



**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE**

**GRADO EN FARMACIA**

Trabajo Fin de Grado

San Juan de Alicante, Junio 2020

**Implicación terapéutica del receptor  
cannabinoide CB2 en la Enfermedad de  
Parkinson**

**Autora: Miriam Valero Martínez**  
Tutor: Francisco Navarrete Rueda  
Modalidad: Revisión bibliográfica

## RESUMEN

Actualmente, todas las estrategias terapéuticas para el manejo de la EP se basan en paliar la sintomatología mientras que no existe un tratamiento etiológico para modificar el curso de la enfermedad o, al menos, para ralentizar su progresión. Por ello, existe un interés creciente en la búsqueda de nuevas estrategias para el tratamiento de la EP. En este sentido, estudios recientes han encontrado que el sistema endocannabinoide, y más concretamente el receptor cannabinoide 2 (rCB2), podría ayudar a desarrollar nuevas estrategias farmacológicas. Por tanto, el objetivo de este estudio es realizar una revisión bibliográfica sobre la implicación terapéutica del rCB2 en la EP.

Se hizo una búsqueda bibliográfica en la base de datos *Medline*, a través de su buscador *Pubmed*. Se emplearon palabras clave y sus combinaciones en inglés junto con operadores booleanos, y se aplicaron una serie de criterios de inclusión y exclusión para realizar la selección final de los artículos analizados. Las referencias que se incluyeron abarcan estudios realizados a nivel preclínico (modelos animales y experimentos *in vitro*) y clínico (muestras cerebrales *post-mortem* de pacientes con EP) centrados en la temática de estudio.

Los resultados de estos estudios mostraron que los cambios en el rCB2 sugieren su potencial implicación en la EP. Además, se observó que el rCB2 presenta propiedades antiinflamatorias y antioxidantes como la disminución de la expresión de citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ , del mediador inflamatorio iNOS y de compuestos que producen estrés oxidativo como GSH, MDA y nitrito. Asimismo, la modulación farmacológica o genética del rCB2 en modelos animales podría mejorar las alteraciones motoras y no motoras características de la EP.

Actualmente, se necesita realizar más estudios para profundizar en los mecanismos implicados, así como para evaluar la eficacia, seguridad y tolerabilidad a nivel clínico. A pesar de esto, existen evidencias muy esperanzadoras que señalan al rCB2 como una futura diana farmacológica en el manejo de la EP, e incluso de otras patologías que afecten al SNC y que cursen con alteraciones neurodegenerativas.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>2</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>4</b>
<b>1.1 Definición, etiología y aspectos epidemiológicos de la enfermedad de Parkinson</b> .....	<b>4</b>
<b>1.2 Clínica y diagnóstico de la EP</b> .....	<b>5</b>
<b>1.3 Neuropatología de la EP</b> .....	<b>6</b>
<b>1.4 Tratamiento de la EP y sus limitaciones actuales</b> .....	<b>8</b>
<b>1.5 Implicación e interés terapéutico del receptor cannabinoide 2 en la EP</b> .....	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>15</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>16</b>
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>18</b>
<b>4.1 Modelos preclínicos que evalúan el papel terapéutico del rCB2 en la EP</b> .....	<b>18</b>
4.1.1 Cambios en el rCB2 que sugieren su potencial implicación en la Enfermedad de Parkinson .....	18
4.1.2 Manipulación farmacológica del rCB2 en modelos de la EP .....	19
4.1.3 Manipulación genética del rCB2 en modelos de la EP .....	32
<b>4.2 Datos clínicos que evalúan el papel terapéutico del rCB2 en la Enfermedad de Parkinson</b> .....	<b>36</b>
<b>5. DISCUSIÓN</b> .....	<b>39</b>
<b>6. CONCLUSIONES</b> .....	<b>43</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>44</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 Definición, etiología y aspectos epidemiológicos de la enfermedad de Parkinson

La Enfermedad de Parkinson (EP) fue descrita por primera vez en 1817 por un médico británico llamado James Parkinson, quien le puso el nombre de *parálisis agitante*. Posteriormente, recibió el nombre que tiene actualmente gracias al neurólogo francés Charcot. La EP es una enfermedad neurodegenerativa que cursa principalmente con alteraciones motoras. Entre éstas destacan los movimientos involuntarios de carácter tembloroso, la rigidez, la inestabilidad postural y los trastornos de la marcha, que se originan por la deficiencia de dopamina en la sustancia negra (SN) como se detallará más adelante<sup>1</sup>.

La prevalencia global de la EP es del 0,3% en general y puede aumentar a más de un 3% en personas mayores de 80 años. Además, la incidencia de Parkinson a nivel mundial suele ser de 5 a >35 casos nuevos por cada 100.000 individuos al año<sup>2</sup>. Esta enfermedad puede estar presente tanto en hombres como en mujeres, sin embargo, diversos estudios epidemiológicos han demostrado que hay una mayor prevalencia en hombres. Además, la edad y la historia familiar son factores de riesgo muy importantes. Asimismo, hay datos que parecen sugerir que la ocupación laboral (exposición a pesticidas, herbicidas, etc.), la dieta y el peso corporal podrían ser también factores de riesgo. Sin embargo, todavía no se puede afirmar con certeza<sup>3</sup>.

En cuanto a la edad, el Parkinson suele aparecer a los 60 años y su incidencia aumenta a medida que aumenta la edad. Sin embargo, pueden darse casos de inicio temprano (antes de los 50 años) aunque esto es poco común y muchas veces va asociado a la historia familiar<sup>4</sup>. De esta forma, existen dos tipos de Parkinson: el genético y el idiopático. El Parkinson genético tiene su origen en mutaciones de diversos genes y sólo se da en un 5-10% de los casos. Además, recibe el nombre de Parkinson juvenil ya que evoluciona mucho más rápido y aparece a edad temprana (25-30 años). Respecto al Parkinson idiopático, o también denominado esporádico, suele darse en la mayoría de los casos y el envejecimiento junto con factores ambientales, cierta predisposición genética y

otras alteraciones neuropatológicas son factores determinantes de esta patología<sup>1, 5</sup>.

## 1.2 Clínica y diagnóstico de la EP

En lo que respecta a la sintomatología en la EP, se clasifica en dos tipos: síntomas motores y síntomas no motores. En cuanto a los síntomas motores, destacan 4 y son: temblor, bradicinesia, rigidez e inestabilidad postural. En primer lugar, el *temblor* se da en reposo y suele afectar a las extremidades aunque también se puede dar en la mandíbula o en la cara. En segundo lugar, se encuentra la *bradicinesia*, es decir, una lentitud en los movimientos. En tercer lugar, tenemos la *rigidez* muscular que puede provocar una reducción en los movimientos, así como dolores y calambres. Y, por último, la *inestabilidad postural* hace referencia a una alteración del equilibrio y, por tanto, a un mayor riesgo de caídas<sup>1, 4</sup>.

Por otro lado, se encuentran los síntomas no motores y estos producen una importante limitación en la calidad de vida de los pacientes. Entre ellos encontramos: trastornos del sueño, trastornos neuropsiquiátricos (depresión, ansiedad, apatía, alucinaciones, etc.), deterioro cognitivo, pérdida de olfato o anosmia, estreñimiento, aumento de la sudoración, fatiga o cansancio, etc.<sup>1, 6</sup>. Cabe mencionar que algunos de los síntomas no motores (p.ej. pérdida de olfato, trastornos del sueño o estreñimiento) aparecen en los estadios tempranos de la enfermedad (fase prodrómica), mientras que los síntomas motores aparecen más tarde cuando el proceso neurodegenerativo ha avanzado de forma significativa. Generalmente, los síntomas motores suelen aparecer de forma leve y aumentan gradualmente. Asimismo, al principio suelen darse en un lado del cuerpo y a medida que avanza la enfermedad aparecen en el otro lado. Además, en estadios avanzados de la EP pueden aparecer complicaciones no motoras como psicosis, disfagia, trastornos emocionales, demencia, etc., que empeoran notablemente la calidad de vida de los pacientes<sup>4, 6</sup>.

Múltiples trastornos pueden producir síntomas parecidos a los del Parkinson, de hecho, a las personas que les sucede esto y finalmente padecen otra enfermedad, se les dice que tienen parkinsonismo. Por ello, es muy importante realizar un diagnóstico preciso lo antes posible, evitando así la confusión con

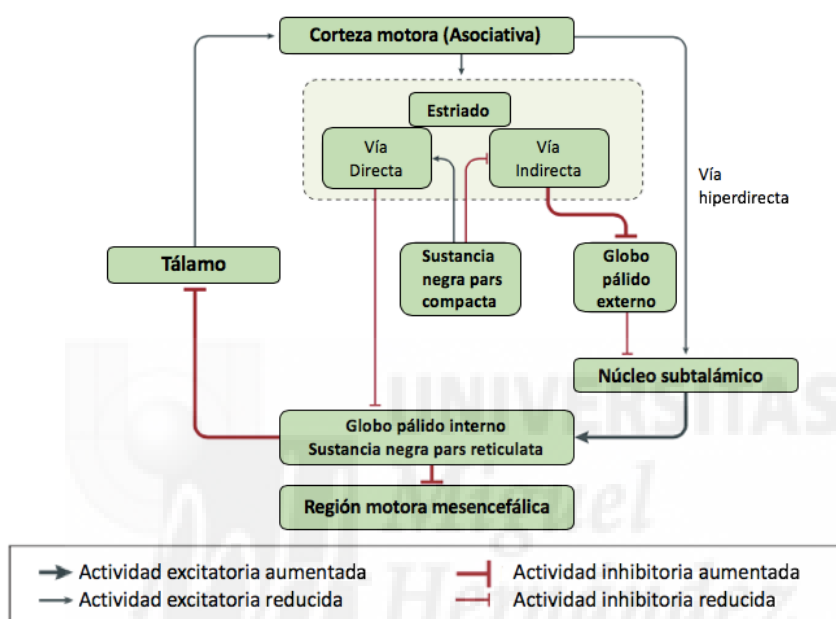
otra patología que permita iniciar un tratamiento adecuado. Por tanto, el diagnóstico se suele basar en la clínica que presenta o refiere el paciente, la realización de pruebas o exámenes neurológicos y en la respuesta que se obtenga al tratamiento farmacológico antiparkinsoniano<sup>7</sup>.

Para un buen diagnóstico de Parkinson hay que ver si el paciente presenta al menos dos o tres de los siguientes signos: bradicinesia y temblor o rigidez. Otra característica clínica es la inestabilidad postural. Esto puede ayudar al diagnóstico ya que aparece cuando la EP está más avanzada y si se encuentra presente al inicio de la enfermedad, probablemente no se trate de Parkinson. Además, el neurólogo puede realizar algunas pruebas para confirmar el diagnóstico. Estas pruebas son: análisis de laboratorio (suelen realizarse en líquido cefalorraquídeo para determinar, por ejemplo, niveles de alfa-sinucleína), pruebas de imagen cerebral (como el escáner cerebral (TAC) o la resonancia magnética (RMN)), pruebas de neuroimagen funcional (como la tomografía por emisión de positrones (PET)) o pruebas neurofisiológicas (para determinar el tipo de temblor). Asimismo, la respuesta o no al tratamiento farmacológico con el fármaco Levodopa es una de las piezas clave en el diagnóstico ya que, en caso de respuesta, hay muchas probabilidades de que se trata de la EP<sup>1, 4, 7</sup>. Sin embargo, es importante destacar que para tener un diagnóstico certero de la enfermedad es necesario realizar un análisis anatomopatológico *post-mortem*<sup>4</sup>.

### **1.3 Neuropatología de la EP**

En lo que respecta a las alteraciones neuropatológicas de la EP, se produce una pérdida parcial o total de las neuronas dopaminérgicas en la SN lo cual da lugar a una desorganización de los circuitos de los ganglios basales, que están formados por: el núcleo caudado (Caud) y el putamen (Put), conocidos colectivamente como cuerpo estriado; el globo pálido (GP), que se divide en globo pálido interno (GPi) y globo pálido externo (GPe); el núcleo subtalámico (STN); y la sustancia negra (SN), que se divide en sustancia negra pars compacta (SNc) y sustancia negra pars reticulata (SNr). Puesto que los ganglios basales participan en el control de la actividad motora, es importante explicar brevemente la organización de los circuitos que los interconectan y que reciben la denominación de vía directa y vía indirecta. En la vía directa, el cuerpo estriado

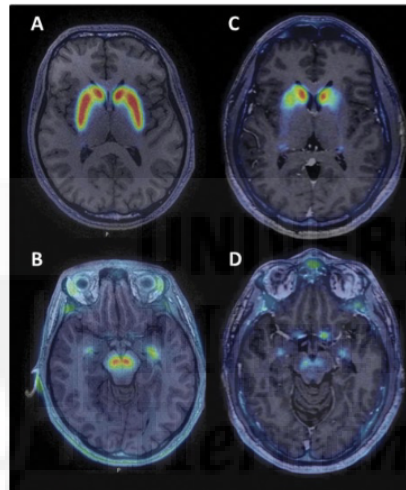
inhibe el GPi y la SNr mediante la liberación del neurotransmisor GABA. Esto hace que el tálamo pueda activar la corteza cerebral y, por lo tanto, se facilite el movimiento. En cuanto a la vía indirecta, el cuerpo estriado inhibe el GPe y éste al STN, produciendo finalmente la inhibición del tálamo y, por tanto, no se activa la corteza cerebral. Debido a esto se impide el movimiento<sup>2, 8</sup>. En la figura 1 se muestran las alteraciones en la regulación de las vías directa e indirecta que acontecen en la EP.



**Figura 1:** Representación gráfica de los circuitos de los ganglios basales implicados en la regulación del movimiento, a través de las vías directa e indirecta, y las alteraciones asociadas a la EP. Líneas de inhibición (rojas, GABAérgicas) y líneas de estimulación (verde grisáceo, glutamatérgicas). Imagen extraída de: Poewe et al, 2017<sup>2</sup>.

Respecto a estas vías, es importante mencionar que se activan gracias a que la SNc libera dopamina hacia el cuerpo estriado. Sin embargo, el problema que ocurre en la EP es que hay una pérdida progresiva de neuronas dopaminérgicas, lo cual conduce a una excitación reducida de la vía directa y a una inhibición reducida de la vía indirecta, dando como resultado las características alteraciones motoras de la EP<sup>8, 9</sup>. Además, cabe destacar que la sintomatología motora típica de la enfermedad aparece cuando se produce una pérdida de neuronas dopaminérgicas superior al 70%<sup>1</sup>.

Otra de las alteraciones cerebrales que está presente en esta patología son los **cuerpos de Lewy**. Se trata de acúmulos inusuales de la **proteína alfa-sinucleína** y todo apunta a que son los causantes no sólo del proceso neurodegenerativo en la vía nigroestriada, sino también de la demencia asociada a la EP<sup>4</sup>. A continuación aparece una imagen de PET en la que se ha empleado levodopa (L-Dopa) marcada radiactivamente (18F-DOPA) y en la que se muestra una reducción significativa de la funcionalidad dopaminérgica en los cuerpos neuronales dopaminérgicos (a nivel del mesencéfalo, donde se localiza la SN) y en los terminales (a nivel del estriado) en pacientes con EP respecto a pacientes control<sup>10</sup> (véase figura 2).



**Figura 2.** Sujeto control a nivel del cuerpo estriado (A) y del mesencéfalo (B) y en los mismos niveles en un sujeto con EP (C y D). Se observa una disminución de función dopaminérgica tanto en el cuerpo estriado como en el mesencéfalo del sujeto con EP respecto al sujeto control. Imagen extraída de: Juri et al, 2016<sup>10</sup>.

#### **1.4 Tratamiento de la EP y sus limitaciones actuales**

Actualmente la EP no tiene cura, sin embargo, existen diversos tratamientos farmacológicos e incluso quirúrgicos que, acompañados de otras terapias de apoyo, pueden aliviar los síntomas motores<sup>4</sup>.

En cuanto al tratamiento farmacológico, su objetivo es ralentizar la velocidad de progresión de la enfermedad y controlar los síntomas del paciente (tanto a nivel motor como a nivel no motor). Esto se consigue potenciando la actividad dopaminérgica central, ya sea de forma directa (con L-Dopa, agonistas dopaminérgicos o fármacos que estimulen la liberación de dopamina) o de forma indirecta (con inhibidores de la monoamino oxidasa B (IMAO B) o con inhibidores



de la catecol-o-metiltransferasa (ICOMT)). Además, en determinados estadios de la EP se pueden utilizar fármacos de acción anticolinérgica central (ver Figura 3). A continuación, se explica con más detalle cada estrategia terapéutica.

En primer lugar, se encuentra la **L-Dopa**, que junto con un inhibidor de la dopamina descarboxilasa (DDCI) como la carbidopa o la benserazida, para evitar su metabolización periférica y garantizar su adecuada disponibilidad en SNC, se convierte en la primera línea de tratamiento para la EP actualmente. Sin embargo, la L-Dopa no frena la progresión de la enfermedad y su eficacia va disminuyendo conforme aumentan los años de tratamiento. Además, la L-Dopa produce discinesias tras un tratamiento prolongado, y con el tiempo suele aumentar la intensidad de este efecto secundario. Además, también aparecen fluctuaciones motoras o periodos ON/OFF, y su incidencia aumenta a partir del quinto año de tratamiento con L-Dopa<sup>11</sup>. Los periodos ON/OFF hacen referencia a que hay momentos a lo largo del día en el que el paciente nota el efecto de la dosis de L-Dopa por lo que tiene un estado motor aceptable (periodo en ON), mientras que habrá otros momentos en los que reaparecen las alteraciones motoras en el paciente siendo característica la ralentización de movimientos, la rigidez muscular y el temblor (periodo en OFF)<sup>1, 11</sup>. Estas fluctuaciones guardan relación con la pauta de tratamiento de L-Dopa y las concentraciones que se alcanzan en el SNC.

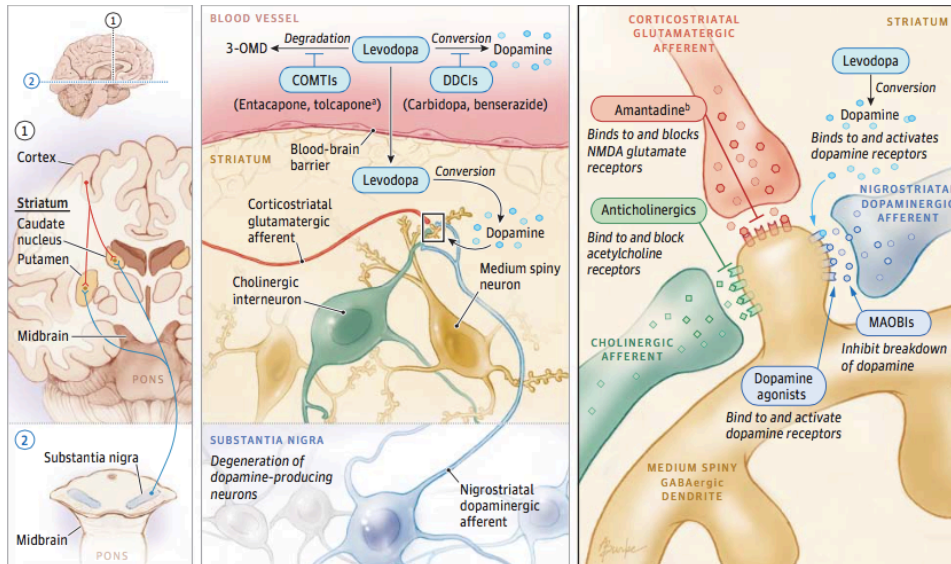
Es importante mencionar que la L-Dopa tiene dos vías de metabolización: la descarboxilación (80%) y la O-metilación (10%) (ver Figura 3). Como la L-Dopa se suele utilizar con un DDCI, la L-Dopa se desplaza en mayor proporción hacia la vía de la O-metilación. En esta vía la catecol-O-metiltransferasa (COMT) es una enzima que O-metila a la L-Dopa y la transforma en un metabolito inactivo llamado 3-O-metildopa (3-OMD). Por ello, los fármacos **ICOMT** impiden la transformación de L-Dopa a 3-OMD y, debido a esto, se aumenta la biodisponibilidad central de L-Dopa dando lugar a un aumento del efecto terapéutico en la EP. Los fármacos más utilizados de este grupo farmacológico son la entacapona y la tolcapona. Asimismo, los efectos secundarios más frecuentes suelen ser gastrointestinales (náuseas, vómitos y dolor abdominal) y la hipotensión ortostática.

Otro tratamiento farmacológico para la EP son los **agonistas dopaminérgicos**, los cuales se clasifican en derivados ergóticos (bromocriptina, pergolida, lisurida, cabergolina) y derivados no ergóticos (apomorfina, ropinirol, pramipexol). El uso de derivados ergóticos puede dar lugar a reacciones adversas preocupantes como son los fenómenos fibróticos o el ergotismo. Debido a esto, se prefiere el uso de derivados no ergóticos ya que presentan un mejor perfil de seguridad en comparación con los derivados ergóticos. Además de los agonistas dopaminérgicos también se dispone de la **Amantadina**, fármaco antiviral que presenta actividad antiparkinsoniana ya que es capaz de liberar dopamina y de inhibir su recaptación en las terminaciones sinápticas. También tiene ligeros efectos anticolinérgicos, e inhibe la neurotransmisión glutamatérgica puesto que es un antagonista de los receptores de NMDA (ver Figura 3). En cuanto a sus reacciones adversas produce principalmente edemas y livedo reticularis (patrón reticular de decoloración rojiza y azulada de la piel).

Los **IMAO B** (selegilina, rasagilina) constituyen otra estrategia terapéutica para el abordaje de la EP y se utilizan en estadios muy precoces para inhibir la progresión de la enfermedad o también como coadyuvantes de la L-Dopa en los estadios avanzados. Alrededor del 80% de la dopamina cerebral humana es metabolizada por la MAO B, por lo tanto, al inhibir esta isoenzima se produce un aumento de la concentración de dopamina en el cerebro (ver Figura 3). A dosis terapéuticas, los IMAO B presentan pocas reacciones adversas, pero si se administran junto con L-Dopa puede producir los efectos adversos típicos de la hiperactividad dopaminérgica.

Por último, encontramos los **fármacos anticolinérgicos de acción central** (trihexifenidilo, biperideno, prociclidina) y los **anticolinérgicos con actividad antihistamínica** (benzatropina, difenhidramina, clorfenoxamina). Su acción anticolinérgica resulta útil ya que parte de las células dopaminérgicas de la sustancia negra proyectan a células colinérgicas. Por tanto, la hipofunción dopaminérgica repercute en una hiperactividad colinérgica (ver Figura 3). Asimismo, el aumento de la actividad colinérgica en el estriado agrava los síntomas de la EP y el bloqueo de receptores muscarínicos mejora algunos de estos síntomas, principalmente el temblor y la rigidez. En cuanto a las reacciones

adversas las más frecuentes son las típicas del bloqueo de los receptores muscarínicos (sequedad de boca, estreñimiento, visión borrosa, midriasis, retención urinaria, etc.)<sup>11</sup>.



**Figura 3.** Representación gráfica de los mecanismos de acción de los principales fármacos utilizados para la enfermedad de Parkinson. Imagen extraída de: Connolly et al, 2014<sup>12</sup>.

En cuanto al tratamiento quirúrgico de la EP encontramos la estimulación cerebral profunda, reservada para aquellos pacientes que no presentan una mejoría en los síntomas motores con el tratamiento farmacológico habitual. Esta técnica consiste en implantar electrodos en determinadas áreas cerebrales (normalmente núcleo subtalámico y globo pálido) con el fin de reducir los periodos OFF y las discinesias, mejorando así la calidad de vida del paciente. Por último, existen terapias de apoyo para mejorar los síntomas del Parkinson como: fisioterapia, logopedia, terapia ocupacional, psicología y estimulación cognitiva. Todo esto puede ir acompañado de cuidados generales como realizar un buen descanso, hacer ejercicio físico de forma regular y seguir una dieta saludable<sup>1</sup>.

Como se puede observar, a día de hoy existe un gran abanico de posibilidades para tratar la EP, sin embargo, todas ellas presentan limitaciones para conseguir un buen control de la sintomatología. Algunas de estas limitaciones son las diversas reacciones adversas que producen los tratamientos farmacológicos como, por ejemplo, las discinesias y las fluctuaciones motoras derivadas del

tratamiento prolongado con L-Dopa. Además, es importante destacar que todas las estrategias terapéuticas actuales se basan en paliar la sintomatología mientras que no existe un tratamiento etiológico para modificar el curso de la enfermedad o, al menos, para ralentizar su progresión. Por ello, es de principal interés buscar nuevas estrategias para el tratamiento de la EP. En este sentido, estudios recientes han encontrado que el sistema endocannabinoide, y más concretamente el receptor cannabinoide 2 (rCB2), podría ayudar a desarrollar nuevas estrategias farmacológicas, como se muestra en el siguiente epígrafe.

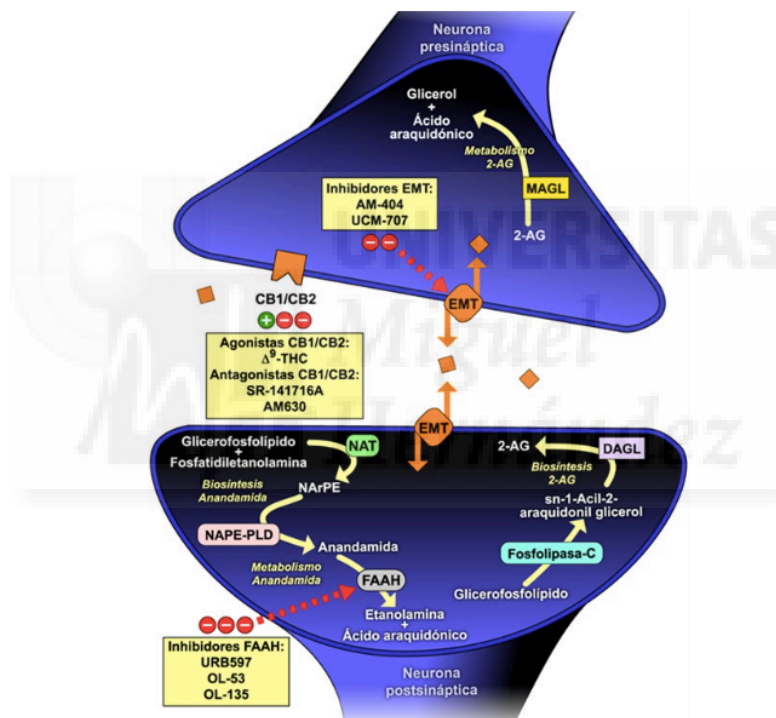
### **1.5 Implicación e interés terapéutico del receptor cannabinoide 2 en la EP**

Durante miles de años, diversas culturas y civilizaciones han utilizado las preparaciones de la planta *Cannabis sativa* como medicamentos. En ella se han identificado más de 100 compuestos cannabinoides, hecho que dio lugar al descubrimiento y creciente interés en la investigación del sistema endocannabinoide (SEC)<sup>13, 14</sup>.

El SEC es un sistema de comunicación intracelular con importantes funciones moduladoras, que se encuentra ampliamente distribuido en diferentes zonas y tejidos del cuerpo humano, entre ellas el cerebro. En el SNC tiene una importante función neuromoduladora, y participa en la regulación de diferentes aspectos funcionales como el aprendizaje, la memoria, las emociones, el comportamiento adictivo, la alimentación, el metabolismo, el dolor o la neuroprotección<sup>15, 16</sup>.

En los sistemas nerviosos central y periférico el SEC está formado por endocannabinoides, enzimas de biosíntesis y degradación, y receptores cannabinoides. Respecto a los endocannabinoides, son mensajeros lipídicos endógenos y reciben este nombre debido a que tienen la capacidad de unirse a los receptores cannabinoides. Los endocannabinoides mejor caracterizados en el SNC son el 2-araquidonoil glicerol (2-AG) y el araquidonoil etanolamida (AEA), también conocido como anandamida. Asimismo, una característica que destaca de ellos es que pueden almacenarse dentro de las membranas celulares en forma de precursores y luego sintetizarse y liberarse al espacio extracelular mediante estímulos. Por el contrario, los neurotransmisores no tienen esta característica por lo que se sintetizan en el soma neuronal y se almacenan en vesículas sinápticas<sup>17</sup>.

En cuanto a la degradación de los endocannabinoides, existen dos vías: la hidrólisis y la oxidación. La hidrólisis implica a la ciclooxygenasa-2 (COX-2), enzima que induce la oxidación del resto araquidónico de los endocannabinoides. En la oxidación se encuentra la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) y la monoacilglicerol lipasa (MAGL), que son las principales enzimas responsables de la degradación de anandamida y de 2-AG respectivamente. La enzima FAAH se encuentra en las neuronas postsinápticas y degrada la anandamida a etanolamida y ácido araquidónico mientras que la MAGL se encuentra en las neuronas presinápticas y degrada el 2-AG a glicerol y ácido araquidónico<sup>18</sup> (ver Figura 4).



**Figura 4.** Representación gráfica de los principales componentes del sistema endocannabinoide. 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-acilfosfatidiletanolamina, FAAH: enzima aminohidrolasa de ácidos grasos, DAGL: enzima diacilglicerol lipasa. Imagen cedida por el grupo de Neuropsicofarmacología Traslacional del Instituto de Neurociencias.

Asimismo, otro de los componentes principales del sistema endocannabinoide son sus receptores. Existen dos tipos: el receptor de cannabinoides 1 (rCB1) y el receptor de cannabinoides 2 (rCB2). Ambos receptores pertenecen a la familia

de receptores acoplados a proteínas G que median casi todas las acciones de los cannabinoides endógenos y exógenos. Los rCB1 se encuentran en abundancia en el SNC, concretamente en la neocorteza cerebral, hipocampo, ganglios basales, cerebelo e hipotálamo<sup>17-19</sup>. Además, los rCB1 se expresan en menor medida en hígado, pulmones, musculatura lisa, tracto gastrointestinal, adipocitos, células pancreáticas  $\beta$ , endotelio vascular, órganos reproductivos, sistema inmunológico, nervios periféricos sensoriales y nervios simpáticos. A nivel cerebral, los rCB1 están involucrados en varios procesos como el comportamiento emocional, el control del dolor, la respuesta al estrés, las condiciones adictivas y la respuesta motora<sup>20</sup>.

Por otro lado, los rCB2 se encuentran mayoritariamente en los tejidos periféricos y células del sistema inmunitario (linfocitos B, células natural killer, monocitos, neutrófilos, linfocitos T4 y linfocitos T8), donde cumplen un importante papel de regulación de la inflamación. Durante mucho tiempo se pensaba que los rCB2 estaban principalmente en la periferia y que sólo se expresaban a nivel cerebral cuando ocurría una lesión o un proceso neurodegenerativo. Sin embargo, fue en el año 2005 cuando Van Sickle et al. descubrieron que dicho receptor también estaba presente en neuronas del tronco encefálico de ratas, ratones y hurones en condiciones normales (no patológicas). Esto fue uno de los hitos que dio lugar a la investigación sobre el papel funcional del rCB2 en el SNC. De hecho, los estudios posteriores han caracterizado la expresión de los rCB2 en varias regiones cerebrales incluyendo la corteza, los ganglios basales, la amígdala, el hipocampo y el área tegmental ventral<sup>13</sup>. Finalmente, un valor añadido de los rCB2 es que no presentan efectos psicoactivos negativos cuando se activan (adicción, dependencia, psicosis, etc.), a diferencia de los rCB1<sup>21, 22</sup>.

Por tanto, la localización del rCB2 en regiones cerebrales que regulan aspectos motores así como su potencial neuroprotector y antiinflamatorio, hace que muchos estudios apoyen la hipótesis de la implicación funcional del rCB2 en la EP. A continuación, en este trabajo se realizará una revisión bibliográfica sobre los estudios básicos y clínicos centrados en evaluar el papel terapéutico del rCB2 en la EP.

## 2. OBJETIVOS

- **Objetivo general del trabajo:** Consiste en llevar a cabo una revisión bibliográfica sobre diversos estudios preclínicos y clínicos que apoyan la posible implicación terapéutica del rCB2 en la EP.
- **Objetivos específicos:**
  - Revisión de artículos publicados acerca de la implicación terapéutica del rCB2 en la EP empleando modelos experimentales preclínicos. Se mostrarán los resultados obtenidos de 3 tipos de estudios:
    - Estudios que evalúan alteraciones en la expresión del rCB2 en modelos de la EP.
    - Estudios en los que se valoran los efectos derivados de la manipulación farmacológica del rCB2.
    - Estudios en los que se valoran los efectos derivados de la manipulación genética del rCB2.
  - Revisión de artículos publicados acerca de la implicación terapéutica del rCB2 en la EP empleando muestras de tejido cerebral *post-mortem* de pacientes.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

La metodología empleada para esta revisión se ha basado en una búsqueda bibliográfica en la principal base de datos biomédica *Medline* a través de su buscador *Pubmed*. Para ello, se han incluido los artículos relacionados con el ámbito de estudio, es decir, aquellos que están directamente relacionados con la implicación terapéutica del rCB2 en la EP. La búsqueda se ha realizado en inglés, ya que es la principal lengua en el campo de la medicina.

Se han utilizado palabras clave y su combinación con el objetivo de ampliar todo lo posible la búsqueda debido a la escasez de resultados. Por tanto, para realizar la caja de búsqueda no fue necesaria la conversión a descriptores, ya que éstos actúan como lenguaje único de indización y centran la búsqueda en un concepto determinado.

Las palabras clave y su combinación utilizadas fueron *Cannabinoid 2 receptor*, *CB2* y *Parkinson's disease*. Además, se añadieron los operadores booleanos "AND", utilizado como conector, y "OR", utilizado como operador de alternancia. Se empleó "AND" con el fin de conectar dos palabras y mostrar sólo aquellos resultados que contengan ambos términos de búsqueda especificados, independientemente del orden y de su posición relativa. Por tanto, el operador booleano "AND" aumenta la sensibilidad y especificidad de la búsqueda. Además, se empleó "OR" con el fin de indicar una asociación entre dos palabras (o sinónimos) en la búsqueda. Este operador va a mostrar los resultados que contengan al menos uno de los dos términos. Con todo ello, la caja de búsqueda empleada fue **"(Cannabinoid 2 receptor OR CB2) AND Parkinson's disease"**.

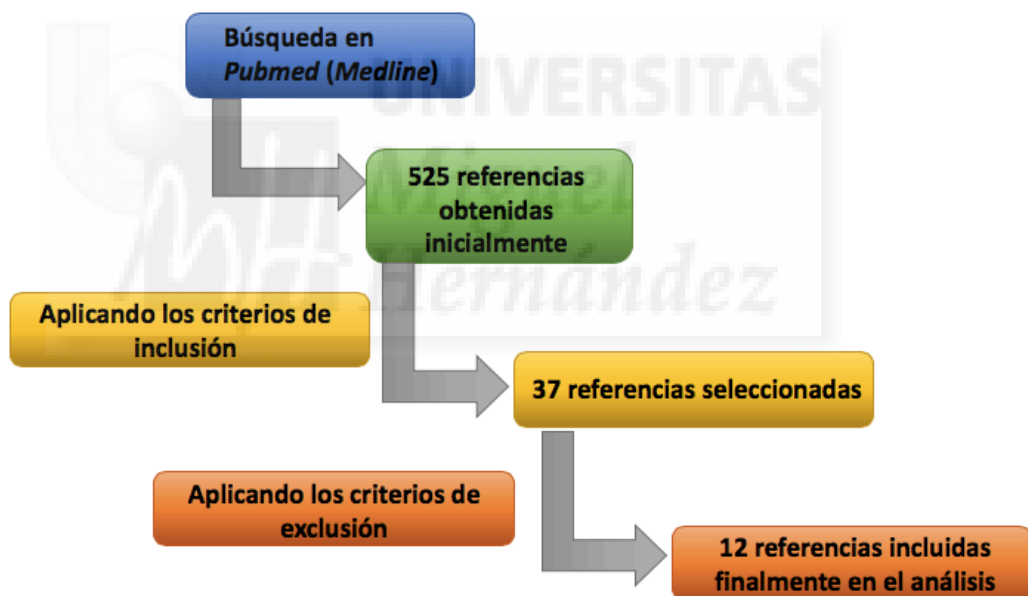
A continuación, se detallan los criterios de inclusión y exclusión que se han aplicado para seleccionar las referencias manejadas posteriormente:

- Criterios de inclusión:
  - Se aceptan todos los artículos que se hayan publicado hasta la fecha, centrados en la temática de estudio.
  - Artículos originales de carácter preclínico o clínico relacionados con la implicación del rCB2 en la EP.



- Se aceptan revisiones sistemáticas o meta-análisis recientes relacionados con el tema de estudio.
- Criterios de exclusión:
  - Referencias científicas no escritas en lengua inglesa o española.
  - Artículos no centrados en la implicación terapéutica del rCB2 en la EP.
  - Artículos de los que no se tuviera acceso al PDF completo a través de internet mediante el acceso personalizado de la UMH.

La figura que se muestra a continuación (Figura 5) recoge el proceso de búsqueda y selección de los resultados que se ha llevado a cabo, aplicando los criterios de inclusión y exclusión descritos anteriormente.



**Figura 5.** Representación gráfica del algoritmo seguido para el cribaje y selección de las referencias bibliográficas que finalmente se han analizado en el presente trabajo.

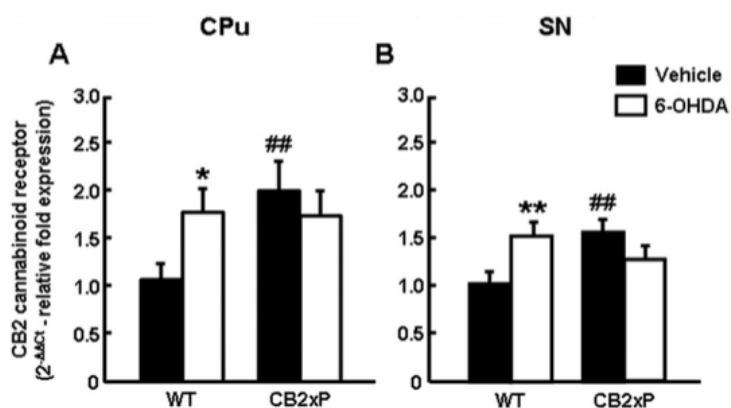
## 4. RESULTADOS

En este apartado se evaluará el papel terapéutico que podría ejercer el rCB2 en la EP. Para ello, se dividirán los resultados en dos grandes bloques: el primero de ellos se basará en estudios preclínicos realizados *in vivo* o *in vitro* (bloque 4.1) mientras que el segundo bloque se basará en estudios clínicos llevados a cabo en humanos mediante el análisis de tejido cerebral post-mortem (bloque 4.2). Además, dentro del bloque preclínico se analizarán los cambios producidos en el rCB2 en relación con la EP, así como los estudios farmacológicos y genéticos que han profundizado en el potencial terapéutico del rCB2 en la EP.

### 4.1 Modelos preclínicos que evalúan el papel terapéutico del rCB2 en la EP

#### 4.1.1 Cambios en el rCB2 que sugieren su potencial implicación en la Enfermedad de Parkinson

En diversos experimentos con modelos preclínicos se ha observado que la neurodegeneración parkinsoniana inducida por diversos desencadenantes se asocia con cambios en la expresión del rCB2<sup>23</sup>. Un estudio que evaluó esto fue el publicado por Ternianov y cols.<sup>20</sup> En este trabajo se utilizaron ratones transgénicos que sobreexpresan el rCB2 (CB2xP) y ratones controles *wild type* (WT). Además, ambos modelos de ratones fueron expuestos mediante administración intracerebral empleando cirugía estereotáxica a 6-OHDA, una neurotoxina que destruye las neuronas dopaminérgicas en la vía nigroestriada dando lugar a las alteraciones características de la EP. Siete semanas después se midió la expresión del gen del rCB2 en el caudado-putamen (CPu) y en la sustancia negra (SN) de ambos tipos de ratones. Como resultado de este análisis se encontró que el tratamiento con 6-OHDA aumentó la expresión del gen del rCB2 en el CPu y en la SN de ratones WT respecto a su control. Por tanto, se sugiere que el aumento de la expresión de este gen formaría parte de una respuesta de defensa contra la lesión causada por 6-OHDA, probablemente como mecanismo de neuroprotección. Por el contrario, el tratamiento con 6-OHDA en ratones CB2xP no alteró la expresión del gen del rCB2 respecto a su control. Esto se debe en parte a que la sobreexpresión del rCB2 protege contra la agresión que puede causar la neurotoxina (ver Figura 6).



**Figura 6.** Análisis de la expresión del gen del rCB2 en el CPU y la SN de ratones CB2xP y WT tras la administración de la neurotoxina 6-OHDA. Imagen extraída de: Ternianov et al, 2012<sup>20</sup>.

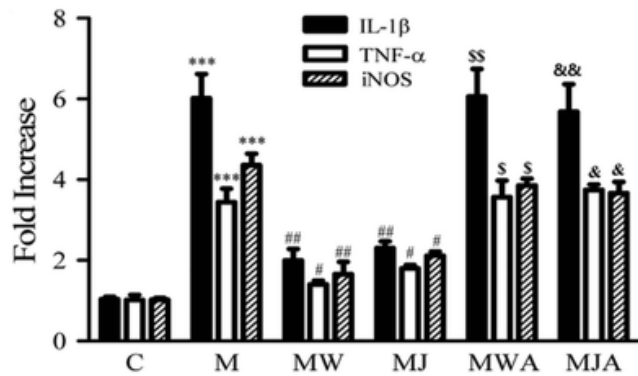
Otro artículo que evalúa los cambios en el rCB2 es el de Concannon RM y cols.<sup>24</sup> En este estudio se observó que tanto 6-OHDA (neurotoxina dopaminérgica) como LPS (lipopolisacárido inflamatorio bacteriano) dieron lugar a una elevación de la expresión del gen del rCB2 en ratas macho Sprague Dawley. Por tanto, este aumento de la expresión del rCB2 se corresponde con la respuesta defensiva comentada anteriormente, a causa del daño inducido por las neurotoxinas. Por tanto, estos hallazgos sugerían una potencial implicación terapéutica del rCB2 en la EP.

#### 4.1.2 Manipulación farmacológica del rCB2 en modelos de la EP

##### - Potencial neuroprotector del rCB2

Recientemente se ha observado que la activación del rCB2, a través de varios mecanismos que dan lugar a un efecto antiinflamatorio o antioxidante, puede dar lugar a un efecto neuroprotector en diversas enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson. Debido a esto, se cree que el rCB2 podría ser de gran utilidad en el manejo terapéutico de esta patología. A continuación, se van a mostrar varios artículos que han utilizado modelos preclínicos *in vivo* o *in vitro* para reproducir experimentalmente las alteraciones neuropatológicas características de la EP. Esto permite conocer la utilidad terapéutica que puede tener la manipulación farmacológica del rCB2 para modular los procesos inflamatorios y oxidativos, íntimamente implicados en la neurodegeneración de la EP.

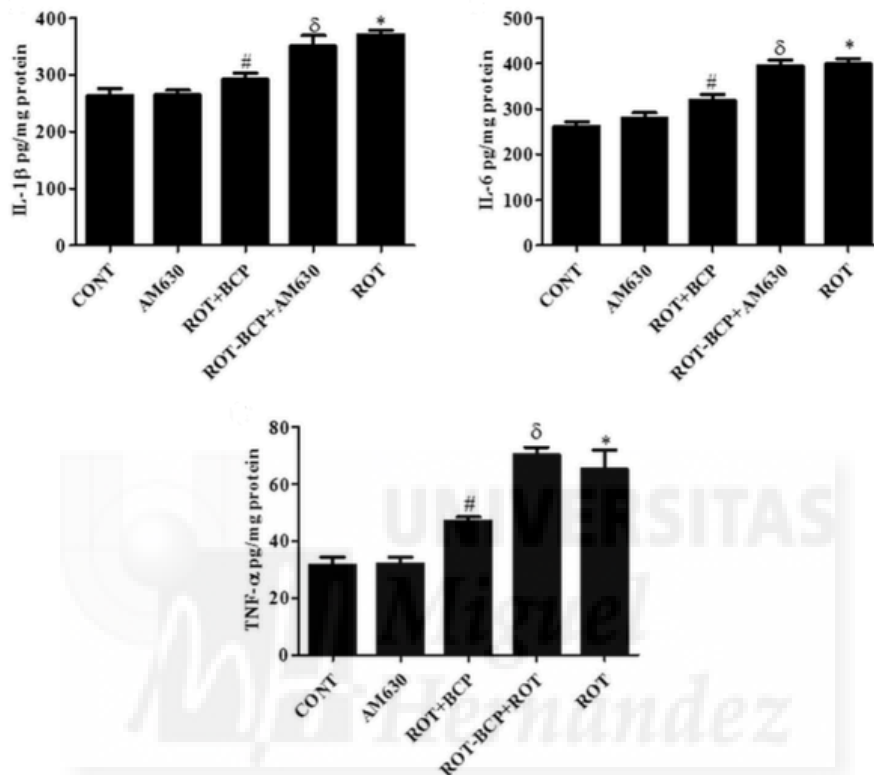
Respecto al estudio de los efectos antiinflamatorios del rCB2, Chung YC y cols.<sup>25</sup> utilizaron ratones macho C57BL/6 a los que se les indujo la EP con el compuesto tóxico MPTP. Este estudio se realizó con el objetivo de demostrar que utilizando fármacos que modulan de forma selectiva el rCB2, se puede atenuar drásticamente la expresión de citoquinas proinflamatorias como IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , así como la expresión de la enzima óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS). Tres días después de finalizar el tratamiento con MPTP, se diseccionaron los tejidos cerebrales de los ratones y se prepararon para una tinción inmunohistoquímica con un anticuerpo MAC-1 que sirve para detectar la activación de la microglía. Además, se utilizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real para determinar la expresión génica de las citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  y la de iNOS en la SN. Los resultados de la PCR aparecen representados en la Figura 7, donde se observa que la administración de MPTP (grupo M) produjo un aumento en la expresión de IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e iNOS respecto al grupo control (grupo C). Por el contrario, la administración de un agonista no selectivo del receptor de cannabinoides (WIN55,212-2, 10  $\mu$ g/kg, i.p., grupo MW) o de un agonista selectivo del rCB2 (JWH-133, 10  $\mu$ g/kg, i.p., grupo MJ) antes y después del tratamiento con MPTP, produce una potencial reducción de los niveles de las citoquinas proinflamatorias e iNOS. Por tanto, los valores de los grupos MW y MJ se aproximan a los del grupo control, efecto que se relaciona con el bloqueo de la activación microglial. Posteriormente se administró MPTP, un agonista cannabinoide (WIN55,212-2 o JWH-133) y un antagonista selectivo del rCB2 AM630 (grupos MWA y MJA, respectivamente) y se observó que los efectos inhibitorios que producían los agonistas cannabinoides fueron revertidos con la presencia del antagonista AM630. Es decir, la presencia de un antagonista del rCB2 impide que se produzca el efecto de ambos agonistas y se alcanzan valores similares a los del grupo tratado con MPTP (grupo M). Por tanto, estos resultados sugieren que la expresión de citoquinas proinflamatorias y del mediador inflamatorio iNOS, está mediado por la activación del rCB2.



**Figura 7.** Análisis de la expresión génica de las citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , y del mediador inflamatorio iNOS mediante la técnica PCR a tiempo real en la SN. Imagen extraída de: Chung et al, 2016<sup>25</sup>. C: grupo control, M: grupo MPTP, MW: grupo MPTP + WIN55,212-2, MJ: grupo MPTP + JWH-133, MWA: grupo MPTP + WIN55,212-2 + AM630, MJA: grupo MPTP + JWH-133 + AM630.

Asimismo, el efecto antiinflamatorio comentado anteriormente también se puede observar en el estudio de Javed H y cols.<sup>26</sup>, cuyo objetivo fue demostrar que la activación del rCB2 protege contra la neuroinflamación y el estrés oxidativo en ratas macho Wistar con EP debido a la administración de rotenona (ROT). La ROT es un pesticida que, al igual que el MPTP, produce una degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la SNpc que proyectan hacia el cuerpo estriado, dando lugar al deterioro motor característico de la EP. Además, en este estudio se utiliza  $\beta$ -cariofileno (BCP), un metabolito secundario que se encuentra en numerosas plantas dietéticas y presenta propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. En términos farmacológicos, BCP es un agonista selectivo del rCB2 y se utiliza en este estudio para valorar si su administración puede revertir los efectos inflamatorios y oxidativos inducidos por la ROT. En la Figura 8 se puede observar que la administración de ROT produjo un aumento en el nivel de las citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$  en el mesencéfalo (región cerebral donde se localiza la SN) en comparación con el grupo control (grupo CONT). Sin embargo, la administración de BCP (50mg/kg i.p.) 30 minutos antes de la inyección de ROT (grupo ROT + BCP) dio lugar a una disminución de los niveles de las citoquinas proinflamatorias respecto al grupo tratado solo con ROT (grupo ROT). Por otro lado, la administración previa del antagonista del rCB2 AM630 junto con BCP y ROT (grupo ROT-BCP + AM630) revirtió los efectos protectores del agonista BCP contra los niveles

elevados de las citoquinas proinflamatorias inducidas por ROT. Por esta razón los resultados del grupo ROT-BCP + AM630 fueron similares a los del grupo ROT. Por tanto, la anulación de los efectos de BCP por AM630 demuestra que se trata de un efecto mediado de forma selectiva por el rCB2.

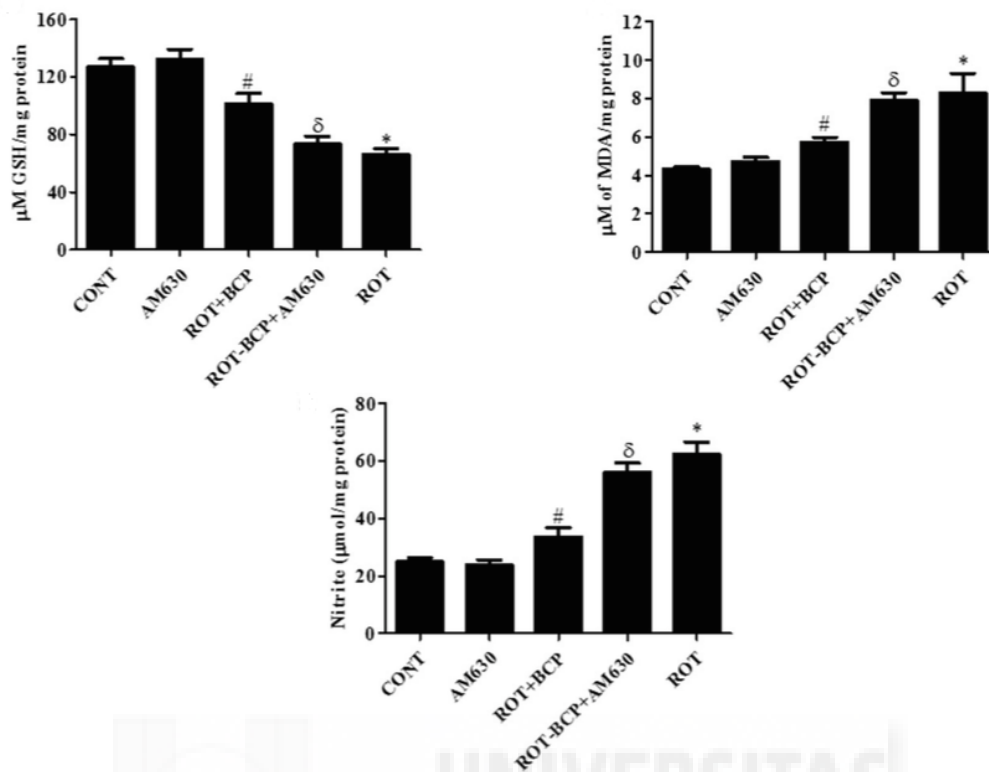


**Figura 8.** Análisis de los niveles de las citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$  en el mesencéfalo mediante un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (técnica ELISA). Imagen extraída de: Javed et al, 2016<sup>26</sup>. CONT: control, ROT: rotenona, BCP:  $\beta$ -cariofileno.

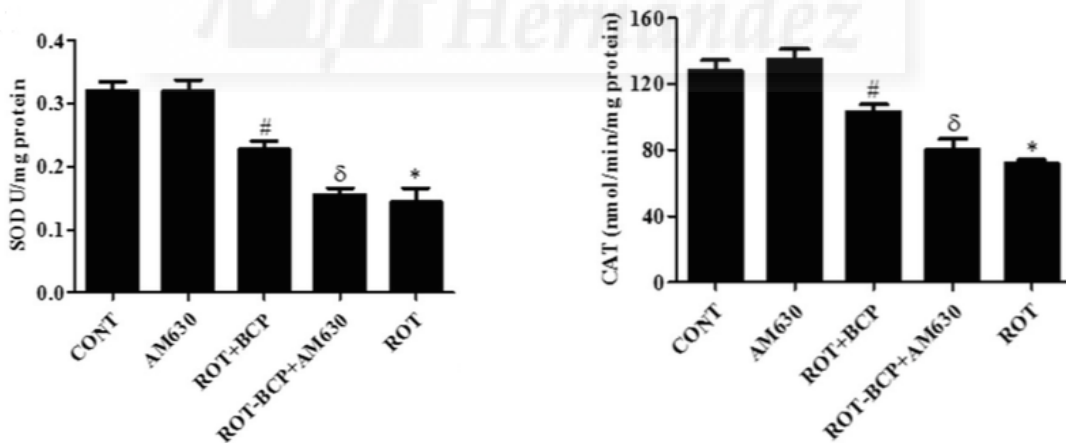
Además de evaluar los efectos antiinflamatorios que se producen debido a la activación del rCB2 comentado anteriormente, Javed H y cols.<sup>26</sup> también evaluaron los efectos antioxidantes. En la Figura 9 se puede observar que la administración de ROT también produce daño oxidativo ya que se observan alteraciones en los niveles de glutatión reducido (GSH), malondialdehído (MDA) y nitrito en el tejido del mesencéfalo de las ratas. Estos tres compuestos son indicadores de que se está produciendo estrés oxidativo. El glutatión es el principal antioxidante producido por las células vivas y tiene la función de neutralizar los radicales libres dañinos y las especies reactivas de oxígeno. Asimismo, indica estrés oxidativo cuando se produce un aumento de la forma

oxidada del glutati3n (GSSG) respecto a la forma reducida (GSH), es decir, el ratio GSSG:GSH es elevado. Otro compuesto que actúa como indicador de estr3s oxidativo es el MDA y se trata del producto final de la peroxidaci3n lipídica, proceso que da lugar a la producci3n de per3xidos y sus derivados, lo cual conlleva a una p3rdida de funci3n de la membrana. Con todo ello, los resultados de la Figura 9 muestran que la administraci3n de ROT (grupo ROT) produjo un aumento del nivel de MDA y una disminuci3n del nivel de GSH respecto al grupo control (grupo CONT). Sin embargo, la administraci3n previa de BCP a los animales tratados con ROT (grupo ROT+BCP) revirti3 los efectos producidos por ROT. Adem3s, al administrar AM630 junto con BCP y ROT (grupo ROT-BCP + AM630), se anul3 el efecto producido por BCP. Este resultado concluye que el rCB2 est3 implicado de forma específica en los efectos antioxidantes mediados por BCP.

Por otro lado, en la Figura 10 se analiza la expresi3n de la enzima super3xido dismutasa (SOD) y la enzima catalasa (CAT), dos tipos de enzimas antioxidantes. Asimismo, la administraci3n de ROT (grupo ROT) produjo una disminuci3n de los niveles de estas enzimas antioxidantes con respecto al grupo control (grupo CONT). Sin embargo, las ratas tratadas con BCP (grupo ROT + BCP) produjo un aumento de la actividad de SOD y CAT con respecto al grupo ROT. Por último, la administraci3n del antagonista AM630 (grupo ROT-BCP + AM630) anula los efectos producidos por el agonista BCP (grupo ROT+BCP), lo cual indica que el efecto antioxidante mediado por BCP depende de forma específica del rCB2.



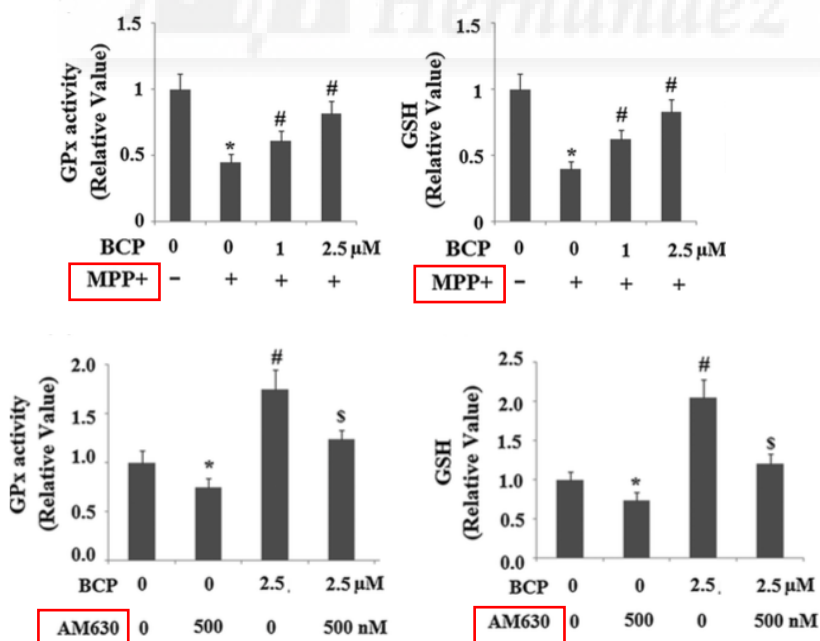
**Figura 9.** Análisis de los niveles de GSH, MDA y nitrito, tres compuestos que indican estrés oxidativo. Imagen extraída de: Javed et al, 2016<sup>26</sup>. CONT: control, ROT: rotenona, BCP:  $\beta$ -cariofileno.



**Figura 10.** Análisis de los niveles de SOD y CAT, dos enzimas antioxidantes. Imagen extraída de: Javed et al, 2016<sup>26</sup>. CONT: control, ROT: rotenona, BCP:  $\beta$ -cariofileno.



Asimismo, Wang G y cols.<sup>27</sup> realizaron un estudio *in vitro* con células de neuroblastoma humano SH-SY5Y con el fin de evaluar los efectos antioxidantes de BCP contra la neurotoxicidad inducida por MPP+. MPP+ se trata de una neurotoxina capaz de causar lesiones en las neuronas dopaminérgicas humanas y se utiliza en este estudio para crear un modelo *in vitro* de la EP. En este trabajo se evalúa el nivel de glutatión reducido (GSH) ya que es un indicador de actividad antioxidante. Además, se determina la actividad de la glutatión peroxidasa (GPx), enzima que forma parte del sistema antioxidante del glutatión. Los resultados de este estudio (véase Figura 11) revelan que la administración de MPP+ dio lugar a una disminución en los niveles de GSH y en la actividad de GPx respecto al grupo control, lo cual es indicativo de estrés oxidativo. En cambio, el tratamiento con BCP durante 24 horas revirtió los efectos producidos por MPP+ de manera dosis dependiente, produciendo así un efecto antioxidante. Por otro lado, las células SH-SY5Y fueron tratadas con BCP en presencia o ausencia del antagonista selectivo de rCB2 AM630. Estos resultados muestran que el tratamiento con AM630 anuló el efecto beneficioso producido por BCP. Por tanto, eso sugiere que el efecto antioxidante y neuroprotector de BCP contra la neurotoxicidad inducida por MPP+ depende del rCB2.

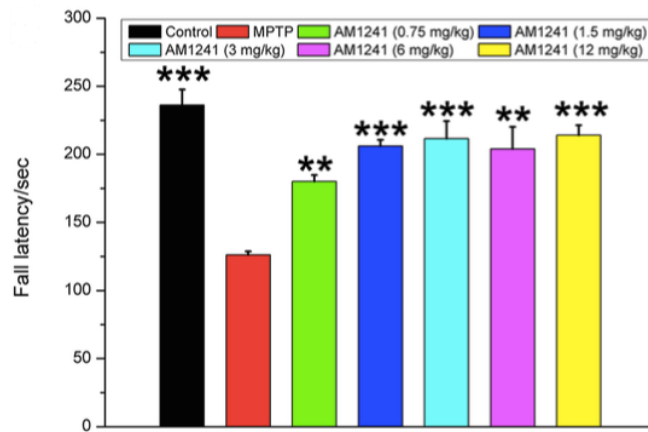


**Figura 11.** Análisis de la actividad glutatión peroxidasa (GPx) y del nivel del glutatión reducido (GSH) en células SH-SY5Y. Imagen extraída de: Wang et al, 2018<sup>27</sup>.

### - Modulación de aspectos motores

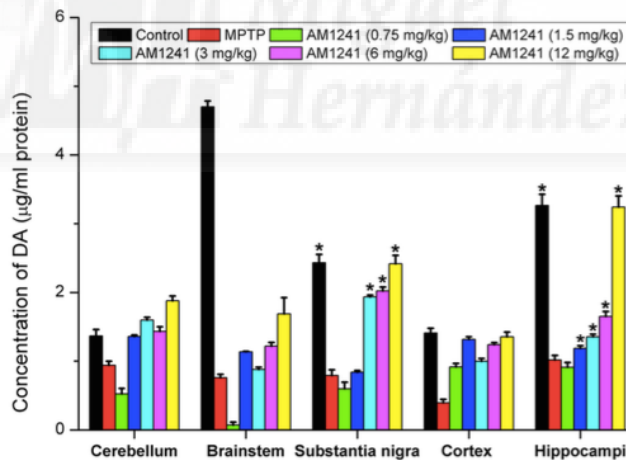
Hasta ahora se ha analizado el papel neuroprotector que tiene el rCB2 debido, al menos en parte, a sus efectos antiinflamatorios y antioxidantes. Además, este receptor también tiene una gran relevancia en la modulación de los aspectos motores o incluso en los no motores, como pueden ser las alteraciones cognitivas y emocionales características de esta enfermedad<sup>28</sup>. A continuación, se revisarán una serie de estudios farmacológicos relacionados con los aspectos motores con el objetivo de profundizar más en el potencial terapéutico del rCB2 en la EP.

En cuanto a la modulación de los aspectos motores, un ejemplo sería el trabajo realizado por Shi J y cols.<sup>29</sup> En este estudio utilizaron ratones machos C57BL / 6N y se sometieron al test Rotarod con el objetivo de evaluar los déficits motores derivados de la administración de la neurotoxina MPTP. El test Rotarod consiste en una prueba en la que se coloca a los ratones en un cilindro y la velocidad de rotación del cilindro va variando. Por tanto, se evalúa el tiempo que permanece el animal en el cilindro giratorio de forma coordinada, es decir, el periodo de latencia. En la Figura 12 se puede observar que los ratones tratados con MPTP se cayeron mucho antes, es decir, el tiempo de latencia es menor en comparación con el grupo control. Esto confirma que el MPTP produce déficits en la coordinación motora de estos animales. Asimismo, para evaluar si estos déficits motores ocasionados por MPTP pueden ser revertidos mediante la activación del rCB2, se administró el agonista selectivo del rCB2 AM1241. Como resultado, se obtuvo que el fármaco AM1241 aumentaba el tiempo de latencia de forma dosis dependiente (0,75-12 mg/kg i.p.) en comparación con el grupo tratado con MPTP. Debido a esto, el grupo tratado con mayor dosis de AM1241 (12 mg/kg), presentó un tiempo de latencia prácticamente igual al del grupo control. Por tanto, estos resultados demuestran que el agonista del rCB2 AM1241 revirtió eficazmente los déficits motores inducidos por la administración de MPTP.



**Figura 12.** Análisis del tiempo de latencia hasta la caída en ratones de diferentes grupos mediante el test Rotarod. Imagen extraída de: Shi et al, 2017<sup>29</sup>.

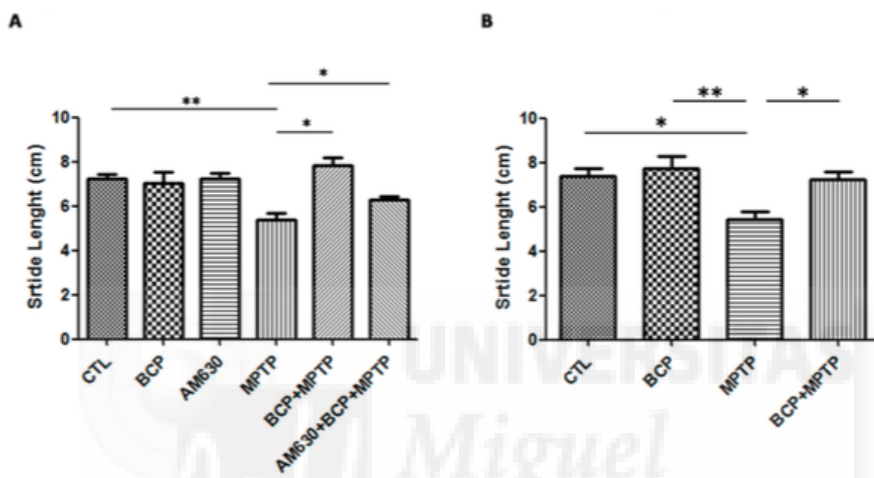
Además, el estudio de Shi J y cols.<sup>29</sup> también reveló que los ratones tratados con MPTP obtuvieron una disminución en los niveles de dopamina (DA) respecto al grupo control (véase Figura 13). Sin embargo, la administración del agonista del rCB2 AM1241 aumentó los niveles de DA de forma dosis dependiente, de tal forma que con la dosis más alta (12 mg/kg) los niveles fueron similares a los del grupo control en algunas regiones cerebrales (SN, corteza o hipocampo).



**Figura 13.** Análisis de la concentración de DA en diferentes regiones cerebrales de ratones. Imagen extraída de: Shi et al, 2017<sup>29</sup>.

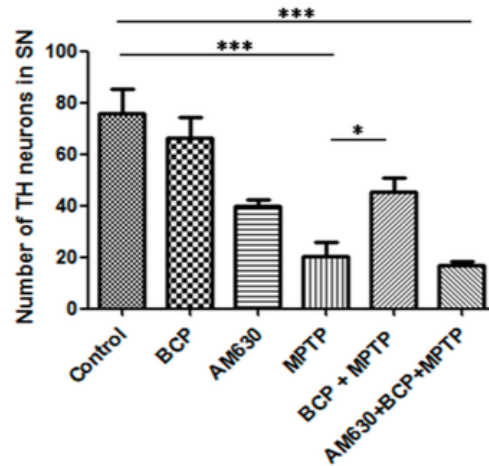
Otro estudio que evalúa el deterioro motor producido en la EP es el de Viveros-Paredes JM y cols<sup>30</sup>. En este trabajo utilizaron la neurotoxina MPTP y evaluaron el déficit motor en ratones mediante la prueba de marcha. Los pasos cortos es uno de los síntomas motores característicos del Parkinson por lo que en esta prueba se evalúa la longitud de la zancada. Como se puede ver en la Figura 14,

los ratones tratados con MPTP presentan una disminución en la longitud de la zancada respecto al grupo control (CTL). Además, la administración del agonista de rCB2 BCP tanto por vía intraperitoneal (Figura 14 A) como por vía oral (Figura 14 B), previa a la administración de MPTP (grupo BCP + MPTP), dio lugar a un aumento de la longitud de la zancada en comparación con el grupo MPTP. Sin embargo, la administración del antagonista AM630 (grupo AM630+BCP+MPTP) revirtió las mejoras producidas por BCP, señalando la implicación del rCB2 en el efecto observado.



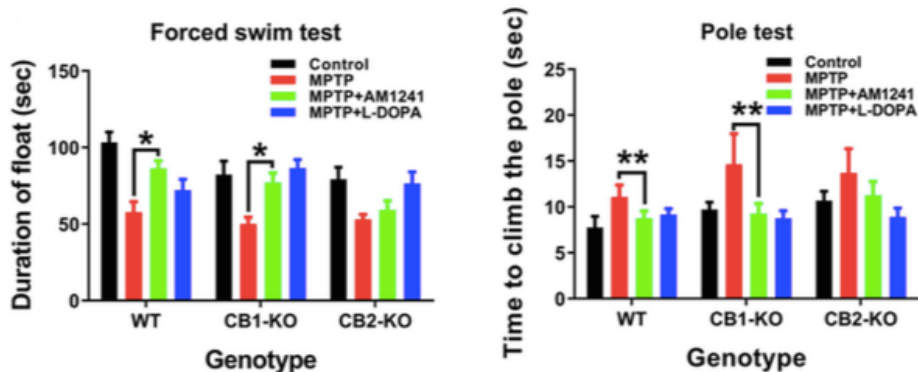
**Figura 14.** Evaluación de la longitud de zancada mediante la prueba de marcha. (A) Administración de BCP intraperitoneal, (B) administración de BCP oral. Imagen extraída de: Viveros-Paredes et al, 2017<sup>30</sup>.

Además, Viveros-Paredes JM y cols.<sup>30</sup> también midieron la inmunoreactividad de TH, una enzima encargada de transformar la tirosina a DA por lo que es un marcador de la presencia de neuronas dopaminérgicas. En la Figura 15 se observa que el tratamiento con MPTP disminuyó el número de neuronas TH positivas en la SN. Además, en los ratones tratados con BCP y MPTP se observó un aumento en el nivel de neuronas TH+ con respecto a los efectos producidos por el grupo MPTP. Por último, la administración del antagonista del rCB2 AM630 (grupo AM630+BCP+MPTP) revirtió los efectos protectores de BCP contra la degeneración neuronal dopaminérgica inducida por MPTP. Esto demuestra que el efecto protector del BCP está mediado por el rCB2.



**Figura 15.** Análisis del número de neuronas TH en la SN de ratones. Imagen extraída de: Viveros-Paredes et al, 2017<sup>30</sup>.

Otro estudio en el que evaluaron la función motora es el de He y cols.<sup>31</sup> y lo hicieron mediante la prueba de la natación forzada y el test de Pole. Para ello, utilizaron modelos animales WT (control), CB1-KO (ratones que carecen del rCB1) y CB2-KO (ratones que carecen del rCB2), a los que se les inyectó MPTP seguido de AM1241 o L-Dopa (véase Figura 16). En cuanto a los resultados, en la natación forzada se observa que, tanto los ratones WT como los CB1-KO, tratados con AM1241 (Grupo MPTP + AM1241) pasaron más tiempo flotando en comparación con los tratados solo con MPTP. Asimismo, en el test de Pole los ratones WT y CB1-KO tratados con AM1241 (Grupo MPTP + AM1241) disminuyeron el tiempo de escalada, es decir, fueron mucho más rápidos en comparación con los tratados solo con MPTP. Finalmente, en ambas pruebas se obtuvo que los beneficios de AM1241 al revertir los déficits motores inducidos por MPTP en los ratones WT y CB1-KO, no se obtuvieron en los ratones CB2-KO. Se concluye que la falta de estos efectos en los animales CB2-KO se deben a que carecen del rCB2, por lo que se demuestra que este receptor es necesario para que AM1241 ejerza sus efectos neuroprotectores.



**Figura 16.** Evaluación de AM1241 en la recuperación de la función motora en ratones WT, CB1-KO y CB2-KO mediante la prueba de natación forzada y el test del poste. Imagen extraída de: He et al, 2020<sup>31</sup>.

Por último, Rentsch y cols.<sup>32</sup> utilizaron la neurotoxina 6-OHDA y L-Dopa para obtener modelos de ratones con EP que presenten discinesia inducida por L-Dopa (LID). La LID es una característica motora típica de la EP y en este estudio se obtuvo que el agonista del rCB2 HU-308 (2,5 mg/kg) ejerció un efecto antidiscinético en estos modelos de ratones. Además, la administración del antagonista del rCB2 SR144528, revirtió los efectos antidiscinéticos producidos por HU-308. Por tanto, esto demuestra la especificidad del rCB2 en este efecto.

Todos estos hallazgos sugieren que la mejora de las alteraciones motoras, evidenciadas en las diferentes pruebas de comportamiento (prueba de Rotarod, prueba de la marcha, natación forzada y test de Pole) mediante la activación farmacológica del rCB2, está estrechamente relacionado con el aumento de los niveles de DA en aquellas regiones cerebrales implicadas en la regulación de la función motora. Además, se observa que la ausencia del rCB2 revierte todos los beneficios obtenidos. Por tanto, se puede afirmar que el rCB2 está implicado en la modulación de los aspectos motores (longitud de la zancada, LID, etc.) característicos de la EP.

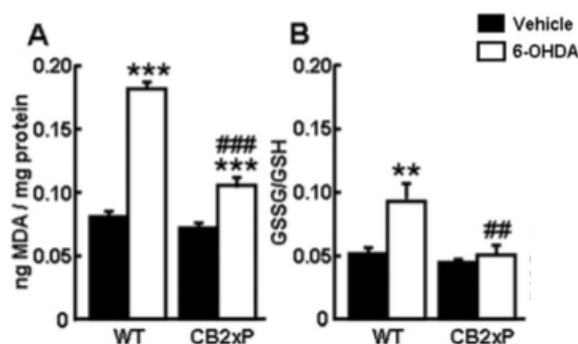
Modelo de estudio	Aproximación experimental a la EP	Manipulación del rCB2	Técnicas empleadas	Efectos de la manipulación del rCB2	Referencia
Ratón macho C57BL/6N	Lesionado con MPTP (modelo neurotóxico)	WIN55,212-2 10 µg/kg, i.p.  JWH-133 4mg/kg, i.p.	- Tinción inmunohistoquímica con el anticuerpo MAC-1  - Técnica qRT-PCR	↓ Activación microglial  ↓ IL-1β, TNF-α ↓ Expresión iNOS	25
Rata macho Wistar	Lesionado con ROT (modelo neurotóxico)	BCP 50mg/kg, i.p.	-Técnica ELISA	↓ IL-1β, IL-6, TNF-α  ↓ Nitrito, MDA ↑ GSH ↑ SOD y CAT	26
Células de neuroblastoma humano SH-SY5Y	Incubadas con MPP+	BCP 1, 2.5 µM	- Método fluorimétrico con DCFH-DA	↑ GSH y actividad GPx (dosis-dependiente)	27
Ratón macho C57BL/6N	Lesionado con MPTP (modelo neurotóxico)	AM1241 0,75-12mg/kg, i.p.	- Prueba Rotarod  - Análisis inmunohistoquímico	↑ Tiempo de latencia en Rotarod (dosis-dependiente)  ↑ Niveles de DA (dosis-dependiente)	29
Ratón macho C57BL/6J	Lesionado con MPTP (modelo murino)	BCP 10mg/kg, i.p.  BCP 10mg/kg, v.o.	- Prueba de la marcha  - Análisis inmunohistoquímico	↑ Longitud de la zancada  ↑ Inmunoreactividad de TH	30
Ratones WT, CB1-KO y CB2-KO	Lesionados con MPTP (modelo neurotóxico)	Modelo de eliminación genética del rCB2  AM1241 6mg/kg	- Prueba de la natación forzada  - Test de Pole	↑ tiempo de flotación en ratones WT y CB1-KO  ↓ tiempo de escalada (+ rápidos) en ratones WT y CB1-KO  Ausencia de estos efectos en ratones CB2-KO	31
Ratón C57BL/6J	Lesionado con 6-OHDA y posterior tratamiento con L-Dopa (modelo neurotóxico)	HU-308 2,5 mg/kg, i.p.	- Evaluación de movimientos involuntarios anormales	↓ Discinesia inducida por L-Dopa (LID)	32

**Tabla 1.** Selección de estudios preclínicos en los que se evalúa la utilidad terapéutica del rCB2 en la EP mediante aproximaciones farmacológicas. i.p: vía intraperitoneal, v.o: vía oral, ROT: rotenona, 6-OHDA: 6-hidroxidopamina, BCP: β-carifileno.

#### 4.1.3 Manipulación genética del rCB2 en modelos de la EP

##### - Evaluación de los mecanismos neurobiológicos implicados

Actualmente, a parte de los estudios farmacológicos, también existen investigaciones basadas en la manipulación genética del rCB2 para modular los procesos inflamatorios y oxidativos, íntimamente implicados en la neurodegeneración de la EP. Un ejemplo de este tipo de estudios es el de Ternianov y cols.<sup>20</sup>, ya que utilizaron ratones transgénicos que sobreexpresan el rCB2 (CB2xP) y ratones salvajes WT. Ambos grupos fueron tratados con 6-OHDA con el objetivo de medir los parámetros oxidativos MDA y la relación GSSG/GSH en el cuerpo estriado (véase Figura 17), ya que están íntimamente relacionados con la EP. Los resultados revelaron que el tratamiento con 6-OHDA produjo un aumento de MDA tanto en los ratones CB2xP como en los WT respecto a sus grupos control. Además, 6-OHDA sólo produjo un aumento de GSSG/GSH en el cuerpo estriado de ratones WT respecto a su grupo control. Los datos obtenidos apuntaban a que los ratones que sobreexpresan el rCB2 presentaban unos niveles de parámetros oxidativos (MDA y GSSG/GSH) más bajos a pesar de que el tratamiento con 6-OHDA los estimula. Por tanto, estos resultados sugerían que la sobreexpresión del rCB2 podría proteger contra la oxidación inducida por 6-OHDA.

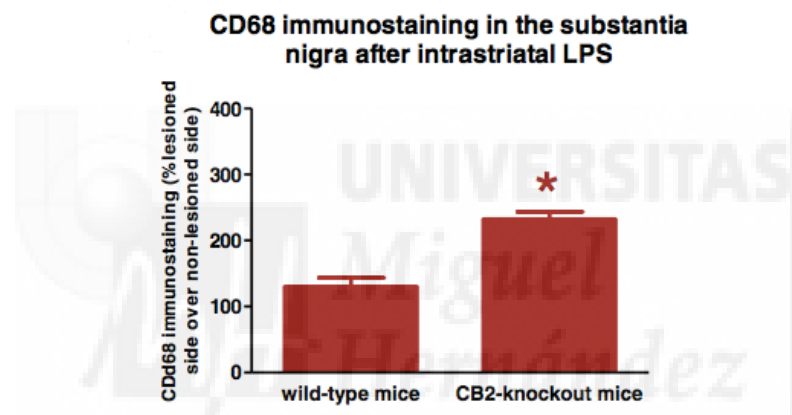


**Figura 17.** Evaluación de los parámetros bioquímicos oxidativos MDA y GSSG/GSH en el estriado de ratones CB2xP y WT. Imagen extraída de: Ternianov et al, 2012<sup>20</sup>.

Otro estudio relacionado con la manipulación genética del rCB2 fue el de Gómez-Gálvez y cols.<sup>33</sup> ya que compararon la capacidad de respuesta



inflamatoria inducida por LPS en presencia o ausencia del rCB2. Para ello, analizaron la inmunotinción de CD68 ya que tiene la función de identificar la microglia activada, así como la infiltración de macrófagos periféricos que aparecen de forma masiva después del tratamiento con LPS. En la Figura 18 se analiza la inmunotinción de CD68 en la SN lesionada en comparación con el lado no lesionado en ratones que carecen del rCB2 (CB2-KO) y en ratones de tipo salvaje. Como resultado se obtiene que los niveles de inmunotinción de CD68 fueron más elevados en el grupo de ratones CB2-KO. Esto indica que la falta del rCB2 empeora la respuesta inflamatoria inducida por LPS, por lo que este receptor presenta una acción protectora contra el daño inflamatorio derivado de LPS.

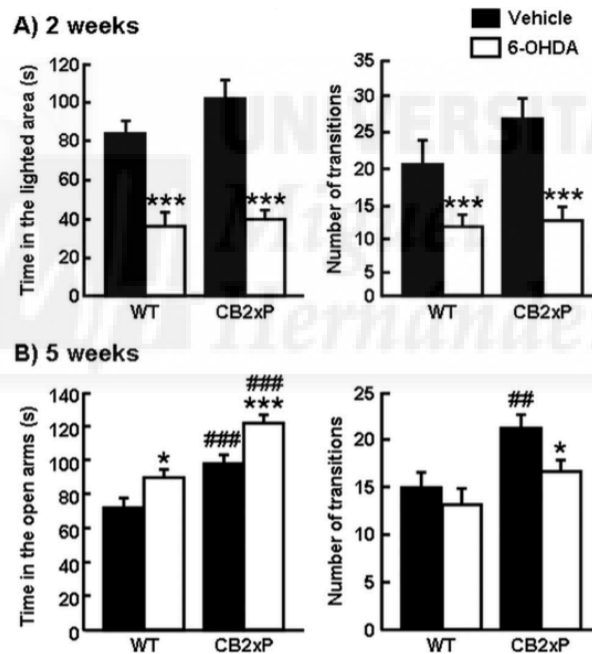


**Figura 18.** Análisis del nivel de inmunotinción de CD68 en la SN de ratones de tipo salvaje y ratones CB2-KO. Imagen extraída de: Gómez-Gálvez et al, 2016<sup>33</sup>.

#### - Modulación de aspectos no motores

En cuanto a los aspectos no motores, en el trabajo de Ternianov y cols.<sup>20</sup> se evalúan los comportamientos cognitivos y emocionales mediante la administración intracerebral (estriado) de 6-OHDA o su vehículo en ratones transgénicos que sobreexpresan el rCB2 (CB2xP), y en ratones controles *wild type* (WT). Por un lado, para evaluar el comportamiento emocional en estos modelos animales se realizaron dos pruebas: la prueba de la caja clara-oscura, que se realizó 2 semanas después del tratamiento, y la prueba del laberinto elevado en cruz, realizada 5 semanas después del tratamiento (véase Figura 19). Respecto a la prueba de la caja clara-oscura, se comentará brevemente que los ratones que pasen más tiempo en el área iluminada y presenten mayor

número de transiciones, tendrán menor nivel de ansiedad. Los resultados obtenidos de esta prueba fueron que la administración de la neurotoxina 6-OHDA produjo una disminución tanto en el tiempo pasado en el área iluminada como en el número de transiciones en ratones CB2xP y WT, en comparación con los grupos control tratados con vehículo. Por tanto, tras 2 semanas de su administración, la 6-OHDA genera comportamientos ansiogénicos. En cambio, en la prueba del laberinto elevado en cruz los ratones que pasen más tiempo en los brazos abiertos presentarán menos rasgos de ansiedad. En esta prueba se obtuvo que la administración de 6-OHDA aumentó el tiempo transcurrido en los brazos abiertos tanto en ratones CB2xP como en WT en comparación con el grupo control tratado con vehículo. Es decir, en este caso la 6-OHDA produce comportamientos de tipo ansiolítico tras 5 semanas de su administración.

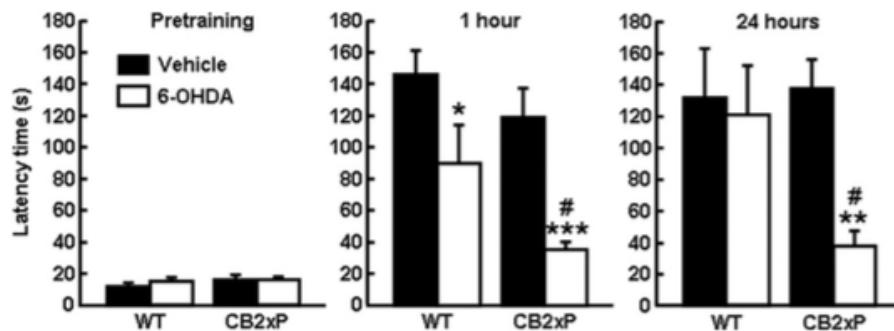


**Figura 19.** Evaluación del nivel de ansiedad mediante la prueba de la caja clara-oscuro (A) y la prueba del laberinto elevado en cruz (B) de ratones CB2xP y WT. Imagen extraída de: Ternianov et al, 2012<sup>20</sup>.

Por otro lado, para tener una valoración de la implicación del rCB2 en la modulación del estado cognitivo en el contexto de un modelo animal de EP, Ternianov y cols.<sup>20</sup> realizaron la prueba de evitación inhibitoria del descenso de la plataforma 5 semanas después del tratamiento con 6-OHDA. Esta prueba consiste en una caja con una plataforma ubicada al lado de una rejilla. Los

ratones se colocaron en la plataforma y se midió el tiempo de latencia hasta que descendieron a la rejilla con las cuatro patas. Asimismo, en la sesión de entrenamiento los animales recibieron una pequeña descarga eléctrica justo cuando descendieron de la plataforma e inmediatamente se sacaron de la caja. Posteriormente, se volvió a realizar la misma prueba a los animales 1 hora después del entrenamiento para evaluar la memoria a corto plazo y 24 horas después del entrenamiento para evaluar la memoria a largo plazo (véase Figura 20). Aquellos ratones con mayor tiempo de latencia, es decir, los que tardan más en descender de la plataforma, serán los que presenten buena memoria ya que se acordarán del choque eléctrico producido al bajar a la rejilla. Los resultados de esta prueba mostraron que en la sesión de entrenamiento todos los grupos descendieron de la plataforma de manera similar. Sin embargo, 1 hora después del entrenamiento se observa que los ratones tratados con 6-OHDA presentaron tiempos de latencia más cortos en comparación con sus respectivos grupos controles tratados con vehículo. Además, dentro de los ratones tratados con 6-OHDA, el grupo CB2xP tuvo tiempos de latencia menores con respecto al grupo WT. Por tanto, se producen alteraciones en los procesos de consolidación de la memoria a corto plazo en los ratones CB2xP y WT tratados con 6-OHDA ya que presentan tiempos de latencia menores, siendo el grupo de ratones CB2xP los que sufren una mayor alteración. Por otro lado, 24 horas después del entrenamiento se obtuvo que los ratones CB2xP tratados con 6-OHDA presentaron un tiempo de latencia muy corto, es decir, recordaban significativamente peor el estímulo aversivo. Por el contrario, los ratones WT tratados con 6-OHDA recordaron la sesión de entrenamiento y no descendieron de la plataforma.

Este deterioro cognitivo puede deberse a la pérdida de dopamina que produce la 6-OHDA administrada en el CPu de los ratones. Además, estos resultados sugieren que el rCB2, a través de un mecanismo desconocido, podría estar implicado en las alteraciones producidas para consolidar la memoria. De forma conjunta, se observa que el nivel de lesión de 6-OHDA en las alteraciones motoras no tiene por qué ser equivalente al nivel de lesión de esta neurotoxina en las alteraciones emocionales y/o cognitivas (no motoras).



**Figura 20.** Evaluación del comportamiento cognitivo mediante la prueba de la evitación inhibitoria del descenso de la plataforma en ratones CB2xP y WT. Imagen extraída de: Ternianov et al, 2012<sup>20</sup>.

Modelo de estudio	Aproximación experimental a la EP	Manipulación del rcb2	Técnicas empleadas	Efectos de la manipulación del rCB2	Referencia
Ratón macho	Lesionado con 6-OHDA (modelo neurotóxico)	Modelo genético de sobreexpresión de rCB2 (CB2xP)	- Evaluación de parámetros oxidativos: MDA y GSSG/GSH	↓ MDA ↓ GSSG/GSH	20
Ratón macho C57BL/6J	Lesionado con LPS	Modelo de eliminación genética del rCB2	- Análisis inmunohistoquímico de CD68	↑ nivel de inmunotinción de CD68	33
Ratón macho	Lesionado con 6-OHDA (modelo neurotóxico)	Modelo genético de sobreexpresión de rCB2 (CB2xP)	- Prueba de la caja clara-oscuro  - Prueba del laberinto elevado en cruz  - Prueba de evitación inhibitoria del descenso de la plataforma	↓ tiempo pasado en el área iluminada  ↑ tiempo pasado en los brazos abiertos  ↓ tiempo de latencia (pérdida de memoria) a corto y largo plazo	20

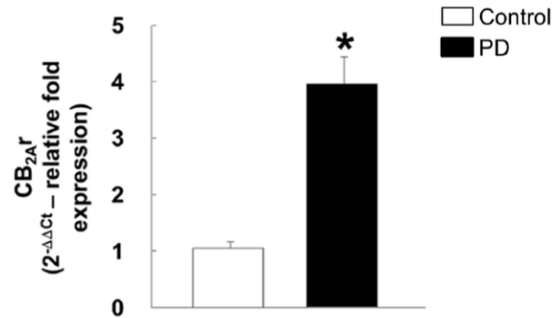
**Tabla 2.** Selección de estudios preclínicos en los que se evalúa la utilidad terapéutica del rCB2 en la EP mediante aproximaciones genéticas.

#### 4.2 Datos clínicos que evalúan el papel terapéutico del rCB2 en la Enfermedad de Parkinson

Hasta este punto, se han comentado diversos estudios preclínicos (*in vitro* o *in vivo*) a través de los que se sugiere la posible implicación terapéutica del rCB2 en la EP debido a su potencial neuroprotector relacionado con sus efectos

antiinflamatorios y antioxidantes. Además, estos modelos preclínicos han sugerido que el rCB2 es capaz de modular aspectos motores y no motores característicos de la EP. Sin embargo, un aspecto que da lugar a una investigación más profunda sobre los mecanismos implicados en estos efectos, así como su utilidad terapéutica, es que hayan evidencias sobre el papel terapéutico del rCB2 en muestras biológicas de origen clínico. Estas evidencias se encontraron en el artículo de García y cols.<sup>34</sup>, en el que mostraban por primera vez la presencia de rCB2 en la SN humana, siendo los niveles del rCB2 más bajos en la SN de pacientes con EP respecto a los controles. Sin embargo, estos resultados fueron contradictorios en comparación con los obtenidos en el estudio de Gómez-Gálvez y cols.<sup>33</sup> con muestras de tejido cerebral *post-mortem* de pacientes con EP. Realizaron una prueba de inmunofluorescencia para el rCB2, Iba-1 (marcador de células microgliales) y CD68 (marcador de microglia activada, macrófagos y monocitos) en la SN de pacientes con EP y en sujetos control. Los resultados mostraron que en los tres casos la inmunotinción fue mayor en las muestras de los pacientes con EP respecto a los sujetos control. Por tanto, los pacientes con EP presentaron un aumento en el nivel de expresión del rCB2 en la SN, así como su presencia en las células microgliales.

Recientemente, Navarrete y cols.<sup>35</sup> realizaron un estudio con el objetivo de detectar posibles alteraciones en la expresión génica del rCB1 y rCB2, así como de la enzima MAGL en la SN de muestras cerebrales de pacientes con EP. Para ello, la evaluación de la expresión génica se midió mediante la técnica de PCR a tiempo real. Los resultados revelaron cambios significativos en la expresión génica de los rCB1, rCB2 y de la enzima MAGL, destacando el aumento de la expresión del rCB2 de hasta 4 veces en la SN de pacientes con EP en comparación con los sujetos control (véase Figura 21). Además, realizaron análisis inmunohistoquímicos para conocer la localización del rCB2 en la SN de pacientes con EP y controles. Como resultado se obtuvo que los rCB2 se encuentran junto con los astrocitos, pero no con las neuronas o células microgliales.



**Figura 21.** Análisis de la expresión génica del rCB2 isoforma A en la SN de pacientes con EP y en pacientes control. Imagen extraída de: Navarrete et al, 2018<sup>35</sup>.

Por tanto, todos estos hallazgos encontrados en muestras biológicas (tejido cerebral *post-mortem*) de pacientes con EP (ver Tabla 3) dan un mayor peso a la idea de que la modulación farmacológica del rCB2 podría ser una nueva estrategia terapéutica para el manejo del Parkinson.

Sujetos	Muestras	Técnicas empleadas	Resultados	Referencia
Pacientes de Parkinson (n=5) y controles (n=5)	Tejido cerebral <i>post-mortem</i> (análisis de SN)	Inmunotinción del rCB2	↓ expresión CB2 en la sustancia negra	34
Pacientes de Parkinson (n=5) y controles (n=5)	Tejido cerebral <i>post-mortem</i> (análisis de SN)	Prueba de inmunofluorescencia para rCB2, Iba-1 y CD68	↑ expresión CB2 en la sustancia negra	33
Pacientes de Parkinson (n= ) y controles (n= )	Tejido cerebral <i>post-mortem</i> (análisis de SN y PUT)	Técnica qRT-PCR	↑ expresión CB2 en la sustancia negra	35

**Tabla 3.** Selección de estudios clínicos *post-mortem* en los que se evalúa la utilidad terapéutica del rCB2 en la EP. SN: Sustancia negra, PUT: Putamen.

## 5. DISCUSIÓN

En el presente trabajo de revisión bibliográfica se ha analizado la literatura disponible acerca de la posible utilidad terapéutica del rCB2 en la EP. Las evidencias científicas que se han recopilado muestran los cambios en la expresión del gen del rCB2, así como la modulación farmacológica y genética del rCB2 en modelos preclínicos y clínicos de la EP. Estos resultados sitúan al rCB2 como un elemento prometedor para modificar el curso de la enfermedad y para el manejo de los síntomas característicos de la EP.

Los estudios realizados en modelos preclínicos *in vivo* como el de Ternianov y cols.<sup>20</sup> y el de Concannon RM y cols.<sup>24</sup>, indican que se produce un aumento en la expresión del gen del rCB2 como respuesta defensiva ante la neurodegeneración inducida por neurotoxinas y lipopolisacáridos inflamatorios bacterianos. En cuanto a las propiedades antiinflamatorias mediadas por la activación del rCB2, destaca la capacidad de prevenir la activación microglial y, en consecuencia, se produce una reducción de la liberación de las citoquinas proinflamatorias IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ <sup>25, 26</sup> así como del mediador inflamatorio iNOS<sup>25</sup>. Asimismo, las propiedades antioxidantes más relevantes, también mediadas por el rCB2, son la modulación de las alteraciones en los niveles de GSH, MDA y nitrito, así como evitar la reducción de los niveles de las enzimas antioxidantes SOD y CAT, alterados en modelos animales neurodegenerativos<sup>26</sup>. Además, en un modelo preclínico *in vitro* también se produjo una modulación del nivel de GSH y de la actividad de la glutatión peroxidasa (GPx)<sup>27</sup>. Todos estos efectos beneficiosos se observan cuando se activa el rCB2 mediante fármacos agonistas selectivos como son el JWH-133<sup>25</sup> o el BCP<sup>26, 27</sup>. Sin embargo, para poder determinar que los mecanismos de protección están mediados de forma específica por el rCB2, se realizaron estudios farmacológicos empleando antagonistas del rCB2. De hecho, cuando se administran tanto agonistas puros del rCB2 como agonistas duales CB1/CB2, junto con un antagonista selectivo del rCB2 como es AM630, se produce un bloqueo en la actividad antiinflamatoria<sup>25, 26</sup> y antioxidante<sup>26, 27</sup>. Estos experimentos farmacológicos son de gran utilidad ya que demuestran que los efectos antiinflamatorios y

antioxidantes están específicamente mediados por el rCB2, aumentando así el interés por su implicación en la neurodegeneración de la EP.

Por otro lado, el rCB2 también tiene una gran relevancia en la modulación de los aspectos motores y no motores característicos de la EP. Respecto a los aspectos motores, con los datos obtenidos de esta revisión, se ha demostrado que la activación farmacológica del rCB2 en modelos preclínicos *in vivo* de la EP produce beneficios. Para ello, la administración de fármacos agonistas CB2 como AM1241<sup>29</sup> o BCP<sup>30</sup> producen una mejora en la sintomatología motora evaluada mediante el test de Rotarod y la prueba de la marcha, respectivamente. Además, estos efectos están estrechamente relacionados con el aumento de los niveles de DA en la vía nigroestriatal, es decir, con una mayor funcionalidad dopaminérgica a ese nivel<sup>29, 30</sup>. Asimismo, He y cols.<sup>31</sup> utiliza un modelo de ratón que carece de rCB2 (CB2-KO) con el que demuestra que la presencia del rCB2 es necesaria para que AM1241 ejerza sus efectos neuroprotectores. Además, el estudio de Rentsch y cols.<sup>32</sup> obtuvo que los rCB2 pueden proporcionar una vía potencial para atenuar la discinesia utilizando un modelo de ratón de LID. Este beneficio se obtuvo con el fármaco agonista CB2 HU-308, sin embargo, una limitación de este estudio fue que la eficacia de HU-308 todavía no se ha evaluado en cohortes con diferentes edades, sexos y cepas. Por tanto, puesto que los LID pueden permanecer durante muchos años en el paciente, se sugiere que los estudios futuros de agonistas CB2 en discinesias deberían confirmar su eficacia durante un largo periodo de tiempo. Respecto a los aspectos no motores, el estudio de Ternianov y cols.<sup>20</sup> emplea varias pruebas como son la caja clara-oscura y el laberinto elevado en cruz para evaluar el comportamiento emocional, además de la prueba de la evitación inhibitoria del descenso de la plataforma para evaluar el deterioro cognitivo. Los resultados muestran que el tratamiento con 6-OHDA aumenta el comportamiento ansiogénico en las primeras 2 semanas de tratamiento, mientras que 5 semanas después del tratamiento se producen respuestas de tipo ansiolítico. Este comportamiento ansiolítico se relaciona con una falta en la percepción de estímulos ansiogénicos una vez que la lesión es más pronunciada y estable. Por último, los resultados de las pruebas cognitivas mostraron pérdidas de memoria a corto y largo plazo



en ratones WT y CB2xP debido al agotamiento dopaminérgico en el CPu que produce la 6-OHDA. Esto muestra que el rCB2, a través de un mecanismo desconocido, podría ser responsable de las alteraciones en la consolidación de la memoria.

Además de la modulación farmacológica del rCB2, se han mostrado estudios en los que se ha manipulado genéticamente al rCB2 como el de Ternianov y cols.<sup>20</sup> y el de Gómez-Gálvez y cols.<sup>33</sup>. En ellos se sugiere que la sobreexpresión del rCB2 podría proporcionar efectos neuroprotectores, mejorando así el curso neurológico de la EP, mientras que la ausencia del rCB2 empeora la respuesta inflamatoria inducida por LPS. Asimismo, estudios clínicos *post-mortem* realizados con cerebros de pacientes con EP como el de Gómez-Gálvez y cols.<sup>33</sup> o el de Navarrete y cols.<sup>35</sup>, observaron que el rCB2 se encuentra elevado en la SN, sugiriendo que el aumento del rCB2 podría estar relacionado con un efecto neuroprotector. Sin embargo, en el estudio de García y cols.<sup>34</sup> se obtiene un resultado totalmente opuesto al de los otros dos estudios. Esto es intrigante teniendo en cuenta la cantidad de literatura previa que apoya la asociación entre la neurodegeneración y la regulación positiva del rCB2, especialmente en modelos animales de EP.

Como conclusión, cabe destacar que debido a las evidencias preclínicas y clínicas que existen en relación con la implicación del rCB2 en la EP, sería lógico pensar que si se modifica la función del rCB2 se podría modificar también el curso clínico de esta patología. Sin embargo, para que en un futuro se pueda conseguir una modificación de la EP a través de la manipulación farmacológica o genética del rCB2, se necesita disponer primero de biomarcadores específicos y sensibles que permitan un diagnóstico temprano de la EP, para poder intervenir antes mediante estrategias neuroprotectoras. Además, aún queda por conocer mejor los mecanismos que subyacen a los efectos neuroprotectores del rCB2 así como realizar numerosos ensayos con diferentes aproximaciones farmacológicas y genéticas dirigidas hacia este receptor con el fin de obtener más evidencias sobre los efectos que produce el rCB2 tanto en la neurodegeneración como en los aspectos cognitivos y emocionales característicos de la EP. A pesar de esto, actualmente existen evidencias muy

esperanzadoras que señalan al rCB2 como una futura diana farmacológica en el manejo de la EP, e incluso de otras patologías que afecten al SNC y que cursen con procesos neurodegenerativos asociados a fenómenos inflamatorios u oxidativos.



## 6. CONCLUSIONES

1. Actualmente la EP carece de un tratamiento etiológico para modificar el curso clínico de la enfermedad, por lo que hay un especial interés en la búsqueda de nuevas estrategias que puedan proporcionar un efecto neuroprotector.
2. Existen evidencias que muestran cambios en la expresión génica del rCB2 como respuesta defensiva ante el daño producido por la administración de neurotoxinas que imitan parcialmente el proceso neuropatológico de la EP.
3. La manipulación farmacológica y genética del rCB2 proporciona una regulación en los procesos neuroinflamatorios y oxidativos característicos de la EP, los cuales están estrechamente relacionados con su potencial neuroprotector.
4. Los aspectos motores característicos de la EP podrían ser modulados mediante la activación selectiva del rCB2, a través de mecanismos neuroprotectores para evitar la pérdida de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra.
5. Se sugiere que los rCB2 juegan un papel importante en la regulación de los aspectos cognitivos y emocionales característicos de la EP.
6. En los estudios que evalúan cambios inmunohistoquímicos en tejido cerebral *post-mortem* también se apunta hacia la potencial implicación del rCB2 en el proceso neurodegenerativo de la EP.
7. Los datos recopilados en esta revisión bibliográfica muestran que, en un futuro, la manipulación funcional del rCB2 podría ser una estrategia terapéutica prometedora para la EP. Sin embargo, todavía se necesita realizar más estudios para profundizar en los mecanismos implicados, así como para evaluar la eficacia, seguridad y tolerabilidad a nivel clínico.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Fages, B.d.I.C., *Guía Informativa de la Enfermedad de Parkinson*.
2. Poewe, W., et al., *Parkinson disease*. Nat Rev Dis Primers, 2017. **3**: p. 17013.
3. Joseph Jankovic, M., *Etiology and pathogenesis of Parkinson disease*.
4. *Parkinson's Disease*. National Institute on Aging.
5. Peñas, E., *El Libro Blanco del Parkinson en España. Aproximación, Análisis y Propuesta de futuro*.
6. Kalia, L.V. and A.E. Lang, *Parkinson's disease*. Lancet, 2015. **386**(9996): p. 896-912.
7. Kelvin L Chou, M., *Diagnosis and differential diagnosis of Parkinson disease*. UpToDate.
8. Bartels, A.L. and K.L. Leenders, *Parkinson's disease: the syndrome, the pathogenesis and pathophysiology*. Cortex, 2009. **45**(8): p. 915-21.
9. Basavarajappa, B.S., et al., *Endocannabinoid system in neurodegenerative disorders*. J Neurochem, 2017. **142**(5): p. 624-648.
10. Juri C, C. and V. Wanner E, *Neuroimágenes En Enfermedad De Parkinson: Rol De La Resonancia Magnética, El Spect Y El Pet*. Revista Médica Clínica Las Condes, 2016. **27**(3): p. 380-391.
11. Flórez, J., *Farmacología Humana*.
12. Connolly, B.S. and A.E. Lang, *Pharmacological Treatment of Parkinson Disease*. JAMA, 2014. **311**(16): p. 1670-83.
13. Antonazzo, M., et al., *Therapeutic potential of cannabinoids as neuroprotective agents for damaged cells conducing to movement disorders*. Int Rev Neurobiol, 2019. **146**: p. 229-257.
14. Cristino, L., T. Bisogno, and V. Di Marzo, *Cannabinoids and the expanded endocannabinoid system in neurological disorders*. Nat Rev Neurol, 2020. **16**(1): p. 9-29.
15. Cassano, T., et al., *Cannabinoid Receptor 2 Signaling in Neurodegenerative Disorders: From Pathogenesis to a Promising Therapeutic Target*. Front Neurosci, 2017. **11**: p. 30.
16. Stampanoni Bassi, M., et al., *Cannabinoids in Parkinson's Disease*. Cannabis Cannabinoid Res, 2017. **2**(1): p. 21-29.
17. Cilia, R., *Molecular Imaging of the Cannabinoid System in Idiopathic Parkinson's Disease*. Int Rev Neurobiol, 2018. **141**: p. 305-345.
18. Han, Q.W., Y.H. Yuan, and N.H. Chen, *The therapeutic role of cannabinoid receptors and its agonists or antagonists in Parkinson's disease*. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2020. **96**: p. 109745.
19. Bisogno, T. and V. Di Marzo, *Cannabinoid receptors and endocannabinoids: role in neuroinflammatory and neurodegenerative disorders*. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2010. **9**(5): p. 564-73.
20. Ternianov, A., et al., *Overexpression of CB2 cannabinoid receptors results in neuroprotection against behavioral and neurochemical alterations induced by intracaudate administration of 6-hydroxydopamine*. Neurobiol Aging, 2012. **33**(2): p. 421 e1-16.
21. Palomo-Garo, C., et al., *Targeting the cannabinoid CB2 receptor to attenuate the progression of motor deficits in LRRK2-transgenic mice*. Pharmacol Res, 2016. **110**: p. 181-192.
22. Rivers, J.R. and J.C. Ashton, *The development of cannabinoid CB1I receptor agonists for the treatment of central neuropathies*. Cent Nerv Syst Agents Med Chem, 2010. **10**(1): p. 47-64.
23. Concannon, R.M., et al., *Upregulation of the cannabinoid CB2 receptor in environmental and viral inflammation-driven rat models of Parkinson's disease*. Exp Neurol, 2016. **283**(Pt A): p. 204-12.

24. Concannon, R.M., et al., *Differential upregulation of the cannabinoid CB(2) receptor in neurotoxic and inflammation-driven rat models of Parkinson's disease*. *Exp Neurol*, 2015. **269**: p. 133-41.
25. Chung, Y.C., et al., *CB2 receptor activation prevents glial-derived neurotoxic mediator production, BBB leakage and peripheral immune cell infiltration and rescues dopamine neurons in the MPTP model of Parkinson's disease*. *Exp Mol Med*, 2016. **48**(1): p. e205.
26. Javed, H., et al., *Cannabinoid Type 2 (CB2) Receptors Activation Protects against Oxidative Stress and Neuroinflammation Associated Dopaminergic Neurodegeneration in Rotenone Model of Parkinson's Disease*. *Front Neurosci*, 2016. **10**: p. 321.
27. Wang, G., W. Ma, and J. Du, *beta-Caryophyllene (BCP) ameliorates MPP+ induced cytotoxicity*. *Biomed Pharmacother*, 2018. **103**: p. 1086-1091.
28. Bisogno, T., et al., *Type-2 cannabinoid receptors in neurodegeneration*. *Pharmacol Res*, 2016. **111**: p. 721-730.
29. Shi, J., et al., *AM1241 alleviates MPTP-induced Parkinson's disease and promotes the regeneration of DA neurons in PD mice*. *Oncotarget*, 2017. **8**(40): p. 67837-67850.
30. Viveros-Paredes, J.M., et al., *Neuroprotective Effects of beta-Caryophyllene against Dopaminergic Neuron Injury in a Murine Model of Parkinson's Disease Induced by MPTP*. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2017. **10**(3).
31. He, X., et al., *Activation of CB2R with AM1241 ameliorates neurodegeneration via the Xist/miR-133b-3p/Pitx3 axis*. *J Cell Physiol*, 2020.
32. Rentsch, P., et al., *Targeting the cannabinoid receptor CB2 in a mouse model of l-dopa induced dyskinesia*. *Neurobiol Dis*, 2020. **134**: p. 104646.
33. Gomez-Galvez, Y., et al., *Potential of the cannabinoid CB(2) receptor as a pharmacological target against inflammation in Parkinson's disease*. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2016. **64**: p. 200-8.
34. Garcia, M.C., et al., *Identification of CB(2) receptors in human nigral neurons that degenerate in Parkinson's disease*. *Neurosci Lett*, 2015. **587**: p. 1-4.
35. Navarrete, F., et al., *Cannabinoid CB1 and CB2 Receptors, and Monoacylglycerol Lipase Gene Expression Alterations in the Basal Ganglia of Patients with Parkinson's Disease*. *Neurotherapeutics*, 2018. **15**(2): p. 459-469.