



# Cannabinoid analogs in the treatment of pain

**Title in Spanish:** *Análogos de cannabinoides en el tratamiento del dolor*

José María Sánchez Montero<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Grupo de Biotransformaciones. Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid. Plaza de Ramón y Cajal, s/n. Ciudad Universitaria, 28040 Madrid, España.

**ABSTRACT:** The therapeutic use of cannabinoids in the treatment of pain is as far as the knowledge we have of the plant *Cannabis sativa* and yet is still in force. The main way of action of cannabinoids, natural or synthetic, is the activation of CB-1 or CB-2 receptors, G-protein coupled usually transmission of painful stimuli initially dependent glutamate release in the dorsal horn of the spinal cord and in which other neurotransmitters and mediators such as substance P, ATP, various interleukins and TNF, among others are also involved. These substances, which are released by neurons are responsible for the chronicity of pain and play a key role in the development of neuropathic pain component. Cannabinoids are good analgesics, especially for chronic pain. This results from the presence of CB1 receptors in the regions involved in the control of nociception, both cord level and at the supraspinal level. In the case of amyotrophic lateral sclerosis (ALS), there has been an increased level of endocannabinoids and of cannabinoid receptor expression CB2. The use of selective agonists for CB2 and CB1 receptor depletion and degradation of enzymes SCE, improve the symptoms of the disease and increase survival in studies with transgenic mice cannabis drugs should be considered as a treatment option more, but other classes of drugs which, depending on the case and the patient, may be more or less suitable. The modification structural en molecule THC and CBN calculations using molecular orbital molecular mechanics and molecular docking serve to know that compounds can cross the blood brain barrier and what not, and the energy values obtained by molecular docking. These results give us a criterion for evaluating potential candidates to inhibit acetylcholinesterase and thus be potential anti-Alzheimer candidates and their evaluation for the treatment of chronic pain.

**RESUMEN:** El uso terapéutico de los cannabinoides en el tratamiento del dolor es tan lejano como el conocimiento que se tiene de la planta *Cannabis sativa* y a pesar de ello sigue aún vigente. La principal vía de actuación de los cannabinoides, naturales o sintéticos, es la activación de receptores CB-1 ó CB-2, generalmente acoplados a proteínas G. La transmisión del estímulo doloroso depende inicialmente, de la liberación de glutamato en el asta posterior de la médula espinal y en la que también se implican otros neurotransmisores o mediadores como la sustancia P, el ATP, diferentes interleuquinas o TNF entre otros. Estas sustancias, que son liberadas por neuronas son responsables de la cronificación del dolor y juegan un papel fundamental en el desarrollo del dolor con componente neuropático. Los cannabinoides son buenos analgésicos, especialmente para el dolor crónico. Esto es consecuencia de la presencia de receptores CB<sub>1</sub> en las regiones que participan en el control de la nocicepción, tanto a nivel espinal como a nivel supraespinal. En el caso de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), se ha observado un incremento del nivel de endocannabinoides y de la expresión del receptor cannabinoide CB2. El uso de agonistas selectivos para CB2 y la depleción del receptor CB1 así como de enzimas de degradación del SCE, mejoran los síntomas de la enfermedad e incrementan la supervivencia en ensayos realizados con ratones transgénicos. Los fármacos derivados del cannabis deben considerarse como una opción de tratamiento más, pero existen otras familias de fármacos que, dependiendo del caso y el paciente, pueden ser más o menos adecuadas. La modificación estructural en la molécula de THC y CBN aplicando cálculos de mecánica molecular, orbitales moleculares y Docking molecular servirá para saber que compuestos podrán atravesar la barrera hematoencefálica y cuales no, así como los valores de energía obtenidos mediante Docking molecular. Estos resultados nos darán un criterio para evaluar los posibles candidatos a inhibir la acetilcolinesterasa y de esta forma ser posibles candidatos anti-Alzheimer así como su evaluación para el tratamiento del dolor crónico.

\*Corresponding Author: jmsm@ucm.es

Received: October 7, 2015 Accepted: June 20, 2016

Premio Alcaliber-Iberoamérica del Concurso Científico 2015 de la Real Academia Nacional de Farmacia

An Real Acad Farm Vol. 82, N° 2 (2016), pp. 210-230

Language of Manuscript: Spanish

## 1. INTRODUCCIÓN

El *Cannabis sativa* conocido tradicionalmente como marihuana, es una variedad del cáñamo que ha sido cultivado y utilizado por el hombre desde la antigüedad, debido fundamentalmente a sus propiedades médicas y

psicoactivas. De hecho se han encontrado reseñas de su uso en tratados médicos chinos datados en el año 2700 a. C. (1) así como referencias bibliográficas y datos farmacológicos sobre su utilización en países como Egipto e India desde el año 3000 a. C. (2). En Europa se conoce

su existencia desde el siglo XIII y desde su introducción hasta el siglo XIX fue utilizado en medicina como anticonvulsivo, analgésico, ansiolítico y antiemético.

Los primeros ensayos clínicos fueron realizados por el Dr. O'Shaughnessy en 1843 para determinar, con una base científica, las propiedades terapéuticas de este antiguo remedio habiéndose propuesto en una de las indicaciones más claras, su utilidad como analgésico. De hecho, su uso llegó a ser tan reconocido que en 1890, J. Russell Reynolds, el médico personal de la Reina Victoria escribía a propósito de las propiedades analgésicas del cannabis: "En casi todas las enfermedades que cursan con dolor he encontrado que el cáñamo indio es de lejos la más útil de las drogas" (3).

Posteriormente, a principios del siglo XX, cayó en desuso como consecuencia de la presión social ejercida ya que debido a sus efectos adictivos se consumía en abuso con fines recreativos. A pesar de que en 1924 fue clasificado como narcótico y a partir de entonces su consumo se prohibió, recientemente en algunos países, se ha permitido su uso controlado para el tratamiento de las náuseas y vómitos provocados por los fármacos quimioterápicos y antineoplásicos. También se han evaluado en el síndrome de anorexia-caquesia en pacientes con sida o ciertos tipos de cáncer terminal, en el tratamiento del dolor, en el de la espasticidad muscular y otros síntomas de la esclerosis múltiple. Asimismo tendrían utilidad en la recuperación de traumatismos craneoencefálicos. Existen asimismo datos que muestran que los cannabinoides no poseen efectos tóxicos generalizados habiéndose descrito que los cannabinoides podrían proteger a las neuronas frente al daño producido por agentes oxidantes, isquemia y ciertos neurotóxicos.

El término cannabinoide no sólo se refiere a los productos obtenidos de la marihuana sino que hay que distinguir entre dos nombres. Por un lado, los fitocannabinoides se definen como los componentes naturales del *Cannabis sativa* y de alguna otra especie recientemente descrita, mientras que los endocannabinoides son los sintetizados en el interior de los animales, es decir, que serían los ligandos endógenos de los receptores cannabinoides. Químicamente los fitocannabinoides son hidrocarburos aromáticos oxigenados en el *Cannabis sativa* y bibencilos en las hierbas hepáticas (indicadas para normalizar la función del hígado) *Radula perrottetii* y *Radula marginata*.

Se han identificado hasta 66 cannabinoides en el cannabis, la mayoría de los cuales pertenecen a una de las 10 subclases o tipos principales (4). Los más abundantes son los de los tipos cannabigerol (CBG), cannabícromeno (CBC), cannabidiol (CBD), cannabinol (CBN) y delta-9 tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) que es el principal componente activo de la marihuana. La composición en cannabinoides de cada planta es diferente en función de la variedad, en general cada planta contiene sólo de 3 a 4 cannabinoides en concentraciones superiores al 0,1%. El  $\Delta^9$ -THC es el que posee una mayor cantidad de efectos terapéuticos, aunque también presenta propiedades

psicoactivas. El  $\Delta^9$ -THC da lugar principalmente a dos metabolitos, 11-OH- $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol (11-OH-THC) (metabolito psicotrópico) y el 11 nor-9-carboxi-THC (THCCOOH) (metabolito no-psicotrópico), ambos con similar espectro de acción y perfil cinético que su molécula madre.

Otro fitocannabinoide que cabe destacar por sus efectos terapéuticos es el cannabidiol, CBD, un compuesto no-psicoactivo común en algunas variedades de cannabis y que tiene propiedades antiinflamatorias, analgésicas, ansiolíticas y antipsicóticas.

Una de las aplicaciones en las que los cannabinoides parecen poseer un papel muy importante es en el tratamiento del dolor. Podemos definir la nocicepción como una modalidad sensorial somática que tiene una importante función protectora, ya que focaliza la atención en un estímulo nocivo que amenaza la integridad del organismo y que debe, por ende, ser evitado. La capacidad para responder a estímulos nocivos es una característica básica de todos los organismos de la escala filogenética, por ejemplo, los pulpos tienen vías nerviosas que conducen información nociceptiva. Mientras que en otros organismos pertenecientes a los filos de platelmintos, artrópodos y moluscos se han descrito conductas que pueden considerarse antinociceptivas.(5) Teniendo en cuenta que los mecanismos más complejos de respuesta a los estímulos dolorosos se encuentran en los vertebrados, sobre todo en los mamíferos, en los cuales procesos analgésicos sumamente complejos producen un control fino de la aferencia nociceptiva, el sistema cannabinérgico parece tener un papel muy importante, ya que cannabinoides endógenos y sintéticos producen analgesia. Así se ha visto, que agonistas del receptor CB1 aplicados localmente disminuyen la nocicepción ejerciendo su acción de manera periférica (6). También se produce analgesia al microinyectar cannabinoides intracerebralmente en la zona gris periacueductal y en la región rostral ventromedial del bulbo. Esto plantea la posibilidad de que los cannabinoides tengan una acción a nivel central en las zonas donde ejercen su acción analgésica los opioides. (7) De hecho, se han localizado receptores tipo CB1 en áreas del cerebro que procesan información nociceptiva (8). Todo esto ha llevado a proponer un sistema analgésico cannabinérgico similar al opioide y que podría actuar de forma sinérgica o alternativa al mediado por encefalinas (9).

El descubrimiento de receptores para el THC originó la pregunta de si nuestro organismo produce sustancias (endocannabinoides) que también se ligan a los receptores cannabinoides. Entre los principales endocannabinoides se encuentra la anandamida (del sánscrito ananda, que significa "felicidad") y el 2-araquidonil glicerol (2-AG). La virodhamina, un éter del ácido araquidónico-etanolamina, se halla en el tejido cerebral donde actuaría como un antagonista endógeno del receptor CB1. Es una molécula inestable químicamente que se transforma rápidamente en anandamida en medio acuoso. Otras moléculas extraídas de los tejidos animales y

que actúan como lípidos bioactivos son el éter de 2-araquidonil-glicerilo o noladin éter y la n-araquidonildopamina (10-14) (sistema endocannabinoide encontrado en obesidad y síndrome metabólico). Al igual que el THC, estas sustancias se ligan a los receptores de CB1 y los activan.

### 1.1. Receptores de cannabinoides

Los cannabinoides tanto endógenos como de *C. sativa* y sintéticos actúan en el organismo mediante las mismas dianas moleculares. Se trata de receptores específicos localizados en la membrana plasmática de las células, denominados receptores CB y de los cuales actualmente existen dos tipos bien caracterizados molecular y farmacológicamente, CB1 y CB2. Entre ambos receptores, hay una homología de alrededor del 48%. Es posible que existan en el organismo otros receptores, como GPR55 o TRPV1 que medien algunas acciones de los endocannabinoides. Los receptores CB pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G y acoplan principalmente Gi/o caracterizados por presentar 7 dominios transmembrana. Además existe una variante del receptor CB1, denominado CB1A que posee menos aminoácidos en su extremo N-terminal que el CB1 por un *splicing* diferente que posee un modelo de distribución muy semejante al CB1 y es hasta un 20% más abundante que este último (15).

A través de las proteínas G, estos receptores modulan rutas de señalización intracelular de gran importancia como la vía de la adenilil ciclasa (16) (AC), 3',5'-monofosfato cíclico (cAMP), proteína quinasa A (PKA) cascadas de proteínas quinasas activadas por mitógenos como ERK (quinasa regulada por señales extracelulares) la generación del esfingolípido ceramida y la vía de la quinasa Akt activan la cascada de las MAPK, vía involucrada en la regulación de fenómenos de proliferación y diferenciación celular (17) estos y otros mecanismos de señalización participan en el control por el sistema endocannabinoide.

Como es lógico pensar, sólo los tejidos que presenten receptores específicos para cannabinoides son dianas de acción de estos compuestos.

La mayor parte de los efectos de los cannabinoides están mediados por el receptor CB1 (18-19). Inicialmente llamado receptor central de cannabinoides. Pero en realidad este receptor presenta una localización muy ubicua y es especialmente abundante en áreas del sistema nervioso central implicadas en el control de la actividad motora (ganglios basales, cerebelo), memoria y aprendizaje (corteza, hipocampo) l que explica también sus efectos anticonvulsivantes, emociones (amígdala), percepción sensorial (tálamo) y diversas funciones autónomas y endocrinas(hipotálamo y médula) lo que lógicamente explica que los endocannabinoides modulen estos procesos y que el consumo de marihuana interfiera en ellos. Se encuentra en bajos niveles en los centros respiratorios del tallo cerebral y también se expresa en las células gliales. Por otro lado, su baja densidad en tallo

cerebral (zona de control de las funciones cardiovascular y respiratoria) (20) explica la baja toxicidad y ausencia de letalidad de la marihuana. Fuera del SNC el receptor CB1 se ha detectado en las terminales nerviosas periféricas que inervan tanto la piel como los tractos digestivo, circulatorio y respiratorio así como tejidos del endotelio vascular, hueso, testículo, útero, ojo, hígado y bazo y tejido adiposo y en distintas células del sistema inmune: linfocitos B y T y monocitos y parecen modular las propiedades inmunosupresoras del cannabis.

En el cerebro los receptores CB1 se expresan también en astrocitos, donde podrían controlar el aporte de nutrientes a las neuronas y mediar procesos de intercomunicación sináptica entre ambos tipos de células, así como en células del endotelio vascular, donde su activación induce vasodilatación.

El receptor CB2 inicialmente denominado receptor periférico de cannabinoides, muestra una distribución más restringida y está presente principalmente en el sistema inmune, tanto en células linfocitos y macrófagos como en tejidos (bazo, apéndice y ganglios). Por ello se piensa que está implicado en la modulación de la respuesta inmune por el sistema endocannabinoide.

Los receptores CB2 actúan por los mismos mecanismos pero a diferencia del CB1, no es capaz de modificar las corrientes de los canales de calcio y potasio (21). Se expresan en células de microglía, donde median la inactivación de dichas células y por tanto un descenso en la liberación de citoquinas proinflamatorias y especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, lo que conlleva un atenuación de los procesos neuroinflamatorios.

Aunque se ha sugerido que los ligandos endógenos de estos receptores (endocannabinoides) tendrían cierta selectividad por los diferentes subtipos de receptores para cannabinoides, lo cierto es que pueden unirse y activar ambos subtipos indistintamente (22).

Los endocannabinoides junto con sus receptores y sistemas específicos de síntesis y degradación constituyen el denominado sistema endocannabinoide. Este sistema aparece de forma altamente conservada en la gran mayoría de animales y su función hasta ahora mejor establecida es la de constituir un mecanismo de neuromodulación en el SNC. Así cuando se activan receptores de neurotransmisores en la membrana plasmática de una neurona postsináptica, esta sintetiza precursores de endocannabinoides y los escinde para liberar a la hendidura sináptica endocannabinoides funcionalmente activos. Este mecanismo acontece por ejemplo tras la unión de algunos neurotransmisores como el glutamato a sus receptores inotrópicos o metabotrópicos o el l GABA. Es decir los endocannabinoides actúan como mensajeros químicos retrógrados que se unen a receptores CB1 de la neurona presináptica, el resultado es la retro inhibición de la liberación del neurotransmisor y la consiguiente atenuación de la transmisión glutamatérgica y gabaérgica (20). Como es conocido la EA se caracteriza por una hiperfuncionalidad en el sistema glutamatérgico y una hipofuncionalidad en el colinérgico.

La unión de los cannabinoides a los receptores CB1 de la neurona presináptica conlleva el cierre de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  sensibles a potencial VSCCs, (voltaje-sensitivo  $\text{Ca}^{2+}$  channels) por lo que se facilita la salida de iones  $\text{K}^+$  debido a la apertura de canales rectificadores de  $\text{K}^+$  sensibles a proteínas G. Este proceso impide la despolarización de la membrana y los procesos de exocitosis y así se bloquea la liberación del NT.

Aunque el resultado global de la activación de dichos receptores es la retroinhibición de la liberación de NTs y la consiguiente atenuación de la transmisión sináptica, el curso temporal en el que tiene lugar este proceso divide los efectos de los endocannabinoides en 2 tipos. De acción corta y de acción larga. La depresión sináptica a corto plazo está mediada por el cierre de canales de  $\text{Ca}^{2+}$  y apertura de  $\text{K}^+$ , mientras que la depresión a largo plazo depende de la inhibición de la vía AC-cAMP-PKA y consecuentemente de la inactivación de algunas proteínas blanco de esta ruta.

Los principales endocannabinoides son la anandamida y el 2-araquidionil glicerol. Ambos cumplen las condiciones necesarias de todo neurotransmisor ya que son sintetizados y liberados a partir de las neuronas, son capaces de unirse y activar receptores de membranas y ser inactivados por recaptación o degradación enzimática en el interior de la célula. Sin embargo, a diferencia de otros neurotransmisores no se almacenan en vesículas en las neuronas, sino que se sintetizan a partir de un precursor fosfolipídico presente en las membranas celulares. Los niveles de 2-araquidionil glicerol son más altos que los de anandamida. Las concentraciones más altas de anandamida se encuentran en zonas que presentan altos niveles de receptores como hipocampo, corteza o el núcleo estriado.

A fin de demostrar la función moduladora que los endocannabinoides ejercen sobre numerosas funciones cerebrales, se ha sugerido el potencial terapéutico que la manipulación farmacológica de sus niveles o la administración de agonistas cannabinoides podría tener en el tratamiento de diversas patologías que afectan al sistema nervioso (esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, corea de Huntington y enfermedad de Alzheimer).

En algunas de estas enfermedades ya se ha podido poner de manifiesto que existen cambios en la expresión de receptores cannabinoides y/o en los niveles de endocannabinoides en ciertas zonas del cerebro. Hoy en día se sabe que bajo determinadas circunstancias, los cannabinoides son capaces de proteger a las neuronas frente a diversas situaciones de daño, lo que podría tener interés para el tratamiento de episodios de daño cerebral agudo y quizás de enfermedades neurodegenerativas. Su participación en los procesos de memoria y aprendizaje hace pensar que los cannabinoides podrían ser de utilidad en trastornos como la extinción de la memoria en situaciones de estrés post-traumático.

A pesar de todo ello la utilización clínica de los cannabinoides y otros compuestos que modulen el sistema cannabinérgico es restrictiva sólo en algunos países se permite la prescripción de cannabinoides. No hay que

olvidar que aunque se trate de compuestos seguros clínicamente hablando, su uso médico estaría dificultado por sus efectos psicoactivos no deseados (euforia, somnolencia, descoordinación, lapsos de memoria, etc.). Aunque estos efectos secundarios sean transitorios y estén dentro de los márgenes aceptados para otros medicamentos, es necesario diseñar cannabinoides que carezcan de las acciones psicótropas. Ya que estas acciones dependen de los receptores CB1 centrales, los objetivos futuros son el diseño de fármacos CB2 selectivos o de compuestos que no atraviesen la barrera hematoencefálica.

## 2. DEFINICIÓN DE DOLOR

El dolor se define como "una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño real o potencial del tejido, o se describe en términos de dicho daño" (International Association of the Study of Pain) (23-24). La ciencia que estudia el dolor se llama algología. El dolor puede ser agudo, o crónico. El dolor agudo es un dolor de corta duración que suele tener una causa fácilmente identificable. Este tipo de dolor normalmente se origina en el sistema nervioso periférico, es decir fuera del cerebro, aunque se procesa e interpreta en él (por parte del sistema nervioso central). De hecho, el dolor agudo actúa como una señal de advertencia de un daño actual o próximo: es la respuesta fisiológica normal ante un estímulo adverso o perjudicial que causa el dolor. Este estímulo puede ser mecánico (una fractura ósea), térmico (una quemadura) o químico (debido a una reacción inflamatoria en el cuerpo durante una enfermedad aguda). Suele responder bien a los analgésicos y por tanto su duración es limitada.

El dolor crónico suele ser independiente de la causa original del dolor, ocurriendo que los nervios sobreexcitados sigan enviando la señal de dolor al cerebro. En otras ocasiones, la causa del dolor puede seguir existiendo sin poder ser tratada o eliminada en todos los casos, como en las enfermedades incurables o crónicas, con lo que en ese caso la señal de dolor pierde su función de advertencia y no ayuda al cuerpo a evitar el daño. También se habla del dolor crónico, cuando unos estímulos de dolor sin tratar provocan respuestas de dolor adicionales. Por tanto, el dolor crónico suele ser mucho más difícil de tratar que el agudo; debería considerarse una enfermedad en sí mismo. Los estados de salud que causan este tipo de daño se describen en causas del dolor. Un ejemplo significativo de lo que acabamos de decir lo podríamos ilustrar con el dolor de cabeza o cefalea que es una de las dolencias más frecuentes en la población. La diferencia entre dolor de cabeza y migraña reside en el hecho de que el dolor de cabeza común se manifiesta de una manera general a toda la cabeza mientras que la migraña afecta solo a un lado de la cabeza. La migraña es una enfermedad neurobiológica, mientras que los dolores de cabeza no son más que un síntoma de una enfermedad.

Una de las manifestaciones singulares de la migraña es el "aura", el cual consiste en un déficit neurológico transitorio y reversible, tanto visual como somatosensitivo,

motor o lingüístico (25). La tipología de aura más común es aquella en la que tiene lugar una manifestación visual alterada que anuncia la aparición de un ataque migrañoso (aura típica); ésta se caracteriza por la percepción de manchas negras, centelleos luminosos y líneas brillantes en zigzag, así como por la presencia de áreas de pérdida del campo visual (26). Podemos diferenciar varios tipos de migraña:

La migraña común (sin aura), se caracteriza por náuseas con o sin vómito. El dolor resulta acentuado con movimientos como tos, estornudos, esfuerzos, así como exposición a la luz. La relajación, oscuridad y ausencia de ruido son recomendables para aliviar los síntomas. La duración de los episodios es variable, pudiendo llegar hasta los tres días y se presenta en un lado del cráneo, para extenderse después al resto de la cabeza.

Migraña clásica: (con aura). Se diferencia de la migraña común debido a la aparición de algunas molestias como: hipersensibilidad a la luz y/o al ruido, oscurecimiento del campo visual, percepción de líneas centelleantes o moscas voladoras. La duración de los ataques varía de unas horas a un día.

Cefalea en racimos o cluster (neuralgia hemirraneal): aproximadamente el 1% de los casos de cefalea. Se caracteriza por una extrema intensidad, se presenta al improviso, normalmente está localizada alrededor de un ojo o en la sien, en general dura pocos minutos y en 24 horas puede presentarse incluso 10 veces o más. El dolor de la cefalea en racimo puede ser tan intenso que la persona que lo sufre puede tener tendencias autolesivas e incluso suicidas.

Esta dolencia, afecta a entre el 11 y el 13 por ciento de la población adulta en los países occidentales. En Estados Unidos, se estima que alrededor de 30 millones de personas sufren de esta dolencia que suelen ir acompañados de náuseas, vómitos e hipersensibilidad a la luz. En Europa el 14% de la población padece migraña crónica (27). En España, se estima que, el 12,6 por ciento de las personas de entre 18 y 65 años, puede padecer, según los criterios de migraña probable de la *International Headache Disorders*. Unas de las causas propuestas por las que se producen estas migrañas podrían deberse a pinzamientos de la arteria vertebral tal y como se ilustra en la Figura 1.



**Figura 1.** Pinzamiento de la arteria vertebral como causa posible de migrañas.

La señal de alarma que proporciona el dolor desencadena una serie de mecanismos cuyo objetivo es evitar o limitar los daños. Para ello, el organismo dispone de los siguientes elementos:

- Detectores de la señal nociva: Son neuronas especializadas en la recepción del dolor, denominadas nociceptores.
- Mecanismos ultrarrápidos de protección (reflejos): son reacciones rápidas, generadas a nivel de la médula espinal que pueden tener como efecto una reacción de retirada una contractura de la musculatura que bloquea la articulación si se ha producido una lesión articular (es el caso del lumbago después de la lesión de un disco intervertebral tras un movimiento en falso).
- Mecanismos de alerta general (estrés), por activación de los centros de alerta presentes en el tronco cerebral; ello se traduce en un aumento de la vigilancia y de las respuestas cardiovasculares, respiratorias y hormonales que preparan al organismo a hacer frente a la amenaza (mediante la huida o la lucha).
- Mecanismos de localización consciente e inconsciente de la lesión, a nivel del cerebro; la localización es precisa si la lesión se produce en la piel y difusa o incluso deslocalizada si la lesión afecta un tejido profundo.

- Mecanismos comportamentales para hacer frente a la agresión: debido a la activación de centros especializados en el cerebro, aumenta la agresividad y pueden producirse manifestaciones de cólera; estas pulsiones tienen como objetivo movilizar la atención del sujeto e iniciar los comportamientos de huida o lucha para preservar la integridad corporal.

Mecanismos de analgesia endógenos: en ciertas circunstancias estos mecanismos permiten hacer frente a la amenaza a pesar de que se hayan sufrido graves heridas.

### 2.1. Sistema cannabinoide y dolor

En todos los sitios donde se han localizado receptores cannabinoideos, se ha descrito su papel modulador de la transmisión de las señales nociceptivas. Es un hecho conocido en la bibliografía que, por lo general, la estimulación del sistema cannabinoide provoca una respuesta a un fenómeno de analgesia endógena. En efecto, la unión de cannabinoideos endógenos a sus receptores provoca una hiperpolarización de las neuronas, lo que supone una menor frecuencia de descarga, una menor conducción nerviosa y, por lo tanto, una menor activación de las neuronas que transmiten la señal de dolor. Es por ello que los cannabinoideos son buenos analgésicos, especialmente para el dolor crónico. Esto es consecuencia

de la presencia de receptores CB<sub>1</sub> en las regiones que participan en el control de la nocicepción, tanto a nivel espinal como a nivel supraespinal (28). Existe además una intensa interacción entre la transmisión endocannabinoide y la opioide (29), incluso se han demostrado efectos sinérgicos, lo que ha llevado a sugerir que los cannabinoides podrían ser utilizados para reducir las dosis de morfina en tratamientos de dolor crónico, sin merma del efecto analgésico pero con una notable reducción del potencial adictivo del opiáceo.

En el dolor inflamatorio se está asimismo estudiando la posibilidad de interferir farmacológicamente mediante la estimulación de receptores cannabinoides de tipo CB<sub>2</sub>. Aunque los receptores de tipo CB<sub>2</sub> están presentes de forma mayoritaria en las células del sistema inmune, también se han detectado receptores de este subtipo en terminales nerviosos periféricos y en células gliales, proponiéndose por ello como dianas farmacológicas para el tratamiento del dolor, tanto inflamatorio como neuropático (31). La posibilidad de modular el dolor inflamatorio mediante la activación farmacológica de este receptor CB<sub>2</sub> vendría dada por el hecho de que se ha demostrado su presencia en mastocitos (32). Los endocannabinoides, liberados en respuesta a la inflamación, se unirían a receptores localizados en estos mastocitos y bloquearían la liberación de sustancias proinflamatorias, disminuyendo así la respuesta inflamatoria y con ello el dolor (33).

### 3. ESCLEROSIS MÚLTIPLE Y SU RELACIÓN CON LOS RECEPTORES CANNABINOIDES

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad que afecta a la mielina o materia blanca del cerebro y de la médula espinal, provocando la aparición de placas escleróticas que impiden el funcionamiento normal de esas fibras nerviosas. La mielina es una capa grasa que recubre las fibras nerviosas (axones). Los axones recubiertos de mielina tienen un aspecto blanquecino, por lo que se conocen en el cerebro como sustancia blanca. Su misión es aislar y proteger a los axones para que conduzcan los impulsos nerviosos más rápida y eficazmente. La velocidad y eficiencia con que se conducen estos impulsos permiten realizar movimientos suaves, rápidos y

coordinados con poco esfuerzo consciente.

Si por alguna razón desconocida, se produce una anomalía inmunológica, entonces el cuerpo produce anticuerpos contra su propia mielina. Esto provoca, la aparición de lesiones de desmielinación y, posteriormente, cicatrices (placas) en distintos puntos del sistema nervioso central. La desmielinación puede afectar a zonas diversas del sistema nervioso central y la distinta localización de las lesiones es la causa de la variabilidad y multiplicidad de los síntomas (trastornos motrices, sensitivos, del lenguaje, del equilibrio, viscerales, etc...).

Este mecanismo inmunitario activa los glóbulos blancos (linfocitos) del torrente sanguíneo, que entran en el cerebro y debilitan los mecanismos de defensa de éste (es decir, la barrera hematoencefálica). Una vez en el cerebro, estos glóbulos activan otros elementos del sistema inmunitario, de forma tal que atacan y destruyen la mielina.

En esta enfermedad, están implicados tanto los receptores CB<sub>1</sub> como CB<sub>2</sub>. Se han desarrollado algunos ensayos clínicos que pretendían explicar los numerosos datos que demuestran un efecto beneficioso de los cannabinoides sobre algunos de los síntomas de la enfermedad, como la espasticidad, en pacientes que se automedicaban con cannabis (34), aunque algunos de estos resultados no son excesivamente fiables. También existen numerosos estudios con modelos animales de la enfermedad en los cuales se ha demostrado como los cannabinoides producen una notable reducción de los signos clínicos.

Se sabe que el SCE (Sistema Cannabinoide Endógeno) se encuentra alterado en situaciones patológicas. En el caso de la ELA, se ha observado un incremento del nivel de endocannabinoides y de la expresión del receptor cannabinoide CB<sub>2</sub> tanto en médulas espinales de modelos transgénicos de ratones así como en muestras de tejido post mortem de pacientes humanos.

Además se ha visto que el uso de agonistas selectivos para CB<sub>2</sub> y la depleción del receptor CB<sub>1</sub> así como de enzimas de degradación del SCE mejoran los síntomas de la enfermedad e incrementan la supervivencia en el modelo de ratón transgénico SOD1.



**Figura 2.** Representación esquemática de la capa de mielina en los axones de las neuronas.

#### 4. ENFERMEDAD DE ALZHEIMER (EA)

La enfermedad de Alzheimer (EA), según la Clasificación Internacional de las Enfermedades (CIE-10, Clasificación Internacional de las Enfermedades, 10ª Edición, OMS 1994 -25), se define como: "un síndrome debido a una enfermedad del cerebro, generalmente de naturaleza crónica o progresiva, en la que hay déficit de múltiples funciones corticales superiores que repercuten en la actividad cotidiana del enfermo".

Esta enfermedad, se caracteriza por un deterioro progresivo e irreversible de las funciones cerebrales superiores o cognitivas, con pérdida de memoria, juicio y lenguaje, es decir, clínicamente se manifiesta como una demencia. En algunos casos, en las primeras fases de la enfermedad, se acompaña de síntomas de otro tipo de alteraciones mentales no cognitivas (psicosis, depresión, ansiedad, apatía, etc.) y del comportamiento (agitación, irritabilidad, etc.). Antes o después, según los síntomas que se presentan, se produce una interferencia grave en la realización de las tareas diarias, originándose una gran discapacidad y una dependencia del cuidador, que llega a ser total. El periodo evolutivo puede ser corto, 2 o 3 años en algunos casos extremos, o bastante largo. En España, a falta de datos oficiales, puede considerarse actualmente una duración media de 12 años a partir del diagnóstico definitivo.

La sociedad occidental sufre un progresivo envejecimiento de su población y consecuentemente mayor incidencia de las patologías asociadas con la vejez. El incremento proporcional de las enfermedades neurodegenerativas, muy relacionadas con el envejecimiento, se caracterizan por una progresiva disfunción y muerte neuronal, con la consiguiente pérdida de funciones nerviosas específicas y aparición de síntomas clínicos (35). Las patologías neurodegenerativas más conocidas además de la enfermedad de Alzheimer (EA), son la enfermedad de Parkinson (EP), la Enfermedad de Huntington (EH) y la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA). Se estima que mundialmente ya hay 26 millones de personas afectadas por EA. En España 800.000 personas padecen enfermedades neurodegenerativas, de las cuales aproximadamente el 50% sufren EA. La incidencia mundial de demencias casi se duplicará cada veinte años y alcanzará los 65,7 millones para 2030 y los 115,4 millones para 2050, según el Informe mundial sobre EA de 2011, de "Alzheimer's Disease International". El problema económico que genera la EA es de tal magnitud (por valor de 604.000 millones de dólares) que puede hacer cambiar la concepción que tenemos hoy en día de la sanidad si no se encuentran recursos terapéuticos que permitan limitar el progreso de la enfermedad.

La etiología de la enfermedad se desconoce completamente, aunque las últimas investigaciones la relacionan con un origen multifactorial en el que influye tanto la predisposición genética como los factores ambientales, que influyen acelerando o retrasando el avance de la enfermedad. El periodo evolutivo varía en función de un diagnóstico precoz y por consiguiente inicio

del tratamiento farmacológico, pero oscila entre los 2 o 3 años en casos graves hasta bastantes años de evolución. En España, según datos de 2010, la duración media del paciente es de 12 años a partir del diagnóstico definitivo.

Desde el punto bioquímico, la EA se caracteriza, por un lado, por la aparición de placas seniles extracelulares formadas por depósitos anómalos del péptido  $\beta$ -amiloide ( $\beta A$ ). Por otra parte, se presentan ovillos neurofibrilares intracelulares (ONF) a partir de la hiperfosforilación de la proteína tau ( $\tau$ ) (36). Ambas formaciones peptídicas se relacionan con acciones neurodegenerativas que se manifiestan con gran pérdida neuronal y sináptica en las zonas cognitivas clave (37). Otra de las consecuencias de este acumulo proteico es la inducción de un entorno citotóxico que potencia los procesos neurodegenerativos agudos y crónicos (38).

Desde el punto de vista neurofisiológico, la EA se caracteriza por una deficiente transmisión colinérgica a nivel central, debido al déficit del neurotransmisor acetilcolina (ACh). Esto se debe a la afectación específica de las neuronas de la vía colinérgica por estos depósitos proteicos. Dichos niveles de ACh están regulados principalmente por la enzima acetilcolinesterasa, por lo que el diseño de fármacos potenciales puede ir encaminado hacia la inhibición o el bloqueo de la actividad de esta enzima.

La función primordial de acetilcolinesterasa (AChE) (EC 3.1.1.7) es la hidrólisis del neurotransmisor de acetilcolina (ACh) en las sinapsis colinérgicas. La reacción de hidrólisis se origina por un ataque nucleófilo al grupo carbonilo, seguido por la acilación de la enzima y liberación del grupo colina, para finalmente hidrolizarse la enzima acilada dando lugar a ácido acético y regenerándose la enzima de nuevo. Se trata de un mecanismo de acción tipo de las hidrolasas.

La estructura tridimensional de AChE de *Torpedo californica*, determinada por rayos-X con una resolución de 2,8Å, ha mostrado que el centro activo de la enzima se encuentra en el fondo de una estrecha y larga "garganta catalítica" (de unos 20 Å) (39)..

#### 5. USOS MÉDICOS DE LOS CANNABINOIDES

El uso de los cannabinoides en medicina legal está limitado por sus efectos psicoactivos, entre los que se incluyen los de tipo afectivo (euforia), somático (somnia, descoordinación motora), sensorial (alteraciones en la percepción temporal y espacial, desorientación) y cognitivo (lapsos de memoria, confusión).

Aunque dichos efectos secundarios están dentro de los márgenes aceptados para otros medicamentos, pueden tener en casos concretos una vertiente positiva (relajación, conciliación del sueño, buen humor) y tienden a desaparecer tras su administración prolongada (proceso que se conoce como tolerancia), está claro que al menos para determinados pacientes y patologías sería deseable diseñar cannabinoides que carecieran de acciones psicotrópicas (40).

El sistema cannabinoide puede ser utilizado en la práctica para proteger las células neuronales (acción neuroprotectora) en diferentes enfermedades que causan un daño crónico o agudo, entre las que podemos citar las enfermedades degenerativas neurológicas (esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, corea de Huntington y enfermedad de Alzheimer); así como en el tratamiento del dolor, de la dependencia a opioides, del glaucoma y del cáncer (sobre todo tumores neurológicos). Respecto a esta última enfermedad, recientemente se ha demostrado que la administración de cannabinoides es capaz de detener el avance de las células tumorales en algunos tipos de cáncer como el cerebral o el de mama, actuando además selectivamente sobre las células malignas, sin dañar a las sanas. La proteína JunD es la responsable de la sucesión de respuestas biológicas que culminan en la inhibición de las células tumorales. Se trata de una molécula que actúa como factor de transcripción, es decir, sirve como “interruptor” biológico que regula la expresión de otros genes y que, en este caso, se activa ante la administración de cannabinoides (41).

A pesar de los prometedoros usos de los cannabinoides, la mayoría de las pruebas clínicas sobre su uso son anecdóticas y los ensayos clínicos disponibles hasta el momento presentan importantes limitaciones metodológicas (42-43), por lo que sería necesario poner en marcha nuevas investigaciones que permitirán conocer mejor los mecanismos básicos y desarrollar alternativas farmacológicas con efectos más específicos (44).

Como hemos apuntado anteriormente, las indicaciones más prometedoras del uso de estos compuestos están referidas al tratamiento del dolor y otras enfermedades neurodegenerativas. Los cannabinoides disminuyen la reactividad al dolor, tanto en modelos animales de dolor agudo como de dolor crónico, neuropático e inflamatorio. El cannabinoide más estudiado ha sido el THC administrado por vía oral, intravenosa o directamente al cerebro y en la médula espinal en ratas. Otros cannabinoides más hidrosolubles que el THC, como el O-1057 y el ácido ajulémico o CT-3, algunos agonistas cannabinoides sintéticos y ciertos endocannabinoides también han mostrado estos efectos (45-47). En la analgesia experimental inducida por THC habría un componente supraespinal no relacionado con los péptidos opioides y un componente espinal en el que están implicados tanto el receptor CB1 como el receptor opioide  $\kappa$  y su ligando endógeno, la dimorfina (48). En ensayos con animales se ha visto que los cannabinoides y los opioides tienen una acción sinérgica en el control del dolor. Cuando se administran dosis bajas de cannabinoides con dosis subterapéuticas de morfina, se produce una importante potenciación del efecto antinociceptivo (49).

Respecto a la neurodegeneración, los efectos tóxicos generados por la sobreactivación de los receptores de glutamato, es un proceso que influye en los mecanismos de muerte celular en la neurodegeneración aguda y crónica (50) por lo que su estudio resulta de gran importancia para evaluar las propiedades neuroprotectoras de los

cannabinoides naturales, modificados y sintéticos. Como ejemplos podemos señalar, a) el cannabinoide HU-211 que ejerce un efecto protector para neuronas al ser expuestas al efecto de glutamato (51); b) el endocannabinoide palmitoiletanolamida que incrementa la supervivencia neuronal para células granulares del cerebelo en modelos de muerte celular inducida por glutamato (52); d) el derivado WIN 55212-2 ejerce un efecto protector en neuronas del hipocampo en condiciones de apoptosis (53); d) y el compuesto natural  $\Delta^9$ -THC que protege a las neuronas de la médula espinal contra daño neuronal por excitotoxicidad vía actuación CB1 (54). Además, estudios in vivo revelan que el  $\Delta^9$ -THC (55) y la anandamida (56) protegen el cerebro de ratas neonatales contra excitotoxicidad inducida por ouabaina. El HU-210 también ejerce efecto protector contra daño neuronal inducido por amino hidroxio-oxazoles en la zona cortical.

La isquemia cerebral, en términos generales, puede comprenderse como una reducción crítica del flujo de sangre, glucosa y oxígeno. Se ha demostrado que el cannabinoide sintético agonista WIN 55212-2 (57) y el endocannabinoide anandamida ejercen un significativo efecto protector para neuronas corticales en condiciones de hipoxia y ausencia de glucosa (58). Asimismo, el derivado HU-211 suministrado 60 min después de producir isquemia protege eficazmente en condiciones de oclusión e isquemia focal permanente (59). Por otra parte el cannabinoide sintético agonista BAY 38-7271 mostró una eficaz capacidad protectora en caso de isquemia por oclusión de la arteria cerebral media al ser administrado durante 4 h (vía intravenosa) (60). La participación del sistema cannabinoide en el tratamiento de traumas cerebrales se fundamenta en el incremento de los niveles de anandamida observados en la corteza cerebral en neonatos de ratas después de traumas craneales (61). El derivado HU-211 es efectivo en la recuperación motora, memoria, reducción del edema cerebral y reorganización estructural de la barrera hematoencefálica (BHE) después de severos traumas craneales en ratas. Este mecanismo protector se basa en la disminución de los niveles de  $Ca^{2+}$  y reducción de los niveles de TNF- $\alpha$  (62). Se ha reportado que el endocannabinoide 2-AG, administrado de manera exógena después de 1 hora del trauma, reduce las dimensiones de la zona isquémica y la recuperación neurológica (47).

El análogo BAY 38-7271 reduce en un 70 % el daño neuronal al ser administrado en forma de infusión intravenosa y la recuperación alcanza el 59 % (60).

En modelos animales de enfermedades neurológicas autoinmunitarias como la esclerosis múltiple, tanto el THC como algunos cannabinoides sintéticos y endógenos, han mostrado efectos antiespástico y sobre el control del temblor. También se ha observado algún efecto beneficioso que impide la progresión de la enfermedad como la remielinización y la reducción de la actividad inflamatoria de la médula espinal. Asimismo han mostrado efectos beneficiosos sobre la hiperreactividad de la vejiga urinaria en estudios experimentales in vivo (62). Aunque

el mecanismo de acción antiespástico del cannabis y sus derivados no se conoce con exactitud, y aun no se ha descrito el papel de los receptores CB1 y CB2 en la producción de estos efectos beneficiosos ni su relación con la liberación de neurotransmisores, se ha hipotetizado que el mecanismo antiespástico podría estar relacionado con un aumento del tono gabaérgico en la sustancia nigra como se ha observado en modelos animales de enfermedad de Parkinson (63). Estudios in vivo con modelos animales de esclerosis I/II y el Ministerio de Defensa de USA ha comenzado su evaluación contra agentes neuroparalizantes. múltiple demostraron la eficacia del  $\Delta 8$ -THC y del  $\Delta 9$ -THC incrementando la capacidad de supervivencia neuronal en esta enfermedad (49). En otra enfermedad, la encefalomiélitis autoinmune experimental (EAE) el cannabinoide HU-211 ejercía un efecto reductor en la cascada inflamatoria. Todos estos efectos parecen estar mediados por receptores CB1 (64). Cabe destacar también al ácido ajulémico, un cannabinoide sintético y análogo metabólico del THC, que además de no generar efectos psicoactivos muestra actividad analgésica y antiinflamatoria. Su administración intravenosa inhibe la espasticidad en modelos de esclerosis múltiple en ratones, por lo que actualmente se encuentra en fase clínica de investigación.

Los cannabinoides podrían también emplearse para el tratamiento terapéutico de desórdenes neuromusculares de la enfermedad de Parkinson, ya que se ha demostrado que el sistema cannabinoide inhibe la transmisión glutamatergica en la zona del estriatum, así como reduce la transmisión dopaminérgica (65).

La patogénesis de la enfermedad de Huntington caracterizada por una selectiva pérdida de neuronas GABA-érgicas en el estriatum que genera el típico desorden motor también ha involucrado al sistema cannabinoide. Así pues en modelos animales de dicha enfermedad, se ha observado un decrecimiento en el número de receptores cannabinoides así como significativas variaciones en los niveles de endocannabinoides en el estriatum (66). Las primeras evidencias datan de 1993 cuando se observó para esta enfermedad una masiva pérdida de receptores CB1 en la sustancia nigra parsreticulada, lo cual sugirió que los cannabinoides desempeñan una función importante en la progresión de la afección. Posteriormente, se obtuvieron resultados contradictorios en 2 modelos animales de neurodegeneración causados por administración de malonato y ácido-3-nitropropiónico respectivamente, que involucran mecanismos bioquímicos diferentes; el primero, actúa sobre la expresión de caspasas-3, y por lo tanto, induce apoptosis, mientras que el ácido-3-nitropropiónico involucra a la calpaína y la muerte celular se produce vía necrosis. El THC presentó efectos neuroprotectores sólo en el segundo modelo animal empleado (67). En la Tabla I se presenta un resumen sobre los usos de los derivados de cannabis (68).

En relación con el efecto inmunosupresor, se ha propuesto que los cannabinoides podrían ofrecer una

alternativa terapéutica en los pacientes con enfermedad de Alzheimer. Experimentos con cultivos celulares y en ratones han demostrado que el efecto inmunosupresor del THC podría deberse en parte a la inducción de apoptosis sobre las células inmunitarias, sin embargo, el mecanismo exacto por el que el THC induce la inmunosupresión sigue sin estar claro. McKallip *et al.* hipotetizaron que la exposición al THC lleva a la inducción de la apoptosis en las poblaciones de linfocitos (69).

Un grupo de investigación español dirigido por María de Ceballos del Instituto Cajal de Madrid perteneciente al CSIC ha aportado muchos datos relevantes en la relación entre enfermedad de Alzheimer y el sistema cannabinoide. Recientemente han demostrado que análogos sintéticos de los cannabinoides reducen la inflamación cerebral y previenen el deterioro mental en los enfermos de Alzheimer (70). Su hipótesis era interferir con la marcada activación microglial que existe en la EA que podría estar mediada por el  $\beta$ -amiloide ( $\beta A$ ). Además ya existían distintas evidencias de que los cannabinoides eran neuroprotectores frente a daño cerebral agudo como ya hemos comentado anteriormente (isquemia, excitotoxicidad o trauma cerebral). Al comienzo de su trabajo se sabía muy poco sobre la localización, expresión y características de los receptores para cannabinoides en la EA. Este grupo encontró que en la enfermedad neurológica, los receptores CB1 y el CB2 se hallaban en las placas de  $\beta A$  (71) asociado a marcadores de activación microglial y en algunas neuronas supervivientes. Además, la expresión del receptor CB1 se encontraba disminuida en la EA, y aún más su función, posiblemente debido al aumento en la nitración de los receptores cannabinoides como se observó respecto a los controles sanos. Como modelo *in vivo* de la EA utilizaron ratas a las que se les inyectó por vía intracerebral  $\beta A$  durante una semana. Estos animales mostraron una marcada activación microglial al acabar el tratamiento y fueron incapaces de aprender una tarea de navegación espacial a los dos meses de comenzarlo. Cuando los animales recibieron el cannabinoide WIN 55,212-2 (WIN), junto con el  $\beta A$ , no presentaron activación microglial y aprendieron la tarea como los animales control. Además el WIN previno la pérdida de marcadores neuronales inducida por el tratamiento con  $\beta A$ . Para demostrar la implicación de la microglía en los efectos observados emplearon cultivos primarios. Otro cannabinoide, el HU 210 previno la activación inducida por  $\beta A$  de las células de la microglía en cultivo, observándose cambios morfológicos, un aumento de la actividad mitocondrial (en ausencia de proliferación) y un aumento de la liberación exacerbada del factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ). Lo interesante es que han podido reproducir ese último efecto con el WIN, que carece de efectos antioxidantes, y con el JWH-133, agonista CB2 selectivo. Los cannabinoides fueron incapaces de prevenir la toxicidad directa de altas concentraciones de  $\beta A$  sobre neuronas. En cambio sí fueron capaces de impedir la neurodegeneración que ocurre al exponer la microglía activada por

## Cannabinoid analogs in the treatment of pain

concentraciones menores de  $\beta A$  que no eran neurotóxicas *per se* en co-cultivos neurona/microglía. Además demostraron que compuestos que activan selectivamente el receptor CB2 carecen de efectos psicoactivos y además son capaces de disminuir la activación microglial y la neurodegeneración que le acompaña (72). Por todo ello se puede concluir que las alteraciones en receptores para cannabinoides son importantes en la patología de la EA y que los cannabinoides, que combinan efectos antiinflamatorios y neuroprotectores, pueden sentar las bases para nuevas estrategias terapéuticas para la enfermedad.

Las principales entidades en las que se ha estudiado, con ensayos controlados, la utilidad de los Cannabinoides para paliar el dolor son: - La esclerosis múltiple comentada en el apartado 3.

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

a otros tratamientos referentes y mala respuesta a los tratamientos tradicionales al uso que tienen en común un curso crónico como las mencionados anteriormente. En este sentido indicar que el cannabis puede minimizar los efectos de una migraña y otros de origen no especificado. En todos los casos los cannabinoides utilizados: extractos naturales (73) (Wade y cols., 2003), Nabilona (74) o un cannabinoide sintético CT3 (75) han mostrado efecto analgésico significativamente superior a placebo y aunque, como en los casos anteriores, su eficacia analgésica no es alta, no se debe olvidar que se trata de pacientes en los que otros tratamientos han fracasado. No obstante, para el tratamiento del dolor neuropático de curso crónico, en relación a la utilidad de los Cannabinoides es interesante analizar:

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

**Tabla 1. Usos terapéuticos del cannabis y derivados. Modificado de Cadime, 2002) (76).**

DOLOR	Algunos estudios muestran una eficacia del THC similar a la codeína
Traumatismo encefálico	El dexabinol ha resultado favorable para disminuir la presión intracraneal en pacientes con trauma e isquemia cerebral, en estudios clínicos.
Glaucoma	Se ha observado que el uso del cannabis inhalado reduce la presión intraocular un 45 %.
Antineoplásico	Hay datos que muestran el potencial de los cannabinoides para inhibir el crecimiento de células tumorales en cultivo, así como en modelos animales.
Síndrome de Tourette	La utilización de cannabis inhalado resulta en una disminución de los tics motores y vocales. Este efecto también se observó con THC.
Esclerosis múltiple y espasticidad muscular	En estudios controlados con THC, nabilona y cannabis inhalado se han observado mejorías en cuanto a la espasticidad y temblor
Enfermedad de Parkinson y alteraciones del movimiento	El cannabidiol fue moderadamente eficaz para controlar las alteraciones del movimiento distónico. El cannabis fue poco eficaz en el temblor causado por el Parkinson
Emesis asociada a quimioterapia	El Dronabinol (EEUU) y nabilona están autorizados como terapia auxiliar

## 6. ADICCIÓN Y RIESGO ASOCIADO A ESTOS FÁRMACOS

La drogadicción es una enfermedad psiquiátrica que se caracteriza por el consumo abusivo de una sustancia con el fin de obtener una sensación de bienestar y/o prevenir las consecuencias negativas de su abstinencia, y que conlleva una búsqueda compulsiva de la droga, una pérdida de control en el consumo a pesar de las consecuencias negativas del mismo y recaídas sucesivas incluso tras largos periodos de abstinencia (77).

Se estima que entre un 7-10% de la población mundial podrían ser consumidores regulares de cannabis, la mayoría de ellos en regiones donde su uso es ilegal. La droga ilícita más consumida en la Unión, Aproximadamente el 16% de la población de la Unión Europea de edades comprendidas entre los 15 y los 64 años habrían consumido cannabis alguna vez en su vida, España es uno de los países líderes en este consumo,

pudiendo estimar que el consumo de cannabis ha aumentado en nuestro país en un 50% en la población de entre 15 a 64 años.

La administración crónica de cannabinoides induce neuroadaptaciones en el circuito de recompensa que son idénticas a las inducidas por las principales drogas de abuso y que se pueden poner de manifiesto mediante el cese de la administración de estos compuestos.

El sistema endocannabinoide participa en las propiedades adictivas de las principales drogas de abuso a través de, al menos, tres mecanismos complementarios. En primer lugar, este sistema está involucrado directamente en las propiedades reforzantes primarias de los cannabinoides, la nicotina, el alcohol y los opioides a través de los efectos de dichas drogas sobre la transmisión mesolímbica dopaminérgica (78-80).

En segundo lugar, el sistema cannabinoide participa en la motivación por la búsqueda de la droga por un

mecanismo independiente de la dopamina, como se ha demostrado para los psicoestimulantes y los opioides.

Finalmente, este sistema está implicado en la recaída a la conducta adictiva asociada a los estímulos ambientales y al nuevo contacto con la droga, actuando sobre la plasticidad sináptica que subyace a los procesos de memoria.

Los antagonistas CB1 podrían representar una nueva generación de compuestos para tratar un amplio rango de procesos adictivos.

La posible aplicación de antagonistas CB1 para el tratamiento de la adicción a otras drogas requiere ser confirmada con nuevos ensayos clínicos que esperamos puedan ser desarrollados en un futuro próximo.

Es inevitable, que el cannabis y sus derivados se comparen con otras drogas de abuso y de ahí que los usos no médicos del cannabis provocaran un alejamiento de su utilización, sobre todo en los inicios del siglo XX, considerándose como drogas de abuso. Esta actitud, que se ha afianzado en algunos profesionales sanitarios, solo podrá cambiarse aportando pruebas convincentes de que la relación riesgo-beneficio está a favor de la utilización de los derivados de cannabis como medicamento. Por ejemplo, en el caso de la diacetilmorfina (diamorfina) existen pruebas evidentes del riesgo de adicción y aún así se comercializa como fármaco en el Reino Unido.

En el debate que existe actualmente sobre el cannabis, se ha hablado mucho de la legalización y de su uso lúdico y recreativo. Aprovechar el debate sobre el uso terapéutico para reforzar otros intereses ligados a la legalización y para extender el mensaje de que el cannabis es inofensivo es una falta de responsabilidad importante.

Aquí hay dos debates totalmente distintos, y no es justo aprovechar la demanda y necesidades de muchos pacientes respecto de la sustancia para defender su uso recreativo, el cual requiere un abordaje y un debate totalmente diferente.

## **7. SISTEMA CANNABINOIDE E INTERACCIÓN CON OTRAS DROGAS**

Existe una relación clara, manifestada en numerosos estudios acerca de la existencia de interacciones de carácter bidireccional entre los sistemas cannabinoide y opioide. Además, ambos sistemas participan en los circuitos neuronales responsables de la mediación de las propiedades adictivas de las principales drogas de abuso. Los receptores cannabinoide CB1 desempeñan un importante papel en la regulación de las propiedades reforzantes de los opioides. El rimonabant reduce de forma importante la autoadministración de heroína bajo un protocolo en el que las respuestas requeridas para conseguir una infusión de la droga aumentan progresivamente durante la sesión de autoadministración (razón progresiva), mientras que el efecto resulta más modesto en un protocolo de razón fija 5 (en el que se requieren 5 respuestas para obtener una inyección de la droga) y casi desaparece en un protocolo de razón fija 1 (una infusión de droga obtenida por cada respuesta en el manipulando activo) (81). El rimonabant también inhibe el

comportamiento de búsqueda de heroína tras un largo periodo de abstinencia, mientras que el agonista cannabinoide HU-210 restablece esta respuesta de búsqueda (82-83). A pesar de que los efectos reforzantes de los cannabinoide y opioides se basan en su efecto facilitador de la transmisión dopaminérgica mesolímbica, el rimonabant no modifica el incremento de la liberación de dopamina en el núcleo accumbens inducido por la heroína (84).

Diversos estudios también demuestran la existencia de dependencia cruzada entre compuestos de naturaleza cannabinoide y opioide. Así, el rimonabant induce signos somáticos de abstinencia en animales dependientes de la morfina (85). De acuerdo con estos datos, el síndrome de abstinencia física tanto a los opioides como a los cannabinoide se asocia con cambios compensatorios en la vía del AMPc, aunque las estructuras cerebrales involucradas parecen ser diferentes según la droga de que se trate (87). Cambios en la actividad de la vía de las MAP quinasa también se han relacionado con el desarrollo de la dependencia física a ambas drogas (88). Por consiguiente, el sistema endocannabinoide parece ser crucial tanto para la mediación de las propiedades reforzantes como para el desarrollo de la dependencia física de opioides. La existencia de interacciones bidireccionales entre los sistemas cannabinoide y opioide proporciona una base neurobiológica para esta función del sistema endocannabinoide. Podemos concluir por tanto que existe una intensa interacción entre la transmisión endocannabinoide y la opiodérgica (89) incluso se han demostrado efectos sinérgicos, lo que ha llevado a sugerir que los cannabinoide podrían ser utilizados para reducir las dosis de morfina en tratamientos de dolor crónico, sin merma del efecto analgésico pero con una notable reducción del potencial adictivo del opiáceo.

## **8. FÁRMACOS EN EL MERCADO**

La administración del cannabis por vía oral, con fines lúdicos implica la administración de calor que descarboxila los ácidos cannabinoide. La administración a través de las vías respiratorias es muy eficaz para que los cannabinoide lleguen a la circulación sistémica con gran rapidez, lo que ha hecho centrar la investigación en las formulaciones no fumadas para las vías respiratorias.

Sativex es una mezcla químicamente pura del cannabidiol y del THC de origen vegetal, formulado como un spray bucal y aprobado para el alivio del dolor asociado al cáncer, y también está indicado como tratamiento para la mejoría de los síntomas en pacientes adultos con espasticidad moderada o grave debida a la esclerosis múltiple (EM) que no han respondido de forma adecuada a otros medicamentos antiespásticos y que han mostrado una mejoría clínicamente significativa de los síntomas relacionados con la espasticidad durante un período inicial de prueba del tratamiento. En la actualidad, diversos países, entre ellos España, ya han aprobado el uso de un extracto del cannabis, denominado Sativex, para la

esclerosis múltiple.

El dronabinol (Marinol®) es la forma sintética del  $\Delta^9$ -THC, aprobado por la FDA en 1986 para el tratamiento de las náuseas y vómitos producidos por quimioterapia y síndrome de anorexia-caquexia (delgadez extrema y falta de apetito) asociado a SIDA. Está comercializado en EE.UU, pero no en Europa. Es útil en el control de determinados tipos de dolor, ya que potencia el efecto analgésico de los derivados de la morfina. También ha demostrado efectos beneficiosos sobre ciertos síntomas (dolor, rigidez, problemas urinarios) de la esclerosis múltiple. Existen casos anecdóticos sobre su posible utilidad en enfermedad de Alzheimer, picor por enfermedades hepáticas, trastorno obsesivo compulsivo...

La nabilona (Cesamet®) es un análogo sintético del THC. Está comercializado en EE.UU, Canadá, México y Reino Unido con las mismas indicaciones que dronabinol (náuseas producidas por quimioterapia y anorexia por SIDA). También existen ensayos clínicos que demuestran su eficacia en el manejo del dolor en cáncer avanzado y algunos síntomas de la enfermedad de Parkinson y esclerosis múltiple.

El rimonabant (Acomplia®) es un antagonista ("neutralizador") de los receptores CB-1. El fármaco fue aprobado en la Unión Europea en el 2006 para el tratamiento de la obesidad en pacientes con problemas de diabetes o colesterol, contando también con estudios favorables como fármaco para ayudar a dejar de fumar. Sin embargo, en octubre de 2008 se suspendió su comercialización, ante el elevado número de efectos adversos de tipo psiquiátrico (incluyendo suicidios) registrados.

El spray de tetrahidrocannabinol/cannabidiol (THC/CBD) (Sativex®) permite la administración sublingual de cantidades fijas de estos cannabinoides, extraídos directamente de la planta. El fármaco está aprobado en Canadá, para el tratamiento del dolor producido por esclerosis múltiple y cáncer. En el momento actual se están llevando a cabo ensayos clínicos con este fármaco para comprobar su eficacia en distintas

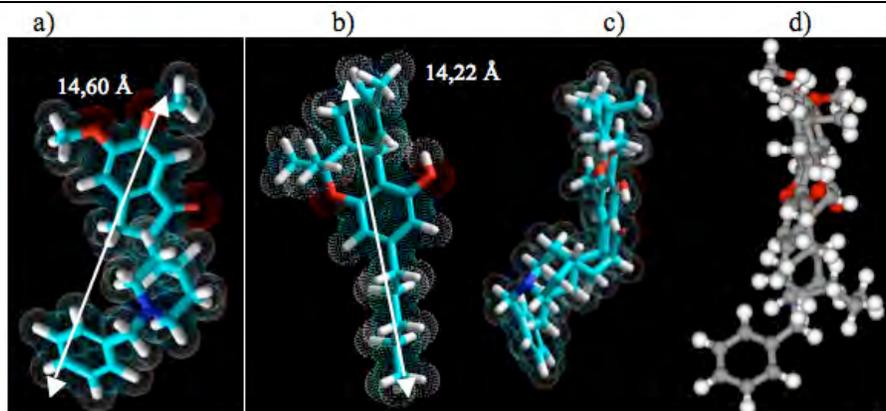
enfermedades (náuseas y vómitos por cáncer, dolor por lesión en la médula, rigidez por esclerosis múltiple, artritis reumatoide...). Algunos de estos estudios se están llevando a cabo en Cataluña, con la colaboración de instituciones como el Colegio de Médicos de Barcelona, el Instituto Municipal de Investigaciones Médicas y el Departamento de Salud de la Generalitat.

Conviene hacer algunas consideraciones sobre estos fármacos. En primer lugar, señalar que, como cualquier otro, tienen sus propias indicaciones, contraindicaciones, efectos adversos, interacciones farmacológicas. Los cannabinoides se absorben mal por vía oral, lo que lleva a que, en principio, fórmulas como el spray de administración sublingual sean más adecuadas y produzcan mayor efecto terapéutico y menos efectos adversos. Hay que tener en cuenta que el cannabis produce un estado modificado de consciencia, que puede ser agradable para algunas personas pero no tanto para otras.

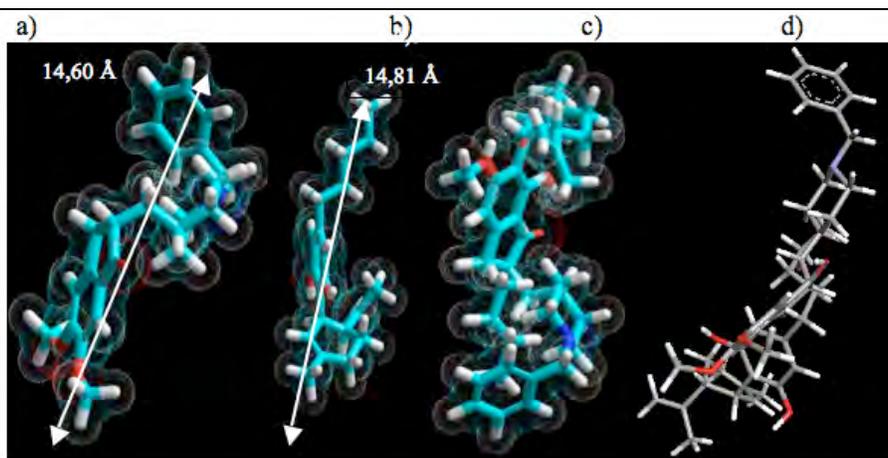
Además pueden aparecer otro tipo de efectos adversos (irritación en la zona de administración, cuadros de mareo, hipotensión...). Señalar también que, hasta el momento este tipo de medicaciones no han demostrado que varíen el curso natural de ninguna enfermedad y se trata de fármacos destinados a aliviar síntomas (lo cual es, en bastantes ocasiones, el objetivo principal de las intervenciones de los médicos). En este sentido, los fármacos derivados del cannabis deben considerarse como una opción de tratamiento más, pero existen otras familias de fármacos que, dependiendo del caso y el paciente, pueden ser más o menos adecuadas.

## 9. DISEÑO TEÓRICO DE FÁRMACOS DE POSIBLE UTILIZACIÓN EN EL TRATAMIENTO PALIATIVO DEL ALZHEIMER Y DOLOR CRÓNICO MEDIANTE DOCKING MOLECULAR

El THC y el cannabinol (CBN) muestran una similitud estructural con el cloruro de donepezilo, utilizado actualmente en el tratamiento de los pacientes con Alzheimer en sus primeras fases, tal y como se muestra en las Figuras 2 y 3.



**Figura 2.** Comparación de distancias y geometrías del donepezilo (a) y THC (b). Geometrías superpuestas (c). Geometrías resultantes del cálculo de Docking. (d) Como puede observarse las distancias son muy similares 14,60 Å para el donepezilo (a) y 14,22 Å para el THC (b) y la superposición forzada de las estructuras utilizando la representación de Van der Waals proporciona una geometría muy similar para ambos compuestos (c).



**Figura 3.** Comparación de distancia y geometrías del donepezilo (a) y CBD (b). Geometrías superpuestas (c). Geometrías resultantes del Docking. (d).

En base a esta idea, estos compuestos y otros cannabinoides fueron acoplados “docked” en la estructura de la AChE de *Torpedo californica* (PDB ID código 1EVE) usando el programa Argus Lab (Marck). A modo de ejemplo se compara el acoplamiento del THC y el donepezilo en el centro activo de la enzima acetilcolinesterasa. (Fig 4). El motor de acoplamiento de ArgusDock implementado en Aargus Lab 4.0 se aproxima a un método de búsqueda exhaustiva, que posee similitudes con DOCK y Glide. El acoplamiento flexible de ligandos es posible debido a que el ligando se describe como un árbol de torsión y se construyen redes que se superponen en el sitio de unión. El nodo del ligando raíz (grupo de átomos unidos que no pueden girar) se coloca en un punto de búsqueda en el sitio de unión y se crea un conjunto de rotaciones diversas y energicamente favorables. Para cada una de las rotaciones, se construyen torsiones en la amplitud de primer orden- y para aquellos que pasan la búsqueda torsional se guardan. La conformación de más baja de energía se retiene y el conjunto final de conformaciones sometidas a minimización, se reagrupan y clasifican.

Se llevaron a cabo 150 ciclos de cálculo (33 millones de evaluaciones de energía). El tamaño de la caja tenía las dimensiones de 29,30 Å, 30,02 Å, 27,77 Å cuando se utilizó el donepezilo como sustrato en la estructura 1EVE mientras que el tamaño de la caja fue 29,54 Å, 27,33 Å, 28,73 Å cuando se acopló el mismo sustrato en 1B41. La resolución fue de 0.400 Å Esta caja fue diseñada para incluir regiones del centro catalítico de la denominada garganta “gorge” y del centro periférico aniónico.

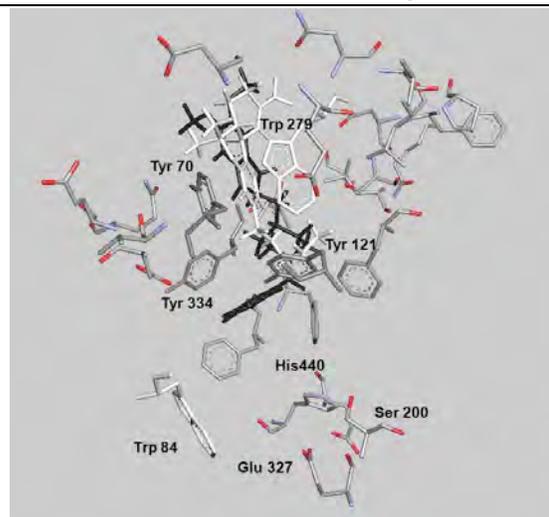
Esta configuración es la estándar de acoplamiento que utiliza el programa Argus Lab para los cálculos, una vez que se ha definido el sitio de unión. El programa se implementó en un ordenador Mac Pro de 8 núcleos a 2,86 Hz con 16 GB de RAM DDR2 a 800 MHz, disco duro de 1 TB y procesador gráfico NVIDIA Quadro Fx 5600, 1,5 GB y monitor de 30 pulgadas.

Como paso previo a los experimentos de Docking se llevó a cabo una optimización de la geometría de los ligandos cannabinoides empleados con el programa

Hyperchem 8.0. utilizando los algoritmos minimización Steepest descent y Fletcher-Reeves siendo el criterio de convergencia utilizado de 0,01 Kcal/mol lo que en la práctica quiere decir que se realizan cálculos iterativos hasta que la energía y la estructura no cambian de un cálculo al siguiente y las primeras derivadas caen a cero.

En los experimentos realizados con la estructura de AChE de *Torpedo californica* (PDB ID código 1EVE) que está complejada con donepezilo, este fue suprimido para calcular la energía de interacción de este compuesto y comparar posteriormente con otros sustratos. El donepezilo se mantiene orientado hacia el Trp84 y Trp 279, asimismo se muestra que la energía de interacción de THC con la AChE considerando también el donepezilo y fue de -9,23 Kcal/mol.

Si consideremos ambos sustratos por separado, la energía de interacción en este caso corresponde a un valor de -10,55 Kcal/ mol, siendo este valor muy semejante al que tenía con el donepezilo sólo que fue de - 10, 60 Kcal/mol. El THC por tanto, se une a la AChE de *Torpedo californica* con una afinidad comparable a otros ligandos que se unen al PAS descritos en la bibliografía (90).



**Figura 4.** Interacción de donepezilo y dronabinol en la acetil colinesterasa de *Torpedo californica* (Código: 1eve.pdb).

Podemos comprobar que ambos sustratos compiten por el mismo sitio (Figura 4). En la Figura 5(a), se muestra al igual que ocurría con el THC, que ambos inhibidores (donepezilo y CBD) compiten por el hueco, y además existe una interacción por enlaces de hidrógeno entre la Tyr 70 y el OH del CBD (línea punteada) así como con el otro OH y Asp 276. En la Figura 5b se muestra la energía de interacción entre el CBD y la AChE que es del orden de -8,59 Kcal/mol, siendo este valor algo menor al que se obtenía con el THC. Este cálculo fue realizado en presencia del donepezilo, ya que la eliminación de este no varió sustancialmente los resultados de afinidad.

En base a los resultados anteriormente expuestos, se realizaron modificaciones estructurales en la molécula de THC y aplicando cálculos de mecánica molecular orbitales moleculares y Docking molecular se obtuvieron los valores de Log P, necesario para saber que compuestos podrán atravesar la barrera hematoencefálica así como los valores de energía obtenidos mediante Docking molecular. Estos resultados nos darán un criterio para evaluar los posibles candidatos a inhibir la acetil colinesterasa.

En una siguiente fase, se evaluarán también estos candidatos para el tratamiento del dolor crónico. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

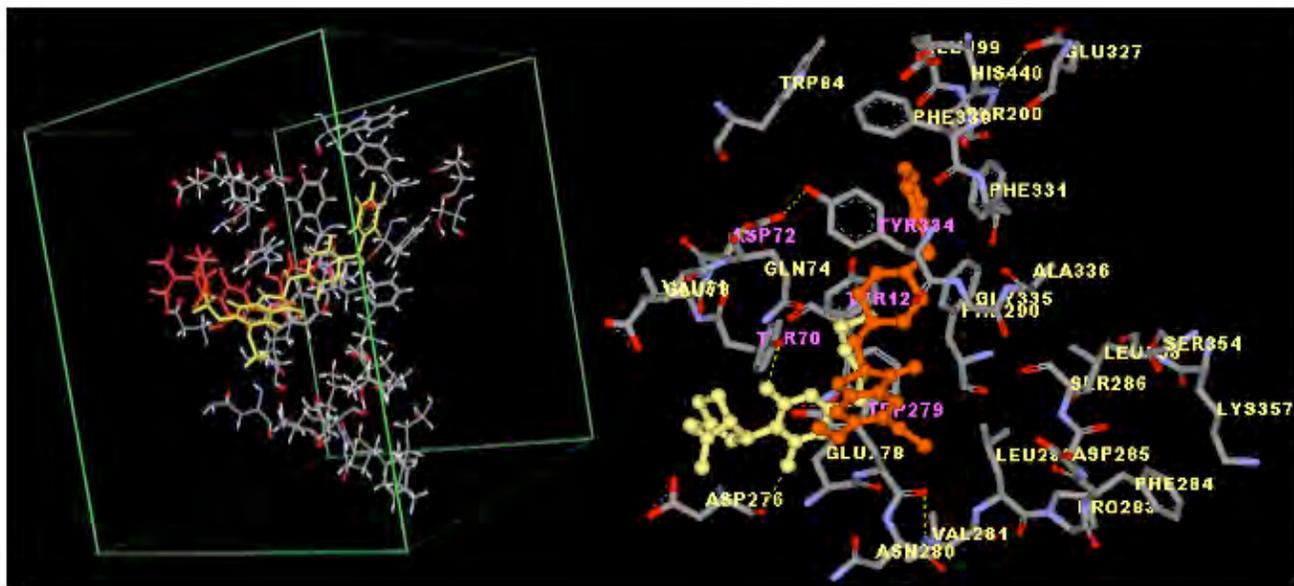
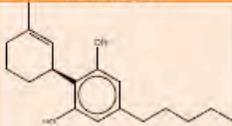
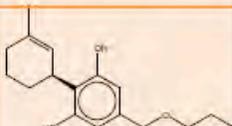
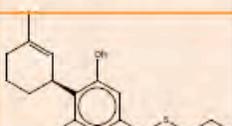
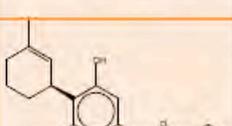
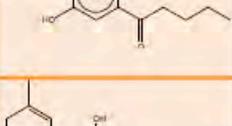
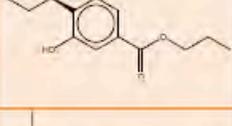
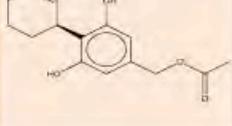
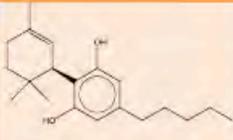
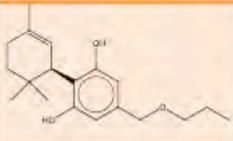
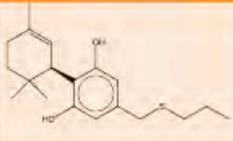
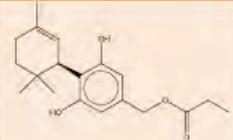
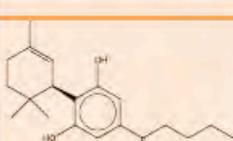
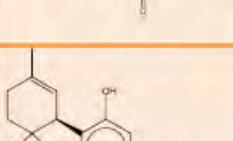
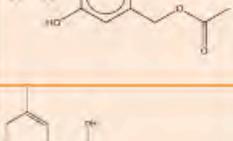
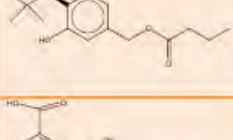
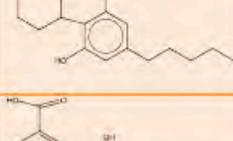


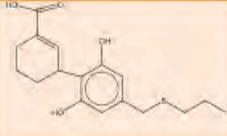
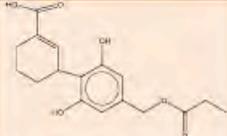
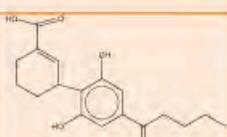
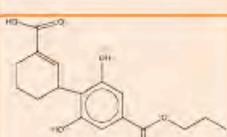
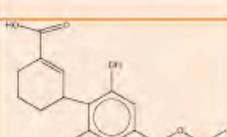
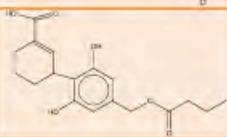
Figura 5 (a) Representación de la caja mostrando la selección de aminoácidos y el inhibidor CBD (rojo) y donepezilo (amarillo). (b) Selección de aminoácidos con el inhibidor CBD (amarillo) y donepezilo (naranja). Cuando se realiza el Docking considerando solo el CBD la energía de interacción fue de -8,63 Kcal/mol.

Tabla 2. Análogos de cannabinoides como posibles fármacos para el tratamiento del Alzheimer y el dolor crónico.

Análogos	Nombre	Log P	Masa(Da)	Volumen(Å <sup>3</sup> )	Energía(kcal/mol)
	<b>DC7A5</b>	5.3	274.46	916.96	<b>-8.06969</b>
	<b>DC7A9</b>	3.8	276.38	902.48	<b>-8.34005</b>
	<b>DC7A24</b>	4.25	292.44	929.54	<b>-8.29056</b>
	<b>DC7A19</b>	3.47	290.36	903.12	<b>-9.00963</b>
	<b>DC7A13</b>	3.98	288.39	917.06	<b>-7.63201</b>
	<b>DC7A14</b>	3.79	290.36	898.88	<b>-7.76098</b>
	<b>DC7A18</b>	2.84	276.33	851.90	<b>-7.94623</b>
	<b>DC7A21</b>	3.87	304.39	960.40	<b>-9.04501</b>

Cannabinoid analogs in the treatment of pain

	<b>DC1A5</b>	6.07	302.46	999.63	<b>-8,20072</b>
	<b>DC1A9</b>	4.57	304.43	978.57	<b>-8,56947</b>
	<b>DC1A24</b>	5.01	320.49	1006.53	<b>-8,47706</b>
	<b>DC1A19</b>	4.24	318.41	980.69	<b>-9,10065</b>
	<b>DC1A13</b>	4.74	316.44	995.80	<b>-7,77009</b>
	<b>DC1A18</b>	3.61	304.39	936.58	<b>-7,98302</b>
	<b>DC1A21</b>	4.63	332.44	1035.72	<b>-9,18317</b>
	<b>DC13A5</b>	4.53	304.39	941.84	<b>-8,11023</b>
	<b>DC13A9</b>	3.04	306.36	920.71	<b>-8,41096</b>

	<b>DC13A24</b>	3.48	322.42	948.83	<b>-8,33066</b>
	<b>DC13A19</b>	2.70	320.34	922.32	<b>-9,00121</b>
	<b>DC13A13</b>	3.21	318.37	935.98	<b>-7,70011</b>
	<b>DC13A14</b>	3.02	320.34	917.32	<b>-7,81183</b>
	<b>DC13A18</b>	2.07	306.32	867.36	<b>-8,00662</b>
	<b>DC13A21</b>	3.10	334.37	976.93	<b>-9,22575</b>

## 10. CONCLUSIONES

El sistema cannabinoide puede ser utilizado en la práctica en el tratamiento del dolor, de la dependencia a opioides, del glaucoma y del cáncer (sobre todo tumores neurológicos). También para proteger las células neuronales (acción neuroprotectora) en diferentes enfermedades que causan un daño crónico o agudo, entre las que podemos citar las enfermedades degenerativas neurológicas (esclerosis múltiple, enfermedad de Parkinson, corea de Huntington y enfermedad de Alzheimer); No obstante, para el tratamiento del dolor neuropático de curso crónico, en relación a la utilidad de los cannabinoides es interesante analizar también, cuál es el riesgo que puede asociarse al consumo de estas sustancias. El principal problema que plantea el uso del cannabis y que limita su utilidad terapéutica es la presencia de efectos psicoactivos. Este problema puede soslayarse mediante el empleo de cannabinoides no psicoactivos como el CBD o el desarrollo de análogos que no atraviesen la barrera hematoencefálica, y de esta manera aprovechar el potencial terapéutico de los cannabinoides. Mediante el uso de técnicas computacionales, pueden desarrollarse teóricamente análogos que cumplan estos requisitos aunque finalmente deben ser sintetizados en el laboratorio

para demostrar su eficacia en ensayos *in vitro*.

## 11. REFERENCIAS

1. Mechoulam R. The pharmacohistory of Cannabis sativa. In: Mechoulam R, Ed. Cannabinoids as therapeutic agents. Boca raton: CRC Press 1986, 27; pp. 1-19.
2. Duran M, Laporte JR, Capellá D. Novedades sobre las potencialidades terapéuticas del Cannabis y el sistema cannabinoide. Med Clin (Barc) 2004;122(10): 390-8.
3. Reynolds JR. Therapeutical uses and toxic effects of Cannabis Indica. Lancet 1980; 22: 637.
4. ElSohly M. Chemical constituents of cannabis. In: Grotenhermen F, Russo E, Editors. Cannabis and cannabinoids. Pharmacology, toxicology, and therapeutic potential. Binghamton/New York: Haworth Press 2002; pp. 27-36.
5. Olea M. León Evolución filogenética del dolor. Elementos 2002; 46: 19-23.
6. Calignano A, La Rana G, Giuffrida A, Pomelli D. Control of pain initiation by endogenous cannabinoids. Nature 1998; 394: 277-81.
7. Meng ID, Manning BH, Martin WJ, Fields HL. An analgesic circuit activated by cannabinoids. Nature 1998; 395: 381-3.

8. Pertwee RG. Cannabinoid receptors and pain. *Prog. Neurobiol* 2001;63: 569-611.
9. Vega R. Opioides: neurobiología, usos médicos y adicción. *Elementos* 2005;12(60): 11-23.
10. Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, et al. 2-Arachidonoylglycerol: a posible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem. Biophys Res Commun* 1995;215: 89-97.
11. Mechoulam R, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 1995;50: 83-90.
12. Hanus L, et al. 2-Arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98: 3662-5.
13. Porter AC, et al. Characterization of a novel endocannabinoid, virodhamine, with antagonist activity at the CB1 receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 301:1020-4.
14. Huang SM, et al. An endogenous capsaicin-like substance with high potency at recombinant and native vanilloid VR1 receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99: 8400-5.
15. Shire D, Carillon C, Kaghad M, Calandra B, Rinaldi-Carmona M, Le Fur G, Caput D, Ferrara P. An amino-terminal variant of the central cannabinoid receptor resulting from alternative splicing. *J Biol Chem* 1995 Feb 24;270(8): 3726-31
16. Howlett AC. Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase: Biochemistry of the response in neuroblastoma cell membranes. *Mol Pharmacol* 1985;27: 429-36.
17. Bouaboula M, Poinot-Chazel C, Bourrie B, Canat X, Calandra B, Rinaldi-Carmona M, Le Fur G and Casellas P. Activation of mitogen-activated protein kinases by stimulation of the central cannabinoid receptor CB1. *Biochem J* 1995;312: 637-41.
18. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, Felser CC, Herkenham M, Mackie K, Martin BR, Mechoulam R, Pertwee RG. International union of pharmacology, XXVII. Clasification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev* 2002;54: 161-202.
19. Ameri A. The effects of cannabinoids on the brain. *Progress in neurobiology* 1999;58: 315-48.
20. Di Marzo V, Matias I. Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nature Nsci* 2005;8: 585-9.
21. Felder CC, Joyce KE, Briley EM, Mansouri J, Mackie K, Blond O, Lai Y, Ma AL, Mitchell RL. Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol Pharmacol* 1995;48: 443-50.
22. Howlett AC. Pharmacology of cannabinoid receptors. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1995; 35: 607-34.
23. "Part III: Pain Terms, A Current List with Definitions and Notes on Usage" (pp 209-214) Classification of Chronic Pain, Second Edition, International Association for the study of Pain (IASP) Task Force on Taxonomy, edited by H. Merskey and N. Bogduk, IASP Press, Seattle, 1994.
24. Turk DC, Okifuji A. Pain terms and taxonomies. In: Loeser D, Butler SH, Chapman JJ, et al. *Bonica's management of pain* (3 ed.). Lippincott Williams & Wilkins 2001; pp. 18-25.
25. Berkow R, Beers MH. *Manual Merck de información médica*. Madrid: Océano Grupo Editorial 1999
26. Ferrer M, Ribes C. *Farmacología de la migraña*. Jaen: Formación Alcalá 2006.
27. Stovnera LJ, Zwarta JA, Hagen K, Terwindtd GM, Pascuale J. Epidemiology of headache in Europe. *European Journal of Neurology* 2006; 13: 333-345
28. Romero J, Lastres Becker I, de Miguel R, Berrendero F, Ramos JA, Fernández-Ruiz JJ. The endogenous cannabinoid system and the basal ganglia: biochemical, pharmacological and therapeutic aspects. *Pharm Ther* 2002; 95: 137-52.
30. Manzanares J, Corchero J, Romero J, Fernández-Ruiz JJ, Ramos JA, Fuentes JA. Pharmacological and biochemical interactions between opioid and cannabinoids. *Trends Pharmacol Sci* 1999; 20: 287-94.
31. Malan TP, Ibrahim MM, Deng H, Liu Q, Mata HP, Vanderah T, et al. CB2 cannabinoid receptor-mediated peripheral antinociception. *Pain* 2001; 93: 239-45.
32. Mazzari S, Canella R, Petrelli L, Marcolongo G, Leon A. N-(2-hydroxyethyl)- hexadecanamide is orally active in reducing edema formation and inflammatory hyperalgesia by down-modulating mast cell activation. *Eur J Pharmacol* 1996; 300: 227-36.
33. Jhaveri MD, Sagar DR, Elmes SJR, Kendall DA, Chapman V. Cannabinoid CB2 receptor-mediated antinociception in models of acute and chronic pain. *Mol Neurobiol* 2007; 36: 26-35.
34. Pertwee RG. Cannabinoids and multiple sclerosis. *Pharmacol Ther* 2002; 95: 165-74.
35. Arias E, Gallego-Sandín S, Villarroya M, Garcia AG, Lopez MG. Unequal neuroprotection afforded by the acetylcholinesterase inhibitors galantamine, donepezil, and rivastigmine in SH-SY5Y neuroblastoma cells: role of nicotinic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;315(3): 1346-53.
36. Tiraboschi P, Hansen, LA, Thal LJ, Corey-Bloom J. The importance of neuritic plaques and tangles to the development and evolution of AD. *Neurology* 2004; 62(11): 1984-9.
37. Recuero M, Serrano E, Bullido MJ, Valdivieso F. Abeta production as consequence of cellular death of a human neuroblastoma overexpressing APP. *Febs Lett* 2004;570: 114-8.
38. Horiguchi T, Uryu K, Giasson BI, Ischiropoulos H, LightFoot R, Bellmann C, Richter-Landsberg C, Lee

- VM, Trojanowski, JQ. Nitration of tau protein is linked to neurodegeneration in tauopathies. *Am J Pathol* 2003;163(3): 1021-31.
39. Sussman JL, Harel M, Frolow F., Oefner, C, Goldman A, Toker L, Silman I. Atomic structure of Acetylcholinesterase from *Torpedo Californica*: a prototypic acetylcholine-binding protein. *Science* 1991;253: 872-9.
  40. Guzman M. Cannabinoides: del laboratorio a la clínica. *Biojournal net* 2006;4: 1-6.
  41. Caffarel MM, Moreno-Bueno G, Cerutti C, Palacios J, Guzmán M, Mechta Grigoriou F, Sánchez C. JunD is involved in the antiproliferative effect of 9-tetrahydrocannabinol on human breast cancer cells. *Oncogene* 2008;27: 5033-44.
  42. Institute of Medicine. Marijuana and medicine [formato electrónico] 1999; 196(196) [consultado 03/06/2003]. Disponible en: <http://www.bob.nap.edu/books/0309071550/html>
  43. Duran M, Laporte JR, Capellà D. Ús terapèutic del cannabis i els seus derivats. Barcelona: Informe preparado por la Fundació Institut Català de Farmacologia para el Departament de Sanitat i Seguretat Social de la Generalitat de Catalunya, 2003.
  44. Piomelli D, Giuffrida A, Calignano A, Rodríguez de Fonseca F. The endocannabinoid system as target for therapeutic drugs. *Trends Pharmacol Sci* 2000;21: 218-24.
  45. Salim K, Schneider U, Burstein S, Hoy L, Karst M. Pain measurements and side effect profile of the novel cannabinoid ajulemic acid. *Neuropharmacology* 2005;48: 1164-71.
  46. Karst M, Salim K, Burstein S, Conrad I, Hoy L, Schneider U. Analgesic effect of the synthetic cannabinoid CT-3 on chronic neuropathic pain. *JAMA* 2003; 290:1757-62.
  47. Kehl LJ, Hamamoto DT, Wacnik PW, Croft DL, Norsted BD, Wilcox GL, et al. A cannabinoid agonist differentially attenuates deep tissue hyperalgesia in animal models of cancer and inflammatory muscle pain. *Pain* 2003;103: 175-86.
  48. Lim G, Sung B, Ji RR, Mao J. Upregulation of spinal cannabinoid-1-receptors following nerve injury enhances the effects of Win 55, 212-2 on neuropathic pain behaviors in rats. *Pain* 2003;105: 275-83.
  49. Maldonado R, Valverde O. Participation of the opioid system in cannabinoid-induced. antiception and emotional-live responses. *Eur Neuropsychopharmacol* 2003;13: 401-10.
  50. Yesilyurt O, Dogrul A, Gul H, Seyrek M, Kusmez O, Ozkan Y, et al. Topical cannabinoid enhances topical morphine antinociception. *Pain* 2003;105: 303-8.
  51. Eshhar N, Striem S, Biegon A. HU-211, a non-psychotropic cannabinoid, rescues cortical neurones from excitatory amino acid toxicity in culture. *Neuroreport* 1993;5(3): 237-40.
  52. Skaper SD, Burianni A, Dal Toso R, Petrelli L, Romanello S, Facci L, et al. The Alamide palmitoylethanolamide and cannabinoids, but not anandamide, are protective in a delayed postglutamate paradigm of excitotoxicity death in cerebellar granule neurons. *Proc Nat Acad (USA)* 1996;93(9): 3984-9.
  53. Shen M. Cannabinoid receptor agonists protect from excitotoxicity. *Molecular Pharmacol* 1998;54: 459-62.
  54. Abood ME, Rizvi G, Sallapudi N, McAllister SD. Activation of CB1 cannabinoid receptor protects cultured mouse spinal neurons against excitotoxicity. *Neuroscience Lett* 2001;309(3): 97-201.
  55. Van Der Stelt M, Veldhuis WB, Bar PR, Veldink GA, Vliegthart JF, Nicolay K. Neuroprotection by Delta 9-tetrahydrocannabinol, the main active compound in marijuana, against ouabain-induced in vivo excitotoxicity. *J Neurosci* 2001;21(17): 6475-9.
  56. Van Der Stelt M, Veldhuis WB, van Haften GW, Fezza F, Bisogno T, Bar PR, et al. Exogenous anandamide protects rat brain against acute neuronal injury in vivo. *J Neurosci* 2001;21(22): 8765-71.
  57. Nagayama T, Sinor AD, Simon RP, Chen J, Graham SH, Jin K, et al. Cannabinoids and neuroprotection in global and focal cerebral ischemia and in neuronal cultures. *J Neurosci* 1999;9(8): 2987-95.
  58. Sinor AD, Irvin SM, Greenberg DA. Endocannabinoids protect cerebral cortical neurons from in vitro ischemia in rats. *Neurosci Lett* 2000;278(3): 157-60.
  59. Leker RR, Shohami E, Abramsky O, Ovadia H, et al. Dexanabinol: a novel neuroprotective drug in experimental focal cerebral ischemia. *J Neurol Sci* 1999;162(2): 114-9.
  60. Mauler F, Mittendorf J, Horvath E, De Vry J. Characterization of the diarylether sulfonylester(-)-(R)-3-(2-hydroxymethylindanyl-4-oxy)phenyl-4,4,4-trifluoro-1-sulfanote (BAY 38-7271) as a potent cannabinoid receptor agonist with neuroprotective properties. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;302(1): 359-68.
  61. Hansen HH, Schmid PC, Bittigau P, Lastres-Becker I, Berrendero F, Manzanares J, et al. Anandamide, but not 2-arachidonoylglycerol, accumulates during in vivo neurodegeneration. *J Neurochem* 2001;78(6): 1415-27.
  62. Shohami E, Gallily R, Mechoulam R, Bass R, Ben-Hur T. Cytokine production in the brain following closed head injury after head injury: dexanabinol (HU-211) is a novel TNF-alpha inhibitor and an effective neuroprotectant. *J Neuroimmunol* 1997;72(2): 169-77.
  63. Duran M, Laporte JR, Capellà D. Novedades sobre las potencialidades terapéuticas del Cannabis y el sistema cannabinoide. *Med Clin* 2004;122(10): 390-398. Di Marzo V. Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. *Trends Neurosci* 1998;21: 521-8.

64. Baker D, Pryce G, Croxford JL, Brown P, Pertwee RG, Huffman JW, et al. Cannabinoids control spasticity and tremor in multiple sclerosis model. *Nature*. 2000;404(6773): 84-7.
65. Cadogan AK, Alexander SP, Boyd EA, Kendall DA. Influence of cannabinoids on electrically evoked dopamine release and cyclic AMP generation in the rat striatum. *J Neurochem* 1997;69(3): 1131-7.
66. Lastres-Becker I, Berrendero F, Lucas JJ, Martin-Aparicio E, Yamamoto A, Ramos JA, et al. Loss of mRNA levels, binding and activation of GTP-binding proteins for 31 cannabinoid CB1 receptors in the basal ganglia of a transgenic model of Huntington's disease. *Brain Res* 2002;929(2): 236-42.
67. Wirguin I, Mechoulam R, Breuer A, Schezen E, Weidenfeld J, Brenner T. Suppression of experimental autoimmune encephalomyelitis by cannabinoids. *Immunopharmacology* 1994;28(3): 209-14.
68. CADIME. Escuela Andaluza de Salud Pública. Derivados del cannabis: papel en terapéutica. *Rev Soc Esp Dolor* 2002;9: 401-4.
69. McKallip RJ, Lombard C, Martin BR, Nagarkatti M, Nagarkatti PS. (9)-tetrahydrocannabinol-induced apoptosis in the thymus and spleen as a mechanism of immunosuppression in vitro and in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;302: 451-65.
70. Ramírez BG, Blázquez C, Gómez del Pulgar T, Guzmán M, de Ceballos ML. Prevention of Alzheimer's disease pathology by cannabinoids: Neuroprotectin mediated by blockade of microglial activation. *J Neurosci* 2005;25: 1904-13.
71. Haas C, Selkoe DJ. A technical KO of amyloid-B peptide. *Nature* 1998;391(6665): 339-40.
72. Benito C, Núñez E, Tolón RM, Carrier EJ, Rábano A, Hillard CJ, Romero J. Cannabinoid CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are selectively overexpressed in neuritic plaque-associated glia in Alzheimer's disease brains. *J Neurosci* 2003;23: 11136-41.
73. Wade DT, Robson P, House H, Makela P, Aram J. A preliminary controlled study to determine whether whole-plant cannabis extracts can improve intractable neurogenic symptoms. *Clinical Rehab* 2003;17(1): 21-9.
74. Pinsger M, Schimetta W, Volc D, Hiermann E, Riederer F y Pölz W. Benefits of an add-on treatment with the synthetic cannabinomimetic nabilone on patients with chronic pain – a randomized controlled trial. *Wien Klin Wochenschr* 2006;118(11-12): 327-35.
75. Karst M, Salim K, Burstein S, Conrad I, Hoy L, Schneider U. Analgesic effect of the synthetic cannabinoid CT-3 on chronic neuropathic pain: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003;290(13): 1757-62.
76. CADIME. Escuela Andaluza de Salud Pública. Derivados del cannabis: papel en terapéutica. *Rev Soc Esp Dolor* 2002;9: 401-4.
77. Camí J, Farré M. Drug addiction. *New Eng J Med* 2003;349: 975-86.
78. Cohen C, Perrault G, Voltz C, Steinberg R, Soubrié P. SR141716, a central cannabinoid (CB1) receptor antagonist, blocks the motivational and dopamine releasing effects of nicotine in rats. *Behav Pharmacol* 2002;13: 451-63.
79. Caillé S, Parsons LH. SR141716A reduces the reinforcing properties of heroin but not heroin-induced increases in nucleus accumbens dopamine in rats. *Eur J Neurosci* 2003;18: 3145-9.
80. Hungund BL, Szakall I, Adam A, Basavarajappa BS, Vadasz C. Cannabinoid CB1 receptor knockout mice exhibit markedly reduced voluntary alcohol consumption and lack alcohol-induced dopamine release in the nucleus accumbens. *J Neurochem* 2003;84: 698-704.
81. Solinas M, Panlilio LV, Antoniou K, Pappas LA, Goldberg SR. The cannabinoid CB1 antagonist N-piperidiny-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methylpyrazole-3-carboxamide (SR-141716A) differentially alters the reinforcing effects of heroin under continuous reinforcement, fixed ratio, and progressive ratio schedules of drugself-administration in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;306: 93-102.
82. De Vries TJ, Homberg JR, Binnekade R, Raasø H, Schoffelmeer AN. Cannabinoid modulation of the reinforcing and motivational properties of heroin and heroin-associated cues in rats. *Psychopharmacology* 2003;168: 164-9.
83. Fattore L, Spano MS, Cossu G, Deiana S, Fratta W. Cannabinoid mechanism in reinstatement of heroin-seeking after a long period of abstinence in rats. *Eur J Neurosci* 2003;17: 1723-6
84. Caillé S, Parsons LH. SR141716A reduces the reinforcing properties of heroin but not heroin-induced increases in nucleus accumbens dopamine in rats. *Eur J Neurosci* 2003;18: 3145-9.
85. Navarro M, Chowen J, Rocío A Carrera M, del Arco I, Villanúa MA. CB1 cannabinoid receptor antagonist-induced opiate withdrawal in morphine-dependent rats. *Neuroreport* 1998;9: 3397-4402.
86. Ledent C, Valverde O, Cossu G, Petitet F, Aubert JF, Beslot F. Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB1 receptor knockout mice. *Science* 1999;283: 401-4.
87. Nestler EJ. Molecular mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology* 2004; 47 Suppl 1: 24-32.
88. Rubino T, Forlani G, Viganò D, Zippel R, Parolaro D. Ras/ERK signalling in cannabinoid tolerance: from behaviour to cellular aspects. *J Neurochem* 2005;93: 984-91.
89. Manzanares J, Corchero J, Romero J, Fernández-Ruiz JJ, Ramos JA, Fuentes JA. Pharmacological and

biochemical interactions between opioid and cannabinoids. Trends Pharmacol Sci 1999;20: 287-294.

90. Haviv H, Wong DM, Silman I, Sussman JL.

Bivalent Ligands Derived from Huperzine a as Acetylcholinesterase Inhibitors. Curr Top Med Chem 2007;7(4): 375-87.