

Contenido:

1. Saludo del Presidente.
2. Artículo: *Algunas reflexiones sobre el ensayo clínico con BIA 10-2474*. Autor: Manuel Guzmán.
3. "Historias del Cannabis": entrevista a José Antonio Ramos Atance.
4. Premio de la 16ª Reunión anual de la SEIC, Granada 2015: *Expresión diferencial de los heterómeros entre receptores de cannabinoides CB₁ y de adenosina A_{2A} durante la progresión de la enfermedad de Huntington*. Autor: Estefanía Moreno.
5. Premio de la 16ª Reunión anual de la SEIC, Granada 2015: *Modulación de la matriz extracelular y CSPGs como herramienta terapéutica en un modelo viral de esclerosis múltiple*. Autor: Ana Feliú.
6. Agenda.
7. Últimas publicaciones sobre cannabinoides de investigadores españoles.

1. Saludo del presidente

Estimados socios,

A medida que avanza el curso académico vamos cubriendo las etapas que corresponden.

Algunos de nosotros estamos en estas fechas inmersos en la redacción de los abstracts para el congreso de la ICRS del próximo verano, que tendrá lugar en Polonia. Aprovecho para recordaros que la SEIC apoyará, un año más, a algunos de los más jóvenes que quieran asistir al mismo. Otros también estamos atentos a la inminente convocatoria de proyectos del MINECO. Y, seguro que todos, andamos enfrascados en nuestras investigaciones y clases.

Nuestro delegado en Canarias, además, está trabajando diligentemente para que la próxima reunión de la SEIC sea un éxito. En este sentido, algunos de nuestros patrocinadores ya han confirmado su apoyo a dicha cita, lo cual agradezco de corazón.

Os seguiremos informando puntualmente de todos los preparativos que, especialmente en el aspecto del desplazamiento, van a suponer todo un desafío para nuestra Sociedad.

Recibid saludos cordiales y mucho ánimo en vuestras tareas.

Julián

2. Algunas reflexiones sobre el ensayo clínico con BIA 10-2474

Manuel Guzmán

**Dpto. Bioquímica y Biología Molecular I
Universidad Complutense de Madrid.**

El pasado 15 de enero de 2016 se anunciaba en Francia la triste noticia de una muerte cerebral (que posteriormente condujo al fallecimiento del paciente) y cinco enfermos graves entre los participantes de un ensayo clínico llevado a cabo con el compuesto BIA 10-2474. En un principio, los medios de comunicación apuntaron erróneamente al "cannabis" como constituyente del fármaco causante de dichos efectos. Ante ello, desde el recién creado Observatorio Español de Cannabis Medicinal (OECM), al que pertenecemos varios socios de la SEIC, elaboramos una nota de prensa tratando de aportar a la opinión pública alguna luz sobre el asunto. Con base en dicha nota, y atendiendo a la solicitud de las editoras de este número del Boletín de nuestra Sociedad, trato a continuación de resumir, de manera más extendida y actualizada, algunos puntos de este todavía confuso asunto.

1. El Ministerio de Sanidad de Francia confirmó oficialmente y prontamente que el fármaco empleado en el ensayo no contenía ningún tipo de cannabinoide, ni natural, ni sintético. Por tanto, los usuarios medicinales de preparados de cannabis y cannabinoides pueden estar tranquilos al respecto.

2. La incorrecta mención al cannabis en las primeras noticias difundidas generó una situación de alarma completamente innecesaria e injustificable. Por ello, creemos que todos los que estamos implicados en la investigación científica y clínica sobre cannabinoides deberíamos velar porque siempre se aporte información veraz, rigurosa y contrastada acerca de los posibles usos terapéuticos del cannabis y los cannabinoides.

3. La compañía portuguesa Bial-Portela, responsable del fármaco en estudio, informaba que éste era un inhibidor de la hidrolasa de amidas de ácidos grasos (FAAH, *fatty acid amide hydrolase*).

4. Otros inhibidores de la FAAH, con estructuras químicas dispares, ya se han utilizado previamente en ensayos clínicos en fase I y no han producido toxicidad aparente. Entre dichos compuestos se incluyen, por ejemplo, los de compañías como Sanofi, Pfizer, Merck y Johnson and Johnson. Esto apoya fuertemente (aunque, por supuesto, no asegura) la hipótesis de que la toxicidad observada con el BIA 10-2474 no se debe a la inhibición selectiva de la FAAH.

5. Aunque todavía no se dispone de toda la información necesaria para dar una explicación a

los efectos adversos producidos por el BIA 10-2474, estos parecerían deberse más bien a problemas de toxicidad inherentes a las características del fármaco (por ejemplo, algún contaminante en el lote empleado o algún metabolito generado tras su bioconversión en el organismo) y/o a su efecto sobre alguna(s) proteína(s) distinta(s) a la FAAH (por ejemplo, estudios de modelado molecular indican que el compuesto podría interactuar con histona desacetilasas).

6. No puede todavía descartarse, sin embargo, que el efecto tóxico del compuesto se haya producido, al menos en parte, por su capacidad de inhibir la FAAH, especialmente porque se trata de un inhibidor irreversible y se había administrado a los afectados durante 5 días (¿posible efecto acumulativo?). La inhibición de la FAAH produciría teóricamente un aumento en los niveles de amidas de ácidos grasos. En nuestro organismo existen quizás decenas de diferentes amidas de ácidos grasos con actividad biológica, incluidas amidas primarias (por ejemplo, oleamida), etanolamidas (por ejemplo, anandamida, oleiletanolamida, palmitiletanolamida), serinamidas (por ejemplo, *N*-araquidonilserina) y dopamidas (por ejemplo, *N*-araquidonildopamina). Por tanto, es todavía muy aventurado intentar definir cuál(es) de estos múltiples compuestos podría(n) haber contribuido a los graves efectos adversos observados.

Muchos laboratorios del mundo, incluidos algunos pertenecientes a nuestra Sociedad, llevan ya décadas forjando una química médica de muy elevado nivel alrededor de distintos elementos del sistema cannabinoide, lo cual ha proporcionado herramientas farmacológicas de grandísima utilidad para la investigación preclínica que todos realizamos. Sin embargo, estos ingentes esfuerzos no han conseguido hasta ahora llevar medicamentos eficaces y seguros al mercado. La ubicuidad del sistema cannabinoide, la naturaleza lipídica de sus ligandos y la complejidad biológica de sus acciones son algunos factores que convierten ese objetivo en una "tarea de titanes", especialmente en vista de que cualquier posible medicamento basado en compuestos de síntesis tendría que "competir" con los fitocannabinoides. Los agonistas mixtos CB₁/CB₂, incluida la nabilona, poseen balances terapéuticos muy limitados. Los agonistas selectivos CB₂ no han llegado hasta ahora más que a pequeños estudios en fase II debido a su muy reducida eficacia. El sonado fracaso del rimonabant tiró por tierra los programas de desarrollo sobre antagonistas/agonistas inversos CB₁ que muchas compañías tenían abiertos. Y, ahora, el "asunto BIA 10-2474" puede hacer muy difícil que los inhibidores de la FAAH "levanten cabeza", al menos en un futuro cercano.

En medio de este desolador panorama clínico de los "sintocannabinoides" y

“sintocannabiméticos”, numerosos enfermos recurren hoy en día a preparados de cannabis balanceados en THC y CBD, que, por un lado, permiten explotar simultáneamente las propiedades terapéuticas de ambos compuestos, y, por otra parte, poseen una tolerabilidad bastante razonable gracias a las propiedades “tamponadoras” que el CBD ejerce sobre algunos efectos no deseados del THC. Es obvio que los preparados de cannabis no son, como afirman algunos, la “aspirina del siglo XXI”, esto es, una panacea y remedio para la curación de innumerables dolencias. Sin embargo, sí que ejercen diversos efectos paliativos apreciables en algunas poblaciones de enfermos crónicos. En el escenario actual, los usuarios terapéuticos de cannabis suelen encontrarse sumidos en una gran inseguridad jurídica y sanitaria debido a la falta de un sistema regulador que permita el acceso seguro a preparados bien estandarizados de la planta. Este hecho conlleva una importante carencia tanto en la información recibida por los pacientes y sus cuidadores

como en la formación del personal biosanitario (médicos, enfermeros, psicólogos y otros especialistas) ante el consumo medicinal de preparados de cannabis. Esperemos que las regulaciones y programas de dispensación de cannabis medicinal ya implementados en otros países como Canadá, Israel o EEUU nos ayuden a aprender científicamente acerca de las acciones terapéuticas de los cannabinoides y contribuyan a revisar las restricciones legales que todavía impiden decidir a muchos médicos y pacientes sobre una práctica cada vez más habitual en nuestro entorno.

Querría terminar esta nota con un agradecimiento al OECM por su labor de asesoramiento y apoyo a los pacientes de cannabis medicinal, así como con una felicitación a la SEIC por haber arribado a este quincuagésimo número de su Boletín. ¡Gracias y enhorabuena, amig@s!

3. “Historias del cannabis”: Entrevista a Jose Antonio Ramos Atance

Miriam Mecha
Laboratorio de Neuroinmunología
Dpto. Neurobiología Funcional y de Sistemas
Instituto Cajal (CSIC)



José Antonio Ramos Atance acaba de publicar el libro “Historias del cannabis”, un elegante recorrido por la historia del cannabis, desde el reconocimiento a la labor del Prof. Mechoulam como Doctor Honoris Causa por la UCM, al uso terapéutico de derivados de la planta, su experiencia personal con el alumnado, y el lado “oscuro” del cannabis (no sólo consumidores

sino también todas las personas responsables de su uso recreativo). Con motivo de esta publicación, le hemos realizado la siguiente entrevista.

1.- ¿Cómo surge la idea de plasmar toda la idiosincrasia que rodea el cannabis y su uso medicinal/recreacional en un libro?

Se trataba de trasladar a la “memoria escrita” los recuerdos de una etapa de mi vida dedicada a la investigación sobre ese tema. Una serie de anécdotas sirven para contar a los lectores lo que se ha ido descubriendo sobre el sistema endocannabinoide. También se intenta mostrar el lado humano de la ciencia, a través del cual los investigadores tienen que saber conectar con esa sociedad a la que va dirigido su trabajo.

2.- El Prof. Mechoulam es un crítico profuso de la falta del uso de los cannabinoides en

clínica a pesar de las evidencias científicas. ¿Cuál es tu opinión al respecto? ¿Crees que hay motivos que desconocemos detrás de ello?

El profesor Mechoulam ha puesto el dedo en la llaga sobre el divorcio todavía existente en este tema entre evidencia científica y aplicación clínica. Opino lo mismo que él y creo que es una lástima que no haya avanzado más la investigación clínica al respecto. Pero no hay que albergar ninguna idea paranoica sobre la existencia de una conspiración que sea la responsable de esta disociación. Por un lado, es verdad que la visión de la planta como droga ha enlentecido la investigación sobre sus propiedades médicas. Pero también lo es que ni los bioquímicos ni los fisiólogos hemos sido capaces de aconsejar adecuadamente a los químicos orgánicos a la hora de diseñar los fármacos a utilizar en aquellas enfermedades en las que sabemos que el sistema endocannabinoide está alterado.

3.- Desde tu punto de vista, ¿qué queda por descubrir del sistema endocannabinoide? ¿Llegará el día en el que se utilicen derivados cannabinoides sin efectos psicoactivos en terapéutica de manera rutinaria?

Creo que aún nos queda mucho por conocer sobre el sistema endocannabinoide. Su ubicuidad en el cuerpo humano, el carácter lipofílico de los endocannabinoides y que todavía estén por descubrir algunas de sus funciones, pueden ser los responsables de este desconocimiento. Todavía no hemos conseguido diferenciar adecuadamente sus posibles vías de actuación. La caracterización de las denominadas “vías dopaminérgicas” permitió, en su momento, un considerable avance en el tratamiento de enfermedades como el Parkinson y la Esquizofrenia.

De lo que estoy seguro es de que en un futuro no muy lejano si veremos cómo los fármacos cannabimiméticos "no psicoactivos" ocuparan el sitio que les corresponde en la Farmacología. Lo cual no quiere decir que los veremos en la cima del Himalaya, pero si al menos en la del Moncayo.

4.- ¿Qué se puede hacer a nivel científico para mejorar la visión "negativa" del cannabis en nuestra sociedad?

Se trataría de demostrar cuales son las aplicaciones médicas de los componentes de la planta o de sus derivados sintéticos. También habría que dar a conocer que la mayor parte de las sustancias extraídas de la planta, que están en proceso de investigación, carecen de las propiedades psicoactivas que caracterizan al THC.

En los casos en que el mejor tratamiento estuviera relacionado con el THC, habría que considerar si sus posibles efectos secundarios son motivo suficiente para impedir su utilización en la correspondiente enfermedad.

También habría que advertir a la Sociedad de que el consumo del cannabis puede tener efectos negativos en algunos casos. Pero indicando que su aparición no se va a producir en todos los consumidores. Y aquí la misión de la investigación sería la de tratar de identificar cuáles serían las personas "vulnerables" a la aparición de esos efectos.

5.- Como uno de los promotores de la investigación en cannabinoides en nuestro país con una amplia experiencia tanto docente

como investigadora, ¿algún consejo a los jóvenes investigadores de la SEIC?

Que no vengan condicionados por ideas previas sobre el tema en el que van a trabajar. La investigación siempre debe ser neutra y buscar la verdad por encima de todo.

Que antes de lanzarse a la realización de un experimento concreto, revisen toda la bibliografía posible al respecto. No solo para evitar repetir lo ya hecho, sino para ver las estrategias utilizadas previamente para la resolución del problema al que se van a enfrentar.

Pero que además de prudentes, también sepan ser osados y que no busquen "pequeñas variantes" de lo ya descrito. Que sean capaces de pegar el salto que les permita no corretear por el laberinto como la rata que introducimos en su interior, sino verlo como el águila que lo contempla desde lo alto.

Que tengan mucha paciencia a la hora de realizar su investigación, porque no siempre los resultados positivos se consiguen al primer intento.

Que no se desanimen ante sus "gatillazos" experimentales, porque muchas veces lo más importante de esos fracasos es saber reconocer los errores cometidos para no volver a cometerlos.

Y finalmente decirles lo que siempre nos repetía en clase uno de mis profesores del bachillerato:

"La Química es hacer, desfacer e tirar por do verteiro"

4. Premio de la 16ª Reunión anual de la SEIC, Granada 2015

Expresión diferencial de los heterómeros entre receptores de cannabinoides CB₁ y de adenosina A_{2A} durante la progresión de la enfermedad de Huntington

Estefanía Moreno Guillén

Grupo de Neurobiología Molecular. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Barcelona

La enfermedad de Huntington (EH) es un trastorno neurodegenerativo causado por la expansión de la repetición CAG dentro de la región N-terminal de la proteína huntingtina. La disfunción y muerte de neuronas estriatales *medium-sized spiny neurons* es la mayor característica neuropatológica en EH (1) y las alteraciones funcionales neuronales provocan déficits cognitivos y perturbaciones motoras en las etapas iniciales de la enfermedad tanto en pacientes con EH como en modelos animales (2).

Los receptores de cannabinoides CB₁ (CB₁R) juegan un papel fundamental en el control del comportamiento motor (3) por lo que nuestra hipótesis de trabajo es que puedan constituir una diana sobre la que actuar en EH. De hecho, habíamos encontrado previamente que la supresión de la expresión de CB₁R empeora los síntomas, la neuropatología y la patología molecular de EH (4). Además, habíamos observado en ratones con EH que la administración farmacológica del Δ^9 -tetrahydrocannabinol, el componente del canna-

bis que actúa como agonista y activa a CB₁R, ejerce un efecto terapéutico y mejora los parámetros de la enfermedad, sugiriendo que la activación de estos receptores podría atenuar la progresión de la enfermedad (5).

Los receptores CB₁R pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteína G (GPCRs). Tradicionalmente, los GPCRs se consideraban unidades funcionales que actúan individualmente a nivel de la membrana celular. Actualmente se conoce que algunos GPCRs interactúan molecularmente entre sí de manera específica para formar complejos proteína-proteína, denominados heterómeros (6,7). Se han descrito previamente heterómeros entre CB₁R y receptores de adenosina A_{2A} (A_{2A}R) localizados en zonas cerebrales afectadas en EH (8). Los heterómeros son entidades bioquímicamente distintas de los receptores individuales que los constituyen y se comportan como nuevas unidades de señalización con características funcionales específicas (9). Este hecho es especialmente relevante para nuestra hipótesis de trabajo ya que nos permite especular que los heterómeros A_{2A}R-CB₁R podrían ser la verdadera unidad funcional que media el efecto de los cannabinoides en EH. Por todo ello, el objetivo de nuestro trabajo ha sido estudiar si los heterómeros A_{2A}R-CB₁R podrían ser una diana terapéutica en EH.

Para abordar este objetivo, hemos identificado la expresión de los heterómeros A_{2A}R-CB₁R en diferentes regiones cerebrales durante la progresión de la enfermedad y hemos determinando sus características bioquímicas específicas.

Hemos utilizado dos modelos de EH ampliamente establecidos (10,11): i) un modelo celular consistente en células progenitoras de neuronas estriales condicionalmente inmortalizadas que expresan un mutante de huntingtina con 111 glutaminas (STHdH^{Q111}) y células que expresan huntingtina normal con 7 residuos de glutamina (STHdH^{Q7}) como control; ii) un modelo animal preclínico de EH, el ratón Hdh^{Q7/Q111} que expresa el alelo de huntingtina con 111 glutaminas y, como control, el ratón *wild type* Hdh^{Q7/Q7} que expresa huntingtina con 7 glutaminas. A través de la técnica de ligación por proximidad (*proximity ligation assay*, PLA), detectamos la expresión de los heterómeros A_{2A}R-CB₁R en ambos tipos de células STHdH^{Q7} y STHdH^{Q111}, lo que nos indica que la simple expresión de huntingtina mutada no afecta la heteromerización de estos receptores. También detectamos heterómeros A_{2A}R-CB₁R en diferentes áreas cerebrales del ratón Hdh^{Q7/Q7} independientemente de su edad. No obstante, detectamos heterómeros A_{2A}R-CB₁R en ratones Hdh^{Q7/Q111} en las etapas iniciales pero no en las etapas tardías de la enfermedad, por lo que la pérdida de expresión de heterómeros parece estar asociada a la progresión de EH,

Puesto que la funcionalidad de A_{2A}R y de CB₁R no se pierde con la progresión de EH, las consecuencias fisiológicas de la pérdida de heterómeros deben radicar en la pérdida de las características bioquímicas específicas de los heterómeros A_{2A}R-CB₁R. Por ello investigamos cuáles eran estas características bioquímicas. Determinamos la señalización global de los receptores mediante experimentos de redistribución de masa (*label free dynamic mass redistribution*, DMR) utilizando células STHdH^{Q7} y STHdH^{Q111}. Sorprendentemente, la señal producida al activar con agonista los receptores CB₁R o A_{2A}R, no fue sensible a toxina colérica o pertússica, y fue inhibida por un inhibidor de la proteína G_q. Además, los agonistas de ambos receptores fueron incapaces de activar o inhibir a la adenilato ciclasa, pero fueron capaces de incrementar la concentración de Ca⁺² intracelular. Todo ello indica que los heterómeros A_{2A}R-CB₁R están acoplados a la proteína G_q, a diferencia de los receptores individuales (expresados individualmente, A_{2A}R está acoplado a G_s mientras que CB₁R está acoplado a G_i).

Otra característica específica de los heterómeros A_{2A}R-CB₁R es que presentan *cross-talk* negativo y *cross-antagonism*. En efecto, cuando las células STHdH^{Q7} y STHdH^{Q111} se co-activan con agonistas de A_{2A}R y CB₁R la señalización global es menor que cuando se activa un solo receptor, indicando *cross-talk* negativo. Además, los antagonistas de cada receptor son capaces de bloquear la señalización inducida por ambos agonistas en un fenómeno de *cross-antagonism*. El *cross-talk* negativo y el *cross-antagonism* se observan también al analizar vías de señalización concretas como ERK1/2 y Akt no tan solo en células si no también en cortes de tejido cerebral donde se expresan los heterómeros A_{2A}R-CB₁R. Estos resultados permiten concluir que la pérdida de heterómeros A_{2A}R-CB₁R que se produce en EH impli-

ca la pérdida de acoplamiento a proteína G_q de estos receptores y la capacidad de modulación negativa entre adenosina y cannabinoides. Nuestros resultados demuestran que los heterómeros A_{2A}R-CB₁R juegan un papel fundamental en el control de la señalización cannabinoide e indican que estos heterómeros podrían ser una diana terapéutica para tratar la enfermedad de Huntington en etapas iniciales de la enfermedad.

Bibliografía

1. Vonsattel, J.P. et al. Neuropathological classification of Huntington's disease. *J. Neuro-pathol. Exp. Neurol.* **44**, 559-577 (1985).
2. Lawrence, A.D. et al. Visual object and visuospatial cognition in Huntington's disease: implications for information processing in corticostriatal circuits. *Brain* **123 (Pt 7)**, 1349-1364 (2000).
3. Pertwee, R.G. et al. International Union of Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB₁ and CB₂. *Pharmacol Rev.* **62**, 588-631 (2010).
4. Chiodi, V. et al. Unbalance of CB₁ receptors expressed in GABAergic and glutamatergic neurons in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Neurobiol. Dis.* **45**, 983-991 (2012).
5. Blázquez, C. et al. Loss of striatal type 1 cannabinoid receptors is a key pathogenic factor in Huntington's disease. *Brain.* **134**, 119-136 (2011).
6. Ferré, S. et al. G Protein-Coupled Receptor Oligomerization Revisited: Functional and Pharmacological Perspectives. *Pharmacol Rev.* **66**, 413-434 (2014).
7. Ferré, S. The GPCR heterotetramer: challenging classical pharmacology. *Trends Pharmacol Sci.* **36**, 145-152 (2015).
8. Carriba, P. et al. Striatal Adenosine A_{2A} and Cannabinoid CB₁ Receptors Form Functional Heteromeric Complexes that Mediate the Motor Effects of Cannabinoids. *Neuropsychopharmacology.* **32**, 2249-59 (2007).
9. Ferré, S. et al. Building a new conceptual framework for receptor heteromers. *Nat Chem Biol.* **5**, 131-134 (2009).
10. Trettel, F. et al. Dominant phenotypes produced by the HD mutation in STHdH(Q111) striatal cells. *Hum. Mol. Genet.* **9**, 2799-2809 (2000).
11. Lloret, A. et al. Genetic background modifies nuclear mutant huntingtin accumulation and HD CAG repeat instability in Huntington's disease knock-in mice. *Hum. Mol. Genet.* **15**, 2015-2024 (2006).

5. Premio de la 16ª Reunión anual de la SEIC, Granada 2015

Modulación de la matriz extracelular y CSPGs como herramienta terapéutica en un modelo viral de esclerosis múltiple

Ana Feliú

Laboratorio de Neuroinmunología

Dpto. Neurobiología Funcional y de Sistemas
Instituto Cajal (CSIC)

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria crónica desmielinizante del SNC, en la que, junto con los procesos de desmielinización, tienen lugar procesos de reparación y remielinización que decaen conforme la enfermedad progresa, generando deficiencias motoras y discapacidad (1).

Este fallo en la remielinización podría ser consecuencia de cambios que se producen en la matriz extracelular circundante a las zonas de lesión desmielinizadas y particularmente a la acumulación de los proteoglicanos de condroitin sulfato (del inglés *chondroitin sulfate proteoglycans* CSPGs), que impiden la regeneración axonal así como la diferenciación de los precursores de oligodendrocitos (OPCs) que acuden a la lesión en un intento de remielinización (2).

Los CSPGs son macromoléculas que se sobreexpresan en situaciones de daño agudo, en las que la acumulación de estas proteínas formando una cicatriz glial, tiene un papel protector, ya que su función es limitar la expansión del daño en el SNC (3). Sin embargo, si esta síntesis y acumulación se mantiene en las fases crónicas de EM (4), impiden la diferenciación de los oligodendrocitos y la consecuente remielinización (5,6). En este contexto, datos emergentes indican que los CSPGs y otras ECM podrían ser moduladas para promover la remielinización en EM (7).

Una herramienta experimental para el estudio de los procesos de desmielinización/remielinización en EM es la encefalomyelitis murina por infección con el virus de Theiler (TMEV-IDD), modelo bien establecido para el estudio de la EM primaria progresiva (8) y para estudiar la formación de la cicatriz glial en las lesiones desmielinizantes inflamatorias crónicas. En esta línea, estudios previos indican que la desmielinización crónica que acontece en el modelo de TMEV (cepa BeaN) se ve acompañada por una alteración de las ECM y una acumulación progresiva de CSPGs en las zonas de daño de la medula espinal junto con astrogliosis que podrían contribuir al fallo en la regeneración en la fase crónica de la enfermedad (9).

Los cannabinoides en general poseen un perfil inmunomodulador, antioxidante, neuroprotector y antiexcitotóxico (10,11,12). Se ha visto que además mejoran los procesos de remielinización (13) y promueven la diferenciación de los OPCs *in vitro* (14). Sin embargo, poco se sabe sobre su papel sobre las proteínas de matriz extracelular y en particular, sobre los CSPGs.

Estudios previos del laboratorio han mostrado que el Sativex®, un compuesto comercializado para dolor y espasticidad en pacientes con EM y que contiene una combinación equimolecular de los cannabinoides Δ^9 -tetrahydrocannabinol (D^9 -

THC) y cannabidiol (CBD), no solo resulta beneficioso en modelos experimentales de EM (15) ejerciendo un efecto inmunomodulador y neuroprotector, sino que también reduce la expresión y acumulación de los CSPGs en la médula espinal de animales afectados en la fase crónica del modelo de Theiler (16) pudiendo ayudar así al proceso de remielinización como parte de los mecanismos de reparación.

Los objetivos del presente estudio fueron; **1.** Evaluar la expresión de los CSPGs que forman parte de la matriz extracelular, en la fase crónica del modelo de EM del virus de Theiler, inducido con la cepa Daniels. Como prueba de concepto estudiamos si la inhibición farmacológica de la síntesis de CSPGs, mediante la administración de xilósido, podría afectar la evolución y sintomatología asociada al modelo. **2.** Debido a que estudios previos indican que el aumento del tono endocannabinoide con inhibidores de la MAGL (17) (18), o mediante administración directa del propio 2AG (19) mejoran la sintomatología en modelos experimentales de EM, quisimos evaluar la eficacia terapéutica del inhibidor de la MAGL, el UCM-03025, así como su capacidad para modular la expresión de CSPGs en las etapas crónicas del modelo. **3.** Puesto que los astrocitos son unos de los principales productores y responsables del aumento de CSPGs en situaciones de daño, estudiamos en estas células *in vitro* el efecto del 2AG en la producción de los CSPGs.

Los resultados revelan, en primer lugar que existe una sobreexpresión de una de las enzimas de síntesis de los CSPGs (Xt-1) y de diferentes CSPGs, analizados por PCR e inmunohistoquímica (CS56), asociada a zonas de desmielinización (alteración del marcaje con MBP) y con una fuerte activación astrogliar (GFAP) en la medula espinal de los animales infectados con el virus de Theiler en la fase crónica del modelo (85 y 105 dpi). La administración de xilósido (2.4 mg/ dos veces al día) durante 10 días, al comienzo de los síntomas, resultó no solo en una mejoría de la sintomatología, sino también en una disminución de los CSPGs y de la astrogliosis. Todo ello se acompañaba de una preservación de la mielina y de un aumento del marcador de OPCs, Olig-2. Dicho efecto se mantuvo a largo plazo durante 20 días tras cesar el tratamiento (105dpi).

Una vez que observamos que la acumulación de los CSPGs en las fases crónicas del modelo tiene un papel importante en la progresión de la patología de Theiler, quisimos evaluar el efecto del inhibidor de la MAGL, el UCM03025.

Los resultados indicaron que el tratamiento con UCM-03025 (5mg/kg/día), una vez iniciada la sintomatología durante 10 días (85dpi) y dejando a posteriori a los animales sin tratar durante 20 días (105dpi), mejoraba los déficits motores. Así mismo, el tratamiento con UCM-03025 redujo la expresión de la enzima de síntesis Xt-1 y los niveles de Fosfacan y el total de CSPGs (CS56) así como aumentó la expresión del marcador de OPCs, Olig-2 e indujo una mayor preservación de

mielina a 85 dpi.

Puesto que aumentando el tono endocannabinoide de 2AG, mediante el tratamiento con UCM-03025, se regula la expresión de los CSPGs y sus enzimas de síntesis *in vivo*, quisimos evaluar el efecto *per se* del 2AG en la producción y ruta de síntesis de CSPGs en astrocitos *in vitro* estimulados con una combinación de TGFβ1 y bFGF. Los resultados indicaron que el 2AG (0,1μM) reducía la expresión de la enzima de síntesis C4ST a las 6h, mientras que los CSPGs Brevican, Fosfacan y la enzima de síntesis Xt-1 analizados por PCR y Neurocan por inmunocitoquímica, disminuían a las 24h de tratamiento.

Se concluye del presente estudio que: **1.** La sobreexpresión y acumulación de los CSPGs en zonas desmielinizadas en la fase crónica del modelo de Theiler tiene un papel importante en su patogenia ya que su inhibición farmacológica mediante xilósido altera su progresión y sintomatología. **2.** El UCM-03025 presenta un gran interés terapéutico ya que no solo mejora la sintomatología clínica asociada al modelo de Theiler, sino que modula la ruta de síntesis de los CSPGs y disminuye la expresión de los mismos. Además el compuesto aumenta la expresión de marcadores de OPCs y preserva la estructura de la mielina en los animales infectados. **3.** Los astrocitos podrían ser una diana celular de interés ya que el 2AG es capaz de regular la producción de los CSPGs en cultivo.

Debido a que la acumulación de CSPGs asociada a los procesos de inflamación está involucrada en el fallo del proceso de remielinización, nuestros resultados suponen una gran relevancia para el conocimiento de los mecanismos de reparación y remielinización de los cannabinoides como agentes terapéuticos en EM.

Referencias:

1. Compston A, Coles A (2008). Multiple sclerosis. *Lancet* 372, 1502-1517.
2. Chang A, Staugaitis SM, Dutta R, Batt CE, Easley KE, Chomyk AM, Yong VW, Fox RJ, Kidd GJ, Trapp BD. 2012. Cortical remyelination: a new target for repair therapies in multiple sclerosis. *Ann Neurol.* 72, 918-26.
3. Silver, J., Miller, J.H., 2004. Regeneration beyond the glial scar. *Nat. Rev. Neurosci.* 5,146-156.
4. Sobel RA, Ahmed AS. White matter extracellular matrix chondroitin sulfate/dermatan sulfate proteoglycans in multiple sclerosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001; **60**: 1198-1207.
5. Lau LW, Koeough MB, Haylock-Jacobs S, Cua R, Döring A, Sloka A, Stirling DO, Rivest S, Yong VW. 2012. Chondroitin sulfate proteoglycans in demyelinated lesions impair remyelination. *Ann Neurol.* 72, 419-32
6. Siebert JR, Osterhout DJ (2011). The inhibitory effects of chondroitin sulfate proteoglycans on oligodendrocytes. *J Neurochem* 119:176-188.
7. Lau LW, Cua R, Keough MB, Haylock-Jacobs S, Yong VW. (2013) Pathophysiology of the brain extracellular matrix: a

new target for remyelination. *Nat Rev Neurosci* 14(10):722-9.

8. Lipton HL, Dal Canto MC. 1976. Chronic neurologic disease in Theiler's virus infection of SJL/J mice. *J Neurol Sci* 30 (1):201-207.
9. Haist V, Ulrich R, Kalkuhl A, Deschl U, Baumgärtner W. 2012. Distinct spatiotemporal extracellular matrix accumulation within demyelinated spinal cord in Theiler's virus encephalomyelitis. *Brain Pathol.* 22, 188-204.
10. Fernández-Ruiz J, García C, Sagredo O, Gómez-Ruiz M, de Lago E (2010). The endocannabinoid system as a target for the treatment of neuronal damage. *Expert Opin Ther Targets* 14: 387-404
11. Loría F, Petrosino S, Hernangómez M, Mestre L, Spagnolo A, Correa F *et al.* (2010). An endocannabinoid tone limits excitotoxicity in vitro and in a model of multiple sclerosis. *Neurobiol Dis* 37: 166-176.
12. Pryce G, Ahmed Z, Hankey DJ, Jackson SJ, Croxford JL, Pocock JM, *et al.* (2003) Cannabinoids inhibit neurodegeneration in models of multiple sclerosis. *Brain* 126: 2191-2202.
13. Arévalo-Martín A, Vela JM, Molina-Holgado E, Borrell J, Guaza C. (2003). Therapeutic action of cannabinoids in a murine model of multiple sclerosis. *J Neurosci* 23: 2511-2516.
14. Gómez O, Arevalo-Martin A, Garcia-Ovejero D, Ortega-Gutierrez S, Cisneros JA, Almazan G *et al.* (2010). The constitutive production of 2-Arachidonoylglycerol participates in oligodendrocyte differentiation. *Glia* 58: 1913-27.
15. Moreno-Martet M, Feliú A, Espejo-Porrás F, Mecha M, Carrillo-Salinas FJ, Fernández-Ruiz J, Guaza C, de Lago E (2015) The disease-modifying effects of a Sativex-like combination of phytocannabinoids in mice with experimental autoimmune encephalomyelitis are preferentially due to Δ9-tetrahydrocannabinol acting through CB1 receptors. *Mult Scler Relat Disord* 4(6):505-11
16. Feliú A, Moreno-Martet M, Mecha M, Carrillo-Salinas FJ, de Lago E, Fernández-Ruiz J, Guaza C (2015) A Sativex(®) -like combination of phytocannabinoids as a disease-modifying therapy in a viral model of multiple sclerosis. *Br J Pharmacol* 172(14):3579-95
17. Hernández-Torres G, Cipriano MT, Hedén E, Bjorklund E, Canales A, Feliu A *et al.* (2014). A reversible and selective monoacylglycerol lipase (MAGL) inhibitor ameliorates multiple sclerosis. *Angew Chem Int Ed Engl* 8;53(50):13765-70.
18. Bernal-Chico A, Canedo M, Manterola A, Victoria Sánchez-Gómez M, Pérez-Samartín A, Rodríguez-Puertas R, Matute C, Mato S. (2014) Blockade of monoacylglycerol lipase inhibits oligodendrocyte excitotoxicity and prevents demyelination in vivo. *Glia* 63(1):163-76.
19. Lourbopoulos A, Grigoriadis N, Lagoudaki R, Touloumi O, Polyzoidou E, Mavromatis

I *et al* (2011). Administration of 2-arachidonoylglycerol ameliorates both acute and chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Res.* 16;1390:126-41

6. Agenda

18th International Neuroscience Winter Conference.
Sölden, Austria. April 2-6, 2016.

Más información: <http://www.winterneuroscience.org/2016/program.html>

Medicinal Genomics Corporation and Courtagen Life Sciences Announce CannMed 2016, the Personalized Cannabinoid Medicine Conference.

Boston, EEUU. April 10-11, 2016.

Más información: <http://www.businesswire.com/news/home/20160113005214/en/Medicinal-Genomics-Corporation-Courtagen-Life-Sciences-Announce>

Ninth Cajal Conference: Neuroscience Today: Advancing the Future
Sanxenxo, Galicia. April 25-27, 2016.

Más información: <http://www.senc.es/es/cajalwinter>

26th Annual International Cannabinoid Research Society Symposium on the Cannabinoids. Bukovina, Poland. June 27 - 30, 2016.

Más información: <http://www.icrs2016.org/>

10th FENS Forum neuroscience.

Copenhagen, Denmark. July, 2-6 2016

Más información: <http://forum2016.fens.org/>

7. Últimas publicaciones sobre cannabinoides de investigadores españoles

Aso E, Andrés-Benito P, Carmona M, Maldonado R, Ferrer I. Cannabinoid Receptor 2 Participates in Amyloid- β Processing in a Mouse Model of Alzheimer's Disease but Plays a Minor Role in the Therapeutic Properties of a Cannabis-Based Medicine. *J Alzheimers Dis.* (2016).

Del Río C, Navarrete C, Collado JA, Bellido ML, Gómez-Cañas M, Pazos MR, Fernández-Ruiz J, Pollastro F, Appendino G, Calzado MA, Cantarero I, Muñoz E. The cannabinoid quinol VCE-004.8 alleviates bleomycin-induced scleroderma and exerts potent anti-fibrotic effects through peroxisome proliferator-activated receptor- γ and CB2 pathways. *Sci Rep.* (2016);6:21703. doi: 10.1038/srep21703.

Rodríguez-Arias M, Roger-Sánchez C, Vilanova I, Revert N, Manzanedo C, Miñarro J, Aguilar MA. Effects of Cannabinoid Exposure during Adolescence on the Conditioned Rewarding Effects of WIN 55212-2 and Cocaine in Mice: Influence of the Novelty-Seeking Trait. *Neural Plast.* (2016) 6481862. doi:10.1155/2016/6481862.

Aizpurua-Olaizola O, Soydaner U, Öztürk E, Schibano D, Simsir Y, Navarro P, Etxebarria N, Usobiaga A. Evolution of the Cannabinoid and Terpene Content during the Growth of Cannabis sativa Plants from Different Chemotypes. *J Nat Prod.* (2016)79(2):324-31. doi: 10.1021/acs.jnatprod.5b00949.

Blanco E, Galeano P, Palomino A, Pavón FJ, Rivera P, Serrano A, Alen F, Rubio L, Vargas A, Castilla-Ortega E, Decara J, Bilbao A, de Fonseca FR, Suárez J. Cocaine-induced behavioral sensitization decreases the expression of endocannabinoid signaling-related proteins in the mouse hippocampus. *Eur Neuropsychopharmacol.* (2016) pii: S0924-977X(15)00430-7. doi: 10.1016/j.euroneuro.2015.12.040.

García-Cabrerizo R, García-Fuster MJ. Opposite regulation of cannabinoid CB1 and CB2 receptors in the prefrontal cortex of rats

- treated with cocaine during adolescence. *Neurosci Lett.* (2016) 615:60-5. doi: 10.1016/j.neulet.2016.01.018.
- Morales P, Whyte LS, Chicharro R, Gómez-Cañas M, Pazos MR, Goya P, Irving AJ, Fernández-Ruiz J, Ross RA, Jagerovic N. Identification of Novel GPR55 Modulators Using Cell-Impedance-Based Label-Free Technology. *J Med Chem.* (2016)
- Maldonado R, Baños JE, Cabañero D. The endocannabinoid system and neuropathic pain. *Pain.* (2016) 157 Suppl 1:S23-32. doi:10.1097/j.pain.0000000000000428.
- Ramírez-López MT, Vázquez M, Bindila L, Lomazzo E, Hofmann C, Blanco RN, Alén F, Antón M, Decara J, Ouro D, Orio L, Suarez J, Lutz B, Rodríguez de Fonseca F, Gómez de Heras R. Exposure to a Highly Caloric Palatable Diet During Pregestational and Gestational Periods Affects Hypothalamic and Hippocampal Endocannabinoid Levels at Birth and Induces Adiposity and Anxiety-Like Behaviors in Male Rat Offspring. *Front Behav Neurosci.* (2016) 9:339. doi: 10.3389/fnbeh.2015.00339.
- Arrabal S, Lucena MA, Canduela MJ, Ramos-Uriarte A, Rivera P, Serrano A, Pavón FJ, Decara J, Vargas A, Baixeras E, Martín-Rufián M, Márquez J, Fernández-Llébrez P, De Roos B, Grandes P, Rodríguez de Fonseca F, Suárez J. Pharmacological Blockade of Cannabinoid CB1 Receptors in Diet-Induced Obesity Regulates Mitochondrial Dihydroliipoamide Dehydrogenase in Muscle. *PLoS One.* (2015) 10(12):e0145244. doi: 10.1371/journal.pone.
- Paniagua-Torija B, Arevalo-Martin A, Ferrer I, Molina-Holgado E, Garcia-Ovejero D. CB1 cannabinoid receptor enrichment in the ependymal region of the adult human spinal cord. *Sci Rep.* (2015) 5:17745. doi: 10.1038/srep17745
- Bermudez-Silva FJ, Romero-Zerbo SY, Haissaguerre M, Ruz-Maldonado I, Lhamyani S, El Bekay R, Tabarin A, Marsicano G, Cota D. The cannabinoid CB1 receptor and mTORC1 signalling pathways interact to modulate glucose homeostasis in mice. *Dis Model Mech.* (2016) 9(1):51-61. doi: 10.1242/dmm.020750
- Abalo R, Chen C, Vera G, Fichna J, Thakur GA, López-Pérez AE, Makriyannis A, Martín-Fontelles MI, Storr M. In vitro and non-invasive in vivo effects of the cannabinoid-1 receptor agonist AM841 on gastrointestinal motor function in the rat. *Neurogastroenterol Motil.* (2015) 27(12):1721-35. doi: 10.1111/nmo.12668.
- Velasco G, Hernández-Tiedra S, Dávila D, Lorente M. The use of cannabinoids as anticancer agents. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* (2016) 64:259-66. doi: 10.1016/j.pnpbp.2015.05.010.
- Durán-Lobato M, Martín-Banderas L, Lopes R, Gonçalves LM, Fernández-Arévalo M, Almeida AJ. Lipid nanoparticles as an emerging platform for cannabinoid delivery: physicochemical optimization and biocompatibility. *Drug Dev Ind Pharm.* (2016) 42(2):190-8. doi: 10.3109/03639045.2015.1038274.
- Gómez-Gálvez Y, Palomo-Garo C, Fernández-Ruiz J, García C. Potential of the cannabinoid CB(2) receptor as a pharmacological target against inflammation in Parkinson's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* (2016) 64:200-8. doi: 10.1016/j.pnpbp.2015.03.017.
- Arévalo-Martin A, Molina-Holgado E, Garcia-Ovejero D. Cannabinoids to treat spinal cord injury. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* (2016) 64:190-9. doi: 10.1016/j.pnpbp.2015.03.008.
- de Luis DA, Ballesteros M, Lopez Guzman A, Ruiz E, Muñoz C, Penacho MA, Iglesias P, Maldonado A, San Martin L, Izaola O, Delgado M. Polymorphism G1359A of the cannabinoid receptor gene (CNR1): allelic frequencies and influence on cardiovascular risk factors in a multicentre study of Castilla-Leon. *J Hum Nutr Diet.* (2016) 29(1):112-7. doi: 10.1111/jhn.12297.
- de Luis DA, Izaola O, Aller R, Lopez JJ, Torres B, Diaz G, Gomez E, Romero E. Association of G1359A polymorphism of the cannabinoid receptor gene (CNR1) with macronutrient intakes in obese females. *J Hum Nutr Diet.* (2016) 29(1):118-23. doi: 10.1111/jhn.12298.

Composición de la Junta Directiva de la SEIC:

<u>Presidente:</u>	Julián Romero (Universidad Francisco de Vitoria, Madrid)
<u>Vicepresidente:</u>	Pedro Grandes (Universidad del País Vasco)
<u>Tesorero:</u>	José Martínez Orgado (Hospital Clínico San Carlos, Madrid)
<u>Vocales:</u>	Manuel Guzmán (Universidad Complutense de Madrid) Cristina Sánchez (Universidad Complutense de Madrid) Onintza Sagredo (Universidad Complutense de Madrid) Susana Mato (Universidad del País Vasco) Juan Suárez (Hospital Carlos Haya, Málaga) Andrés Ozaita (Universidad Pompeu i Fabra) Adán de Salas (Universidad Complutense de Madrid)
<u>Secretaria:</u>	Ruth Pazos (Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid)

Dirección de contacto de la SEIC

Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides (SEIC)
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III
Facultad de Medicina, Universidad Complutense
Ciudad Universitaria, s/n, 28040 Madrid
Teléfonos: 913941450/913941454; fax: 913941691; e-mail: info@seic.es
Dirección Web: <http://www.seic.es>
Facebook: Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides-SEIC
Twitter: @SEICannabinoide