

---

---

## Mecanismos neuroprotectores de los cannabinoides en la isquemia cerebral y las enfermedades neurodegenerativas.

Marcela Amparo Osuna-Zazueta<sup>1</sup>, Juan Antonio Ponce-Gómez<sup>2</sup> e Iván Pérez-Neri<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Neuroanestesiología, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Insurgentes Sur 3877. La Fama, Tlalpan. Ciudad de México, México.

<sup>2</sup>Departamento de Neurocirugía, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Tlalpan. Ciudad de México, México.

<sup>3</sup>Departamento de Neuroquímica, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía. Tlalpan. Ciudad de México, México.

**Palabras clave:** cannabinoides, muerte neuronal, neuroprotección.

**Resumen.** Una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad es la disfunción neurológica; su alta incidencia ha estimulado una intensa búsqueda de mecanismos para proteger al sistema nervioso central de situaciones que producen hipoxia e isquemia. El mayor reto es interrumpir los eventos bioquímicos que involucra y que llevan a la muerte neuronal. Esto puede conseguirse a través de la neuroprotección que tiene por objeto frenar las cascadas inmunológica y metabólica que aparecen después de un daño neurológico agudo. Cuando esto sucede, se producen eventos fisiopatológicos que incluyen la producción de citocinas, el estrés oxidante y la excitotoxicidad. Respecto a todos esos mecanismos, se han reportado efectos protectores de los endocannabinoides, los cuales parecen ser neuroprotectores en modelos animales de isquemia cerebral, excitotoxicidad, trauma cerebral y en enfermedades neurodegenerativas. Algunos análogos de cannabinoides se encuentran actualmente en evaluación (fases clínicas I-III) para el tratamiento de enfermedades agudas que involucran a la muerte neuronal (isquemia y trauma cerebrales). El estudio del sistema canabinoide podría generar agentes neuroprotectores efectivos de amplio espectro de acción para el tratamiento de afecciones neurológicas en un futuro cercano.

## **Neuroprotective mechanisms of cannabinoids in brain ischemia and neurodegenerative disorders.**

*Invest Clin 2015; 56(2): 188 - 200*

**Keywords:** cannabinoids, neuronal death, neuroprotection.

**Abstract.** One of the most important causes of morbidity and mortality is neurologic dysfunction; its high incidence has led to an intense research of the mechanisms that protect the central nervous system from hypoxia and ischemia. The mayor challenge is to block the biochemical events leading to neuronal death. This may be achieved by neuroprotective mechanisms that avoid the metabolic and immunologic cascades that follow a neurological damage. When it occurs, several pathophysiological events develop including cytokine release, oxidative stress and excitotoxicity. Neuroprotective effects of cannabinoids to all those mechanisms have been reported in animal models of brain ischemia, excitotoxicity, brain trauma and neurodegenerative disorders. Some endocannabinoid analogs are being tested in clinical studies (I-III phase) for acute disorders involving neuronal death (brain trauma and ischemia). The study of the cannabinoid system may allow the discovery of effective neuroprotective drugs for the treatment of neurological disorders.

*Recibido: 19-03-2014 Aceptado: 23-10-2014*

### **INTRODUCCIÓN**

Una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad es la disfunción neurológica; su alta incidencia ha estimulado una intensa búsqueda de mecanismos para proteger al sistema nervioso central (SNC) de situaciones que producen hipoxia e isquemia, como el traumatismo craneoencefálico severo, la hipotensión prolongada, la enfermedad cerebrovascular (1, 2), y sobre todo, el paro cardiorrespiratorio. Tal protección debe iniciarse en forma temprana, pero el mayor reto es interrumpir la compleja cascada de eventos bioquímicos e inmunológicos que involucra, y que de hecho, llevan a la muerte neuronal (3-5).

Esto puede conseguirse a través de la neuroprotección, la cual es el conjunto de estrategias que tienen por objeto frenar las cascadas inmunológica y metabólica que aparecen después de un daño neurológico

agudo. Cuando este sucede, se producen eventos fisiopatológicos importantes que incluyen la producción de citocinas a partir de las células que representan al sistema inmune en el SNC, las cuales en algunos casos mantendrán activo el proceso inflamatorio favoreciendo así la apoptosis, y en otros casos protegerán a las células a través de la producción de citocinas antiinflamatorias.

El suceso central que precipita la lesión isquémica es la reducción de la producción de energía como resultado de la alteración en la fosforilación oxidativa, causando una disminución de hasta 95% en la producción de ATP; asimismo, durante la isquemia se reducen el aporte de glucosa, el aclaramiento de metabolitos, la actividad de bombas iónicas dependientes de ATP y los niveles intracelulares de  $K^+$  mientras que aumentan los de  $Na^+$  y  $Ca^{2+}$ ; esto hace que las neuronas se despolaricen y liberen

aminoácidos excitadores, como el glutamato, los cuales aumentan aún más la entrada de calcio (5).

Existe una gran cantidad de investigaciones tanto in vivo como in vitro, numerosos estudios en donde se plantean diferentes modalidades terapéuticas dirigidas a frenar los eventos fisiopatológicos involucrados en la isquemia cerebral mediante la administración de diversos fármacos neuroprotectores (1, 2, 4, 6). Se conocen muchos métodos y agentes con potencial papel neuroprotector, como la hipotermia, los captadores de radicales libres, la inhibición de la actividad neuronal, los antagonistas del calcio, los moduladores de las bombas de iones, entre otros. (3, 7-9).

Entre dichos protectores se encuentran los cannabinoides; estas sustancias, presentes en plantas como la *Cannabis sativa* L, se producen en nuestro organismo y tienen efectos potencialmente terapéuticos en patologías que involucren a la muerte neuronal. De hecho, se ha descrito que los endocannabinoides tienen efecto protector en diferentes modelos de daño cerebral; esto sugiere, junto con la baja incidencia de efectos adversos, que pueden utilizarse con seguridad en la práctica clínica.

Cada uno de los mecanismos que participan en el daño isquémico es una oportunidad de intervención, dado que la isquemia cerebral no es un evento único sino un proceso, y como tal, es posible modificar su curso y alterar su resultado, por lo que se requiere comprender a fondo sus mecanismos fisiopatológicos (4, 5, 10). El primer paso en este objetivo es estudiar los mecanismos fisiopatológicos de la muerte neuronal para continuar con el efecto de los cannabinoides en esos procesos, lo que abre la puerta para diseñar estrategias de intervención terapéutica.

De especial importancia en este contexto serán aquellos fármacos o compuestos endógenos que tengan acción sobre uno o

varios de los eventos fisiopatológicos de la isquemia cerebral, y entre ellos se encuentran los cannabinoides.

En conjunto, estos antecedentes enfatizan la relevancia del estudio del sistema canabinoide y su potencial actividad neuroprotectora, por lo que en este artículo se han revisado los estudios que muestran el efecto de los cannabinoides sobre los mecanismos involucrados en la muerte neuronal.

### MECANISMOS DE NEUROTOXICIDAD EN LA ISQUEMIA CEREBRAL

Cuando el cerebro es sometido a isquemia aguda, sufre daño tanto inmediato como tardío. El inmediato, que es por lo demás irreversible, ocurre en el área que circunda al vaso ocluido, donde el flujo sanguíneo es extremadamente bajo. Generalmente hay una interacción entre la magnitud y la duración de la reducción del flujo con la función neurológica. El tejido que recibe un flujo de 18-23 mL/100 g de masa cerebral/min es funcionalmente inactivo, pero su función puede restablecerse en cualquier momento al aumentar la perfusión. El tejido que recibe un menor flujo sanguíneo cerebral (FSC), generalmente por debajo de 10 mL/100 g de tejido cerebral/min, presenta falla a nivel de la membrana celular debido a la falta de ATP para mantener el funcionamiento de las bombas iónicas, por lo que las neuronas mueren rápidamente. Cuando se restablece una perfusión adecuada al tejido, antes del infarto, puede recuperarse su función.

Alrededor de la zona de infarto también puede haber daño neuronal. La zona de penumbra es aquella porción de tejido cerebral que en un momento dado recibe un FSC insuficiente para permitir el funcionamiento neuronal normal pero suficiente para mantener a las neuronas vivas; es decir, el FSC que recibe no permite desencadenar un potencial de acción pero permite

mantener un potencial de reposo mediante la actividad de la bomba de sodio, por un tiempo limitado (4, 11, 12).

Sin embargo, no todas las regiones del SNC reaccionan igual a la isquemia, ni tienen las mismas demandas de energía. Se conocen regiones más susceptibles, como aquellas más densas en glutamato: las cortezas hipocampal, cerebelosa, parietooccipital, y algunas zonas específicas de los ganglios basales. Por tal motivo, en condiciones fisiológicas, la heterogeneidad del FSC corresponde a una heterogeneidad en la utilización de la glucosa, de forma que el FSC (aporte de sustratos) es mayor en áreas donde el gasto energético es superior (corteza auditiva primaria y neocorteza) y menor en regiones donde la demanda de sustrato energético es más baja (globo pálido y sustancia blanca) (10).

Los procesos isquémicos conducen a la expresión de genes de activación temprana (13), los cuales pueden afectar la expresión de otros y conducir a la producción de proteínas apoptóticas o antiapoptóticas que determinan si la neurona muere o sobrevive, entre ellas están las proteasas de cisteína denominadas caspasas. Una de las características de la apoptosis es que la célula muere sin romperse, lo que atraería a la microglia, por lo que evita el daño adicional de las neuronas adyacentes. (1, 2, 5, 8, 9). Muchos son los mecanismos que llevan a este desenlace, entre ellos se encuentran los que alteran la excitabilidad neuronal y los que son consecuencia de ella.

### Producción de citocinas

Las citocinas tienen acciones diversas que modulan la respuesta sistémica a las enfermedades en el SNC, llámense inflamación, infección o lesiones (14). Diversos estudios sustentan la importancia de las citocinas en los eventos fisiopatológicos del daño neuronal agudo. El interés sobre la acción de las citocinas en el cerebro ha creci-

do exponencialmente durante la última década, lo que ha planteado la posibilidad de crear bloqueadores de estas sustancias y contribuir así a disminuir el daño celular, lo que representa un potencial sitio de acción para futuros fármacos neuroprotectores.

Las citocinas son un grupo grande y creciente de polipéptidos que comprende a las interleucinas, las quimiocinas, el factor de necrosis tumoral (FNT)  $\alpha$ , los interferones, etc. Varias citocinas antiinflamatorias han sido identificadas, como IL-4, IL-10 e IL-13, las cuales pueden inhibir la liberación o los efectos de IL-1 y FNT $\alpha$ , cuando varias de estas moléculas son inducidas por una lesión cerebral.

Se considera que la lesión producida por células gliales y leucocitos activados es uno de los factores más importantes en el daño por reperfusión. Estos leucocitos pueden ocluir los vasos sanguíneos en condiciones de bajo flujo e impedir la restauración de la perfusión en ciertas áreas. Además, las células gliales activadas son capaces de liberar mediadores de carácter proinflamatorio, regulados fundamentalmente por la acción de las citocinas como el FNT $\alpha$  y las interleucinas 1, 6 y 8, desencadenando una respuesta antiinflamatoria mediada por las interleucinas 4, 10 y 13, que pueden contrarrestar el proceso. Al predominar la inflamación aumentará la producción de radicales libres, que potencializan la muerte celular.

Sin embargo, hay varias citocinas antiinflamatorias como IL-4, IL-10, IL-13 y el factor de crecimiento transformante (TGF $\beta$ ), que pueden inhibir la liberación o el efecto de la IL-1 y el FNT $\alpha$ , los cuales se encuentran involucrados en la muerte neuronal; la inducción farmacológica de estas citocinas puede tener valor terapéutico. Es probable que el equilibrio entre la IL-1 y sus inhibidores (IL-1ra) determine el desenlace de las neuronas lesionadas y los eventos inflamatorios en el cerebro (14).

### Excitotoxicidad

Durante la isquemia cerebral se liberan grandes cantidades de neurotransmisores excitadores (glutamato) en la unión sináptica (5). La cantidad liberada de estas sustancias se relaciona con la gravedad de la lesión isquémica y el daño neuronal que genera (1, 2, 5). El glutamato y el aspartato activan a sus receptores postsinápticos [N-metil-D-aspartato (NMDA), el ácido amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol-propiónico (AMPA) y el kainato], lo que resulta en un aumento del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular (5, 15-18). El  $\text{Ca}^{2+}$  introducido en la célula facilita la movilización de sus propias reservas intracelulares y la despolarización de la membrana, activando la apertura de otros canales de  $\text{Ca}^{2+}$  dependientes de voltaje, lo que potencia el aumento del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular produciendo daño isquémico y, finalmente, la muerte neuronal (5, 17).

Muchos estudios de los últimos años se han dirigido a la búsqueda de moléculas sobre las cuales pueda efectuarse una modulación farmacológica. Existen dos grandes familias de receptores del glutamato, los NMDA y los no-NMDA, que median diferentes fenómenos de neurotoxicidad. Se han realizado ensayos clínicos con antagonistas de estos receptores, algunos dirigidos contra los NMDA (dextrometorfano).

Existen igualmente fármacos que actúan inhibiendo la liberación de glutamato al actuar sobre canales de sodio y/o de calcio (fenitoína, fosfenitoína, derivados de lamotrigina) (4, 11, 12, 19). De este modo, inhibir la liberación de glutamato o la activación de sus receptores tiene potencial terapéutico en la isquemia cerebral.

Uno de los mecanismos que provoca la muerte neuronal excitotóxica es el aumento en la síntesis del óxido nítrico (NO); el NO cuenta con múltiples funciones como neurotransmisor, así como modulador de la transmisión sináptica y del tono vascular (5). Se sintetiza a partir de L-arginina por

la sintasa del NO (NOS), de la cual existen tres isoformas: endotelial, neuronal e inducible.

Tras el daño isquémico, se producen grandes cantidades de NO que junto con el aumento del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular ponen en marcha una serie de eventos que conducen al daño isquémico: aumento en la actividad de proteasas, fosfolipasas y generación de radicales libres (1, 2, 5).

Una de las especies reactivas de oxígeno (ROS) más nocivas es el anión peroxinitrito, que se forma por la reacción del NO con el radical superóxido (1, 2, 5, 17); el peroxinitrito daña proteínas y lípidos, interfiriendo así con la función de la membrana. Todos estos procesos, combinados con la disminución de la capacidad de sintetizar proteínas y lípidos, contribuyen al daño irreversible provocado por la isquemia (20).

### Activación de los canales de calcio

En condiciones basales, existe en las células un gradiente transmembrana de  $\text{Ca}^{2+}$  que mantiene muy bajos sus niveles intracelulares. Los incrementos transitorios del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular actúan como señales que ponen en marcha procesos fisiológicos. El  $\text{Ca}^{2+}$  aumenta por su entrada a la célula a partir de diferentes canales, de las bombas de iones o a partir de su liberación de los depósitos intracelulares. El resultado final es un aumento de la concentración intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$  que puede exacerbar la función de algunas proteincinasas que, a su vez, median la fosforilación de proteínas.

El influjo excesivo de iones puede causar edema; además, se ha observado que el aumento de calcio en el citoplasma pone en marcha una serie de eventos que conducen al daño isquémico, como el aumento en la actividad de proteasas y fosfolipasas, conduciendo con esto al aumento de ácidos grasos libres como el ácido araquidónico, y de ROS (5).



### Estrés oxidante

Como consecuencia de la neurotoxicidad se produce la degeneración de los ácidos nucleicos, las proteínas y los lípidos, y se altera la integridad de las membranas celulares, fenómenos íntimamente relacionados con la producción y el efecto de los radicales libres por lo que las acciones terapéuticas deberían enfocarse en inhibir la acción de estos radicales (4, 6, 8, 21).

Las ROS han sido implicadas como factores causales de la lesión neuronal postraumática así como en la patogenia del edema cerebral citotóxico y vasogénico. Por ello, se ha sugerido que los captadores de los radicales libres y los inhibidores de la peroxidación de lípidos, pueden poseer un potencial benéfico en el tratamiento de los síndromes posteriores a la isquemia cerebral (22).

### MECANISMOS NEUROPROTECTORES DE LOS CANNABINOIDES

Desde hace 5000 años, una de las especies botánicas más controversiales y reconocidas por su acción farmacológica es la marihuana (*Cannabis sativa* L, cáñamo, Vieja Mary) la cual ha mostrado la versatilidad terapéutica de las plantas y sus metabolitos secundarios aunque no está libre de efectos psicotrópicos. Sus componentes actúan en un sistema que es modulado por sustancias endógenas (endocannabinoides) como se describe más adelante.

Durante muchos años se investigó la composición química de la marihuana, pero fue en 1964 cuando se determinó la estructura del tetrahidrocanabinol ( $\Delta^9$ -THC, psicotrópico), uno de sus componentes principales junto al canabidiol (CBD, relajante), el canabieromeno (CBC, sedante) y el canabigerol (CBG, vasodilatador). A la fecha, se han aislado 483 de sus componentes, entre los que se encuentran los cannabinoides que actúan como ligandos específicos de los receptores CB1 y CB2.

En 1990 se describió por primera vez la estructura del receptor CB1 y 3 años más tarde se aisló el receptor CB2. En general, la distribución de los receptores CB1 guarda estrecha relación con los efectos farmacológicos de los cannabinoides (23). Adicionalmente, existen otros receptores potenciales para endocannabinoides (24).

Hasta la fecha, han sido clonados 2 receptores para cannabinoides, los cuales pertenecen a la familia de receptores con 7 dominios transmembrana acoplados a proteínas G: el receptor CB1 [que se expresa en los núcleos de la base, la corteza, el estriado y el hipocampo] y el receptor CB2 son algunos de los receptores con acción neuromoduladora mas abundantes del cerebro, el sistema nervioso periférico y las células del sistema inmune (25, 26).

La existencia de este sistema se confirmó con el descubrimiento de los primeros cannabinoides endógenos: la etanolamida del ácido araquidónico (N-araquidonil-etanolamina) que recibió el nombre de anandamida, y el 2-araquidonilglicerol (2-AG). Paralelamente al descubrimiento de los receptores y de los cannabinoides endógenos se desarrollaron agonistas (JWH-015, WIN 55212-2) y antagonistas [SR141716 (Rimonabant) y SR144528] específicos para los receptores CB1 y CB2, lo que permitió la identificación del tipo de receptor implicado en los efectos de los cannabinoides y también para el tratamiento de enfermedades en las que este sistema se ve involucrado (27).

Se ha descrito que los agonistas cannabinoides son neuroprotectores en modelos animales de isquemia, excitotoxicidad, trauma cerebral y también en enfermedades neurodegenerativas. Por ejemplo, se ha observado que el agonista sintético WIN 55212-2 y el endocanabinoide anandamida ejercen un efecto protector para las neuronas corticales (28, 29). Cabe hacer notar que puede obtenerse un efecto neuropro-

teor tanto con los cannabinoides endógenos como con los exógenos, lo que confirma que dicho efecto se debe directamente a la modulación de este sistema. Esos efectos protectores pueden activarse en condiciones de neuroinflamación pues aumenta la síntesis de endocannabinoides (30).

Los mecanismos moleculares implicados en las propiedades neuroprotectoras de los cannabinoides son muy diversos y frecuentemente complementarios. Entre estos mecanismos cabe destacar los siguientes:

- Prevención de la muerte neuronal por excitotoxicidad, tanto *in vivo* como *in vitro* (28,29), gracias a su capacidad para modular la transmisión glutamatergica a través de receptores CB1 presinápticos.
- Modulación de la respuesta inmune y de la liberación de mediadores proinflamatorios, a través de su acción sobre los receptores CB1, CB2 e incluso a través de mecanismos independientes de estos receptores (31, 32).
- Activación de las vías de señalización de la supervivencia, como las mediadas por la proteincinasa B/Akt o por los factores neurotróficos (31).
- Modulación de la excitabilidad neuronal y la homeostasis del  $Ca^{2+}$ , modulando la actividad de los canales iónicos, los receptores NMDA y AMPA, las uniones estrechas y las reservas intracelulares de  $Ca^{2+}$  (28, 29).
- Efecto antioxidante de algunos cannabinoides (27, 33, 34).

Los cannabinoides endógenos poseen un potencial terapéutico para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas; este potencial se asocia con la activación o inactivación de los receptores CB1 y CB2 (35); la activación de estos es responsable de las propiedades psicoactivas de los cannabinoides, pero su efecto neuroprotector se alcanza a dosis inferiores a las que generan esos efectos adversos (36). Nuevamente, puede

modularse al sistema canabinoide tanto con los compuestos endógenos como con los exógenos.

La participación del sistema canabinoide en los traumas cerebrales se sustenta en el incremento de los niveles de anandamida en la corteza cerebral de ratas neonatas después de traumas craneales (37). Los cannabinoides sintéticos pueden ser igualmente benéficos. El derivado HU-211 es efectivo en la recuperación motora, la memoria, la reducción del edema cerebral y la reorganización estructural de la barrera hematoencefálica (BHE) después de traumas craneales severos en ratas (37). Otros estudios sugieren más bien la participación del sistema canabinoide en la fisiopatología de estas enfermedades; se ha reportado que el antagonista selectivo de los receptores CB<sub>1</sub>, el rimonabant, permite la recuperación de la memoria después del daño neuronal a través de la modulación del sistema canabinoide (38).

### Producción de citocinas

El sistema canabinoide se ha visto involucrado en diferentes enfermedades que involucran muerte neuronal. En la enfermedad de Huntington, el sistema canabinoide se ve afectado significativamente y, en concreto, los receptores CB1 son regulados a la baja en las primeras etapas de la enfermedad (39). La ablación de los receptores cannabinoides exacerba la activación microglial y acelera la aparición de los síntomas. Por otra parte, la activación *in vivo* de los receptores CB2, que no induce efectos psicotrópicos, ejerce un efecto neuroprotector en los modelos animales en la enfermedad de Huntington que se basa en el control de la actividad microglial (20,40).

Por otro lado, se ha reportado que el endocanabinoide 2-AG reduce la zona isquémica y la acumulación de mediadores dañinos para el cerebro, al mismo tiempo que protege después de una lesión traumática.

tica cerebral por inhibición de NF- $\kappa$ B a través de los receptores CB1 (20, 33, 41).

### Excitotoxicidad

Actualmente, se considera que los cannabinoides tienen un potencial importante para el tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas del SNC en las que la excitotoxicidad se encuentra involucrada, como las esclerosis múltiple y lateral amiotrófica, las enfermedades de Huntington y Parkinson, y también para el daño neuronal agudo que ocurre en el accidente cerebrovascular y en las lesiones cerebrales traumáticas (1, 2, 15-18, 42).

Hablando de enfermedades neurodegenerativas, uno de los primeros cambios neuroquímicos en los pacientes con enfermedad de Huntington, por ejemplo, es un agotamiento de las neuronas que expresan receptores CB1 en los núcleos de la base. Algunos estudios han mostrado que la activación de los receptores CB1 tiene efecto neuroprotector en modelos experimentales de esta enfermedad (43).

La activación de los receptores para cannabinoides se asocia con procesos inflamatorios y el incremento de los niveles de glutamato y óxido nítrico (NO), los cuales se encuentran implicados en enfermedades neurodegenerativas y psiquiátricas (5, 15-18, 42, 44-59); entre estas últimas se encuentra la esquizofrenia (60).

Se conoce que los agonistas de los receptores a cannabinoides CB1 modulan la transmisión glutamatérgica, posiblemente a través de un efecto presináptico inhibitorio sobre la liberación de glutamato o por modulación de la función inhibitoria del GABA. Esto podría evitar los efectos tóxicos generados por la sobreactivación de los receptores de glutamato (1, 2, 5, 15-18, 42).

El cannabinoide HU-211 y el endocannabinoide palmitoiletanolamida ejercen un efecto neuroprotector contra la excitotoxicidad.

El  $\Delta^9$ -THC también protege a las neuronas contra el daño generado por excitotoxicidad. Algunos estudios *in vivo* revelan que el  $\Delta^9$ -THC y la anandamida también protegen al cerebro de ratas neonatas contra la toxicidad inducida por ouabaína (9, 61-63). Estos datos refuerzan la idea de que los cannabinoides son agentes potencialmente terapéuticos contra la muerte neuronal independientemente de que sean endógenos, exógenos, naturales o sintéticos.

Por estas razones, actualmente se encuentran en vías de desarrollo cannabinoides sintéticos de segunda generación para el tratamiento de la isquemia cerebral que también tienen aplicación potencial para las enfermedades neurodegenerativas (20, 64, 65).

### Activación de los canales de calcio

El sistema cannabinoide también modula la activación de diferentes canales iónicos. El cannabinoide sintético WIN 55212-2, análogo de componentes psicoactivos de la marihuana, protege al tejido cerebral contra el daño isquémico, disminuyendo la pérdida neuronal después de la isquemia cerebral transitoria inducida por la oclusión de la arteria cerebral media en ratas; esto podría estar relacionado con su capacidad para inhibir el flujo iónico a través de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  reduciendo así la liberación de glutamato (20, 28, 62, 66, 67).

Estos efectos podrían estar mediados por la activación de receptores para cannabinoides dado que los receptores CB1, a diferencia de los CB2, pueden inhibir la activación de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  dependientes de voltaje y aumentar la conductancia a  $\text{K}^+$ , por lo que podrían reducir el desarrollo del edema citotóxico (20, 27, 62, 64). A través de estos mecanismos, los cannabinoides pueden modular la actividad neuronal, la transmisión glutamatérgica y prevenir la excitotoxicidad.



### Estrés oxidante

Se ha reportado que los canabionoides tienen efectos antioxidantes ya que contienen un grupo fenólico, como en el canabinol, el canabidiol, AM 404, D9-THC, CP 55940 y HU 210, que han mostrado ser potentes contra la oxidación de lípidos en el cerebro; los cannabinoides que no contienen un anillo fenólico, tales como metanandamida y WIN 55,212-2, no mostraron ninguna actividad antioxidante en el mismo ensayo. Estos resultados indican que los cannabinoides fenólicos son capaces de proteger eficazmente a las células contra la oxidación y potencialmente contra la muerte de las células nerviosas (68). De este modo, los cannabinoides poseen actividad antioxidante independientemente de la activación de los receptores CB<sub>1</sub> o CB<sub>2</sub>, aunque éstos también ejercen un efecto protector contra el estrés oxidante en las neuronas.

### CONCLUSIONES

Los cannabinoides influyen positivamente en la recuperación neurológica de las zonas afectadas por la muerte neuronal crónica y aguda. Los cannabinoides naturales y sintéticos ejercen efectos neuroprotectores a través de diferentes mecanismos que incluyen la acción antioxidante y la inhibición de la excitotoxicidad a través de la disminución y bloqueo de la liberación de aminoácidos excitadores y algunos mediadores de la inflamación. Los moduladores del sistema canabinoide con potencial aplicación clínica en la neuroprotección incluyen agonistas y antagonistas de los receptores CB<sub>1</sub> y CB<sub>2</sub> así como inhibidores de la degradación de endocannabinoides.

Sin embargo, los efectos psicotrópicos de los cannabinoides y el estigma sociocultural de la *Cannabis* como sustancia de abuso aún constituyen los mayores obstáculos para la utilización legal terapéutica y el desarrollo de investigaciones farmacossintéti-

cas ecosostenibles sobre sus beneficios clínicos potenciales.

No obstante, algunos análogos de cannabinoides se encuentran actualmente en evaluación (fases clínicas I-III) para el tratamiento de enfermedades agudas que involucran a la muerte neuronal (isquemia y trauma cerebral). Como se ha mencionado, puede conseguirse un efecto neuroprotector tanto con los cannabinoides endógenos como con los exógenos, ya sean naturales o sintéticos.

El estudio del sistema canabinoide permitirá generar agentes neuroprotectores efectivos de amplio espectro de acción para el tratamiento de afecciones neurológicas en un futuro cercano.

### REFERENCIAS

1. Díaz-Ruiz A, Zavala-Gutiérrez C, Montes-López S, Pérez-Neri I, Orozco-Suárez S, Salgado-Ceballos H, Nava-Ruiz C, Ríos-Castañeda C. Caracterización del efecto neuroprotector de la dapsona durante la etapa aguda del infarto cerebral. Arch Neurocienc (Mex) 2005; 10: 49-50.
2. Díaz-Ruiz A, Zavala C, Montes S, Ortiz-Plata A, Salgado-Ceballos H, Orozco-Suárez S, Nava-Ruiz C, Pérez-Neri I, Ríos C. Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of dapsone in a model of brain ischemia/reperfusion in rats. J Neurosci Res 2008; 86: 3410-3419.
3. Ginsberg MD. Current status of neuroprotection for cerebral ischemia: synoptic overview. Stroke 2009; 40(3 Suppl): S111-S114.
4. Chávez-Grimaldi OM, Flores-Chávez ME, Chacón de Petrola MR, Chávez-Grimaldi RJ. La neuroprotección en disfunción neurológica aguda: nuevos enfoques terapéuticos dentro del campo de la inmunología del sistema nervioso central. Medicrit 2005; 2: 179-185.
5. Pérez-Neri I, Ramirez-Bermudez J, Montes S, Rios C. Possible mechanisms of neurodegeneration in schizophrenia. Neurochem Res 2006; 31: 1279-1294.

6. **Baughman VL.** Brain protection during neurosurgery. *Anesthesiol Clin N Am* 2002; 20: 315-327.
7. **Traystman RJ.** Neuroprotection: introduction. *Stroke* 2010; 41(10 Suppl): S63.
8. **Kass IS, Cottrell JE.** Fisiopatología de la lesión cerebral. En: Cottrell JE, Ed. *Anestesia y Neurocirugía*. Madrid: Elsevier; 2002. P 69-82.
9. **Faden AI.** Neuroprotection and traumatic brain injury: the search continues. *Arch Neurol* 2001; 58: 1553-1555.
10. **Fitch W.** Metabolismo cerebral. En: Cottrell JE, Ed. *Anestesia y Neurocirugía*. Madrid: Elsevier; 2002. P 1-17.
11. **Chavez JC, Hurko O, Barone FC, Feuerstein GZ.** Pharmacologic interventions for stroke: looking beyond the thrombolysis time window into the penumbra with biomarkers, not a stopwatch. *Stroke* 2009; 40: e558-e563.
12. **Joshi S, Ornstein E, Young WL.** Flujo sanguíneo cerebral y medular espinal. En: Cottrell JE, Ed. *Anestesia y Neurocirugía*. Madrid: Elsevier; 2002. P 19-66.
13. **Mirza MA, Capozzi LA, Xu Y, McCullough LD, Liu F.** Knockout of vascular early response gene worsens chronic stroke outcomes in neonatal mice. *Brain Res Bull* 2013; 98: 111-121.
14. **Rothwell NJ.** Cytokines-killers in the brain. *J Physiol* 1999; 514: 3-17.
15. **Martínez-Lazcano JC, Rodríguez-Páez L, Ríos C, Tenorio-Lopez FA, Del Valle-Mondragón L, Pérez-Neri I, Sánchez-Mendoza A, Pérez-Severiano F.** Modulatory effect of kynurenine and probenecid co-administration on the neurotoxicity induced by quinolinate in rat striata. *J Neurochem* 2007; 102(Supl 1): 197.
16. **Martínez-Lazcano JC, Rodríguez Páez L, Sánchez-Mendoza A, Tenorio-López A, del Valle-Mondragón L, Pérez-Neri I, González-Esquivel D, Ríos C, Pérez-Severiano F.** Efecto protector del probenecid y la kinurenina sobre el daño neurológico y oxidativo en un modelo experimental de la enfermedad de Huntington. *Arch Neurocién (Méx)* 2008; 13(Supl I): 57.
17. **Rivera-Mancía S, Pérez-Neri I, Ríos C, Tristán-López L, Rivera-Espinosa L, Montes S.** The transition metals copper and iron in neurodegenerative diseases. *Chem Biol Interact* 2010; 186: 184-199.
18. **Tristán-López L, Pérez-Álvarez V, Pérez-Severiano F, Montes S, Pérez-Neri I, Rivera-Espinosa L, Ríos C.** Protective effect of N,N'-dialkylated analogs of 4,4'-diaminodiphenylsulfone in a model of intrastriatal quinolinic acid induced-excitotoxicity. *Neurosci Lett* 2012; 528: 1-5.
19. **Laskowitz DT, Kolls BJ.** Neuroprotection in subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 2010; 41(10 Suppl): S79-S84.
20. **Martínez-García L, Tacoronte-Morales JE, Núñez-Figueroa Y, Montalbán M, Cabrera-Suárez HR.** Potencial terapéutico de los cannabinoides como neuroprotectores. *Rev Cub Farm* 2007; 41: 1-11.
21. **Yrjänheikki J, Keinänen R, Pellikka M, Hökfelt T, Koistinaho J.** Tetracyclines inhibit microglial activation and are neuroprotective in global brain ischemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 15769-15774.
22. **Shahripour RB, Harrigan MR, Alexandrov AV.** N-acetylcysteine (NAC) in neurological disorders: mechanisms of action and therapeutic opportunities. *Brain Behav* 2014; 4: 108-122.
23. **Duran M, Laporte JR, Capellà D.** Novedades sobre las potencialidades terapéuticas del Cannabis y el sistema cannabinoide. *Med Clin (Barc)* 2004; 122: 390-398.
24. **Onaivi ES, Ishiguro H, Gu S, Liu QR.** CNS effects of CB2 cannabinoid receptors: beyond neuroimmuno-cannabinoid activity. *J Psychopharmacol* 2012; 26: 92-103.
25. **Sánchez-Blázquez P, Rodríguez-Muñoz M, Garzón J.** The cannabinoid receptor1 associates with NMDA receptors to produce glutamatergic hypofunction: implications in psychosis and schizophrenia. *Front Pharmacol* 2014; 4: 169.
26. **Fantegrossi WE, Moran JH, Radominska-Pandya A, Prather PL.** Distinct pharmacology and metabolism of K2 synthetic cannabinoids compared to  $\Delta^9$ -THC: mech-

- anism underlying greater toxicity? *Life Sci* 2014; 97: 45-54.
27. **Rubio-Gómez M.** Papel del sistema cannabinoide endógeno en el alcoholismo: implicaciones fisiológicas y terapéuticas. [Tesis Doctoral] Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2009.
  28. **Nağayama T, Sinor AD, Simon RP, Chen J, Graham SH, Jin K, Greenberg DA.** Cannabinoids and neuroprotection in global and focal cerebral ischemia and in neuronal cultures. *J Neurosci* 1999; 19: 2987-2995.
  29. **Shouman B, Fontaine RH, Baud O, Schwendimann L, Keller M, Spedding M, Lelièvre V, Gressens P.** Endocannabinoids potently protect the newborn brain against AMPA-kainate receptor-mediated excitotoxic damage. *Br J Pharmacol* 2006; 148: 442-451.
  30. **Witkamp R, Meijerink J.** The endocannabinoid system: an emerging key player in inflammation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2014; 17: 130-138.
  31. **Rom S, Persidsky Y.** Cannabinoid receptor 2: potential role in immunomodulation and neuroinflammation. *J Neuroimmune Pharmacol* 2013; 8: 608-620.
  32. **Alhouayek M, Muccioli GG.** The endocannabinoid system in inflammatory bowel diseases: from pathophysiology to therapeutic opportunity. *Trends Mol Med* 2012; 18: 615-625.
  33. **Mechoulam R, Panikashvili D, Shohami E.** Cannabinoids and brain injury: therapeutic implications. *Trends Mol Med* 2002; 8: 58-61.
  34. **Zhuang SY, Bridges D, Grigorenko E, McCloud S, Boon A, Hampson RE, Deadwyler SA.** Cannabinoids produce neuroprotection by reducing intracellular calcium release from ryanodine-sensitive stores. *Neuropharmacology* 2005; 48: 1086-1096.
  35. **Lourbopoulos A, Grigoriadis N, Lagoudaki R, Touloumi O, Polyzoidou E, Mavromatis I, Tascos N, Breuer A, Ovdia H, Karussis D, Shohami E, Mechoulam R, Simeonidou C.** Administration of 2-arachidonoylglycerol ameliorates both acute and chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Res* 2011; 1390: 126-141.
  36. **Grotenhermen F, Müller-Vahl K.** The therapeutic potential of cannabis and cannabinoids. *Dtsch Arztebl Int* 2012; 109: 495-501.
  37. **Shohami E, Cohen-Yeshurun A, Magid L, Algali M, Mechoulam R.** Endocannabinoids and traumatic brain injury. *Br J Pharmacol* 2011; 163: 1402-1410.
  38. **Varvel SA, Wise LE, Lichtman AH.** Are CB1 receptor antagonists nootropic or cognitive impairing agents? *Drug Dev Res* 2009; 70: 555-565.
  39. **Casteels C, Vandeputte C, Rangarajan JR, Dresselaers T, Riess O, Bormans G, Maes F, Himmelreich U, Nguyen H, Van Laere K.** Metabolic and type 1 cannabinoid receptor imaging of a transgenic rat model in the early phase of Huntington disease. *Exp Neurol* 2011; 229: 440-449.
  40. **Palazuelos J, Aguado T, Pazos MR, Julien B, Carrasco C, Resel E, Sagredo O, Benito C, Romero J, Azcoitia I, Fernández-Ruiz J, Guzmán M, Galve-Roperh I.** Microglial CB2 cannabinoid receptors are neuroprotective in Huntington's disease excitotoxicity. *Brain* 2009; 132: 3152-3164.
  41. **Panikashvili D, Mechoulam R, Beni SM, Alexandrovich A, Shohami E.** CB1 cannabinoid receptors are involved in neuroprotection via NF-kappa B inhibition. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005; 25: 477-484.
  42. **Perez-Neri I, Barreto-Malfavon A, Morales-Ayala J, Flores-Rivera J, Ramirez-Bermudez J, Corona T, Rios C.** Marcadores de excitotoxicidad en esclerosis múltiple. *Arch Neurocién (Mex)* 2011; 16(Supl 2): 20.
  43. **Pintor A, Tebano MT, Martire A, Grieco R, Galluzzo M, Scattoni ML, Pèzzola A, Coccurello R, Felici F, Cuomo V, Piomelli D, Calamandrei G, Popoli P.** The cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 attenuates the effects induced by quinolinic acid in the rat striatum. *Neuropharmacology* 2006; 51: 1004-1012.
  44. **Perez-Neri I, Montes S, Boll MC, Ramirez-Bermudez J, Rios C.** Liquid chro-

- matographic-fluorimetric method for the estimation of nitric oxide biosynthesis in the central nervous system. *J Chromatogr B* 2004; 806: 133-139.
45. **Perez-Neri I, Ramirez-Bermudez J, Chow AR, Soto-Hernandez JL, Rios C.** Cambios en las concentraciones de ácido homovanílico y de los productos finales del óxido nítrico durante el delirium secundario a neuroinfección. *Arch Neurocién (Mex)* 2006; 11: 24-25.
46. **Perez-Neri I, Ojeda-Lopez C, Montes S, Flores-Hernandez R, Ramirez-Bermudez J, Soto-Hernandez JL, Rios C.** Glutamate, glutamine and nitric oxide are associated to psychopathology of patients with delirium during acute encephalitis. *J Neurochem* 2007; 102(Supl 1): 42.
47. **Pérez-Neri I, Montes S, Ojeda-López C, Ramírez-Bermúdez J, Ríos C.** Modulation of neurotransmitter systems by dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate: mechanism of action and relevance to psychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2008; 32: 1118-1130.
48. **Pérez-Neri I, Ramírez-Bermúdez J, Ojeda-López C, Monte S, Nente F, Flores-Hernández R, Soto-Hernández JL, Ríos C.** El aumento en la concentración de aspartato es un factor de riesgo para la presentación de delirium en pacientes con encefalitis aguda. *Arch Neurocién (Méx)* 2008; 13(Supl I): 62.
49. **Pérez-Neri I, Ramírez-Bermúdez J, Ramírez-Abascal M, Montes S, Soto-Hernández JL, Ríos C.** La presentación de ideas delirantes asociada con esquizofrenia y encefalitis viral involucra diferentes sistemas de neurotransmisión. *Arch Neurocién (Méx)* 2009; 14(Supl I): 24.
50. **Pérez-Neri I, Ramírez-Bermúdez J, Flores-Hernández R, Nente-Chávez F, Montes-López S, Soto-Hernández JL, Ríos C.** Disminución de nitritos y nitratos en el líquido cefalorraquídeo de pacientes neurológicos que presentan alucinaciones. *Arch Neurocién (Méx)* 2009; 14(Supl II): 1-2.
51. **Perez-Neri I, Ramirez-Bermudez J, Montes S, Soto-Hernandez JL, Rios C.** Alteraciones en los sistemas de glutamato y óxido nítrico durante la presentación de delirios y alucinaciones en pacientes neurológicos. *Arch Neurocién (Mex)* 2011; 16(Supl 2): 21.
52. **Ruiz-Chow AA, Ramírez-Bermúdez J, Pérez-Neri I, Ríos-Castañeda C.** Delirium: comparación de ácido homovanílico en líquido cefalorraquídeo. *Arch Neurocién (Mex)* 2005; 10: 56.
53. **Ramirez-Bermudez J, Camilo R, Perez-Neri I, Sergio M, Francisco NC, Chow AR.** Neurochemical markers of delirium in cerebrospinal fluid of neurological patients with delirium. *Int J Neuropsychopharmacol* 2008; 11(Supl 1): 296.
54. **Ramírez-Bermúdez J, Pérez-Neri I, Montes S, Soto-Hernández JL, Ramírez-Abascal M, Ríos C.** Bases neuroquímicas de la agresividad en personas con enfermedades neurológicas agudas. *Arch Neurocién (Méx)* 2009; 14(Supl I): 23.
55. **Ramírez-Bermúdez J, Pérez-Neri I, Montes S, Soto-Hernández JL, Ramírez-Abascal M, Nente F, Ríos C.** Desbalance de óxido nítrico y dopamina en pacientes neuropsiquiátricos con agresividad. *Arch Neurocién (Méx)* 2010; 15(Supl 2): 1.
56. **Ramírez-Bermudez J, Perez-Neri I, Montes S, Ramirez-Abascal M, Nente F, Abundes-Corona A, Soto-Hernandez JL, Rios C.** Imbalance between nitric oxide and dopamine may underly aggression in acute neurological patients. *Neurochem Res* 2010; 35: 1659-1665.
57. **Ramirez-Bermudez J, Perez-Neri I, Montes S, Soto-Hernandez JL, Rios C.** Bases neuroquímicas de la desorganización conceptual en pacientes neuropsiquiátricos. *Arch Neurocién (Mex)* 2011; 16(Supl 2): 48-49.
58. **Márquez-Romero M, Pérez-Neri I, Montes S, Méndez-Sánchez I, Ríos C.** La ketamina aumenta el cociente glutamato/glutamina en el núcleo accumbens en un modelo de esquizofrenia en ratas. *Arch Neurocién (Méx)* 2008; 13(Supl I): 58.
59. **Álvarez J, Ramirez-Bermudez J, Rios C, Soto JL, Perez-Neri I, Montes S.** Agitación psicomotora en pacientes neurológicos. *Arch Neurocién (Mex)* 2011; 16(Supl 2): 54.

60. **Suárez-Pinilla P, López-Gil J, Crespo-Facorro B.** Immune system: A possible nexus between cannabinoids and psychosis. *Brain Behav Immun* 2014; <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbi.2014.01.018>
61. **Hansen HH, Azeoitia I, Pons S, Romero J, García-Segura LM, Ramos JA, Hansen HS, Fernández-Ruiz J.** Blockade of cannabinoid CB(1) receptor function protects against in vivo disseminating brain damage following NMDA-induced excitotoxicity. *J Neurochem* 2002; 82: 154-158.
62. **Kim SH, Won SJ, Mao XO, Jin K, Greenberg DA.** Molecular mechanisms of cannabinoid protection from neuronal excitotoxicity. *Mol Pharmacol* 2006; 69: 691-696.
63. **Smith PF.** Cannabis on the brain: it is neurotoxic or neuroprotective? *N Z J Psychol* 2000; 29: 37-40.
64. **van der Stelt M, Veldhuis WB, Bär PR, Veldink GA, Vliegenthart JF, Nicolay K.** Neuroprotection by Delta9-tetrahydrocannabinol, the main active compound in marijuana, against ouabain-induced in vivo excitotoxicity. *J Neurosci* 2001; 21: 6475-6479.
65. **Pryce G, Ahmed Z, Hankey DJ, Jackson SJ, Croxford JL, Pocock JM, Ledent C, Petzold A, Thompson AJ, Giovannoni G, Cuzner ML, Baker D.** Cannabinoids inhibit neurodegeneration in models of multiple sclerosis. *Brain* 2003; 126: 2191-2202.
66. **Panikashvili D1, Simeonidou C, Ben-Shabat S, Hanus L, Breuer A, Mechoulam R, Shohami E.** An endogenous cannabinoid (2-AG) is neuroprotective after brain injury. *Nature* 2001; 413: 527-531.
67. **Sinor AD, Irvin SM, Greenberg DA.** Endocannabinoids protect cerebral cortical neurons from in vitro ischemia in rats. *Neurosci Lett* 2000; 278: 157-160.
68. **Marsicano G, Moosmann B, Hermann H, Lutz B, Behl C.** Neuroprotective properties of cannabinoids against oxidative stress: role of the cannabinoid receptor CB1. *J Neurochem* 2002; 80: 448-456.