



## FACULTAD DE FARMACIA

GRADO EN FARMACIA

# EL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE EN ENFERMEDADES DIGESTIVAS

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Febrero 2022

**Autor: Cristina Torres Pérez**

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutor/es: Esther Caparrós / Oriol Juanola

## INDICE

<b>RESUMEN</b>	3
<b>INTRODUCCIÓN</b>	4
<b>SISTEMA ENDOCANNABINOIDE</b>	5
<b>RECEPTORES DE MEMBRANA</b>	6
<b>LIGANDOS ENDÓGENOS</b>	6
<b>LIGANDOS DE ORIGEN VEGETAL</b>	8
<b>SISTEMA ENDOCANNABINOIDE EN EL SISTEMA GASTROINTESTINAL</b>	10
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	11
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	12
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	14
<b>1. Sistema endocannabinoide como diana terapéutica en enfermedad inflamatoria intestinal</b>	14
<b>2. Papel del sistema endocannabinoide en el desarrollo de enfermedades hepáticas</b>	20
<b>I. Esteatosis hepática no alcohólica.</b>	21
<b>II. Enfermedad hepática alcohólica.</b>	24
<b>III. Fibrosis</b>	26
<b>3. Contribución del SEC en la evolución de la pancreatitis</b>	30
<b>CONCLUSIONES</b>	32
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	34

## RESUMEN

El *Cannabis sativa L.* es una planta históricamente utilizada con fines terapéuticos que ha sido ilegalizada en muchos países por el riesgo de uso recreacional abusivo. Las sustancias activas del cannabis actúan sobre el sistema endocannabinoide (SEC), formado por una red de ligandos, receptores y enzimas que representa una potencial diana terapéutica en numerosas enfermedades. Los componentes del SEC se expresan en todo el tracto gastrointestinal y presentan la capacidad de modular las repuestas inmunitarias o inflamación, la motilidad gastrointestinal y el dolor, por lo que el estudio del SEC en enfermedades digestivas representa un campo de creciente interés. En esta revisión bibliográfica nos centraremos en el estudio del SEC en los procesos patológicos que subyacen a la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), a las enfermedades hepáticas y la pancreatitis. La modulación farmacológica del SEC en enfermedades digestivas presenta efectos muy prometedores en modelos experimentales de la enfermedad. Sin embargo, para poder dar el salto a su aplicación en clínica todavía se requieren más estudios en humanos que permitan determinar la dosis óptima, la frecuencia o la vía de administración.

## PALABRAS CLAVE

Endocannabinoid system; Inflammatory Bowel Diseases; Liver disease; Pancreatitis; Cannabinoids

## ABREVIATURAS

**ABHD:**  $\alpha\beta$  hidrolasa / **AEA:** Anandamida / **2-AG:** 2-araquidonilglicerol / **ALD:** Alanina transaminasa / **AST:** Aspartato transaminasa / **CB:** Receptores Cannabinoides / **CBD:** Cannabidiol / **COX-2:** Ciclooxygenasa-2 / **DAGL:** Lipasa diacilglicerol / **DSS:** Sulfato de dextrano sódico / **EC:** Enfermedad de Crohn / **EII:** Enfermedad inflamatoria intestinal / **EPOX/CYP:** Epoxigenasa/ Citocromo P450 / **FAAH:** Amida hidrolasa / **GPCR:** Receptor acoplado a proteína G / **HSC:** Células hepáticas estrelladas / **IFN:** Interferón / **IL:** Interleucina / **LDH:** Lactato deshidrogenasa / **LOX:** Lipoxigenasa / **MAGL:** Monoacilglicerol lipasa / **MAPK:**

Proteínas quinasas activada por mitógenos / **MCP**: Proteína quimiotáctica de monocitos / **MMP**: Metaloproteinasas / **NAA**: N-aciletanolaminacido amidasa / **NAFLD**: Hígado graso no alcohólico / **NAPE-PLD**: Acilfosfatiletanolamina fosfolipasa D / **PEA**: Palmitoiletanolamida / **PLIN2**: Perilipina 2 / **PPAR**: Receptores activados por proliferadores de peroxisomas / **PSC**: Células estrelladas pancreáticas / **ROS**: Especies reactivas de oxígeno / **SEC**: Sistema endocannabinoide / **SIRT1**: Sirtuina hepática 1 / **SNC**: Sistema Nervioso Central / **Th**: Células T helper / **Δ9-THC**: Delta-9-tetrahidrocannabinol / **TG**: Triglicéridos / **TNF**: Factor de necrosis tumoral / **TNBS**: Ácido sulfónico 2,4,6-trinitrobenceno / **UC**: Colitis ulcerosa.

## INTRODUCCIÓN

El *Cannabis sativa* L. es una planta originaria de Asia Central que ha sido utilizada históricamente con fines terapéuticos, hasta su retirada en la mayoría de los países en la década de los 30 por el riesgo de uso recreacional abusivo. Sin embargo, su uso medicinal estaba ya reconocido en textos chinos anteriores a cristo resaltando su utilidad para el alivio de dolores y calambres, así como en la antigua India donde se había registrado hace más de 300 años su utilidad en el alivio de la ansiedad. Su uso como sustancia psicoactiva se popularizó en el siglo XIX en Europa, pasando a ser la droga ilícita más consumida en las sociedades occidentales por su capacidad para alterar la percepción sensorial y causar júbilo y euforia<sup>(1,2)</sup>.

En la actualidad, el consumo del cannabis ha aumentado debido a su aceptación cultural y a su legalización en diversos países. Pese a todo esto, su uso terapéutico y en investigación es limitado por muchas razones, como la ilegalidad de su cultivo, la variabilidad y la baja concentración fisiológica de sus componentes activos<sup>(3)</sup>. Sin embargo, se está estudiando el papel del sistema endocannabinoide en distintas enfermedades debido a su potencial como diana terapéutica. De hecho, se han descrito numerosas propiedades beneficiosas en diversas patologías derivadas del uso de agonistas y antagonistas de los receptores cannabinoideos, tanto naturales como sintéticos.

## SISTEMA ENDOCANNABINOIDE

El sistema endocannabinoide (SEC) es un sistema endógeno presente en casi todas las especies del reino animal, excepto protozoos e insectos, descubierto en 1988 por Devane y colaboradores, cuando describieron por primera vez el receptor cannabinoide 1 (CB1) en cerebros de ratas y humanos<sup>(2)</sup>.

Este sistema se constituye de tres partes fundamentales que incluye (1) receptores acoplados a proteína G, (2) ligandos endógenos y exógenos y (3) enzimas que degradan y reciclan los ligandos. De esta forma, el SEC se constituye como una red de receptores afectados tanto por ligandos exógenos como endógenos que, a su vez, estarán regulados por enzimas de síntesis y de degradación<sup>(4)</sup>. Los principales componentes del SEC están representados en la Figura 1<sup>(4)</sup>.

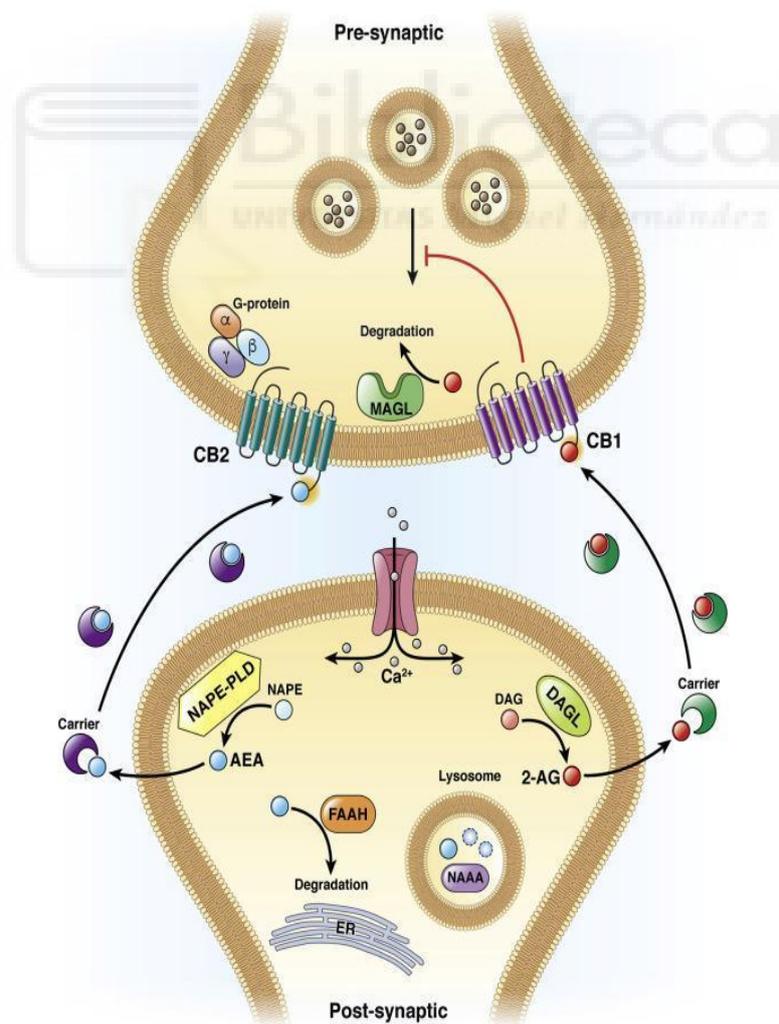


Figura 1: Red de receptores, ligandos y enzimas del SEC<sup>(4)</sup>

## RECEPTORES DE MEMBRANA

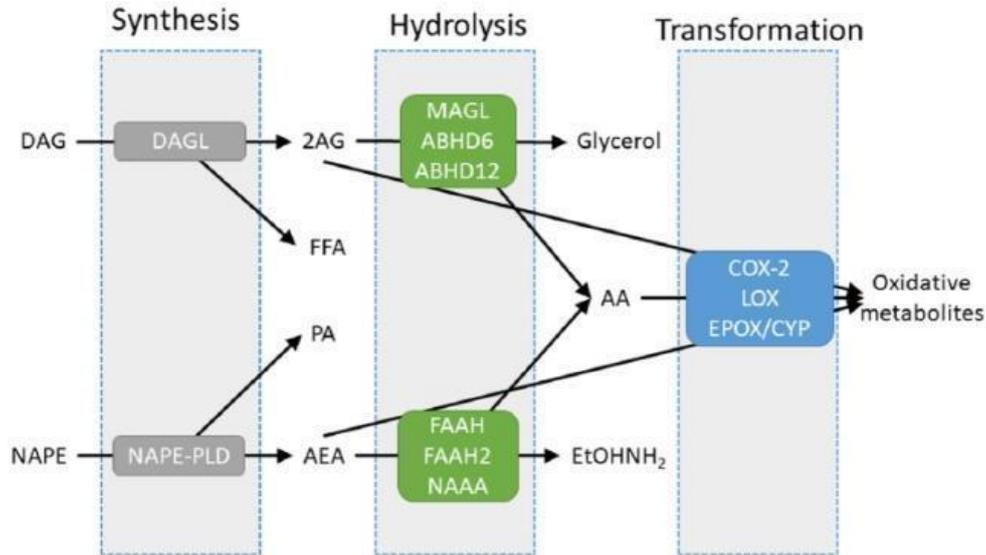
Los principales receptores del sistema endocannabinoide son receptores acoplados a proteínas G, siendo el receptor cannabinoide 1 (CB1) y el receptor cannabinoide 2 (CB2) los más importantes. Pese a que ambos receptores presentan una amplia distribución por todo el cuerpo, el CB1 presenta un patrón de expresión asociado al sistema nervioso central (SNC) y es responsable, en mayor medida, del efecto psicoactivo del cannabis. De esta forma, la expresión de CB1 es mayor en cerebelo, corteza cerebral e hipocampo, aunque también se puede encontrar en el tronco encefálico a niveles mucho más bajos. En cambio, el CB2 presenta una mayor expresión a nivel periférico, principalmente en el bazo y en células del linaje mieloide, lo que refleja su posible acción inmunomoduladora. Ambos receptores se encuentran en la unión presináptica y siguen un modelo de señalización retrógrado, en sentido contrario a los neurotransmisores<sup>(5,6)</sup>.

## LIGANDOS ENDÓGENOS

Tanto el CB1 como el CB2 son activados por mediadores lipídicos como ésteres y amidas de ácidos grasos. Los ligandos endógenos principales de estos receptores son la anandamida, también conocida como N-araquidonoiletanolamina (AEA), y el 2-araquidonilglicerol (2-AG)<sup>(6)</sup>. Ambos ligandos pueden también ejercer acción como agonistas de otros receptores como el receptor de potencial transitorio vanilloide 1 (TRPV1), implicado en la modulación y transmisión del dolor, y sobre otros receptores acoplados a proteínas G como el GPCR55 y el GPCR119). Por otro lado, la AEA agoniza varios subtipos de la familia de los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR) como es el caso del PPAR $\alpha$ <sup>(4,7)</sup>.

A diferencia de otros neurotransmisores, los ligandos endocannabinoides son producidos bajo demanda con componentes endógenos de la membrana celular y su tiempo de acción es relativamente lento<sup>(5)</sup>. Los niveles fisiológicos de endocannabinoides están regulados por diversas reacciones enzimáticas de

síntesis, hidrólisis y transformación, tal y como se puede observar en la Figura 2<sup>(6)</sup>.



**Figura 2:** Las tres fases principales del recambio de endocannabinoides incluyen la síntesis, la hidrólisis y la transformación<sup>(6)</sup>.

Las dos principales enzimas sintéticas son la lipasa diacilglicerol (DAGL) y la N-acilfosfatidiletanolamina fosfolipasa D (NAPE-PLD), que sintetizan el 2-AG y la AEA, respectivamente. Los niveles de los endocannabinoides están regulados, a su vez, por enzimas de hidrólisis. Mientras que la amida hidrolasa (FAAH), la FAAH2 y la N-aciletanolaminaacido amidasa (NAA) degradan la AEA; el 2-AG es degradado por la monoacilglicerol lipasa (MAGL), la  $\alpha\beta$  hidrolasa 6 (ABHD6) y la  $\alpha\beta$  hidrolasa 12 (ABHD12). Estas enzimas pueden servir de base para el desarrollo de nuevos fármacos, pues con su inhibición podemos aumentar el tono endocannabinoide<sup>(6)</sup>. Además, los ligandos endocannabinoides 2-AG y AEA pueden transformarse en metabolitos bioactivos a través de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), la lipoxigenasa (LOX) o la epoxigenasa/citocromo P450 (EPOX/CYP). Sin embargo, los mecanismos de acción a nivel molecular de estos compuestos derivados todavía se desconocen y suponen un campo de creciente estudio<sup>(5)</sup>.

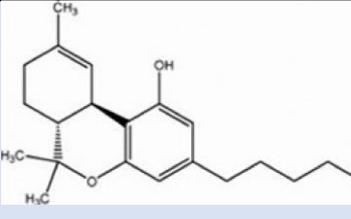
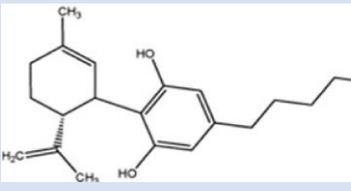
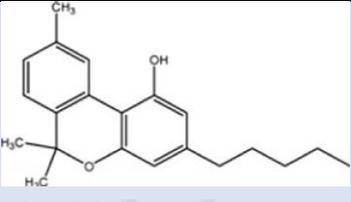
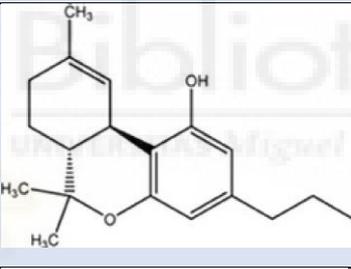
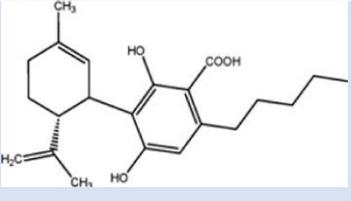
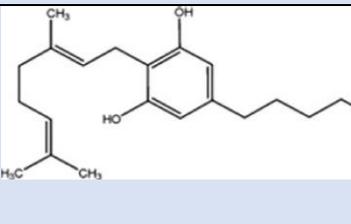
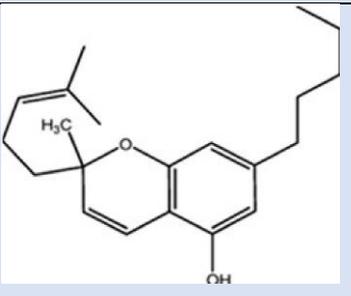
## LIGANDOS DE ORIGEN VEGETAL

En la planta *Cannabis sativa* encontramos muchos compuestos químicos como terpenos y compuestos fenólicos con diferentes propiedades biológicas. Por lo tanto, es importante aclarar que el término cannabinoide hace referencia tanto a estos terpenofenoles como a otros compuestos sintéticos derivados de la planta *Cannabis sativa* capaces de actuar directa o indirectamente sobre los receptores cannabinoides<sup>(3,8)</sup>.

Dentro de las sustancias activas del cannabis sativa, los fitocannabinoides son los más estudiados. El Delta-9-tetrahidrocannabinol ( $\Delta$ 9-THC) conocido por sus efectos psicoactivos es el componente principal y fue el primero en ser descubierto. A su vez, el segundo componente principal es el cannabidiol (CBD), el cual no presenta actividad psicoactiva y no afecta a las funciones motoras, memoria y temperatura. Otros fitocannabinoides principales aislados de la planta son el cannabinal, tetrahidrocannabivarina, cannabidivarina, ácido cannabidiólico, el cannabigerol y cannabicromeno como se puede observar en la Tabla 1<sup>(8)</sup>.

En cuanto a los dos componentes principales, cabe destacar que el  $\Delta$ 9-THC presenta una mayor afinidad por los receptores CB1 y CB2 que el CBD. Sin embargo, el CBD contribuye a mejorar el perfil de seguridad del  $\Delta$ 9-THC, reduciendo sus efectos psicoactivos colaterales<sup>(8)</sup>.

**Tabla 1:** Estructura molecular y mecanismo de acción de los fitocannabinoides<sup>(8)</sup>

<p><b><math>\Delta_9</math>- tetrahidrocannabinol (<math>\Delta_9</math>-THC)</b></p>		<p>Psicoactivos. Agonista parcial CB1 y CB2.</p>
<p><b>Cannabidiol (CBD)</b></p>		<p>No psicoactivo Antagonista no específico de CB1 e CB2. Inhibidor de la captación y metabolismo de AEA.</p>
<p><b>Cannabinol (CBN)</b></p>		<p>Agonista débil de CB1, agonista parcial de CB2.</p>
<p><b><math>\Delta_9</math>- tetrahidrocannabivarin a (<math>\Delta_9</math>-THCV)</b></p>		<p>En dosis bajas: antagoniza el <math>\Delta_9</math>-THC. En dosis altas: agonista CB1.</p>
<p><b>Ácido cannabidiólico</b></p>		<p>Inhibidor selectivo de COX2 y TRPA1. Agonista de TRPV1.</p>
<p><b>Cannabigerol</b></p>		<p>Agonista de TRPA1 y TRPV1. Agonista CB; inhibidor de la recaptación de AEA.</p>
<p><b>Cannabicromeno</b></p>		<p>Agonista de TRPA1 Inhibidor de la recaptación de AEA.</p>

## SISTEMA ENDOCANNABINOIDE EN EL SISTEMA GASTROINTESTINAL

En el ámbito gastrointestinal, el SEC representa una diana terapéutica de creciente interés debido a sus propiedades antiinflamatorias, antinociceptivas y antisecretoras. De hecho, los receptores cannabinoides y sus ligandos se encuentran por todo el sistema gastrointestinal con diferentes patrones de expresión. Mientras que el receptor CB1 se expresa en el sistema nervioso entérico, el receptor CB2 se expresa mayoritariamente en las células inmunitarias y el sistema nervioso periférico del aparato digestivo. En la Figura 3 se muestra un breve resumen de las funciones que modula este sistema en el aparato digestivo<sup>(4)</sup>.

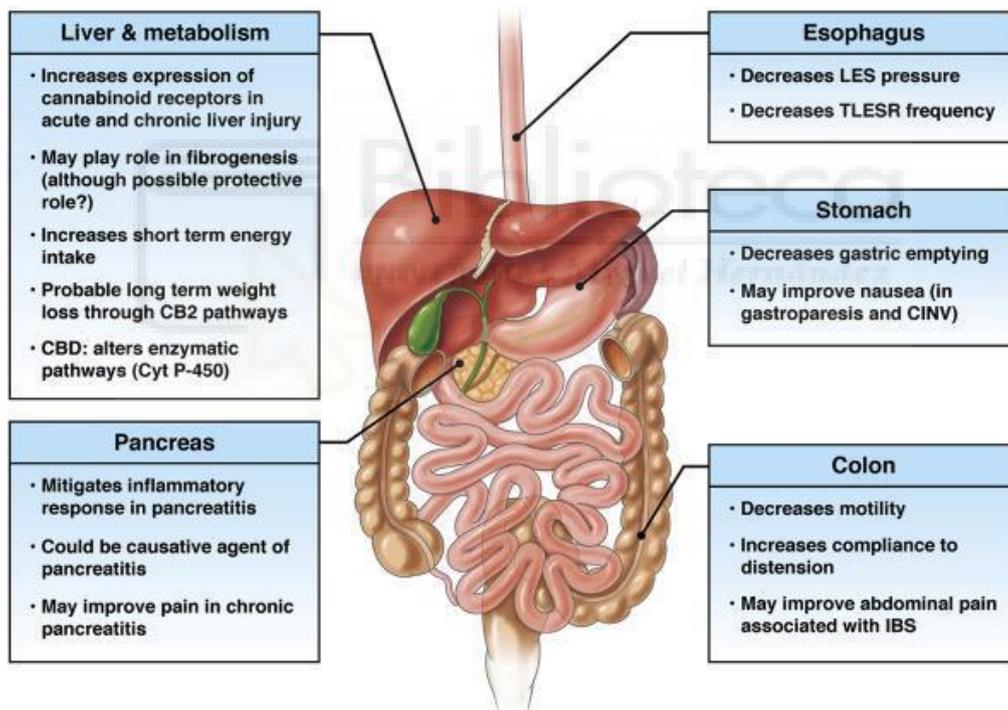


Figura 3: Funciones del sistema endocannabinoide en el aparato digestivo<sup>(4)</sup>

En los siguientes apartados veremos como el SEC ejerce un papel relevante en la regulación de la homeostasis intestinal gracias a su capacidad para modular las respuestas inmunitarias, la motilidad gastrointestinal, el dolor y la inflamación<sup>(4)</sup>. Además, diferentes estudios muestran la capacidad de los cannabinoides para aliviar náuseas y emesis derivadas de la quimioterapia<sup>(4)</sup>. De hecho, la

activación del SEC afecta a diferentes procesos metabólicos con efectos sobre el balance energético, pues interfiere en la lipólisis, el metabolismo de la glucosa o el aumento de la ingesta de alimentos <sup>(4)</sup>. Debido al efecto antiinflamatorio que se atribuye al cannabis, en esta revisión bibliográfica nos centraremos en el estudio de la implicación del SEC en diferentes enfermedades digestivas con base inflamatoria como la enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad hepática por alcohol o grasa y la pancreatitis.

## **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

En los últimos años, ha aumentado el uso del cannabis con fines terapéuticos, así como su legalización para uso recreacional en diferentes países incluyendo Canadá. Pese a que en la actualidad está aprobado el uso de cannabinoides para el tratamiento del dolor crónico, poco se sabe acerca de su implicación en enfermedades digestivas. Sin embargo, diferentes evidencias parecen sugerir que el SEC puede afectar el curso de estas enfermedades ya que: (1) los principales componentes del sistema endocannabinoide están expresados a lo largo de todo el sistema gastrointestinal; y (2) las enfermedades digestivas se caracterizan por tener una base inflamatoria de carácter agudo o crónico y el cannabis puede ejercer efectos antiinflamatorios. Por ello, la hipótesis de este trabajo es que el SEC modula el transcurso de las patologías del sistema digestivo.

Para ello, hemos recopilado la evidencia actual para abordar los siguientes objetivos:

1. Valorar el sistema endocannabinoide como diana terapéutica en enfermedad inflamatoria intestinal.
2. Comprobar el papel que ejerce el sistema endocannabinoide en enfermedades hepáticas de diferente origen.
3. Analizar la contribución del SEC en la pancreatitis.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos expuestos en este trabajo fueron obtenidos de artículos buscados en la base de datos bibliográfica MEDLINE por vía del buscador PubMed. Estos artículos se buscaron mediante el uso de una serie de palabras claves y términos MESH de acuerdo con los objetivos planteados. Con el fin de acotar la búsqueda se aplicaron filtros y se seleccionaron los artículos según la relevancia del contenido para el trabajo.

- Objetivo 1

ECUACIONES DE BÚSQUEDA	FILTROS	ARTÍCULOS SELECCIONADOS
<ul style="list-style-type: none"><li>✓ ("Inflammatory Bowel Diseases"[Mesh]) AND "Cannabinoids"[Mesh]</li><li>✓ "Inflammatory Bowel Diseases" [Text Word] AND "Cannabinoids"[Text Word]</li></ul>	<p><b>Fecha de publicación:</b> A partir de 2013</p> <p><b>Idioma:</b> Inglés</p>	6

- Objetivo 2

ECUACIONES DE BÚSQUEDA	FILTROS	ARTÍCULOS SELECCIONADOS
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ ("Liver Disease"[Mesh]) AND "Cannabinoid Receptor Modulators"[Mesh]</li> <li>✓ ("Liver Pathology"[Mesh]) AND "Cannabinoid Receptor Modulators"[Mesh]</li> <li>✓ ("Liver Pathology"[Mesh]) AND "Cannabinoids"[Mesh]</li> <li>✓ "Endocannabinoid System" [Text Word] AND "Liver disease"[Text Word]</li> </ul>	<p><b>Fecha de publicación:</b> A partir de 2013.</p> <p><b>Idioma:</b> Inglés</p>	<p>18 (2 de ellos derivados de la bibliografía de otras revisiones)</p>

- Objetivo 3

ECUACIONES DE BUSQUEDA	FILTROS	ARTICULOS SELECCIONADOS
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ "Pancreatitis" [Mesh] AND "Cannabinoids"[Mesh]</li> <li>✓ "Pancreatitis" [Text Word] AND "Cannabis"[Text Word]</li> <li>✓ "Pancreatitis" [Mesh] AND "Cannabis"[Mesh]</li> </ul>	<p><b>Fecha de publicación:</b> A partir de 2007</p> <p><b>Idioma:</b> Inglés</p>	<p>7 (1 de ellos derivado de la bibliografía de otras revisiones)</p>

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como hemos mencionado anteriormente, la implicación del sistema endocannabinoide en las patologías que afectan al sistema digestivo está justificada por la presencia de receptores a lo largo de todo el tracto gastrointestinal. El receptor CB2 además de expresarse en células inmunes como linfocitos T y B, macrófagos y neutrófilos, también está presente en el sistema nervioso entérico, al igual que el receptor CB1. Los ligandos endógenos de estos receptores, 2-AG y AEA, están presentes en el tracto digestivo y su interacción ejerce efectos locales como la regulación de la motilidad y funciones inmunitarias a nivel intestinal<sup>(4,9,10)</sup>.

### 1. Sistema endocannabinoide como diana terapéutica en enfermedad inflamatoria intestinal

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) hace referencia a enfermedades de carácter multifactorial que afectan al sistema digestivo cuya etiología, aunque aún desconocida, está condicionada por factores genéticos, ambientales, daños en la mucosa intestinal o una respuesta inmune descontrolada, que en pacientes susceptibles conduce a una inflamación crónica en el tubo digestivo. Por ese motivo, en EII se produce una mayor secreción de citocinas proinflamatorias como las interleucinas (IL)-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, IL-12 y IL-17, el factor de necrosis tumoral (TNF) o el interferón (IFN), que conlleva a un desequilibrio en los niveles de los mediadores pro y antiinflamatorios<sup>(9-11)</sup>.

La EII comprende a la enfermedad de Crohn (EC) y a la colitis ulcerosa (UC). Mientras que la EC es un proceso inflamatorio que afecta a todo el grosor de la pared intestinal en cualquier parte del tracto gastrointestinal, la UC afecta únicamente a la mucosa del tracto final del tubo digestivo, en el colon y recto<sup>(10)</sup>.

La utilidad del SEC como diana terapéutica en EII se pudo observar en un estudio utilizando modelos preclínicos de ratón a los que se les indujo colitis experimental mediante la administración de sulfato de dextrano sódico (DSS) y ácido sulfónico

2,4,6-trinitrobenzeno (TNBS). En este estudio se utilizaron dos ligandos cannabinoides: el agonista AM841 y un agonista restringido periféricamente CB13, que compararon con un grupo control con vehículo. Estos agonistas fueron administrados por vía intraperitoneal e intracerebroventricular para evaluar la contribución de la acción central/periférica. El fin de este estudio era medir el posible efecto beneficioso del AM841 en colitis experimental. Para ello, utilizaron ratones de genotipo silvestre y ratones que carecen de receptores CB como CB1<sup>-/-</sup>, CB2<sup>-/-</sup>, CB1/2<sup>-/-</sup>, y midieron diferentes variables como la migración, viabilidad celular y actividad fagocítica de células inmunes<sup>(10)</sup>.

Los autores de este estudio pudieron observar que el AM841 redujo la inflamación de forma dosis dependiente gracias a una reducción en la infiltración y migración de neutrófilos, así como una reducción en la actividad fagocítica de macrófagos. El uso de este agonista también se asoció con una mejora en la arquitectura de la mucosa y una reducción en la ulceración como se pudo comprobar al evaluar el daño macroscópico. Estos efectos se pudieron comprobar en ambos modelos de colitis inducida, tanto por DSS como por TNBS. El efecto antiinflamatorio de AM841 parece estar mediado a través de los receptores CB, pues en su ausencia usando ratones *knockout* no se observó una mejora en la colitis experimental. La administración vía intraperitoneal de CB13, restringido periféricamente, no produjo cambios en la puntuación del daño macroscópico, en la actividad del MPO o en las úlceras, pero redujo significativamente la puntuación para evaluar la inflamación tras ser administrado por vía central <sup>(10)</sup>. Por ello, tanto AM841 como CB13 mostraron efectos terapéuticos en colitis experimental. Este efecto antiinflamatorio fue mediado a través de los receptores CB1 y CB2 localizados a nivel central y posiblemente, en menor medida, a nivel periférico.

Como hemos mencionado anteriormente, el tono endocannabinoide está mediado por diferentes enzimas implicadas en su metabolismo. La FAAH es la principal enzima implicada en la degradación de AEA y su inhibición podría tener un efecto similar al uso de agonistas de los receptores CB. En el siguiente estudio realizado por Salaga M y colaboradores, los autores utilizan esta enzima como posible diana terapéutica mediante el uso de inhibidores selectivos<sup>(11)</sup>.

El uso de un inhibidor específico de la FAAH, PF-3845, en dos modelos de ratón de inflamación intestinal inducida por TNBS y DSS, ocasionó una reducción de la puntuación del daño macroscópico y microscópico en ratones con colitis experimental. Además, mediante la adición de dos antagonistas específicos de los receptores CB1 y CB2, AM251 y AM630 respectivamente, se mostró que el efecto del PF-3845 fue mediado por los receptores CB1. También se pudo observar que los niveles de 2-AG se redujeron significativamente tras la administración de PF-3845 en ratones sanos, mientras que no se observaron diferencias durante la colitis experimental. Por otro lado, la administración de PF-3845 produjo una disminución significativa de los niveles de la prostaglandina (PG)-E2 en ratones con colitis inducida por TNBS en comparación con los ratones control. PGE2 contribuye a la secreción de IL-8, agente quimiotáctico de células inmunes, por lo que su reducción tras el tratamiento con PF-3845 también contribuye a justificar su efecto antiinflamatorio. Todos estos resultados sugieren que la enzima FAAH está involucrada en la EII y que el uso de inhibidores selectivos tiene potencial efecto beneficioso en el tratamiento de la colitis<sup>(11)</sup>. Pese a que estos efectos se observaron en la colitis inducida por TNBS, el uso de PF-3845 en la enfermedad inducida por DSS no mostró potencial antiinflamatorio. Esto indica que ambos modelos de EII son diferentes y los fenómenos inflamatorios son generados por distintas vías como, por ejemplo, cambios en la secreción de citoquinas proinflamatorias<sup>(11)</sup>.

Las células epiteliales son la primera barrera de defensa del tracto digestivo y, tras su alteración, se produce una respuesta inflamatoria producida por la liberación de sustancias inmunomoduladoras como la IL-8 y metaloproteinasas (MMP), entre otros mediadores proinflamatorios. Esto genera un daño agudo caracterizado por un aumento en la apoptosis de células epiteliales y una división celular relativamente baja o nula<sup>(9)</sup>. Este daño epitelial produce una reducción en la integridad del epitelio y altera su capacidad como barrera de defensa frente a posibles patógenos presentes en el microbiota intestinal. De esta forma, la reducción en la integridad del epitelio intestinal favorece la translocación de bacterias o de sus productos perpetuando la respuesta inflamatoria. Este proceso adquiere importancia tanto en EII como en enfermedad hepática al ser

el origen de numerosas complicaciones en estos pacientes como infecciones bacterianas recurrentes y sepsis<sup>(12)</sup>.

De esta forma, en respuesta al daño tisular en el intestino comienzan procesos inflamatorios caracterizados por la migración, proliferación y diferenciación de células epiteliales y/o inmunes. Recientemente se ha descrito que otros procesos celulares, como la autofagia, podrían ayudar a reducir la gravedad de la inflamación y contribuir a la restauración del epitelio intestinal y la mucosa<sup>(9)</sup>.

Todavía no se sabe si los modelos animales son un buen modelo biológico para representar de manera adecuada la respuesta de un ser humano, pues tampoco se sabe si los efectos producidos por los cannabinoides derivan de su acción a nivel central (efectos psicoactivos), a nivel periférico (efectos antiinflamatorio y restauración de la mucosa) o ambos. Además, los receptores cannabinoides se expresan tanto en células epiteliales intestinales como en otras células inmunes. Por este motivo, Tartakover Matalon S y colaboradores iniciaron un estudio sobre muestras humanas en las que estén presentes células inmunes, epiteliales y estromales para estudiar el efecto terapéutico de cannabinoides en EII<sup>(9)</sup>.

El objetivo de este estudio era investigar los efectos que podría tener el uso de un agonista del CB2, el fármaco JWH-133, en la inflamación o apoptosis de células epiteliales y estromales, mediante la evaluación de marcadores inflamatorios y de recuperación de la mucosa. Para realizar este estudio se obtuvieron muestras de 16 pacientes con EII de la mucosa del colon de áreas inflamadas y no inflamadas. Estas muestras fueron cultivadas *in vitro* con y sin JWH-133<sup>(9)</sup>.

Los autores observaron una mayor proliferación de células epiteliales en las muestras inflamadas cultivadas con JWH-133, mientras que no registraron ningún efecto sobre la proliferación de células epiteliales en áreas no inflamadas. A su vez, el uso del agonista de CB2 no indujo cambios en la apoptosis celular y redujo los niveles de marcadores proinflamatorios, como IL-8 y MMP, en el estroma de las muestras inflamadas en comparación con las que no fueron tratadas con el agonista<sup>(9)</sup>.

Otro estudio diferente en humanos mostró el efecto antiinflamatorio de dos fármacos cannabinoides: el cannabidiol (CBD) y la palmitoiletanolamida (PEA).

Estos tratamientos fueron probados en muestras de colon humano y en células Caco-2, línea celular obtenida de adenocarcinoma colorrectal, donde se reprodujeron condiciones inflamatorias al añadir IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ . El efecto de estos compuestos se midió a nivel intracelular al evaluar la fosforilación de proteínas señalización, así como a nivel extracelular al evaluar los niveles de citoquinas proinflamatorias<sup>(12)</sup>.

En condiciones inflamatorias, PEA y CBD disminuyeron la fosforilación de varias proteínas de señalización intracelular en células Caco-2 y en la muestra de tejido colónico humano. Además, el tratamiento con PEA y CBD redujo la respuesta inflamatoria local al disminuir la secreción de citoquinas proinflamatorias únicamente en el tejido colónico. La razón por la que en el explante colónico sí hubo una disminución en la respuesta extracelular podría justificarse porque, a diferencia de las células Caco-2, en colon se encuentran diferentes células del sistema inmunitario como macrófagos y células dendríticas que expresan los receptores CB2, mayoritariamente expresados en células del linaje mieloide<sup>(12)</sup>.

En este estudio, la adición de seis antagonistas de los receptores CB1, CB2, PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$ , TRPV1 y GPR55, mostró que la acción dominante de la PEA era sobre PPAR $\alpha$  pues su antagonismo suprimió su acción. Sin embargo, el mecanismo de acción del CBD requiere de un estudio más exhaustivo pues los datos mostraron acción dominante sobre el CB2 y el TRPV1, pero esto difiere de la literatura preexistente, y podría estar justificado por el tipo de muestra o el protocolo de inflamación utilizado<sup>(12)</sup>.

Los cannabinoides PEA y CBD también fueron probados en tejido de pacientes con EII y apendicitis y ambos mostraron un efecto fuertemente antiinflamatorio en el proceso agudo de la apendicitis, lo que no ocurrió en EII. Esto sugiere que estas moléculas pueden ser más útiles en procesos inflamatorios agudos que en inflamación crónica, quizá por posibles diferencias en el perfil de expresión de los receptores cannabinoides. Sin embargo, este estudio se vio limitado por el uso de un tamaño muestral pequeño y el uso de concentraciones de CBD bajas<sup>(12)</sup>. Cabe destacar que tanto PEA como CBD reducen la permeabilidad del tracto gastrointestinal humano a diferentes niveles: *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*<sup>(13)</sup>.

En un ensayo clínico con 21 pacientes con EC activa que habían fracasado en al menos un tratamiento clínico para la enfermedad, se administró cannabis en la forma de cigarrillos con 115 mg de THC o placebo. El cannabis indujo la remisión clínica de 5 de los 11 pacientes tratados con cannabis frente a la remisión de 1 paciente de los 10 tratados con placebo, sin embargo, este dato no fue significativo por el tamaño muestral. Pese a que la variable principal del estudio no fue significativa, el consumo de cannabis durante 8 semanas dos veces al día mostró un beneficio clínico y un aumento del apetito y sueño sin efectos secundarios significativos en 10 de los 11 pacientes con EC activa. Por ello, se concluyó la necesidad de más estudios con un mayor tamaño muestral, durante más tiempo y con una diferente vía de administración, pues esto puede influir en la dosis recibida<sup>(14)</sup>.

En la Tabla 2 mostramos los principales efectos del SEC observados en sujetos con EII.

Fármaco	Efectos reportados	Estudio
<b>Agonista CB</b> (AM841, CB13)	↓Inflamación ↓Infiltración y migración neutrófilos ↓Actividad fagocítica macrófagos ↓Daño microscópico y macroscópico (ulceración)	Fichna J. <i>et al.</i> <sup>(10)</sup>
<b>Inhibición FAAH</b> (PF-3841)	↓Daño microscópico y macroscópico ↓Inflamación (↓PGE2 □↓IL-8)	Salaga M. <i>et al.</i> <sup>(11)</sup>
<b>Agonista CB2</b> (JWH-133)	↑Proliferación células epiteliales de áreas inflamadas ↓Marcadores proinflamatorios (IL-8 y MMP)	Tartakover Matalon <i>et al.</i> <sup>(9)</sup>
<b>Cannabinoides</b> : CBD y PEA	↓Inflamación □ ↓citoquinas proinflamatorias y fosforilación de proteínas de señalización ↓Inflamación apendicitis ↓Permeabilidad inflamatoria	Couch DG. <i>et al.</i> <sup>(12,13)</sup>
<b>Cannabis</b>	Remisión clínica 50% pacientes Beneficios clínicos sin efectos 2º importantes (no significativo)	Naftali T. <i>et al.</i> <sup>(14)</sup>

Tabla 2: Efectos producidos por la acción sobre el SEC en ratones y humanos con EII

## 2. Papel del sistema endocannabinoide en el desarrollo de enfermedades hepáticas

La posible implicación del sistema endocannabinoide en enfermedades hepáticas se estudia a través de la desregulación de los receptores CB1 y CB2. Se cree que el antagonismo de CB1 a nivel periférico, para evitar los efectos secundarios a nivel central, y el agonismo de CB2 podrían suponer dianas terapéuticas con potencial uso en enfermedad hepática, tal y como se puede observar en las Figuras 4 y 5<sup>(15)</sup>.

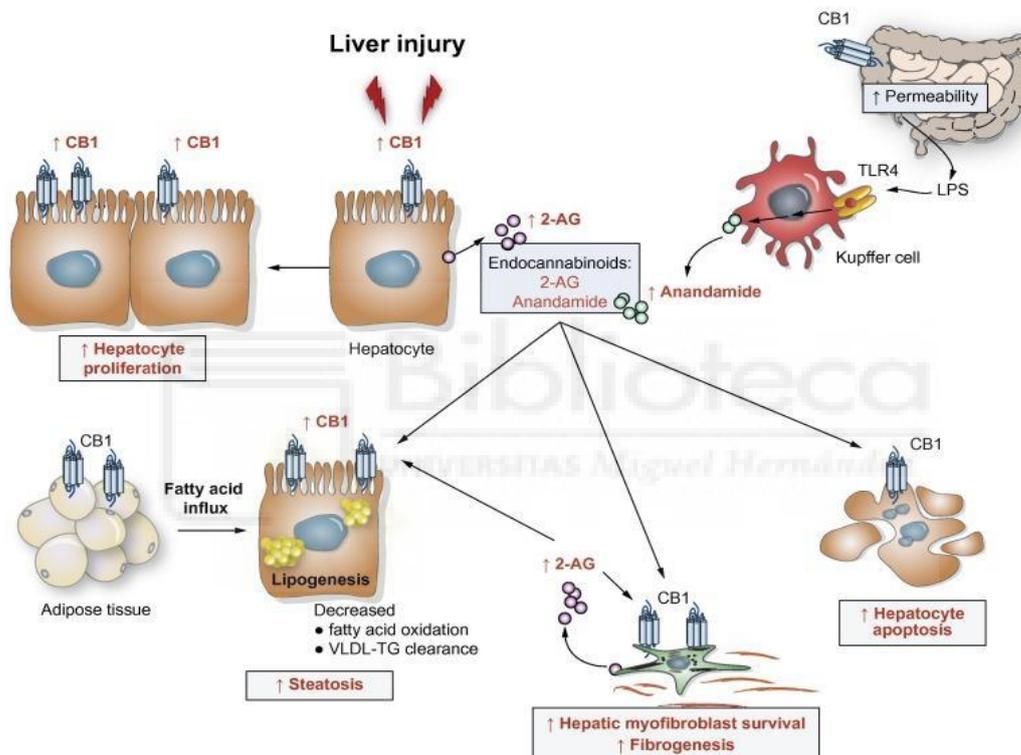


Figura 4: Efectos del receptor CB1 durante una lesión hepática<sup>(15)</sup>.

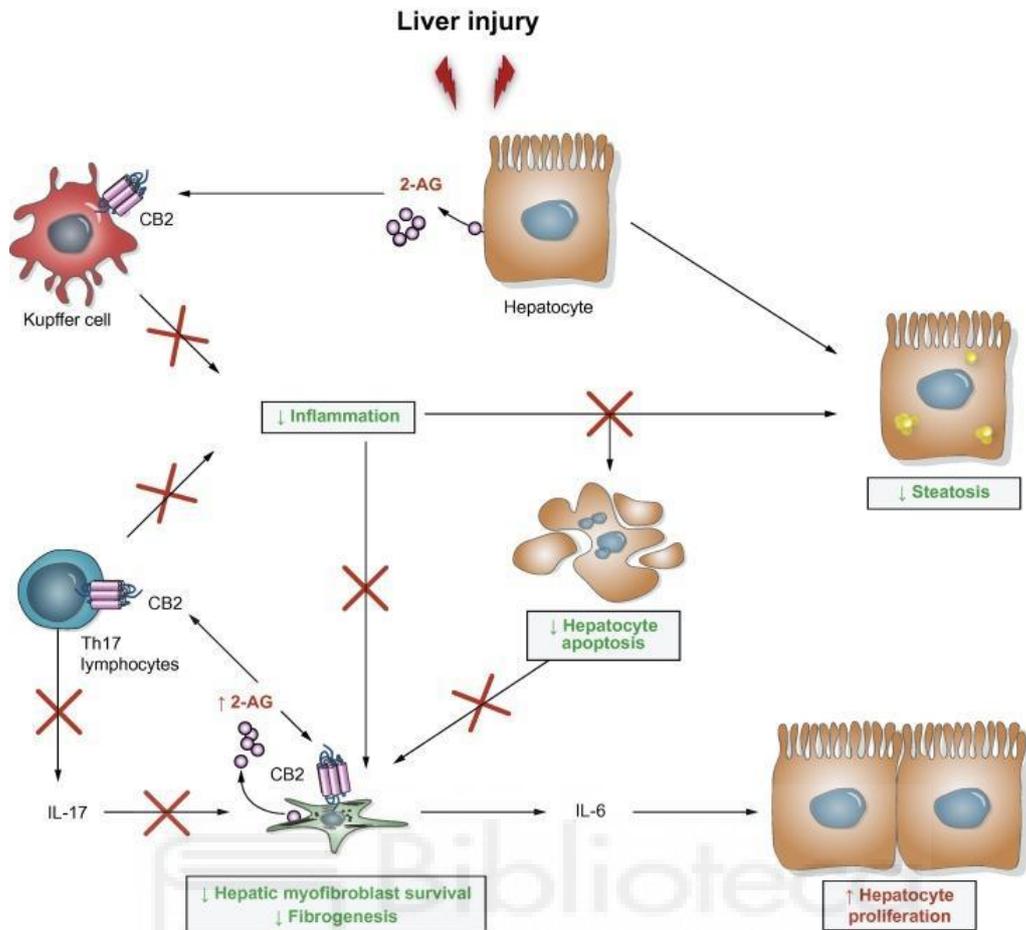


Figura 5: Efectos protectores de CB2 durante una lesión hepática<sup>(15)</sup>.

A continuación, veremos la implicación de estos receptores en enfermedades hepáticas de diferente origen como el hígado graso no alcohólico (NAFLD) y la enfermedad hepática alcohólica, así como en fibrosis hepática, un estadio más avanzado de la enfermedad.

### I. Esteatosis hepática no alcohólica.

La enfermedad por hígado graso no alcohólico (NAFLD) es producida por la acumulación de grasa en el hígado con etiología distinta al consumo de alcohol. Dentro del NAFLD, se encuentra el hígado graso no alcohólico (NAFL) y la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), que se caracteriza no sólo por la acumulación de grasa en el hígado, sino que la enfermedad también se manifiesta con inflamación y daño hepático, que con el tiempo puede derivar en

fibrosis. Algunos de los factores de riesgo de esta enfermedad son el síndrome metabólico, la obesidad y sobrepeso, la resistencia a la insulina o niveles elevados de grasa en sangre.

La implicación del sistema endocannabinoide en NAFLD se demostró en un estudio donde usaron la línea de células de hígado, HepG2, que trataron con palmitato y oleato de sodio para inducir acumulación de grasa en células hepáticas. Este estudio *in vitro* reveló que la expresión de receptores CB1 incrementó significativamente en células HepG2 con acumulación de grasa comparado a células HepG2 control. Además, el uso de un antagonista del receptor de CB1, Rimonabant, redujo los niveles de expresión de CB1<sup>(16)</sup>. Este aumento de expresión también se vio reflejado en un estudio *in vivo* del tejido hepático de ratones obesos<sup>(17)</sup>.

En otro estudio *in vivo*, el antagonismo de CB1 mediante Rinomabant dio lugar a una reducción en la gravedad de la esteatosis hepática en ratones con dieta alta en grasa. Los ratones obesos tratados con Rinomabant no mostraban infiltrado inflamatorio portal ni cambios necróticos focales en el parénquima hepático a diferencia de los tratados con vehículo. Además, el antagonismo del receptor CB1 se asoció con una disminución en la ingesta de alimentos y una reducción en los parámetros de estrés oxidativo/nitrosativo, característico de enfermedades de base inflamatoria como el NAFLD y que puede promover el avance de la enfermedad a esteatohepatitis y fibrosis<sup>(18)</sup>.

El tratamiento con antagonistas del CB1 mostró efectos beneficiosos en el perfil metabólico de ratones obesos mediante la reducción de la expresión de genes que controlan la lipogénesis y el depósito de lípidos en tejidos hepáticos, también la disminución de los niveles de colesterol, triglicéridos (TG) y ácidos grasos libres, así como una mejor proporción en el colesterol HDL/LDL<sup>(16,17,19,20)</sup>. Además, tanto la ausencia del receptor CB1 en ratones *knockout* (CB1<sup>-/-</sup>) con esteatosis hepática como el uso de antagonistas específicos en cultivos celulares redujo la expresión de la proteína perilipina 2 (PLIN2), proteína de unión a gotas lipídicas. El descenso en la expresión de PLIN2 aumenta la autofagia y la lipólisis de gotas lipídicas celulares contribuyendo a la degradación de TG y reducción de la esteatosis hepática<sup>(21)</sup>. Por otro lado, en otro modelo de esteatosis hepática inducida por dieta grasa se evidenció que los efectos protectores del

antagonismo del CB1 podrían estar mediados por la activación del receptor PPAR $\alpha$  y sirtuina hepática 1 (SIRT1), vías de activación de la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos y que regulan la absorción y el transporte de lípidos<sup>(22)</sup>.

El antagonismo de CB1 también redujo el peso corporal, mejoró la sensibilidad a la insulina y la tolerancia a la glucosa en ratones obesos con hígado graso. El tratamiento con el antagonista de CB1 aumentó la adiponectina en comparación a ratones obesos no tratados. Esta hormona promueve la oxidación y absorción de ácidos grasos libres, por lo que desempeña un papel clave en la regulación del metabolismo de lípidos, glucosa y la homeostasis energética<sup>(17,19,20,22)</sup>.

Los procesos inflamatorios mediados por células del sistema inmune juegan un papel importante en la progresión de NAFLD, pues aumentan su gravedad y empeoran el pronóstico de los pacientes. El uso de AM251, antagonista del receptor CB1, en ratones obesos mostró una disminución en la respuesta inflamatoria que conllevó a una reducción de la progresión de NAFLD <sup>(15)</sup>. Se pudo observar una reducción en la fosforilación de proteínas de la vía de señalización de las proteínas quinasas activada por mitógenos (MAPK), así como una disminución en los niveles hepáticos de TNF $\alpha$ , IL-6, proteína quimiotáctica de monocitos (MCP)-1, (IFN)- $\gamma$  y en la infiltración hepática de células del sistema inmune como macrófagos y células T<sup>(17)</sup>. Estos hallazgos se encuentran representados en la Figura 6<sup>(17)</sup>.

Por tanto, el uso de antagonistas del CB1 en enfermedad hepática por depósito de grasa no sólo reducen la esteatosis, sino que también reducen las respuestas inflamatorias. Estos resultados sugieren que el uso de estos fármacos podría prevenir la progresión de la enfermedad a fases más avanzadas. Sin embargo, hacen falta más estudios y ensayos clínicos que permitan evaluar la utilidad clínica de estos fármacos.

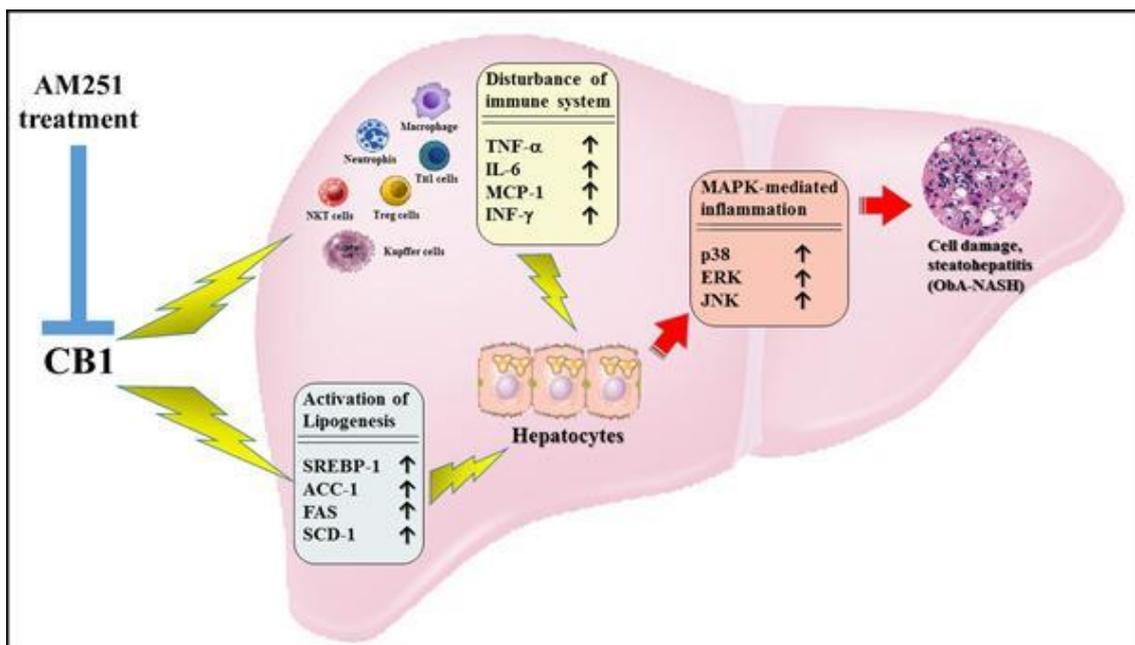


Figura 6: Hipótesis del tratamiento con AM251, antagonista del CB1, para disminuir la progresión de NAFLD<sup>(17)</sup>.

## II. Enfermedad hepática alcohólica.

La enfermedad hepática alcohólica es producida por el consumo excesivo de alcohol que se caracteriza por una desregulación metabólica, estrés oxidativo, inflamación y esteatosis hepática, que eventualmente puede derivar en una cirrosis o cáncer de hígado.

El antagonismo del CB1 en esta enfermedad también supone una posible diana de intervención y prevención. De hecho, el antagonismo del receptor CB1 en ratones con un consumo agudo de alcohol supuso una reducción de la esteatosis hepática y previno el aumento de aspartato transaminasa (AST), alanina transaminasa (ALD) y lactato deshidrogenasa (LDH), indicadores de lesión hepática. Además, el antagonismo de CB1 se asoció a una reducción en la esteatosis al disminuir la acumulación de lípidos y TG en el hígado de ratones con consumo de alcohol<sup>(19,23,24)</sup>.

Por otro lado, el tratamiento con CBD mostró un efecto similar al antagonismo del CB1 pues redujo la lesión hepática producida por alcohol al revertir el aumento de la AST, la elevación de TG y la acumulación de lípidos<sup>(25)</sup>. Es bien sabido que el consumo de alcohol provoca una desregulación en la biosíntesis y

oxidación de ácidos grasos, al aumentar la expresión hepática de genes involucrados en la biosíntesis de ácidos grasos y disminuir la expresión génica de factores relacionados con su oxidación. La administración de CBD revirtió estos efectos al disminuir la expresión de genes asociados a la biosíntesis de ácidos grasos: ácido graso sintasa, malonil-CoA descarboxilasa y acetil-Coenzima A carboxilasa alfa; al mismo tiempo que aumentó la expresión de genes que promueven la oxidación de ácidos grasos como el receptor de adiponectina 1, acil-CoA deshidrogenasa de cadena media, carnitina palmitoiltransferasa hepática 1 $\alpha$  y PPAR $\alpha$ <sup>(23)</sup>.

La autofagia es la degradación de componentes celulares innecesarios o disfuncionales a través de un mecanismo dependiente del lisosoma para la adaptación al estrés, la supervivencia y la homeostasis celular. En el hígado se produce la lipofagia, un mecanismo para la degradación de gotas lipídicas, por el cual se reduce la acumulación de grasa. El consumo de alcohol contribuye a la inhibición de la lipofagia lo que conlleva un aumento de TG celulares, así como al aumento del tamaño y número de gotas lipídicas. El tratamiento con CBD en ratones con daño hepático por alcohol promueve la lipofagia y disminuye, así, la acumulación de grasa en el hígado<sup>(25)</sup>. Además, el tratamiento con CBD logró aliviar la lesión hepatocelular inducida por el estrés oxidativo al reducir las especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógenos producidas por el alcohol en ratones<sup>(23)</sup> y en cultivo de células HepG2 incubadas con etanol<sup>(25)</sup>.

El tratamiento con CBD también tuvo efecto sobre la respuesta inmune, reduciendo la acumulación de neutrófilos hepáticos y la liberación de especies ROS. Además, el tratamiento con CBD en ratones con lesión hepática por alcohol atenuó la respuesta inflamatoria mediante la reducción de la expresión de mediadores proinflamatorios como quimiocinas, citoquinas y moléculas de adhesión<sup>(23)</sup>.

### III. Fibrosis

La fibrosis hepática es la acumulación de tejido conectivo en el hígado como consecuencia de un daño crónico originado por diferentes causas como pueden ser el consumo excesivo de alcohol, el hígado graso, factores genéticos, infecciones víricas como la hepatitis B/C o autoinmunidad, entre otros. La fibrosis puede derivar en cirrosis, hipertensión portal, insuficiencia hepática y otras complicaciones de la enfermedad pudiendo causar la muerte del individuo. Esta lesión continuada en el hígado provoca la activación y proliferación de células hepáticas estrelladas (HSC) que darán lugar a miofibroblastos productores de matriz extracelular en respuesta a quimiocinas, citoquinas y factores de crecimiento. Además, en el hígado hay un gran número de células inmunes, como macrófagos hepáticos residentes o células de Kupffer, cuya desregulación, aumento y proliferación promueve la liberación de citoquinas inflamatorias.

La activación del sistema endocannabinoide en el tejido fibrótico se pudo observar por el aumento de las enzimas biosintéticas de endocannabinoides (NAPE-PLD para AEA, DAGL- $\alpha$  y DAGL- $\beta$  para 2-AG) en hígado fibrótico humano. Por otro lado, además de este aumento de las enzimas biosintéticas, en ratones a los que se les indujo una lesión hepática, se observó una reducción de las enzimas de degradación (FAAH para AEA, MAGL para 2-AG) y un aumento la expresión de los receptores CB1 y CB2. Este aumento de la activación del sistema endocannabinoide también se vio reflejado por un aumento de los niveles de AEA y 2-AG en plasma de pacientes con hepatitis C crónica que puede derivar de ese aumento de enzima de síntesis y reducción de enzimas degradación en el hígado o en células inmunes debido al aumento de estrés por lesión o inflamación<sup>(26-28)</sup>. La AEA producida endógenamente inducida por la inhibición selectiva de FAAH redujo la liberación de IL-2, reduciendo la respuesta inflamatoria<sup>(28)</sup>.

La implicación del SEC en fibrosis hepática se ha descrito en los últimos años y la evidencia actual sugiere que el receptor CB1 es un activador de la vía fibrogénica, mientras que el receptor CB2 presenta propiedades antifibrogénicas<sup>(26,29)</sup>.

La lesión hepática se vio agravada en ratones que carecen del receptor CB2 y, además, los niveles de ALT y AST fueron más altos. En cambio, con el agonismo de CB2 los parámetros de lesión hepática, AST y ALT se vieron reducidos. De hecho, el agonismo de CB2 protegió de la lesión hepática mediada por macrófagos, pues se inhibió la liberación de citoquinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-6 e IFN- $\gamma$ ) a través de la regulación de la vía de señalización de la MAPK<sup>(30)</sup>.

En la progresión de la fibrosis causada por hepatitis B y hepatitis C en humanos se observó un incremento en la expresión del receptor CB1 en HSC activadas y miofibroblastos. Por lo que el bloqueo de los receptores CB1 podría significar una diana farmacológica para tratar fibrosis y su efecto podría ser mediado por su acción directa sobre las HSC activadas<sup>(26,28)</sup>. De hecho, en un estudio realizado en ratas infectadas por *Schistosoma mansoni*, origen de la esquistosomiasis, también se observó un incremento en la expresión del receptor CB1 y la administración de Rimonabant, antagonista del CB1, mostró una reducción en la extensión de la fibrosis hepática<sup>(31)</sup>.

Por otro lado, el antagonismo del CB1 en ratones con lesión hepática inducida produjo una reducción en la deposición de colágeno y disminución de procolágeno tipo III  $\alpha$ 1, Col  $\alpha$ 1(III), y la actina del músculo liso<sup>(27)</sup>.

En el proceso de lesión hepática no sólo intervienen las células de Kupffer, sino que también se reclutan macrófagos de la médula ósea. Este reclutamiento se aumentó con el agonismo del receptor CB1, mientras que el antagonismo del CB1 redujo la infiltración hepática de estos macrófagos inflamatorios. Además, el antagonismo de CB1 redujo los niveles de ALT y AST, el área inflamada y la producción de citoquinas proinflamatorias liberadas por macrófagos<sup>(27)</sup>.

Como hemos visto, la respuesta inmune también juega un papel importante en la fibrosis hepática, ya que los miofibroblastos pueden proliferar como consecuencia de las respuestas inflamatorias inducidas por monocitos, macrófagos, neutrófilos y linfocitos. En un estudio en ratones realizado por Guillot A y colaboradores se observó que el receptor CB2 se expresa abundantemente en células inmunes y su activación en células T helper (Th) 17 inhibió la producción de IL-17, con propiedades proinflamatorias y profibrogénicas, sin afectar la producción de IL-22, con propiedades hepatoprotectora y

antifibrótica<sup>(32)</sup>. En la Figura 7 se puede observar la contribución de la vía del CB2 en la fibrogenesis hepática.

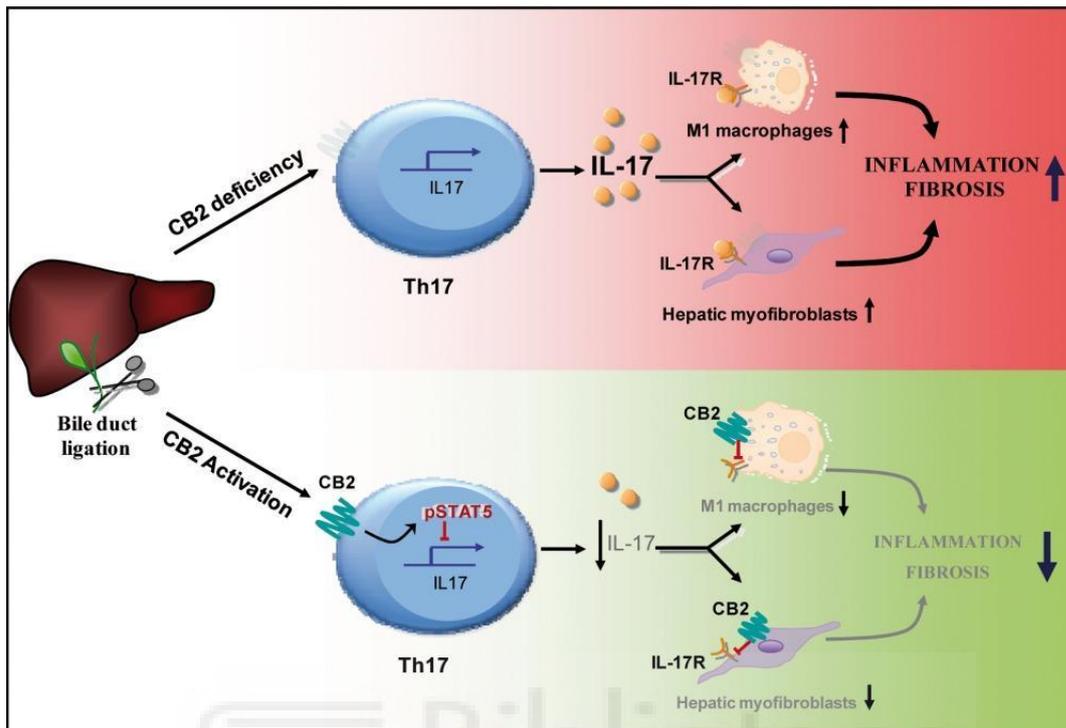


Figura 7: Los efectos antifibróticos del receptor CB2<sup>(32)</sup>.

Como resumen, en la Tabla 3 se muestran los efectos producidos por el antagonismo del CB1, el agonismo del CB2 y el uso de CBD en enfermedad hepática alcohólica, NAFLD y fibrosis.

	<b>ANTAGONISMO CB1</b>	<b>AGONISMO CB2</b>	<b>CBD</b>
<b>NAFLD</b>	<p>↓ Respuesta inflamatoria e inmune</p> <p>↓ Cambios necróticos parénquima hepático.</p> <p>↓ Ingesta de alimentos y peso</p> <p>↓ Estrés oxidativo/nitrosativo</p> <p>↓ Lipogénesis</p> <p>↓ Depósito de lípidos</p> <p>↓ Colesterol, TG y ácidos grasos libres</p> <p>Mejor proporción HDL/LDL</p> <p>↓ PLIN2</p> <p>↑ Adiponectina</p> <p>Mejora la sensibilidad a la insulina y tolerancia a la glucosa</p>		
<b>ENFERMEDAD HEPÁTICA ALCOHÓLICA</b>	<p>↓ Esteatosis hepática</p> <p>↓ Lesión hepática: ↓AST ↓ALD ↓LDH</p> <p>↓ Lípidos y TG</p>		<p>↓ Lesión hepática: ↓AST</p> <p>↓ Acumulación de lípidos: ↑Lipofagia</p> <p>↓ TG, ácidos grasos libres</p> <p>↓ Estrés oxidativo/nitrosativo</p> <p>↓ Respuesta inmunitaria e inflamatoria</p>
<b>FIBROSIS</b>	<p>↓ Extensión fibrosis</p> <p>↓ Infiltración hepática de macrófagos inflamatorios</p> <p>↓ AST, ALT del área inflamada</p> <p>↓ Respuesta inflamatoria</p>	<p>↓ Lesión hepática: ↓ALT, AST</p> <p>↓ Inflamación: ↓ liberación citoquinas proinflamatorias</p> <p>↓ Respuesta inmune: ↓IL → ↓Macrófagos</p> <p>↓ Fibrosis → ↓Actividad miofibroblastos</p>	

Tabla 3: efectos producidos por el antagonismo del CB1, el agonismo del CB2 y el uso de CBD en enfermedad hepática.

### 3. Contribución del SEC en la evolución de la pancreatitis

La pancreatitis es una enfermedad inflamatoria aguda o crónica del páncreas que afecta a sus funciones endocrinas y exocrinas y puede derivar en una fibrosis o necrosis. La implicación del sistema endocannabinoide en la pancreatitis aguda y crónica aún no está claramente detallada, pues la relación entre el cannabis y la pancreatitis sigue siendo un debate debido a la escasa literatura y a los resultados contradictorios obtenidos.

La implicación del SCE en procesos inflamatorios y la expresión de los receptores CB1 y CB2 en células pancreáticas plantea la posibilidad de su implicación en el proceso de una pancreatitis aguda. Tanto el receptor CB1 como el CB2 mostraron un aumento de expresión en procesos de pancreatitis aguda en humanos y en ratones, en células acinares apópticas o próximas a la necrosis<sup>(33,34)</sup>. La anandamida, AEA, ligando endógeno del SEC se incrementó 6,6 veces la biopsia de pacientes con pancreatitis aguda en comparación con el páncreas humano normal<sup>(34)</sup>.

Un estudio reciente apunta al consumo de cannabis como factor de riesgo en la hospitalización por pancreatitis aguda en Estados Unidos<sup>(35)</sup>. En este estudio se investigó la contribución de diferentes causas como el abuso de alcohol, la presencia de cálculos biliares, fibrosis quística o hipertriglicemia e hipercalcemia. El cannabis mostró un incremento de más del doble en el riesgo de hospitalización por apendicitis aguda. Sin embargo, al tratarse de un estudio transversal, con sesgo de información y al desconocer datos como el último consumo, dosis o la frecuencia del consumo del cannabis, no se pudo confirmar la causalidad de esas hospitalizaciones<sup>(35)</sup>.

Por otro lado, dado que un alto porcentaje de alcohólicos consume cannabis, y esto podría potenciar su efecto, en otro estudio se evaluaron los efectos del consumo conjunto del alcohol y cannabis en pancreatitis alcohólica aguda. Los pacientes que consumieron cannabis presentaron una reducción en los marcadores que indican la gravedad de la pancreatitis como el nitrógeno ureico en sangre, el índice clínico de gravedad en pancreatitis aguda, el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y el grado de tomografía computarizada de Balthazar. Sin embargo, este estudio sigue mostrando un sesgo de información

pues el consumo de cannabis se evaluó por una única prueba de orina que no mide la frecuencia consumo, ni evidencia la relación del cannabis con el suceso. Además, se desconoce la cantidad, el tipo y la frecuencia del alcohol consumido por los pacientes<sup>(36)</sup>.

En modelos de pancreatitis experimental en ratones se mostró una reducción de la gravedad de la inflamación en pancreatitis aguda mediante el agonismo de los receptores del sistema endocannabinoide, pues se observó una reducción en distintos marcadores inflamatorios<sup>(33,34)</sup>. El antagonismo y agonismo de ambos receptores en ratones con presencia y ausencia del receptor CB1 evidenció que la reducción de la gravedad de la pancreatitis fue mediada por el agonismo del receptor CB2<sup>(33)</sup>.

El principal efecto antiinflamatorio del agonismo del CB2 fue mediante una inhibición citoquinas proinflamatorias como IL-6 y la disminución de la infiltración de neutrófilos en el tejido pulmonar, propio de la complicación más grave de la pancreatitis aguda, el síndrome de dificultad respiratoria aguda. Además, el agonismo del CB2 mostró efectos protectores en la pancreatitis aguda actuando sobre la activación intracelular del tripsinógeno y el edema pancreático por vía de la proteína quinasa p38. Esta atenuación producida por el agonismo CB2 en la pancreatitis aguda fue dependiente de la proteína quinasa activada por mitógenos 2<sup>(33)</sup>. El número de células acinares necróticas o apoptóticas también fue reducido por el agonismo de este receptor<sup>(33,34)</sup>.

Uno de los síntomas fundamentales de la pancreatitis es el dolor abdominal. El sistema endocannabinoide mostró efecto antinociceptivo mediante el uso de un agonista de los receptores CB1 y CB2 a dosis bajas en ratones con pancreatitis aguda. Estos ratones no mostraron ningún efecto en su función locomotora, ni efectos psicótropos después del tratamiento con el agonista. Por lo que a la dosis probada el agonista sirvió como analgésico sin efectos secundarios observables a nivel central<sup>(34)</sup>. Por otro lado, un estudio utilizó una dosis única de 8 mg de  $\Delta^9$ -THC en pacientes con pancreatitis crónica. Aunque esta dosis fue insuficiente para una acción analgésica, fue bien tolerada por los pacientes<sup>(37)</sup>. Sin embargo, otro estudio realizado en pacientes con pancreatitis crónica mostró una reducción del uso medio diario de opioides, de ingresos hospitalarios y de visitas al servicio urgencias en los pacientes incluidos en un programa de terapia con

cannabis en comparación con los no inscritos. Cabe destacar que estas diferencias no fueron significativas debido al pequeño tamaño muestral y, además, a un gran sesgo por desconocimiento de la dosis óptimo, la frecuencia y la variabilidad del consumo de cannabis<sup>(38)</sup>. Por ello, es necesario que se realicen más estudios para justar la dosis, así como un uso del  $\Delta$ 9-THC más prolongado para medir su eficacia/seguridad.

El sistema endocannabinoide también muestra implicación en procesos de pancreatitis crónica que cursan con la activación de células estrelladas pancreáticas (miofibroblastos activados, PSC). Los receptores CB1 y CB2 se detectaron en PSC, áreas inflamadas y nervios de muestras de tejido pancreático en pacientes con pancreatitis crónica. La activación no selectiva del sistema endocannabinoide a través de cannabinoides exógenos indujo células estrelladas más inactivas, con una menor invasividad evidenciada por la reducción en los niveles de expresión de la metaloproteinasa de matriz 2, y una con menor producción de citoquinas proinflamatorias y proteínas de la matriz extracelular, componente del tejido fibrótico del páncreas<sup>(39)</sup>.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los objetivos planteados en este trabajo de revisión bibliográfica sobre el sistema endocannabinoide en enfermedades digestivas cabe resaltar varios aspectos:

- ✓ El SEC representa una diana terapéutica de especial interés en enfermedad inflamatoria intestinal ya que su activación mediante el uso de agonistas de sus receptores, o la inhibición de enzimas de degradación de endocannabinoides endógenos, da lugar a una mejora de parámetros clínica de la enfermedad. De esta forma, la activación del sistema endocannabinoide se asocia a una reducción en: (1) la inflamación intestinal, (2) la permeabilidad intestinal y (3) el daño intestinal macroscópico y microscópico, tanto en estudios realizados en muestras de ratones como en humanos. Sin embargo, son necesarios más estudios para estudiar con más profundidad el mecanismo por el que la activación

del SEC produce estos efectos. Además, existe una especial necesidad de más ensayos clínicos en humanos para valorar el perfil de seguridad/efectividad de los diferentes agonistas y antagonistas del SEC, pues la mayor parte de los estudios se han realizado en población limitada o en explantes de tejidos. Por este motivo, no se ha podido valorar con profundidad los posibles efectos de la activación del SEC a nivel sistémico en humanos.

- ✓ Los principales receptores del SEC juegan un papel fundamental en el desarrollo de las enfermedades hepáticas. Mientras que la activación del receptor CB1 favorece la lesión hepática y fibrogénesis, el receptor CB2 disminuye la gravedad de la enfermedad al suprimir respuestas proinflamatorias. Por este motivo, las modulaciones farmacológicas del SEC más utilizadas en enfermedades hepáticas son el antagonismo del receptor CB1 y agonismo del receptor CB2. Al igual que ocurre en enfermedad inflamatoria intestinal hacen falta más estudios en humanos que valoren la eficacia/seguridad de estos fármacos.
- ✓ Todavía se desconoce el papel del SEC en pancreatitis debido a la escasa literatura. Los estudios encontrados no han podido determinar una razón causal o protectora del consumo de cannabis en esta enfermedad. Sin embargo, los efectos antiinflamatorios derivados de la activación del receptor CB2 sí se pudieron observar en tejido pancreático de pacientes con pancreatitis. Sin embargo, la activación de los receptores CB1 y CB2 en ratones con pancreatitis aguda indujo un efecto analgésico. Se requieren más estudios para determinar si esto también es así en humanos y para valorar la implicación del SEC en esta enfermedad.
- ✓ El uso de CBD muestra acciones beneficiosas en modelos de enfermedades digestivas. Se sabe que tiene afinidad por CB1/ CB2, aunque baja y que inhibe la captación y el metabolismo de AEA al inhibir la enzima de degradación FAAH. Además, compite por los sitios de unión del THC por lo que disminuye sus efectos secundarios psicoactivos. Son

necesarios más estudios que investiguen los mecanismos por los que este cannabinoide ejerce su acción en enfermedades digestivas.

En general, las limitaciones en esta revisión han sido la falta de estudios relevantes en humanos. Como hemos mencionado, el consumo de sustancias derivadas del cannabis está limitado por sus efectos psicoactivos a nivel central, por lo que es importante controlar estos efectos secundarios en los estudios en los que se estudie el SEC. Pese a todo, llegamos a la conclusión de que el SEC modula el transcurso de las enfermedades digestivas y representa una potencial diana terapéutica en el sistema gastrointestinal.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Pacher P, Bátkai S, Kunos G. The Endocannabinoid System as an Emerging Target of Pharmacotherapy. *Pharmacol Rev.* septiembre de 2006;58(3):389-462.
2. Crocq M-A. History of cannabis and the endocannabinoid system. *Dialogues Clin Neurosci.* septiembre de 2020;22(3):223-8.
3. Andre CM, Hausman J-F, Guerriero G. Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Front Plant Sci.* 4 de febrero de 2016;7:19.
4. Gotfried J, Naftali T, Schey R. Role of Cannabis and Its Derivatives in Gastrointestinal and Hepatic Disease. *Gastroenterology.* julio de 2020;159(1):62-80.
5. Vemuri VK, Makriyannis A. Medicinal chemistry of cannabinoids. *Clin Pharmacol Ther.* junio de 2015;97(6):553-8.
6. Hourani W, Alexander SPH. Cannabinoid ligands, receptors and enzymes: Pharmacological tools and therapeutic potential. *Brain Neurosci Adv.* enero de 2018;2:239821281878390.
7. Hillard CJ. Circulating Endocannabinoids: From Whence Do They Come and Where are They Going? *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol.* enero de 2018;43(1):155-72.

8. Pisanti S, Malfitano AM, Ciaglia E, Lamberti A, Ranieri R, Cuomo G, et al. Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. *Pharmacol Ther.* julio de 2017;175:133-50.
9. Tartakover Matalon S, Ringel Y, Konikoff F, Drucker L, Pery S, Naftali T. Cannabinoid receptor 2 agonist promotes parameters implicated in mucosal healing in patients with inflammatory bowel disease. *United Eur Gastroenterol J.* abril de 2020;8(3):271-83.
10. Fichna J, Bawa M, Thakur GA, Tichkule R, Makriyannis A, McCafferty D-M, et al. Cannabinoids Alleviate Experimentally Induced Intestinal Inflammation by Acting at Central and Peripheral Receptors. Singh UP, editor. *PLoS ONE.* 2 de octubre de 2014;9(10):e109115.
11. Sałaga M, Mokrowiecka A, Zakrzewski PK, Cygankiewicz A, Leishman E, Sobczak M, et al. Experimental colitis in mice is attenuated by changes in the levels of endocannabinoid metabolites induced by selective inhibition of fatty acid amide hydrolase (FAAH). *J Crohns Colitis.* 1 de septiembre de 2014;8(9):998-1009.
12. Couch DG, Tasker C, Theophilidou E, Lund JN, O'Sullivan SE. Cannabidiol and palmitoylethanolamide are anti-inflammatory in the acutely inflamed human colon. *Clin Sci.* 1 de noviembre de 2017;131(21):2611-26.
13. Couch DG, Cook H, Ortori C, Barrett D, Lund JN, O'Sullivan SE. Palmitoylethanolamide and Cannabidiol Prevent Inflammation-induced Hyperpermeability of the Human Gut In Vitro and In Vivo—A Randomized, Placebo-controlled, Double-blind Controlled Trial. *Inflamm Bowel Dis.* 4 de mayo de 2019;25(6):1006-18.
14. Naftali T, Bar-Lev Schleider L, Dotan I, Lansky EP, Sklerovsky Benjaminov F, Konikoff FM. Cannabis Induces a Clinical Response in Patients With Crohn's Disease: A Prospective Placebo-Controlled Study. *Clin Gastroenterol Hepatol.* octubre de 2013;11(10):1276-1280.e1.
15. Mallat A, Teixeira-Clerc F, Lotersztajn S. Cannabinoid signaling and liver therapeutics. *J Hepatol.* octubre de 2013;59(4):891-6.
16. Shi D, zhan X, Yu X, Jia M, Zhang Y, Yao J, et al. Inhibiting CB1 receptors improves lipogenesis in an in vitro non-alcoholic fatty liver disease model. *Lipids Health Dis.* 18 de noviembre de 2014;13:173.

17. Chen C, Chang Z, Tsai F, Chen S. Cannabinoid receptor type 1 antagonist inhibits progression of obesity-associated nonalcoholic steatohepatitis in a mouse model by remodulating immune system disturbances. *Immun Inflamm Dis*. 15 de agosto de 2020;8(4):544-58.
18. Jorgačević B, Mladenović D, Ninković M, Vesković M, Dragutinović V, Vatazević A, et al. Rimonabant Improves Oxidative/Nitrosative Stress in Mice with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:842108.
19. Seltzman HH, Maitra R, Bortoff K, Henson J, Reggio PH, Wesley D, et al. Metabolic Profiling of CB1 Neutral Antagonists. *Methods Enzymol*. 2017;593:199-215.
20. Tam J, Godlewski G, Earley BJ, Zhou L, Jourdan T, Szanda G, et al. Role of adiponectin in the metabolic effects of cannabinoid type 1 receptor blockade in mice with diet-induced obesity. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 15 de febrero de 2014;306(4):E457-68.
21. Irungbam K, Churin Y, Matono T, Weglage J, Ocker M, Glebe D, et al. Cannabinoid receptor 1 knockout alleviates hepatic steatosis by downregulating perilipin 2. *Lab Investig J Tech Methods Pathol*. marzo de 2020;100(3):454-65.
22. Azar S, Udi S, Drori A, Hadar R, Nemirovski A, Vemuri KV, et al. Reversal of diet-induced hepatic steatosis by peripheral CB1 receptor blockade in mice is p53/miRNA-22/SIRT1/PPAR $\alpha$  dependent. *Mol Metab*. 26 de septiembre de 2020;42:101087.
23. Wang Y, Mukhopadhyay P, Cao Z, Wang H, Feng D, Haskó G, et al. Cannabidiol attenuates alcohol-induced liver steatosis, metabolic dysregulation, inflammation and neutrophil-mediated injury. *Sci Rep*. 21 de septiembre de 2017;7:12064.
24. Amato GS, Manke A, Harris DL, Wiethe RW, Vasukuttan V, Snyder RW, et al. Blocking Alcoholic Steatosis in Mice with a Peripherally Restricted Purine Antagonist of the Type 1 Cannabinoid Receptor. *J Med Chem*. 24 de mayo de 2018;61(10):4370-85.
25. Yang L, Rozenfeld R, Wu D, Devi LA, Zhang Z, Cederbaum A. Cannabidiol protects liver from binge alcohol-induced steatosis by mechanisms including inhibition of oxidative stress and increase in autophagy. *Free Radic Biol Med*. marzo de 2014;68:260-7.

26. Dai E, Zhang L, Ye L, Wan S, Feng L, Qi Q, et al. Hepatic expression of cannabinoid receptors CB1 and CB2 correlate with fibrogenesis in patients with chronic hepatitis B. *Int J Infect Dis.* 1 de junio de 2017;59:124-30.
27. Mai P, Yang L, Tian L, Wang L, Jia S, Zhang Y, et al. Endocannabinoid System Contributes to Liver Injury and Inflammation by Activation of Bone Marrow-Derived Monocytes/Macrophages in a CB1-Dependent Manner. *J Immunol Baltim Md 1950.* 1 de octubre de 2015;195(7):3390-401.
28. Patsenker E, Sachse P, Chicca A, Gachet M, Schneider V, Mattsson J, et al. Elevated Levels of Endocannabinoids in Chronic Hepatitis C May Modulate Cellular Immune Response and Hepatic Stellate Cell Activation. *Int J Mol Sci.* 27 de marzo de 2015;16(12):7057-76.
29. Koyama Y, Xu J, Liu X, Brenner DA. New Developments on the Treatment of Liver Fibrosis. *Dig Dis Basel Switz.* 2016;34(5):589-96.
30. Wu Y, Ma R, Long C, Shu Y, He P, Zhou Y, et al. The protective effect of cannabinoid type II receptor agonist AM1241 on ConA-induced liver injury in mice via mitogen-activated protein kinase signalling pathway. *Int J Immunopathol Pharmacol.* diciembre de 2021;35:20587384211035252.
31. Issa YA, El Achy SN, Mady RF. Cannabinoid receptor-1 antagonism: a new perspective on treating a murine schistosomal liver fibrosis model. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2019;114:e190062.
32. Guillot A, Hamdaoui N, Bizy A, Zoltani K, Souktani R, Zafrani E-S, et al. Cannabinoid receptor 2 counteracts interleukin-17-induced immune and fibrogenic responses in mouse liver. *Hepatology.* 2014;59(1):296-306.
33. Michler T, Storr M, Kramer J, Ochs S, Malo A, Reu S, et al. Activation of cannabinoid receptor 2 reduces inflammation in acute experimental pancreatitis via intra-acinar activation of p38 and MK2-dependent mechanisms. *Am J Physiol-Gastrointest Liver Physiol.* 15 de enero de 2013;304(2):G181-92.
34. MICHALSKI CW, LAUKERT T, SAULIUNAITE D, PACHER P, BERGMANN F, AGARWAL N, et al. Cannabinoids Ameliorate Pain and Reduce Disease Pathology in Cerulein-Induced Acute Pancreatitis. *Gastroenterology.* mayo de 2007;132(5):1968-78.

35. Bhandari R, Gupta S, Modi K, Raval MR, Joundi H, Patel JR, et al. Persistent Cannabis Abuse and Risk for Hospitalization for Acute Pancreatitis: A Cross-Sectional Study in United States Hospitals. *Cureus*. 13(6):e15601.
36. Goyal H, Guerreso K, Smith B, Harper K, Patel S, Patel A, et al. Severity and outcomes of acute alcoholic pancreatitis in cannabis users. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 21 de julio de 2017;2:60.
37. de Vries M, Van Rijckevorsel DCM, Vissers KCP, Wilder-Smith OHG, Van Goor H. Single dose delta-9-tetrahydrocannabinol in chronic pancreatitis patients: analgesic efficacy, pharmacokinetics and tolerability: Single dose  $\Delta$ 9-THC in chronic pancreatitis. *Br J Clin Pharmacol*. marzo de 2016;81(3):525-37.
38. Barlowe TS, Kolianni-Pace JL, Smith KD, Gordon SR, Gardner TB. Effects of Medical Cannabis on Use of Opioids and Hospital Visits by Patients With Painful Chronic Pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. noviembre de 2019;17(12):2608-2609.e1.
39. Michalski CW, Maier M, Erkan M, Sauliunaite D, Bergmann F, Pacher P, et al. Cannabinoids Reduce Markers of Inflammation and Fibrosis in Pancreatic Stellate Cells. Gluud C, editor. *PLoS ONE*. 27 de febrero de 2008;3(2):e1701.