



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**  
**ENDOZEPINAS: EL VALIUM CEREBRAL**

Autores: Blanca Piñeiro García y M<sup>a</sup> Isabel Sánchez Afán de Rivera

Tutor: Luis García García

Convocatoria: Junio 2017

# ÍNDICE

|   |           |
|---|-----------|
| <b>RESUMEN .....</b>                                    | <b>3</b>  |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                    | <b>3</b>  |
| <b>INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.....</b>                 | <b>4</b>  |
| <b>Farmacología de las BZD .....</b>                    | <b>4</b>  |
| <b>Clasificación de las benzodiazepinas .....</b>       | <b>6</b>  |
| <b>Efectos secundarios de las benzodiazepinas .....</b> | <b>7</b>  |
| <b>Descubrimiento de las endozepinas .....</b>          | <b>9</b>  |
| <b>OBJETIVOS.....</b>                                   | <b>10</b> |
| <b>METODOLOGÍA.....</b>                                 | <b>10</b> |
| <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>                     | <b>11</b> |
| <b>Inhibidor de la unión a diazepam .....</b>           | <b>11</b> |
| <b>Endozepinas y encefalopatía hepática .....</b>       | <b>13</b> |
| <b>Endozepinas y estupor .....</b>                      | <b>15</b> |
| <b>Endozepinas y cáncer de pulmón.....</b>              | <b>16</b> |
| <b>CONCLUSIONES .....</b>                               | <b>17</b> |
| <b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>                               | <b>19</b> |

## RESUMEN

Las benzodiazepinas conforman uno de los grupos de fármacos más demandados por la población debido a su potente acción sedante, hipnótica, ansiolítica, anticonvulsiva y miorrelajante. Se unen al receptor GABA<sub>A</sub> actuando como moduladores alostéricos positivos.

El estudio del receptor benzodiazepínico llevó a los investigadores a plantearse la posible existencia de unas moléculas endógenas que se unieran al mismo, justificando así su presencia en el organismo. Estos ligandos son conocidos como endozepinas. Existen varias candidatas, entre las que destaca el inhibidor de la unión a diazepam (DBI).

A día de hoy, por su complejidad, no se conoce con exactitud su mecanismo de acción. Lo que sí se ha demostrado es su participación en diversos procesos patológicos como la encefalopatía hepática, el estupor idiopático y el cáncer de pulmón.

## ABSTRACT

Benzodiazepines are one of the most commonly prescribed drugs due to their sedative, anxiolytic, muscle relaxing, hypnotic and relief from spasticity properties. Their mechanism of action is based on their binding to the GABA<sub>A</sub> receptor, acting as positive allosteric modulators.

Surveys about the benzodiazepinic receptor has lead researchers to consider the possible existence of endogenous ligands which bound to it. This fact would justify its presence in our organism. These endogenous ligands are known as endozepines, a term which has uncovered a variety of ligands that might fulfill this role. The protein diazepam-binding inhibitor (DBI) is the most studied endozepine.

Yet today, as a matter of its complexity, their mechanism of action hasn't been elucidated. What has already been demonstrated is their involvement in some pathological processes such as hepatic encephalopathy, recurrent idiopathic stupor and lung cancer.

## Abreviaciones

BZD benzodiazepinas, GABA ácido gamma aminobutírico, PAM modulador alostérico positivo, NAM modulador alostérico negativo, DBI inhibidor de la unión a diazepam, ACBP proteína de unión a acetil-CoA, IRS estupor recurrente idiopático.

## INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

Desde su aparición en el mercado farmacéutico en los años 60, las benzodiazepinas (BZD) se han convertido en uno de los medicamentos más utilizados en todo el mundo. Son fármacos que se emplean en el tratamiento de un elevado número de afecciones debido a su potente acción sedante, hipnótica, ansiolítica, anticonvulsiva y miorrelajante. <sup>(1)</sup>

El motivo por el cual este grupo de fármacos se hizo un hueco en el sistema médico fue que hasta la fecha existían escasos recursos para el tratamiento de las enfermedades mentales. Durante siglos, los humanos para automedicarse habían utilizado el opio y el alcohol, ejemplo que siguieron numerosos psiquiatras en un intento de curar a quienes padecían este tipo de enfermedades. <sup>(2)</sup>

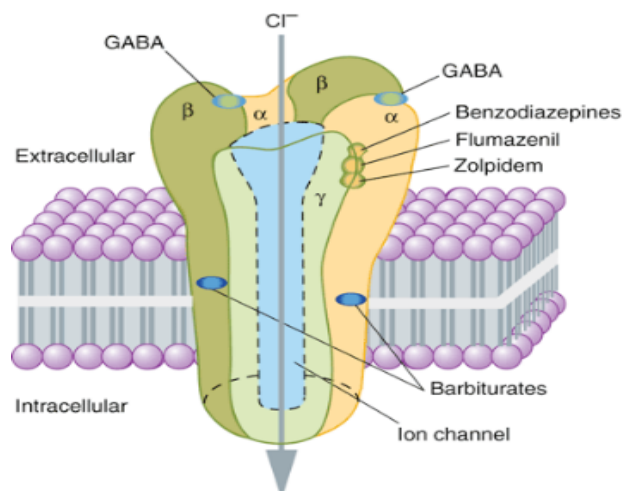
En 1955, el químico Leo Sternbach identificó la primera BZD, el clordiazepóxido. Tras la experimentación con animales de investigación, comprobó que este compuesto presentaba propiedades sedantes, anticonvulsivantes y relajantes musculares muy similares a las del fenobarbital y el meprobamato; sin embargo, a diferencia de estos últimos, los animales no quedaron sedados, sino tranquilos y en estado de alerta. Gracias a su baja toxicidad y a los escasos efectos secundarios, el clordiazepóxido fue comercializado en 1960 bajo el nombre de Librium. <sup>(2)</sup>

Tres años más tarde aparece el líder de las BZD y el fármaco más exitoso de la historia farmacéutica: el Valium (diazepam).

Ambos medicamentos reemplazaron rápidamente a los sedantes e hipnóticos de primera elección utilizados hasta el momento. <sup>(3)</sup>

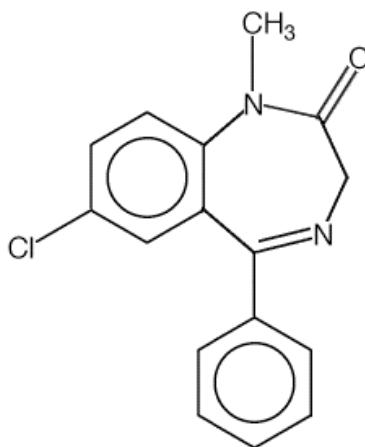
### ***Farmacología de las BZD***

Las BZD actúan como moduladores alostéricos positivos del receptor ácido gamma aminobutírico A (GABA<sub>A</sub>). El GABA<sub>A</sub> es un receptor ionotrópico postsináptico que contiene un canal de cloro conformado por cinco subunidades glicoproteicas: 2 subunidades  $\alpha$ , 2 subunidades  $\beta$  y 1 subunidad  $\gamma$  (Figura 1). Al unirse el GABA a su sitio de acción se produce la apertura del canal y la entrada de cloro en la célula, la cual se hiperpolariza y se produce como resultado el efecto inhibitorio.



**Figura 1. Complejo receptor GABA** <sup>(4)</sup>

Todos los receptores GABA<sub>A</sub> tienen dos sitios de unión para GABA y un sitio de unión para las BZD. El sitio de unión de las BZD se encuentra en una región específica entre las subunidades  $\alpha$  y  $\gamma$ , siendo la presencia de la subunidad  $\alpha 1$  imprescindible para el reconocimiento de las BZD clásicas como es por ejemplo el diazepam (Figura 2).



**Figura 2. Molécula de Diazepam** <sup>(5)</sup>

La unión de las BZD induce un cambio conformacional en el receptor, aumentando la afinidad del GABA por el mismo y, con ello, la frecuencia de apertura del canal de cloro. Esto da lugar a un incremento de la duración de las corrientes inhibitorias postinápticas en el sistema nervioso central (SNC). <sup>(6)</sup>

Cada subunidad presenta, además, múltiples isoformas. Existen 6 isoformas de la subunidad  $\alpha$ , pero solamente tienen afinidad por las BZD las isoformas 1, 2, 3 y 5.

La subunidad  $\alpha 1$  es responsable de los efectos sedantes y amnésicos. Las subunidades  $\alpha 2$  y  $\alpha 3$  tienen efecto ansiolítico y miorrrelajante, y las subunidades  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  y  $\alpha 5$  producen los efectos anticonvulsivantes. Además, la subunidad  $\alpha 5$  podría estar implicada en el alivio del dolor. <sup>(3)</sup>

Además de las BZD, existen otras moléculas capaces de unirse al receptor GABA<sub>A</sub> y ejercer efecto. Estos ligandos pueden clasificarse en tres categorías: agonistas o moduladores alostéricos positivos (PAM), como las BZD, los barbitúricos o el alcohol, que aumentan el efecto inhibitorio del GABA al facilitar su adhesión al propio receptor <sup>(7)</sup>; agonistas inversos o moduladores alostéricos negativos (NAM), como las beta-carbolinas, que disminuyen la acción del GABA; y antagonistas, como es el flumazenilo, que bloquea la acción de ambos moduladores al competir por el mismo sitio de unión pero no altera la función del GABA. <sup>(8)</sup>

### ***Clasificación de las benzodiazepinas***

Las BZD se pueden clasificar en base a dos criterios: la potencia y el tiempo de vida media.

Las primeras BZD descubiertas (clordiazepóxido, oxazepam y temazepam) presentaban una potencia baja-media. Su alta efectividad y su escasa toxicidad hicieron que se convirtieran en tratamiento de primera línea frente al insomnio y la ansiedad. Más adelante, se descubrieron otras de mayor potencia (alprazolam, lorazepam y clonazepam) que mostraron ser eficaces para nuevas indicaciones: trastornos de pánico, obsesivos-compulsivos y, en combinación con antipsicóticos, en el tratamiento de la manía y la agitación. Sin embargo, el aumento de la efectividad y potencia supuso también un incremento del riesgo de efectos secundarios derivados de su uso. Por esta razón, a la hora de prescribir las BZD es importante considerar las características individuales de cada una de ellas: absorción, distribución, solubilidad lipídica y tiempo de vida media.

Según su tiempo de vida media se dividen en tres grupos: BZD de acción corta, cuyo tiempo de eliminación es de entre 1 y 12 horas; BZD de acción intermedia, que tienen un tiempo de eliminación de 12 a 40 horas, y las de acción larga, que se eliminan en 40-250 horas. <sup>(6)</sup>

| Fármaco       | Vida Media | Potencia | Inicio de Acción (v/o) | Principales Usos Clínicos     |
|---------------|------------|----------|------------------------|-------------------------------|
| Midazolam     | C          | A        | I                      | Hipnótico Preanestésico       |
| Alprazolam    | I          | A        | I                      | Ansiolítico                   |
| Lorazepam     | I          | A        | I                      | Ansiolítico Anticonvulsivante |
| Clobazam      | P          | B        | I                      | Ansiolítico                   |
| Bromazepam    | I          | I        | R                      | Ansiolítico                   |
| Oxazepam      | I          | B        | L                      | Ansiolítico                   |
| Clonazepam    | P          | A        | I                      | Ansiolítico Anticonvulsivante |
| Diazepam      | P          | B        | R                      | Ansiolítico Anticonvulsivante |
| Flunitrazepam | P          | A        | R                      | Hipnótico                     |

Referencias: Vida media: C: Corta; I: Intermedia; P: Prolongada. Potencia: A: Alta; I: Intermedia; B: Baja. Inicio de Acción: R: Rápido, 0,5-1 hora; I: Intermedio, 1-3 horas; L: Lento: mayor a 3 horas.

Tabla 1. Propiedades farmacológicas y usos principales de las BZD <sup>(9)</sup>

### ***Efectos secundarios de las benzodiacepinas***

Los efectos secundarios más comunes relacionados con el tratamiento a base de benzodiacepinas incluyen somnolencia, letargo y fatiga. A dosis superiores puede darse descoordinación motora, mareo, vértigo, dificultad en el habla, visión borrosa, cambios de humor y euforia, además de comportamiento hostil en algunos casos.

La eliminación de este grupo de fármacos del cuerpo es muy lenta, pues tienen una gran afinidad por el tejido adiposo y por ende sufren una gran bioacumulación. Así, tratamientos prolongados pueden dar lugar a sobredosis con facilidad, con los efectos secundarios que ello conlleva.

Uno de los grandes problemas que implica el tratamiento a largo plazo con benzodiazepinas es que presentan tolerancia lo cual supone aumentar la dosis a medida que avanza el tratamiento, ya que con el paso del tiempo la dosis administrada se torna ineficaz. A su vez, crean una gran dependencia, tanto física como psíquica, lo que hace necesario que la forma de restricción del tratamiento se lleve a cabo progresivamente.

A nivel metabólico las BZD interaccionan con una gran cantidad de fármacos, ya que sufren metabolismo hepático vía citocromo P-450, por ello aquellos fármacos que bien inhiben o inducen este citocromo darán lugar a un aumento o disminución en el tiempo de eliminación de benzodiacepinas respectivamente.

Con el paso de los años, concretamente a partir de los 40, tanto la función hepática como renal se ven reducidas. La función renal disminuye a razón de un 1% anual, lo que expresado de otro modo es una disminución en el aclaramiento de creatinina a razón de 1ml/min/año. Esto quiere decir que a medida que avanzamos en edad tienen lugar numerosos cambios fisiológicos en nuestro organismo de gran importancia en este campo, pues el metabolismo de las BZD se ve enormemente disminuido, que da lugar a mayor sensibilidad. Esto se traduce en un aumento en la intensidad de la respuesta así como la duración de los efectos, lo que conlleva confusión y desorientación. La mayor sensibilidad se debe tanto a su acumulación como a sus metabolitos activos.

Cuando las benzodiazepinas se administran conjuntamente con otros fármacos como pueden ser los opiáceos tienen lugar efectos secundarios cardiovasculares y hemodinámicos de mayor gravedad, pudiendo llegar a producirse la depresión respiratoria del paciente y su muerte, algo que también les sucede a los pacientes que padecen enfermedad pulmonar obstructiva. <sup>(6)</sup>

|                  |                                    |   |
|------------------|------------------------------------|---|
| Farmacocinéticas | Aumentan la concentración de BZD   | Digoxina<br>ISRS<br>Eritromicina<br>Isoniacida<br>Ketoconazol<br>Dextropropoxifeno<br>Omeprazol<br>Betabloqueantes<br>Anticonceptivos |
|                  | Disminuyen la concentración de BZD | Antiácidos<br>Barbitúricos<br>Carbamazepina<br>Levodopa<br>Cafeína<br>Tabaco  |
| Farmacodinámicas | Aumentan efectos depresores        | Antidepresivos<br>Neurolépticos<br>Anticovulsivantes<br>Antihistamínicos<br>Opiáceos<br>Alcohol                                       |

**Tabla 2. Principales interacciones de las BZD <sup>(10)</sup>**

## ***Descubrimiento de las endozepinas***

El descubrimiento del sitio de unión de las BZD en el receptor GABA llevó a los investigadores a plantearse la posibilidad de que existiera un ligando endógeno, producido de forma natural por el cerebro, capaz de unirse a dicho sitio y modular alostéricamente el receptor.

En un primer momento se pensaba que la presencia de estas moléculas (diazepam y nordiazepam) en tejido animal se debía a la contaminación ambiental, lo cual se descartó más adelante cuando se demostró la existencia de estas moléculas en cerebros humanos congelados previamente al descubrimiento de las benzodiazepinas.<sup>(11)</sup>

Estas moléculas se conocen con el nombre de “endozepinas”. Las oleamidas, las endozepinas no peptídicas y el inhibidor de la unión del diazepam (DBI) son algunos de los ligandos que podrían actuar de esta manera. Hasta el momento, el más estudiado es el DBI, también conocido como el “valium del cerebro”.

Durante décadas, se consideró que el DBI presentaba principalmente efectos alostéricos negativos, al bloquear la unión del diazepam y otras BZD a su receptor. Sin embargo, los últimos estudios realizados revelan que el DBI podría acumularse en determinadas regiones y ejercer una modulación alostérica positiva endógena mediante la activación de los receptores benzodiazepínicos.<sup>(1)</sup>

En numerosos estudios in vivo se evidenció la existencia fisiológica de las endozepinas gracias al descubrimiento de que el flumazenilo suprimía la sinapsis entre neuronas inhibitorias del núcleo reticular talámico, lo cual indica la presencia de éstas en ese núcleo. Así mismo, se comprobó que el tratamiento con flumazenilo podía inducir ataques de pánico en pacientes enfermos, revertir el estupor asociado a la encefalopatía hepática o dar lugar a ataques de pánico mayores en mujeres que padecían ansiedad a consecuencia del síndrome premenstrual, entre otras. Es por esto, que se llegó a la conclusión de la existencia de endozepinas en el líquido extracelular cuyo rol fisiológico era principalmente regular tanto la ansiedad como el pánico.<sup>(1)</sup>

El origen de las endozepinas sigue sin estar del todo claro, y son muchas las hipótesis que se plantean. Además de en tejidos humanos y animales, se han encontrado endozepinas en diversos alimentos y plantas medicinales. Es el caso de la manzanilla dulce (*Matricaria chamomilla*), utilizada durante décadas para aliviar trastornos gastrointestinales, menstruales, paliar la fiebre y tratar el insomnio, entre otros.

Sus efectos sedativos se deben a la apigenina, un flavonoide capaz de unirse a los receptores benzodiazepínicos cerebrales, así como a otros componentes presentes en los extractos de la planta que aún no han sido identificados. <sup>(12)</sup>

Existen también evidencias que demuestran la presencia de endozepinas en los alimentos. Para ello se realizó un estudio con el objetivo de cuantificar los niveles de endozepinas en diferentes alimentos de la dieta mediterránea. Se analizó una muestra serológica obtenida de pacientes con soporte nutricional parenteral tras una cirugía, y se comparó con otra obtenida tras la realimentación oral. En el primer caso no se detectaron endozepinas en suero, mientras que en el segundo los niveles aumentaron considerablemente.

Se utilizaron técnicas HPLC para separar extractos de los distintos alimentos y evaluaron la capacidad de unión a los receptores centrales de benzodiazepinas. Frutas, verduras, cereales y carne fueron los alimentos que mostraron tener mayores cantidades de endozepinas, mientras que el queso y el aceite fueron los que menos.

Estos datos ayudan a decidir qué alimentos incluir en las dietas para pacientes con cirrosis hepática con el fin de evitar que se produzca una encefalopatía hepática. <sup>(13)</sup>

La otra posibilidad que los científicos se plantean es la participación de la flora intestinal en la síntesis de las endozepinas, ya que sus niveles en sangre se ven disminuidos un 40% tras la administración de rifamixina, antibiótico derivado de la rifampicina que reduce la flora bacteriana intestinal aerobia y anaerobia. <sup>(14)</sup>

## **OBJETIVOS**

El objetivo principal de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica de la información disponible acerca de las endozepinas, así como identificar los aspectos más relevantes de los estudios realizados hasta ahora. Además, se pretende analizar la posible implicación de las endozepinas en algunos trastornos, tales como la encefalopatía hepática, el estupor o el cáncer de pulmón.

## **METODOLOGÍA**

Se utilizaron artículos científicos relacionados con las endozepinas obtenidos de las bases de datos electrónicas PubMed y ScienceDirect. También se emplearon publicaciones de distintas revistas científicas de consulta on-line como Neuron o The Ochsner Journal.



señalización diferentes y que puede estar a su vez relacionada con tratamientos con hormonas esteroideas, urotensina II, o niveles de potasio elevados, que la inducen, mientras que tanto la somatostatina como el GABA<sub>B</sub>, inhiben esta liberación.

Tras lograr obtener la secuenciación de la proteína junto con sus fragmentos peptídicos, diversos estudios han mostrado que el DBI contiene en su molécula una gran cantidad de endoproteasas, hecho que permite explicar la capacidad del mismo para desplazar las benzodiazepinas de su unión con el receptor GABA<sub>A</sub>, y así modularlo él alostéricamente, siendo, en la mayoría de los casos, una modulación negativa.

El RNA mensajero del DBI está ampliamente distribuido por el cerebro, incluyendo el tálamo. En estudios inmunohistoquímicos se han observado variaciones en la expresión de los perfiles proteicos para DBI y sus fragmentos peptídicos en el SNC de diferentes especies, así, además se ha comprobado en diferentes estudios in vivo, que es posible que las concentraciones extracelulares de DBI endógeno en zonas aisladas, como por ejemplo en el núcleo reticular talámico, sean significativamente inferiores, lo cual hace que éste actúe como modulador alostérico positivo y no negativo como es habitual en el tejido cerebral. Para demostrar este hecho se valieron de ratones; unos a los que se había eliminado el gen promotor para la formación de DBI, y que, por tanto, no mostraban efectos cuando se les inyectaba flumazenilo, y otros, en los que el gen se había sobreexpresado que sí mostraban respuesta a la inyección. <sup>(8)</sup>

El mecanismo por el cual sucede lo anterior está aún por determinar, pese a que se cree que pueda deberse al diferente procesamiento de la proteína cuando tiene lugar bien intra- o extracelularmente, lo que depende del área o el tipo celular en que este procesamiento tenga lugar.

Para explicar estas dos acciones opuestas se plantean dos hipótesis:

- 1) La actividad del DBI en el receptor GABA varía en función del fragmento peptídico específico que se está uniendo a él.
- 2) Las actividades del DBI varían en función de la subunidad específica del receptor a la que se está uniendo. <sup>(1)</sup>

Posteriormente se comprobó que la expresión de las endozepinas en el tálamo tiene lugar únicamente en el núcleo, mientras que la inhibición por parte del flumazenilo de su actividad únicamente tiene lugar en el núcleo reticular talámico.

Esto permitió llegar a la conclusión de que las endozepinas, únicamente se expresan en el espacio extracelular, es decir, en el sitio de unión de las BDZ con el receptor GABA<sub>A</sub> a nivel

del núcleo reticular talámico, lo que lleva a pensar que el procesamiento del DBI tenga lugar a través de rutas núcleo-específicas que lo secretan localmente al espacio extracelular, donde finalmente actúan como moduladores alostéricos positivos.

Los últimos descubrimientos muestran además que los productos peptídicos del DBI pueden modular las corrientes mediadas por GABA a través de una ruta alternativa en lugar de unirse al sitio de unión benzodiazepínico en el receptor GABA<sub>A</sub>.

En esta ruta, la unión tiene lugar en un sitio de unión secundario para las benzodiazepinas, conocido como el receptor benzodiazepínico periférico (PBR).

El PBR, también conocido por ser un transportador proteico, es un transportador de colesterol situado en la membrana mitocondrial externa, que se encuentra tanto en tejido neuronal como fuera de él.

La unión del DBI y sus fragmentos a este receptor estimula el transporte de colesterol hacia el interior mitocondrial, aumentando así la concentración de este metabolito, factor limitante para la síntesis de neuroesteroides.

Los neuroesteroides tienen un sitio de unión alostérico en el receptor GABA<sub>A</sub> diferente al benzodiazepínico, cuya unión potencia tanto las funciones sinápticas como extrasinápticas del mismo.

Lo anterior demuestra que los fragmentos peptídicos del DBI son capaces de modular la función del GABA bien de forma directa, a través de la inhibición sináptica, o bien de forma indirecta, a través de la síntesis de neuroesteroides. <sup>(8)</sup>

### ***Endozepinas y encefalopatía hepática***

La encefalopatía hepática (HE) es un síndrome neuropsiquiátrico caracterizado por la depresión generalizada del sistema nervioso central que tiene lugar a consecuencia del fallo hepático o debido a una complicación de la cirrosis hepática. Se sabe además, que la encefalopatía hepática puede darse de forma espontánea o bien como resultado de sepsis, terapias diuréticas, hipocalcemia, hiperazoemia, sobredosis proteica así como debido a la administración de benzodiazepinas o morfina. La enfermedad es consecuencia de la presencia de fluidos tóxicos extracelulares que no pueden ser metabolizados debido a fallo hepático.

El amonio, que se ve aumentado en la HE, juega un papel muy importante y su presencia en el cuerpo es decisiva para la enfermedad, lo cual se debe a su capacidad para disminuir el metabolismo cerebral además del daño astrocítico que provoca. <sup>(11,16)</sup>

La relación del receptor GABA<sub>A</sub> con la encefalopatía hepática se demostró ya en 1980 cuando se observó que los antagonistas del receptor benzodiazepínico revertían los síntomas de HE en animales y pacientes humanos.

Debido a esto, comenzó a plantearse la hipótesis de que un aumento en los ligandos endógenos para el receptor benzodiazepínico, las endozepinas, podría ser el responsable del incremento del tono gabaérgico en la encefalopatía hepática.

Más recientemente se ha demostrado la evidencia de que en aquellos animales que padecen encefalopatía hepática provocada por cirrosis o por fallo hepático, los receptores benzodiazepínicos están aumentados y también lo está el receptor benzodiazepínico periférico, que interviene en la síntesis de neuroesteroides.

Numerosos estudios revelan que el DBI, ligando endógeno del receptor benzodiazepínico periférico, estimula la síntesis de pregnenolona, el primer esteroide sintetizado en la ruta de síntesis del colesterol. Esto explica el motivo por el cual tanto el DBI como los niveles de colesterol están aumentados en pacientes con cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular, lo cual se ha demostrado experimentalmente en animales y humanos.<sup>(17)</sup>

El receptor benzodiazepínico periférico (PBR) se expresa en la membrana mitocondrial externa de la gran mayoría de órganos periféricos como riñón, pulmones, corazón, hígado y tejidos endocrinos.

Pese a que existen escasos estudios que avalen el aumento de endozepinas en pacientes con encefalopatía hepática, los pocos que se han llevado a cabo muestran que: en primer lugar, los sujetos sin HE, presentan niveles casi imperceptibles de benzodiazepinas de origen natural. En segundo lugar, los sujetos con cirrosis hepática, presentaban niveles más elevados de las mismas, y además, había una relación de proporcionalidad entre la cantidad de endozepinas presentes en sangre y el grado de disfunción hepática, pero no con el grado de encefalopatía, pues el verdadero aumento de éstas tiene lugar en las fases más avanzadas y críticas de la enfermedad.

De este modo, se pudo confirmar que las endozepinas son un factor precipitante en cuanto a encefalopatía se refiere, pero únicamente en aquellos sujetos que presentan hipersensibilidad en el receptor GABA<sub>A</sub>, que responde de manera exacerbada a las BDZ y derivados.

Además de las endozepinas, en concreto la más estudiada en relación al coma hepático, la endozepina-4, se ha estudiado la enorme implicación del amonio en el desarrollo de esta enfermedad.

El amonio, tóxico para el cerebro a concentraciones elevadas, ha resultado ser el responsable del aumento de la síntesis de GABA a través de la ruta de los ácidos tricarbóxicos.

El coma hepático tiene lugar en parte debido al aumento de la presencia de endozepina-4, de elevada afinidad por el receptor GABA<sub>A</sub>, que también se encuentra hiperactivado en estos pacientes.

La rifamixina es uno de los antibióticos utilizados en el tratamiento de la encefalopatía hepática, ya que no solo reduce los niveles de amonio en sangre, sino que también disminuye los niveles de endozepinas circulantes.<sup>(14)</sup>

### ***Endozepinas y estupor***

El estupor es un estado de inconsciencia parcial, en el que las capacidades intelectuales están disminuidas. Es una ausencia de respuesta de la que, a diferencia del coma, se puede salir con una estimulación física vigorosa, como por ejemplo un grito, una sacudida o un pellizco.

Para que la conciencia se vea afectada es necesario que se produzca una disfunción cerebral bilateral, es decir, que ambos hemisferios cerebrales resulten dañados. En función del grado de deterioro, el período de alteración de la conciencia puede ser más corto o más largo: letargo, obnubilación, delirio, estado mental alterado, estupor y coma.

Todos ellos se pueden producir por las mismas causas, tales como abuso de sustancias, fármacos, alteraciones metabólicas, insuficiencia hepática o renal, hipotiroidismo, hipotermia o hipertermia, así como desórdenes psiquiátricos.<sup>(18)</sup>

En algunas ocasiones se puede producir estupor sin que exista alguna causa que lo justifique. Esta situación se conoce como estupor recurrente idiopático (IRS).

Un estudio llevado a cabo por las universidades de Bolonia y de Módena demostró la posible asociación entre el IRS y el exceso de endozepinas. Seleccionaron a un grupo de pacientes que presentaron episodios repetidos de estupor o coma durante uno o dos días sin ninguna causa que los justificara. Al administrarles flumazenilo vía intravenosa se consiguió despertarles. El flumazenilo al unirse al receptor GABA<sub>A</sub> desplazaría al ligando endógeno, la endozepina, revirtiendo el estado de estupor. El plasma y el líquido cefalorraquídeo (LCR) de los pacientes mostraron además enormes cantidades de endozepina-4.

Entre los ataques, los niveles de endozepina-4 en plasma y LCR de los pacientes fueron iguales que los de los controles. Sin embargo, durante los episodios de estupor los niveles de endozepina-4 aumentaron entre 4000 y 20000 veces por encima de lo normal, respectivamente.

A día de hoy sigue sin estar del todo claro si realmente son los niveles altos de endozepinas las responsables del estupor. Los últimos estudios publicados revelan que uno de los fragmentos resultantes tras la digestión del DBI, el octadecaneuropéptido, actúa en realidad como agonista inverso del receptor de BZD y, por tanto, no podría provocar el estupor, sino todo lo contrario, debería despertar al paciente. <sup>(19)</sup>

### ***Endozepinas y cáncer de pulmón***

Las células cancerígenas son capaces de utilizar rutas alternativas para alcanzar la elevadísima demanda nutricional que requiere el crecimiento celular incontrolado, lo cual llevan a cabo reprogramando el metabolismo mitocondrial. <sup>(20)</sup> Tanto el catabolismo como la  $\beta$ -oxidación del Acetil-CoA es un proceso imprescindible para lograr alcanzar los requerimientos nutricionales en momentos de estrés metabólico.

A través de numerosos estudios se ha comprobado que la proteína de unión a Acetil-CoA, comúnmente conocida como DBI, es una de las proteínas cuya presencia es decisiva a la hora de predecir la probabilidad de padecer cáncer de pulmón en aquellas personas que presentan lesiones endobronquiales.

No sólo se ha demostrado lo anterior, si no que, gracias a diferentes técnicas analíticas, se ha evidenciado la presencia exacerbada de DBI en los procesos cancerígenos de pulmón así como durante el desarrollo de carcinomas escamosos.

El estudio experimental reveló que en aquellos casos en que se deplecionaban los niveles de DBI, tenía lugar una disminución de la proliferación celular además de inducir la apoptosis en células tumorales pulmonares. Todo esto se vio reforzado gracias a la demostración de que el DBI interviene en la  $\beta$ -oxidación en las células pulmonares.

Lo anterior permite pensar que el DBI contribuye a la regulación de la proliferación y supervivencia de las células tumorales pulmonares a través de la modulación de la  $\beta$ -oxidación, lo cual infiere el hecho de que la homeostasis lipídica en el cáncer de pulmón es un componente clave tanto en el metabolismo como en su patogenia. <sup>(21)</sup>

La  $\beta$ -oxidación es el proceso mediante el cual los ácidos grasos se degradan en la mitocondria para dar lugar a acetil-CoA, que puede servir de sustrato tanto para la ruta de los ácidos tricarbónicos como para la síntesis de novo de ácidos grasos.

Existe un transportador, carnitina palmitoil transferasa-1 (CPT-1), que media el transporte de acetil-CoA al interior mitocondrial para llevar a cabo la  $\beta$ -oxidación. Se ha observado, que su inhibición gracias al fármaco etomoxir, se traduce en una disminución en los niveles de ATP, lo cual implica muerte celular. Por tanto, se puso en práctica su inhibición en pacientes con tumores (no sólo pulmonar, sino también de mama y próstata) observándose una disminución en la proliferación celular.

Como desde hace un tiempo es ya conocido, las células tumorales requieren una gran cantidad de ácidos grasos, que sintetizarían gracias a la sintasa, enzima clave en este proceso. Sin embargo, se cree que la fuente de energía principal la obtienen través de la  $\beta$ -oxidación, ruta degradativa, considerada como fuente idónea de energía.

En definitiva, lo que los estudios sugieren respecto a este campo es que existe una correlación entre la cantidad de DBI en las células tumorales y el crecimiento de las mismas, puesto que sería la molécula responsable de regular la  $\beta$ -oxidación.

Así, muchos investigadores asocian en la actualidad la presencia de DBI elevado en pacientes con cáncer de pulmón a una baja tasa de supervivencia además de escasa respuesta a la quimioterapia.<sup>(22)</sup>

## CONCLUSIONES

El descubrimiento de las benzodiazepinas llevó a muchos investigadores a plantearse la posibilidad de que existiera un ligando endógeno que explicara la existencia del receptor benzodiazepínico. La búsqueda de estas moléculas, conocidas como endozepinas, comenzó hace 30 años y, sin embargo, aún son muchas las preguntas que quedan por resolver: ¿Podemos afirmar con certeza si son realmente endógenas? ¿Sería posible una fuente de procedencia alternativa como la dieta?

Las oleamidas, las endozepinas no peptídicas y el inhibidor de la unión del diazepam (DBI) fueron las principales candidatas propuestas, adquiriendo mayor importancia tras los numerosos estudios realizados, el DBI.

Una de las principales razones por las que aún no hay evidencias claras acerca de estas moléculas es la complejidad que parece presentar el mecanismo de acción del DBI. Los estudios reflejan que en función de la concentración y del lugar donde se encuentre este ligando, puede actuar como modulador alostérico positivo o negativo.

Al igual que el consumo de benzodiazepinas se relaciona con numerosas patologías, las endozepinas también parecen estar involucradas en algunas de ellas.

La encefalopatía hepática se caracteriza por la depresión del sistema nervioso central en procesos de fallo hepático o cirrosis. Los procesos neuroquímicos que se describen en la HE, independientemente de la patología, suponen una función alterada del receptor GABA así como de los muchos neurotransmisores que modulan este sistema neurotransmisor. Lo que se observa en la encefalopatía es una superexpresión del receptor GABA<sub>A</sub> pero, al mismo tiempo, una disminución del neurotransmisor GABA a nivel sináptico.

Se cree que el aumento del tono GABAérgico puede deberse al aumento de amonio o a la presencia de otras toxinas liberadas a consecuencia de la patología.

A la conclusión a la que se llegó con todos los estudios realizados es que todas aquellas moléculas que actúan como moduladores positivos del receptor GABA<sub>A</sub> se consideran factores precipitantes de la encefalopatía hepática.

La existencia de las endozepinas parece también evidente en los casos de estupor idiopático. En los pacientes que presentaban este tipo de alteración de la consciencia se observó un aumento importante de los niveles de endozepina-4 tanto en plasma como en LCR en el momento del ataque, en comparación con los controles. Además la administración de flumazenilo vía intravenosa revertía este estado. Se entiende, por tanto, que la endozepina-4 sería la responsable de esta situación de estupor al unirse al receptor benzodiazepínico.

El DBI parece estar también implicado en procesos tumorales. Al tratarse de la misma molécula que la proteína de unión a Acetil-CoA su aumento favorece el proceso de  $\beta$ -oxidación, ruta principal de obtención de energía. Este proceso además se encuentra ya de por sí exacerbado en las células tumorales debido a su alta demanda metabólica. Esto hace que la proliferación y el desarrollo de las células tumorales se vea favorecido en aquellos pacientes que presenten mayores concentraciones de DBI, siendo, por tanto, los que menos probabilidad de supervivencia tienen.

A día de hoy aún son muchos los interrogantes que permanecen abiertos respecto a este campo, pero, si algo está claro, es que es más que evidente la existencia en el organismo de estas moléculas a pesar de que todavía no se haya dilucidado por completo su procedencia ni su mecanismo de acción.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) Farzampour Z, J.Reimer R, Huguenard J. Endozepines. In: Enna SJ, editor. *Advances in Pharmacology*, Volume 72 Palo Alto, California, USA.: Elsevier Inc.; 2015. p. 147.
- (2) Gerald M editor. *The Drug Book. From Arsenic to Xanax, 250 Milestones in the History of Drugs*. New York, New York, USA: Sterling, New York; 2013.
- (3) Wick J. *The History of Benzodiazepines*. 538-548(11) 2013 September, 2013;9.
- (4) Katzung B, Trevor A. Sedative-Hypnotic Drugs. In: Frassetto D, D'Annunzi Henriquez R, editors. *Basic & Clinical Pharmacology*. 13e ed. USA: Mc Graw Hill; 2015.
- (5) The Lycaeum. 2015; Available at:  
<http://www.lycaeum.org/leda/Images/Diazepam.14192.gif>. Accessed 05/09, 2017.
- (6) Griffin E, Kaye A, Rivera Bueno F, Kaye AD. Benzodiazepine Pharmacology and Central Nervous System-Mediated Effects. PMID: PMC3684331 2013(2013 Summer; 13(2): 214–223.):214.
- (7) Kalat J. *Biological Psychology*. 10th ed. California, USA: Wadsworth Cengage Learning; 2009.
- (8) Stephen C, James O. In Search of the Ever- Elusive Positive Endozepine. June 2013;Neuron, 78.
- (9) SciELO Uruguay. 2017; Available at:  
<http://www.scielo.edu.uy/img/revistas/ami/v31n4/4a05t2.JPG>. Accessed 05/19, 2017.
- (10) SciELO Uruguay. 2017; Available at:  
<http://www.scielo.edu.uy/img/revistas/ami/v31n4/4a05t1.JPG>. Accessed 05/19, 2017.
- (11) Baraldi M, Avallone R, Corsi L, Venturini I, Baraldi C, Zeneroli ML. Natural endogenous ligands for benzodiazepine receptors in hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* (2009) 24:81–93 2008 December, 11, 2008:81.
- (12) Srivastava JK, Shankar E, Gupta S. Chamomile: A herbal medicine of the past with a bright future (Review). *Molecular Medicine rePorTS* 3: 895-901, 2010 2010 August 30th, 2010.
- (13) Avallone R, Corsi L, Zeneroli ML, Baraldi M. Presence of benzodiazepine-like molecules in food and their implication in the nutrition of cirrhotic patients. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2 Ž2001 193 19 2001:193.
- (14) Zeneroli ML, Venturini I, Stefanelli S, Farina F, Cosenza R, Miglioli L, et al. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF RIFAXIMIN REDUCES THE LEVELS OF

BENZODIAZEPINE-LIKE COMPOUNDS IN PATIENTS WITH LIVER CIRRHOSIS .

Pharmacological Research, Vol 35, No 6, 1997 1997 June 3, 1997;35.

(15) The Chemical Book. 2016; Available at:

<http://www.chemicalbook.com/CAS/GIF/104360-70-5.gif>. Accessed 05/09, 2017.

(16) Malaguarnera G, Vacante M, Drago F, Bertino G, Motta M, Giordano M, et al.

Endozepine-4 levels are increased in hepatic coma World J Gastroenterol Aug 14, 2015;

21(30): 9103-9110 2015 August 14, 2015;21.

(17) Venturini I, Zeneroli ML, Corsi L, Baraldi C, Ferrarese C, Pecora N, et al.

Diazepam binding inhibitor and total cholesterol plasma levels in cirrhosis and hepatocellular carcinoma Regulatory Peptides 74 (1998) 31–34 1998 February 2, 1998;74:31-32,33,34.

(18) Maiese K. **Estupor y coma**. 2016; Available at: [http://www.msmanuals.com/es-es/hogar/enfermedades-cerebrales,-medulares-y-nerviosas/coma-y-alteración-de-la-](http://www.msmanuals.com/es-es/hogar/enfermedades-cerebrales,-medulares-y-nerviosas/coma-y-alteración-de-la-consciencia/estupor-y-coma)

[consciencia/estupor-y-coma](http://www.msmanuals.com/es-es/hogar/enfermedades-cerebrales,-medulares-y-nerviosas/coma-y-alteración-de-la-consciencia/estupor-y-coma). Accessed 05/09, 2017.

(19) Cortelli P, Avallone R, Baraldi M, Zeneroli ML, Mandril J, Corsi L, et al. Endozepines in recurrent stupor. Sleep Medicine Reviews (2005) 9, 477-487 2005 2005;9.

(20) Ward PS, Thompson C.B. Metabolic reprogramming: a cancer hallmark even warburg did not anticipate. Cancer cell 2012, 21(3):297-308 2012 2012;21:297.

(21) Harris FT, Rahman JSM, Hassanein M.

Acyl-Coenzyme A Binding Protein Regulates Beta Oxidation Required for Growth and Survival of Non-Small Cell Lung Cancer DOI: 10 1158/1940-6207 CAPR-14-0057 2014 May 12, 2014.

(22) Menendez JA, Lupu R. Fatty acid synthase and the lipogenic phenotype in cancer pathogenesis. Nature reviews Cancer 2007, 7(10):763-777 2007 2007:763.