desde la amígdala basolateral (BLA) y el hipocampo (HIP), involucradas en procesos de motivación y memoria relacionados con los efectos reforzantes de las drogas, están también

*bajo el control de los receptores CB<sub>1</sub> a través de un efecto inhibitorio sobre neuronas presinápticas inhibitorias que liberan GABA y colecistoquinina (CCK). En el núcleo accumbens (NAc), los endocannabinoides se comportan como mensajeros retrógrados actuando principalmente sobre receptores CB<sub>1</sub> localizados en terminales axónicos de neuronas glutamatérgicas. La inhibición de la liberación de glutamato produce una inhibición posterior de las neuronas GABAérgicas que se originan en el NAc y proyectan al VTA, activando así de forma indirecta a las neuronas dopaminérgicas del VTA. Los endocannabinoides también participan en procesos de plasticidad sináptica dentro del VTA. Así, la activación repetida de aferencias glutamatérgicas que alcanzan el NAc produce depresión a largo plazo (LTD) de esta transmisión excitatoria. Este efecto depende tanto de endocannabinoides como de receptores CB<sub>1</sub> (Robbe y cols., 2002). La exposición crónica (Hoffman y cols., 2003) o incluso aguda de THC (Mato y cols., 2004) modifica esta forma de plasticidad sináptica, la cual es importante para el desarrollo de los procesos adictivos. La liberación de endocannabinoides en el VTA participa en la modulación de los efectos reforzantes de las drogas (Lupica y Riegel, 2005) lo que explicaría el papel de los receptores CB<sub>1</sub> en las propiedades reforzantes de los opiáceos, etanol, THC y nicotina. En cambio, los receptores CB<sub>1</sub> no participarían en los efectos reforzantes primarios de los psicoestimulantes al actuar directamente sobre los terminales axónicos dopaminérgicos en el NAc. Finalmente, los receptores CB<sub>1</sub> localizados sobre las proyecciones glutamatérgicas que parten de la corteza prefrontal (PFC) serían importantes en la modulación de la motivación por la búsqueda de la droga.*

La identificación reciente de los receptores CB<sub>2</sub> en el cerebro representa un sitio de acción alternativo para los endocannabinoides. Estos receptores CB<sub>2</sub> son funcionalmente activos ya que su estimulación, junto con la de los CB<sub>1</sub>, inhibe el vómito inducido por la morfina 6 glucurónico a nivel central. Aunque se requerirán estudios en el futuro para elucidar el posible papel de estos receptores durante el proceso adictivo, una revisión reciente indica que los receptores CB<sub>2</sub> podrían proporcionar nuevas dianas de actuación en procesos relacionados con la depresión y el abuso de sustancias (Onaivi y cols., 2008).

### **13.8. Conclusiones**

El sistema endocannabinoide participa en las propiedades adictivas de las principales drogas de abuso a través de, al menos,

tres mecanismos complementarios. En primer lugar, este sistema está involucrado directamente en las propiedades reforzantes primarias de los cannabinoides, la nicotina, el alcohol y los opioides a través de los efectos de dichas drogas sobre la transmisión mesolímbica dopaminérgica. En segundo lugar, el sistema cannabinoide participa en la motivación por la búsqueda de la droga por un mecanismo independiente de la dopamina, como se ha demostrado para los psicoestimulantes y los opioides. Finalmente, este sistema está implicado en la recaída a la conducta adictiva asociada a los estímulos ambientales y al nuevo contacto con la droga, actuando sobre la plasticidad sináptica que subyace a los procesos de memoria. Con el objeto de clarificar los mecanismos precisos involucrados en estas funciones del sistema endocannabinoide se precisarán futuras investigaciones que aporten nuevos datos y permitan esclarecer el alcance de estos mecanismos. Los antagonistas CB<sub>1</sub> podrían representar una nueva generación de compuestos para tratar un amplio rango de procesos adictivos. Las compañías farmacéuticas han centrado el interés de estos compuestos en el tratamiento de la dependencia al tabaco y de otras enfermedades tales como la obesidad y el riesgo cardiovascular. La posible aplicación de antagonistas CB<sub>1</sub> para el tratamiento de la adicción a otras drogas requiere ser confirmada con nuevos ensayos clínicos que esperamos puedan ser desarrollados en un futuro próximo.

## Bibliografía

- Alen F, Moreno-Sanz G, Isabel de Tena A, Brooks RD, López-Jimenez A, Navarro M y cols (2008). Pharmacological activation of CB1 and D2 receptors in rats: predominant role of CB1 in the increase of alcohol relapse. *Eur J Neurosci*; **27**:3292-3298.
- Ashton JC, Friberg D, Darlington CL y Smith PF (2006). Expression of the cannabinoid CB2 receptor in the rat cerebellum: an immunohistochemical study. *Neurosci Lett*; **396**:113-116.
- Baker D, Pryce G, Davies WL y Hiley CR (2006). In silico patent searching reveals a new cannabinoid receptor. *Trends Pharmacol Sci*; **27**:1-4.
- Balerio GN, Aso E, Berrendero F, Murtra P y Maldonado R (2004). Delta9-tetrahydrocannabinol decreases somatic and motivational manifestations of nicotine withdrawal in mice. *Eur J Neurosci*; **20**:2737-2748.

- Caillé S y Parsons LH (2003). SR141716A reduces the reinforcing properties of heroin but not heroin-induced increases in nucleus accumbens dopamine in rats. *Eur J Neurosci*; **18**:3145-3149.
- Camí J y Farré M (2003). Drug addiction. *New Eng J Med*; **349**:975-986.
- Castañé A, Valjent E, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R y Valverde O (2002). Lack of CB1 cannabinoid receptors modifies nicotine behavioural responses, but not nicotine abstinence. *Neuropharmacology*; **43**:857-867.
- Cippitelli A, Bilbao A, Hansson AC, del Arco I, Sommer W, Heilig M y cols (2005). Cannabinoid CB1 receptor antagonism reduces conditioned reinstatement of ethanol-seeking behavior in rats. *Eur J Neurosci*; **21**:2243-2251.
- Cohen C, Perrault G, Voltz C, Steinberg R y Soubrié P (2002). SR141716, a central cannabinoid (CB1) receptor antagonist, blocks the motivational and dopamine-releasing effects of nicotine in rats. *Behav Pharmacol*; **13**:451-463.
- Cohen C, Perrault G, Griebel G y Soubrié P (2005). Nicotine-associated cues maintain nicotine-seeking behavior in rats several weeks after nicotine withdrawal: reversal by the cannabinoid (CB1) receptor antagonist, rimonabant (SR141716). *Neuropsychopharmacology*; **30**:145-155.
- Colombo G, Serra S, Brunetti G, Gomez R, Melis S, Vacca G y cols (2002). Stimulation of voluntary ethanol intake by cannabinoid receptor agonists in ethanol-preferring sP rats. *Psychopharmacology*; **159**:181-187.
- Cossu G, Ledent C, Fattore L, Imperato A, Böhme GA, Parmentier M y cols (2001). Cannabinoid CB1 receptor knockout mice fail to self-administer morphine but not other drugs of abuse. *Behav Brain Res*; **118**:61-65.
- Chen X, Williamson VS, An SS, Hettrema JM, Aggen SH, Neale MC y cols (2008). Cannabinoid receptor 1 gene association with nicotine dependence. *Arch Gen Psychiatry*; **65**:816-824.
- Chevalere V, Heifets BD, Kaeser PS, Südhof TC y Castillo PE (2007). Endocannabinoid-mediated long-term plasticity requires cAMP/PKA signaling and RIM1alpha. *Neuron*; **54**:801-812.
- De Vries TJ, Shaham Y, Homberg JR, Crombag H, Schuurman K, Dieben J y cols (2001). A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nat Med*; **7**:1151-1154.
- De Vries TJ, Homberg JR, Binnekade R, Raasø H y Schoffelmeer AN (2003). Cannabinoid modulation of the reinforcing and motivational properties of heroin and heroin-associated cues in rats. *Psychopharmacology*; **168**:164-169.
- Fattore L, Spano MS, Cossu G, Deiana S y Fratta W (2003). Cannabinoid mechanism in reinstatement of heroin-seeking

- after a long period of abstinence in rats. *Eur J Neurosci*; **17**:1723-1726
- Forget B, Hamon M y Thiébot MH (2005). Cannabinoid CB1 receptors are involved in motivational effects of nicotine in rats. *Psychopharmacology*; **181**:722-734.
- Gong JP, Onaivi ES, Ishiguro H, Liu QR, Tagliaferro PA, Brusco A y cols (2006). Cannabinoid CB2 receptors: immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Res*; **1071**:10-23.
- González S, Cascio MG, Fernández-Ruiz J, Fezza F, Di Marzo V y Ramos JA (2002a). Changes in endocannabinoid contents in the brain of rats chronically exposed to nicotine, ethanol or cocaine. *Brain Res*; **954**:73-81.
- Gonzalez S, Fernandez-Ruiz J, Spargaglione V, Parolaro D y Ramos JA (2002b). Chronic exposure to morphine, cocaine or ethanol in rats produced different effects in brain cannabinoid CB(1) receptor binding and mRNA levels. *Drug Alcohol Depend*; **66**:77-84.
- Hoffman AF, Oz M, Caulder T y Lupica CR (2003). Functional tolerance and blockade of long-term depression at synapses in the nucleus accumbens after chronic cannabinoid exposure. *J Neurosci*; **23**:4815-4820.
- Huang YC, Wang SJ, Chiou LC y Gean PW (2003). Mediation of amphetamine-induced long-term depression of synaptic transmission by CB1 cannabinoid receptors in the rat amygdala. *J Neurosci*; **23**:10311-10320.
- Hungund BL, Szakall I, Adam A, Basavarajappa BS y Vadasz C (2003). Cannabinoid CB1 receptor knockout mice exhibit markedly reduced voluntary alcohol consumption and lack alcohol-induced dopamine release in the nucleus accumbens. *J Neurochem*; **84**:698-704.
- Hyman SE y Malenka RC (2005). Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci*; **2**:695-703.
- Jung KM, Mangieri R, Stapleton C, Kim J, Fegley D, Wallace M y cols (2005). Stimulation of endocannabinoid formation in brain slice cultures through activation of group I metabotropic glutamate receptors. *Mol Pharmacol*; **68**:1196-1202.
- Katona I, Rancz EA, Acsady L, Ledent C, Mackie K, Hajos N y cols (2001). Distribution of CB1 cannabinoid receptors in the amygdala and their role in the control of GABAergic transmission. *J Neurosci*; **21**:9506-9518.
- Kauer JA (2004). Learning mechanisms in addiction synaptic plasticity in the ventral tegmental area as a result of exposure to drugs of abuse. *Annu Rev Physiol*; **66**:447-475.



- Kodas E, Cohen C, Louis C y Griebel G (2007). Cortico-limbic circuitry for conditioned nicotine-seeking behavior in rats involves endocannabinoid signaling. *Psychopharmacology*; **194**:161-171.
- Koob GF y Le Moal M (2008). Addiction and the brain antireward system. *Annu Rev Psychol*; **59**:29-53.
- Kringelbach ML (2005). The human orbitofrontal cortex: linking reward to hedonic experience. *Nat Rev Neurosci*; **6**:691-702.
- Ledent C, Valverde O, Cossu G, Petitet F, Aubert JF, Beslot F y cols (1999). Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB1 receptor knockout mice. *Science*; **283**:401-404.
- Le Foll B y Goldberg SR (2004). Rimonabant, a CB1 antagonist, blocks nicotine-conditioned place preferences. *Neuroreport*; **15**:2139-2143.
- Le Foll B y Goldberg SR (2005). Control of the reinforcing effects of nicotine by associated environmental stimuli in animals and humans. *Trends Pharmacol Sci*; **26**:287-293.
- Le Foll B, Forget B, Aubin HJ y Goldberg SR (2008). Blocking cannabinoid CB1 receptors for the treatment of nicotine dependence: insights from pre-clinical and clinical studies. *Addict Biol*; **13**:239-252.
- López-Moreno JA, González-Cuevas G, Rodríguez de Fonseca F y Navarro M (2004). Long-lasting increase of alcohol relapse by the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 during alcohol deprivation. *J Neurosci*; **24**:8245-8252.
- Lupica CR y Riegel AC (2005). Endocannabinoid release from midbrain dopamine neurons: a potential substrate for cannabinoid receptor antagonist treatment of addiction. *Neuropharmacology*; **48**:1105-1116..
- Maldonado R (2003). Opioid system involvement in cannabinoid tolerance and dependence. In *Molecular biology of drug addiction* (Maldonado R., eds) pp 221-248, Humana Press. Totowa, New Jersey.
- Maldonado R, Valverde O y Berrendero F (2006). Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. *Trends Neurosci*; **29**:225-232.
- Martin M, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R y Valverde O (2000). Cocaine, but not morphine, induces conditioned place preference and sensitization to locomotor responses in CB1 knockout mice. *Eur J Neurosci*; **12**:4038-4046.
- Mato S, Chevalyere V, Robbe D, Pazos A, Castillo PE y Manzoni OJ (2004). A single in-vivo exposure to delta 9THC blocks endocannabinoid-mediated synaptic plasticity. *Nat Neurosci*; **7**:585-586.

- Mato S, Lafourcade M, Robbe D, Bakiri Y y Manzoni OJ (2008). Role of the cyclic-AMP/PKA cascade and of P/Q-type Ca<sup>++</sup> channels in endocannabinoid-mediated long-term depression in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology*; **54**:87-94.
- McGregor IS, Dam KD, Mallet PE y Gallate JE (2005). Delta9-THC reinstates beer- and sucrose-seeking behaviour in abstinent rats: comparison with midazolam, food deprivation and predator odour. *Alcohol Alcohol*; **40**:35-45.
- Melis M, Pistis M, Perra S, Muntoni AL, Pillolla G y Gessa GL (2004). Endocannabinoids mediate presynaptic inhibition of glutamatergic transmission in rat ventral tegmental area dopamine neurons through activation of CB1 receptors. *J Neurosci*; **24**:53-62.
- Navarro M, Chowen J, Rocío A Carrera M, del Arco I, Villanúa MA y cols (1998). CB1 cannabinoid receptor antagonist-induced opiate withdrawal in morphine-dependent rats. *Neuroreport*; **9**:3397-4402.
- Nestler EJ (2004). Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology*; **47** Suppl 1:24-32.
- Nestler EJ (2005). Is there a common molecular pathway for addiction? *Nat Neurosci*; **8**:1445-1449.
- Onaivi ES, Ishiguro H, Gong JP, Patel S, Meozzi PA, Myers L y cols (2008). Brain neuronal CB2 cannabinoid receptors in drug abuse and depression: from mice to human subjects. *PLoS ONE* 3:e1640.
- Piazza PV y Le Moal M (1998). The role of stress in drug self-administration. *Trends Pharmacol Sci*; **19**:67-74
- Robbe D, Kopf M, Remaury A, Bockaert J y Manzoni OJ (2002). Endogenous cannabinoids mediate long-term synaptic depression in the nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci USA*; **99**:8384-8388.
- Rubino T, Forlani G, Viganò D, Zippel R y Parolaro D (2005). Ras/ERK signalling in cannabinoid tolerance: from behaviour to cellular aspects. *J Neurochem*; **93**:984-991.
- Solinas M, Panlilio LV, Antoniou K, Pappas LA y Goldberg SR (2003) The cannabinoid CB1 antagonist N-piperidinyl-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methylpyrazole-3-carboxamide (SR-141716A) differentially alters the reinforcing effects of heroin under continuous reinforcement, fixed ratio, and progressive ratio schedules of drug self-administration in rats. *J Pharmacol Exp Ther*; **306**:93-102.
- Soria G, Mendizábal V, Touriño C, Robledo P, Ledent C, Parmentier M y cols (2005). Lack of CB1 cannabinoid receptor impairs cocaine self-administration. *Neuropsychopharmacology*; **30**:1670-1680.
- Thanos PK, Dimitrakakis ES, Rice O, Gifford A y Volkow ND (2005). Ethanol self-administration and ethanol conditioned place

- preference are reduced in mice lacking cannabinoid CB1 receptors. *Behav Brain Res*; **164**:206-213.
- Touriño C, Ledent C, Maldonado R y Valverde O (2008). CB1 cannabinoid receptor modulates 3,4-methylenedioxymethamphetamine acute responses and reinforcement. *Biol Psychiatry*; **63**:1030-1038.
- Valjent E, Mitchell JM, Besson MJ, Caboche J y Maldonado R (2002). Behavioural and biochemical evidence for interactions between Delta 9-tetrahydrocannabinol and nicotine. *Br J Pharmacol*; **135**:564-578
- Van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ, Mouihate A, Urbani P, Mackie K y cols. (2005). Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science*; **310**:329-332.
- Wilson RI y Nicoll RA (2002). Endocannabinoid signaling in the brain. *Science*; **296**:678-682.
- Wise RA (2004). Dopamine, learning and motivation. *Nat Rev Neurosci*; **5**:483-494.
- Wiskerke J, Pattij T, Schoffelmeer AN, De Vries TJ (2008). The role of CB1 receptors in psychostimulant addiction. *Addict Biol*: **13**:225-238.



# Relación del sistema cannabinoide con la fisiopatología y el tratamiento de la esquizofrenia **14**

*J.A. Ramos Atance, E. De Lago Femia y M. García Arencibia*

## **14.1. Cannabis y esquizofrenia**

Es de sobra conocido que el consumo de cannabis puede conducir en algunos casos a la aparición de trastornos psicóticos. El que estos efectos no tengan lugar en todos los consumidores parece deberse a que el  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) no actúa de la misma forma en todos ellos. La actuación de este compuesto sobre las personas afectadas se produciría sobre un sistema cannabinoide con una funcionalidad anómala. Esta alteración puede deberse a algún fallo intrínseco al mecanismo de actuación del sistema cannabinoide. Pero también puede ser el resultado de la actividad anómala de otros sistemas de neurotransmisión, como el dopaminérgico, el glutamatérgico o el GABAérgico. En este caso, la interacción de estos sistemas con el cannabinoide, sería diferente a la que tendría lugar en condiciones normales, lo que conduciría, de una manera indirecta, a la modificación de la actividad de este último.

La alteración producida en la funcionalidad del sistema cannabinoide no sería tanto el resultado del consumo de cannabis, sino la consecuencia de algo que ya estaba presente en el individuo. Bien desde antes del comienzo de la enfermedad, o bien como resultado de alguna de las alteraciones neuronales que se producen a lo largo de su desarrollo. En este caso el  $\Delta^9$ -THC incidiría sobre un sistema cannabinoide alterado, por lo que el resultado de su actuación sería diferente del producido en condiciones fisiológicas normales (Ramos y cols., 2007).

## 14.2. ¿Qué es la esquizofrenia?

La esquizofrenia es un desorden discapacitante de carácter psiquiátrico que aparece al comienzo de la edad adulta, con mayor frecuencia y con efectos más severos en el hombre que en la mujer. Se cree que la etiología de esta enfermedad está asociada a perturbaciones producidas durante el desarrollo del sistema nervioso central, que suelen permanecer silentes hasta la pubertad, lo que sugiere que la maduración postnatal del cerebro precipita su aparición. La maduración del cerebro adolescente podría verse afectada por la presencia de ciertas anomalías producidas durante el desarrollo, que contribuirían a la patofisiología de la esquizofrenia. Esta idea es apoyada por estudios de imagen cerebral y datos procedentes de cerebros de pacientes esquizofrénicos, que apuntan a fallos en algunos procesos del desarrollo como la neurogénesis, la proliferación o la diferenciación neuronal, la migración y la sinaptogénesis (Rapoport y cols., 2005).

Se piensa que la esquizofrenia es el resultado de una serie de interacciones sinérgicas entre genes, denominados de riesgo, que presentan alteraciones funcionales en las que también pueden estar implicadas determinadas situaciones ambientales. La alteración de la actividad de neurotransmisores, como dopamina, glutámico, GABA o acetilcolina, conduce a la aparición de las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

Respecto a su etiología se ha postulado que la hiperactividad dopaminérgica de las proyecciones que van del mesencéfalo al núcleo accumbens se relaciona con los síntomas positivos de la enfermedad y la hipoactividad tanto dopaminérgica como glutamatérgica presente en la corteza prefrontal, lo está con los síntomas negativos (Lisman y cols., 2008).

La dopamina fue el primer neurotransmisor implicado en la esquizofrenia. Los antagonistas de los receptores D2 reducen los síntomas positivos, a la vez que el tratamiento estándar de la enfermedad sigue basándose en el antagonismo directo o indirecto del sistema dopaminérgico.

El posterior descubrimiento de que el estado hiperdopaminérgico podría ser una consecuencia de una hipofunción del receptor glutamatérgico NMDA, amplió el conocimiento sobre la complejidad del problema. También sirvió para explicar la capacidad de dos antagonistas de este receptor, fenciclidina

(PCP) y ketamina, para inducir un espectro de síntomas positivos, negativos y cognitivos similares a los descritos en la esquizofrenia.

La aparición de la patología en la edad adulta puede estar relacionada con el hecho de que el sistema dopaminérgico sufre una importante reorganización durante la adolescencia. Así, la síntesis basal de dopamina presenta un máximo en la corteza prefrontal de la rata al comienzo de la pubertad, que disminuye posteriormente, mientras que en ese momento la síntesis es baja en el núcleo accumbens y aumenta posteriormente. La superproducción de receptores de dopamina y su eliminación en la adolescencia presenta diferencias regionales y es más marcada en las ratas macho que en las hembra (Andersen y cols., 2000). Así, las alteraciones del desarrollo que tengan lugar durante la adolescencia pueden modificar el balance de la actividad dopaminérgica entre la corteza prefrontal y las regiones subcorticales.

#### **14.3. Interacciones entre el sistema cannabinoide y el dopaminérgico**

La hipótesis hiperdopaminérgica de la esquizofrenia propone que los síntomas psicóticos están causados, al menos en parte, por un aumento de la actividad de las terminales dopaminérgicas que inciden en el sistema límbico. En principio, no puede descartarse que estas anomalías estén relacionadas con la actividad del sistema endocannabinoide, dado que las estructuras cerebrales implicadas en la patogénesis de esta enfermedad contienen densidades apreciables de receptores CB<sub>1</sub> y cantidades significativas de endocannabinoides. Un sistema endocannabinoide alterado podría estar relacionado con la esquizofrenia, como ya sabemos que lo está el dopaminérgico. Incluso puede suceder que la suma de las alteraciones de ambos sistemas contribuya al agravamiento de la enfermedad.

Una prueba a favor de la existencia de una relación entre los sistemas cannabinoide y dopaminérgico son los resultados obtenidos en áreas motoras y límbicas del cerebro de rata. La estimulación de los receptores D2 aumenta la liberación de anandamida, lo que conduce a la inhibición del comportamiento motor del animal. Es decir, la anandamida participaría en un

mecanismo inhibitorio de la actividad motora inducida por dopamina y contrarrestaría la actividad de este neurotransmisor (Giuffrida y cols., 1999).

Por otro lado, la denominada “teoría de la automedicación” postula la existencia de una alteración del sistema cannabinoide en la esquizofrenia, que volvería a la normalidad gracias al consumo de cannabis. Un estudio realizado con SPECT, muestra que la tranquilidad producida en los pacientes esquizofrénicos cuando fuman cannabis esta relacionada con una reducción de la actividad de los receptores D2 estriatales (Voruganti y cols., 2001). La actuación del  $\Delta^9$ -THC conduciría a la recuperación de la actividad “normal” del sistema endocannabinoide, lo que reduciría la hiperactividad dopaminérgica.

El que posteriormente se produzca un empeoramiento de los síntomas psicóticos en estos pacientes podría deberse a un efecto “rebote” en el que, una vez desaparecidos los efectos producidos por la actuación del  $\Delta^9$ -THC sobre el sistema cannabinoide, este “retrocedería” a una situación más “negativa” que aquella en la que se encontraba antes del “contacto” con el  $\Delta^9$ -THC. El consecuente aumento de la “presión” sobre el sistema dopaminérgico se traduciría en un incremento de los síntomas psicóticos

También se ha descrito que la disminución del transportador de dopamina observada en el Núcleo caudado de esquizofrénicos no consumidores de cannabis no aparece en los que han consumido recientemente cannabis (Dean y cols., 2003). La disminución del transportador en los cerebros de los pacientes implica un aumento de la concentración de dopamina, lo que es un dato a favor de una hiperactividad dopaminérgica en esta enfermedad. Su vuelta a valores normales tras el consumo de cannabis implicaría un efecto del  $\Delta^9$ -THC, que al normalizar los niveles del transportador recuperaría la concentración normal de dopamina. El consumo de cannabis produciría una recuperación transitoria de la actividad dopaminérgica.

Aparte del empeoramiento demostrado en los pacientes esquizofrénicos que consumen cannabis, la principal pega a la “teoría de la automedicación” es que habitualmente el consumo de cannabis es previo al inicio de la enfermedad.



#### 14.4. Alteraciones del sistema cannabinoide en la esquizofrenia

La presencia del receptor CB<sub>1</sub> en los circuitos cerebrales relacionados con la emoción sugiere que el sistema cannabinoide puede estar implicado en la aparición de la esquizofrenia. Se ha postulado una “hipótesis cannabinoide de la esquizofrenia” según la cual la existencia de alteraciones en el sistema cannabinoide puede conducir a la situación de hiperdopaminergia e hipoglutamatergia que caracterizan a la enfermedad y ser, por tanto, responsable de alguno de sus síntomas (Laviolette y Grace, 2006).

En apoyo de esta teoría se encuentra el hecho de que la administración intravenosa de  $\Delta^9$ -THC induce en controles sanos síntomas psicóticos, como delirios, alucinaciones y alteraciones cognitivas, que se parecen a las que caracterizan a la esquizofrenia, y en esquizofrénicos medicados un aumento pasajero de síntomas positivos, cuya intensidad depende de la dosis administrada (D´Souza y cols., 2005).

Se ha descrito la existencia de alteraciones en el sistema cannabinoide de pacientes esquizofrénicos como: el aumento de la densidad de los receptores CB<sub>1</sub> corticales y subcorticales; la elevación en los niveles de anandamida en el líquido cefalorraquídeo o la presencia de polimorfismos genéticos para el receptor CB<sub>1</sub>, que podría implicar una variación de su actividad, en dependencia del alelo expresado.

##### 14.4.1. Densidad de los receptores CB<sub>1</sub>

Estudios post-mortem realizados con cerebros de pacientes esquizofrénicos demuestran un aumento en la densidad de los receptores CB<sub>1</sub> en la zona dorsolateral de la corteza prefrontal (Dean y cols., 2001), en la corteza cingulada anterior (Zavitsanou y cols., 2004) y en las capas I y II de la corteza cingulada posterior (Newell y cols., 2006).

La corteza prefrontal juega un importante papel en el procesamiento de información y la planificación de tareas, la corteza cingulada anterior lo hace en aspectos cognitivos relacionados con la motivación y la atención y la corteza cingulada posterior participa en la memoria de trabajo. El aumento en la densidad de los receptores CB<sub>1</sub> que aparece en estas regiones podría estar relacionado con las alteraciones que han sido des-

critas en la esquizofrenia y con los efectos de los cannabinoides exógenos sobre estos procesos. La desregulación cannabinoide podría afectar en esta región cerebral a otros sistemas de neurotransmisión como por ejemplo el sistema dopaminérgico

#### 14.4.2. Niveles de anandamida en líquido cefalorraquídeo (LCR)

Se ha descrito un aumento en los niveles de anandamida en el LCR de pacientes esquizofrénicos tipo paranoide agudo sin tratamiento o tratados con antipsicóticos atípicos. Este aumento presenta una correlación inversa con los síntomas psicóticos. Sin embargo, los niveles son normales en pacientes tratados con antipsicóticos típicos y en pacientes con demencia o con trastornos afectivos (Giuffrida y cols., 2004).

Estos resultados indican que, de las tres enfermedades psiquiátricas valoradas, solo la esquizofrenia está relacionada con el aumento en los niveles de anandamida. También indican que la regulación de estos niveles depende de una actuación directa sobre los receptores dopaminérgicos D2, dado que los antipsicóticos típicos antagonizan dichos receptores, mientras que los atípicos tienen un espectro receptorial más amplio.

La elevación de los niveles de anandamida podría reflejar una adaptación compensatoria a la enfermedad. La correlación negativa entre estos niveles en LCR y los síntomas psicopatológicos sugiere que el aumento de la señal dopaminérgica D2, elevaría los niveles de anandamida. Este aumento podrá contribuir a la remisión de los síntomas psicóticos, pero permanecerá elevado mientras persista la hiperactividad dopaminérgica. La vuelta a niveles normales se conseguiría tras el tratamiento con antagonistas D2, como son los antipsicóticos típicos.

El aumento de los niveles de anandamida en LCR, es menor en los consumidores frecuentes de cannabis (Leweke y cols., 2007), lo que parece indicar que el  $\Delta^9$ -THC produce una disminución de la señal anandamidérgica. Al producir el  $\Delta^9$ -THC una desensibilización de los receptores CB<sub>1</sub>, el aumento en los pacientes de la actividad anandamidérgica sería contrarrestado por la menor funcionalidad de los receptores sobre los que ejerce sus efectos, lo que podría facilitar la aparición de psicosis.

Sin embargo, el aumento en los pacientes esquizofrénicos del número de receptores CB<sub>1</sub> choca con la presencia de altas concentraciones de anandamida en LCR, dado que este aumento debería producir una disminución del número de receptores CB<sub>1</sub> para tratar de “normalizar” la funcionalidad del sistema cannabinoide. El que no suceda así puede ser una anomalía “intrínseca” a la esquizofrenia. En ese caso, habría que explicar su papel en la enfermedad, aunque también podría ser un mecanismo de amplificación de los efectos que la anandamida, vía receptores CB<sub>1</sub>, produce sobre el sistema dopaminérgico.

Queda por ver si estas alteraciones del sistema endocannabinoide aparecen antes del comienzo de la esquizofrenia o si su presencia es una consecuencia de esta. También habrá que ver su origen y cómo afectan al desarrollo de la enfermedad.

#### 14.4.3. Vulnerabilidad genética

El perfil genético del individuo está relacionado con la aparición y desarrollo de la esquizofrenia. Entre los genes implicados podría encontrarse el CNR1 que codifica el receptor CB<sub>1</sub>. Uno de los polimorfismos presentes en la secuencia de este gen es la repetición del triplete AAT en el extremo 3' del exón codificador. La esquizofrenia tipo hebefrénico muestra una fuerte asociación con el alelo que presenta 9 repeticiones del triplete AAT (Ujike y Morita, 2004). La esquizofrenia hebefrénica se caracteriza por una desorganización cognitiva con intensos síntomas negativos que se asemeja a la psicosis asociada al consumo de cannabis. En otro grupo de pacientes se ha visto que la presencia del alelo con 10 repeticiones del triplete AAT puede ser un factor de protección en esquizofrenia (Martinez-Gras y cols., 2006)

Otro polimorfismo para este gen, el SNP G1359A, presenta una frecuencia menor de homocigotos para el alelo G en esquizofrénicos no consumidores de cannabis (Leroy y cols., 2001). Pero los resultados posteriores no lo han confirmado, aunque indican que la frecuencia del alelo G es significativamente más alta en pacientes no respondedores a los antipsicóticos atípicos. Estos datos apuntan a que el alelo G pueda ser un factor psicofarmacogenético (Madani y cols., 2008).

El que no se haya encontrado una relación contundente entre el gen CNR1 y la esquizofrenia puede deberse, entre otras razones, a que en las enfermedades multigénicas la contribución a la enfermedad de cada uno de los genes implicados suele ser baja y a que en la asociación entre el consumo de cannabis y la aparición de psicosis pueden intervenir mecanismos de interacción gen-ambiente. En relación con esto último, el perfil genético del individuo puede constituir un elemento de interacción con el entorno al presentar mayor sensibilidad genética a determinados factores ambientales.

Un ejemplo de este tipo de interacciones es el polimorfismo VAL(158)MET para la catecol-O-metil transferasa (COMT). Los individuos homocigotos para el alelo VAL tienen más probabilidades de exhibir síntomas psicóticos y de desarrollar desórdenes esquizofreniformes, cuando consumen cannabis que cuando no lo hacen (Caspi y cols., 2005). La COMT, una de las enzimas encargadas de la degradación de la dopamina, presenta una actividad más alta en estos homocigotos que en los portadores del alelo MET, por lo que la presencia en estos individuos de un sistema dopaminérgico alterado puede favorecer los efectos perniciosos del consumo de cannabis. En este caso, el factor ambiental “consumo de cannabis” afectaría negativamente al subgrupo de consumidores portadores del alelo VAL, lo que convertiría al gen de la COMT en un “gen de predisposición o de riesgo” para la esquizofrenia.

A simple vista, el que los síntomas aparezcan en aquellos consumidores de cannabis con mayor actividad enzimática, parece implicar una disminución de la presencia de dopamina en el espacio intersináptico. Este dato no encajaría en la teoría de la “hiperactividad dopaminérgica” y con que esta hiperactividad está relacionada con los síntomas positivos de la esquizofrenia. A falta de un mejor conocimiento de este caso, lo único que se puede decir es que el cerebro no es un sistema “on-off”, sino que cada manifestación de su funcionalidad es el resultado final de un balance de las actividades a favor y en contra de su realización. En este caso la hipofuncionalidad podría afectar a actividades puntuales especialmente relacionadas con los síntomas que aparecen en los consumidores de cannabis. Tampoco debemos olvidar que en la aparición de estos síntomas influyen otros factores, que también podrían formar parte del endofenotipo patológico que establece las diferencias

existentes entre los pacientes esquizofrénicos en la manifestación de la enfermedad.

El que el riesgo de psicosis no aumente en la misma proporción que el consumo de cannabis podría deberse a que si solo un alelo esté relacionado con la enfermedad, esto limita el número de personas expuestas al correspondiente factor ambiental. El que haya otros genes de “predisposición”, con características similares a las aquí citadas, unido a la posibilidad de que, para que se manifieste la alteración psiquiátrica, sea necesario el solapamiento entre algunos de estos genes, limita aún mas el número de posibles candidatos .

#### **14.5. Papel del sistema cannabinoide en el desarrollo y la regeneración neuronal**

Dado que la esquizofrenia es una enfermedad cuya etiología está asociada a perturbaciones producidas durante el desarrollo del sistema nervioso central, sería interesante conocer cómo participa el sistema cannabinoide en dicho desarrollo. Ello nos permitiría valorar su posible participación en la génesis de la enfermedad.

Los primeros datos disponibles indican que el sistema cannabinoide participa en la regulación de la diferenciación de las células progenitoras neuronales, lo que puede ser importante durante el desarrollo cerebral o contribuir posteriormente a la plasticidad del cerebro adulto (Berghius y cols., 2007).

El sistema cannabinoide está presente en el cerebro desde edades muy tempranas del desarrollo. Los receptores CB<sub>1</sub> fueron detectados en humanos desde la semana 14 de gestación en las zonas CA2-CA3 del hipocampo. Se observa un aumento progresivo de su concentración en la corteza frontal, hipocampo, ganglios basales y cerebelo, siendo los receptores CB<sub>1</sub> funcionalmente activos desde las etapas iniciales del desarrollo (Mato y cols., 2003).

La enzima FAAH se ha detectado en la glía radial en las últimas etapas de la gestación y postnatalmente. La localización celular de FAAH, unida al control que ejercen los endocannabinoides sobre la astrogliogénesis, sugieren la implicación del sistema cannabinoide en la diferenciación de los progenitores neuronales. Los endocannabinoides producidos

en microentornos neuronales pueden proporcionar señales extracelulares que modulen algunas de las etapas relacionadas con la elección del destino final y con la proliferación de los progenitores neuronales, así como contribuir al mantenimiento del adecuado balance neurona-glía durante el desarrollo cerebral (Aguado y cols., 2006).

El sistema cannabinoide también regula en las zonas subcorticales VZ/SVZ la proliferación y migración de los correspondientes progenitores neuronales, lo que contribuye a definir las posiciones finales y las densidades de las células piramidales inmaduras. Posteriormente los endocannabinoides actúan sobre estas células en relación con su polarización y la formación de sus axones glutamatérgicos. La modificación de la funcionalidad de los receptores CB<sub>1</sub>, mediante manipulaciones genéticas o farmacológicas, produce un déficit en la fasciculación del tejido y conduce a la formación de interconexiones sinápticas incorrectas (Mulder y cols., 2008).

También se ha visto que la anandamida, en cooperación con el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), induce la migración de las interneuronas GABAérgicas que poblaran la corteza embrionaria y que la administración de  $\Delta^9$ -THC aumenta la densidad de estas neuronas en hipocampo (Berghius y cols., 2007).

Todos estos datos apuntan a que, durante la corticogénesis, la anandamida puede ser definida como un nuevo tipo de "morfógeno". Su actuación es indispensable para la especificación de las neuronas corticales y en la ejecución de los patrones de conectividad entre neuronas. La inhibición de la síntesis de estos compuestos atenúa la diferenciación neuroquímica de las células piramidales y conduce a una prematura formación de las correspondientes sinapsis.

Es decir, la manipulación del sistema cannabinoide durante el desarrollo cerebral conduce a una incorrecta finalización de determinadas conexiones corticales. Esto mismo podría estar ocurriendo en el cerebro de los pacientes esquizofrénicos, en aquellos casos en los que exista alguna alteración en el desarrollo de la funcionalidad del sistema cannabinoide.

Se ha descrito recientemente que en el cerebro adulto se produce neurogénesis. Se sabe que el estrés y la depresión la inhiben, especialmente en el hipocampo, mientras que la terapia electroconvulsiva y el tratamiento crónico con antidepresi-

vos convencionales la aumentan. También se ha indicado que los endocannabinoides promueven la neurogénesis (Jiang y cols., 2005) y los receptores CB<sub>1</sub> son necesarios para la supervivencia de las neuronas hipocampales (Bilkei-Gorzo y cols., 2005). Estos resultados son de especial importancia porque indican un posible papel de los endocannabinoides en el mantenimiento de la funcionalidad en el cerebro adulto ante determinado tipo de agresiones del entorno.

#### **14.6. Tratamiento de la esquizofrenia**

Los medicamentos más utilizados en el tratamiento de la esquizofrenia pueden clasificarse en tres grupos: los antipsicóticos típicos o de primera generación (FGA), los antipsicóticos atípicos y los agonistas parciales de los receptores dopaminérgicos. Estos dos últimos grupos son denominados antipsicóticos de segunda generación (SGA). Todos ellos inciden sobre el sistema dopaminérgico, aunque utilizando mecanismos de acción diferentes (Miyamoto y cols., 2005).

La nueva generación de fármacos ha reducido de forma apreciable los efectos secundarios asociados al tratamiento con los antipsicóticos típicos como los síntomas extrapiramidales o la disquinesia tardía. Pero ha dado lugar a la aparición de otros efectos, como ganancia de peso, hiperglicemia y dislipidemia, que también impactan en la salud y la calidad de vida de los pacientes.

Los FGA son antagonistas de los receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub>, mientras que los SGA tienen múltiples sitios de actuación. Entre las dianas de estos últimos no solo se encuentra el receptor dopaminérgico D<sub>2</sub>, sino que, en dependencia de su estructura química, puede actuar sobre otros tipos de receptores, como los dopaminérgicos (D<sub>1</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub>), serotoninérgicos (5HT<sub>1A</sub>, 5HT<sub>2C</sub>, 5HT<sub>6</sub>, 5HT<sub>7</sub>), muscarínicos e histaminérgicos. Así, cada fármaco modulará de forma diferente la neurotransmisión dopaminérgica en dependencia de los tipos de receptores para los que haya sido diseñada su estructura.

##### *14.6.1. Utilización de fármacos relacionados con el sistema cannabinoide*

El que el sistema cannabinoide aparezca alterado en la esquizofrenia induce a pensar que su vuelta a la normalidad

pueda servir para curar a los pacientes, o al menos para el tratamiento de alguno de los síntomas que caracterizan esta enfermedad.

En el caso de los antagonistas selectivos de los receptores CB<sub>1</sub>, los resultados obtenidos en modelos animales sugieren que estos compuestos pueden ser efectivos en el tratamiento de la esquizofrenia. Así, rimonabant y AM251 revierten la alteración de la inhibición prepulso (PPI), producida por la administración de fenciclidina. La recuperación es comparable a la producida por clozapina (Ballmaier y cols., 2007). Estos resultados indican que los antagonistas del receptor CB<sub>1</sub> pueden tener un perfil antipsicótico, al actuar sobre las interacciones existentes entre los sistemas cannabinoide y glutamatérgico, que están implicadas en la esquizofrenia y que fueron alteradas por la fenciclidina (Kargieman y cols., 2007).

Sin embargo, solo existe un artículo en la literatura que presente los resultados de la administración de rimonabant a pacientes esquizofrénicos (Meltzer y cols., 2004). En dicho trabajo no se encontraron diferencias con el grupo placebo. El resultado negativo pudo deberse: a la limitación en el número de pacientes, a la dosis utilizada o al tiempo de administración. Sin embargo, aunque hay constancia de que se están realizando nuevos ensayos clínicos, los resultados no han sido publicados.

Una posible explicación de esta ausencia de publicaciones puede ser la aparición de algunos casos de depresión o de ansiedad en el tratamiento de la obesidad con rimonabant. El 9% de los pacientes a los que se administró 20 mg/día del compuesto indicaron síntomas de depresión frente al 5% de los que se les dio placebo. El número de participantes que necesitaron algún fármaco ansiolítico o hipnótico fue del 9% entre los que tomaron 20 mg/día de rimonabant, frente al 5% entre los que tomaron 5 mg/día y del 4% entre los que tomaron placebo (Christensen y cols., 2007).

Por otro lado, los pacientes tratados con rimonabant disminuyen su peso y mejoran parámetros como la hiperglicemia y la dislipidemia, que aparecen como efectos secundarios en el tratamiento con los SGA (Van Gaal y cols., 2005). Luego el diseño de nuevos antagonistas CB<sub>1</sub>, que conjuguen sus efectos antipsicóticos con la disminución de los riesgos antes cita-



dos, podría dar lugar a una nueva aproximación farmacológica al tratamiento de la esquizofrenia.

Otro compuesto que está siendo estudiado es el cannabidiol (CBD). Estudios realizados en modelos animales sugieren que este compuesto posee propiedades antipsicóticas con un perfil farmacológico similar al de los SGA. CBD, al igual que el haloperidol, reduce en ratas el comportamiento estereotipado producido por apomorfina de forma dosis-dependiente. Pero no produce efectos extrapiramidales ni catalepsia, y el aumento de los niveles plasmáticos de prolactina es menor que el producido por haloperidol (Zuardi y cols., 2006a).

Los estudios realizados en humanos también sugieren un perfil antipsicótico para el CBD, salvo en el caso de pacientes resistentes. Así, el CBD revierte en controles el desacoplamiento en el procesamiento de la información visual inducido por la administración de nabilona, lo que sugiere un efecto antipsicótico por parte de este compuesto (Leweke y cols., 2000). Además, el CBD atenúa algunos efectos perceptivos producidos por la administración de dosis subanestésicas de ketamina, lo que apoya dichas propiedades antipsicóticas (Bosi y cols., 2003).

La primera prueba realizada con CBD en pacientes esquizofrénicos fue con una joven de 19 años que presentaba efectos secundarios severos, tras la administración de antipsicóticos convencionales. Se observó una notable mejoría, que desapareció al suspender el tratamiento (Zuardi y cols., 1995). Posteriormente, se administró CBD, durante 4 semanas, a 3 pacientes varones entre 22 y 23 años, que no habían respondido a los antipsicóticos típicos. El tratamiento no produjo ningún efecto secundario, y se observó una mejoría en uno de los pacientes, mientras que los otros dos no respondieron al tratamiento (Zuardi y cols., 2006b).

Por otro lado el grupo de Leweke, presentó en el 2005 un estudio clínico a doble ciego, controlado, en 42 pacientes esquizofrénicos agudos o con psicosis esquizofrenizorme. El CBD reducía significativamente los síntomas psicóticos agudos tras un periodo de 2 a 4 semanas de tratamiento. La mejoría era similar a la obtenida con amisulpride, pero había una disminución de los efectos secundarios producidos por este último (síntomas extrapiramidales, hiperprolactinemia, aumento de peso) (Leweke y cols., 2005).

Más recientemente Zuardi y cols. (2008), han tratado durante cuatro semanas, con una dosis oral de 150 mg/día de cannabidiol a cuatro hombres y seis mujeres diagnosticados de enfermedad de Parkinson, acompañada de psicosis durante un periodo superior a tres meses. Los síntomas psicóticos mostraron una disminución significativa tras el tratamiento, sin que empeorara la función motora, ni se observaran efectos adversos durante el tratamiento.

En cuanto a la posible utilización en el tratamiento de la esquizofrenia de otros compuestos relacionados con el sistema cannabinoide, los estudios que se vienen realizando en modelos animales abren la puerta a la aplicación en un futuro no muy lejano de inhibidores de la recaptación de endocannabinoides o de inhibidores de la actividad de las enzimas relacionadas con su degradación.

También se puede pensar en la utilización de fármacos que actúen sobre los receptores CB<sub>2</sub>. Este tipo de agonistas estimulan, en hipocampo, la proliferación de progenitores neuronales, tanto en las últimas etapas fetales como en el cerebro adulto (Palazuelos y cols., 2006). Estos datos amplían las posibilidades de realización de nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de los desórdenes neurológicos. El que los receptores CB<sub>2</sub> no presenten propiedades psicoactivas es otro dato a favor de la utilización de los agonistas CB<sub>2</sub> en estos desórdenes.

## Bibliografía.

- Aguado T, Palazuelos J, Monory K, Stella N, Cravatt B, Lutz B y cols (2006). The endocannabinoid system promotes astroglial differentiation by acting of neural progenitor cells. *J Neurosci*; **26**:1551-61.
- Andersen SL, Thompson AT, Rutstein M, Hostetter JC y Teicher MH (2000). Dopamine receptor pruning in prefrontal cortex during periadolescent period in rats. *Synapse*; **37**:167-9.
- Ballmaier M, Bortolato M, Rizzetti C, Zoli M, Gessa G, Heinz A y cols (2007). Cannabinoid receptor antagonists counteract sensorimotor gating deficits in the phencyclidine model of psychosis. *Neuropsychopharmacology*; **32**:2098-107.
- Berghius P, Rajniecek AM, Morozov YM, Ross RA, Mulder J, Urbán GM y cols (2007). Harwaring the brain: endocannabinoids shape neural connectivity. *Science*; **316**:1212-6.

- Bilkei-Gorzo A, Racz I, Valverde O, Otto M, Michel K, Sastre M y cols (2005). Early age-related cognitive impairment in mice lacking cannabinoid CB1 receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*; **102**:1670-5.
- Bosi DC, Hallak JEC, Dursum SM y cols (2003). Effects of cannabidiol on (s)-ketamine-induced psychopathology in healthy volunteers. *J Psychopharmacology*; **17**(suppl)A55
- Caspi A, Moffitt TE, Cannon M, McClay J, Murray R, Harrington HL y cols (2005). Moderation of the effect of adolescent-onset cannabis use on adult psychosis by a functional polymorphism in the catechol-O-methyltransferase gene: longitudinal evidence of a gene-environment interaction. *Biol Psychiatry*; **57**:1117-27.
- Christensen R, Kristensen PK, Bartels EM, Bliddal H y Astrup A (2007). Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. *The Lancet*; **370**:1706-13.
- Dean B, Sundram S, Bradbury R, Scarr E y Copolov DL (2001). Studies on 3H-CP-55940 binding in the human central nervous system: regional specific changes in density of cannabinoid-1 receptors associated with schizophrenia and cannabis use. *Neuroscience*; **103**:9-15.
- Dean B, Bradbury R y Copolov DL (2003). Cannabis-sensitive dopaminergic markers in post-mortem central nervous system: changes in schizophrenia. *Biol. Psychiatry*; **53**:585-592.
- D'Souza DC, Abi-Saab WM, Madonick S, Forselius-Bielen K, Doersch A, Braley G y cols (2005).  $\Delta$ -9-tetrahydrocannabinol effects in schizophrenia: implications for cognition, psychosis, and addiction. *Biol Psychiatry*; **57**:594-608.
- Giuffrida A, Parsons LH, Kerr TM, Rodríguez de Fonseca F, Navarro M y Piomelli D (1999). Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum. *Nature Neurosci*; **2**:358-363.
- Giuffrida A, Leveke FM, Gerth CW, Schreiber D, Koethe D, Faulhaber J y cols (2004). Cerebrospinal anandamide levels are elevated in acute schizophrenia and are inversely correlated with psychotic symptoms. *Neuropsychopharmacology*; **29**:2108-2114.
- Jiang W, Zhang Y, Xiao L, Van Cleemput J, Ji SP, Bai G y cols (2005). Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic and antidepressant-like effects. *J. Clin Invest*; **115**:3104-16.
- Kargieman L, Santana N, Mengod G, Celada P y Artigas F (2007). Antipsychotic drugs reverse the disruption in prefrontal cortex function produced by NMDA receptor blockade with phencyclidine. *Proc Natl Acad Sci USA*; **104**:14843-8.
- Laviolette SR y Grace AA (2006). The roles of cannabinoid and dopamine receptors systems in neural emotional learning

- circuits: implications for schizophrenia and addiction. *Cell Mol Life Sci*; **63**:1597-613.
- Leroy S, Griffon N, Bourdel MG, Olié JD, Poirier MF y Krebs MO (2001). Schizophrenia and cannabinoid receptor type 1 (CB1): association study using a single base polymorphism in coding exon. *Am J Med Genet*; **105**:749-52.
- Leweke FM, Schneider U, Radwan M, Schmidt E y Emrich HM (2000). Different effects of nabilone and cannabidiol on binocular depth inversion in Man. *Pharmacol Biochem Behav*; **66**:175-81.
- Leweke AJ, Koethe D, Gerth CW, Nolden BM, Schreiber D, Hänsel A y cols (2005). Cannabidiol as an antipsychotic: a double-blind controlled clinical trial on cannabidiol vs amisulpride in acute schizophrenics. 2005 IACM 3rd Conference on Cannabinoids in Medicine. Leiden, The Netherlands, 9-10 September 2005.
- Leweke AJ, Giuffrida A, Koethe D, Schreiber D, Nolden BM, Kranaster L y cols (2007). Anandamide levels in cerebrospinal fluid of first-episode schizophrenic patients: impact of cannabis use. *Schizophr Res*; **94**:29-36.
- Lisman JE, Coyle JT, Green RW, Javitt DC, Benes FM, Herkers S y cols (2008). Circuit-based framework for understanding neurotransmitter and risk gene interactions in schizophrenia. *Trends in Neurosci*; **31**:234-42.
- Madani N, Tabeze JP, Ramoz N, Ades J, Hamon M, Sarfati Y y cols (2008). The CNR1 gene as a pharmacogenetic factor for antipsychotics rather than a susceptibility gene for schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol*; **18**:34-40.
- Martinez-Gras I, Hoenicka J, Ponce G, Rodríguez-Jimenez R, Jiménez-Arriero MA, Perez-Hernandez E y cols (2006). (AAT) repeat in the cannabinoid receptor gene CNR1: association with schizophrenia in a Spanish population. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*; **256**:437-41.
- Mato S y cols (2003). Ontogenetic development of cannabinoid receptor expresión and signal transduction functionality in the human brain. *Eur J Neurosci*; **17**:1747-54.
- Meltzer HY, Arvanitis L, Bauer D y Rein W (2004). Placebo-controlled evaluation of four novel compounds for the treatment of schizophrenia and schizoaffective disorders. *Am J Psychiatry*; **161**:975-84.
- Miyamoto S, Duncan GE, Marx CE y Lieberman JA. (2005). Treatments for schizophrenia: a critical review of pharmacology and mechanisms of action of antipsychotic drugs. *Molecular Psychiatry*; **10**:79-104.
- Mulder J, Aguado T, Keimpema E, Barabás K, Ballester CJ, Nguyen L y cols (2008). Endocannabinoids signaling controls pyramidal

- cell specification and long-range axon patterning. *Proc Natl Acad Sci USA*; **105**:8760-5.
- Newell KA, Deng C y Huang XF (2006). Increased cannabinoid receptor density in the posterior cingulate cortex in schizophrenia. *Exp. Brain Res*; **172**:550-560.
- Palazuelos J, Aguado T, Egia A, Mechoulam R, Guzman M y Galve-Roperh I (2006). Non-psychoactive CB2 cannabinoid agonists stimulate neural progenitor proliferation. *FASEB J*; **20**:E1773-9.
- Ramos JA, Rubio M y de Miguel R (2007). Efectos producidos por el consumo de cannabis: aspectos neuroquímicos. Pgs 11-24. En Aspectos psiquiátricos del consumo de cannabis. Ramos JA, ed. Editorial SEIC. Madrid.
- Rapoport R Addington AM, Frangou S y PSUC MR (2005). The neurodevelopmental model of schizophrenia; update 2005. *Mol Psychiatry*; **10**:434-49.
- Semple DM, McIntosh AM y Lawrie SM (2005). Cannabis as a risk factor for psychosis: systematic review. *J Psychopharmacol*; **19**:187-94.
- Sundram S, Copolov D y Dean B. (2005). Clozapine decreases (3H)CP-55940 binding to the cannabinoid 1 receptor in the rat nucleus accumbens. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*; **371**:428-33.
- Ujike H y Morita Y (2004). New perspectives in the studies of endocannabinoid and cannabis: cannabinoid receptors and schizophrenia. *J Pharmacol Sci*; **96**:376-81
- Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rössner S, for the RIO-Europe Study Group (2005). Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-europe study. *The Lancet*; **365**:1389-1397.
- Voruganti LN, Slomka P, Zabel P, Mattar A y Awad AG (2001). Cannabis induced dopamine release: an in vivo SPECT study. *Psychiatry Res*; **197**:173-177.
- Zavitsanou K, Garrick T y Huang XF (2006). Selective antagonist 3H-SR141716A binding cannabinoid CB1 receptor is increased in the anterior cingulate cortex in schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*; **28**:355-360.
- Zuardi AW, Morais SL, Guimaraes FS y Mechoulam R (1995). Antipsychotics effects of cannabidiol. *J Clin Psychiatry*; **56**:485-6.
- Zuardi AW, Crippa JAS, Hallak JEC, Moreira FA y Guimaraes FS (2006a). Cannabidiol, a cannabis sativa constituent, as an antipsychotic drug. *Brazilian J Medical and Biological Research*; **39**:421-9.

- Zuardi AW, Hallak JEC, Dursun SM, Morais SL, Sanches RF, Musty RE y cols (2006b). Cannabidiol monotherapy for treatment-resistant schizophrenia. *J Psychopharmacol*; **20**:683-6.
- Zuardi AW, Crippa JAS, Hallak JEC, Pinto J, Chagas M, Rodrigues G y cols (2008). Cannabidiol for the treatment of psychosis in Parkinson's disease. *J Psychopharmacol*; Nov 21 (Epub ahead of print).

# Relación del sistema cannabinoide con la fisiopatología y el tratamiento de la depresión

---

# 15

*L. Urigüen, J.E. Ortega y L.F. Callado*

## 15.1. Introducción

La activación del sistema cannabinoide endógeno además de producir una serie de efectos somáticos bien conocidos (hipoactividad locomotora, aumento del apetito o analgesia) (Mackie, 2006), parece tener un papel importante, aunque relativamente desconocido, en la etiopatogenia de diversos trastornos neuropsiquiátricos. En este sentido, son numerosas las evidencias que indican que la modulación de la señalización cannabinoide puede resultar útil en el tratamiento de alteraciones mentales como la ansiedad, la depresión o las adicciones (Viveros y cols., 2005; Maldonado y cols., 2006).

La depresión es un trastorno psiquiátrico caracterizado por un conjunto de síntomas cuya característica principal es la pérdida de la capacidad para disfrutar o mostrar interés y/o placer en las actividades habituales (anhedonia). Otras características son cambios en el peso corporal, en el patrón del sueño y en el comportamiento psicomotor así como en el funcionamiento cognitivo. La coincidencia entre las alteraciones que se producen durante la depresión en determinadas funciones fisiológicas y aquellas inducidas por la señalización cannabinoide sugiere que la activación del sistema endocannabinoide juega un papel importante en la regulación de los trastornos del ánimo. De hecho, tanto el consumo prolongado como la abstinencia a cannabis a menudo se asocian con el desarrollo de sintomatología depresiva, aunque elucidar si el consumo de cannabis contribuye efectivamente al desarrollo de la enfermedad es todavía un tema de debate (Degenhardt y cols., 2003).

## 15.2. Hipótesis actuales sobre la etiopatogenia de la depresión

Durante las últimas décadas gran parte de los estudios sobre las bases neurobiológicas de la depresión se han desarrollado a partir de lo que se conoce como la teoría monoaminérgica de la depresión. Según esta teoría, la etiopatogenia de la depresión endógena estaría relacionada con una reducción de la actividad monoaminérgica (noradrenérgica y/o serotoninérgica) en el Sistema Nervioso Central (Schildkraut, 1965). De este modo, los fármacos antidepresivos actuarían compensando este déficit mediante el incremento de los niveles de noradrenalina (NA) o serotonina (5-HT) en la hendidura sináptica.

Por otra parte, numerosas evidencias tanto directas como indirectas parecen apuntar hacia una posible implicación de alteraciones de la plasticidad neuronal en el origen de la depresión. En este sentido, diversos estudios han demostrado, mediante la utilización de técnicas de resonancia magnética, la existencia de alteraciones estructurales en el cerebro de pacientes con depresión en comparación con sujetos sanos. Así, por ejemplo, se ha descrito una reducción en el volumen del hipocampo en pacientes deprimidos sin tratamiento (MacQueen y cols., 2003). Sin embargo, esta disminución hipocampal no se observa en pacientes que han sido tratados con antidepresivos. Estos resultados sugieren que la depresión podría inducir una pérdida celular o atrofia hipocampal que es revertida por el adecuado tratamiento con antidepresivos. Estos hallazgos han dado lugar a una nueva teoría denominada hipótesis neurotrófica de la depresión. A partir de ella, estudios preclínicos recientes han demostrado que mientras que en modelos animales de depresión se observa una disminución de la proliferación celular y la neurogénesis, el tratamiento crónico con antidepresivos promueve dicha neurogénesis. Los antidepresivos producirían tal efecto al aumentar los niveles de factores tróficos como el BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) (Santarelli y cols., 2003).

Por el contrario, tanto el estrés agudo como el crónico disminuyen la proliferación celular y la neurogénesis, efecto que se revierte con la administración crónica de antidepresivos.

El estrés representa un grupo de respuestas fisiológicas complejas que el organismo de los mamíferos ha desarrollado



con el objetivo de mantener la homeostasis corporal ante situaciones adversas o eventos vitales negativos. Esta respuesta está mediada por el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal (HPA), que se encuentra desregulado en el 30%-50% de los casos de depresión mayor (Gibbons, 1964). Se ha propuesto que el aumento de la secreción de glucocorticoides podría ser responsable de la disminución de la proliferación celular. De hecho, la administración exógena de glucocorticoides produce una disminución de la proliferación celular y la neurogénesis (Wong y Herbert, 2006) y la pérdida de volumen hipocampal se revierte parcialmente cuando los niveles circulantes de cortisol disminuyen (Starkman y cols., 1999).

### 15.3. Alteraciones del sistema endocannabinoide en la depresión

Existen numerosas evidencias que indican que el sistema endocannabinoide se altera en estados de ansiedad y depresión tanto en humanos como en animales de experimentación.

En humanos, la administración de  $\Delta^9$ -THC produce sentimientos subjetivos de euforia y ansiólisis, pero también disforia y ansiedad dependiendo del contexto y el patrón de consumo. Del mismo modo, la administración de  $\Delta^9$ -THC en roedores produce efectos mixtos en el comportamiento emocional. Dosis bajas de agonistas cannabinoideos inducen ansiólisis mientras que dosis de moderadas a altas resultan ansiogénicas, aunque estos efectos dependen también de otros factores como la cepa, edad, género o ambiente.

También se han observado, en humanos, cambios en la señalización cannabinoide que ocurren durante la depresión. Se ha encontrado un aumento de la expresión génica del receptor  $CB_1$  así como de su funcionalidad, mediante técnicas de unión de [ $^{35}$ S]GTP $\gamma$ S, en la corteza prefrontal *postmortem* de individuos suicidas diagnosticados de depresión (Hungund y cols., 2004). Los niveles de endocannabinoideos también estarían afectados en depresión. Así, recientemente se ha publicado un estudio en el que se observa cómo los niveles séricos de 2AG disminuyen en mujeres diagnosticadas de depresión. Además, también se ha sugerido que esta disminución de los niveles de 2AG está inversamente relacionada con la duración de los episodios depresivos (Hill y cols., 2008). Del mismo modo, estudios recientes

sugieren la implicación de determinadas variantes del gen *CNR1*, que codifica para el receptor cannabinoide CB<sub>1</sub>, en la depresión y la respuesta a antidepresivos. El polimorfismo *CNR1* rs1049353A/G parece estar implicado en el riesgo a la resistencia al tratamiento con antidepresivos, particularmente en mujeres deprimidas con elevados niveles de ansiedad asociados (Domschke y cols., 2008).

#### **15.4. El sistema endocannabinoide en modelos animales de depresión**

La mayoría de los estudios que se han realizado para elucidar el papel del sistema endocannabinoide en modelos animales de depresión han sugerido la relación entre la depresión y una disminución de la activación del sistema cannabinoide. Así, la supresión genética del receptor CB<sub>1</sub> en animales *knockout* potencia el estado depresivo en modelos animales. Además, los animales *knockout* para el receptor CB<sub>1</sub> presentan un comportamiento ansioso y respuestas alteradas al tratamiento con fármacos ansiolíticos (Urigen y cols., 2004). Dado el papel del eje HPA en la depresión, es interesante apuntar que se ha sugerido un papel crítico del sistema endocannabinoide en la regulación de la activación de dicho eje. Estudios electrofisiológicos han demostrado que los receptores CB<sub>1</sub> del núcleo paraventricular del hipotálamo (PVN) están localizados en terminales glutamatergicos y median la actividad excitatoria de las células neurosecretoras de CRH (Di y cols., 2003). Estos datos sugieren que la activación de los receptores CB<sub>1</sub> en el PVN tendría como resultado una supresión de la activación del eje HPA, mientras que el bloqueo de la señalización cannabinoide resultaría en una hiperactividad del eje.

Por otro lado, el tratamiento crónico con el agonista cannabinoide HU210 promueve la neurogénesis en el hipocampo de ratas adultas y presenta propiedades antidepresivas en test comportamentales específicos de depresión como la natación forzada (Jiang y cols., 2005). Estos efectos se bloquean con la administración de antagonistas cannabinoides, como el AM281, y por irradiación hipocampal, que bloquea la neurogénesis. Estos datos, que sugieren que la estimulación de los receptores CB<sub>1</sub> promueve la neurogénesis mientras que su blo-

queo la inhibiría, estarían en concordancia con la teoría neurotrófica de la depresión.

Además, estudios con modelos animales de depresión evidencian que los tratamientos con antidepresivos clásicos son capaces de modificar diferentes componentes del sistema endocannabinoide. Así, el tratamiento crónico con inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) como fluoxetina disminuye la expresión génica del receptor CB<sub>1</sub> en determinadas áreas cerebrales como el estriado (Oliva y cols., 2005). Por el contrario, la administración crónica de desipramina, que inhibe la recaptación tanto de la 5-HT como de NA, produce un aumento de la densidad de receptores CB<sub>1</sub> en áreas hipocampales e hipotalámicas (Hill y cols., 2006).

### **15.5. Efecto de los cannabinoides sobre los sistemas de neurotransmisión implicados en los trastornos del estado de ánimo**

Dado que la eficacia de los actuales antidepresivos dista de ser óptima, en los últimos años se está realizando un importante esfuerzo investigador con objeto de evaluar dianas terapéuticas diferentes a las tradicionales y que permitan desarrollar nuevas estrategias antidepresivas. Teniendo en cuenta que esta bastante bien establecido que los cannabinoides son capaces de alterar el estado de ánimo y que los receptores CB<sub>1</sub> presentan una elevada expresión en áreas participantes en la integración y expresión del estado de ánimo, resulta de gran interés evaluar este sistema como potencial diana terapéutica para el tratamiento de la depresión. En este sentido resulta de gran relevancia estudiar las diferentes vías de transducción a través de las cuales los receptores CB<sub>1</sub> son capaces de afectar a los diferentes sistemas de neurotransmisión relacionados con el procesamiento emocional así como con los diversos circuitos neuronales implicados en la etiopatogenia de la depresión.

Se han realizado diversos estudios neuroquímicos y comportamentales en animales de experimentación para tratar de dilucidar cual es la relación entre el sistema cannabinoide y los distintos sistemas monoaminérgicos. En general, parece ser que los agonistas cannabinoides ejercen un efecto bimodal

en función de la dosis administrada. Dosis bajas de agonistas cannabinoideos se comportan como ansiolíticas mientras que dosis mas elevadas presentan un perfil ansiogénico, tal y como se venía describiendo en los estudios de consumo de cannabis en humanos.

Se ha descrito en ratones que la administración de THC a dosis de 0,3 mg/kg i.p. provoca efectos ansiolíticos en rata mientras que dosis de 5 mg/kg i.p. provocan efectos ansiogénicos (Valjent y cols., 2002; Berrendero y Maldonado, 2002). De la misma manera, la administración del agonista cannabinoide CP55940 es capaz de inducir en rata un comportamiento ansiogénico en los test del laberinto elevado en cruz e interacción social (Marco y cols., 2004; Genn y cols., 2004). Sin embargo otros estudios indican que la administración aguda del agonista cannabinoide HU210 a dosis de 0.1 mg/kg i.p. es capaz de producir respuestas ansiogénicas (Rodríguez de Fonseca y cols., 1996). Parece que el hecho de que un determinado agonista cannabinoide provoque respuestas ansiolíticas/ansiogénicas esta relacionado con la capacidad de esa dosis para disminuir o incrementar los niveles extracelulares de NA en ciertas áreas cerebrales. Así, la administración sistémica de agonistas cannabinoideos como WIN-55212 (3 y 15 mg/kg i.p.) es capaz de incrementar los niveles extracelulares de NA en la corteza prefrontal (CPF) (Oropeza y cols., 2005). Además este efecto parece estar mediado por receptores CB<sub>1</sub> localizados directamente en la propia CPF ya que la coadministración local de SR141716A en la CPF es capaz de atenuar el efecto de esas mismas dosis de WIN-55212 (Page y cols., 2008). También se ha descrito que dosis bajas de WIN-55212 muestran un efecto antidepresivo en test de natación forzada a través de la activación de receptores CB<sub>1</sub> localizados en la CPF (Rodríguez-Bambico y cols., 2007). Las proyecciones cortico-mesencefálicas mediarían en este caso la activación de las neuronas serotoninérgicas del rafe y por tanto el incremento de 5-HT a nivel terminal, posiblemente responsable de la acción antidepresiva observada a estas dosis. Además, dicho efecto antidepresivo no aparece cuando se utilizan dosis altas del propio WIN-55212 (Rodríguez-Bambico y cols., 2007).

Es importante tener en cuenta que los receptores CB<sub>1</sub> podrían encontrarse tanto en áreas somatodendríticas como terminales y que la activación de dichos receptores en un área u otra puede dar lugar a efectos contrapuestos en los niveles

de monoaminas. En este caso, tanto la dosis administrada como la vía de administración son factores clave que determinarán cual será el mecanismo preponderante en esas condiciones. Un claro ejemplo ilustrativo consiste en la observación de que un fármaco inhibidor de la recaptación de NA (ampliamente utilizado en clínica como antidepresivo), como es la desipramina, a dosis de 3 y 10 mg/kg i.p. provoca en la CPF el incremento de la concentración extracelular de NA mientras que una dosis más baja (1 mg/kg i.p.) ejerce el efecto opuesto, es decir, un descenso de NA en la CPF (Mateo y cols., 1998).

Por otro lado, también se ha evaluado la posible actividad antidepresiva tras la activación indirecta del sistema cannabinoide mediante la inhibición del transportador de anandamida o la inhibición de enzimas de degradación de los endocannabinoides como la FAAH. Como ejemplo, la administración de AM404 (5 mg/kg i.p.) o URB597 (0.1, 0.3 mg/kg i.p.) es capaz de inducir una respuesta antidepresiva en el test de natación forzada o en el test de suspensión de la cola (Gobbi y cols., 2005; Hill y Gorzalka, 2005). Estas respuestas además son bloqueadas cuando se coadministra un antagonista selectivo de los receptores CB<sub>1</sub>, poniendo de manifiesto la implicación de este receptor en el efecto observado.

Generalmente, el efecto de la administración aguda de estos compuestos cannabinoides desaparece a las pocas horas. Sin embargo, resulta de gran relevancia estudiar el mecanismo de acción a largo plazo de estos compuestos con objeto de comprobar si su efecto tras una administración crónica es capaz de provocar cambios neuroquímicos diferentes a los provocados tras la administración aguda. Llegados a este punto cabe hacerse algunas preguntas ¿la administración crónica de una dosis de agonista cannabinoide podría mantener elevados los niveles de monoaminas de manera continuada? ¿Este hecho podría provocar cambios adaptativos similares a los provocados por este mismo efecto tras la administración crónica de un antidepresivo? Existen en la actualidad algunos trabajos en los que se ha tratado de dar respuesta a estas preguntas. Se ha observado que la administración crónica de WIN-55212 (3 mg/kg i.p.) durante 8 días induce en la rata una respuesta ansiogénica que se correlaciona con un incremento de la actividad tirosina hidroxilasa en el *locus coeruleus*, el principal área somatodendrítica de inervación noradrenérgica, así

como un incremento de la concentración extracelular de NA (Page y cols., 2007). Se ha descrito que la administración crónica durante 10 días con el agonista cannabinoide HU210 a la dosis de 0.1 mg/kg provoca en rata un efecto antidepresivo en diferentes tests comportamentales, como el laberinto elevado en cruz (Jiang y cols., 2005) a pesar de inducir un efecto ansiogénico cuando es administrado de forma aguda. Por tanto, según estos estudios la administración crónica de agonistas cannabinoides podría ser capaz de provocar cambios adaptativos (probablemente en los sistemas monoaminérgicos) que se manifiestan en diversos test comportamentales de manera similar a los observados con antidepresivos clásicos.

Así mismo, también se ha comprobado el efecto mediado por el bloqueo de los receptores CB<sub>1</sub> sobre la neurotransmisión noradrenérgica y serotoninérgica. Se ha descrito que la administración de diferentes dosis de rimonabant (1, 3 y 10 mg/kg i.p.) incrementa la concentración extracelular de NA y 5-HT en áreas como la CPF o el hipotálamo (Tzavara y cols., 2001; Tzavara y cols., 2003). Estas mismas dosis de rimonabant son capaces de provocar una respuesta antidepresiva en el test de natación forzada en rata similar a la provocada por el antidepresivo fluoxetina. Además, también se ha descrito que el tratamiento crónico con rimonabant es capaz de revertir algunos de los efectos adversos provocados tras someter a los roedores a estrés crónico (Griebel y cols., 2005).

La descripción de un incremento de monoaminas mediado tanto por fármacos agonistas como antagonistas cannabinoides resulta bastante contradictoria. Sin embargo, la modulación mediada por estos dos grupos de compuestos no tiene por que ser necesariamente opuesta. Bien una dosis mayor o menor del agonista o bien el bloqueo del receptor mediante un antagonista de manera preferente en un área concreta puede llegar a desencadenar una modulación final del sistema en un área en un sentido o en el otro, tal como describíamos previamente.

El sistema cannabinoide parece actuar sobre los sistemas noradrenérgico y serotoninérgico de dos maneras diferenciadas. Por un lado, la expresión de los receptores CB<sub>1</sub> en los propios terminales monoaminérgicos (Oropeza y cols., 2007; Lau y Schloss, 2008) podría explicar el efecto de la administración de dosis bajas de agonistas. De la misma manera la ac-

tivación de receptores CB<sub>1</sub> localizados sobre los somas de las neuronas monoaminérgicas podría favorecer la inhibición de su actividad eléctrica y por tanto la inhibición de la liberación del neurotransmisor a nivel terminal. Así mismo la existencia de un control tónico inhibitorio mediado por estos receptores CB<sub>1</sub> sobre las neuronas monoaminérgicas podría explicar el efecto observado tras la administración de antagonistas/agonistas inversos de este receptor tal como el rimonabant. Por otro lado, la acción de los compuestos cannabinoides sobre otros circuitos neuronales de influencia a su vez sobre el monoaminérgico podría explicar el efecto mediado por las dosis altas de agonistas cannabinoides. Un mecanismo compatible con este hecho consiste en la inhibición de las neuronas gabaérgicas mediada por la activación de los receptores CB<sub>1</sub> situados sobre las mismas (Pistis y cols., 2002). Este hecho podría dar lugar a la disminución del tono inhibitorio gabaérgico sobre las neuronas monoaminérgicas y por tanto al incremento de su actividad en determinadas áreas cerebrales.

En cualquier caso, la modulación monoaminérgica mediada por el sistema cannabinoide es compleja. El efecto de la activación de los receptores CB<sub>1</sub> parece ser dependiente del nivel de estimulación/ocupación del receptor, del tono cannabinoide endógeno en las condiciones de estudio, del sistema de neurotransmisión evaluado, así como de las diversas interacciones sinápticas que puedan darse en el área. Por lo tanto, resulta imprescindible elucidar los mecanismos de acción que median los efectos opuestos en los niveles de monoaminas observados tras la administración de compuestos cannabinoides.

### **15.6. Fármacos cannabinoides para el tratamiento de la depresión. Perspectivas de futuro**

En cuanto a la potencialidad de los diferentes compuestos que modulan el sistema cannabinoide para formar parte de una hipotética terapia antidepresiva existen algunas evidencias. Por un lado, el consumo prolongado de cannabis se ha asociado en numerosas ocasiones a la aparición de cuadros depresivos (Degenhardt y cols., 2003). Por otro lado se ha descrito que un porcentaje de pacientes que toman de manera crónica rimonan-

bant para tratamiento de la obesidad presentan como efectos adversos ansiedad y depresión (Scheen y cols., 2006). Incluso, se ha postulado que el tratamiento con rimonabant podría incrementar el riesgo de suicidio en determinados pacientes (Christensen y cols., 2007).

De todas estas evidencias se puede concluir que el consumo crónico de dosis aparentemente elevadas de cannabinoides o de antagonistas/agonistas inversos no parece presentar grandes expectativas de comportarse por sí solos como antidepresivos. Sin embargo queda por dilucidar si el incremento moderado de la actividad cannabinoide mediante la utilización de diferentes fármacos cannabinoides (dosis bajas de agonistas cannabinoides, inhibidores de la recaptación de anandamida o inhibidores de la FAAH) podría ser beneficioso para el tratamiento de la depresión.

Por otro lado, algunos autores postulan que la administración de antagonistas de los receptores CB<sub>1</sub> podría ser beneficiosa para tratar de acelerar o incluso potenciar la respuesta a los fármacos antidepresivos clásicos. Así mismo, los antagonistas selectivos de los receptores CB<sub>1</sub> pudieran ser también de utilidad en el tratamiento de algunos síntomas asociados a la depresión como la impulsividad o los déficits cognitivos (Witkin y cols., 2005). Finalmente, la eficacia demostrada por el rimonabant en el tratamiento de la obesidad o la adición a algunas drogas de abuso pudiera ser de ayuda en reducir la ganancia de peso asociada a algunos tratamientos antidepresivos y en el tratamiento de pacientes con patología dual (Witkin y cols., 2005).

## Bibliografía

- Berrendero F y Maldonado R (2002). Involvement of the opioid system in the anxiolytic-like effects induced by Delta(9)-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology (Berl)*; **163**:111-117.
- Christensen R, Kristensen PK, Bartels EM, Blidall H y Astrup A (2007). Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet*; **370**:1706-1713.
- Degenhardt L, Hall W y Lynskey M (2003). Exploring the association between cannabis use and depression. *Addiction*; **98**:1493-1504.
- Di S, Malcher-Lopes R, Halmos KC y Tasker JG (2003). Nongenomic glucocorticoid inhibition via endocannabinoid release in the



- hypothalamus: a fast feedback mechanism. *J Neurosci*; 23:4850-4857.
- Domschke K, Dannlowski U, Ohrmann P, Lawford B, Bauer J, Kugel H y cols (2008). Cannabinoid receptor 1 (CNR1) gene: Impact on antidepressant treatment response and emotion processing in Major Depression. *Eur Neuropsychopharmacol*; **18**:751-9.
- Genn RF, Tucci S, Marco EM, Viveros MP y File SE (2004). Unconditioned and conditioned anxiogenic effects of the cannabinoid receptor agonist CP 55,940 in the social interaction test. *Pharmacol Biochem Behav*; 77:567-573.
- Gibbons JL (1964). Cortisol secretion rate in depressive illness. *Arch Gen Psychiatry*; 10:572-575.
- Gobbi G, Bambico FR, Mangieri R, Bortolato M, Campolongo P, Solinas M y cols (2005). Antidepressant-like activity and modulation of brain monoaminergic transmission by blockade of anandamide hydrolysis. *Proc Natl Acad Sci USA*; **102**:18620-18625.
- Griebel G, Stemmelin J y Scatton B (2005). Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist rimonabant in models of emotional reactivity in rodents. *Biol Psychiatry*; **57**:261-267.
- Hill MN y Gorzalka BB (2005). Pharmacological enhancement of cannabinoid CB1 receptor activity elicits an antidepressant-like response in the rat forced swim test. *Eur Neuropsychopharmacol*; **15**:593-599.
- Hill MN, Ho WS, Sinopoli KJ, Viau V, Hillard CJ y Gorzalka BB (2006). Involvement of the endocannabinoid system in the ability of long-term tricyclic antidepressant treatment to suppress stress-induced activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Neuropsychopharmacology*; **31**:2591-2599.
- Hill MN, Miller GE, Ho WS, Gorzalka BB y Hillard CJ (2008). Serum endocannabinoid content is altered in females with depressive disorders: a preliminary report. *Pharmacopsychiatry*; **41**:48-53.
- Hungund BL, Vinod KY, Kassir SA, Basavarajappa BS, Yalamanchili R, Cooper TB y cols (2004). Upregulation of CB1 receptors and agonist-stimulated [35S]GTPgammaS binding in the prefrontal cortex of depressed suicide victims. *Mol Psychiatry*; **9**:184-190.
- Jiang W, Zhang Y, Xiao L, Van Cleemput J, Ji SP, Bai G y Zhang X (2005). Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects. *J Clin Invest*; **115**:3104-3116.
- Lau T y Schloss P (2008). The cannabinoid CB1 receptor is expressed on serotonergic and dopaminergic neurons. *Eur J Pharmacol*; **578**:137-141.
- Mackie K (2006). Cannabinoid receptors as therapeutic targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*; **46**:101-122.

- MacQueen GM, Campbell S, McEwen BS, Macdonald K, Amano S, Joffe RT y cols (2003). Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. *Proc Natl Acad Sci USA*; **100**:1387-1392.
- Maldonado R, Valverde O y Berrendero F (2006). Involvement of the endo-cannabinoid system in drug addiction. *Trends Neurosci*; **29**:225-232.
- Marco EM, Perez-Alvarez L, Borcel E, Rubio M, Guaza C, Ambrosio E y cols (2004). Involvement of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in behavioural effects of the cannabinoid receptor agonist CP 55,940 in male rats. *Behav Pharmacol*; **15**:21-27.
- Mateo Y, Pineda J y Meana JJ (1998). Somatodendritic alpha<sub>2</sub>-adrenoceptors in the locus coeruleus are involved in the in vivo modulation of cortical noradrenaline release by the antidepressant desipramine. *J Neurochem*; **71**:790-798.
- Oliva JM, Uriguen L, Perez-Rial S y Manzanares J (2005). Time course of opioid and cannabinoid gene transcription alterations induced by repeated administration with fluoxetine in the rat brain. *Neuropharmacology*; **49**:618-626.
- Oropeza VC, Mackie K y Van Bockstaele EJ (2007). Cannabinoid receptors are localized to noradrenergic axon terminals in the rat frontal cortex. *Brain Res*; **1127**:36-44.
- Oropeza VC, Page ME y Van Bockstaele EJ (2005). Systemic administration of WIN 55,212-2 increases norepinephrine release in the rat frontal cortex. *Brain Res*; **1046**:45-54.
- Page ME, Oropeza VC, Sparks SE, Qian Y, Menko AS y Van Bockstaele EJ (2007). Repeated cannabinoid administration increases indices of noradrenergic activity in rats. *Pharmacol Biochem Behav*; **86**:162-168.
- Page ME, Oropeza VC y Van Bockstaele EJ (2008). Local administration of a cannabinoid agonist alters norepinephrine efflux in the rat frontal cortex. *Neurosci Lett*; **431**:1-5.
- Pistis M, Ferraro L, Pira L, Flore G, Tanganelli S, Gessa GL y Devoto P (2002). Delta(9)-tetrahydrocannabinol decreases extracellular GABA and increases extracellular glutamate and dopamine levels in the rat prefrontal cortex: an in vivo microdialysis study. *Brain Res*; **948**:155-158.
- Rodriguez-Bambico F, Katz N, Debonnel G y Gobbi G (2007). Cannabinoids elicit antidepressant-like behavior and activate serotonergic neurons through the medial prefrontal cortex. *J Neurosci*; **27**:11700-11711.
- Rodriguez de Fonseca F, Rubio P, Menzaghi F, Merlo-Pich E, Rivier J, Koob GF y Navarro M (1996). Corticotropin-releasing factor (CRF) antagonist [D-Phe<sup>12</sup>,Nle<sup>21,38</sup>,C alpha MeLeu<sup>37</sup>]CRF attenuates the acute actions of the highly potent cannabinoid

- receptor agonist HU-210 on defensive-withdrawal behavior in rats. *J Pharmacol Exp Ther*; **276**:56-64.
- Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S y cols (2003). Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science*; **301**:805-809.
- Scheen AJ, Finer N, Hollander P, Jensen MD y Van Gaal LF (2006). Efficacy and tolerability of rimonabant in overweight or obese patients with type 2 diabetes: a randomised controlled study. *Lancet*; **368**:1660-1672.
- Schildkraut JJ (1965). The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry*; **122**:509-522.
- Starkman MN, Giordani B, Gebarski SS, Berent S, Schork MA y Schteingart DE (1999). Decrease in cortisol reverses human hippocampal atrophy following treatment of Cushing's disease. *Biol Psychiatry*; **46**:1595-1602.
- Tzavara ET, Davis RJ, Perry KW, Li X, Salhoff C, Bymaster FP y cols (2003). The CB1 receptor antagonist SR141716A selectively increases monoaminergic neurotransmission in the medial prefrontal cortex: implications for therapeutic actions. *Br J Pharmacol*; **138**:544-553.
- Tzavara ET, Perry KW, Rodriguez DE, Bymaster FP y Nomikos GG (2001). The cannabinoid CB(1) receptor antagonist SR141716A increases norepinephrine outflow in the rat anterior hypothalamus. *Eur J Pharmacol*; **426**:R3-4.
- Uriguen L, Perez-Rial S, Ledent C, Palomo T y Manzanares J (2004). Impaired action of anxiolytic drugs in mice deficient in cannabinoid CB1 receptors. *Neuropharmacology*; **46**:966-973.
- Valjent E, Mitchell JM, Besson MJ, Caboche J y Maldonado R (2002). Behavioural and biochemical evidence for interactions between Delta 9-tetrahydrocannabinol and nicotine. *Br J Pharmacol*; **135**:564-578.
- Viveros MP, Marco EM y File SE (2005). Endocannabinoid system and stress and anxiety responses. *Pharmacol Biochem Behav*; **81**:331-342.
- Witkin JM, Tzavara ET, Davis RJ, Li X y Nomikos GG (2005). A therapeutic role for cannabinoid CB1 receptor antagonists in major depressive disorders. *Trends Pharmacol Sci*; **26**:609-617.
- Wong EY y Herbert J (2006). Raised circulating corticosterone inhibits neuronal differentiation of progenitor cells in the adult hippocampus. *Neuroscience*; **137**:83-92.



# **Autores**

---

## **Francisco J. Álvarez**

Laboratorio de Apoyo a la Investigación. Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Budapest, 1. 28922-Alcorcón. (CIBERNED) CB06/05/1109-Madrid.

## **Ángel Arévalo-Martín**

Laboratorio de Neuroinflamación, Unidad de Neurología Experimental. Hospital Nacional de Parapléjicos – SESCAM. Finca La Peraleda s/n, 45071-Toledo.

## **Francisco Arias**

Unidad de Psiquiatría. Fundación Hospital Alcorcón. Budapest, 1. 28922-Alcorcón. (CIBERNED) CB06/05/1109-Madrid.

## **Cristina Benito**

Laboratorio de Apoyo a la Investigación. Fundación Hospital Universitario Alcorcón. Budapest, 1. 28922-Alcorcón. (CIBERNED) CB06/05/1109-Madrid.

## **Fernando Barrendero**

Laboratori de Neurofarmacologia, Departament de Ciències Experimentals i de la Salut. Universitat Pompeu Fabra, PRBB, C/ Doctor Aiguader 88, 08003 Barcelona.

## **Luis F. Callado**

Departamento de Farmacología, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU) y Centro de Investigación en Red de Salud Mental, (CIBERSAM)

**Dolors Capellá**

Fundació Institut Català de Farmacologia. Universitat Autònoma de Barcelona.

**Ana Isabel Castillo**

Laboratorio de Apoyo a la Investigación. Fundación Hospital Universitario Alcorcón. Budapest, 1. 28922-Alcorcón. (CIBERNED) CB06/05/1109-Madrid.

**Elena Castro**

Universidad de Cantabria. Dto. De Fisiología y Farmacología. Santander.

**Fernando Correa**

Grupo de Neuroinmunología; Departamento de Neurobiología Funcional y de Sistemas; Instituto Cajal; CSIC, Madrid.

**Inés Díaz Laviada**

Universidad de Alcalá. Dto. de Bioquímica y Biología Molecular.

**Marta Duran**

Fundació Institut Català de Farmacologia. Universitat Autònoma de Barcelona.

**Emilio Fernández Espejo**

Departamento de Fisiología Médica y Biofísica. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla. Avd. Sánchez Pizjuán, 4. 41009-Sevilla

**Javier Fernández-Ruiz.**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III y CIBERNED, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid.

**Moisés García**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III y CIBERNED, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid.

**Daniel García-Ovejero**

Laboratorio de Neuroinflamación, Unidad de Neurología Experimental. Hospital Nacional de Parapléjicos – SESCAM. Finca La Peraleda s/n, 45071-Toledo.

**Carlos Goicoechea**

Universidad de Rey Juan Carlos. Facultad de Ciencias de la Salud. Unidad de Farmacología. Universidad Rey Juan Carlos Avda de Atenas s/n, Alcorcón E-28922-Madrid.

**Juan José Gorgojo**

Unidad de Endocrinología. Fundación Hospital Alcorcón. Budapest, 1. 28922-Alcorcón. (CIBERNED) CB06/05/1109-Madrid.

**Carmen Guaza**

Grupo de Neuroinmunología; Departamento de Neurobiología Funcional y de Sistemas; Instituto Cajal; CSIC, Madrid.

**Manuel Guzmán**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I y CIBERNED, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid.

**Eva de Lago**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III y CIBERNED, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid.

**Rafael Maldonado**

Laboratori de Neurofarmacologia, Departament de Ciències Experimentals i de la Salut, Universitat Pompeu Fabra, PRBB, C/ Doctor Aiguader 88, 08003 Barcelona.

**Maria Isabel Martín**

Universidad de Rey Juan Carlos. Facultad de Ciencias de la Salud. Unidad de Farmacología. Universidad Rey Juan Carlos Avda de Atenas s/n, Alcorcón E-28922-Madrid.

**José Martínez-Orgado**

Laboratorio de Apoyo a la Investigación. Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Budapest, 1. 28922-Alcorcón. CIBERNED CB06/05/1109-Madrid.

**Leyre Mestre**

Grupo de Neuroinmunología; Departamento de Neurobiología Funcional y de Sistemas; Instituto Cajal; CSIC, Madrid.

**Eduardo Molina-Holgado**

Laboratorio de Neuroinflamación, Unidad de Neurología Experimental. Hospital Nacional de Parapléjicos – SESCAM. Finca La Peraleda s/n, 45071-Toledo.

**Jorge E. Ortega**

Departamento de Farmacología, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU) y Centro de Investigación en Red de Salud Mental, (CIBERSAM)

**Ángel Pazos**

Universidad de Cantabria. Dto. De Fisiología y Farmacología. Santander.

**Ruth Pazos**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III y CIBERNED, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, 28040-Madrid.

**José Antonio Ramos Atance**

Dto de Bioquímica y Biología Molecular III y CIBERNED. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España.

**Julián Romero**

Laboratorio de Apoyo a la Investigación. Fundación Hospital Alcorcón – CIBERNED. C/ Budapest 1. 28922. Alcorcón. Madrid.

**Onintza Sagredo**

Dto de Bioquímica y Biología Molecular III y CIBERNED. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid. Madrid. España.

**Cristina Sánchez**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I y CIBERNED, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid.



**Rosa María Tolón**

Laboratorio de Apoyo a la Investigación. Hospital Universitario Fundación Alcorcón. Budapest, 1. 28922-Alcorcón. (CIBERNED) CB06/05/1109-Madrid.

**Leyre Urigüren**

Departamento de Farmacología, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU) y Centro de Investigación en Red de Salud Mental, (CIBERSAM)

**Guillermo Velasco**

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I y CIBERNED, Facultad de Biología, Universidad Complutense de Madrid.

**Rebeca Vidal**

Universidad de Cantabria. Dto. De Fisiología y Farmacología. Santander.