

## Desde el Cannabis al Sistema Cannabinoide Endógeno: nuevas perspectivas en neuroinflamación

From Cannabis to the Endogenous Cannabinoid System:  
Novel perspectives in Neuroinflammation

Carmen Guaza Rodríguez<sup>1</sup>

Académica Correspondiente de la Real Academia de Doctores de España. Sección de Ciencias Experimentales  
cgjb@cajal.csic.es

Anales Real Academia de Doctores de España. Volumen 3, número extraordinario 2018, pp. 379-393.

### RESUMEN

Aunque el uso médico del Cannabis se remonta al tercer milenio a. de C. su uso de forma recreativa ha restringido considerablemente su utilización con fines terapéuticos. Aun así, los estudios pioneros en los que se aislaron y caracterizaron los componentes principales de *Cannabis sativa* pronto se desbordaron con el descubrimiento de la existencia de un sistema cannabinoide endógeno (SCE) implicado en múltiples procesos fisiológicos y cuya desregulación puede dar lugar a diversos tipos de patologías. Los estudios a lo largo de los últimos veinte años han revelado que dicho sistema formado por receptores específicos, sus ligandos endógenos y las enzimas de síntesis y degradación constituye un sistema de comunicación intercelular de naturaleza lipídica altamente conservado en el mundo animal. Los endocannabinoides (eCBs) se derivan de los fosfolípidos de la membrana, específicamente del ácido araquidónico. El receptor CB1 tiene una amplia distribución en el SNC, siendo el receptor más abundante mientras que el receptor CB2 muestra una mayor distribución en el Sistema Inmunológico. Una de las funciones mejor establecidas del SCE es la de constituir un mecanismo de neuromodulación retrógrada en el SNC pudiendo inhibir la liberación de algunos neurotransmisores. Además, el SCE juega un papel relevante en neuroinflamación, se activa en esclerosis múltiple (EM) y la microglía constituye una diana celular clave en las acciones de los eCBs durante la inflamación. El receptor CB2 se sobreexpresa en microglía en: EM, enfermedad de Alzheimer (AD), enfermedad de Huntington, síndrome de Down, encefalitis por infección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y otras patologías neurodegenerativas con un componente inflamatorio. La activación del SCE durante la neuroinflamación representaría

---

<sup>1</sup> Profesora de Investigación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Responsable del Grupo de Neuroinmunología del Departamento de Neurobiología Funcional y de Sistemas del Instituto Cajal.

un mecanismo de comunicación neuroinmune encaminado a controlar y limitar la respuesta inmune local como es el caso del eje IL-12/IL-23, para prevenir un exceso de activación que resultaría deletéreo en el SNC, que es especialmente vulnerable a cualquier tipo de agresión o daño.

#### **ABSTRACT**

Although the medical use of *Cannabis* goes back to the third millennium B.C., its recreational use has considerably restricted its use for therapeutic purposes. Even so the pioneering studies in which the main components of *Cannabis sativa* were isolated and characterized soon they were overflowed with the discovery of an endogenous cannabinoid system (SCE) involved in multiple physiological processes and whose deregulation can lead to a variety of pathologies. Studies over the last twenty years have revealed that the SCE with specific receptors, their endogenous ligands and enzymes of synthesis and degradations constitutes a system of intercellular communication of a lipid nature, highly conserved in the animal world. Endocannabinoids are derived from the membrane phospholipids; they are arachidonic acid derivatives. The CB1 receptor has a wide distribution within the CNS, being the receptor most abundant, while the CB2 receptor shows a greater distribution in the Immune System. One of the better established functions of the SCE is its ability to operate as a mechanism of retrograde neuromodulation in the CNS that can inhibit the release of several neurotransmitters. In addition, the SCE plays an important role in neuroinflammation; it is activated in multiple sclerosis (MS) and microglia is a key cellular target in the actions of eCBs during neuroinflammation. The CB2 receptor is overexpressed in microglia in MS, Alzheimer's disease, Huntington's disease, Down's syndrome, HIV encephalitis, and other neurodegenerative pathologies with an inflammatory component. The activation of the SEC during neuroinflammation might represent a mechanism of neuroimmune communication aimed at controlling and limiting the local immune response, as occurs in the IL12/IL-23 axis, to prevent an excess of activation that would be deleterious to the CNS especially vulnerable to any type of aggression or damage

**PALABRAS CLAVE:** Sistema cannabinoide; Endocannabinoides; Sistema Nervioso Central; Sistema Inmunitario; Neuroinflamación; Esclerosis múltiple; Microglia; Citoquinas; Endotelio cerebral

**KEYWORDS:** Cannabinoid System, Endocannabinoids; Central Nervous System; Immune System; Neuroinflammation; Multiple sclerosis; Microglia; Cytokines; Cerebral endothelium

Desde hace miles de años se utiliza el *cannabis* desde el punto de vista medicinal y recreativo. Los primeros documentos de los que hay constancia sobre su uso medicinal son las farmacopeas de la antigua China cerca de 4000 años a. de C. En la India se utilizaba hacia el año 1000 a. de C. con una connotación religiosa. A lo largo de la historia se han descrito diversos efectos derivados del uso del *cannabis* como alivio del dolor en enfermedades inflamatorias, migrañas, ciática, neuralgias, acción espasmolítica en diuresis, cistitis etc. Además de su amplio uso de forma recreativa.

¿Qué son y cómo actúan los CBs? Para responder a esta pregunta considero indispensable y gratificante recordar al Profesor Rafael Mechoulam, quien en 1960 al incorporarse al Departamento de Química Orgánica del Instituto Weizmann de Israel comenzó a trabajar en una línea de investigación encaminada al estudio de una de las plantas que había sido usada por la humanidad durante milenios y que era sin embargo una gran desconocida. En la década de los treinta ya se había aislado dos de los CBs presentes en la planta *Cannabis sativa* el Cannabidiol (CBD) y el Cannabinol, pero solo se había podido establecer la estructura del Cannabinol. El carácter hidrófobo de los CBs había dificultado el aislamiento y la caracterización del compuesto  $\Delta^9$  Tetrahidrocannabinol (THC), principal responsable de las propiedades psicoactivas de la planta, que finalmente consiguió el Prof. Mechoulam junto con la caracterización de la estructura molecular del CBD. A partir de entonces, y con las nuevas técnicas disponibles fue factible establecer la estructura de una larga lista de fitocannabinoides derivados de la planta como la Tetrahidrocannabivarina o el Cannabigerol. A continuación, había que lograr la separación de las propiedades psicoactivas del THC de sus efectos medicinales y discernir si otros fitocannabinoides contribuían a los efectos del THC o si tenían sus propios mecanismos de acción. Hoy se sabe que fitocannabinoides como el CBD exhiben propiedades medicinales sin ejercer efectos psicoactivos. Durante bastante tiempo se asumió que dado el carácter hidrofóbico de los CBs sus efectos eran inespecíficos y se producían mediante la alteración de las membranas celulares, pero pronto se descubrió que las acciones farmacológicas del THC eran estereoespecíficas. De manera que solo presentaba actividad biológica en una de sus dos conformaciones, lo que sugería la posible existencia de receptores endógenos que mediasen los efectos del compuesto. En la década de los 80 hubo una intensa actividad científica en este tema que se vio gratificada en 1987 con la caracterización por la Dra. Howlet del primer receptor CB en el cerebro de la rata que se denominó receptor CB1 responsable de los efectos producidos por el THC. En 1990, el laboratorio dirigido por La Dra. Matsuda estableció la expresión funcional del ADN clonado; contribuyendo a extender el pensamiento de la posible existencia de ligandos endógenos, en analogía a los opioides endógenos. Así, dos años más tarde el grupo de investigación dirigido por el Prof. Mechoulam logró el aislamiento y caracterización del primer cannabinoide endógeno que se denominó *anandamida*

(AEA), con el prefijo sánscrito *ananda* que significa embeleso y el sufijo amida que denota el enlace químico característico de la molécula que es la amida del ácido araquidónico. En 1993 se caracterizó un segundo receptor CB periférico que se denominó CB2 y en 1995, dos laboratorios independientes, uno, el dirigido por el Prof. Mechoulam y el otro, un grupo japonés dirigido por el Prof. Sugiura aislaron y caracterizaron un segundo ligando endógeno el 2-araquidonilglicerol (2-AG). Existían por tanto dos receptores CBs, el central ubicado en el SNC y el periférico localizado sobre todo en el sistema inmunitario y dos ligandos endógenos. Los receptores CBs pertenecen a la principal superfamilia de receptores del organismo, los receptores acoplados a proteínas G, con siete dominios transmembrana, que señalizan principalmente a través de proteínas Gi. De manera que los receptores CBs modulan rutas de señalización intracelular de gran importancia como la vía de la enzima adenilatociclasa-AMPC-Proteína quinasa A; además afectan la conductancia de algunos canales de calcio y de potasio. Alternativamente ambos tipos de receptores se pueden acoplar a otras rutas de señalización intracelular como la vía de la fosfatidil 3 quinasa/AKT que nuestro grupo en el Instituto Cajal contribuyó a caracterizar en las células gliales productoras de mielina los oligodendrocitos; o la cascada de proteínas quinasas activadas por mitógenos (ERK), o proteínas quinasas activadas por stress (P38 MAPK), además de otras vías de señalización.

El receptor CB1 es especialmente abundante en áreas del SNC implicadas en el control de la actividad motora (ganglios basales y cerebelo), memoria y aprendizaje (corteza e hipocampo), emociones (amígdala), percepción sensorial (tálamo), diversas funciones autónomas y endocrinas lo que explicaría que los endocannabinoides (eCBs) modulen estos procesos y que el consumo de marihuana interfiera con ellos. El receptor CB1 está presente también en las terminaciones nerviosas periféricas que inervan tanto la piel como el tracto digestivo, sistema circulatorio y respiratorio, así como en numerosos tejidos y órganos como el endotelio vascular, huesos, testículos, útero, hígado y tejido adiposo.

El receptor CB2 con una distribución más restringida que el receptor CB1 se encuentra fundamentalmente en el sistema inmune (SI), en las distintas poblaciones celulares con una distribución más abundante en linfocitos B, seguido por las células asesinas naturales (NK), los monocitos, los neutrófilos y las células T, con mayor presencia en los linfocitos CD8<sup>+</sup> que en los CD4<sup>+</sup>. De interés es que la distribución del receptor CB2 en las células inmunitarias sigue el mismo patrón en humanos que en ratón. El receptor CB2 también está presente en el bazo y en los ganglios linfáticos. La función del receptor CB2 en el sistema inmune depende del tipo celular: en los macrófagos, las células mieloides, las células dendríticas, (respuesta inmune innata) regula la presentación antigénica, la migración celular, la fagocitosis y la producción de mediadores inflamatorios; en células NK, la actividad citolítica; en mastocitos, la producción de histamina crítica en las alergias, regulando la producción de

anticuerpos frente al alérgeno; en linfocitos T regula el número de células, así como la polarización de las mismas a Th1, Th2 o Th17, (inmunidad adquirida) y en linfocitos B, la producción de inmunoglobulinas (IgA, IgG, IgM), y los cambios de isotipo. Estudios recientes han mostrado expresión de CB2 en algunas poblaciones neuronales específicas. Así mismo, el receptor CB1 no está completamente ausente del SI ya que se expresa también, aunque en mucha menor cantidad que el receptor CB2 y ha sido implicado en algunos de los efectos de los CBs en la función inmune.

Además de la AEA y el 2-AG, los principales eCBs, existen otros grupos de lípidos endógenos con propiedades cannabinomiméticas, como la virodramina, que se comporta como agonista CB1, la noladina como antagonista CB1 o agonista parcial de CB2, la N-Acil-Dopamina (NADA) así como las N-Acil-etanolaminas, palmitoiletanolamina (PEA) y oleiletanolamina (OEA), con mecanismos de acción diversos. Los eCBs junto con sus receptores y sistemas específicos de síntesis y degradación es el denominado Sistema Cannabinoide Endógeno (SCE). Los eCBs se sintetizan a demanda, a partir de precursores de fosfolípidos de la membrana celular mediante sistemas enzimáticos hoy día bien definidos, En el caso de la AEA tras la acción secuencial de la enzima N-aciltransferasa y NAPE fosfolipasa D. En el caso del 2-AG, la enzima diacilglicerol lipasa (alfa y beta) es responsable de su síntesis. Los efectos mediados por los eCBs finalizan a través de su recaptura y rápido catabolismo, principalmente a través de su hidrólisis mediante la amidohidrolasa de los ácidos grasos (FAAH), en el caso de la AEA y por la monoacilglicerol lipasa (MAGL) en el caso del 2-AG, además de las serina-hidrolasas ABH6 y ABH 12 en menor proporción. Alternativamente a las rutas de hidrólisis mencionadas, AEA y 2-AG pueden ser oxidados por la ciclooxigenasa-2 (COX-2), distintas lipooxigenasas o citocromos P450. Los productos oxidativos también presentan actividades biológicas mediadas por vías distintas a los receptores CB1 y CB2. En particular, las acciones de 2-AG, son mediadas por receptores CB1 y CB2 además del receptor GPR55, receptor huérfano de proteínas G, al que se le ha considerado el tercer receptor CB. El eCB, AEA activa receptores CBs clásicos como el receptor CB1, siendo agonista parcial del receptor CB2 además de activar el receptor vaniloide (TRPV1) y el receptor nuclear activado por proliferadores de peroxisomas (PPARs). El SCE aparece altamente conservado en la mayoría de los animales y una de sus funciones mejor establecidas es la de constituir un mecanismo de neuromodulación retrógrada en el SNC.

Así, cuando se sobreactivan diversos receptores de neurotransmisores en la membrana celular de la neurona postsináptica, esta sintetiza eCBs y los libera a la hendidura sináptica, por ejemplo, tras la unión de glutamato a sus receptores ionotrópicos o metabotrópicos se eleva el calcio intracelular y se libera AEA o 2-AG que actúan como mensajeros retrógrados activando receptores CB1 de la membrana

presináptica lo que dificulta la entrada de calcio y se facilita la salida de potasio, hecho que impide la despolarización e inhibe la liberación del neurotransmisor correspondiente. Ello incide con gran importancia en la fisiología del SNC. La localización presináptica del receptor CB1 fue mostrada por primera vez en terminales axonales de interneuronas del hipocampo; hoy día se conocen muchos ejemplos que afectan a neuronas gabaérgicas, colinérgicas, noradrenérgicas o serotoninérgicas. También se ha descrito la presencia del receptor CB1 en neuronas postsinápticas inhibiendo receptores del tipo NMDA. Además, los eCBs interactúan con otros receptores de neurotransmisores y con canales iónicos. En algunos casos se ha descrito la formación de receptores heterómeros, siendo esta un área de intensa investigación en el momento actual.

La marihuana y sus preparados se han empleado en medicina desde hace al menos 50 siglos. Los descubrimientos sobre el SEC que se ha resumido brevemente han contribuido al renacimiento del estudio de las posibles aplicaciones terapéuticas de los CBs lo que constituye hoy en día un campo de amplio debate científico, clínico y social.

La neuroinflamación, cuya relevancia está de sobra demostrada en situaciones de daño agudo en el SNC, lesión medular, daño craneo-encefálico, lesión del nervio óptico, procesos isquémicos, infecciones etc., pero también en enfermedades neurodegenerativas crónicas, como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Huntington, la esclerosis lateral amiotrófica y el prototipo de enfermedad inflamatoria neuroinmune, la esclerosis múltiple (EM).

La EM es la enfermedad crónica inflamatoria desmielinizante y neurodegenerativa más frecuente en jóvenes adultos y la mayor causa de discapacidad no traumática. Las principales características son la desmielinización, la pérdida de la vaina de mielina que permite la conducción saltatoria y por tanto la rapidez en la transmisión de impulsos, y el daño axonal. La sintomatología depende del área del SNC afectada: puede aparecer debilidad muscular y espasticidad, alteraciones sensoriales, pérdida de visión, temblores, deficiencias motoras y en los casos más avanzados y de evolución más severa puede cursar con parálisis. El curso neurológico es variable y muestra gran heterogeneidad clínica e histopatológica. Una gran parte de la enfermedad es silente, sin sintomatología detectable. Debuta preferentemente entre los 20 y 40 años de edad, aunque las edades de inicio van variando a lo largo del tiempo; así hoy día se dan casos de EM pediátrica y también puede aparecer en personas mayores (50-60 años). Más del 50% de los pacientes sufren depresión, y dada su gran heterogeneidad el número de pacientes en los ensayos clínicos debe ser alto para obtener resultados concluyentes.

A pesar del intenso avance en el conocimiento de su patogénesis, la etiología de la EM sigue siendo desconocida. Los estudios epidemiológicos nos indican la existencia de factores genéticos y ambientales con interacciones genético-ambientales y mecanismos epigenéticos involucrados en el riesgo a padecer la enfermedad. No es una enfermedad hereditaria, es una enfermedad multigénica, la frecuencia en gemelos monocigóticos es del 25%. Hay un incremento de la susceptibilidad cuando se poseen ciertos alelos de riesgo, relacionados con el complejo principal de histocompatibilidad. Entre los factores ambientales se destacan procesos infecciosos con virus (virus de Epstein Barr) en una ventana de edad concreta, deficiencias en vitamina D, exposición solar, consumo de tabaco, ingesta de sal, etc. En un 80-85% de los pacientes, la EM debuta siguiendo un curso remitente recurrente (EMRR), con aparición de brotes con recuperación completa o parcial sin progresión entre los brotes. Entre 10 y 20 años de debut de la enfermedad se desarrolla la variante “secundaria progresiva” (EMSP). En un 10-15% de los pacientes, el curso clínico presenta un incremento progresivo y crónico sin periodos de remisión, lo que se denomina variante primaria progresiva (EMPP). El enorme avance en la tecnología de análisis de imagen por resonancia magnética (MRI) está incidiendo en el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad, así como en la evaluación de la respuesta de los pacientes al tratamiento.

Uno de los posibles desencadenantes de la EM podría ser un proceso inflamatorio que comenzaría con la activación de linfocitos en periferia en el que células presentadoras de antígenos (APCs) presentarían antígenos neurales extraños o propios a la célula presentadora de antígeno. Estos linfocitos T activados migrarían al SNC a través de la barrera hematoencefálica (BHE), predominantemente en zonas periventriculares en un proceso mediado por moléculas de adhesión celular, proteasas y quimiocinas. Ya en el SNC, las células T serían reactivadas por APCs del SNC, generalmente microglía liberando citoquinas proinflamatorias y generando un ambiente inflamatorio. Como consecuencia se activarían linfocitos B, macrófagos y más linfocitos T. Los linfocitos B se diferenciarán a células plasmáticas productoras de anticuerpos específicos de proteínas mielina, activando macrófagos e iniciando la cascada del complemento. Todo ello conduciría a la desmielinización y al daño axonal. Hay que señalar que existe una línea de pensamiento actual que postula un proceso neurodegenerativo primario que conduciría a la desmielinización.

En situaciones de inflamación como es el caso de la EM existe una desregulación de las uniones adherentes y uniones estrechas de las células endoteliales cerebrales aumentando la permeabilidad de la BHE. La inflamación en el SNC tiene similitudes, pero también diferencias, con los procesos inflamatorios que ocurren en el resto del organismo, no solo por la existencia de la BHE sino también por las características limitantes del SNC. El microambiente del cerebro es hostil a la entrada de células

periféricas. Es importante subrayar que todas las células del SNC: neuronas, oligodendrocitos, precursores de oligodendrocitos (OPCs), astrocitos, microglía e incluso las células madre de la zona subventricular y del giro dentado en el hipocampo son capaces de responder a los CBs, pues expresan receptores para los mismos.

Desde los estudios preclínicos utilizamos modelos experimentales de EM, siendo los más conocidos la Encefalomiелitis Autoinmune Experimental (EAE), que reproduciría el origen autoinmune de la EM, en sus diferentes variantes activa y pasiva y el modelo viral de desmielinización por la infección con el virus de Theiler (TMEV-IDD) que apoyaría el postulado origen infeccioso de la enfermedad.

En el modelo de Theiler observamos que el tratamiento con CBs sintéticos como el compuesto Win55212-2, capaz de activar los receptores CB1 y CB2, durante la fase terapéutica es decir iniciada la sintomatología, producía una mejora significativa en las deficiencias motoras de los animales, tanto un día como 25 días finalizado el tratamiento, posiblemente debido a la remielinización de los axones como comprobamos por microscopia electrónica.

Haciendo un recorrido bibliográfico sobre el papel de los CBs en neuroinflamación. Lo primero que hay que establecer es si el SCE se activa en EM y sus modelos animales y si la microglía es diana de las acciones de los CBs. El receptor CB2 se sobreexpresa en microglía en EM, enfermedad de Alzheimer (AD), enfermedad de Huntington, síndrome de Down, encefalitis por VIH y en otras patologías neurodegenerativas con componentes inflamatorios. Tras la lesión tisular aumenta la producción local de eCBs que a su vez favorecen la proliferación y migración de microglía. Se ha descrito una asociación entre los efectos neuroprotectores de los eCBs y sus acciones en la microglía, mediante la disminución de citoquinas proinflamatorias y radicales libres de oxígeno y nitrógeno, induciendo señales antiinflamatorias y más recientemente, promoviendo el fenotipo reparador M2. Ello apoyaría la hipótesis de que a través de la inmunomodulación se puede alcanzar la neuroprotección y en ello tienen mucho que decir estos mediadores lipídicos.

La microglía es la protagonista de un buen número de los trabajos realizados en nuestro laboratorio en el Instituto Cajal, por ello no puedo dejar de elogiar, reconocer y recordar a Don Pio del Río-Hortega, descubridor de la microglía y la oligodendroglía, “la glia de escasas radiaciones”. Del Río-Hortega trabajó junto a Nicolas Achúcarro, y menos intensamente con Don Santiago Ramón y Cajal. Después de nuestro Premio Nobel, Del Río-Hortega es una de las figuras más destacadas de la llamada Escuela Histológica Española.

La microglía es el macrófago del cerebro, aunque con marcadas diferencias; por ello, la microglía es clave en las respuestas de inmunidad innata; así, es la primera línea

de defensa contra cualquier tipo de agresión en el SNC, mediante la liberación de mediadores, citoquinas y quimiocinas que permiten el reclutamiento de macrófagos y linfocitos, facilitando el desarrollo de mecanismos propios de la inmunidad adquirida.

En el control de la inmunidad innata está especialmente implicada la IL-12 que pertenece a una familia de citoquinas heterodiméricas (IL-12, IL-23; IL-27) que comparten subunidades en su estructura molecular y en sus receptores de señalización. Este tipo de citoquinas son sintetizadas por células de la estirpe mieloide y por la microglía en el SNC, y tienen un papel único en la polarización de los linfocitos T vírgenes hacia linfocitos Th1 debido a la producción de IFN gamma participando a su vez en la expansión clonal de los mismos. La IL-23 actuando en linfocitos T de memoria está involucrada en el mantenimiento del fenotipo Th17 y la IL-27, exhibe propiedades duales proinflamatorias y antiinflamatorias. Esta familia de citoquinas sirve de puente en el paso de la inmunidad innata a la adquirida y por tanto representa una excelente diana terapéutica en EM.

Siendo la microglía la principal productora de las citoquinas del eje IL-12/IL-23 en el SNC, resultó muy interesante observar que AEA disminuía de manera dosis dependiente la producción de IL-12 e IL-23 a través de la activación del receptor CB2 en este tipo celular. La concentración de IL-12 resultaba aumentada tras la infección con el virus de Theiler y el eCB reducía su producción a través de la activación del receptor CB2. La implicación de dicho receptor se confirmó mediante el uso de agonistas sintéticos del mismo. De manera que podemos afirmar que diferentes vías de señalización tras la activación del receptor CB2 están implicadas en los efectos inhibidores de AEA sobre el eje IL-12/IL-23. Puesto que la inhibición de la enzima FAAH también disminuyó los niveles de IL-12 e IL-23 en microglía se sugiere que la modulación del tono CB endógeno constituye una potencial diana terapéutica. Hipótesis ratificada por las observaciones de otros grupos de investigación. Los anteriores hallazgos revisten un significado especial en cuanto que el propio eCB cuya síntesis es aumentada tras la inflamación puede actuar de manera autocrina sobre la propia microglía regulando el balance inflamatorio.

Algunos estudios vienen sugiriendo que los CBs ejercen un efecto inhibitorio sobre la trasmigración leucocitaria al SNC que consta de pasos bien establecidos en los que resulta limitante la producción de VCAM-1, una molécula de adhesión celular no constitutiva que tiene que inducirse para la captura del linfocito tras la interacción con la integrina  $\alpha 4$ . De especial interés en EM, ha sido la demostración de que AEA disminuye de manera dosis dependiente la producción de VCAM-1 por células endoteliales cerebrales que expresan ambos tipos de receptores CB1 y CB2. En esta acción de la AEA está implicado el receptor CB1 ya que la inhibición que ejerce el eCB resulta parcialmente revertida por el bloqueo farmacológico del receptor.

Además, en un modelo experimental de BHE, con células endoteliales cerebrales y astrocitos, el tratamiento con AEA redujo el número de linfocitos que atravesaron dicha barrera lo que reafirma un nuevo rol de los eCBs en la preservación de la entrada de células inmunológicas en el SNC. Finalmente, señalar la importancia de las aproximaciones terapéuticas en EM dirigidas a la reparación endógena y promoción de la remielinización. Entre ellas se encuentra el trasplante de OPCs o de células madre neurales o bien la aplicación de estrategias neuroprotectoras específicas para la protección de los axones. Puesto que los tratamientos inmunomoduladores pueden proteger a las neuronas como se ha ido señalando a lo largo de este capítulo, se podría afirmar que el SEC constituye un sistema de comunicación neuroinmune esencial en la regulación de los procesos patológicos que implican neuroinflamación.

## BIBLIOGRAFÍA

---

Arévalo-Martín, A., Vela, J.M., Molina-Holgado, E., Borrell, J., & Guaza, C. (2003). Therapeutic action of cannabinoids in a murine model of multiple sclerosis. *Journal of Neuroscience* 23:2511-16.

Arévalo-Martín, A., García-Ovejero, D., Gómez, O., Rubio-Araiz, A., Navarro-Galvé, B., Guaza, C., Molina-Holgado, E., & Molina-Holgado F. (2008). CB<sub>2</sub> cannabinoid receptors as an emerging target for demyelinating diseases: from neuroimmune interactions to cell replacement strategies. *British Journal of Pharmacology* 153:216-25.

Baker, D., Pryce, G., Croxford, J.L., Brown, P., Pertwee, R.G., Huffman, J.W., & Layward, L. (2000). Cannabinoids control spasticity and tremor in a multiple sclerosis model. *Nature* 404:84-7.

Baker, D., Pryce, G., Croxford, J.L., Brown, P., Pertwee, R.G., Makriyannis, A., Khanolkar, A., Layward, L., Fezza, F., Bisogno, T., & Di Marzo, V. (2001). Endocannabinoids control spasticity in a multiple sclerosis model. *FASEB Journal*. 15:300-2.

Benito, C., Romero, J.P., Tolón, R.M., Clemente, D., Docagne, F., Hillard, C.J., Guaza, C., & Romero, J. (2007). Cannabinoid CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub> receptors and fatty acid amide hydrolase are specific markers of plaque cell subtypes in human multiple sclerosis. *Journal of Neuroscience* 27: 2396-402.

Bjartmar C, Trapp BD. 2003 Axonal degeneration and progressive neurologic disability in multiple sclerosis. *Neurotox Res.* 5:157-64.

Cabranes, A., Venderova, K., de Lago, E., Fezza, F., Sánchez, A., Mestre, L., Valenti M., García-Merino A., Ramos, J.A., Di Marzo, V., & Fernández Ruiz, J. (2005) Decreased endocannabinoid levels in the brain and beneficial effects of agents activating cannabinoid and/or vanilloid receptors in a rat model of multiple sclerosis. *Neurobiology of Disease* 20:207-17.

Carrier, E.J., Kearns, C.S., Barkmeier, A.J., Breese, N.M., Yang, W., NithipatiKom, K., Pfister, S.L., Campbell, W.B., & Hillard, C.J. (2004). Cultures rat microglial cells synthesize the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol, which increases proliferation via a CB2 receptor dependent mechanism. *Molecular Pharmacology* 65, 999-1007.

Centonze, D., Bari, M., Rossi, S., Prosperetti, C., Furlan, R., Fezza, F., De Chiara, V., Battistini, L., Bernardi, G., Bernardini, S., Martino, G., & Maccarrone M. (2007). The endocannabinoid system is dysregulated in multiple sclerosis and in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain* 130, 2543-2553.

Chiurchiú, V., Leuti, A & Macarrone M (2015) Cannabinoid Signaling and Neuroinflammatory Diseases: A Melting pot for the Regulation of Brain Immune Responses. *Journal Neuroimmune Pharmacology*, 10, 268-280.

Compston, A., & Coles, A., (2008). Multiple sclerosis. *Lancet* 372,1502--1517.

Correa, F., Mestre, L., Docagne, F., & Guaza, C. (2005). Activation of cannabinoid CB2 receptor negatively regulates IL-12p40 production in murine macrophages: role of IL-10 and ERK1/2 kinase signaling. *British Journal of Pharmacology* 145, 441-8.

Correa, F., Docagne, F., Clemente, D., Mestre, L., Becker, C., & Guaza, C. (2008). Anandamide inhibits IL-12p40 production by acting on the promoter repressor element GA-12: possible involvement of the COX-2 metabolite prostamideE (2). *Biochemical Journal* 409, 761-770.

Croxford, J.L., & Miller, S.D. (2003). Immunoregulation of a viral model of multiple sclerosis using the synthetic cannabinoid R+WIN55,212. *Journal of Clinical Investigation* 111, 1231-1240.

de Lago, E., Ligresti, A., Ortar, G., Morera, E., Cabranes, A., Pryce, G., Bifulco, M., Baker, D., Fernandez-Ruiz, J. & Di Marzo, V. (2004). In vivo pharmacological actions of two novel inhibitors of anandamide cellular uptake. *European Journal of Pharmacology* 484, 249-57.

Devane, W.A., Dysarz, F.A., Johnson, M.R., Melvin, L.S., &Howlett, A.C. (1988) Determination and characterization of a cannabinoid receptor in a rat brain. *Molecular Pharmacology* 34, 605-13.

Devane, W.A., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R.G., Stevenson, L.A., Griffin, G., Mandelbaum, A., Etinger, A., & Mechoulam, R. (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 258, 1946-49.

DiMarzo, V., De Petrocellis, L., Fezza, F., Ligresti, A., & Bisogno, T. (2002) Anandamide receptors. *Prostaglandins, Leukotrienes, Essentials Fatty Acids*, 66, 397-391.

Docagne, F., Muñetón, V., Clemente, D., Ali, C., Loría, F., Correa, F., & Guaza, C. (2007). Excitotoxicity in a chronic model of multiple sclerosis: Neuroprotective effects of cannabinoids through CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub> receptor activation. *Molecular Cell Neuroscience* 34, 551-561.

Eljaschewitsch, E., Witting, A., Mawrin, C., Lee, T., Schmidt, P.M., Wolf, S., Hoertnagl, H., Raine, C.S., Schneider-Stock, R., Nitsch, R., Ullrich, O. (2006). The endocannabinoid anandamide protects neurons during CNS inflammation by induction of MKP-1 in microglial cells. *Neuron* 49, 67-79.

Ferguson, B., Matyszak, M.K., Esiri, M.M., & Perry, V.H. (1997). Axonal damage in acute multiple sclerosis lesions. *Brain* 120, 393-399.

Freund, T.F., Katona, I., Piomelli, D. (2003). Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiology Reviews*, 83, 1017-1066.

Gaoni, Y., & Mechoulam, R. (1964). Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *Journal American Chemistry Society* 86, 1646-47.

Ghosh, S., Preet, A., Groopman, J.E., Ganju, R.,K. (2006). Cannabinoid receptor CB<sub>2</sub> modulates the CXCL12/CXCR4-mediated chemotaxis of T lymphocytes. *Molecular Immunology* 43, 2169-2179.

Iversen, L. (2005). Long-term effects of exposure to cannabis. *Current Opinion Pharmacology* 5, 69-72.

Klein, T.,W. (2005). Cannabinoid-based drugs as anti-inflammatory therapeutics. *Nature Reviews Immunology* 5, 400-11.

Lassmann, H. (2014). Mechanisms of white matter damage in multiple sclerosis. *Glia*, 62, 1816-1830

Lee, M., Yang, K.H., & Kaminski, N.E. (1995). Effects of putative cannabinoid receptor ligands, anandamide and 2-arachydonoyl-glycerol, on immune function in B6C3F1 splenocytes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapy* 275, 529-536.

Ligresti, A., Cascio, M.G., Pryce, G., Kulasegram, S., Beletskaya, I., De Petrocellis, L., Saha, B., Baker, D., Martin, B.R., Razdan, R., K., & Di Marzo, V. (2006). New potent and selective inhibitors of anandamide reuptake with antispastic activity in a mouse model of multiple sclerosis. *British Journal of Pharmacology* 147, 83-91.

Loría, F., Petrosino, S., Mestre, L., Spagnolo, A., Correa, F., Hernangómez, M., & Guaza, C. (2008). Study of the regulation of the endocannabinoid system in a virus model of multiple sclerosis reveals a therapeutic effect of palmitoylethanolamide. *European Journal of Neuroscience* 28, 633-641.

Lyman, W.D., Sonett, J. R., Brosnan, C.F., Elkin, R., & Bornstein, M., B. (1989) Delta 9-tetrahydrocannabinol: a novel treatment for experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmunology* 23, 73-81.

Maresz, K., Pryce, G., Ponomarev, E.D., Marsicano, G., Croxford, J.L., Shriver, L.P., Ledent, C., Cheng, X., Carrier, E.J., Mann, M.K., Giovannino, G., Pertwee, R.G., Yamamura, T., Buckley, N.E., Hillard, C.J., Lutz, B., Baker, D., & Dittel, B.N. (2007) Direct suppression of CNS autoimmune inflammation via the cannabinoid receptor CB1 on neurons and CB2 on autoreactive T cells. *Nature Medicine* 13, 492-497.

Matsuda, L.A., Lolait, S.J., Brownstein, M.J., Young, A.C., & Bonner, T.I. (1990). Structure of a cannabinoid receptor and Functional expression of the cloned cDNA: *Nature*, 346, 561-564

Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, Gopher, A., Almog, S., Martin, B.R., Compton, D.R. et al. (1995). Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochemistry. Pharmacology* 50:83-90.

Mecha, M., Carrillo-Salinas, F.J., Feliú, A., Mestre, L., & Guaza, C. (2016). Microglia activation states and cannabinoid system: Therapeutic implications. *Pharmacology Therapeutics* 166:40-55

Mestre, L., Correa, F., Arévalo-Martín, A., Molina-Holgado, E., Valenti, M., Ortar, G., & Guaza, C. (2005). Pharmacological modulation of the endocannabinoid system in a viral model of multiple sclerosis. *Journal of Neurochemistry* 92, 1327-39.

Molina-Holgado E, Vela JM, Arévalo-Martín A, Almazán G, Molina-Holgado F, Borrell J., & Guaza, C. (2002). Cannabinoids promote oligodendrocyte progenitor survival:

involvement of cannabinoid receptors and phosphatidylinositol-3 kinase/Aktsignaling. *Journal of Neuroscience* 22, 9742-9753.

Molina-Holgado, F., Pinteaux, E., Moore, J., Molina-Holgado, E., Guaza, C., Gibson, R.M., & Rothwell, N. (2003) Endogenous interleukin-1 receptor antagonist mediates anti-inflammatory and neuroprotective actions of cannabinoids in neurons and glial cells. *Journal of Neuroscience* 23, 6470-6474.

Munro, S., Thomas, K.L., Abu-Shaar, M., (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*, 365, 61-65

Nilsson, O., Fowler, C.J., Jacobson, S., O. (2006). The cannabinoid agonist WIN 55,212-2 inhibits TNF-alpha-induced neutrophil transmigration across ECV304 cells. *European Journal of Pharmacology* 547, 165-173.

Ortega-Gutiérrez, S., Molina-Holgado, E., Arévalo-Martin, A, Correa, F., Viso, A., Lopez-Rodríguez, M.L., & Guaza, C. (2005). Activation of the endocannabinoid system as therapeutic approach in a murine model of multiple sclerosis. *FASEB Journal* 19, 1338-1340.

Palazuelos, J., Davoust, N., Julien, B., Hatterer, E., Aguado, T., Mechoulam, R., Benito, C., Romero, J., Silva, A., Guzmán, M., Nataf, S., & Galvé-Roperh, I. (2008). The CB2 cannabinoid receptor controls myeloid progenitor trafficking: Involvement in the pathogenesis of an animal model of multiple sclerosis. *Journal Biological Chemistry*. 283, 13320-13329.

Pertwee, R., G. (2002). Cannabinoids and multiple sclerosis. *Pharmacology Therapy*. 95, 165-174

Ramos, J.A., Hernández, M.L., & Cebeira, M. (2002). Los cannabinoides como medicamentos a lo largo de la historia. En: *Actualización de los conocimientos acerca del uso terapéutico de los cannabinoides*. Ed. Agencia antidroga de la Comunidad de Madrid. p. 29-42.

Ramos J.A., Fernández-Ruiz, J, Guzmán M. (2009). Libro: *Actualización sobre el potencial terapéutico de los Cannabinoides* editado por la Sociedad Española de Investigación Cannabinoide (SEIC).

Sugiura, T., Kishimoto, S., Oka, S., Gokoh, M. (2006). Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. *Progress Lipid Research* 45, 405-46.

Sugiura, T., Kondo, S., Sukagawa, A., Nakane, S., Shinoda A., Itoh, K. (1995). Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochemistry Biophysical Research Communications* 215, 89-97.

Trapp, B.D., & Nave, K., A. (2008). Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder? *Annual Reviews of Neuroscience* 31, 247-269.

Trinchieri, G., Pflanz, S., & Kastelein, R., A. (2003). The IL-12 family of heterodimeric cytokines: new players in the regulation of T cell responses. *Immunity* 19, 641-644.

Ueda, N., Kurahashi, Y., Yamamoto, S., & Tokunaga, T. (1995). Partial purification and characterization of the porcine brain enzyme hydrolyzing and synthesizing anandamide. *Journal of Biological Chemistry* 270, 23823-23827.

Ullrich, O., Merker, K., Timm, J., & Tauber, S. (2007). Immune control by endocannabinoids-new mechanisms of neuroprotection? *J Neuroimmunology* 184, 127-135

Van Sickle, M.D., Duncan, M., Kingsley, P.J., Mouihate, A., Urbani P., Mackie, K., Stella, N., Makriyannis, A., Piomelli, D., Davison, J.S., Marnett, L.J., Di Marzo, V., Pittman, Q.J., Patel, K.D., Sharkey, K.A. (2005). Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science* 310, 329-332.

Walter, L., Franklin, A., Witting, A., Wade, C., Xie, Y., Kunos, G (2003). Non psychotropic cannabinoid receptors regulate microglial cell migration. *Journal of Neuroscience* 23, 1398-1405.

Zajicek, J., Fox, P., Sanders, H., Wright, D., Vickery, J., Nunn, A., UK Research Group. (2003). Cannabinoids for treatment of spasticity and other symptoms related to multiple sclerosis (CAMS study): multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 362:1517-26.