



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

Inhibidores de la acetilcolinesterasa: potencial de los cannabinoides en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

Autor: Andrea Horta Reques

Tutor: Jose María Sánchez Montero

Convocatoria: Junio 2017

I. Resumen

La enfermedad de Alzheimer es una afección neurodegenerativa asociada con la edad que conlleva un deterioro cognitivo que avanza a pasos agigantados en nuestra sociedad. Tiene dos signos patológicos muy característicos: la deposición del péptido β -amiloide, y la consiguiente aparición de placas seniles, y la hiperfosforilación de la proteína Tau. Dada la falta de efectividad de la terapéutica actual (principalmente inhibidores de la acetilcolinesterasa) de esta patología y sus múltiples mecanismos de acción, en los últimos años se ha apostado por el sistema endocannabinoide como potencial terapéutico de la EA. Su participación reguladora en múltiples funciones fisiológicas ha despertado el interés de investigadores como posible herramienta terapéutica ya que modula la neuroinflamación, excitotoxicidad, estrés oxidativo, disfunción mitocondrial, que juntos fomentan el progreso hacia una nueva clínica. Ciertos cannabinoides presentan una acción neuroprotectora, además de una inhibición de la AChE limitando así la amiloidogénesis, mejorando la transmisión colinérgica y modulando la progresión de la enfermedad.

II. Introducción y antecedentes

La enfermedad del Alzheimer (EA) es la causa más común de demencia en la población senil. Se trata de un desorden neurodegenerativo, genéticamente complejo, que avanza de manera lenta y progresiva y es, desafortunadamente, irreversible y debilitante. Hasta el momento no existe ninguna terapia profiláctica, ni ningún tratamiento etiopatogénico que cure esta enfermedad. Afecta a gran parte de la población, 30 millones de personas en todo el mundo la padecen y se estima que para 2040 esta cifra incrementará hasta los 80 millones de personas. Este auge está ligado a un aumento de la esperanza de vida.¹

En España, hay alrededor de 700.000 enfermos de Alzheimer y se cree que entorno al año 2025 pueden ser 1.200.000 los afectados. La incidencia media de la enfermedad de Alzheimer es de 123 casos nuevos por cada 100.000 habitantes. Estos argumentos son razón más que suficiente para impulsar la investigación y desarrollar nuevas terapias que consigan frenar esta terrible enfermedad.

La EA se caracteriza por la degeneración progresiva y específica de la corteza cerebral y algunas estructuras subcorticales desencadenando el deterioro funcional del cerebro determinado por un déficit neuronal. Los signos patológicos más destacables de la

enfermedad son la formación de placas seniles a partir de la deposición extracelular de péptido β -amiloide seguido de la aparición de ovillos neurofibrilares intracelulares causados por una hiperfosforilación de la proteína Tau, especialmente en el hipocampo que alteran la comunicación interneuronal. Además se produce una alteración en la producción de neurotransmisores; una hipofunción colinérgica e hiperfunción glutaminérgica. La EA también se asocia con eventos neuroinflamativos y estrés oxidativo.

Uno de los síntomas más característicos de esta enfermedad es el déficit del neurotransmisor acetilcolina (ACh) en áreas cerebrales relacionadas con la memoria y el desarrollo cognitivo como son el hipocampo, lóbulo temporal y algunas áreas corticales frontales. La demencia se define como la pérdida de capacidad intelectual, incluyendo la memoria, la capacidad para expresarse y comunicarse adecuadamente, de organizar la vida cotidiana y de llevar una vida familiar, laboral y social autónoma. Esto conduce a los enfermos de Alzheimer a un estado de dependencia total que puede finalizar en la muerte.²

II. a. Clasificación y clínica de la EA

La gran mayoría de las formas de **EA son esporádicas** (idiopáticas) apareciendo después de los 65 años, solo una pequeña proporción (menos del 3%) tienen un componente hereditario, y se denomina **EA familiar**.³ La EA familiar suele aparecer antes de los 65 años y está causada por mutaciones en el gen de la APP (Proteína Precursora del Amiloide) y en los genes de las Preselinas, concretamente la Preselina 1, que representan el componente catalítico del complejo de la γ -secretasa que como se detalla más adelante tendrá un papel muy importante en la formación de péptido A β .

II. b. Hipótesis de la cascada amiloide

Las depósitos extracelulares insolubles de β -amiloide constituyen un elemento común para la EA familiar y la EA esporádica por lo que se propuso esta hipótesis; la producción excesiva de A β juega un papel esencial en el proceso neurodegenerativo de la enfermedad. Estas placas se encuentran de manera localizada en áreas corticales y subcorticales, rodeadas generalmente de neuritas distróficas. Sin embargo, no existe una correlación temporal entre la densidad de las placas y la progresión de la enfermedad ya que en estudios *post-mortem* muchos pacientes con EA con graves problemas de memoria no presentaban placas en el estudio histopatológico.

El péptido A β se origina a partir de la proteólisis regulada de la APP, una proteína de membrana con una región extracelular, un dominio transmembrana y una región citoplasmática. La escisión de esta proteína se lleva a cabo por unas proteasas denominadas secretasas (α , β y γ) originando péptidos que tienden a agregarse formando sábanas beta-plegadas que son tóxicas. Existen dos vías de escisión: la de la α -secretasa que genera péptido no amiloidogénico y la de la β -secretasa o amiloidogénica que está mediada por la acción secuencial de la β -secretasa seguida de la γ -secretasa.⁴ Existen dos especies diferentes del péptido A β : A β 40 y A β 42, de los cuales el último forma agregados y placas seniles con mayor facilidad y se considera más tóxico.

En condiciones normales se producen niveles muy bajos de ambos péptidos, pero la hipótesis amiloide postula que cuando se produce un desequilibrio entre la formación y la eliminación (Figura 1) de A β , la acumulación de péptidos puede desencadenar una serie de eventos negativos. Ambos péptidos pueden interactuar entre ellos formando agregados causando una angiopatía amiloide cerebral (CAA) como es el caso del A β 42 ya que la acumulación se produce en las vasos cerebrales, o la formación de placas seniles como es el caso del A β 40 que más tarde, incrementaran el declive clínico de la enfermedad. Adicionalmente, la acumulación de A β reduce la recaptación de glutamato por los astrocitos e incrementa la entrada de calcio a través de canales voltaje dependiente lo que desemboca en excitotoxicidad.

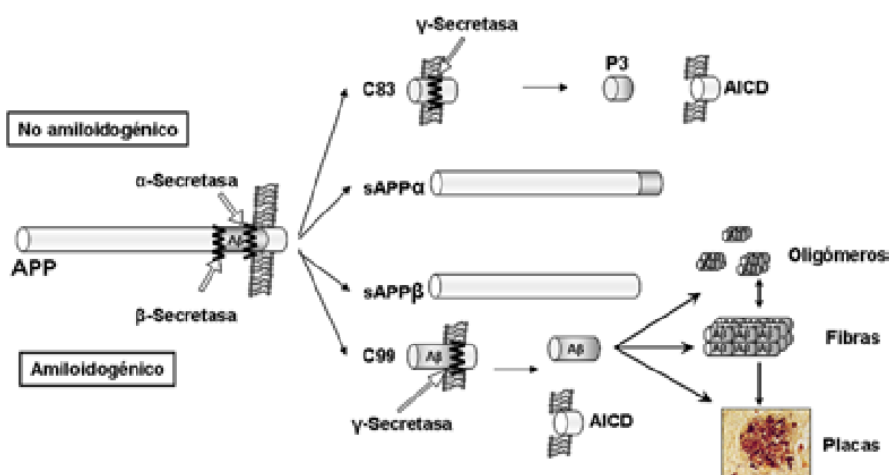


Figura 1. Procesamiento no amiloidogénico y amiloidogénico de la proteína precursora del amiloide (APP). En la vía no amiloidogénica, la enzima α -secretasa rompe la proteína en medio de la región del beta-amiloide (A β), liberando un gran fragmento soluble, la α -APPs, y otro fragmento carboxiterminal, C83, sobre el cual actúa la β -secretasa, dando lugar a p3 y al dominio intracelular de la APP (AICD). En la vía amiloidogénica, la enzima β -secretasa libera un fragmento soluble, β -APPs, y el fragmento carboxiterminal C99. Este último fragmento es roto por la γ -secretasa, formándose AICD y el péptido A β (A β 42/A β 40). A partir del A β se forman distintos oligómeros, agregados fibrilares y placas seniles.³

No está del todo claro el mecanismo mediante el cual el A β produce daño celular; en este sentido se plantea la existencia de diversas teorías mediante las cuales se podrían dañar las neuronas. Principalmente, la activación de la microglía favorece un aumento de la respuesta inflamatoria liberando así citoquinas neurotóxicas, óxido nítrico y otras neurotoxinas capaces de dañar células vecinas induciendo mecanismos de apoptosis y dificultando la perfusión. La acumulación de A β en capilares y arteriolas además afectará los contactos sinápticos interneuronales desembocando en muerte neuronal.

Además, existe evidencia de que el depósito de A β induce a la hiperfosforilación anormal de la proteína asociada a microtúbulos -Tau- ya que A β es capaz de activar quinasas tales como GSK3 β y CDK5. La proteína Tau normalmente estabiliza los microtúbulos siendo esencial para el transporte axonal y por tanto para la función neuronal, por lo que su agregación en forma de ovillos neurofibrilares alteraría esta habilidad desembocando de nuevo en una muerte neuronal. Existe la evidencia farmacológica de que la inhibición de CDK5 atenúa la neurotoxicidad de A β . Conjuntamente, A β se asocia con una activación mantenida de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) que dará lugar a una generación de neuritas distróficas en respuesta a A β .

II. c. Alteración sináptica y daño oxidativo

A pesar de que diversos neurotransmisores se encuentran alterados en la EA, los síntomas tempranos, así como la incapacidad de aprender nueva información está relacionada con una disfunción de sinapsis tanto colinérgicas como glutamatérgicas. Existe una mayor correlación entre el grado de demencia con la disfunción sináptica y con la pérdida de la sinapsis que con la acumulación de péptido A β . Aun así, el A β también podría inducir a la **liberación excesiva de aminoácidos excitatorios como el glutamato** desde las células gliales que provocaría una activación excesiva de los receptores NMDA, incrementando el calcio intracelular (desregulando la homeostasis). Este aumento del calcio provocaría la activación de la Oxido Nítrico Sintasa neuronal (nNOS) favoreciendo el daño oxidativo. El exceso de Oxido nítrico (NO) se combinaría con el anión superóxido (O_2^-) formando peroxonitrato ($ONOO^-$) que está asociado a daño mitocondrial. Tanto la disfunción mitocondrial como el déficit energético (el A β bloquea el complejo respiratorio I, disminuyendo el ATP) supondría una alteración de la

remoción de los agregados de A β favoreciendo su acumulación y el consiguiente daño celular.

En cuanto a **los bajos niveles de ACh** y la pérdida de sinapsis colinérgicas se relacionan con la pérdida de memoria y la incapacidad cognitiva. El grado de demencia, se correlaciona con la disminución de la actividad de la acetiltransferasa de colina (ChAT), enzima que se encarga de la síntesis del neurotransmisor. Es por ello, que se ha propuesto la hipótesis colinérgica, que se encuentra respaldada por el hecho que hasta el momento los fármacos aprobados para el tratamiento de la EA son inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE), enzima que cataliza la hidrólisis de la acetilcolina en acetato y colina.

La AChE se ve implicada de manera directa en la patogénesis de la enfermedad ya que se encuentra implicada tanto en funciones colinérgicas como no-colinérgicas.⁵ El centro activo de la enzima se encuentra dividido en varias zonas; existe una cavidad cuya base es la triada catalítica (Ser-His-Glu) que forma el centro catalítico (CAS) y otro centro activo denominado PAS en la entrada de la cavidad.⁶

Esta enzima actúa como una chaperona molecular, acelerando la formación y el ensamblaje de péptidos A β en especies fibrilares tras su unión con el A β a través del PAS (Sitio periférico aniónico), incrementando la neurotoxicidad de las neurofibrillas amiloides. Por tanto, esto demostraría que el procesamiento de APP está regulado por el sistema colinérgico y que un inhibidor dual de CAS y de PAS podría además de aumentar la disponibilidad de la ACh, conducir a una prevención de la enfermedad mediante un bloqueo en la formación de los péptidos.⁷ Aun así, sigue siendo una incógnita si la degeneración del sistema colinérgico precede o no a la formación de placas seniles.

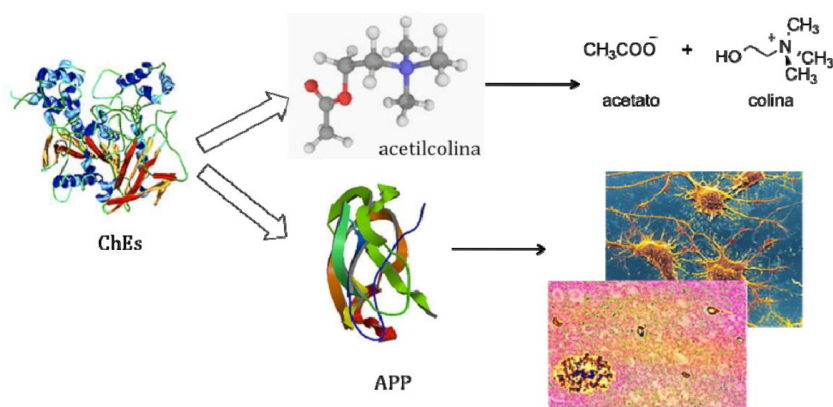


Figura 2: Implicaciones de la AChE en la enfermedad del Alzheimer.⁷

III. Objetivos

La finalidad de este trabajo es llevar a cabo una revisión bibliográfica de la enfermedad del Alzheimer centrada en la necesidad de la investigación de nuevos tratamientos para una enfermedad multifactorial. En él se pretende revisar el tratamiento actual de la enfermedad con los fármacos utilizados actualmente en el tratamiento de la enfermedad y presentar el sistema endocannabinoide como nueva diana terapéutica de la enfermedad enfocando el tratamiento con cannabinoides como un futuro prometedor en cuanto a nuevas aplicaciones terapéuticas.

IV. Metodología

Para llevar a cabo este trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica utilizando diversas bases de datos entre las que destacan: Pubmed, Medline, Google Scholar, además de la Aemps, y la guía farmacoterapéutica de la Enfermedad del Alzheimer. Se realizó una búsqueda que contemplará las siguiente palabras clave: Alzheimer disease, Cannabinoids, Alzheimer, Neurodegeneration, neuroprotection, Acetilcolinesterase, ACh, CB₁, CB₂, neuroinflammation, Aβ peptides, Tau protein.

De entre los numerosos artículos encontrados en la búsqueda se seleccionaron aquellos más recientes que comprendieran los últimos 10 años. Además también se tuvo en cuenta revistas científicas como el Panorama Actual del medicamento y la guía básica sobre los cannabinoides de la Sociedad Española de Investigación sobre cannabinoides.

V. Resultados y discusión

V.a.Tratamiento actual de la EA: Inhibidores de la acetilcolinesterasa

En la actualidad, disponemos de tratamientos sintomáticos modestamente efectivos para mejorar la cognición y las alteraciones conductuales como son la agitación, la apatía y la psicosis. La aprobación de fármacos para el tratamiento de la EA requiere de una mejoría de 4 puntos en la subescala cognitiva de la Escala de evaluación de la EA (Alzheimer's disease

Assisment Scale ADAS-COG). Esta escala es de 70 puntos y una disminución de puntos sería indicación de mejoría. Los anticolinesterásicos, también conocidos como inhibidores de la acetilcolinesterasa, producen una mejoría global frente a placebo de 3 a 4 puntos. Al inhibir la acetilcolinesterasa, aumentan la disponibilidad de la ACh que se encuentra disminuida en la EA y cuyo déficit se ha relacionado con un deterioro cognitivo. Entre ellos, encontraremos el **Donepecilo, la Rivastigmina y la Galantamina**. Además de ser inhibidores de la AChE, la Galantamina tiene una acción agonista nicotínico presináptico y la Rivastigmina es un inhibidor pseudoreversible de la butirilcolinesterasa.

Las características de cada uno de estos fármacos se resumen en la siguiente tabla⁸:

	Donepecilo	Rivastigmina	Galantamina	Memantina
Clase química	Piperidina	Carbamato	Alcaloide fenantreno	Clorhidrato
Selectividad	Acetilcolinesterasa	Acetilcolinesterasa & butirilcolinesterasa	Acetilcolinesterasa receptor nicotínico	Glutamato
Mecanismo	Reversible, pseudoirreversible	Reversible, competitivo	Reversible, mixto no-competitivo	Bloqueo no competitivo de receptor NMDA
Metabolismo	Hepático	Periférico Renal	Hepático (75%) Renal (25%)	Renal
Vida media	70 horas	1-2 horas a 10 horas	7 a 8 horas	60 -100 horas
Dosis diaria	1	2	1 o 2	1 o 2
Presentación	Comprimidos Solución	Cápsulas Parches transdérmicos	Tabletas Capsulas de liberación lenta	Comprimidos Tabletas
Citocromo	CYP2D6,CYP3A4	Minima	CYP2D6,CYP3A4	No
Interacciones	Relajantes musculares, ketoconazol, quinidina, rifampicina, fenitoina, carbamacepina, alcohol	Relajantes musculares	Relajantes musculares, digoxina, β bloqueantes	Amantadina, ketamina, baclofeno, cimetidina, ranitidina, quinidina
Efectos secundarios	Nauseas, vomitos, diarrea, anorexia y pérdida de peso	Nauseas, vomitos, diarrea, anorexia y pérdida de peso	Nauseas, vomitos ,diarrea, anorexia y perdida de peso	Agitación, psicosis
Contra indicaciones	Asma/ EPOC Bradicardia, enfermedad del seno Ulcus gastroduodenal activo, anestesia	Asma/ EPOC Bradicardia, enfermedad del seno Ulcus gastroduodenal activo, anestesia	Asma/ EPOC Bradicardia Ulcus gastroduodenal activo, anestesia	
Relación con los alimentos	Indiferente	Administrar con las comidas	Administrar con las comidas	

Cualquiera de los tres fármacos pueden ser útiles en el tratamiento de EA de leve a moderada pero solo Donepecilo y Galantamina fueron aprobadas para EA severa. La mejoría sintomática se produce entre los 6 y los 12 meses. Es importante destacar que aunque estas drogas son bien toleradas es necesaria la titulación de las dosis para detectar la aparición de efectos adversos. Será necesario realizar antes y durante la titulación una valoración cardiaca en busca del síndrome del nodo sinusal o de trastornos en la conducción. Se debe tener especial precaución en pacientes con úlceras gástricas o duodenales activas y en pacientes con

antecedentes de asma o EPOC. Además por su efecto colino mimético pueden exacerbar o inducir síntomas extra piramidales.

La selección de un fármaco u otro depende de varios factores como son la etapa de la EA en la que se encuentre, la preferencia del cuidador y del paciente, así como los efectos adversos y las reacciones intermedicamentosas.

Por otro lado, además de estos fármacos, existe otro fármaco aprobado para el tratamiento de la EA de grado moderado a severo, se trata de la **Memantina**, cuyas características se resumen en la tabla anterior. Su mecanismo difiere de los anteriores ya que actúa como antagonista del receptor N-metil D-aspartato (NMDA) y suele utilizarse en combinación con alguno de los anticolinesterásicos.

V.b. Sistema cannabinoide

La limitada efectividad de las terapias actuales contra el Alzheimer hace destacar la necesidad de investigación de nuevos tratamientos, preferiblemente fármacos multiana, que prevengan o retrasen el avance de esta enfermedad. La investigación sobre el cannabis y sobre los mecanismos de acción de sus principios activos, se inició en los años noventa⁹ pero el sistema endocannabinoide se mantenía aun como desconocido hasta unos 20 años más tarde. Durante los últimos años la focalización del sistema cannabinoide endógeno ha surgido como una posible diana terapéutica para tratar la EA en las primeras etapas.

EL SISTEMA CANNABINOIDE ENDÓGENO (sCBe): RECEPTORES Y LIGANDOS.

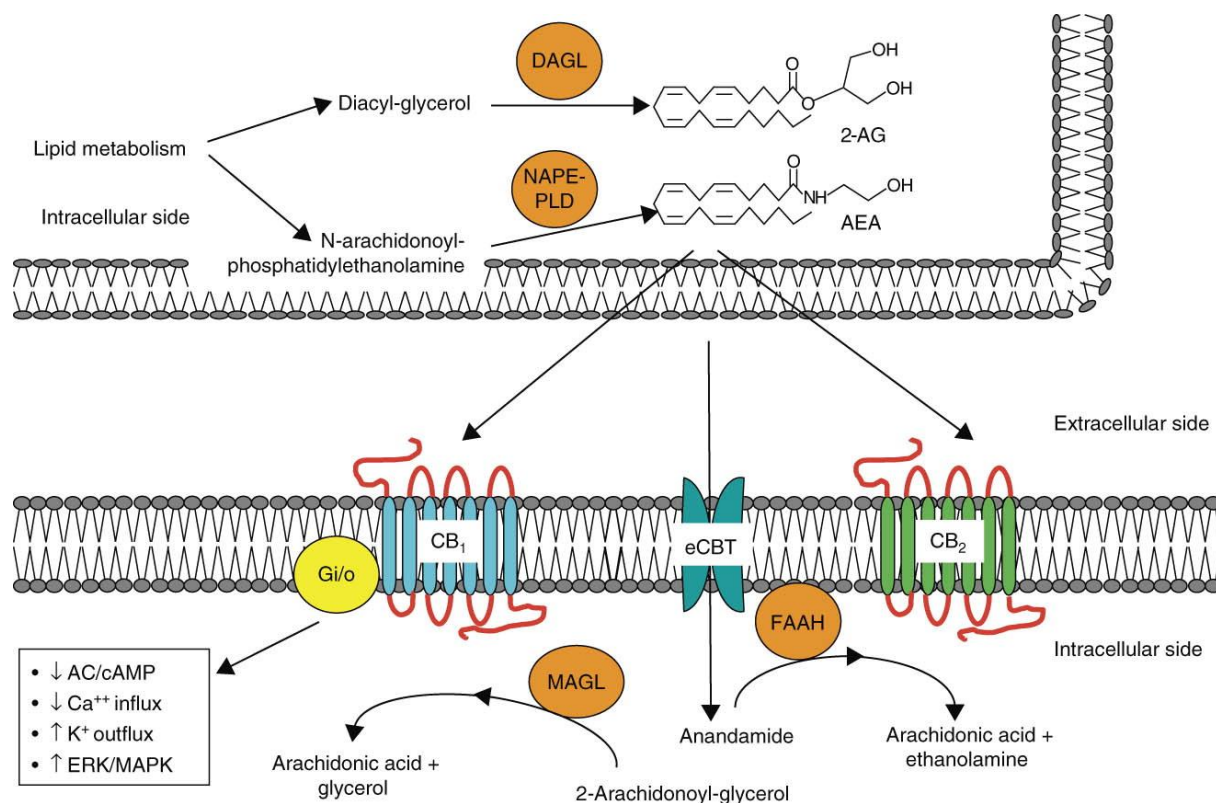


Figura 3: El sistema endocannabinoide; esquema representativo de sus principales elementos moleculares y mecanismo de acción.¹⁸

El **sCBe** está compuesto por dos receptores (CB₁ y CB₂), unos ligandos endógenos y unas enzimas responsables de la síntesis y degradación de estos últimos. El descubrimiento de este sistema surgió de la búsqueda de un mecanismo de acción de los Cannabinoides (compuestos presentes en la resina secretada por los brotes y flores de la planta *Cannabis sativa*) que producían psicosis, ansiedad, depresión y alucinaciones. El **THC** (Δ^9 -Tetrahydrocannabinol) y el **CBD** (Cannabidiol) son los fitocannabinoides más relevantes en cuanto a efectos y abundancia en la planta. Estos compuestos poseen una elevada liposolubilidad que llevó a pensar que su mecanismo de acción se basaba en una modificación de los fosfolípidos de membrana hasta que en 1990¹⁰ se aisló un receptor específico de cannabinoides con el cual se postuló que sus efectos se debían a la activación de unos receptores de membrana.

Los receptores cannabinoides se encuentran tanto a nivel central como periférico lo que le da a este sistema una función de comunicación intercelular principalmente de tipo modulador. En cuanto al SNC servirían para facilitar los procesos sinápticos de una señalización retrógrada y por tanto jugarían un papel crítico en el control de un exceso de transmisión

excitatoria o inhibitoria. Por consiguiente, este sistema actuaría como protección a nivel sináptico y como regulador de la homeostasis neuronal y celular.

Existen, como ya he mencionado dos subtipos de receptores cannabinoides; CB₁ y CB₂, ambos acoplados a proteínas G_{i/o} por lo que se denominan receptores metabotrópicos y se caracterizan por poseer siete dominios transmembrana en su estructura.

El receptor CB₁ fue el primero en ser descrito y es el responsable de la psicoactividad. Se ubica principalmente en neuronas; siendo las de tipo gabaérgico (inhibitorias) o glutamatérgico (excitatorias) donde se localizan de manera más habitual, aunque también aparecen en neuronas peptidérgicas, serotoninérgicas o colinérgicas. Además también se han encontrado en células de la glía (astrocitos y oligodendritos), ganglios basales, corteza cerebral, hipotálamo, médula espinal y tallo cerebral. A nivel periférico, se han hallado receptores en próstata, amígdalas, ovarios y útero.

Su distribución explica muchos de los efectos causados por los cannabinoides; la presencia en hipocampo y corteza explica las alteraciones cognitivas que producen y la elevada densidad que se encuentra en los ganglios basales determina las alteraciones del movimiento y el control postural.

La activación de dicho receptor va seguida de una cascada de señales que incluyen la inhibición reversible de la adenilato ciclasa (AC) que se traduce en una inhibición de la producción de AMPc, esto hace que se inhiba la apertura de canales de Ca²⁺ dependientes de voltaje de forma que se bloquea la entrada del mismo, disminuyendo así sus niveles intracelulares. Además la activación de este receptor facilita la salida de K⁺ actuando sobre los canales de tipo GIRK (Canales con rectificación entrante de K⁺ acoplados a proteína G) ; esto aumenta la conductancia y origina una disminución de la despolarización, que se traduce en una reducción de la actividad neuronal ya que esto parece ser la base de la inhibición que ejercen los cannabinoides en la liberación de neurotransmisores¹¹. También se produce una activación de las MAP quinasas (MAPK) y otro tipo de señales intracelulares como la vía de las quinasas activadas por mitógenos (ERK, JNK y p38) y la vía de la fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K-Akt) relacionadas con la modificación de procesos de proliferación, diferenciación y supervivencia celular.

En cuanto al **receptor CB₂**, presenta cierta homología con el anterior pero difieren en la distribución, además de que los mecanismos de transducción acoplados a estímulo de este receptor son similares exceptuando los efectos de conductancia a nivel de calcio y potasio que están ausentes en este receptor, lo que estaría relacionado con el hecho de que este receptor no desarrolla una actividad tan evidente a nivel sináptico como el anterior. Este receptor se encuentra principalmente en el sistema inmune, especialmente en bazo, amígdala y en diferentes células como son los linfocitos B y C y los monocitos.

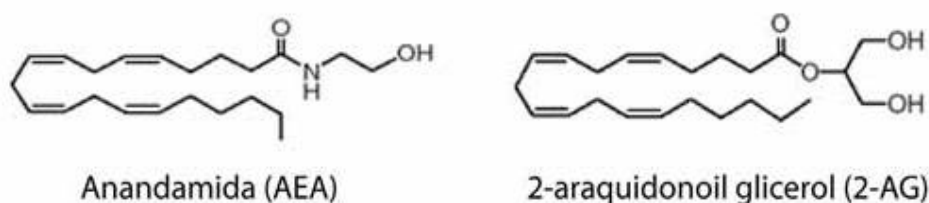
La distribución de este receptor ha sido siempre fuente de controversia; recientemente se ha hallado este receptor de tejidos periféricos y del cerebro donde se encuentra de manera muy aislada y restringida pero sobre todo en células de microglía cuando éstas cambian su fenotipo durante los procesos de activación por daño cerebral de origen inflamatorio, infeccioso o traumático. Esto ha llevado a pensar que los CB₂ podrían frenar procesos de proliferación así como reducir la toxicidad de células de la glía disminuyendo la producción de citoquinas y por tanto desempeñando un papel protector de la homeostasis neuronal que sería esencial en la EA. Otra fuente que evidencia la expresión del receptor CB₂ en las neuronas viene de la observación de que el daño axonal en un hemisferio cerebral induce la expresión de receptores CB₂ en las neuronas precerebrales contralaterales; un agonista del receptor CB₂ facilitó la supervivencia neuronal, mientras que el inhibidor selectivo de la PI3K bloqueó los receptores de CB₂ en las neuronas axotomizadas.¹²

Existen además otros receptores que son capaces de actuar sobre los cannabinoides cabe mencionar el receptor huérfano GPR55, el receptor de potencial transitorio V1 (TRPV1) y los receptores proliferadores de peroxisomas PPAR α y γ . En relación con la EA sería interesante destacar que los receptores PPAR desempeñan un papel importante en el control inhibitorio del factor de transcripción NF κ B que controla la expresión de enzimas proinflamatorias como son la COX-2 y la NOS y cuya expresión se ve atenuada con ciertos cannabinoides.

Como ya he mencionado antes, el Δ^9 -THC y el CBD son algunos de los cannabinoides denominados fitocannabinoides pero también existen los análogos sintéticos y los ligandos endógenos, que se denominan **cannabinoides endógenos (eCB)**. En cuanto a los cannabinoides sintéticos existen agonistas selectivos, mixtos y antagonistas. Son moléculas normalmente derivadas del Δ^9 -THC como el dronabinol y la nabilona, actualmente utilizados

en terapéutica como antieméticos (son agonistas del receptor CB_2). Otro agonista cannabinoide sintético muy conocido es el agonista mixto WIN55212, pero también se han descubierto en los últimos años antagonistas como son el SR141716 o Rimonabant que antagonizan el efecto de la Anandamida.

Por otro lado, **eCB** son unas moléculas lipófilas, producidas y liberadas por neuronas, sintetizadas a demanda a partir de derivados del ácido araquidónico y de otros ácidos grasos poliinsaturados. Los eCBs más representativos son la etanolamina del ácido araquidónico, conocida como **Anandamida (AEA)** y el **2-araquidonil glicerol (2-AG)**, cuya estructura se detalla a continuación:



Además de estos, también son conocidos el noladin éter, la virodhamina y el N-araquidonil dopamina (NADA).

Estos ligandos endógenos actúan como neurotransmisores ya que se unen, activan a los receptores transmembrana y luego son recaptados y degradados dentro de la célula nerviosa. Sin embargo, poseen dos características diferenciales con los neurotransmisores ya que se trata de unos mensajeros retrógrados y además no se acumulan en el interior de las vesículas sinápticas y su síntesis se realiza a demanda. No obstante, estudios recientes han demostrado que se han hallado reservas intracelulares de AEA en lugares distintos de las vesículas como en los adiposomas donde se ha aislado a concentraciones mucho más elevadas que en el espacio extracelular.

La AEA se sintetiza a partir de la fosfatidil-etanolamina (PEA), existente en la membrana celular, gracias a la acción de dos enzimas: primero actuará la N-acetiltransferasa (NAT) que da lugar a N-araquidonoilfosfatidiletanolamina (NAPE) y después este compuesto será hidrolizado por la fosfolipasa D (PLD) dando lugar a la AEA. Esta constituye la principal ruta de síntesis de la AEA; que depende de una serie de estímulos que aumentan el calcio intracelular. La AEA ha demostrado afinidad para ambos receptores de cannabinoides pero se

une con más selectividad a los CB₁.¹³ Una vez que ejerce su acción, estos ligandos tienen que ser recaptados por un sistema de transportador de membrana pero aun no se ha podido aislar ni clonar ningún transportador, lo que ha llevado a pensar que éste sería inexistente y se ha llegado a proponer que el proceso de recaptación se llevaría a cabo a través de una difusión simple. Una vez dentro de la célula la AEA se degrada mayoritariamente para dar lugar a ácido araquidónico y etanolamida por una hidrolasa específica de amidas de ácidos grasos: FAAH, enzima que actúa también sobre lípidos bioactivos derivados de ácidos grasos, y por tanto éstos podrían ser utilizados para ocupar la actividad de esta enzima y retrasar la degradación de los cannabinoides, haciendo así más duraderos sus efectos. Esta enzima se encuentra principalmente en el cerebro, donde su distribución es bastante paralela al de la AEA salvo que la FAAH se localiza de manera postsináptica en hígado, riñón, tracto gastro intestinal (GI), y en menor medida testículo, pulmón y bazo.

El 2-AG, a diferencia de la AEA, se encuentra en el cerebro en concentraciones más significativas y por tanto se considera el ligando de mayor relevancia fisiológica. Se sintetiza de forma independiente a la AEA; a partir del fosfatidil inositol (PI) que por la acción de la fosfolipasa C (PLC) dará lugar al diacilglicerol (DAG) que posteriormente será hidrolizado por la diacilglicerol lipasa (DAGL) para dar, finalmente, el 2-AG. En cuanto a su degradación, también puede ser hidrolizado por la FAAH pero predomina la acción de otra enzima: la monoacilglicerol lipasa (MAGL) dando lugar a ácido araquidónico y glicerol. Esta enzima originalmente se hallaba en tejido adiposo pero se ha visto que es bastante abundante en tejido nervioso de manera similar a los CB ya que ésta sí se encuentra de manera presináptica.

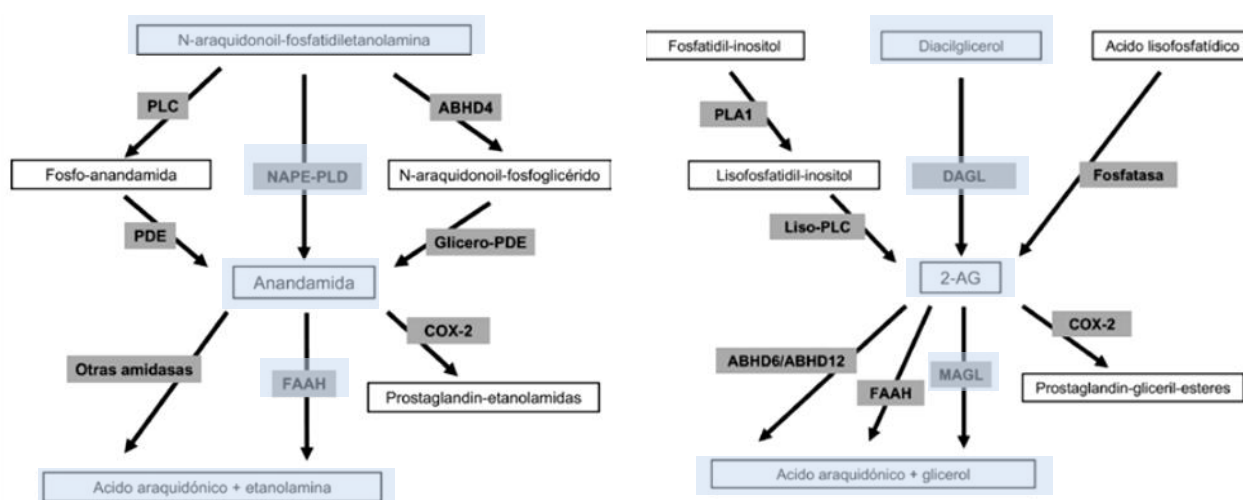


Figura 4: Esquemas representativos de las rutas de síntesis y degradación de la Anandamida y del 2-AG.⁹

V.c. Aplicación de las propiedades de los cannabinoides en el tratamiento del Alzheimer.

EFEECTO SOBRE A β

Diversos estudios han demostrado que los derivados cannabinoides confieren neuroprotección a través de no solo la disminución de los efectos de la acumulación de A β indirectamente (reduciendo el estrés oxidativo, la neuroinflamación y la apoptosis)¹⁴ sino de manera directa actuando sobre el procesamiento del péptido. La estimulación del receptor CB₂ conduce a la eliminación de A β por macrófagos humanos y favorece el transporte de A β a través del plexo coroideo. La facilitación del aclaramiento de A β a través de la barrera hematoencefálica (BHE) fue también demostrada por el endocannabinoide 2-AG, un agonista sintético de receptores CB₁ y CB₂ y por inhibidores de MAGL.¹²

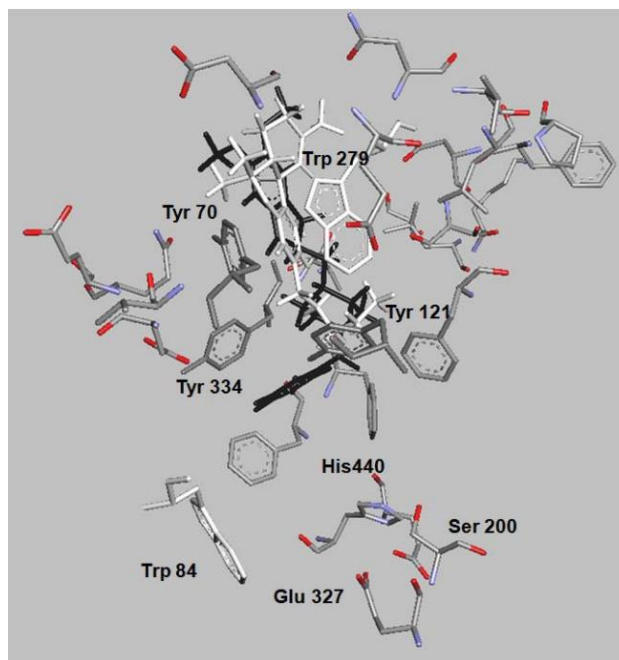
La eficacia de los compuestos cannabinoides en la reducción del deterioro cognitivo fue inversamente proporcional a la etapa de progresión de la enfermedad al inicio del tratamiento en los animales transgénicos. El tratamiento crónico con **ACEA**, **JWH-133**, un agonista selectivo del CB₂, o **WIN55 212-2** resultó en la mejora cognitiva en dos modelos de ratones transgénicos de amiloidosis cerebral.

MODULACIÓN DE LA NEUROTRANSMISIÓN

Como ya he mencionado anteriormente la AChE está relacionada tanto con el déficit colinérgico como con la agregación y acumulación del péptido A β y su consiguiente neurotoxicidad. Recientemente, se ha demostrado a través de estudios de anclaje que el Δ^9 -**THC**, y por tanto sus análogos sintéticos como el dronabinol, actúa como inhibidor competitivo de la AChE, aumentando la disponibilidad de la ACh y como prevención de la agregación de la acumulación de péptido A β ya que se une con especial afinidad a PAS. Por tanto, los cannabinoides además de aliviar el déficit cognitivo con el incremento de la ACh también modificarían la progresión de la enfermedad frenando la acumulación de péptido A β .

El Δ^9 -THC es un inhibidor considerablemente más efectivo en la deposición de A β inducida por AChE que los fármacos aprobados para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer como el Donepezilo que redujo la agregación de A β en sólo 22%.¹⁵

Figura 5: Se muestra el patrón de unión del dronabinol (Derivado del THC) (blanco) y donepezilo (negro) a la acetilcolinesterasa. Los aminoácidos representados pertenecen al sitio de unión forman parte de PAS, CAS y el sitio catalítico activo de la enzima.¹



En cuanto a la desregulación del calcio intracelular provocada por la activación excesiva de NMDA entre otros factores, podría ser contrarrestada por cannabinoides. Los niveles elevados de calcio activan la maquinaria de síntesis de los eCB, que se producirán en la membrana postsináptica y activarán a los receptores CB_1 de la membrana presináptica, actuando así como mensajeros retrógrados. Con la activación de estos receptores CB_1 en las neuronas glutamatérgicas se reduce la entrada de Ca^{2+} lo que se traduce en una inhibición de la liberación de glutamato. Adicionalmente los cannabinoides también alterarían la entrada de Ca^{2+} a través de la reducción de la liberación de Ca^{2+} de las reservas de los receptores de rianodina, además de producir una inhibición de la protein kinasa A y una reducción de la producción de óxido nítrico.

HU-211, es un cannabinoide no psicótropo, que actúa como inhibidor estereoselectivo del receptor NMDA.¹⁶ Ha demostrado tener un efecto neuroprotector frente a la neurotoxicidad inducida por NMDA a través de mecanismos como la inhibición de la liberación de glutamato de la neurona presináptica y de manera indirecta actúa a través del receptor CB_1 de la manera anteriormente mencionada. Además tiene propiedades ansiolíticas y antidepresivas que pueden ser consecuencia de una mejora en la neurogénesis.¹⁶

EFFECTO LA FOSFORILACIÓN DE LA PROTEÍNA TAU

Uno de los signos patológicos más destacables de la EA es la hiperfosforilación de la proteína Tau. Los cannabinoides juegan un papel en la modificación de este fenómeno. En el caso de **CBD** su efecto está mediado a través de la reducción de la forma activa fosforilada de la glucógeno sintasa quinasa GSK-3 β , una de las Tau quinasas. En cambio, el efecto de la **ACEA** y **WIN55,212-2** está relacionado con el CB₁ mediante la regulación a la baja de la expresión inducible de la iNOS y la producción de óxido nítrico en células de astroglioma de estimulación A β cultivadas con células PC12 neuronales.

En cuanto al receptor CB₂, la administración crónica de **KWH-133** ha reducido la fosforilación de la proteína Tau en las proximidades de las placas seniles en ratones APP/PS1. Esto se debe a una reducción de la actividad de GSK-3 β , p38, entre otras quinasas.

CANNABINOIDES Y NEUROINFLAMACIÓN

La EA se encuentra asociada con procesos inflamatorios, además de con estrés oxidativo que son propensos a exacerbar el proceso de la enfermedad. Probablemente, está neuroinflamación este mediada por microglías, que son las principales células del sistema inmune en el cerebro y cuya densidad se ve incrementada en los alrededores de las placas seniles, intentando eliminar la carga de A β a través de la fagocitosis. Sin embargo, la deposición A β excede la capacidad fagocítica de la microglía y su persistente activación conduce a una liberación de citoquinas pro-inflamatorias IL-6, THF- α , IL-1 β , que incrementa el procesamiento de la proteína precursora de amiloide para generar más fragmentos A β afectando así a la neurotoxicidad. Además las microglías activadas contribuyen de forma muy importante en la producción de ROS (especies reactivas de oxígeno) que median el daño oxidativo y pueden perpetuar aun más la respuesta inflamatoria.

Esencialmente, los receptores **CB₂**, que están exentos de actividad psicotrópica, se expresan en células del sistema inmunitario, incluyendo microglías, por lo que se relacionan con una inhibición de la neurotoxicidad mediada por microglia. En cerebros de pacientes con EA *post-mortem* se han hallado áreas, como la corteza y el hipocampo, donde el CB₂ se encontraba sobreexpresado lo que conduce a pensar que se trataba de una intento de contraatacar la inflamación crónica ya que la activación de estos receptores conlleva a una disminución de la activación de la microglia y de la producción de citoquinas, además de estimular la

producción de especies antiinflamatorias como IL-1ra.¹⁷ Se ha sugerido que los cannabinoides juegan un papel importante en la regulación de la migración de células de neutrófilos, macrófagos, NK y células B.

Dado que el **CB₂** se asocia con microglia activada dentro de las placas seniles podría ser un objetivo prometedor para el tratamiento de la EA en virtud de su capacidad de servir como freno para la cascada de neuroinflamación. Los agonistas del **CB₂** ofrecen la ventaja de estar desprovistos de psicoactividad, pero pueden tener una inmunosupresión que sería perjudicial en una población de edad avanzada.

En cuanto al **CBD**, también presenta propiedades antiinflamatorias pero no tiene afinidad ni por CB₁ ni por CB₂ por lo que se atribuyen estas propiedades a PPAR γ . Las enzimas responsables de la degradación de endocannabinoides FAAH y MAGL también juegan un papel importante en la neuroinflamación. El bloqueo farmacológico de MAGL demostró disminuir la producción de citoquinas a través de la reducción de la producción de prostaglandinas, ya que se frena la generación de ácido araquidónico.¹²

ACCIONES SOBRE LA MITOCONDRIA: ESTRES OXIDATIVO Y METABOLISMO ENERGÉTICO

Numerosos estudios han relacionado una disfunción mitocondrial con procesos neurodegenerativos, ya que esto puede tener graves consecuencias celulares como disminución de la producción de ATP y por tanto una apoptosis resultante de la liberación de factores de muerte y del deterioro de la capacidad de almacenamiento del calcio. Asimismo, alteraciones en los complejos proteicos de la cadena de respiración mitocondrial ha elevado la generación de radicales libres con el consiguiente daño oxidativo y nitrosante que afecta a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos.

Las propiedades antioxidantes de los derivados de **CBD** han sido justificadas en recientes cultivos celulares expuestos a niveles tóxicos de glutamato; el **CBD** previene la producción de ROS y por tanto la peroxidación de lípidos, reduce los niveles de NO, además de la expresión de la enzima responsable de su síntesis iNOS, la protein kinasa p38 y el factor de transcripción κ B.¹⁶ **JWH-133** disminuye los productos la peroxidación lipídica y aumenta los niveles de las superóxido dismutasas, reduciendo por tanto el estrés oxidativo y

promoviendo las respuestas frente a estos daños. WIN55 212-2 produce la estimulación de la neurogénesis adulta al oponerse al efecto antineurogénico del óxido nítrico.¹⁶

VI. Conclusiones

El Alzheimer representa un problema devastador tanto a nivel sanitario como social y por tanto es concebible que una terapéutica eficaz tenga que considerar múltiples dianas. Los actuales inhibidores de la acetilcolinesterasa presentan numerosos efectos secundarios como es la hepatotoxicidad y las molestias gastrointestinales. La Memantina, por otro lado, a pesar de modificar en cierto modo la enfermedad no puede revertir la neurodegeneración. El sistema cannabinoide puede constituir un nuevo sistema susceptible de manipulación farmacológica dada su actividad en el SNC y la evidencia de su alteración en enfermedades como es la EA.

Los cannabinoides reducen el estrés oxidativo, disminuyen la neuroinflamación y la apoptosis evocada por A β , mejoran los trastornos de comportamiento y aumentan el apetito. El THC además incrementa la disponibilidad de la ACh y frena la amiloidogénesis, aunque los posibles efectos psicoactivos pueden obstaculizar su utilidad clínica. Los beneficios terapéuticos deben estar claramente dissociados de los riesgos de abuso y adicción relacionados con el uso recreativo de derivados del Cannabis. Se debe considerar las propiedades terapéuticas de agonistas mixtos a dosis relativamente bajas que aseguren un riesgo bajo de efectos psicoactivos. La estimulación selectiva del receptor CB₂ podría considerarse de gran interés ya que, además de estar asociado con la neuroinflamación, estos receptores son muy abundantes alrededor de placas seniles y presentan un riesgo reducido de producir efectos psicoactivos.

Los cannabinoides ofrecen claramente un enfoque multifacético y su potencial podría estar respaldado por ser una terapia segura y de bajo coste debido a su origen natural. Por tanto, ahora, el reto es establecer su verdadero potencial clínico.

VII. Bibliografía

- ¹ A. Agis-Torres, M. Sollhuber, M. Fernández, J. M. Sánchez-Montero. 2014. disease. Current neuropharmacology 12 (1), 2-36.
- ² P. Gómez González del Tánago, B. Navarro Vidal, F.J. Panadero Carlavilla. 2011. Revisión: Enfermedad de Alzheimer. Panorama Actual Del Medicamento 35 (347), 803-808.
- ³ A. M. Simón, D. Frechilla, J. Del Río. 2010. Perspectivas sobre la hipótesis de la cascada del amiloide en la enfermedad de Alzheimer. Rev Neurol; 50: 667-75.
- ⁴ M. Rommy von Bernhardt. 2005. Mecanismos neurobiológicos de la enfermedad de Alzheimer. Rev Chil Neuro-Psiquiat; 43(2): 123-132
- 5 J. L. Sussman, M. Harel, F. Frolow, C. Oefner, A. Goldman, L. Toker, I. Silman. 1991. Atomic-structure of acetylcholinesterase from torpedo-californica - a prototypic acetylcholine-binding protein. Science, 253(5022), 872-879.
- ⁶ G. Sánchez-Chávez , R. Salceda. 2008. Enzimas Polifuncionales: El caso de la acetilcolinesterasa. REB, 27 (2), 44-51.
- ⁷ P. J. González Naranjo. 2013. Una nueva estrategia basada en el diseño de fármacos multidiana para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas. . Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- ⁸ O. López Locanto. 2015. Tratamiento farmacológico de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Arch Med Interna 37(2): 61-67.
- ⁹ J. Fernández-Ruiz. 2012. Fármacos cannabinoides para las enfermedades neurológicas: ¿qué hay detrás? Revista Neurología; 54: 613-28.
- 10 A. I. Fraguas-Sánchez , A. M. Fernández-Carballido, A. I. Torres-Suárez. 2014. Cannabinoides: una prometedora herramienta para el desarrollo de nuevas terapias. An. Real Acad. Farm. Vol. 80, Nº 3, pag.555-577
- ¹¹ Guía Básica sobre los Cannabinoides. Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides.
- 12 E. Aso, I. Ferrer. 2014. Cannabinoids for treatment of Alzheimer's disease: moving toward the clinic. Front Pharmacol, 5, 1-11.
- ¹³ C. Felder, K. E. Joyce, E. M. Briley, J. Mansouri, K. Mackie, O. Blond, Y. Lai, A. L. Ma, R. L. Mitchell. 1995. Comparison of the Pharmacology and Signal-Transduction of the Human Cannabinoid Cb1 and Cb2 Receptors. Mol. Pharmacol. 48, 443-450.
- 14 C. Suero-García, L. Martín-Banderas, M. A. Holgado. 2015. Efecto neuroprotector de los cannabinoides en las enfermedades neurodegenerativas. Ars Pharm
- ¹⁵ L. M. Eubanks, C.J Rogers, A.E. Beuscher, et al. 2006. A Molecular Link Between the Active Component of Marijuana and Alzheimer's Disease Pathology. Molecular pharmaceutics.3(6):773-777.
- 16 V. A. Campbell, A. Gowran. 2007. Alzheimer's disease; taking the edge off with cannabinoids? British Journal of Pharmacology, 152(5), 655-662.
- ¹⁷ S. G. Fagan, V. A. Campbell. 2014. The Influence of Cannabinoids on Generic Traits of Neurodegeneration." British Journal of Pharmacology 171.6: 1347-1360.
- ¹⁸ J. Fernández-Ruiz, C. García, O. Sagredo, M. Gómez-Ruiz, E. De Lago. 2010. The endocannabinoid system as a target for the treatment of neuronal damage. Expert Opinion Therapy Targets; 14: 387-404.