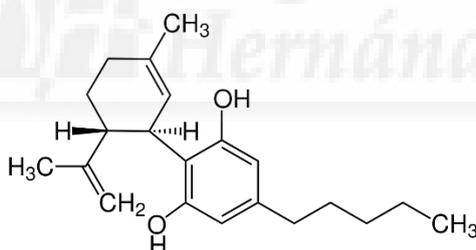


FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

Potencial terapéutico del efecto neuroprotector del cannabidiol en el tratamiento de enfermedades neurológicas



Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2019

Autora: Cristina Felipe Palencia

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutor: Francisco Navarrete Rueda

ÍNDICE

RESUMEN	3
1. INTRODUCCIÓN.....	4
1.1 Descubrimiento del sistema endocannabinoide	4
1.2 Cannabidiol: perfil farmacológico y potencialidad terapéutica	6
2. OBJETIVOS.....	11
2.1 Objetivo general	11
2.2 Objetivos específicos.....	11
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
4. RESULTADOS	15
4.1. Efecto neuroprotector del CBD en la Enfermedad de Alzheimer	15
4.2. Efecto neuroprotector del CBD en la enfermedad de Huntington (EH).....	21
4.3. Efecto neuroprotector del CBD en síndrome de Lennox-Gastaut.....	25
4.4 Efecto neuroprotector del CBD en la Esclerosis múltiple	29
5. DISCUSIÓN	34
6. CONCLUSIONES.....	38
7. ANEXO: ABREVIATURAS	39
8. BIBLIOGRAFÍA	41

RESUMEN

El descubrimiento del cannabidiol (CBD), aislado a finales de la década de 1930, ha suscitado un gran interés por sus múltiples propiedades farmacológicas. Entre éstas, se ha puesto el foco de atención en su demostrada capacidad neuroprotectora derivada principalmente de sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios. La neuroprotección que induce el CBD resulta especialmente relevante para el tratamiento de enfermedades neurológicas que además puedan contar con un claro componente neurodegenerativo.

El objetivo del trabajo ha sido realizar una revisión bibliográfica sobre la utilidad terapéutica del CBD atendiendo a sus propiedades neuroprotectoras. Para ello, se ha llevado a cabo una búsqueda en la base de datos *Medline* a través de su buscador *PubMed*.

Los resultados de la revisión se han subdividido en relación con la potencialidad terapéutica de los efectos neuroprotectores del CBD en la enfermedad de Alzheimer (EA), la enfermedad de Huntington (EH), en el síndrome epiléptico infantil de Lennox Gastaut, y en la esclerosis múltiple (EM). Se han identificado diferentes mecanismos de tipo antioxidante y antiinflamatorio que sustentan la capacidad neuroprotectora del CBD, y que además se relacionan con la mejora de la sintomatología característica de las enfermedades neurológicas revisadas.

Aunque aún no se han podido establecer cuáles serían las ventajas terapéuticas del CBD en el tratamiento de las enfermedades revisadas, ni los mecanismos exactos de acción implicados, la evidencia científica de la que se dispone sugiere que el CBD podría ser una herramienta farmacológica de gran interés con utilidad en el abordaje de este tipo de patologías, pudiendo proporcionar una aproximación modificadora de su evolución. Sin embargo, son necesarios más estudios tanto a nivel preclínico como clínico para poder mejorar nuestro conocimiento sobre su potencial terapéutico.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Descubrimiento del sistema endocannabinoide

Los fitocannabinoides son un conjunto de compuestos terpenofenólicos psicoactivos derivados de la planta *Cannabis sativa* que contiene aproximadamente 400 compuestos químicos diferentes, y de los cuales aproximadamente más de 100 son considerados cannabinoides¹. El primer cannabinoide aislado fue el tetrahidrocannabinol (**THC**), también conocido como delta-9 tetrahidrocannabinol (Δ^9 -**THC**), siendo este el compuesto mayoritario y principal responsable de las propiedades psicoactivas del cannabis². Por otro lado, el cannabidiol (CBD) fue aislado a finales de la década de 1930, pero su estructura no fue dilucidada hasta 1963. Junto con el THC, el CBD es otro de los compuestos cannabinoides mayoritarios aislados de la planta *Cannabis sativa*, caracterizado por no presentar acciones reforzantes o psicotrópicas negativas en comparación con el THC³.

Tras el descubrimiento de los primeros compuestos cannabinoides, se empezaron a realizar numerosas investigaciones sobre las acciones del THC, aislado por primera vez por Korte en 1964 a partir de un extracto de hachís, y consiguiéndose poco después su síntesis química por Raphael Mechoulam en 1967⁴. El desarrollo de análogos sintéticos del THC más potentes, como el HU-210 o el CP,55-940, fueron claves para demostrar que el THC actuaba a través de sitios específicos de acción para producir sus efectos psicotrópicos típicos a nivel del sistema nervioso central (SNC). Fue así como se descubrió a principios de los años 90 que el THC actuaba uniéndose de forma específica a dos receptores de membrana denominados receptores cannabinoides 1 (rCB1) y 2 (rCB2)⁵. Estos hallazgos llevaron a la identificación de un nuevo sistema de señalización endógeno, conocido como sistema endocannabinoide (ECS)⁶ (**Figura 1**).

Poco después del descubrimiento y caracterización de los 2 receptores cannabinoides, se identificaron los ligandos cannabinoides endógenos, N-araquidonoiletanolamina o anandamida, que se metaboliza por la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH), y el 2-araquidonoilglicerol (2-AG), degradado principalmente por la monoacilglicerol lipasa (MAGL)⁷. Los

receptores cannabinoides, los ligandos endógenos que los activan y los diversos mecanismos para la biosíntesis y la inactivación de los endocannabinoides constituyen los principales componentes del sistema endocannabinoide en el SNC (ver Figura 1). Este sistema está implicado en una gran variedad de procesos fisiológicos como son el control del apetito, la percepción dolorosa, el estado de ánimo o la cognición, entre muchos otros⁸. Además, interviene en procesos de neuromodulación, regulando numerosas funciones cerebrales tales como la síntesis y liberación de neurotransmisores (GABA, glutamato, noradrenalina, dopamina o serotonina), procesos de neuroplasticidad o fenómenos neuroinflamatorios^{9, 10}.

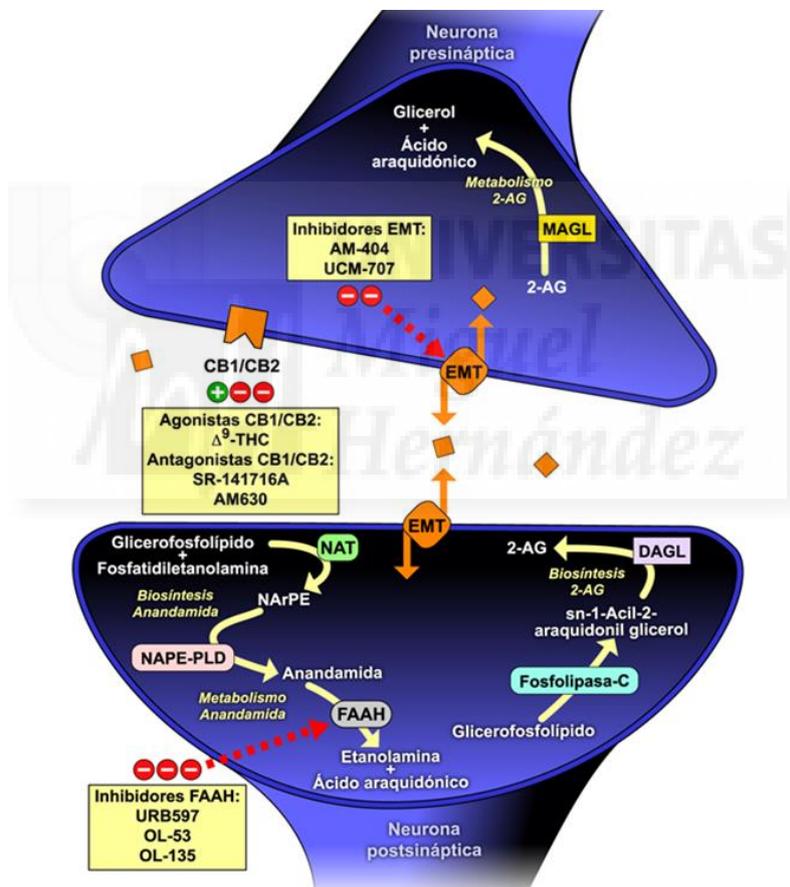


Figura 1. Representación gráfica de los principales componentes del sistema cannabinoide endógeno. MAGL: enzima monoacilglicerol lipasa, 2-AG: 2-araquidonilglicerol, EMT: sistema de transporte de cannabinoides endógenos, NAT: enzima N-aciltransferasa, NArPE: N-araquidonil-fosfatidiletanolamina, NAPE-PLD: enzima fosfodiesterasa selectiva de N-acil-fosfatidiletanolamina, FAAH: enzima amidohidrolasa de ácidos grasos, DAGL: enzima diacilglicerol lipasa. Fuente: imagen elaborada por el grupo de investigación que dirige el Dr. Jorge Manzanares (Instituto de Neurociencias, UMH).

La distribución de los receptores cannabinoides en el organismo es heterogénea, por un lado, el rCB1 es uno de los GPCR (*G protein-coupled receptors*, receptores acoplados a proteínas G) más abundante encontrado en el SNC hasta el momento. Alcanza una mayor densidad en ganglios basales, tronco cerebral, corteza e hipocampo, pero además también podemos encontrarlo en el SNP (sistema nervioso periférico) y varios órganos periféricos. El rCB1 se expresa principalmente en interneuronas inhibitorias (GABAérgicas) y en neuronas excitatorias (glutamatérgicas) a nivel presináptico, cuya activación inhibe la liberación de neurotransmisores⁶. Su amplia distribución y su importante papel neuromodulador lo convierte en una diana muy relevante, implicada en la regulación de multitud de procesos entre los que se podrían destacar el aprendizaje, la memoria, el apetito o las emociones, entre muchos otros⁵.

Por el contrario, el rCB2 fue descubierto posteriormente y se encuentra localizado especialmente en tejidos y células del sistema inmunológico, atribuyéndole importantes implicaciones en la regulación de los procesos inflamatorios⁵. Sin embargo, en el año 2005 se demostró por primera vez que este receptor está presente en el SNC en condiciones normales, aunque en niveles de expresión notablemente inferiores a los del rCB1. Este hallazgo, junto con la posterior caracterización de su expresión en diferentes regiones cerebrales, ha motivado el estudio de su implicación funcional en multitud de procesos cerebrales. Actualmente, se tienen evidencias sobre el potencial neuroprotector del rCB2, dado que su presencia se incrementa de forma muy significativa cuando se produce algún tipo de proceso neurodegenerativo o lesión⁴.

1.2 Cannabidiol: perfil farmacológico y potencialidad terapéutica

Originalmente se pensaba que los cannabinoides presentaban un mecanismo de acción inespecífico asociado a la membrana. Actualmente se sabe que el Δ^9 -THC actúa como agonista del rCB1 y del rCB2, pero el uso terapéutico del Δ^9 -THC es limitado debido a múltiples efectos secundarios no deseados, destacando principalmente sus efectos psicoactivos entre los que

destacaría claramente la aparición de psicosis o el deterioro cognitivo¹⁰. Por esta razón, en los últimos años se ha incrementado significativamente el interés en la posible utilidad terapéutica de aquellos fitocannabinoides que carecen de estas propiedades psicoactivas negativas, como sería el caso del CBD¹¹.

A pesar de los numerosos estudios realizados hasta la fecha, el mecanismo de acción del CBD sigue sin definirse por completo, aunque se sabe que actúa sobre más de 65 dianas diferentes. Sus acciones farmacológicas evaluadas a través de múltiples estudios han sugerido que podría ser útil en el tratamiento de diferentes trastornos neurodegenerativos y psiquiátricos.³ Una de las propiedades del CBD que han suscitado más interés es su demostrada capacidad neuroprotectora, derivada principalmente de sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios. La neuroprotección que induce el CBD resulta especialmente relevante para el tratamiento de enfermedades con un claro componente neurodegenerativo como la enfermedad de Alzheimer (EA) o la enfermedad de Parkinson (EP), aunque también sería muy útil en otro tipo de patologías de tipo psiquiátrico en las que los fenómenos neurogénicos o neuroplásticos se ven claramente mermados, como sería el caso de la depresión.⁹

Las evidencias de las que se dispone hoy en día indican que el CBD podría modular determinados procesos moleculares implicados en la viabilidad celular, dando lugar a su efecto neuroprotector. Sin embargo, los mecanismos que subyacen a estos efectos todavía son desconocidos, por lo que sigue siendo necesario mejorar el conocimiento de estos. El CBD actúa mediante una combinación de efectos de tipo neuroprotector en las neuronas dañadas, ejerciendo efectos positivos en una amplia selección de procesos fisiopatológicos implicados en diversas enfermedades neurodegenerativas¹². Dentro de estas acciones neuroprotectoras podemos destacar algunas que nos introducirán a los temas a tratar. Se ha comprobado que el CBD puede proporcionar neuroprotección contra enfermedades neurodegenerativas. En este sentido, se ha visto que para la enfermedad de Parkinson o de Alzheimer reduce la degeneración de las neuronas dopaminérgicas nigrostriatales reforzado por la reducción de la atrofia del estriado a través de la activación de los receptores cannabinoides, vanilloides (TRPV) y de adenosina. Por otro lado, se ha demostrado la capacidad que presenta el CBD para reducir la

hiperfosforilación de la proteína tau, así como la neurotoxicidad en diferentes modelos experimentales de la enfermedad de Alzheimer⁹. Asimismo, se propuso la implicación de un posible mecanismo antiinflamatorio, ya que se han observado disminuciones en los niveles plasmáticos de prostaglandinas E2 (PGE2), en la actividad de la ciclooxygenasa tisular (COX) y la producción de óxido nítrico (NO) con el tratamiento de CBD. Los efectos supresores presentes encontrados en las respuestas inmunes y en la producción de mediadores pro inflamatorios pueden indicar su utilidad en varias enfermedades inflamatorias.¹⁰ Por tanto, podemos afirmar que el CBD es un fármaco con un elevado potencial neuroprotector que podría estar relacionado con sus efectos antioxidantes, antiapoptóticos y antiinflamatorios¹³.

Como resultado de las diversas dianas de actuación del CBD (ver **Figura 2**)¹⁴, se derivan una gran variedad de mecanismos de acción que dan lugar a un abanico de efectos farmacológicos (**Figura 3**). Además de los efectos neuroprotectores nombrados anteriormente, también se ha demostrado su acción sobre los receptores vanilloides de tipo 1 (TRPV1), involucrados en la hiperalgesia inflamatoria. La estimulación que produce el CBD sobre este

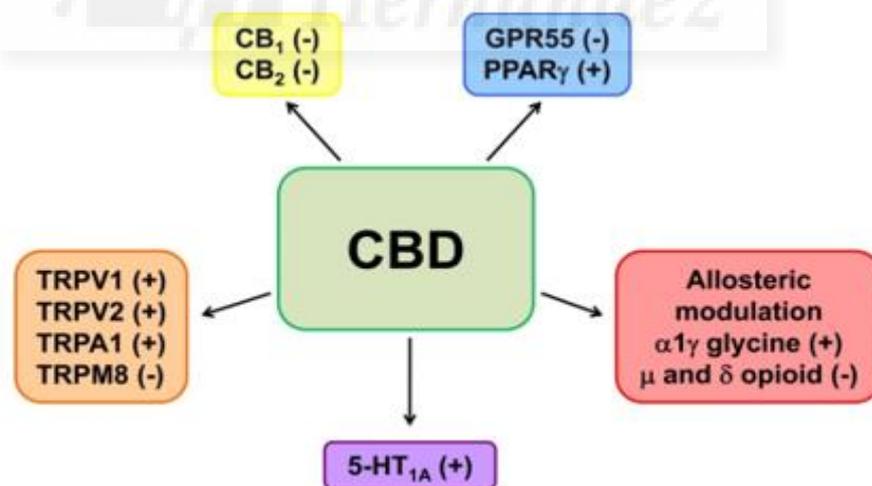


Figura 2: Representación esquemática que muestra las principales dianas de acción descritas para el CBD. Se incluyen los receptores endocannabinoides (rCB₁, rCB₂ y GPR55), los receptores vanilloides 1 y 2 (TRPV1 y TRPV2), el receptor de potencial transitorio ankyrin 1 (TRPA1), el receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma (PPAR_γ) o el receptor serotoninérgico 1A (5-HT_{1A}). Imagen extraída de: Izzo et al, 2009. Trends in Pharmacological Sciences¹⁴.

receptor conduce a su desensibilización, dando lugar a efectos analgésicos y antiinflamatorios^{13, 15}. Por otra parte, su acción agonista sobre el receptor serotoninérgico 5-HT_{1A} produce un efecto protector en procesos patológicos como la isquemia. Además, el CBD también puede actuar inhibiendo la enzima FAAH (ácido graso amida hidrolasa) y hace que se ralentice la descomposición de la anandamida, uno de los endocannabinoides endógenos más importantes, provocando un aumento de su disponibilidad en el cerebro con importantes implicaciones terapéuticas¹⁵.

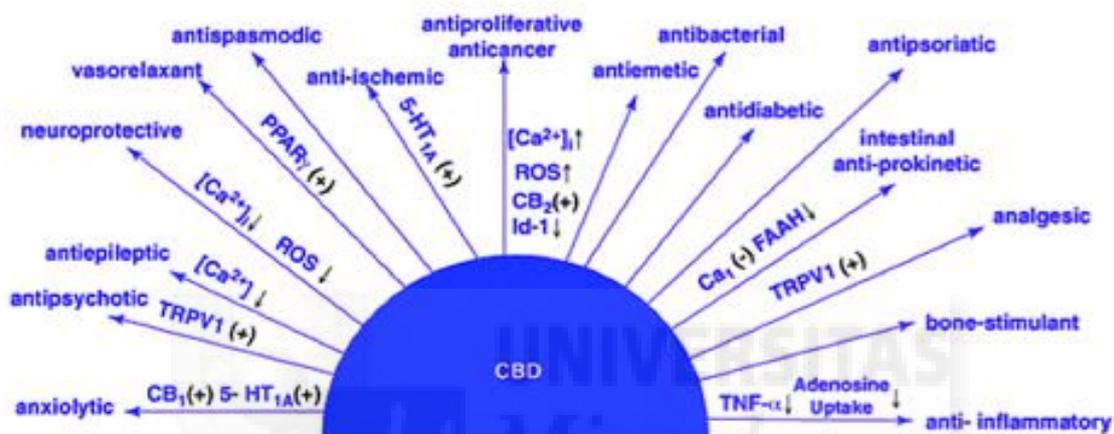


Figura 3: Recopilación de los múltiples efectos farmacológicos descritos para el CBD y los mecanismos de acción que estarían involucrados. Imagen extraída de: Massi et al, 2012. British Journal of Clinical Pharmacology¹⁶

Por tanto, tras todas las investigaciones realizadas hasta el momento acerca de este compuesto podemos afirmar con certeza que posee un buen perfil de seguridad, sin producir ningún tipo de efecto reforzante o adictivo. Además, cabe destacar que ya existen medicamentos comercializados que contienen este compuesto, como es el caso del Sativex®, indicado para la mejora de la espasticidad de los pacientes con EM. En concreto, se trata de un aerosol bucal que contiene una mezcla de THC y CBD en una proporción 1:1 (2.7 mg de Δ^9 -THC y 2.5 mg de CBD / 0.1mL), en una solución de etanol con agua aromatizada. Asimismo, se reconoció que la administración conjunta de ambos evitaba los efectos no deseados de Δ^9 -THC¹⁰. Además de este medicamento, recientemente se aprobó por parte de la FDA (*Food and Drug Administration*) el medicamento Epidiolex®, una solución oral de CBD puro dirigido al tratamiento de las convulsiones durante la infancia causadas por el

síndrome de Dravet o el síndrome de Lennox-Gastaut. El tratamiento con Epidiolex® se ha asociado a una reducción de los ataques epilépticos de entre un 17% y un 23%, pudiendo evidenciar además su elevada seguridad y tolerabilidad al estar su uso dirigido en especial a la población infantil¹⁷.

El CBD es uno de los compuestos cannabinoides actualmente más interesantes y con un mayor número de efectos farmacológicos descritos⁴, aunque sigue siendo necesaria la realización de más ensayos tanto en modelos animales como a nivel clínico, para poder conocer mejor su potencialidad terapéutica y valorar su utilidad en el tratamiento de algunas enfermedades neurológicas. Las evidencias de las que se disponen actualmente en relación con los efectos neuroprotectores que produce el CBD, sugieren su potencial terapéutico en el manejo de diversas patologías, especialmente aquellas en las que haya un claro componente neurodegenerativo pudiendo constituir una estrategia modificadora del curso clínico de la enfermedad. Por todo ello, el presente trabajo tiene como objetivo arrojar luz sobre los mecanismos que confieren neuroprotección al CBD, y qué correlación guardan con la mejora de los procesos fisiopatológicos y la sintomatología asociada a determinadas enfermedades neurológicas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Este trabajo pretende realizar una revisión bibliográfica analizando la literatura disponible sobre las propiedades neuroprotectoras y la potencial utilidad terapéutica del CBD en el manejo de diferentes enfermedades neurológicas (EA, EP, síndrome de Lennox Gastaut y esclerosis múltiple).

2.2 Objetivos específicos

1. Evaluar como el CBD actúa sobre en la enfermedad de Alzheimer a través de su acción sobre iNOS y NO evitando el estrés oxidativo, valorar su acción antiinflamatoria en la liberación de mediadores inflamatorios, analizar su implicación en fenómenos de apoptosis asociados a la ubiquitinación de la APP, y valorar su efecto neuroprotector relacionado con el receptor PPAR γ .
2. Analizar la utilidad del CBD en la enfermedad de Huntington a través de la administración del fármaco Sativex, valorando si es capaz de actuar frente al deterioro cognitivo y motor de la enfermedad, analizando su acción sobre los marcadores inflamatorios.
3. Investigar las propiedades del CBD sobre las crisis convulsivas en pacientes con el Síndrome de Lennox Gastaut, y evaluar su efecto neuroprotector en los estados de hipoxia generados por las crisis convulsivas prolongadas.
4. Valorar la eficacia del CBD en la esclerosis múltiple sobre la espasticidad y los fenómenos neuroinflamatorios, y su posible utilidad en la restauración de la función axonal afectada en la enfermedad.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se ha realizado una revisión bibliográfica haciendo una consulta directa en la principal base de datos biomédica *Medline*, a través de su buscador *Pubmed*, empleando la combinación de palabras clave y operadores booleanos que se describe más adelante en este apartado.

→ Tratamiento de la información

La búsqueda de la información se realizó con descriptores en ciencias de la salud (DeCS) en Medline (Pubmed), conectados por el operador booleano AND para finalmente generar las cajas de búsqueda precisas que permitieran obtener los resultados más acotados al tema de interés (ver más abajo). La terminología empleada mediante el uso de DeCS es un tipo de lenguaje único en la indización de artículos publicados en revistas científicas, libros o informes técnicos. Su principal utilidad es ofrecer la posibilidad de realizar una búsqueda que ofrezca los resultados que mejor se adecúen a la temática de interés. Para poder emplear la terminología DeCS y luego aplicarla al buscado *Pubmed* en inglés, primero se busca el término correspondiente en español y a través de la herramienta de búsqueda de DeCS se obtiene el término permutado que nos proporciona su equivalente en inglés (MeSh). Éste será el que posteriormente usaremos en la base de datos de *Pubmed* para construir las cajas de búsqueda.

→ Selección de los artículos

Con el objetivo de delimitar qué artículos científicos se incluían en el presente trabajo, de determinaron los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

- Criterios de inclusión
 - Artículos que sean ensayos clínicos originales, revisiones bibliográficas, serie de casos, ensayos in vitro e in vivo, publicaciones científicas o técnicas revisadas, tesis.
 - Que estén escritos en inglés o español.

- Que hubiera disponibilidad de acceso a dichos estudios, es decir, que estuviera el texto completo.
- o Criterios de exclusión:
 - Artículos con antigüedad superior a 15 años
 - Artículos que no estén publicados en inglés o español.
 - Aquellos estudios que no se centren o no comenten el efecto neuroprotector del CBD en las enfermedades a tratar.

→ Cajas de búsqueda

Una vez definidos los DeCS que mejor se adecúan a los objetivos del estudio, se elaboraron las cajas de búsqueda que se muestran a continuación conforme a las enfermedades neurológicas seleccionadas.

▪ Enfermedades Neurodegenerativas:

Cajas de búsqueda:

1. (("Nervous System Diseases"[Mesh]) AND "Cannabidiol"[Mesh]) AND "Neuroprotective Agents"[Mesh]

▪ Alzheimer

Cajas de búsqueda:

1. "Alzheimer Disease"[Mesh] AND "Cannabidiol"[Mesh] AND "Neuroprotective Agents"[Mesh]
2. "Alzheimer Disease"[Mesh] AND "Cannabidiol"[Mesh]

▪ Enfermedad de Huntington

Cajas de búsqueda:

1. (("Cannabidiol"[Mesh]) AND "Neuroprotective Agents"[Mesh]) AND "Parkinson Disease "[Mesh]
2. "Parkinson"[Mesh] AND "Cannabidiol"[Mesh]

▪ Síndrome de Lennox-Gastaut

Cajas de búsqueda:

1. (("Cannabidiol"[Mesh]) AND "Lennox Gastaut syndrome"[Mesh])
2. (("Cannabidiol"[Mesh]) AND "Neuroprotective Agents"[Mesh]) AND "Lennox Gastaut Syndrome"[Mesh]

3. (("Lennox Gastaut Syndrome"[Mesh]) AND "/drug effects "[Mesh]) AND "Cannabidiol"[Mesh]

▪ **Esclerosis Múltiple**

Cajas de búsqueda:

1. (((("Cannabidiol"[Mesh]) AND "Multiple Sclerosis"[Mesh]))
2. (("Cannabidiol"[Mesh]) AND "Neuroprotective Agents"[Mesh]) AND "Multiple Sclerosis "[Mesh]

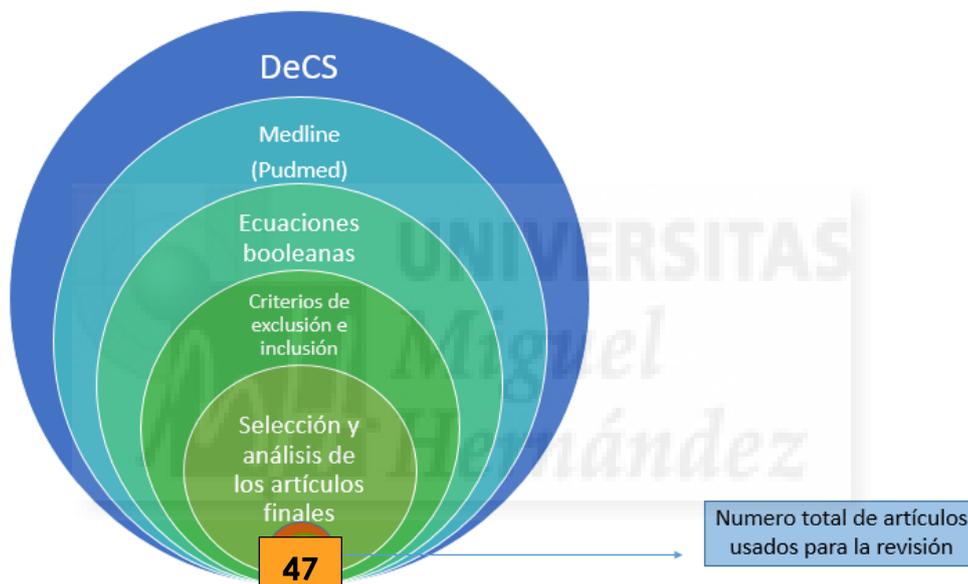


Figura 4: Esquema de cómo se ha llevado a cabo la selección y búsqueda de los estudios de la revisión, para finalmente incluir 47 artículos científicos que se analizan en el apartado de resultados. Imagen de elaboración propia.

4. RESULTADOS

Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por una pérdida neuronal progresiva lenta en áreas específicas del cerebro, lo que conduce a las manifestaciones clínicas observadas. Aunque tienen diferentes etiologías, la mayoría de ellas comparten características similares como la pérdida neuronal, gliosis o la presencia de agregados mal plegados o proteínas aberrantes. Estos procesos se asocian finalmente a disfunciones cognitivas, motoras y/o conductuales.

En este apartado se resumen los principales mecanismos bioquímicos y moleculares que se han asociado con los efectos neuroprotectores del CBD. Se han analizado estudios preclínicos tanto *in vivo* como *in vitro* a partir de los cuáles se analiza cómo la combinación de efectos antioxidantes, antiinflamatorios y antiapoptóticos da lugar a un efecto neuroprotector. Esta revisión se centrará en las diversas capacidades neuroprotectoras del CBD con interés terapéutico para el tratamiento de determinadas enfermedades neurodegenerativas como la EA, la EH o la EM, así como para el manejo del síndrome infantil de Lennox Gastaut.

4.1. Efecto neuroprotector del CBD en la Enfermedad de Alzheimer

En este apartado se analizan las evidencias que existen actualmente en relación a los mecanismos involucrados en las propiedades neuroprotectoras que ejerce el CBD y su implicación terapéutica en la EA. Para ello, se ha realizado una revisión de los diferentes estudios a nivel preclínico (experimentos *in vitro* y con modelos animales) que se han llevado a cabo hasta la fecha.

La EA es una enfermedad neurodegenerativa progresiva, cuyas manifestaciones más comunes son el deterioro de la función cognitiva, la pérdida de la memoria (especialmente a corto plazo en los primeros estadios) y otras manifestaciones neuroconductuales que conducen a severas restricciones en las actividades de la vida diaria. Su etiología principal sigue siendo desconocida, pero se han caracterizado manifestaciones neurodegenerativas y neuroinflamatorias a nivel cerebral como consecuencia del procesamiento anómalo de las proteínas tau y beta-amiloide⁶. En este

sentido, la EA se caracteriza por dos fenómenos patológicos principales: 1) la agregación de la proteína beta amiloide ($A\beta$), dando lugar a la formación de depósitos denominados placas seniles, y 2) la hiperfosforilación de la proteína *tau* que produce la formación de los ovillos neurofibrilares¹¹. Estos agregados de proteínas insolubles conducen a una respuesta inflamatoria crónica y un daño oxidativo extenso, lo que produce una degeneración neuronal progresiva^{11, 12}. La $A\beta$ se produce por la escisión secuencial de la proteína precursora de amiloide (APP), mediada por la proteína B-secretasa y la γ -secretasa. Dichos fragmentos se liberan y al asociarse dan lugar a las placas de $A\beta$. Entre las diferentes proteínas proinflamatorias producidas en respuesta a este estrés oxidativo inducido por $A\beta$ se encuentran la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y su producto enzimático óxido nítrico (NO), considerados como los efectores neurotóxicos más importantes durante el desarrollo de la EA¹⁸. Por otro lado, la proteína *tau* es una proteína estabilizadora de microtúbulos cuya función es mantener la estructura de las células neuronales y el transporte axonal. Lo que sucede en la EA es una fosforilación aberrante de esta proteína lo que hace que se separe de dichos microtúbulos y forme los ya mencionados ovillos neurofibrilares^{11, 12}.

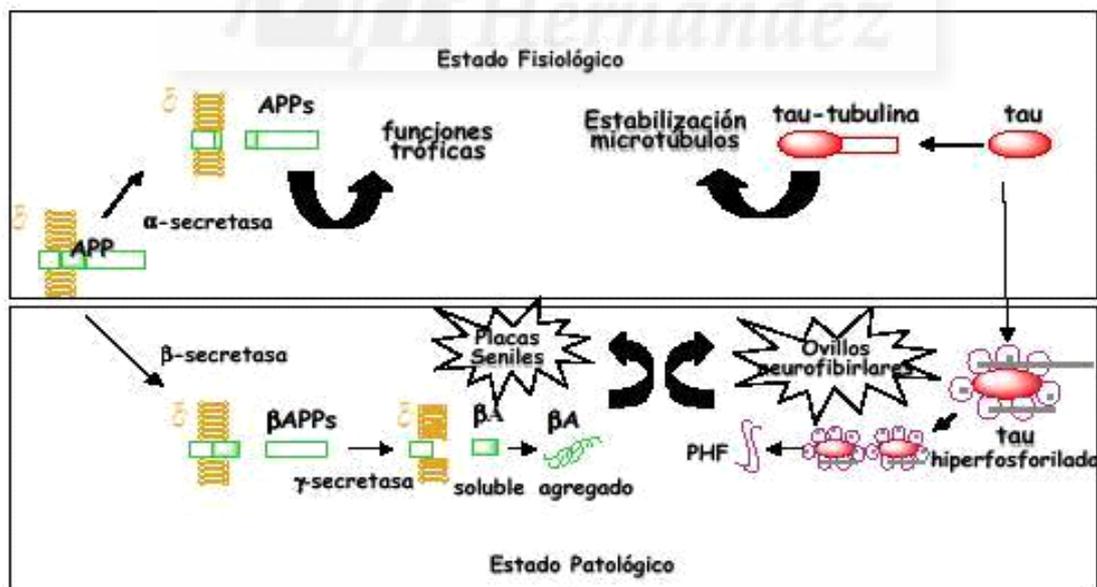


Figura 4. Representación de las vías de procesamiento de APP y tau en condiciones fisiológicas y patológicas. Imagen extraída de la Asociación Española de Científicos, de un artículo publicado en 2016 bajo el título "La enfermedad de Alzheimer: bases moleculares y aproximaciones terapéuticas". Autores: Ana Castro y Ana Martínez.

Hasta el momento, los tratamientos existentes para la EA son principalmente los inhibidores de la acetilcolinesterasa y algunos antagonistas del receptor glutamatérgico de N-metil-D-aspartato (NMDA) como la memantina. Sin embargo, estos fármacos solo proporcionan un alivio sintomático limitado y a corto plazo en el deterioro cognitivo y funcional de los pacientes, por lo que se consideran tratamientos ineficaces contra la progresión de la enfermedad. Por esta razón, surge la necesidad de buscar compuestos que aborden diferentes aspectos de la patología del Alzheimer simultáneamente, con el objetivo de mejorar el declive cognitivo de forma más eficaz y duradera que las terapias clásicas, así como frenar el proceso neurodegenerativo progresivo de la enfermedad ¹³. De esta forma, el CBD puede ser un candidato prometedor para el tratamiento multimodal de la EA, gracias tanto a sus propiedades neuroprotectoras, antiinflamatorias y antioxidantes, como también a sus efectos procognitivos^{10, 19}.

En primer lugar, centrándonos en los estudios preclínicos realizados *in vitro* mediante el empleo de cultivos celulares, se ha demostrado que el CBD actúa contrarrestando algunos de los procesos neuropatológicos implicados en la EA. Entre estos, se ha visto que puede actuar atenuando la neurotoxicidad inducida por A β , la hiperfosforilación de la proteína tau, o los fenómenos de apoptosis celular, además de promover la neurogénesis en el hipocampo.²⁰

Se ha descrito que el CBD posee una combinación variada de efectos antioxidantes y antiapoptóticos que protegen las células PC12 de la toxicidad inducida por A β . De hecho, en respuesta al estrés oxidativo inducido por A β se puede producir óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y su producto enzimático óxido nítrico (NO), y aunque al CBD se le han atribuido propiedades antiinflamatorias, también se ha reportado el posible efecto inhibitorio sobre iNOS y NO. Esto se corroboró a través de ensayos donde se estimularon a las células PC12 diferenciadas con A β , las cuales mostraron un aumento en la producción de nitritos y de la expresión de la proteína iNOS, en comparación con las células que no habían sido estimuladas. El CBD (10^{-6} a 10^{-4} M) inhibió la producción de NO y la expresión de la proteína iNOS inducida por A β en las células PC12. En este estudio también se demostró que el CBD podía inhibir la activación del factor de transcripción nuclear kappa B (NF- κ B) inducida por el

estímulo de A β en las células PC12. Este factor regula la expresión de varios genes involucrados tanto en la diferenciación celular como en la proliferación y la apoptosis, así como en la respuesta oxidativa, inflamatoria e inmune. La activación de NF-kB es de gran importancia para inducir la transcripción de la proteína iNOS. De esta forma, el aumento de la activación de NF-kB inducido por la presencia de A β en las células PC12 fue atenuado de forma significativa y dosis dependiente tras el tratamiento con CBD (10^{-6} a 10^{-4} M)¹⁸.

Por otro lado, los resultados observados también en modelos *in vitro* han revelado que una de las dianas de acción del CBD son los receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPAR)^{21, 22}. Los PPAR son factores de transcripción activados por ligando que pertenecen a la superfamilia de receptores de hormonas nucleares. Se encuentran asociados a procesos patológicos como la inflamación, proliferación celular y diferenciación. En condiciones fisiológicas, el PPAR γ , factor de transcripción considerado sitio clave putativo para la acción del CBD, se encuentra expresado en el SNC a niveles bajos, mientras que en situaciones patológicas como sería el caso de la EA, su expresión aumenta. Por tanto, parece lógico pensar que la regulación de la actividad de PPAR γ podría ser beneficiosa en el tratamiento de la enfermedad¹².

La investigación llevada a cabo por Scuderi C. y cols.¹² tuvo como objetivo investigar el papel del CBD como posible compuesto modulador de APP en las neuronas humanas llamadas SHSY5Y donde APP se sobreexpresa. Además, también trató de investigar la posible participación de PPAR γ como posible diana implicada en la acción del CBD. Como se ha mencionado anteriormente, la APP actúa como un estímulo para la neurodegeneración en la EA ya que una acumulación demasiado elevada puede conducir a una carga masiva de A β , siendo a su vez también responsable del daño oxidativo en las neuronas, la gliosis reactiva prolongada, la inflamación cerebral, la alteración de la vía Wnt, la disfunción neurocondrial neuronal y la homeostasis de Ca²⁺, lo que conlleva la muerte neuronal.^{12, 22}

En el estudio se intentó simular esta sobreexpresión de APP que sufren los pacientes con EA para poder así evaluar el efecto del CBD sobre esta vía. La investigación se realizó sobre las neuronas SHSY5Y transfectadas con APP695(SHSY5Y^{APP+}), induciendo con ello la sobreexpresión de APP. Otras neuronas fueron tratadas con vector vacío como control (SHSY5Y^{Vacio}). Como se esperaba, las células SHSY5Y^{APP+} revelaron un aumento significativo de APP en comparación con el control. Las células se trataron posteriormente con CBD en presencia o ausencia de antagonistas selectivos de PPAR α y PPAR γ (MK886 y GW9662) respectivamente. En las células que inicialmente habían mostrado un aumento de APP, se produjo una reducción de su expresión tras el tratamiento con CBD, dando lugar al mismo tiempo a un aumento notable de la ubiquitinación de la APP en comparación con las células que no fueron tratadas¹². Estos resultados parecen afirmar que el efecto del CBD dependía de la participación selectiva de PPAR γ , pudiendo ser terapéuticamente interesante para el manejo de la EA.^{12 13, 22}. Además, en dicho estudio se observó que las SHSY5Y^{APP+} mostraron más cuerpos apoptóticos en comparación con el vector vacío. Sin embargo, cuando estas células fueron tratadas con CBD (10^{-7}) se contrarrestaron los eventos apoptóticos y dicha actividad dependió de la activación de PPAR γ ¹² (ver figura 5).

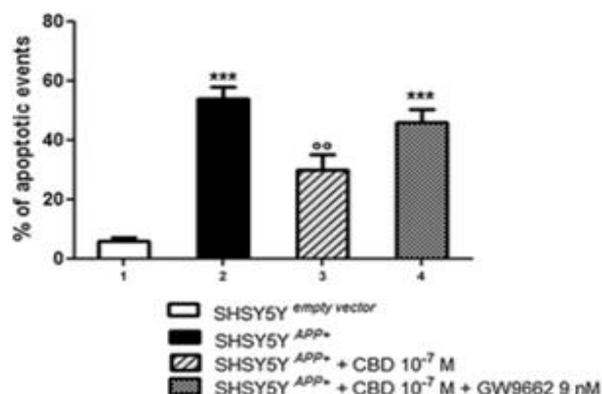


Figura 5: Fotomicrografías que muestran el efecto de CBD sobre la apoptosis neuronal. Las neuronas SHSY5Y^{vector vacío} y SHSY5Y^{APP+} se trataron con CBD (10^{-7} M) en presencia o ausencia del antagonista de PPAR γ (GW9662) Imagen extraída de: (Scuderi C. y cols,2014, Phytother Res)¹².

Un mismo estudio de Esposito, G y cols.,²² donde se evaluaba si los efectos neuroprotectores del CBD dependían de la actividad de los receptores PPAR γ , realizó un conjunto de experimentos que consistieron en evaluar el papel del CBD en la liberación de mediadores inflamatorios inducidos por la exposición a A β en astrocitos cultivados *in vitro*, puesto que una carga alta de A β conlleva fenómenos inflamatorios. Los astrocitos fueron inducidos previamente con A β (1 μ g / ml) produciéndose con ello un aumento de los mediadores inflamatorios (NO, IL-1 β , TNF α Y S100B). Sin embargo, cuando estos astrocitos fueron tratados con CBD (10^{-9} - 10^{-7} M), se inhibió la liberación de estas moléculas proinflamatorias de manera dependiente de la concentración empleada. Además, el bloqueo de PPAR γ con el fármaco GW9662 (antagonista de PPAR γ) revirtió este efecto, sugiriendo que los efectos del CBD estarían mediados, al menos en parte, por estos receptores²². Aparte de los modelos *in vitro* empleados en este estudio, también se evaluaron los efectos *in vivo*, dirigidos a evaluar la posible función moduladora del CBD en la gliosis reactiva y la supervivencia neuronal en hipocampos de ratas a través de un modelo de neuroinflamación relacionada con la EA. Para ello se inyectó A β en el hipocampo dorsal de ratas mediante cirugía estereotáxica, y después se inició un tratamiento por vía intraperitoneal con CBD (en presencia o ausencia de antagonistas de PPAR γ). En las ratas que habían sido tratadas con CBD, se redujo la liberación de NO, TNF α e IL, así como los efectos inducidos por A β a través de la activación de PPAR γ . De nuevo, el empleo de antagonistas de PPAR γ reveló una reducción de la actividad del CBD, sugiriendo que sus efectos estarían mediados por estos receptores²².

Con el fin de poder evaluar la potencial utilidad del CBD a largo plazo en el manejo del deterioro cognitivo inicial de la EA, se llevaron a cabo estudios en un modelo de ratón transgénico A β PPXPS1 mutado que sobreexpresa la APP, reproduciendo parcialmente la progresión de la EA. Se realizó un tratamiento con 20mg/kg de CBD y se evaluó el comportamiento social (sociabilidad y reconocimiento social), aspectos motores, rasgos de ansiedad, o aprendizaje asociativo. Asimismo, también se analizó a nivel molecular la carga de A β , el

daño oxidativo y la presencia de marcadores de inflamación (TNF y IL-1) implicados notablemente en la neuropatología de la EA^{13, 20}.

En las pruebas de reconocimiento social en las que se evaluó el grado de sociabilidad, y donde se colocó un oponente en uno de los recintos de forma aleatoria (donde solo se permitía el contacto con el hocico, pero no el contacto corporal), se observó que todos los ratones que habían sido tratados con CBD pasaron más tiempo investigando al oponente, indicando un grado de sociabilidad intacta. Sin embargo, cabe destacar que los ratones transgénicos (A β PPXPS1) tratados con el vehículo no desarrollaron preferencia por el nuevo ratón, evidenciando alteraciones tanto en su sociabilidad como en los procesos de consolidación de la memoria. Por otro lado, en la prueba del laberinto elevado en cruz que evalúa rasgos de ansiedad, se demostró locomoción y ansiedad similares entre los ratones A β PPXPS1 y los ratones control. Además, el tratamiento crónico con CBD no tuvo efecto sobre la ansiedad¹⁵. Finalmente, el aprendizaje asociativo se evaluó a través de pruebas donde los animales debían aprender la asociación entre un estímulo neutro y un estímulo aversivo (descarga eléctrica), de forma que el ratón aprenda a evitar la descarga cuando aparecen los estímulos neutros que la predicen. Sin embargo, todos los ratones mostraron una memoria de contexto intacta independiente del tratamiento.^{15, 23}

4.2. Efecto neuroprotector del CBD en la enfermedad de Huntington (EH)

La enfermedad de Huntington (EH) es un trastorno neurodegenerativo hereditario que se caracteriza por la presencia de anomalías motoras (principalmente movimientos coreicos seguido de acinesia), disfunción cognitiva y síntomas psiquiátricos²⁴. La etiología de la EH reside en una mutación en el gen codificante de la proteína huntingtina (Htt), que consiste en una expansión repetida de tripletes CAG traducida en un tracto de poliglutamina (poliQ) anormal en la porción amino-terminal de esta proteína^{24, 25}. Esta expansión conduce al plegamiento y la agregación progresiva de Htt mutante, proceso directamente relacionado con la neurodegeneración dependiente de la edad.^{20, 21} La expresión de la proteína Htt mutante provoca una gran cantidad de cambios tanto moleculares como celulares que dan lugar al empeoramiento progresivo de los síntomas. A pesar de que todavía falta

mucho por conocer en relación a los mecanismos neurobiológicos implicados, cabe destacar que la enfermedad comienza con una disminución de los niveles de mRNA y proteína del receptor cannabinoide de tipo 1 (rCB1) en las neuronas de proyección espinosa media del caudado y el putamen. Este fenómeno se produce como consecuencia de un efecto inhibitor de la Htt mutada en el rCB1, y se ha demostrado que contribuye a los déficits cognitivos, conductuales y motores de la patología²⁶. Estos receptores van perdiendo progresivamente su funcionalidad en las etapas tempranas de la enfermedad, ya que están asociados con una regulación negativa/desensibilización en las fases pre sintomáticas de la EH²⁷, aumentando su vulnerabilidad frente a los estímulos citotóxicos del daño celular. Teniendo en cuenta que la activación de estos receptores inhibe la liberación de glutamato, podemos esperar que una disminución en la expresión de los mismos produzca un aumento del glutamato y consecuentemente procesos de excitotoxicidad, contribuyendo con ello a la progresión neurodegenerativa de la enfermedad.²⁶

Durante los últimos años se ha investigado sobre posibles terapias farmacológicas, y actualmente solo se cuenta con la tetrabenazina que aporta un alivio sintomático de la corea, una de las alteraciones motoras características de la EH.²⁸ Sin embargo, ninguno de los nuevos hallazgos obtenidos ha conducido al desarrollo de un medicamento eficaz²⁹ para detener o retrasar la degeneración del estriado en la EH²⁵, hecho que ha motivado en los últimos años a investigar más para poder conseguir tratamientos etiológicos que puedan frenar el desarrollo de la enfermedad. En este sentido, el sistema endocannabinoide ha suscitado un gran interés por su demostrada implicación en numerosos mecanismos que modulan los procesos relacionados con la muerte neuronal²⁹, incluida la excitotoxicidad (a través de la activación de los receptores CB1), eventos inflamatorios (por la activación de los receptores CB2) y fenómenos oxidativos³⁰. Esto ha llevado a la investigación y desarrollo de nuevos abordajes centrados en la modulación de este sistema con el objetivo de evaluar su eficacia en la EH. Como resultado y opción esperanzadora se ha evaluado la utilidad terapéutica del Sativex, un fármaco comercializado y aprobado por las principales agencias reguladoras para el manejo de la espasticidad en EM como se ha comentado previamente. El

Sativex se compone de una combinación en proporción 1:1 de dos compuestos cannabinoides, Δ 9-THC y CBD.

Estudios recientes han analizado la utilidad del Sativex en cuanto a su potencial efecto neuroprotector en modelos animales de la EH. Para ello, se han llevado a cabo estudios con ratas macho en las que se administró ácido 3-nitropropiónico (3NP), inhibidor del complejo mitocondrial II, con el objetivo de generar una atrofia en el estriado y con ello simular la deficiencia característica de los pacientes con EH. La administración de 3NP produce un daño en el cuerpo estriado dando lugar a diferentes alteraciones como deficiencia del neurotransmisor GABA, o reducción en la expresión de la enzima antioxidante SOD-1 y del factor neurotrófico IGF-1. En este modelo, la administración de Sativex atenuó de forma significativa las alteraciones mencionadas.²⁵ En otro estudio también se utilizó un modelo de lesión unilateral del estriado en ratas empleando malonato, un inhibidor del complejo mitocondrial II que produce alteraciones en la respuesta de diferentes marcadores inflamatorios entre los que se encuentra la ciclooxigenasa-2 (COX-2), el iNOS, o el factor de necrosis tumoral (TNF)). En este estudio se analizó principalmente los cambios producidos en iNOS y los efectos de la administración de Sativex. De hecho, el tratamiento con Sativex redujo la regulación positiva inducida por malonato de iNOS.²⁵ Siguiendo la misma línea de acción, se llevaron a cabo estudios farmacológicos en los cuales se emplearon ratones transgénicos R6/2 que reproducen algunos aspectos fisiopatológicos y conductuales de la EH, a los que se administró una combinación de THC y CBD equivalente a la composición del Sativex (haciendo referencia al tratamiento con esta denominación en los resultados que se comentan a continuación). Se realizaron pruebas como el rotarod, destinada a evaluar el equilibrio, la fuerza de agarre y la coordinación motora. Esta prueba mostró un deterioro significativo en el comportamiento motor de los ratones R6/2, que sólo fue revertido parcialmente con la administración del Sativex, atenuando el comportamiento de agarre²⁴. Con respecto a las pruebas metabólicas a nivel cerebral que también se realizaron para valorar funcionalidad en diferentes áreas cerebrales, los resultados obtenidos establecían que los ratones R6/2 mostraron una actividad metabólica reducida en todo el cerebro, pero en

especial en áreas de caudado-putamen y en el globo pálido. Cabe destacar que esta reducción de la actividad metabólica se atenuó notablemente con la administración de Sativex²⁴.

Una vez los ratones fueron sacrificados, se diseccionó el estriado y se utilizó un análisis mediante la técnica de espectroscopia de resonancia magnética de protones, que proporciona medidas de determinados marcadores a través de los cuales poder determinar qué tipo de daño se ha producido. Se encontró una elevación en la relación **Lac/NAA** (lactato/N-acetil-aspartato) en los ratones R6/2, lo que se traduce en un posible déficit energético, disfunción mitocondrial y posible daño neuronal debido a los bajos niveles de NAA. Sin embargo, el tratamiento con Sativex consiguió contrarrestar esta alteración. Por otro lado, su efecto fue altamente eficaz en la recuperación de la relación **NAA/Cho** (N-acetil-aspartato/colina) que se encontraba reducida en los ratones R6/2. También se evidenció una elevación de la relación **Glu/NAA** (glutamato/N-acetil-aspartato) la cual refleja excitotoxicidad, aunque esta respuesta no se vio alterada con el tratamiento cannabinoide. El análisis también reveló una relación **Tau/Cre** (taurina/creatina) elevada, que fue atenuada con la administración del Sativex, mientras que no se observaron cambios en la relación **GSH/Cre** (glutati6n/creatina) (**ver figura 6 para más detalles**)²⁴.

Cabe destacar que debido a la buena tolerancia que presentaba el CBD y su capacidad para atenuar los efectos producidos por el THC, se han realizado estudios *in vivo* en pacientes con EH. Un estudio se llevó a cabo en pacientes del Hospital Ramón y Cajal (Madrid), donde el principal objetivo fue evaluar la seguridad de Sativex y la tolerabilidad durante 12 semanas. En el estudio se diferenciaron dos grupos de pacientes, unos fueron aleatorizados con Sativex seguidos de placebo (Grupo A) y otros con placebo seguidos de Sativex (Grupo B). Para analizar la posible neuroprotección inducida por el Sativex en pacientes con EH, hay que tener en cuenta que los niveles de endocannabinoides end6genos (AEA y 2-AG) y palmitoiletanolamida (PEA) se modifican en las áreas del cerebro de los ratones transg6nicos R6/2. Por tanto,

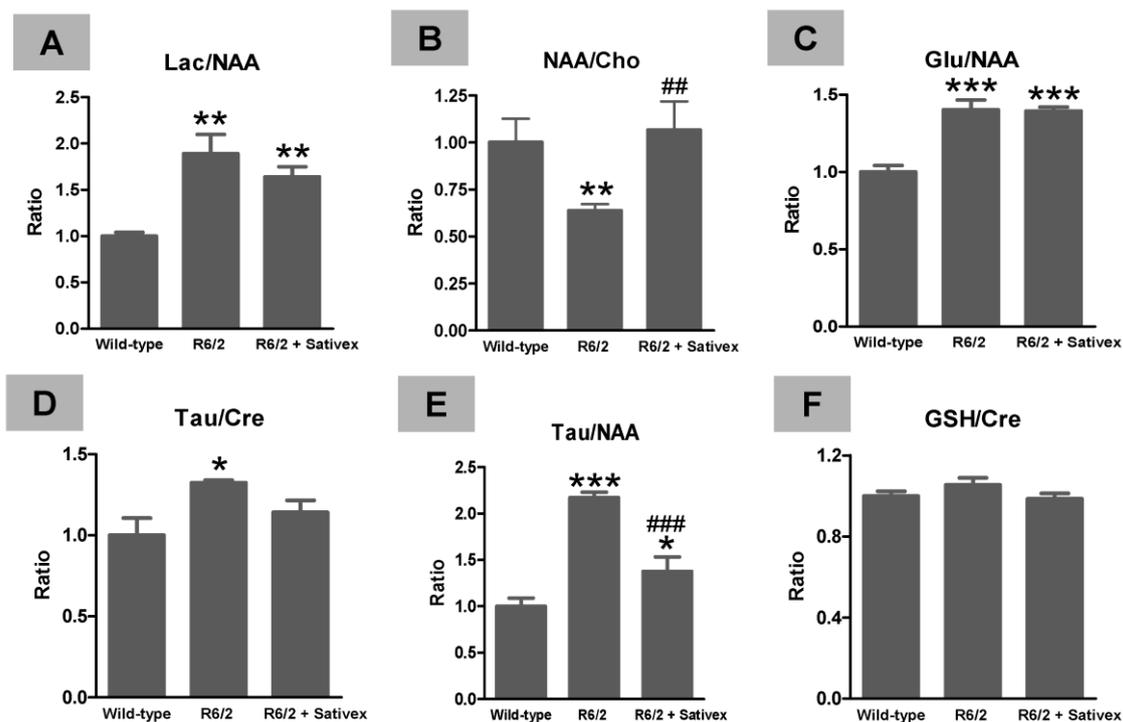


Figura 6 : Resultados del análisis ^1H -MRS del cuerpo estriado post mortem de los animales tratados con 3NP, (24) descripción de los marcadores: relación glutatión / creatina \rightarrow GSH / Cre; relación Lactato / N-acetil-aspartato \rightarrow (Lac / NAA), relación NAA / colina (NAA / Cho) (Imagen extraída: (Valdeolivas, S., et al,2017, Int J Mol Sci)²⁴

un aumento de estos compuestos con potencial acción neuroprotectora en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con EH tratados con Sativex, podría considerarse como potencialmente beneficioso. Sin embargo, en el estudio clínico los niveles de 2-AG y de AEA en LCR fueron indetectables en todos los pacientes evaluados. En cuanto a los resultados que se obtuvieron en relación a la neuroprotección que podía conferir el Sativex, evaluando la mayor o menor expresión de la neurotrofina BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) en el LCR, indicaron que no había diferencias significativas entre los pacientes tratados con Sativex y los pacientes tratados con placebo²⁹.

4.3. Efecto neuroprotector del CBD en síndrome de Lennox-Gastaut

El síndrome de Lennox-Gastaut (SLG) es una encefalopatía epiléptica severa que generalmente se presenta entre los 3 y 5 años de edad, y puede persistir hasta la edad adulta³¹. Puede deberse a diversas etiologías, incluidas

trastornos estructurales, metabólicos y genéticos, pero en muchos casos la causa es desconocida³². La enfermedad se caracteriza por la alta frecuencia de convulsiones incluyendo las de tipo “ataque de caída”, definida como una convulsión epiléptica (atónica, tónica o tónica-clónica) que involucra a todo el cuerpo y podría provocar una caída que se asocian a una tasa 14 veces mayor de mortalidad que el resto de población. Las convulsiones que se atribuyen a esta enfermedad son extremadamente difíciles de controlar e incluso, a pesar del tratamiento, las convulsiones diarias persisten aproximadamente en dos tercios de los pacientes de 10 años. La morbilidad es significativa ya que presenta lesiones de cabeza comunes, además de los violentos “ataques de caída” que suelen acompañar la enfermedad.

Recientemente se ha desarrollado un gran interés por el uso de terapias basadas en cannabinoides especialmente empleando CBD debido a la falta de alternativas terapéuticas, convirtiéndose en una vía prometedora gracias a las evidencias de actividad neuroprotectora y su buena tolerabilidad³³. Se ha demostrado que el CBD es capaz de reducir la frecuencia de las convulsiones en modelos animales de epilepsia, lo que suscitó el desarrollo de ensayos en pacientes, y finalmente se ha conseguido la comercialización y aprobación de un medicamento a base de CBD (Epidiolex)^{34,17}. Se realizaron varios estudios con el mismo *modus operandi* (doble ciego, aleatorizados y de fase III) para valorar la efectividad del cannabidiol, donde los pacientes presentaban un diagnóstico clínico de LGS y tenían un historial de convulsiones que no se trataron adecuadamente con al menos dos medicamentos antiepilépticos. Entre los cuales podemos destacar el estudio de Ostrovsky, D.A.³² donde los pacientes incluidos en el estudio que pertenecían al grupo de tratamiento, fueron tratados con 2,5 mg/kg de una formulación líquida de 100mg/ml de CBD purificado, que se fue incrementando progresivamente. Por otro lado, los pacientes incluidos en el grupo placebo recibieron una dosis visualmente idéntica siguiendo el mismo protocolo que el grupo de tratamiento. La frecuencia media de las crisis de caída al inicio del estudio era de 70 por mes aproximadamente, similar en ambos grupos. Tras 14 semanas de tratamiento las crisis de caída disminuyeron alrededor de un 43,9% en el grupo CBD y un

21,8% en el grupo placebo. Además, también se observó una reducción en el resto de convulsiones en el grupo CBD en comparación con el grupo placebo.³²

Devinsky y cols.³⁵ también llevaron a cabo un estudio doble ciego controlado con placebo en pacientes con el Síndrome de Lennox-Gastaut (rango de edades 2- 55 años), de los cuales 76 recibieron una dosis de 20 mg/kg de CBD, 73 una dosis de 10 mg/kg de CBD y 76 fueron tratados con placebo en dosis diarias durante 14 semanas. Los resultados que se obtuvieron fueron analizados y coinciden con que el grupo que había sido tratado con 20 mg/kg disminuyó en un 41,9% la frecuencia de las crisis de caída. Asimismo, el grupo de 10 mg/kg de CBD disminuyó en un 17,2% los ataques de caída y el placebo solo disminuyó un 17.2%. Por otro lado, el porcentaje de pacientes que tuvieron al menos una reducción del 50% con respecto al inicio en la frecuencia de crisis convulsiva fue mayor en el grupo de 20 mg/kg de CBD (39%) y en el grupo de 10 mg/kg (36%) que en el grupo placebo (14%). Finalmente, el porcentaje de pacientes que tuvieron al menos una reducción del 75% con respecto al inicio en la frecuencia de crisis convulsiva fue más representativa en el grupo de 20 mg/kg de CBD con un 25%. En el grupo de 10mg/kg se observó un 11%, mientras que el grupo placebo solo mostró un 3%³⁵.

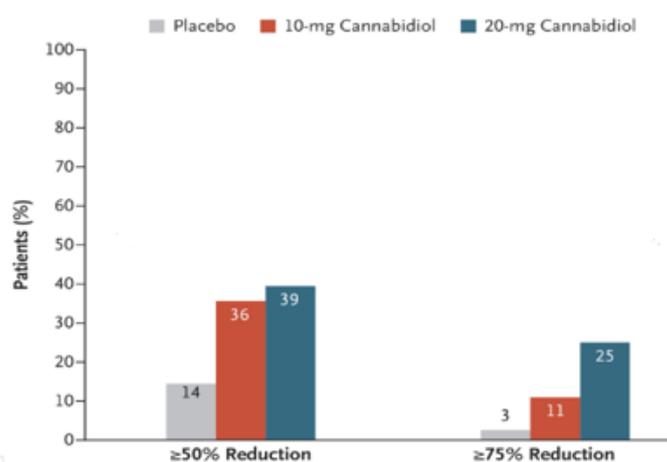


Figura 7: Efectos del **CBD** y placebo sobre los porcentajes de reducción de las **crisis convulsivas** en pacientes con el síndrome de Lennox-Gastaut. A mayor dosis de **CBD** se incrementa el porcentaje de pacientes en los que se produce una reducción igual o superior al 50% o 75% de las crisis convulsivas. Imagen extraída de: (Devinsky, O., et al, 2018, N Engl J Med)³⁵.

Resultados muy similares se obtuvieron con estudios realizados en Estados Unidos donde se encuestaron a 12 padres y madres cuyos hijos presentaban SLG, y se exploró el uso de la terapia de cannabis enriquecida con CBD. Se observó una reducción de >80% en la frecuencia de las crisis, además de presentar una mejor alerta y falta de efectos secundarios³⁶. También se llegó a desarrollar una encuesta breve y simplificada para poder determinar las impresiones de los padres sobre la eficacia y los efectos del CBD. Del total de los padres encuestados con hijos que sufrían el SLG y que habían estado en tratamiento con CBD, 100 (85%) informaron de una reducción en la frecuencia de convulsiones, 16 (14%) informaron un cese total de las convulsiones y el resto no informaron de cambios³⁷.

Como ya se ha comentado previamente, tras varios ensayos clínicos finalmente se ha desarrollado el fármaco Epidiolex, que ya ha recibido la aprobación por parte de la FDA (*Food and Drug Administration*) y se encuentra ahora en evaluación por parte de la EMA (*European Medicines Agency*). Ha sido definida como la “primera droga compuesta por un tratamiento activo derivado de la marihuana” para pacientes de 2 años o más que tienen el Síndrome de Lennox-Gastaut.³⁸ Se realizó un estudio donde se evaluó la eficacia y tolerabilidad en pacientes que habían estado en tratamiento con CBD desde el 2016. Los pacientes recibieron una formulación farmacéutica de CBD altamente purificado (Epidiolex 100 mg/ml) en solución oral de 2-10 mg/kg/día, la cual fue oscilando entre 21 y 25 mg/kg/día durante las semanas 12-96. La proporción de pacientes con una disminución de >50%, 75% y 100% en las convulsiones motoras fue del 53%, 23% y 5%, respectivamente, y afirmaron además que el tratamiento tenía un perfil de seguridad aceptable³⁹.

Con todo lo comentado hay que añadir que durante las convulsiones las neuronas entran en un estado hiperexcitable sostenido que puede conducir a la pérdida subsiguiente de la función y / o muerte celular excitotóxica. Además, durante estados de convulsiones prolongadas como es el caso de un estado epiléptico, la despolarización neuronal prolongada conduce a una privación de energía que produce una lesión cerebral isquémica hipóxica. Por lo que es de notable interés evaluar los efectos del CBD como posible candidato para la neuroprotección en la epilepsia. Para probar los efectos neuroprotectores del

CBD se llevó a cabo un estudio experimental con lechones de cerdo, a los cuales se les indujo un estado de hipoxia (mediante el pinzamiento de ambas arterias carótidas con oclusores vasculares), muy cercana a la asfixia perinatal en neonatos humanos. Una vez habían entrado en estado de hipoxia se les administró una solución que contenía CBD (0,1 mg/kg). El efecto neuroprotector se evidenció en los lechones a los que se les había inducido la hipoxia dado que se redujo tanto la pérdida de neuronas viables como el aumento de células picnóticas (consideradas células degenerativas). La administración de CBD redujo la pérdida de neuronas viables en un 60% en la corteza y un 50% en el hipocampo^{2, 40}.

4.4 Efecto neuroprotector del CBD en la esclerosis múltiple

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad crónica, autoinmune, causada por la inflamación y la neurodegeneración que se asocia con una amplia clasificación de síntomas del SNC. El inicio de la enfermedad suele ser en etapas tempranas y los síntomas más comunes pueden dividirse en síntomas físicos como son fatiga, entumecimiento, hormigueo, espasticidad muscular; y en síntomas sensoriales, como problemas con el equilibrio y la visión, el oído, y la función intestinal y vesical. Además, se acompaña de alteraciones cognitivas y trastornos psicológicos que pueden afectar negativamente a la independencia en las acciones de la vida diaria⁴¹. Aunque su etiología aún no se ha definido completamente, las evidencias sugieren que la enfermedad se desarrolla por causa de una respuesta autoinmune aberrante en los linfocitos T y B que destruyen la vaina de mielina que rodea las neuronas, lo que conduce a los principales síntomas clínicos y déficits neurológicos de la EM⁴².

La espasticidad es un síntoma común de la EM que afecta a un 80% de los pacientes y es uno de los principales problemas que afecta negativamente el resultado funcional motor del paciente, incluido caminar⁴³. La fisiopatología de la espasticidad no está completamente definida, pero se cree que está causada por una degeneración axonal o mal funcionamiento en tractos espinales descendentes específicos, que dan lugar a una debilidad de los

músculos flexores con un aumento del tono muscular “espástico” y una menor destreza de los músculos involucrados. Numerosas líneas de evidencia sugieren que la espasticidad tiene un difícil manejo con las terapias antiespásticas convencionales. Por lo tanto, para mejorar los resultados para la mayoría de los pacientes con EM, es necesario enfoques alternativos y nuevas terapias menos invasivas⁴². Hace unos años se comercializó el Sativex cuya indicación principal es el tratamiento de los síntomas en pacientes adultos con espasticidad moderada-severa que no han respondido adecuadamente a otros medicamentos^{42,44}. En un estudio fase 3, doble ciego realizado con 189 pacientes con EM de varios centros, con una duración de 6 semanas, se valoró el cambio diario en el grado de gravedad de la espasticidad, a través de la escala de calificación visual/numérica (NRS), que demostró que 48 pacientes con EM tratados con Sativex presentaron una reducción >30% en la espasticidad en comparación con 14 en el grupo placebo, y 21 pacientes tratados con Sativex demostraron una reducción de >50% en la espasticidad en comparación con 6 pacientes del grupo placebo⁴⁵.

El perfil de riesgo-beneficio para Sativex también fue confirmado por las evaluaciones posteriores a la comercialización para recopilar datos de seguridad de pacientes a los cuales se les había prescrito Sativex con el objetivo de monitorizar su seguridad a largo plazo después de su aprobación en países europeos. El estudio de seguridad española se realizó sobre 207 pacientes de 13 centros con EM de toda España que recopilaron datos sobre la seguridad del tratamiento con Sativex. No hubo hallazgos significativos sobre la seguridad después de 6-12 meses. En el estudio los pacientes recibían una dosis media de 6.6 pulverizaciones/día. Se observaron 5 incidencias psiquiátricas/psicóticas.⁴⁶

La amplia evidencia de los estudios *in vivo* que avala la utilidad terapéutica y seguridad del Sativex, ha impulsado al desarrollo de estudios *in vitro* que han permitido seguir valorando su eficacia en la EM. De esta forma, algunos estudios realizados con ratones investigaron si la administración sistémica de CBD en el momento de la aparición de rasgos representativos de la EM, podría afectar a la progresión del modelo. Para ello, uno de los modelos animales comúnmente utilizados es la encefalomiелitis autoinmune

experimental (EAE), que se induce cuando los animales se inmunizan con componentes de mielina como por ejemplo la proteína básica de mielina, proteína proteolítica o glicina de oligodendrocito de mielina (MOG), o por la transferencia de células T específicas de mielina autoreactivas para producir desmielinización y signos clínicos y neurológicos que simulan la EM. Los ratones inmunizados con MOG desarrollaron un fenotipo grave con parálisis completa de las extremidades. La administración de 3 dosis de CBD (5mg/kg/día) durante el inicio del modelo dieron como resultado una mejoría de las alteraciones inducidas en los animales, evaluadas mediante una escala global de valoración (*Disease severity scoring*) (**ver imagen 8**). Los ratones tratados con CBD mostraron laxitud en su cola y parestesias parciales de las extremidades que fueron evolucionando lentamente alcanzando un nivel leve de afectación al final del estudio, en comparación con los animales que desarrollaron la EAE y que no fueron tratados⁴⁷.

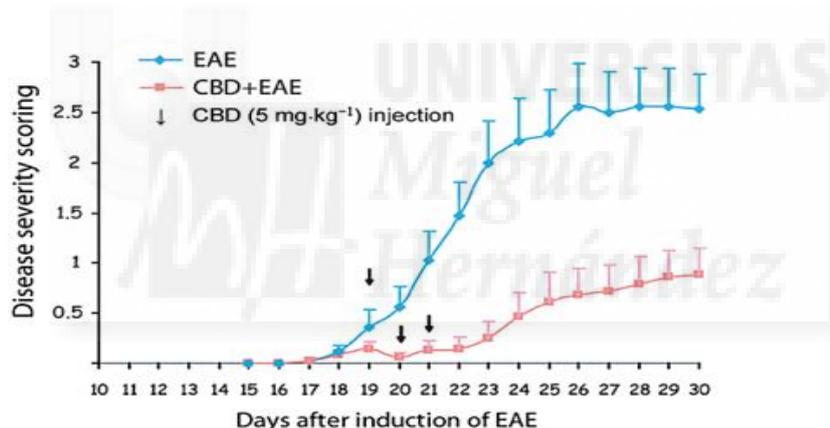


Figura 8: Se muestra el progreso de la enfermedad **EAE** en pacientes que han sido inyectados (3 veces) con **CBD** y en comparación con pacientes que no habían sido tratados. Imagen extraída: (Kozela, E., et al.,2011, Br J Pharmacol) ⁴⁷.

La EM se caracteriza por una combinación de procesos inflamatorios y neurodegenerativos que varían en diferentes etapas de la enfermedad. Por ello, surge el objetivo de terapias centradas en la etapa inflamatoria y terapias para restaurar la función perdida, ya que la enfermedad se acompaña de la destrucción de mielina con fracaso para remielinizar y daño axonal. La remielinización es un proceso regulado endógenamente basado en la generación de nuevos oligodendrocitos maduros. Estas células proporcionan nuevas vainas de mielina a los axones desmielinizados, promoviendo la recuperación de la integridad axonal y los déficits funcionales. La mayoría de

las terapias actuales para la EM se dirigen hacia la modulación de la respuesta inmunitaria. Sin embargo, se necesitan urgentemente nuevas terapias dirigidas a la remielinización axonal. Como ya se ha comentado, algunos compuestos cannabinoides como el CBD actúan sobre múltiples dianas y ya han sido introducidos en la práctica clínica. Actualmente se está investigando más sobre la potencial utilidad de este tipo de compuestos cannabinoides. En este sentido, recientemente se ha descubierto que un compuesto denominado VCE-004.8, un derivado de aminoquinona del cannabidiol con potente actividad antiinflamatoria, podría modular vías moleculares sensibles al hierro como el factor inducible por hipoxia (HIF). El HIF es un factor de transcripción ubicuo que se acumula en respuesta a la hipoxia y regula una gran cantidad de genes involucrados en muchos procesos biológicos, como la eritropoyesis y la angiogénesis, tono vascular, e inmunidad. El HIF podría tener un papel beneficioso en la EM al modular la respuesta inmune y favorecer la neuroprotección y la regeneración axonal. El precondicionamiento a la hipoxia se ha visto que es beneficioso para una gran cantidad de trastornos neurodegenerativos incluyendo la EM, e implica una activación del factor inducible por hipoxia (HIF). Para evaluar esta posibilidad, C. Navarrete y cols.⁴⁸ llevaron a cabo estudios donde se investigó el efecto de estabilizar la ruta HIF con VCE-004.8 *in vitro*, usando células endoteliales microvasculares de cerebro humano (HBMEC). Esto indujo la expresión de eritropoyetina y factor de crecimiento endotelial vascular, considerados genes dependientes de HIF, lo que dio lugar a una mejora de la migración de oligodendrocitos y a angiogénesis. La desmielinización y el daño axonal que acompañan la EM fue un objetivo de estudio a valorar con la administración de VCE-004.8. Para ello se observó su impacto en un modelo de EAE como modelo de EM realizado en la medula espinal de ratones. Para determinar la extensión de la desmielinización, la mielina se tiñó con un kit de tinción de mielina con complejo de fosfato de oro en preparaciones teñidas, revelándose la mielina por su color negro intenso. Los resultados mostraron que los ratones que no habían sido tratados con el compuesto sufrieron una intensa desmielinización en la medula espinal que fue bloqueada en los ratones tratados con VCE-004.8, previniendo la desmielinización y el daño axonal, así como la infiltración de células inmunitarias⁴⁸.

No fue el único estudio donde se evaluó el efecto del CBD en modelos de EAE, también se puede destacar otro estudio donde se evaluó la utilidad del tratamiento con CBD en la neuroinflamación, centrada en el papel de células supresoras derivadas de mieloides (MDSCs), las cuales se ha visto que pueden desempeñar un papel crítico en la supresión de la neuroinflamación. Recientemente se ha demostrado que cuando se administra CBD en ratones, se inducen unas cantidades masivas de MDSCs que son altamente inmunosupresoras. Por lo que la investigación se centró en valorar si el CBD confirió una respuesta inflamatoria suprimida al desencadenar un aumento de las MDSC y la consiguiente supresión de las células T. El experimento para estudiar dicho efecto se realizó induciendo EAE a ratones usando MOG (oligodendrocito glicoproteína de mielina), y se trató a los ratones con vehículo (EAE-VEH) o CBD (EAE-CBD). Los ratones EAE-VEH desarrollaron progresivamente el fenotipo característico y representativo de la enfermedad, mientras que en los ratones EAE-CBD se retrasó y atenuó la aparición de las alteraciones típicas. Además, el tratamiento con CBD redujo significativamente el número elevado de células CD3⁺CD4⁺ y CD3⁺CD8⁺ observadas en el SNC de ratones EAE-VEH. El suero recogido de los ratones EAE-VEH mostró niveles elevados de diversos mediadores inflamatorios: IFN γ , IL-17, TNF α y IL-10. Sin embargo, cabe destacar que células similares de ratones EAE-CBD produjeron significativamente menos IFN γ e IL-17, incrementaron la producción de IL-10, mientras que no hubo cambios en el TNF α . De forma conjunta, estos datos demostraron que el tratamiento con CBD promovía las citoquinas antiinflamatorias y los factores de transcripción, al mismo tiempo que disminuía las enzimas proinflamatorias⁴⁹.

5. DISCUSIÓN

En este trabajo de revisión bibliográfica hemos podido examinar la posible utilidad terapéutica del CBD en diferentes enfermedades neurodegenerativas. En los últimos años se ha incrementado el interés sobre su posible utilidad como tratamiento para prevenir la neurodegeneración en la EA, la EH, el síndrome de Lennox-Gastaut y la EM¹¹.

En lo referente a los efectos encontrados tras realizar la revisión, podemos afirmar que en la EA el objetivo principal de los estudios ha sido la implicación del CBD en la regulación de la enfermedad analizando su intervención en procesos inflamatorios, de proliferación, de estrés oxidativo y diferenciación celular. Como es conocido, el estrés oxidativo es producido por la disposición anormal del péptido β -amiloide ($A\beta$), una de las principales dianas de acción para poder regular la enfermedad. $A\beta$ induce estrés oxidativo que da lugar a la generación de proteínas proinflamatorias neurotóxicas. A través de los estudios se ha podido comprobar que un tratamiento con CBD es capaz de inducir una disminución de $A\beta$ y por tanto producir este efecto antioxidante buscado.

Además, se ha demostrado que el CBD regula la gliosis reactiva al interactuar en el sitio PPAR γ junto con una marcada disminución de las moléculas proinflamatorias y la liberación de citoquinas, producidas por la neurotoxicidad de $A\beta$. Esto

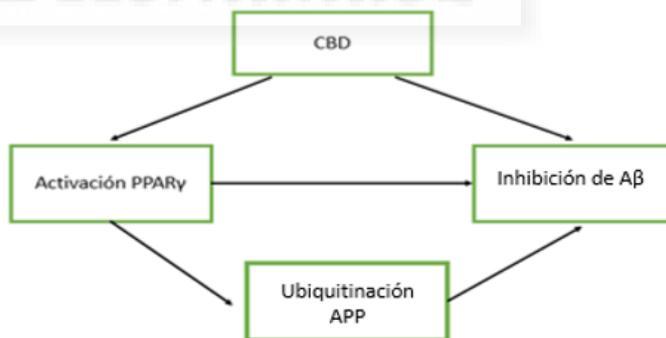


FIGURA 9: Mecanismos potencialmente implicados en la acción neuroprotectora del CBD en la EA. La actuación del CBD puede inducir a una ubiquitinación de la APP produciendo una inhibición de $A\beta$ mediada a su vez por PPAR γ . (Imagen de edición propia)

se relacionó con que el CBD actúa como potente inhibidor de la activación de NF- κ B, implicada en multitud de procesos de proliferación, apoptosis, diferenciación celular y disminución a su vez de iNOS. Del mismo modo, la evaluación con CBD hizo que se inhibiera la inducción de NF- κ B, actuando sobre el efecto inflamatorio. También se evaluó el posible efecto beneficioso de

actuar sobre el factor de transcripción PPAR γ , implicado en numerosos procesos inflamatorios, de proliferación y diferenciación celular y como su efecto está relacionado con la APP, sobreexpresada en EA. El tratamiento con CBD disminuyó la expresión de células APP características de los pacientes con EA, y se relacionó con la participación de PPAR γ . El efecto se relacionó con una ubiquitinación de la APP por parte del CBD que inhibía A β mediada por la activación de PPAR γ . Lo que se traduce en que la ubiquitinación de la APP producida por el CBD puede producir una inhibición de la AB mediada por la actividad de PPAR γ **ver figura 9**). Esta capacidad del CBD para reducir la expresión de A β afecta de manera positiva a la supervivencia neuronal. Por lo que se ha postulado que el agonismo de CBD sobre PPAR γ es una herramienta prometedora para contrarrestar la progresión de trastornos neurológicos debido a la combinación única de propiedades antiinflamatorias y antioxidantes.

El efecto neuroprotector del CBD también se ha evaluado a través del Sativex y más concretamente en la EH, donde la patogenia se reproduce eficazmente en modelos de degeneración del estriado inducida por 3NP o en ratones transgénicos R6/2. Se vio que el Sativex fue capaz de atenuar estos efectos dando lugar a un efecto protector. También se evaluaron sus efectos en ratas tratadas con malonato, donde el daño del estriado que se produce está más relacionado con los factores proinflamatorios, encontrándose que el tratamiento con Sativex conduce a una disminución de los principales marcadores inflamatorios entre los que se encuentran COX-2, iNOS, y TNF. Sin embargo, el Sativex no dio lugar a ninguna mejoría ni tampoco empeoramiento relevante cuando se evaluaron aspectos motores, cognitivos o emocionales.

En lo referente al síndrome de Lennox-Gastaut, el CBD ha mostrado un perfil farmacológico interesante en el manejo de la enfermedad, teniendo muchas evidencias sobre la elevada efectividad del CBD en cuanto al control de las convulsiones. Los resultados de todos los estudios analizados concluyeron que el CBD fue capaz de disminuir el número de crisis convulsivas en pacientes con SLG, y que esto de alguna forma estaba relacionado con las dosis de CBD que habían sido administradas. Estos hallazgos, junto con la

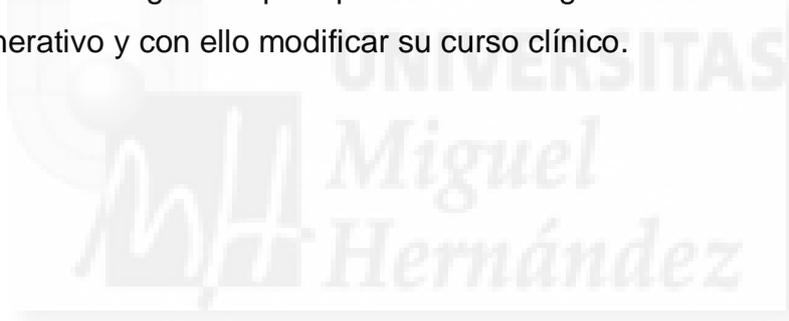
buena tolerabilidad y seguridad del CBD, han conducido al desarrollo de un compuesto, actualmente ya comercializado, llamado Epidiolex, que se trata de una formulación que contiene CBD altamente purificado. En cuanto al efecto neuroprotector relacionado con el SLG, existen muy pocas evidencias y se está empezando a investigar más en profundidad sobre este posible efecto. Actualmente los datos de los que se dispone sugieren que el tratamiento de CBD puede mostrar actividad neuroprotectora. De hecho, el CBD redujo el número de células viales inducidas por el anteriormente mencionado HIF, además de reducir el número de neuronas en degeneración en respuesta a HIF. Por tanto, se podría concluir que el CBD redujo el daño cerebral a corto plazo, efecto que sería atribuible a una reducción del deterioro hemodinámico cerebral inducida por el CBD, la mejora de la actividad metabólica cerebral, la reducción del edema cerebral, y la reducción de las convulsiones.

Existe una amplia evidencia clínica que confirma que el CBD, en combinación con THC (Sativex), mejora la sintomatología asociada a EM. Como se ha comentado, el Sativex produce una mejora significativa de la espasticidad muscular y reduce el dolor asociado, además de mostrar capacidad para disminuir la progresión de la enfermedad. Asimismo, en ratones inmunizados que desarrollaron rasgos similares a la EM, se observó que el tratamiento con CBD consiguió mejorar ciertos rasgos relacionados con la EM y retrasar la progresión del modelo. La aparición de nuevos compuestos cannabinoides como el VCE-004.8, que comparte alguno de los mecanismos de acción del CBD, ha demostrado la capacidad de prevenir la desmielinización y el daño axonal, además de regular a la baja la expresión de varios genes asociados con la fisiopatología de la EM, incluidos los subyacentes a la producción de citoquinas, atenuando la neuroinflamación.

En resumen, en línea con las perspectivas prometedoras generadas por los efectos beneficiosos del CBD a través de los numerosos estudios realizados hasta la fecha, es evidente su elevado potencial terapéutico para el tratamiento de las patologías que se han revisado en este trabajo. Sin embargo, cabe mencionar que siguen existiendo multitud de inquietudes y reticencias acerca de su seguridad, principalmente por ser un compuesto derivado de la planta *Cannabis sativa*. Incluso en Estados Unidos este

compuesto es actualmente ilegal a nivel federal e incluido en la lista de sustancias controladas, a pesar de que actualmente se haya demostrado con gran variedad de estudios que este compuesto está dotado de una amplia efectividad y seguridad con ausencia de propiedades adictivas. Como claro ejemplo de su seguridad podríamos destacar el hallazgo, uso, y comercialización del nuevo medicamento Epidiolex destinado a tratar varios tipos de epilepsia infantil como el ya mencionado síndrome de Lennox-Gastaut, o el síndrome de Dravet.

En general, los hallazgos que se muestran en este trabajo proporcionan una visión de la evidencia preclínica sobre el potencial terapéutico del CBD en cuanto a sus efectos neuroprotectores. Aun así, son necesarios más estudios que avalen el impulso del desarrollo e investigación del CBD con el objetivo de poder establecer su utilidad en el marco de futuras terapias modificadoras de enfermedad neurológicas que puedan conseguir ralentizar el proceso neurodegenerativo y con ello modificar su curso clínico.



5. CONCLUSIONES

1. Los estudios que se han revisado en este trabajo sugieren que el CBD es un compuesto esperanzador para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas dadas sus propiedades neuroprotectoras.
2. En la enfermedad de Alzheimer, el CBD ha demostrado ejercer efectos antioxidantes, antiapoptóticos y antiinflamatorios.
3. En la enfermedad de Huntington, el Sativex (THC + CBD) ha demostrado un efecto antiinflamatorio y atenúa la degeneración del estriado. Sin embargo, no ha tenido efectos en el progreso cognitivo y motor de la enfermedad.
4. En la esclerosis múltiple, el CBD mejora de forma significativa la espasticidad muscular y reduce el dolor asociado.
5. El CBD ha mostrado capacidad para disminuir la progresión del proceso de desmielinización y el daño axonal que acontece en la esclerosis múltiple.
6. El CBD podría tener un papel relevante como agente neuroprotector al atenuar las consecuencias de la hipoxia que puede acompañar a las crisis convulsivas.

7. ANEXO: ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
CBD	Cannabidiol
FAAH	Amidohidrolasa de ácidos grasos
LGS	Síndrome de Lennox-Gastaut
THC	Tetrahidrocannabidiol
HU-210	Análogos sintéticos de THC
CP55-940	Análogos sintéticos de THC
SNC	Sistema Nervioso Central
rCB1	Receptores endocannabinoides
rCB2	Receptores endocannabinoides
ECS	Sistema endocannabinoide
2-AG	2-araquidonoilglicerol
MAGL	Monoacilglicerol lipasa
NAT	Enzima N-aciltransferasa
NARPE	N-araquidonil-fosfatidiletanolamina
EMT	Sistema de transporte de cannabinoides endógenos
DAGL	Enzima diacilglicerol lipasa.
GPCR	Receptores acoplados a proteínas G
EA	Enfermedad de Alzheimer
EP	Enfermedad de Parkinson
PGE2	Prostaglandinas E2
NO	Óxido nítrico
COX	Ciclooxigenasa tisular
VR1	Receptores vanilloide tipo 1
5-HT1a	Receptor serotoninérgico
TRPV1	Receptor vanilloide 1
TRPA1	Receptor transitorio potencial ankyrin 1
PPAR γ	Receptor peroxisoma receptor-gamma activado por proliferador
GPR55	Receptor acoplado a proteína G huérfana
EM	Esclerosis múltiple
Aβ	Proteína beta amiloide
APP	Proteína precursora de amiloide
INOS	Óxido nítrico sintasa inducible
NMDA	Receptor glutamatérgico de N-metil-D-aspartato
(NF-κB	Factor de transcripción nuclear kappa B
PPAR	Proliferador de peroxisomas
SHSY5Y	Neuronas humanas
MK886 y GW9662	Antagonistas selectivos de PPAR α y PPAR γ
EH	Enfermedad de Huntington
Htt	La proteína huntingtina
poliQ	Poli-glutamina
3NP	Ácido 3-nitropropiónico
SOD-1	Enzima antioxidante
IGF-1	Factor neurotrófico
TNF	Factor de necrosis tumoral
BDNF	Neurotrópica implicada en la supervivencia neuronal
SLG	Síndrome de Lennox-Gastaut
NRS	Calificación visual/numérica
EAE	Encefalomiелitis autoinmune experimental
MOG	Glicina de oligodendrocito de mielina

VCE-004.8	Derivado de aminoquinona del cannabidiol
HIF	Factor inducible por hipoxia
HBMEC	Células endoteliales microvasculares de cerebro humano
MDSCs	Células supresoras derivadas de mieloides



8. BIBLIOGRAFÍA

1. Mannucci, C., et al., *Neurological Aspects of Medical Use of Cannabidiol*. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2017. **16**(5): p. 541-553.
2. Rosenberg, E.C., P.H. Patra, and B.J. Whalley, *Therapeutic effects of cannabinoids in animal models of seizures, epilepsy, epileptogenesis, and epilepsy-related neuroprotection*. Epilepsy Behav, 2017. **70**(Pt B): p. 319-327.
3. Campos, A.C., et al., *Cannabidiol, neuroprotection and neuropsychiatric disorders*. Pharmacol Res, 2016. **112**: p. 119-127.
4. Mechoulam, R., et al., *Cannabidiol--recent advances*. Chem Biodivers, 2007. **4**(8): p. 1678-92.
5. Zuardi, A.W., *Cannabidiol: from an inactive cannabinoid to a drug with wide spectrum of action*. Braz J Psychiatry, 2008. **30**(3): p. 271-80.
6. Karl, T., B. Garner, and D. Cheng, *The therapeutic potential of the phytocannabinoid cannabidiol for Alzheimer's disease*. Behav Pharmacol, 2017. **28**(2 and 3-Spec Issue): p. 142-160.
7. Mechoulam, R. and A.H. Lichtman, *Neuroscience. Stout guards of the central nervous system*. Science, 2003. **302**(5642): p. 65-7.
8. Iuvone, T., et al., *Cannabidiol: a promising drug for neurodegenerative disorders?* CNS Neurosci Ther, 2009. **15**(1): p. 65-75.
9. Fernandez-Ruiz, J., et al., *Cannabidiol for neurodegenerative disorders: important new clinical applications for this phytocannabinoid?* Br J Clin Pharmacol, 2013. **75**(2): p. 323-33.
10. Vallee, A., et al., *Effects of cannabidiol interactions with Wnt/beta-catenin pathway and PPARgamma on oxidative stress and neuroinflammation in Alzheimer's disease*. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2017. **49**(10): p. 853-866.
11. Cheng, D., et al., *Chronic cannabidiol treatment improves social and object recognition in double transgenic APPswe/PS1E9 mice*. Psychopharmacology (Berl), 2014. **231**(15): p. 3009-17.
12. Scuderi, C., L. Steardo, and G. Esposito, *Cannabidiol promotes amyloid precursor protein ubiquitination and reduction of beta amyloid expression in SHSY5YAPP+ cells through PPARgamma involvement*. Phytother Res, 2014. **28**(7): p. 1007-13.
13. Martin-Moreno, A.M., et al., *Cannabidiol and other cannabinoids reduce microglial activation in vitro and in vivo: relevance to Alzheimer's disease*. Mol Pharmacol, 2011. **79**(6): p. 964-73.
14. Izzo, A.A., et al., *Non-psychoactive plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb*. Trends Pharmacol Sci, 2009. **30**(10): p. 515-27.
15. Cheng, D., et al., *Long-term cannabidiol treatment prevents the development of social recognition memory deficits in Alzheimer's disease transgenic mice*. J Alzheimers Dis, 2014. **42**(4): p. 1383-96.
16. Massi, P., et al., *Cannabidiol as potential anticancer drug*. Br J Clin Pharmacol, 2013. **75**(2): p. 303-12.
17. Chen, J.W., L.M. Borgelt, and A.B. Blackmer, *Cannabidiol: A New Hope for Patients With Dravet or Lennox-Gastaut Syndromes*. Ann Pharmacother, 2019. **53**(6): p. 603-611.
18. Esposito, G., et al., *Cannabidiol inhibits inducible nitric oxide synthase protein expression and nitric oxide production in beta-amyloid stimulated PC12 neurons through p38 MAP kinase and NF-kappaB involvement*. Neurosci Lett, 2006. **399**(1-2): p. 91-5.
19. Osborne, A.L., N. Solowij, and K. Weston-Green, *A systematic review of the effect of cannabidiol on cognitive function: Relevance to schizophrenia*. Neurosci Biobehav Rev, 2017. **72**: p. 310-324.

20. Libro, R., et al., *Cannabidiol Modulates the Expression of Alzheimer's Disease-Related Genes in Mesenchymal Stem Cells*. *Int J Mol Sci*, 2016. **18**(1).
21. Watt, G. and T. Karl, *In vivo Evidence for Therapeutic Properties of Cannabidiol (CBD) for Alzheimer's Disease*. *Front Pharmacol*, 2017. **8**: p. 20.
22. Esposito, G., et al., *Cannabidiol reduces Abeta-induced neuroinflammation and promotes hippocampal neurogenesis through PPARgamma involvement*. *PLoS One*, 2011. **6**(12): p. e28668.
23. Esposito, G., et al., *Cannabidiol in vivo blunts beta-amyloid induced neuroinflammation by suppressing IL-1beta and iNOS expression*. *Br J Pharmacol*, 2007. **151**(8): p. 1272-9.
24. Valdeolivas, S., et al., *Effects of a Sativex-Like Combination of Phytocannabinoids on Disease Progression in R6/2 Mice, an Experimental Model of Huntington's Disease*. *Int J Mol Sci*, 2017. **18**(4).
25. Sagredo, O., et al., *Neuroprotective effects of phytocannabinoid-based medicines in experimental models of Huntington's disease*. *J Neurosci Res*, 2011. **89**(9): p. 1509-18.
26. Consroe, P., et al., *Controlled clinical trial of cannabidiol in Huntington's disease*. *Pharmacol Biochem Behav*, 1991. **40**(3): p. 701-8.
27. Chang, R., et al., *Transgenic animal models for study of the pathogenesis of Huntington's disease and therapy*. *Drug Des Devel Ther*, 2015. **9**: p. 2179-88.
28. Richard, A. and S. Frank, *Deutetrabenazine in the treatment of Huntington's disease*. *Neurodegener Dis Manag*, 2019. **9**(1): p. 31-37.
29. Lopez-Sendon Moreno, J.L., et al., *A double-blind, randomized, cross-over, placebo-controlled, pilot trial with Sativex in Huntington's disease*. *J Neurol*, 2016. **263**(7): p. 1390-400.
30. Laprairie, R.B., et al., *Biased Type 1 Cannabinoid Receptor Signaling Influences Neuronal Viability in a Cell Culture Model of Huntington Disease*. *Mol Pharmacol*, 2016. **89**(3): p. 364-75.
31. Tampaki, E.C., A. Tampakis, and K. Pantos, *Cannabidiol in the Lennox-Gastaut Syndrome*. *N Engl J Med*, 2018. **379**(8): p. 794.
32. Ostrovsky, D.A. and A. Ehrlich, *Addition of Cannabidiol to Current Antiepileptic Therapy Reduces Drop Seizures in Children and Adults With Treatment-Resistant Lennox-Gastaut Syndrome*. *Explore (NY)*, 2018. **14**(4): p. 311-313.
33. Montouris, G.D., J.W. Wheless, and T.A. Glauser, *The efficacy and tolerability of pharmacologic treatment options for Lennox-Gastaut syndrome*. *Epilepsia*, 2014. **55 Suppl 4**: p. 10-20.
34. *Cannabidiol (Epidiolex) for epilepsy*. *Med Lett Drugs Ther*, 2018. **60**(1559): p. 182-184.
35. Devinsky, O., et al., *Effect of Cannabidiol on Drop Seizures in the Lennox-Gastaut Syndrome*. *N Engl J Med*, 2018. **378**(20): p. 1888-1897.
36. Devinsky, O., et al., *Cannabidiol: pharmacology and potential therapeutic role in epilepsy and other neuropsychiatric disorders*. *Epilepsia*, 2014. **55**(6): p. 791-802.
37. Hussain, S.A., et al., *Perceived efficacy of cannabidiol-enriched cannabis extracts for treatment of pediatric epilepsy: A potential role for infantile spasms and Lennox-Gastaut syndrome*. *Epilepsy Behav*, 2015. **47**: p. 138-41.
38. Rubin, R., *The Path to the First FDA-Approved Cannabis-Derived Treatment and What Comes Next*. *JAMA*, 2018. **320**(12): p. 1227-1229.
39. Laux, L.C., et al., *Long-term safety and efficacy of cannabidiol in children and adults with treatment resistant Lennox-Gastaut syndrome or Dravet syndrome: Expanded access program results*. *Epilepsy Res*, 2019. **154**: p. 13-20.
40. Alvarez, F.J., et al., *Neuroprotective effects of the nonpsychoactive cannabinoid cannabidiol in hypoxic-ischemic newborn piglets*. *Pediatr Res*, 2008. **64**(6): p. 653-8.
41. Celius, E.G. and C. Vila, *The influence of THC:CBD oromucosal spray on driving ability in patients with multiple sclerosis-related spasticity*. *Brain Behav*, 2018. **8**(5): p. e00962.

42. Giacoppo, S., P. Bramanti, and E. Mazzon, *Sativex in the management of multiple sclerosis-related spasticity: An overview of the last decade of clinical evaluation*. *Mult Scler Relat Disord*, 2017. **17**: p. 22-31.
43. Russo, M., et al., *The role of Sativex in robotic rehabilitation in individuals with multiple sclerosis: Rationale, study design, and methodology*. *Medicine (Baltimore)*, 2017. **96**(46): p. e8826.
44. Wade, D.T., et al., *Do cannabis-based medicinal extracts have general or specific effects on symptoms in multiple sclerosis? A double-blind, randomized, placebo-controlled study on 160 patients*. *Mult Scler*, 2004. **10**(4): p. 434-41.
45. Collin, C., et al., *Randomized controlled trial of cannabis-based medicine in spasticity caused by multiple sclerosis*. *Eur J Neurol*, 2007. **14**(3): p. 290-6.
46. Keating, G.M., *Delta-9-Tetrahydrocannabinol/Cannabidiol Oromucosal Spray (Sativex((R))): A Review in Multiple Sclerosis-Related Spasticity*. *Drugs*, 2017. **77**(5): p. 563-574.
47. Kozela, E., et al., *Cannabidiol inhibits pathogenic T cells, decreases spinal microglial activation and ameliorates multiple sclerosis-like disease in C57BL/6 mice*. *Br J Pharmacol*, 2011. **163**(7): p. 1507-19.
48. Navarrete, C., et al., *Hypoxia mimetic activity of VCE-004.8, a cannabidiol quinone derivative: implications for multiple sclerosis therapy*. *J Neuroinflammation*, 2018. **15**(1): p. 64.
49. Elliott, D.M., et al., *Cannabidiol Attenuates Experimental Autoimmune Encephalomyelitis Model of Multiple Sclerosis Through Induction of Myeloid-Derived Suppressor Cells*. *Front Immunol*, 2018. **9**: p. 1782.

