

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ**

**FACULTAD DE FARMACIA.**

**TRABAJO DE FIN DE GRADO.**



**RELACIÓN Y FUNCIONALIDAD DEL SISTEMA  
ENDOCANNABINOIDEO EN EPISODIOS DE ESTRÉS Y  
ANSIEDAD.**

**TERAPIAS BASADAS EN LA INHIBICIÓN DE FAAH A NIVEL  
PRECLÍNICO Y CLÍNICO.**

**AUTOR:** Carmen Rubio Clemente

**Nº expediente:** 3025

**TUTOR:** Ani Gasparian Hovhannisyán.

**Área de Farmacología y Farmacoterapia.**

**Curso académico:** 2023-2024

**Convocatoria de Junio.**

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>(Página 4)</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>(Página 5)</b>
1.1 ANSIEDAD Y SUS TRASTORNOS	
1.2 TRASTORNO DE ANSIEDAD GENERALIZADA	
1.3 ESTRÉS	
1.4 ESTRÉS Y TRASTORNO DE ANSIEDAD GENERALIZADA	
1.5 RELACIÓN CON EL SISTEMA ENDOCANABINOIDE	
1.6 MOLÉCULAS DE INTERÉS, SÍNTESIS Y RUTAS METABÓLICAS	
<b>2. METODOLOGÍA</b> .....	<b>(Página 12)</b>
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	<b>(Página 13)</b>
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>(Página 13)</b>
4.1 LOCALIZACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE RECEPTORES	
4.2 LA SEÑALIZACIÓN ENDOCANNABINOIDE Y SUS RECEPTORES	
4.3 TRANSMISIÓN NEURONAL ENDOCANNABINOIDE	
4.4 ALTERACIONES DE LAS VÍAS SINÁPTICAS ENDOCANNABINOIDES BAJO EPISODIOS DE ANSIEDAD	
4.5 INHIBIDORES DE FAAH Y MAGL COMO POSIBLES TERAPIAS PARA REDUCIR LA ANSIEDAD Y OTRAS ALTERNATIVAS	
4.6 INHIBIDORES DE FAAH Y MAGL COMO POSIBLES TERAPIAS PARA REDUCIR LA ANSIEDAD EN UN MODELO PRECLÍNICO	
4.7 INHIBIDORES DE FAAH Y MAGL COMO POSIBLE TERAPIA PARA REDUCIR LA ANSIEDAD EN UN MODELO CLÍNICO	
<b>5. POLIMORFISMOS Y CUESTIONES GENÉTICAS IMPLICADOS EN LA METABOLIZACIÓN DE INHIBIDORES</b> .....	<b>(Página 21)</b>
5.1 GEN RS324420 Y SU RELACIÓN CON INHIBIDORES METABOLICOS DE FAAH.	
<b>6. SEÑALIZACIÓN SINÁPTICA EN EPISODIOS DE ESTRÉS</b> .....	<b>(Página 23)</b>
6.1 ALTERACIONES DE LAS VÍAS SINÁPTICAS ENDOCANNABINOIDES BAJO EPISODIOS DE ESTRÉS	
6.2 EMPLEO DE INHIBIDORES DE FAAH Y MAGL EN UN ENSAYO PRECLÍNICO PARA CONTROLAR LA MODULACIÓN DEL ESTRÉS	
<b>7. EMPLEO DE INHIBIDORES DE FAAH</b> .....	<b>(Página 26)</b>
7.1 EMPLEO DE LA MODULACIÓN DE FAAH EN ENSAYOS PRECLÍNICOS	
7.1.1 REGULACIÓN DE LA HIDROLISIS DE ANANDAMIDA EN EL COMPLEJO BASOLATERAL DE LA AMIGDALA PARA LA MODULACIÓN DE ESTRÉS Y ANSIEDAD A NIVEL PRECLÍNICO	
7.1.2 REGULACIÓN DE LA HIDROLISIS DE ANANDAMIDA INDUCIDA POR LA INHIBICIÓN GENÉTICA Y FARMACOLÓGICA DE LA FAAH A NIVEL PRECLÍNICO	
7.1.3 VALOR TERAPÉUTICO DE UN NUEVO INHIBIDOR DE FAAH PARA EL TRATAMIENTO DE ANSIEDAD	
7.2 EMPLEO DE INHIBIDORES DE FAAH EN ENSAYOS CLÍNICOS	
7.2.1 GENOTIPADO DEL ALELO C385A DE LA ENZIMA FAAH Y SUS EFECTOS EN LA EXTINCIÓN DEL MIEDO Y LA ANSIEDAD.	
7.2.2 IMPACTO DE LA VARIACIÓN GENÉTICA DE LA FAAH EN LA FUNCIÓN FRONTO-AMÍGDALA DURANTE EL PROCESO EMOCIONAL.	
<b>8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b> .....	<b>(Página 31)</b>
<b>9. CONCLUSIÓN</b> .....	<b>(Página 34)</b>
<b>10. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>(Página 35)</b>

## ABREVIATURAS.

Trastorno de ansiedad generalizada (**TAG**) , anandamida (**AEA**) , 2-araquidonilglicerol (**2-AG**), Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (**DSM**), Organización Mundial de la Salud (**OMS**), Sistema Nacional de Salud (**SNS**), Asociación Española del Medicamento y Productos Sanitarios (**AEMPS**), N-aciletanolaminas (**NAEs**), fosfatidiletanolamina (**PE**), fosfatidilcolina (**PC**), N-acilfosfatidiletanolamina (**NAPE**), fosfolipasa D (**NAPE-PLD**), fosfolipasa C- $\beta$  (**PLC $\beta$** ), monoacilglicerol lipasa (**MAGL**), amida hidrolasa de ácidos grasos (**FAAH**), trastorno de ansiedad social (**SAD**), Manuales de Ansiedad Social de Liebowitz (**LSAS**), Escala de Ansiedad de Hamilton (**HAM-A**), Escala de Calificación de Depresión de Hamilton (**HDRS**) , Impresión-Mejora Clínica Global (**CGI-I**), hormona liberadora de corticotropina (**CRH**) , hipotálamo-hipófisis-adrenal (**HPA**), hormona adrenocorticotropa (**ACTH**), citomegalovirus (**CMV**).



## 1. RESUMEN

Para mejorar la comprensión del tema en estudio se ha considerado importante la definición previa de algunos conceptos clave y la relación que hay entre ellos. Es por ello por lo que antes de entrar en materia de estudio se va a definir qué es el sistema endocannabinoide, cuál es la clasificación de sus receptores, los tipos que lo conforman y su naturaleza, además de su distribución en el organismo y cuál puede ser su relación en episodios de estrés y ansiedad. Por otra parte, también se definirán estos en cuanto a términos médicos y sociales para entender su relación en la búsqueda hacia dianas terapéuticas.

El sistema endocannabinoide se encuentra formando por un conjunto de derivados lipídicos de carácter endógeno que tienen la capacidad de unirse y activar receptores localizados en diferentes partes de nuestro organismo. En cuanto a su naturaleza química se tratan de moléculas que derivan en su totalidad de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga como lo es el ácido araquidónico, del cual derivan en su mayoría.

Los receptores endocannabinoides se caracterizan por tener una amplia localización en el organismo y es por ello por lo que sus funciones son variadas, dependiendo estas del tipo de receptor que sea activado o antagonizado. Dentro del sistema endocannabinoide podemos encontrar dos grupos de receptores conocidos como CB1 y CB2 perteneciendo ambos a la familia de receptores ligados a proteínas G.

En base a su localización podemos distinguir que los receptores de tipo CB1 se encuentran de manera mayoritaria en tejido adiposo y a nivel cerebral, por tanto, activarlos o antagonizarlos nos proporcionarán respuestas relacionados con la grasa corporal y cerebro. También podemos encontrarlos, aunque en menor medida, en endotelio vascular, hígado y páncreas. Así mismo se encuentran los receptores CB2 los cuales se localizan de manera mayoritaria en órganos hematopoyéticos y sistema inmunitario.

Cabe destacar que dentro de las moléculas psicoactivas más estudiadas capaces de modular los receptores cannabinoides encontramos al 2- araquidonilglicerol y anandamida, ambas moléculas son sintetizadas de manera natural por el organismo, demostrando la existencia de un sistema perfectamente identificable y funcional capaz de reaccionar con estas moléculas y ofrecer una respuesta.

## **1. Introducción.**

### **1.1 ANSIEDAD Y SUS TRASTORNOS.**

Es importante definir la ansiedad como una parte normal del comportamiento humano, se trata de un mecanismo adaptativo natural, que se puede transformar en una patología cuando no encontramos los mecanismos necesarios para controlarla.

La ansiedad está estrechamente ligada al entorno social y laboral, puede ser definida como una anticipación a un daño futuro que suele ir acompañado de síntomas somáticos a nivel cognitivo, motor, vegetativo y conductual, de ahí a que los pacientes que sufren ansiedad experimenten agobio, irritabilidad, tensión muscular, temblores, palpitaciones, náuseas, evitación de las situaciones estresantes que pueden derivar en la evitación de las interacciones sociales y con ello una limitación en la vida cotidiana de los pacientes.

Según el Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales (DSM), los trastornos de ansiedad más comunes pueden verse divididos en cuatro tipos según sus características, siendo estos el trastorno de pánico, trastornos relacionados con fobias, trastorno de ansiedad social y el trastorno de ansiedad generalizada donde los pacientes sienten constantemente una preocupación extrema durante largos periodos de tiempo acompañados de somatización.

### **1.2 TRASTORNO DE ANSIEDAD GENERALIZADA.**

El trastorno de ansiedad generalizada (TAG) fue descrito por primera vez por Freud en 1894, aunque el término diagnóstico trastorno de ansiedad generalizada no se incluyó en los sistemas de clasificación médicos hasta 1980. Puede ser definido como una preocupación extrema cuando hay poca o ninguna razón para ello, que provoca una sensación constante de agitación acompañada de síntomas somáticos desagradables, presentando de manera común falta de concentración y problemas para la conciliación del sueño, entre otros. (2)

Según la Base de Datos Clínicos de Atención Primaria del Sistema Nacional de Salud afecta a un 6,7% de la población categorizado como un problema que afecta a personas entre los 35 y 84 años. (12)

Comparte con diversos problemas de salud mental su predominio femenino y la existencia de un gradiente social.

### 1.3 ESTRÉS

Según La Organización Mundial de la Salud (OMS), el estrés se define como el conjunto de reacciones fisiológicas que prepara el organismo para la acción. Sin embargo, el estrés se convierte en un problema de salud cuando el individuo percibe que la amenaza que se le presenta no puede ser resuelta con los mecanismos que el posee desencadenando en otros patrones como la ansiedad.

Por otra parte el estrés se puede definir como una amenaza a la homeostasis, frente a la cual el organismo para sobrevivir, reacciona con un gran número de respuestas adaptativas que implican la activación del sistema nervioso simpático y el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, donde se ha evidenciado diferencias sexuales tanto en estructura como en función de las regiones límbicas y cerebrales, afirmando que las respuestas al estrés son diferentes según el sexo, de manera que en los hombres se promueve una respuesta de combate o fuga mientras que en mujeres se promueven acciones de ayuda y protección. (10)

Largos episodios de estrés pueden conllevar al desarrollo de diferentes trastornos, entre ellos se encuentra el TAG, donde un déficit de los mecanismos de respuesta a factores estresantes de manera prolongada puede derivar en la manifestación de síntomas y cuadros somáticos que se pueden ver relacionados con episodios de ansiedad e incluso derivar o potenciar trastornos psiquiátricos. Es por ello, que desarrollar mecanismos de defensa hacia los factores estresantes es importante para prevenir cuadros patológicos que puedan afectar y alterar la salud y conducta social del paciente.

### 1.4 ESTRÉS Y TAG.

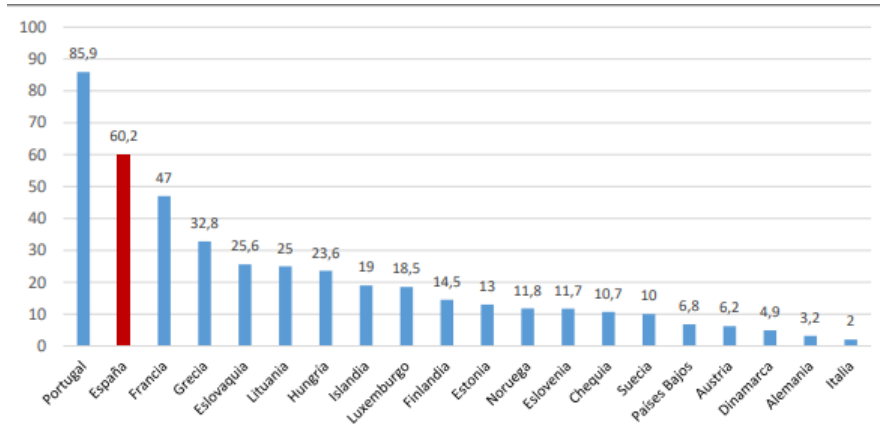
Dentro de las herramientas para hacer frente a estos episodios encontramos la terapia psicológica y en términos farmacológicos disponemos de pocas opciones siendo siempre de elección fármacos ansiolíticos e hipnóticos. (1)

La siguiente tabla muestra el número de envases consumidos de este tipo de fármacos a lo largo del periodo de 2019 a 2022, los datos han sido aportados por el ministerio de sanidad y el sistema nacional de salud. (11)

<b>FÁRMACO</b>	<b>2019</b>	<b>2020</b>	<b>2021</b>	<b>2022</b>
<b>ANSIOLÍTICOS</b>	54.534.224	57.260.297	59.069.334	58.667.992
<b>HIPNÓTICOS Y SEDANTES</b>	17.542.457	18.247.950	18.665.101	18.936.252
<b>TOTAL</b>	72.076.681	75.508.247	77.734.435	77.604.244

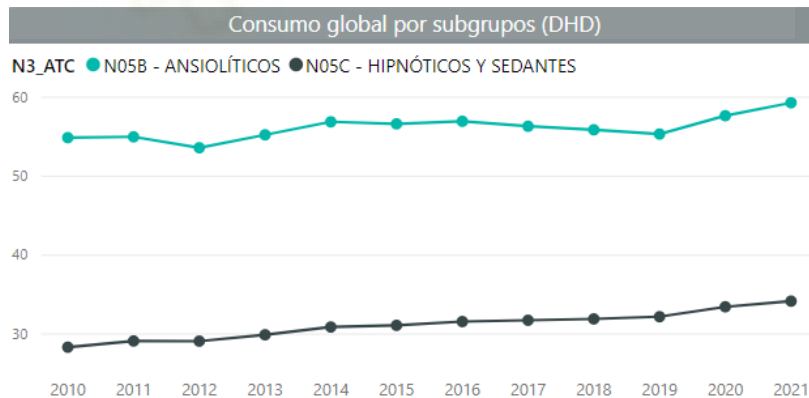
**Tabla 1:** Envases consumidos por año durante 2019 a 2022 en España, datos aportados por el Ministerio de Sanidad durante los años comprendidos entre 2019 y 2022.

Según los datos recogidos por el Sistema Nacional de Salud (SNS) en 2022 a través de los datos proporcionados por receta electrónica y los hospitales de la Red Pública del SNS, España se encontraría en el segundo puesto dentro de los países europeos que más fármacos ansiolíticos y sedantes consume, detrás de Portugal y delante de países como Francia, Austria, Alemania o Italia.



**Gráfica 1: Países europeos y su consumo de fármacos ansiolíticos y sedantes. Fuente Sistema Nacional de Salud a través de los datos proporcionados mediante receta electrónica durante el año 2022.**

Según la AEMPS (Asociación Española del Medicamento y Productos Sanitarios) entre los principios activos más consumidos en el año 2021 encontramos el alprazolam, diazepam, lorazepam entre otros. En cuanto al aumento del consumo de este tipo de fármacos se ha visto una posible relación con la pandemia de COVID-19, el confinamiento y las secuelas a nivel psicológico que este pudo derivar. (13)



**Gráfica 2: Tendencia de consumo de fármacos ansiolíticos e hipnóticos en España durante 2010 y 2021. Fuente AMEPS datos recogidos durante el año 2021 referentes al consumo de ansiolíticos e hipnóticos.**

Cabe destacar que estos tratamientos no siempre son efectivos para tratar trastornos de ansiedad generalizada y deben ser vigilados de manera crónica ya que se pueden desencadenar efectos de tolerancia y dependencia además de que no deberían ser planteados para largos periodos de tiempo, el tratamiento óptimo para estos pacientes debería dirigirse hacia una base con terapia psicológica y farmacológica cuando fuese necesario, no obstante, la falta de optativas en terapéutica, la poca especificidad de

los tratamientos y la necesidad de hacerlos crónicos para poder ver mejoras , además de fuertes efectos adversos para los pacientes, plantean el reto clínico de encontrar otras alternativas farmacológicas.

## 1.5 RELACIÓN CON EL SISTEMA ENDOCANNABINOIDE

Es en 1964 cuando se produce el descubrimiento del compuesto activo del cannabis (*Cannabis Sativa*), el  $\Delta$ -9-tetrahidrocannabinol molécula que poseía acciones psicoactivas y desde entonces las investigaciones han girado en la identificación de moléculas moduladoras y sus vías. En 1988 se descubrió el primer receptor cannabinoide en el cerebro, el receptor cannabinoide 1 (CB1) y posteriormente se identificó a nivel periférico el receptor CB2. (6)

Los receptores CB1 se expresan preferentemente sobre poblaciones neuronales del cerebro de mamíferos muy relacionadas con la adicción y los sistemas de recompensa, se encuentran en una alta densidad en las neuronas del núcleo accumbens, estriado dorsal y cerebelo, así como en el hipocampo y amígdala.

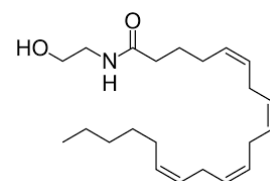
El sistema endocannabinoide, en especial los receptores CB1 se encuentran localizados en zonas cerebrales que se ven relacionadas en episodios de estrés y ansiedad, como son el hipocampo y la amígdala la cual regula las reacciones de alarma relacionadas con el miedo y la ansiedad. Hay datos que demuestran que la señalización endocannabinoide es un importante amortiguador del estrés y que tiene la capacidad de modular las funciones emocionales y cognitivas, conocer las vías que se activan o se anulan bajo estos episodios puede ayudarnos a identificar moléculas implicadas, receptores, mecanismos de acción y por lo tanto establecer dianas terapéuticas y alternativas farmacoterapéuticas. (9)

## 1.6 MOLÉCULAS DE INTERÉS, SÍNTESIS Y RUTAS METABÓLICAS

El primer endocannabinoide descubierto fue la anandamida y años posteriores se descubrió el 2-araquidonilglicerol, ambos de naturaleza lipídica, de modo que debido a su alta liposolubilidad es imposible su almacenamiento vesicular en la sinapsis, es por ello que se sintetizan a demanda desde precursores de membrana. Una vez que actúan, son rápidamente degradados por medio de recaptación tanto por neuronas como por células gliales donde se produce su posterior hidrólisis.

### 1.6.1 Anandamida (AEA)

La anandamida (AEA) fue aislada por primera vez en 1992 en cerebro de cerdo y posteriormente encontrada en órganos periféricos incluyendo la piel y los tejidos cardiovascular, renal y reproductor, se trata de un neurotransmisor derivado del ácido araquidónico. Su

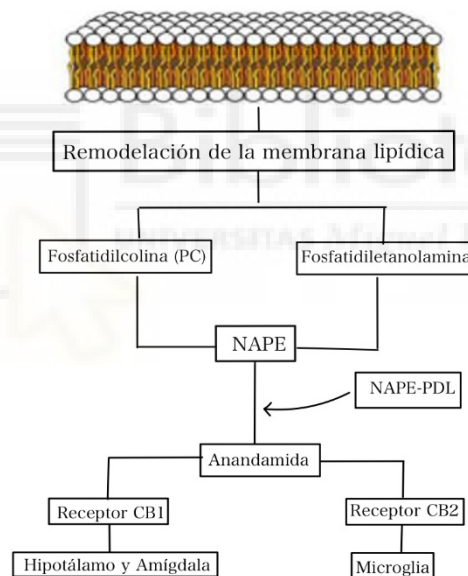




estructura no está relacionada con los cannabinoides naturales derivados de la planta *cannabis sativa*, pero produce los efectos clásicos de la actividad cannabinoide como son la inmovilidad, la catalepsia, la analgesia y la hipotermia. (3)

La AEA pertenece a un grupo de familia química categorizadas como N-aciletanolaminas (NAEs), categorizadas como un grupo de mensajeros lípidicos con numerosas funciones en el organismo incluyendo la inflamación, ansiedad y metabolismo energético. La (AEA) tiene interés por ser capaz de interactuar con los receptores CB1 y CB2 y está implicada en analgesia, fertilidad, neurotransmisión y regulación emocional entre otras. (3)

En la síntesis de la AEA intervienen diversas enzimas y rutas. Una de las rutas metabólicas consiste en utilizar fosfatidiletanolamina (PE) y fosfatidilcolina (PC) ambos de naturaleza fosfolipídica presentes en las membranas celulares para dar lugar a N-acilfosfatidiletanolamina (NAPE), sobre la cual actuará la enzima conocida como fosfolipasa D (NAPE-PLD), enzima capaz de dar lugar a N-aciletanolaminas (NAEs) como son la AEA y 2-AG. (4)



**Figura 1: Esquema que muestra la remodelación de la membrana lipídica hasta la producción de anandamida y dónde interactúa con los receptores CB1 y CB2, creación propia.**

En cuanto a la degradación de la AEA, la enzima amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) muestra una especificidad de degradación elevada hacia esta molécula ya que tiene una alta expresión en el cerebro humano y por lo tanto es considerada la principal enzima metabolizadora de AEA en el organismo.

Actúa de tal manera que a través de una reacción de hidrólisis a nivel intracelular empleando como sustrato la AEA proporciona dos productos siendo estos ácido araquidónico y etanolamina.

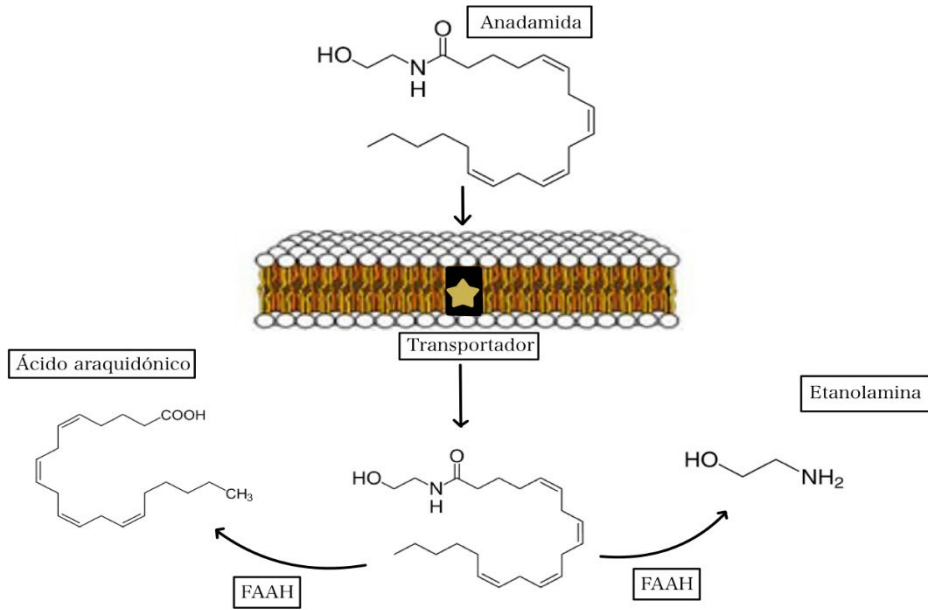


Figura 2: Esquema que muestra el metabolismo de la AEA a través de la acción de la enzima FAAH y los productos que se obtienen, creación propia.

### 1.6.2 2-Araquidonilglicerol (2-AG)

Otra molécula de interés es el 2-araquidonilglicerol (2-AG) la cual está implicada en una amplia variedad de procesos fisiológicos en los cuales también desarrolla un papel de señalización a nivel endocannabinoide.

Su síntesis se produce a partir de diversas vías, pero la más estudiada es su síntesis a partir de ácido araquidónico mediante diversos diacilglicérol lipasas, siendo considerada a la monoacilglicerol lipasa (MAGL) como la principal enzima metabolizadora, dando lugar a ácido araquidónico y glicerol. (5)

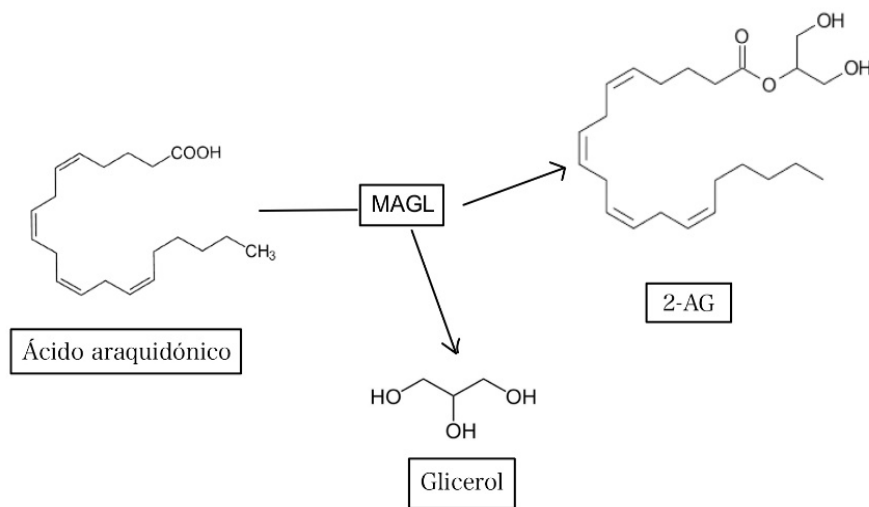


Figura 3: Esquema de la producción de 2-AG a través de la enzima MAGL, creación propia.

La monoacilglicerol lipasa no es la única enzima implicada en su síntesis, también se ve implicada la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH), enzima que tiene en común la producción tanto de anandamida como de 2-AG usando como sustratos ácidos grasos poliinsaturados.

Dentro de la vía de síntesis que predomina en el sistema nervioso central para dar lugar a 2-AG, encontramos su producción mediante dos pasos, el primero de ellos consta de la acción de una fosfolipasa C- $\beta$  (PLC $\beta$ ) a partir de fosfolípidos, mientras que el segundo está catalizado por un diacilglicerol lipasa (DAGL), dentro de ellas se encuentran dos isoformas capaces de dar lugar a 2-AG, DAGL $\alpha$  y DAGL $\beta$  diferenciándose ambas por una cola C-terminal. (5)

La isoforma DAGL $\alpha$ , se encuentra a nivel cerebral, siendo más notablemente en las zonas que comprenden el hipocampo, el cuerpo estriado y el área tegmental ventral, mientras que el patrón de expresión de DAGL $\beta$  no se encuentra tan identificado, viéndose presentes en el tálamo, no obstante, la distribución de este diacilglicerol lipasas cambia notablemente con el desarrollo. (5)

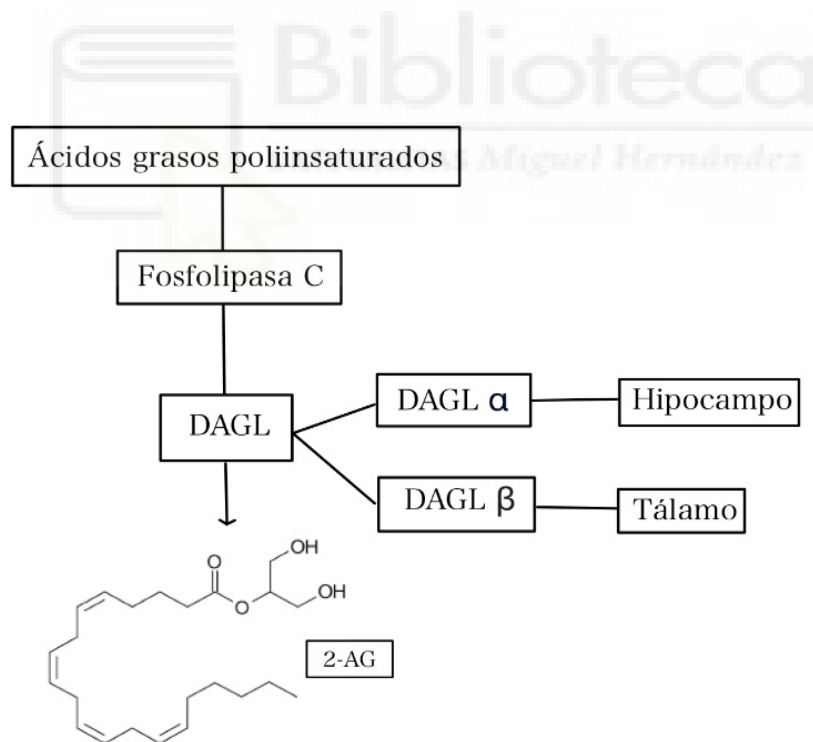


Figura 4: Producción de 2-AG a través de la enzima DAGL y sus correspondientes isoformas, creación propia.

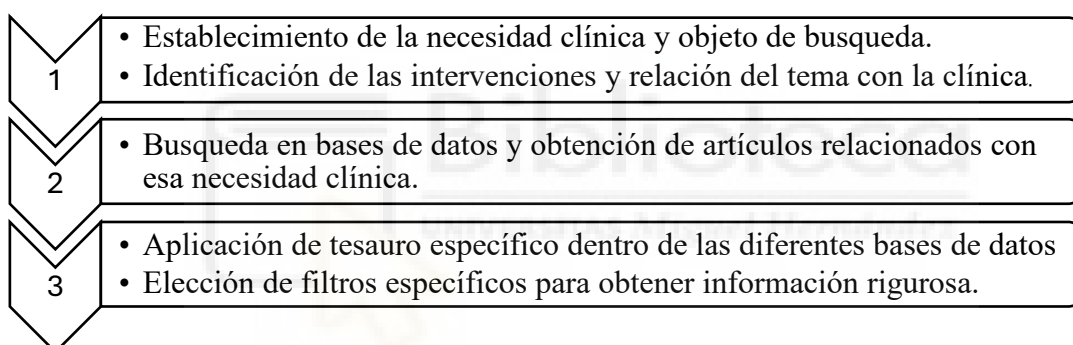
## 2. METODOLOGÍA

La realización de este trabajo se ha basado en la revisión bibliográfica de diferentes artículos científicos a través de la búsqueda en bases de datos reconocidas. Se han aplicado diferentes filtros de búsqueda para que la información recaudada cumpliera con unos estándares predefinidos.

Antes de comenzar las búsquedas se estableció cuál era la pregunta de búsqueda y cuál era su necesidad clínica, estableciendo datos más específicos como la población o problema de interés, la intervención llevada a cabo, comparación entre los diferentes grupos y estudios y finalmente los resultados obtenidos en las búsquedas.

En cuanto a las herramientas empleadas para la recopilación de la información y los artículos necesarios, destacan el gestor de búsquedas PubMed y la base de datos Cochrane Library la cual ha aportado las búsquedas relacionadas ensayos a nivel preclínico y clínico relacionados con el tema en estudio.

En el siguiente diagrama de flujo se muestra cuáles fueron los pasos seguidos y los objetivos de esta dinámica.



En cuanto a la pregunta de búsqueda inicial se estableció cuál era la relación del sistema endocannabinoide y cómo se modulaba este bajo los efectos del estrés y ansiedad. Se establecieron búsquedas a nivel preclínico donde se centraron la mayoría de los artículos para la realización de esta revisión bibliográfica al ser mucho más abundantes, por otra parte se emplearon artículos a nivel clínico donde las opciones se vieron más reducidas por el bajo número de ensayos realizados en humanos, pero fueron suficientes para determinar la variabilidad genética y polimorfismos que podían relacionarse con el tema. Finalmente, se seleccionaron artículos cuyo año de publicación no excediera los diez años en base a la actualidad.

ARTICULOS TOTALES	APLICACIÓN DE FILTROS	ARTICULOS DESCARTADOS	ARTÍCULOS SELECCIONADOS
164	93	71	14

### **3. OBJETIVOS**

El propósito de la realización de este trabajo está basado en poner de manifiesto la alta incidencia en la población actual de los efectos del estrés y los diferentes trastornos relacionados con la ansiedad, concretando en el trastorno de ansiedad generalizada. Por otra parte, se ha querido abordar la gran problemática del consumo de ansiolíticos y fármacos hipnóticos cuyo aumento es significativo, siendo un punto de inflexión la pandemia a causa del COVID-19, poniendo de manifiesto la escasez terapéutica para abordar dichos episodios y la dificultad en el manejo farmacológico que estos acarrearán.

El objetivo fundamental de este trabajo es conocer el funcionamiento, vías, receptores y moléculas implicadas con el sistema endocannabinoide para darlo a conocer y entender su relación con la modulación del estrés y trastornos de ansiedad y así poder presentarlo como una opción de estudio a la hora del desarrollo de nuevas dianas terapéuticas.

Diversos estudios ponen de manifiesto la relación de este sistema y sus diversas alteraciones en episodios de estrés y ansiedad haciéndolo interesante en materia de estudio, ya que los receptores endocannabinoides presentan una afinidad y especificidad muy elevada por las moléculas con las que ellos interactúan por lo tanto el desarrollo de moléculas similares con esa misma especificidad a la hora de interactuar y activar vías puede ser interesante a la hora de desarrollar moléculas con esa misma capacidad y por lo tanto desarrollar fármacos que presenten menos efectos adversos o una capacidad menor a la hora de generar tolerancia, siendo esto una de las cuestiones que más preocupa de las opciones farmacológicas actuales para el tratamiento de estos trastornos emocionales.

### **4. RESULTADOS**

En este apartado se van a desarrollar los contenidos obtenidos tras las búsquedas que se consiguieron a través del desarrollo de las partes explicadas en el apartado metodología, se van a desarrollar conceptos de carácter general para ubicar el tema en estudio como establecer la localización y la distribución de los receptores, su naturaleza, pasando por las vías de señalización implicadas y la relación que estas pueden tener con las respuestas bajo diferentes estímulos.

Las investigaciones han estado dirigidas a encontrar respuestas en cuanto a la relación que pudiera tener el sistema endocannabinoide bajo episodios de estrés y ansiedad pasando por ensayos clínicos y preclínicos que pudieran esclarecer conceptos e ideas sobre su funcionamiento, además de indicar la dirección en investigaciones futuras.

#### 4.1 LOCALIZACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE RECEPTORES.

Definiendo el sistema endocannabinoide como sistema endógeno de señalización que está ampliamente distribuido en el organismo de los mamíferos, el cual interviene en múltiples vías metabólicas e interviene en la señalización celular. Desempeña un papel clave en la mediación de diversos procesos fisiológicos dentro de los cuales encontramos el metabolismo, el estado de ánimo, la función motora, el apetito, el control cardiovascular, la reacción y la modulación del estrés, además de tener capacidad de intervención en las funciones relacionadas con la inflamación y procesos inmunitarios. Esta gran capacidad del sistema endocannabinoide de abarcar tantas funciones a distintos niveles orgánicos es debido a la amplia distribución de sus receptores. Como se ha mencionado anteriormente el sistema endocannabinoide está conformado por dos grandes grupos de receptores principales, los receptores CB1 y CB2, los cuales pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G, pero no son los únicos receptores que conforman el sistema endocannabinoide, también encontramos el receptor transitorio vaniloide (TRPV1) o los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR). (14)

Los receptores transitorios (TRP) son una super familia a la que pertenece el receptor transitorio vaniloide (TRPV1), son canales catiónicos no selectivos que se encuentran distribuidos de manera amplia en neuronas sensoriales. Se identificó que tenían un papel en la capacidad nociceptiva, son capaces de responder a nivel molecular a diversos metabolitos y son estimulados por la anadamida y el 2-AG. (15)

En cuanto a los receptores activados por proliferadores de peroxisomas, son receptores que pertenecen a la familia de receptores nucleares, están constituidos por tres isoformas ( $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$ ), además de efectos metabólicos, los PPARs  $\alpha$  y  $\delta$  inducen neuroprotección a través de mecanismos tanto cerebrales como vasculares.

Los receptores CB1 y CB2 son los más estudiados, teniendo conocimiento de que los receptores CB1 son los más ampliamente distribuidos a nivel cerebral, encontrando grandes concentraciones de ellos en el hipotálamo, hipocampo, corteza frontal y amígdala.

## **4.2 LA SEÑALIZACIÓN ENDOCANNABINOIDE Y SUS RECEPTORES.**

El sistema endocannabinoide es un sistema integrado en el sistema nervioso central, donde las investigaciones apuntan a una cascada de señalizaciones celulares, donde cada uno de sus receptores tienen funciones definidas y localizadas, los receptores CB1 están ampliamente localizados en el sistema nervioso central y son los encargados de regular esa comunicación intercelular, mientras que los receptores CB2 no están tan ampliamente localizados en el sistema nervioso central pero se sabe que tienen influencia en los estadios de ánimo y en la cascada inflamatoria, se ven expresados en células de la microglía.

Los moduladores alostéricos tanto positivos como negativos de estos receptores han sido identificados y establecidos como dianas en diversos estudios preclínicos, estableciendo que los ligandos endocannabinoides, N-araquidoletanolaminas y 2-AG están regulados por una combinación enzimática que permite su síntesis, degradación e inhibición.

En cuanto a los receptores CB1 que se encuentran de manera terminal en los axones neuronales, se conoce que tienen un papel funcional en la regulación de la entrada del calcio y la despolarización, sugiriendo que el mismo receptor CB1 juega un papel modulador a la hora de liberar neurotransmisores al espacio sináptico.

Demostrando que la despolarización a nivel postsináptico resultaba en una posterior supresión de la actividad presináptica en las neuronas gabaérgicas.

## **4.3 TRANSMISIÓN NEURONAL ENDOCANNABINOIDE.**

Las búsquedas indican el gran papel que juega el sistema endocannabinoide en la regulación y respuesta de las emociones, esto es debido a que se expresa ampliamente a nivel cerebral, encontramos receptores de naturaleza cannabinoide en el sistema límbico, áreas corticales prefrontales y estructuras cerebrales relacionadas con la regulación y respuestas neuroendocrinas hacia el estrés.

Los sustratos neurobiológicos implicados en procesos ansiosos en su mayoría se superponen e interactúan con los neurocircuitos que median las respuestas al estrés, el cual está directamente relacionado con la activación del eje límbico-HPA y con diversas hormonas implicadas como lo son la corticotropina (CRH), adrenocorticotrópica (ACTH) y los glucocorticoides. (17)

A la hora de describir la señalización sináptica mediada por endocannabinoides se puede clasificar como una transmisión retrograda, donde los productos que intervienen en la sinapsis vuelven al cuerpo celular inicial. Tras la transmisión neuronal a nivel postsináptico, los productos endocannabinoides son sintetizados según demanda volviendo estos al cuerpo neuronal presináptico e interactuando con sus receptores de naturaleza CB1, es a través de este mecanismo de transmisión

como el sistema endocannabinoide controla diferentes procesos implicados con el estrés y la ansiedad.

En cuanto a nivel molecular el proceso de transmisión se resume en una liberación de glutamato desde la neurona presináptica llegando a los receptores postsinápticos capaces de interactuar con el glutamato como es el N-metil-D-aspartato (NMDA) lo que lleva a una despolarización postsináptica mediada por calcio, es este aumento de niveles de calcio el que estimula la síntesis de productos endocannabinoides a través del 2-araquidonoilglicerol (2-AG) mediante la acción de la fosfolipasa C y la producción de anandamida a través de la acción de la fosfolipasa D, estos productos son liberados a la hendidura sináptica y de manera retrograda estimulan los receptores CB1 que se encuentran a nivel presináptico. (16)

Esta activación de los receptores CB1 a nivel presináptico por el 2-AG y la anandamida desencadenan varias vías intracelulares, entre ellas encontramos la inhibición de la actividad de la adenilato ciclasa (AC), la hiperpolarización de la membrana mediante la activación de los canales de potasio y el bloqueo de los canales dependientes de calcio, lo que conlleva a la inhibición de la liberación de glutamato, dando lugar a una retroalimentación negativa y control de la síntesis de productos endocannabinoides. (16)

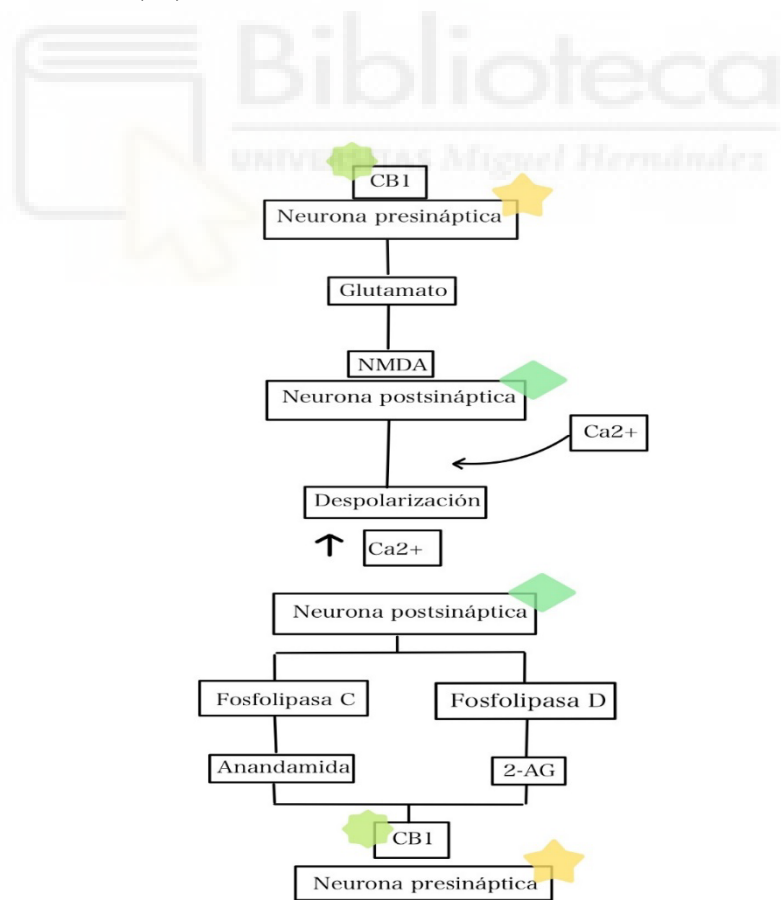


Figura 5: Neurotransmisión retrograda a nivel cannabinoide dependiente de calcio, creación propia.



#### **4.4 ALTERACIONES DE LAS VÍAS SINÁPTICAS ENDOCANNABINOIDES BAJO EPISODIOS DE ANSIEDAD.**

La ansiedad antepone al organismo a un peligro o amenaza que a menudo y de manera natural no deberían suponer una respuesta exagerada en el organismo, la hiperestimulación que sufre un paciente con ansiedad debido a la categorización de manera exagerada ante estas amenazas, provoca unos cambios cognitivos, conductuales y fisiológicos que se traducen en una alteración en la transmisión de los estímulos, volviendo desproporcionadas las respuestas que da el individuo. Es por ello que se observan cambios en diferentes zonas cerebrales y la modulación de las vías empleadas.

En las vías ansiogénicas encontramos involucrados a los receptores CB1 distribuidos ampliamente por neuronas glutamatérgicas y gabaérgicas, estando estas localizadas en áreas del cerebro involucradas en la ansiedad.

Varios estudios han demostrado que el sistema endocannabinoide participa en la regulación bidireccional de los circuitos y el comportamiento que caracteriza al trastorno por ansiedad, ya que la activación de estos receptores CB1 promueven conductas opuestas a las propias de episodios de ansiedad, esta idea viene respaldada por estudios que indican que la eliminación de los receptores CB1 o su disminución, aumentan los estados ansiogénicos propios de cuadros relacionados la ansiedad, es por ello que se deriva la idea de que antagonizar estos receptores puede derivar en trastornos relacionados con la depresión y la ansiedad. (18)

Así mismo, la inhibición de enzimas implicadas en la producción de sustancias capaces de interaccionar con estos receptores, como es el caso de la 2-AG MAGL también se ven relacionadas con un aumento de los episodios de ansiedad. Por otra parte, se ha visto que la inhibición de la FAAH, enzima relacionada con el metabolismo de la anandamida, producía episodios ansiolíticos.

Es por ello por lo que los inhibidores de las endocannabinoideas hidrolasas como son la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) y la monoacilglicerol lipasa (MAGL) tienen la capacidad de aumentar el nivel de endocannabinoideas de manera indirecta, considerando sus propiedades para modular el eje hipotalámico y su consiguiente capacidad para modular las vías sinápticas implicadas en la ansiedad. (19)

#### **4.5 INHIBIDORES DE FAAH Y MAGL COMO POSIBLES TERAPIAS PARA REDUCIR LA ANSIEDAD Y OTRAS ALTERNATIVAS.**

Los inhibidores de la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) y la monoacilglicerol lipasa (MAGL) tienen la capacidad de endocannabinoideas de manera indirecta, causando menos efectos secundarios que los asociados con la suplementación directa de cannabinoideas, en definitiva, las terapias donde se aplican inhibidores de FAAH y MAGL han demostrado ser más beneficiosos en cuanto a términos de efectos adversos y

terapéuticos, ya que se considera que sus mecanismos de acción tienen la capacidad de modular el eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal regulando la plasticidad sináptica. (22)

Por otra parte, su empleo ha demostrado tener una reducción en cuanto a la deposición de proteínas y la inhibición de la muerte de neuronas dopaminérgicas, siendo esto considerado como los causantes de la mayoría de los efectos adversos causados por la administración directa de agentes excitantes de receptores cannabinoides. (22)

Dentro de las alternativas de investigación a la hora de buscar nuevas terapéuticas, se han empleado los tres tipos de cannabinoides actualmente reconocidos, como son los cannabinoides vegetales, los cannabinoides sintéticos y los endocannabinoides, así como las estructuras que conforman el sistema endocannabinoide como son sus receptores y sus correspondientes ligandos y proteínas.

Los fitocannabinoides y los cannabinoides sintéticos se conocen por ser análogos estructurales y funcionales de los endocannabinoides dentro de ellos los más conocidos y estudiados son  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol ( $\Delta^9$ -THC) y el cannabidiol (CBD), ambos compuestos con usos médicos como recreativos. En cuanto a los cannabinoides sintéticos son una clase de compuestos heterogéneos desarrollados para explorar sistemas cannabinoides endógenos con la visión de desarrollo de futuros agentes terapéuticos. Actualmente los cannabinoides sintéticos se dividen en tres grupos de manera cronológica encontrado los que pertenecen al grupo "JWH", grupo "CP" y grupo "HU" siendo estos los pioneros.

Centrándonos en los inhibidores de MAGL y FAAH ya que como se ha comentado anteriormente presentan menos efectos adversos que sus alternativas ya descritas, se les reconoce como enzimas catabólicas de una clase de lípidos bioactivos llamados amidas de ácidos grasos y son las principales metabolizadoras de los cannabinoides endógenos. Dentro de los tipos de inhibidores de FAAH que podemos encontrar, distinguimos los que tienen una capacidad inhibitoria de manera reversible o de manera irreversible, encontrando que los que tenían capacidades inhibitorias reversibles presentaban en sus estructuras  $\alpha$ -cetoheterociclos, carbamatos de oxima entre otras estructuras, mientras que los inhibidores que presentaron características irreversibles presentaban piperidinas y piperazinas. En cuanto a sus funciones encontramos la reducción de la inflamación, la regulación del metabolismo de los lípidos. (22)

Por otra parte, en cuanto a MAGL se debe mencionar que es la principal enzima metabolizadora de 2-AG a nivel cerebral siendo de especial interés su acción en estas zonas. Sus inhibidores pueden diferenciarse en tres tipos, encontrado inhibidores no competitivos, inhibidores parcialmente reversibles, agentes reactivos a la serina y agentes reactivos a la cisteína.

Parte de las investigaciones proponen la idea de combinar ambos inhibidores, creando complejos FAAH/MAGL llamados inhibidores duales. (22)

#### **4.6 INHIBIDORES DE FAAH Y MAGL COMO POSIBLES TERAPIAS PARA REDUCIR LA ANSIEDAD EN UN MODELO PRECLÍNICO.**

Tras las afirmaciones anteriores se estableció la idea de un posible efecto terapéutico en moléculas inhibitoras de FAAH, MAGL e inhibidores duales, ya que diversos estudios respaldan la idea del potencial ansiolítico que conlleva un aumento de sustancias de naturaleza endocannabinoide. Es por ello por lo que se han llevado a cabo una serie de estudios basados en modelos preclínicos que consistían en el empleo de análogos de estos productos, para ver las respuestas que se conseguían tras la inhibición de las enzimas que los degradaban o al aumentar sus concentraciones en lugares específicos de acción.

Para ello los estudios se basaron en el empleo de roedores genéticamente idénticos para evitar alteraciones en los estudios por cuestiones genéticas y se analizó la conducta y respuesta a agentes ansiogénicos en ellos tras el empleo de tres tipos de inhibidores: FAAH (PF-3845), MAGL (JZL184) y uno dual FAAH/MAGL (JZL-195). (23)

Los indicadores para observar fueron los comportamientos similares a la ansiedad, bajo condiciones estresantes y sin aplicar estas, comportamientos locomotores, las actividades que los roedores llevaban a cabo, su temperatura corporal, sus funciones cognitivas y los niveles de lípidos entre otros.

Los resultados de este análisis mostraron que (PF-3845) inhibidores de FAAH o (PF-JZL-184) inhibidores de MAGL fueron capaces de reducir y prevenir la ansiedad inducida por factores estresantes, mediante la aplicación del ensayo caja claro-oscura, siendo estos administrados antes de ser expuestos al factor estresante. (23)

Por otra parte, el empleo de un inhibidore dual como fue el caso de (JZL-195) FAAH/MAGL no fueron capaces de prevenir los estados de ansiedad una vez administrados antes de aplicar el agente estresor. Finalmente, se destacó que los efectos ansiolíticos de (JZL-184) inhibidores de MAGL fueron más sólidos que los obtenidos con (PF-3845).

A modo de conclusión estos resultados, mostraron que aumentar los niveles de AEA de manera endógena o aumentar los niveles de 2-AG por separado produce efectos ansiolíticos bajo la exposición de un agente estresante, mientras que el aumento de manera simultánea de ambos productos no manifestó la capacidad de reducir episodios de ansiedad. (23)

Otros ensayos preclínicos basados en el mismo fundamento tanto teórico como clínico con otros análogos de carácter inhibitorio, concluyen con los mismos datos que se muestran en este ejemplo, de manera que se establece la capacidad de generar un poder ansiolítico al aumentar los niveles de ambos productos de manera individual y no en conjunto como se podría pensar en un principio.

#### **4.7 INHIBIDORES DE FAAH Y MAGL COMO POSIBLES TERAPIAS PARA REDUCIR LA ANSIEDAD EN UN MODELO CLÍNICO.**

La amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH), es la enzima responsable de la degradación de las amidas de ácidos grasos, es responsable de la metabolización de la anandamida y por lo tanto sus inhibidores son presentados como materia de estudio.

En un ensayo clínico se empleó un inhibidor selectivo y lentamente reversible de FAAH conocido como JNJ- 42165279, donde se evaluó la eficacia, seguridad, tolerabilidad, farmacocinética y farmacodinamia del tratamiento propuesto, los sujetos escogidos para la realización del ensayo fueron pacientes diagnosticados previamente con trastorno de ansiedad social (SAD). El estudio se caracterizó por ser un estudio multicéntrico, de doble ciego, controlado con placebo de manera aleatoria. (24)

Las dosis empleadas del fármaco experimental fueron de 25 mg al día o en su defecto placebo a las mismas dosis, durante un periodo de 12 semanas.

Los aspectos por valorar dentro de este estudio fueron las puntuaciones obtenidas por los pacientes antes de recibir el tratamiento y después de recibirlo siguiendo los manuales de Ansiedad Social de Liebowitz (LSAS), los criterios de valoración secundarios basados en la Escala de Ansiedad de Hamilton (HAM-A), la Escala de Calificación de Depresión de Hamilton (HDRS) y la Impresión-Mejora Clínica Global (CGI-I). (24)

Participaron un total de 149 personas con edades comprendidas entre los 18 y 64 años, siendo una población bastante amplia y representativa, que además se encontraba previamente diagnosticada.

El estudio constó de tres fases, la primera de ella constó de una fase de tratamiento de doble ciego de 12 semanas además de una visita de seguimiento entre los 7 y 28 días posteriores a la última dosis del tratamiento farmacológico. (24)

Durante la fase de tratamiento se controlaron la seguridad y la tolerabilidad a intervalos regulares, donde se tomaron muestras de sangre para observar las concentraciones plasmáticas alcanzadas además de estudiar condiciones farmacogenómicas especiales que pudieran alterar los resultados o mejorar su comprensión.

El tratamiento con JNJ-42165279 se asoció con aumentos en las concentraciones plasmáticas de anandamida (AEA), donde a las cuatro semanas del estudio se observó que las concentraciones del fármaco en estudio y de anandamida se correlacionaban.

En cuanto a la seguridad del fármaco al final del estudio se afirmó que fue bien tolerado por los pacientes y no se produjeron acontecimientos adversos de carácter neurológico o fisiológicos. No se produjeron muertes y la mayoría de los efectos adversos fueron de gravedad leve a moderada, encontrando el insomnio como síntoma más común entre los sujetos a los que se les administró placebo, mientras que los pacientes a los que se les administró la sustancia medicamentosa informaron de una mejoría en la calidad del sueño.

En cuanto a los resultados que aportó este ensayo clínico se pudo concluir con que el tratamiento de sujetos con JNJ-42165279 se asoció con efectos ansiolíticos de carácter moderado que presentaron los pacientes que tomaron el fármaco activo en comparación a los que tomaron placebo, el fármaco activo presentó una mejora superior al 30% en las LSAS al final de las 12 semanas de tratamiento. (24)

La fuerte relación entre la administración del fármaco experimental y el aumento de las concentraciones de anandamida hacen pensar que en escenarios futuro se podrían elevar las dosis para explorar otros escenarios o bien aumentar las tomas del fármaco.

Otras de las ideas que se debía tener en cuenta fue la variabilidad genética entre los individuos que participaron en el estudio encontrando que en algunos de ellos las concentraciones no se alcanzaban de igual manera que en el resto debido a alteraciones farmacogenéticas que aumentaron la metabolización del fármaco experimental y por lo tanto reduciendo la inhibición de la FAAH resultando esto en menores concentraciones de anandamida. Es por ello por lo que se plantean las ideas de aumento de dosis hasta conseguir un escenario donde la inhibición de la FAAH se produjese de manera completa durante todo el intervalo de dosificación ya que los

## **5. POLIMORFISMOS Y CUESTIONES GENÉTICAS IMPLICADOS EN LA METABOLIZACIÓN DE INHIBIDORES.**

Durante la realización del estudio se observó que personas con las mismas condiciones fisiológicas que recibían la misma dosis de fármaco experimental mostraban discrepancias de concentración plasmática alcanzada. Esto pone de manifiesto la idea de diferencias a nivel individual a la hora de la metabolización y eliminación del fármaco.

Esta idea nos acerca a determinar que dentro del estudio contábamos con discrepancias genéticas que catalogaban a ciertos participantes como “metabolizadores rápidos” del fármaco experimental haciendo decrecer sus concentraciones plasmáticas dando como resultado un menor efecto terapéutico. Conocer qué condiciones son las que dotan a los individuos con estas características nos permite controlar las dosis que se deben administrar para conseguir efectos terapéuticos efectivos teniendo en cuenta la variabilidad interindividual de cara a ensayos futuros.

Dentro de este ensayo se analizaron las muestras tomadas a los participantes, de tal manera que se detectó el genotipo rs324420 en 141 sujetos. Donde el fenotipo A/A estuvo presente en 11 sujetos (8%); A/C en 41 (29%) y C/C en 89 (63%). Donde los niveles más elevados de anandamida fueron significativamente mayores en el grupo A/A en comparación con el resto de los grupos. (25)

En esta muestra se observó que los individuos que expresaban de manera homocigótica el alelo mutante A presentaban una reducción en la expresión de FAAH, lo que se traducía en una menor metabolización y por lo tanto en mayores concentraciones de anandamida. (25)

## 5.1 GEN RS324420 Y SU RELACIÓN CON INHIBIDORES METABOLICOS DE FAAH EN UN ENSAYO CLÍNICO.

La anandamida es un endocannabinoide con la capacidad de modular la liberación de dopamina a nivel mesolímbico interactuando con los receptores CB1, en consecuencia, tiene influencia en los estados de bienestar y emociones, es por ello que su estudio en el manejo de la ansiedad resulte de interés. Para aumentar sus niveles se han desarrollado diferentes maneras, de manera directa e indirecta a través de la modulación de su metabolismo en la cual interviene la enzima conocida como amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH), lo cual se podría relacionar de manera indirecta bajos niveles de FAAH con altos niveles de anandamida y por lo tanto de bienestar emocional.

Por ello se han estudiado las diferentes expresiones que puede tener esta enzima y cuáles son las vías para modularlas.

En un estudio clínico llevado a cabo donde se quiso relacionar las concentraciones de anandamida y el vínculo con la enzima FAAH, se consiguió fenotipar la variante genética funcional en el gen FAAH denominada rs324420, la cual se conoce y se denomina como Pro129Thr, dando como resultado una sustitución de aminoácidos, con el alelo A dando lugar a una variante de FAAH con expresión y actividad reducidas que aumentan los niveles de anandamida. (26)

Para llevar a cabo el estudio se recolectaron muestras de ADN de un total de 3018 pacientes de los cuales un total de 2915 resultaron ser portadores del gen rs324420, el fundamento del estudio se basó en medir el bienestar subjetivo, basados en manuales para medir los niveles de depresión y ansiedad que se manifestaron además de la capacidad de los individuos para responder ante estas situaciones. Por otra parte, también se midieron las conductas adversas bajo episodios de estrés y situaciones adversas que se dieron durante la infancia, además del apoyo social con el que contaban los pacientes y su consumo de alcohol entre otros y cómo respondían bajo estos episodios.

Se estudiaron dos escenarios, la presencia y cantidad de alelos A en rs324420 conocidos por reducir la expresión y actividad de la FAAH y el bienestar subjetivo y herramientas de afrontamiento a episodios de estrés y ansiedad entre otros. (26)

Los resultados obtenidos mostraron que cada alelo A adicional se asoció con una disminución en las puntuaciones de bienestar, esta asociación siguió siendo significativa después de ajustar los datos obtenidos por edades y sexo. Posteriormente se evaluaron las diferentes contribuciones de los genotipos del alelo de riesgo en homocigosis (AA) y en heterocigosis (AC) utilizando el genotipo homocigoto (CC) como referencia. Se estableció que las personas portadoras del alelo A en homocigosis consiguieron niveles de bienestar y herramientas de afrontamiento inferiores y del mismo modo ocurrió con los pacientes heterocigotos (AC) en comparación a los pacientes de referencia (CC) pudiendo concluir que FAAH tiene relación en el bienestar subjetivo de la persona y las herramientas que esta desarrolla para el afrontamiento de situaciones aversivas como el estrés y la ansiedad, poniendo de manifiesto que los aumentos de los niveles de

anandamida impulsados genéticamente pueden estar relacionados con una disminución del bienestar y las herramientas de afrontamiento. (26)

## **6. SEÑALIZACIÓN SINÁPTICA EN EPISODIOS DE ESTRÉS**

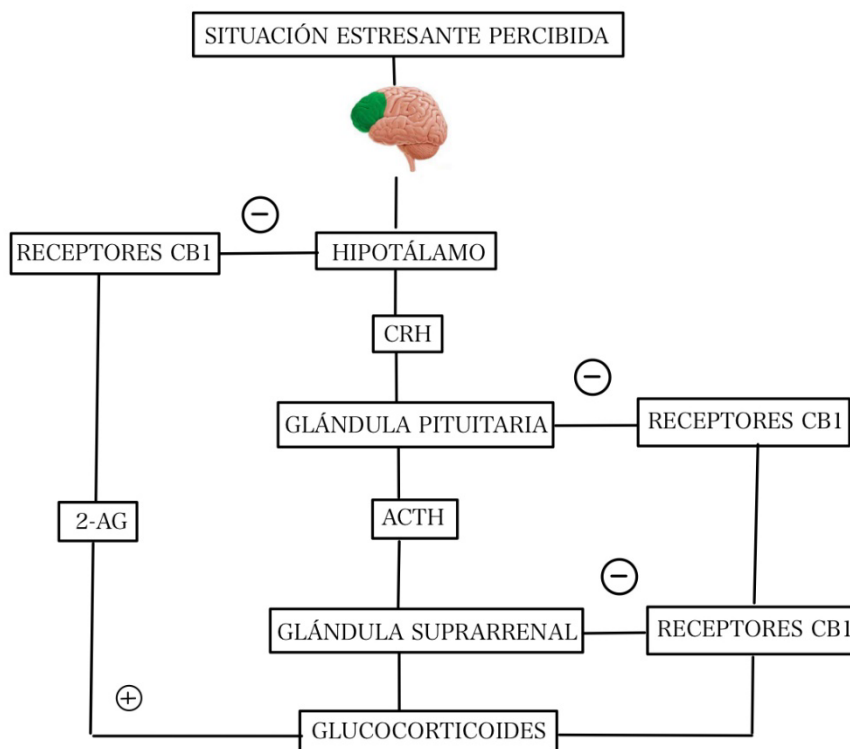
El organismo percibe el estrés como una alteración de la homeostasis a causa de amenazas externas o internas y en base a ellas se modulan diferentes respuestas de diferente naturaleza. Así mismo, también se debe tener en cuenta el factor del tiempo en materia de estrés, los episodios de estrés que se producen de manera aguda, es decir, bajo un corto periodo de tiempo que suelen estar asociados a eventos o situaciones concretas. Por otro lado, encontramos episodios de estrés que se pueden alargar en el tiempo, transformando los episodios de estrés en situaciones crónicas, obteniendo diferentes respuestas en el organismo e incluso pudiendo derivar en trastornos más severos.

La respuesta orgánica al estrés implica la activación del sistema nervioso simpático y del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA). Tras la percepción del estímulo estresante nuestro organismo libera noradrenalina y adrenalina mediante las glándulas suprarrenales y neuronas simpáticas, esto es debido a que el factor estresante es percibido como una amenaza real para el organismo y por lo tanto se desencadenan respuestas a nivel del sistema nervioso central que proporcionen facilidades para dar lugar a escenarios de lucha o escape. (20)

De manera paralela el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA) es activado por la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) desde el hipotálamo, lo que conlleva a la liberación de hormona adrenocorticotropa (ACTH) desde la glándula pituitaria.

La acción de hormona adrenocorticotropa (ACTH) se traduce en la liberación de glucocorticoides una vez que esta llega a las glándulas suprarrenales. Son estos glucocorticoides los que desencadenan diferentes respuestas, entre ellas se encuentra aumentar la biodisponibilidad de glucosa, necesaria para aportar energía de manera inmediata en episodios de lucha o escape, por otra parte, se limitan otras funciones que no estén destinadas a proteger el organismo ante ese estímulo que se percibe como una amenaza.

El sistema endocannabinoide tiene relación en la modulación del estrés debido a que existen receptores de naturaleza endocannabinoide en el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA) y a nivel del sistema nervioso simpático desempeñando un alto papel en la modulación de las respuestas a episodios estresantes.



**Figura 6. Efecto neuroprotector del sistema endocannabinoide a través de los receptores CB1 en el eje HPA a través de la modulación negativa, creación propia.**

Bajo episodios de estrés agudo se desarrollan efectos protectores, los cuales consisten en la señalización y retroalimentación negativa que se produce a nivel de los receptores CB1 impidiendo la segregación de CRH y posteriormente ACTH rebajando los niveles de glucocorticoides de manera indirecta. Esta acción protectora es debido a la localización de los receptores CB1 a nivel cerebral donde altas dosis de glucocorticoides dan lugar a la producción de 2-AG que de manera indirecta modula negativamente la segregación de más CRH cortando la cascada de señalización. (20)

Otras vías que le confieren carácter protector es la localización de receptores CB1 a nivel de la glándula pituitaria donde altos niveles de glucocorticoides promoverán una retroalimentación negativa cortando la cascada de señalización y no produciendo más ACTH.

Por otra parte, encontramos receptores CB1 a nivel de la glándula suprarrenal donde del mismo modo altos niveles de glucocorticoides provocaran una retroalimentación negativa dando lugar a una menor producción de glucocorticoides.

Todas estas acciones en conjunto son capaces de modular las vías implicadas en el estrés ejerciendo acciones protectoras frente a la cascada que promueven dichas situaciones estresantes, otorgando al sistema endocannabinoide y a los receptores CB1 capacidades adaptativas y herramientas de respuesta frente al estrés.



## **6.1 ALTERACIONES DE LAS VÍAS SINÁPTICAS ENDOCANNABINOIDES BAJO EPISODIOS DE ESTRÉS.**

A diferencia del estrés agudo, son los episodios de estrés crónico los que tienen la capacidad de modular de manera más significativa las vías implicadas en su modulación, además estas alteraciones son la principal razón de que el estrés tenga la capacidad de desarrollo y agravamiento de trastornos psiquiátricos ya que se trata de un agente modulador de las respuestas cerebrales.

El estrés crónico induce cambios prominentes y sostenidos en el sistema endocannabinoide, traducándose esto en una menor estimulación de los receptores CB1 en regiones cerebrales implicadas en procesos emocionales deteriorando la capacidad protectora que estos pueden ejercer bajo episodios de estrés interviniendo en el eje HPA.

Incrementos sostenidos de hormona adrenocorticotropa (ACTH) después de episodios de estrés prolongados promueven la actividad de la enzima FAAH a través de la estimulación de glucocorticoides, traducándose esto en niveles bajos de anandamida capaces de interactuar con los receptores CB1 localizados en hipocampo y amígdala, traducándose esto en una menor acción neuroprotectora frente al estrés. (20)

Por lo tanto, en pacientes donde el estrés crónico ha podido deteriorar esa capacidad neuroprotectora y donde las vías moduladoras del estrés se han visto alteradas bajo un aumento de la actividad de la FAAH se puede pensar en su inhibición como una diana terapéutica para tratar de volver a instaurar esa capacidad neuroprotectora con la que responde el organismo en episodios de estrés agudo, facilitando su modulación.

## **6.2 EMPLEO DE INHIBIDORES DE FAAH Y MAGL EN UN ENSAYO PRECLÍNICO PARA CONTROLAR LA MODULACIÓN DEL ESTRÉS.**

De igual manera que con la modulación de la ansiedad, se puede atribuir a los inhibidores de las enzimas implicadas de la metabolización de endocannabinoides como son la FAAH y MAGL la acción de aumentar la concentración de estos productos instaurando de nuevo un eje de protección frente al estrés y por lo tanto y de manera indirecta, protegiendo a los individuos frente al desarrollo de trastornos psiquiátricos graves en condiciones futuras.

Para el desarrollo de este ensayo preclínico se expusieron ratas macho y hembras donde se les administró durante una semana inhibidor de la enzima amida de ácidos grasos (FAAH) también identificado como URB597 o el inhibidor de la monoacilglicerol lipasa (MAGL) también identificado como JZL184, durante las dos semanas posteriores las ratas fueron evaluadas. (27)

El fundamento del ensayo se basó en establecer si el sistema endocannabinoide y su modulación podía ofrecer alguna respuestas prometedoras a la hora de regular el estrés y

la capacidad de relación entre los roedores además de medir el impacto que el estrés sufrido en etapas tempranas podía tener a la hora de modular dichas respuestas y cómo este alteraba las vías de señalización pudiendo establecer relación entre este tipo de estrés y comportamientos posteriores similares a la depresión y estados de ansiedad a largo plazo.

Los resultados obtenidos pueden resumirse en que los inhibidores de FAAH y MAGL administrados previnieron de los efectos perjudiciales a largo plazo del estrés, donde se observó que el estrés inducido en la vida temprana de los roedores inducía una reducción en la actividad MAGL en la edad adulta. A modo de conclusión este estudio proporciona datos prometedores en cuanto a la modulación del estrés en animales administrando sustancias medicamentosas con la capacidad de inhibir FAAH Y MAGL. (27)

## **7. EMPLEO DE MODULADORES DE FAAH PARA VALIDAR SU EMPLEO EN EL MANEJO DE ESTRÉS Y ANSIEDAD.**

Tras llevar a cabo la búsqueda propuesta, se determinó que las intervenciones a nivel de desarrollo en materia de ensayos preclínicos y clínicos se centraba más en el desarrollo que involucraba compuestos que se centraban en la inhibición de FAAH y no tanto en compuestos cuyo mecanismo de acción se centraba en MAGL o en mecanismos duales MAGL/FAAH es por ello que se consideró interesante establecer solo un apartado de esta revisión enfocada a cómo estos compuestos actuaban, cuál era el panorama actual en cuanto a sus intervenciones para conseguir modular la ansiedad y cómo respondían tanto a nivel preclínico como clínico.

### **7.1 EMPLEO DE LA MODULACIÓN DE FAAH EN ENSAYOS PRECLÍNICOS.**

Este apartado se centra solo en inhibidores FAAH a nivel preclínico, empleando diferentes ensayos para llegar a una conclusión común, aunque los métodos empleados fueron diferentes en cada uno de ellos.

#### **7.1.1 REGULACIÓN DE LA HIDROLISIS DE ANANDAMIDA EN EL COMPLEJO BASOLATERAL DE LA AMÍGDALA PARA LA MODULACIÓN DE ESTRÉS Y ANSIEDAD A NIVEL PRECLÍNICO. (Ensayo 2)**

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30573646/>

Durante el desarrollo de este estudio a nivel preclínico, principalmente se quiso obtener dos vectores virales, uno con la región codificante de la enzima FAAH ampliado y otro que careciese de ella. Para ello se aisló de mediante la técnica PCR la región codificante de la enzima FAAH y se crearon dos vectores virales, uno que la contenía al cual se denominó como HSV-GFP-FAAH y otro que no la contenía que se denominó HSV-GFP,

estos nombres se dieron por el empleo del virus del herpes simple (PHSV) como vector amplificante y el virus citomegalovirus (CMV) como plásmido. (28)

Posteriormente parte del ensayo consistió en administrar a los roedores empleados dichos vectores virales, obteniendo dos grupos, roedores donde su expresión génica para la codificación de FAAH se vio aumentada y roedores donde esta se vio normalizada el cual serviría de grupo placebo. Seguidamente los roedores fueron sacrificados tras 72h, tiempo estimado donde las concentraciones de endocannabinoides conseguirían su pico para estimar a través de técnicas de espectrometría de masas en tándem y cromatografía líquida cuáles eran las concentraciones alcanzadas de endocannabinoides a nivel de la amígdala.

Una vez, confirmado que las concentraciones de endocannabinoides se conseguían aumentar a nivel amigdalario tras la infusión vectorial, se repitió el procedimiento para estar vez evaluar el comportamiento que manifestaban los roedores tras ser sometidos a factores estresantes y ansiogénicos.

Finalmente, a modo de conclusión, se vio que el aumento de FAAH a nivel amigdalario dio lugar a una disminución de manera selectiva de las concentraciones de AEA y no afectando a las concentraciones de 2-AG. Esto se pudo traducir en que los roedores infundidos con el complejo FAAH aumentado a nivel amigdalario disminuyeron su respuesta al estrés y se vio reducido su comportamiento similar a la ansiedad. Pudiendo deducir que niveles mayores de 2-AG a nivel amigdalario tienen un factor protector frente a condiciones de estrés y ansiedad. (28)

### **7.1.2 REGULACIÓN DE LA HIDRÓLISIS DE ANANDAMIDA INDUCIDA POR LA INHIBICIÓN GENÉTICA Y FARMACOLÓGICA DE LA FAAH A NIVEL PRECLÍNICO. (Ensayo 3)**

Para el desarrollo de este ensayo a nivel preclínico se quiso establecer dos focos de estudio, uno a nivel genético donde se emplearon roedores los cuales mostraban una deficiencia a nivel de la enzima FAAH los cuales fueron clasificados como FAAH  $-/-$  y roedores que fueron infundidos con URB597, sustancia medicamentosa característica por ser un inhibidor de FAAH. Además se investigó si la inhibición de FAAH tiene la capacidad de reducir los niveles de ansiedad implicando a los receptores CB1. (29)

Por lo tanto, se establecieron dos grupos de estudio que a su vez se dividieron en otros dos, primeramente se establecieron los estudios en cuanto a cuestiones genéticas donde se emplearon roedores FAAH  $-/-$  que fueron estudiados y comparados frente a sus compañeros establecidos como salvajes (WT), seguidamente se emplearon roedores a los cuales se les administró la sustancia medicamentosa URB597 en comparación a otros a los que no. (29)

El objetivo de este estudio fue probar la noción de que los ratones FAAH  $-/-$  podrían mostrar un comportamiento similar a la ansiedad reducido en comparación con sus

compañeros de camada de tipo salvaje (WT), para ello se emplearon como modelos animales el laberinto en cruz elevado y la prueba de luz y oscuridad.

Además, para imitar farmacológicamente estos experimentos, se realizaron estudios con inyecciones de un inhibidor de FAAH en ratones C57BL/6N. Finalmente, para probar si había participación de los receptores CB1, investigamos los efectos de Rimonabant, el cual es un antagonista selectivo de los receptores CB1, en el bloqueo de los cambios de comportamiento observados después de la inhibición genética o farmacológica de la FAAH.

Los resultados obtenidos se resumen en que los ratones FAAH -/- exhiben un comportamiento reducido en cuanto a la ansiedad se refiere. Posteriormente se observó que este fenotipo y esta conducta ansiolítica se revertía tras administrar Rimonabant (SR141716) el cual actúa como un antagonista selectivo del receptor cannabinoide CB1, deduciendo que los niveles elevados de endocannabinoides que son capaces de interactuar con los receptores CB1, afirmando que estos también están implicados en los procesos relacionados con la ansiedad.

El presente estudio muestra que los ratones FAAH -/- exhiben un comportamiento similar a la ansiedad reducido en dos modelos experimentales. Dado que este fenotipo se revirtió después de la inyección del antagonista CB1 rimonabant, es probable que los niveles elevados de eCB que actúan a través de los receptores CB1 sean responsables de la disminución de la ansiedad en animales que carecen de FAAH. Además, se observó un efecto ansiolítico en ratones C57BL/6N después de la inyección del inhibidor de FAAH URB597, un efecto bloqueado por rimonabant y, por tanto, también mediado por los receptores CB1. (29)

### **7.1.3 VALOR TERAPÉUTICO DE UN NUEVO INHIBIDOR DE FAAH PARA EL TRATAMIENTO DE LA ANSIEDAD. (Ensayo 4)**

En el presente estudio, proporcionamos evidencia de las propiedades ansiolíticas de un inhibidor reversible novedoso, potente y selectivo de FAAH, ST4070, administrado por vía oral a roedores.

Como fármaco de referencia se administró diazepam por vía intraperitoneal media hora antes de la prueba a una dosis de 1mg/5ml/kg. El fundamento del ensayo se vio basado en administrar la sustancia medicamentosa en estudio a una concentración de 10 y 30 mg/2ml/kg, posteriormente los roedores fueron sometidos a pruebas donde se vieran aumentados los perfiles ansiogénicos como el laberinto en cruz elevado y a la prueba de luz-oscuridad.

Posteriormente se seleccionaron aleatoriamente la corteza prefrontal, el cuerpo estriado y el hipocampo de 8 animales por grupo experimental para evaluar componentes particulares y de interés que pertenecen al sistema endocannabinoide, para analizar la actividad FAAH así como la medición de ligandos cannabinoide endógenos a los que se

dirige esta enzima, para ello los tejidos cerebrales se sometieron a extracción de lípidos con cloroformo/metanol, posteriormente se sometieron a cromatografía líquida-espectrometría de masas de ionización por electropulverización (LC-ESI-MS). (30)

En cuanto a los resultados obtenidos podemos decir que el medicamento en ensayo (ST4070), aumentó el tiempo significativamente que los roedores pasaban en los brazos abiertos, viéndose reducido el tiempo de comportamiento similar a la ansiedad sin verse alterada la capacidad locomotora, seguidamente, también pareció aumentar el tiempo que las ratas pasaban en el compartimento iluminado en la prueba de luz-oscuridad.

En cuanto a cómo afectó al sistema endocannabinoide, los datos obtenidos respaldaron más la actividad inhibidora sobre FAAH de ST4070, ya que la administración a los roedores del compuesto supuso una disminución de la actividad de FAAH en áreas específicas del cerebro analizadas, como fueron el cuerpo estriado e hipocampo. (30)

El nuevo enol-carbamato ST4070 que proporciona una inhibición potente y reversible de FAAH in vivo, mejora el tono endógeno de endocannabinoides en regiones cerebrales específicas involucradas en el control emocional e induce comportamientos notables de tipo ansiolítico en roedores. Aunque todavía es necesaria la investigación sobre los sustratos neuronales y la farmacocinética de los efectos ansiolíticos del ST4070 en roedores, la presente investigación abre nuevas vías para el desarrollo y la evaluación adicional de una nueva familia de inhibidores de la FAAH como fármacos que se probarán en ensayos clínicos para el manejo de la ansiedad y los trastornos del estado de ánimo en humanos. (30)

## **7.2 EMPLEO DE INHIBIDORES DE FAAH EN ENSAYOS CLÍNICOS.**

Los inhibidores de la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) se consideran ansiolíticos prometedores, pero los estudios en humanos sobre la actividad de FAAH genéticamente reducida donde se empleen dichos inhibidores para mediar su efectividad ante las respuestas de estrés y ansiedad, son escasos.

La investigación preclínica ha podido demostrar que la homocigosis para el alelo C385A de la amida hidrolasa de ácido graso FAAH, similar a la inhibición de la FAAH, se asocia con concentraciones elevadas de anandamida (AEA) y escenarios opuestos a la ansiedad.

### **7.2.1 GENOTIPADO DEL ALELO C385A DE LA ENZIMA FAAH Y SUS EFECTOS EN LA EXTINCIÓN DEL MIEDO Y ANSIEDAD.**

Es por ello por lo que durante el desarrollo de un estudio clínico fueron genotipados 55 varones para el polimorfismo de un solo nucleótido rs324420 de FAAH para investigar las diferencias relacionadas con el recuerdo de extinción en la activación neuronal y sus capacidades ansiolíticas entre heterocigotos AC y homocigotos CC (FAAH C385A). (31)

Concluyendo que la activación cerebral diferencial ante un estímulo no extinguido en relación con uno extinguido fue mayor en los heterocigotos AC en comparación con los

homocigotos CC, además los heterocigotos AC mostraron niveles más altos de AEA y calificaciones de estado Inventario de Ansiedad Estado-Rasgo (STAI) más bajas, sin embargo, las diferencias entre los grupos de ansiedad relacionada con el rasgo no fueron significativas y evidentes para arrojar datos esperanzadores. (31)

### **7.2.2 IMPACTO DE LA VARIACIÓN GENÉTICA DE LA FAAH EN LA FUNCIÓN FRONTO-AMÍGDALA DURANTE EL PROCESO EMOCIONAL.**

Estudios traslacionales recientes identificaron un polimorfismo endocannabinoide común, FAAH C385A, en el gen de la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH). Este polimorfismo altera los niveles de anandamida endocannabinoide, que se sabe que están involucrados en el circuito fronto-amígdala implicado en la regulación del estado de ánimo y los comportamientos similares a la ansiedad.

Este ensayo clínico tuvo como objetivo replicar y ampliar hallazgos anteriores mediante el examen de la actividad funcional y la conectividad relacionada con las tareas en las regiones fronto-amígdala durante la reactividad emocional y la regulación negativa emocional del afecto negativo.

Se llevó a cabo el estudio de 48 hombres, que fueron sometidos a una medición del estado de reposo por resonancia magnética funcional además de completar autoinformes sobre la ansiedad y el uso de estrategias de regulación de las emociones.

Se encontró una conectividad en estado de reposo más fuerte entre la amígdala derecha y corteza cingulada anterior dorsal en portadores del alelo A en comparación con los homocigotos C/C en cuanto a reactividad emocional, observamos una activación significativamente mayor en la circunvolución recta derecha para los portadores del alelo A en comparación con los homocigotos C/C. (32)

Por lo tanto y de manera preliminar los resultados obtenidos evidencian que los portadores del alelo A de FAAH C3853 muestran una mayor conectividad entre la amígdala y la corteza cingular anterior en reposo además de una mayor actividad de esta durante la regulación de las emociones. (32)

Los datos que se recogieron durante este estudio pueden establecer la existencia de una predisposición genética a la hora de gestionar las emociones y de conseguir herramientas para el manejo de estas.

## 8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

Durante el apartado de resultados se han ampliado los conceptos presentados durante la introducción de esta revisión, las búsquedas han ido dirigidas para resolver la necesidad de comprender y entender cuál es el funcionamiento y qué vías están implicadas además de explicar la naturaleza y los receptores implicados en la modulación del estrés y la ansiedad y cuál es el papel del sistema endocannabinoide y sus productos en ello.

En cuanto al sistema endocannabinoide los resultados obtenidos nos dirigen a la idea de un sistema a nivel orgánico perfectamente estructurado, donde encontramos diferentes tipos de receptores a diferentes niveles que son capaces de modular varias respuestas nivel orgánico, reduciendo la información a que los receptores más importantes y significativos en materia de estudio son los receptores CB1 y CB2 sin dejar de mencionar otros tipos de receptores integrados como son el caso de los receptores transitorios vaniloides (TRPV1) y receptores activados por proliferadores de peroxisomas. La distribución a nivel cerebral y el tipo de neuronas implicadas capaces de interactuar con diferentes moléculas de carácter dopaminérgico y de naturaleza canabinoidea hacen a los receptores CB1 los principales involucrados en episodios de estrés y ansiedad, estableciendo la idea de que productos capaces de su inhibición o estimulación pudieran ser interesantes en materia de investigación para esclarecer los mecanismos que se desarrollan bajo estos episodios estableciendo así nuevas vías para encontrar nuevas terapias útiles.

Dentro de las moléculas de interés que son capaces de interactuar con este tipo de receptores, encontramos AEA y 2-AG ambas de carácter endocannabinoide, capaces de interactuar con los receptores CB1 dando lugar a diferentes respuestas, es por ello que la síntesis y metabolismo de estos compuestos es esencial para determinar sus concentraciones y estimular o cohibir respuestas que tengan relación con los receptores CB1 y en definitiva con el sistema endocannabinoide.

En cuanto a las enzimas más importantes que son foco en su mayoría del estudio encontramos las enzimas MAGL y FAAH, principales metabolizadoras de AEA para dar 2-AG y etanolamina en el caso de FAAH y glicerol en el caso de MAGL. Son en estas enzimas donde se centran las principales investigaciones, ya que su inhibición o activación puede dar lugar a altas concentraciones de endocannabinoides aumentando las probabilidades de interactuar con los receptores endocannabinoides o bajas concentraciones de estas, llegando ambas situaciones a dar una modulación de las respuestas orgánicas. Es por ello por lo que las investigaciones en cuanto a como modular las respuestas bajo episodios de estrés y ansiedad pasan por el desarrollo de inhibidores de estas dos enzimas metabolizadoras, para conseguir un aumento de concentraciones de endocannabinoides asociados a respuestas ansiolíticas o neuroprotectoras en casos de estrés.

En cuanto al desarrollo de inhibidores encontramos inhibidores de FAAH o MAGL o de ambos enzimas conocidos como inhibidores duales. Este tipo de inhibidores han sido ampliamente ensayados niveles preclínicos de diferentes maneras, donde se ha observado que los datos que ofrecen los inhibidores de FAAH son más prometedores que

los que inhiben la actividad metabólica de MAGL o incluso cuando se administraban sustancias con capacidad inhibidora dual, es por ello que las investigaciones y la mayoría de ensayos preclínicos han ido dirigidas a estudiar la modulación del comportamiento tras administrar inhibidores de FAAH. En cuanto a este tipo de inhibidores encontramos que no solo se emplean para los trastornos de ansiedad donde los ensayos son costosos, si no que también se ve su aplicación a la hora de modular diversas situaciones como la obesidad o la ansiedad que esta deriva al verse implicado los circuitos de recompensa, haciendo por lo tanto a FAAH una enzima ampliamente interesante en materia de estudio.

Durante el desarrollo de diferentes ensayos a nivel preclínico los datos arrojados son prometedores ya que los comportamientos de los roedores empleados en diversos estudios tras las administración se resumen en un aumento de tiempo afrontando los agentes estresantes ante los que fueron sometidos, viendo aumentada las herramientas con las que los roedores afrontaban la situación estresante pudiendo asociar un comportamiento ansiolítico, este es el escenario principal que nos ofrecen las búsquedas.

En cuanto a ensayos clínicos el número de intervenciones se reduce siendo casi nulos las investigaciones en cuanto a inhibidores de MAGL se refiere, centrándose en su mayoría en complejos inhibidores de FAAH para la modulación de la ansiedad u otros trastornos. Por otra parte, se pensaba que el aumento directo de las sustancias de interés como AEA o 2-AG en las zonas de interés tendría algún tipo de impacto o carácter ansiolítico o que de alguna manera interactuarían a un mayor nivel con los receptores CB1, pero los estudios solo dan datos prometedores cuando se manejan inhibidores FAAH ya que el aumento directo de endocannabinoides a nivel endógeno no obtuvo el resultado esperado, ya que no se consiguió modular la ansiedad ni se vio ningún beneficio en su administración.

Las variadas respuestas que se encontraron dentro de los ensayos pueden ser debidas a varias cuestiones, entre ellas vemos que muchos de los estudios contaban con la autoadministración de la medicación además de que medir estadios ansiogénicos en humanos se basa en manuales de conducta y comportamiento, y en autopercepción pudiendo restar algo de fiabilidad a los resultados encontrados.

Por otra parte, se observó que no todas las personas expuestas a mismas concentraciones iniciales de fármacos en estudio alcanzaban las mismas concentraciones plasmáticas, es cuando se toma en cuenta el concepto de farmacogenética y de las posibilidades de personas con capacidades de metabolización ampliadas o disminuidas y de ahí la necesidad del desarrollo de nuevos estudios con dosis aumentadas o ajustadas.

Es por ello por lo que se abre la idea de estudio a los diferentes polimorfismos que pueden estar implicados en el desarrollo de las funciones de FAAH y por lo tanto las diferentes respuestas que se pueden encontrar en humanos, como es el caso del gen rs324420, el cual se traduce en dar lugar a una enzima FAAH con expresión y actividad reducida, viendose aumentados los niveles de anandamida al verse reducida su metabolización, en las personas que expresan y que son portadoras de dicho gen.



El gen rs324420 también denominado C385, presenta el alelo A el cual es el responsable de esta actividad metabolizadores reducida, donde las personas que presentaron de manera homocigótica dicho alelo AA presentaban una actividad metabolizadora reducida mayor que las personas heterocigóticas AC o personas homocigóticas CC. Concluyendo que las personas portadoras del alelo A en homocigosis tienen mayores niveles de AEA y sus patrones frente a la ansiedad eran menores que las personas que lo presentaban de manera heterocigótica o en homocigosis CC. Esto conlleva a la idea de que al igual que con otras enfermedades psiquiátricas la ansiedad y su manera de manejo y modulación puede estar definida por cuestiones genéticas.

En cuanto al estrés, se ha visto que el sistema endocannabinoide comparte vías de activación en común ante agente estresantes. Viéndose que la vía más significativa es el eje HPA, donde se activan diferentes respuestas a nivel orgánico. Diferentes ensayos proponen la idea de un efecto neuroprotector por parte del sistema endocannabinoide a nivel de los receptores CB1, el cual es efectivo en periodos de estrés agudo.

Esta acción neuroprotectora se debe a la capacidad de los receptores CB1 a nivel de las glándulas pituitaria y suprarrenal de cortar la cascada de señalización que se produce tras una situación estresante limitando la producción de ACTH y glucocorticoides y sus diferentes mecanismos de acción, por otra parte la producción de 2-AG mediada por los glucocorticoides se ve aumentada y por consiguiente su interacción con los receptores CB1 al nivel del hipotálamo dotando al sistema de herramientas para hacer frente al estrés.

Los resultados obtenidos demuestran que hay una relación entre la modulación del estrés y la ansiedad a través del sistema endocannabinoide, pero todos ellos han concluido con datos prometedores a nivel preclínico y centrándose en la enzima FAAH, donde administrando inhibidores por diferentes vías, tanto oral como por perfusión se han visto respuestas protectoras ante agentes ansiogénicos o estresantes, por otra parte otra parte de las intervenciones han ido enfocadas a una replicación mediante técnicas de amplificación genética empleando vectores para aumentar la producción de FAAH y su actividad, para dar lugar a una mayor producción de 2-AG, es por ello que esta enzima ha sido tan estudiada, porque presenta dos vías para la modulación de respuestas, su inhibición puede aumentar los niveles de anandamida y su aumento de expresión génica y actividad puede dar lugar a una mayor metabolización de la anandamida dando mayores niveles de 2-AG.

Dentro de inhibidores a nivel clínico de FAAH encontramos el fármaco Rimonabant también conocido como Acomplia®, compuesto capaz de inhibir de manera reversible la actividad de FAAH, aunque su uso tiene que ver con la obesidad, su desarrollo abre el paso al estudio de los receptores CB1 y el sistema endocannabinoide como una diana terapéutica para diversas patologías que se encuentra por explotar.

## 9. CONCLUSIÓN

A través de esta revisión bibliográfica se han podido llegar a diferentes conclusiones con evidencia científica basándose en los datos e información resultado de las búsquedas realizadas, entre ellas encontramos que el sistema endocannabinoide es un sistema perfectamente integrado en el organismo capaz de modular diversas respuestas a diferentes niveles orgánicos y que su investigación en materias clínicas debe seguir desarrollándose para comprender su completo funcionamiento ya que los receptores y moléculas capaces de interactuar con él son ampliamente diversas.

Seguidamente establecer la idea de que sí hay un papel modulador de la ansiedad y el estrés a través de este sistema y que las vías para conseguirlo son diversas, a falta de desarrollo de más estudios clínicos para determinar nuevos compuestos, que sean seguros establecer dosis y sus efectos, los datos son prometedores para el desarrollo de nuevos fármacos, aunque las investigaciones son limitadas y los datos escasos.

La modulación de la enzima FAAH se ve involucrada en diferentes procesos que la puede haber útil en materia de estudio, viéndose que a nivel preclínico tiene interés a la hora de modular las respuestas ansiolíticas en roedores, estableciendo que hay mecanismos establecidos en su regulación tanto enzimática como a niveles genéticos donde se mantiene la idea de que hay un factor genético a la hora de afrontar situaciones estresantes o cómo se responde y se lidia con la ansiedad.

La necesidad clínica de encontrar alternativas terapéuticas para diversos trastornos psiquiátricos hace al sistema endocannabinoide una diana clave, ya que se ve involucrado no solo en la modulación del estrés y la ansiedad, además comparte vías con el miedo, estrés postraumático, depresión e incluso Alzheimer en otras.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

1. Benedí J, Gómez del Río MÁ. Ansiedad. Tratamiento farmacológico y fitoterápico. *Farm Prof* 2007 [citado el 3 de marzo de 2024];21(1):50–5. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-ansiedad-13098174>
2. Trastorno de ansiedad generalizada: Cuando no se puede controlar la preocupación. (Internet). National Institute of Mental Health (NIMH). Citado el 3 de marzo de 2024). Disponible en: <https://www.nimh.nih.gov/health/publications/espanol/trastorno-de-ansiedad-generalizada-cuando-no-se-pueden-controlar-las-preocupaciones-new>
3. Mock Ed, Gagestein B, Van Der Slet M. Anandamida y otras N-aciletanolaminas: una clase de lípidos de señalización con oportunidades terapéuticas. *Prog Lipid Res* (Internet) (Citado el 3 de marzo de 2024). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plipres.2022.101194>
4. Soria-Lara DM, Gaitán-Vélez BV, Jiménez-Islas H, Miranda-López R. El Sistema de Endocannabinoides como regulador de la lipogénesis y su posible modulación por la mangiferina. *Rev Biomed* [Internet]. 2019 [citado el 3 de mayo de 2024];30(2):83–102. Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-84472019000200083](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-84472019000200083)
5. Murataeva N, Straiker A, Mackie K. Parsing the players: 2-AG synthesis and degradation in CNS. *Br J Pharmacol* (Internet). 2014. (Citado el 3 de marzo de 2024); 171(6):1379-91. Disponible en:<http://dx.doi.org/10.1111/bph.12411>
6. Papagianni, E.P and Stevenson, C.W (2019) Cannabinoid regulation of fear and anxiety: An update. *Current Psychiatry Reports* 21(6). Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s11920-019-1026-z>
7. Soria-Lara DM, Gaitán-Vélez BV, Jiménez-Islas H, Miranda-López R. El sistema endocannabinoide como regulador de la lipogénesis y su posible modulación por la mangiferina. *Rev Biomed* (Internet). 2019 (Citado el 3 de marzo de 2024). Disponible en: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-84472019000200083](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-84472019000200083)
8. Elms L, Shannon S, Hughes S, Lewis N. Cannabidiol in the treatment of post-traumatic stress disorder: A case series. *J Altern Complement Med* [Internet]. 2019 [citado el 11 de mayo de 2024];25(4):392–7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30543451/>
9. Mechoulam R, Parker LA. The endocannabinoid system and the brain. *Annu Rev Psychol* (Internet). 2013. (Citado el 7 de marzo de 2024); 64(1):21-47. Dipsonible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22804774/>

10. Duval F, González F, Rabia H. Neurobiología del estrés. *Rev Chil Neuro-Psiquiatr* [Internet]. 2010 [citado el 10 de marzo de 2024];48(4):307–18. Disponible:[https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-92272010000500006](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-92272010000500006)
11. Muñoz CT. Datos y hechos sobre benzodicepinas y otros ansiolíticos e hipnosedantes [Internet]. Gob.es. [citado el 3 de marzo de 2024]. Disponible en:[https://pnsd.sanidad.gob.es/noticiasEventos/agoraDGPNSD/2023/Agora16/231010\\_XVI\\_AGORA\\_Cristina\\_Teruel.pdf](https://pnsd.sanidad.gob.es/noticiasEventos/agoraDGPNSD/2023/Agora16/231010_XVI_AGORA_Cristina_Teruel.pdf)
12. Ministerio de Sanidad. Gobierno de España. Recuperado el 3 de marzo de 2024. Disponible:[https://www.sanidad.gob.es/estadEstudios/estadisticas/estadisticas/estMinisterio/SIAP/Salud\\_mental\\_datos.pdf](https://www.sanidad.gob.es/estadEstudios/estadisticas/estadisticas/estMinisterio/SIAP/Salud_mental_datos.pdf)
13. Utilización de medicamentos ansiolíticos e hipnóticos en España. (2019, octubre 11). Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. <https://www.aemps.gob.es/medicamentos-de-uso-humano/observatorio-de-uso-de-medicamentos/informes-ansioliticos-hipnoticos/>
14. Gómez-García, D. M., & García-Perdomo, H. A. (2022). Cannabis medicinal: puntos críticos para su uso clínico. *Biomedica: Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 42(3), 450–459. Citado el 7 de marzo. Disponible en: <https://doi.org/10.7705/biomedica.6468>
15. Soria-Lara, D. M., Gaitán-Vélez, B. V., Jiménez-Islas, H., & Miranda-López, R. (2019). El Sistema de Endocannabinoides como regulador de la lipogénesis y su posible modulación por la mangiferina. *REVISTA BIOMÉDICA*, 30(2), 83–102. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v30i2.638>
16. Mackie, K. Cannabinoid Receptors: Where they are and what they do. *Journal of Neuroendocrinology*. Citado el 10 de marzo de 2024. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2826.2008.01671.x>
17. Mackie, K. (2008). Cannabinoid Receptors: Where They are and What They do. *Journal of Neuroendocrinology*, 20(s1), 10–14. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01671.x>
18. Starkus, J., Jansen, C., Shimoda, L. M. N., Stokes, A. J., Small-Howard, A. L., & Turner, H. (2019). Diverse TRPV1 responses to cannabinoids. *Channels* Citado el 7 de marzo de 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/19336950.2019.1619436>
19. Soria-Lara, D. M., Gaitán-Vélez, B. V., Jiménez-Islas, H., & Miranda-López, R. (2019). El Sistema de Endocannabinoides como regulador de la lipogénesis y su posible modulación por la mangiferina. *REVISTA BIOMÉDICA*, 30(2), 83–102. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v30i2.638>
20. Maldonado R, Cabañero D, Martín García (2020). The endocannabinoid system in modulating fear, anxiety and stress. *Dialogues in clinical neuroscience*. Citado el 17 de marzo de 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.31887/dcns.2020.22.3/rmaldonado>

21. Yin AQ, Wang F and Zhang X (2019). Integrating endocannabinoid signaling in the regulation of anxiety and depression. *Acta Pharmacologica Sinica* 40. Citado 17 de marzo de 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41401-018-0051-5>
22. Ren, S.-Y., Wang, Z.-Z., Zhang, Y., & Chen, N.-H. (2020). Potential application of endocannabinoid system agents in neuropsychiatric and neurodegenerative diseases—focusing on FAAH/MAGL inhibitors. *Acta Pharmacologica Sinica*, 41(10), 1263–1271. <https://doi.org/10.1038/s41401-020-0385-7>
23. Bedse, G., Bluett, R. J., Patrick, T. A., Romness, N. K., Gaulden, A. D., Kingsley, P. J., Plath, N., Marnett, L. J., & Patel, S. (2018). Therapeutic endocannabinoid augmentation for mood and anxiety disorders: comparative profiling of FAAH, MAGL and dual inhibitors. *Translational Psychiatry*, Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41398-018-0141-7>
24. Schmidt, M. E., Liebowitz, M. R., Stein, M. B., Grunfeld, J., Van Hove, I., Simmons, W. K., Van Der Ark, P., Palmer, J. A., Saad, Z. S., Pemberton, D. J., Van Nueten, L., & Drevets, W. C. (2021). The effects of inhibition of fatty acid amide hydrolase (FAAH) by JNJ-42165279 in social anxiety disorder: a double-blind, randomized, placebo-controlled proof-of-concept study. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 46(5), 1004–1010. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41386-020-00888-1>
25. Bornscheuer, L., Lundin, A., Forsell, Y., Lavebratt, C., & Melas, P. A. (2023). Functional variation in the FAAH gene is directly associated with subjective well-being and indirectly associated with problematic alcohol use. *Genes*, 14(9), 1826. <https://doi.org/10.3390/genes14091826>
26. Bornscheuer, L., Lundin, A., Forsell, Y., Lavebratt, C., & Melas, P. A. (2023). Functional variation in the FAAH gene is directly associated with subjective well-being and indirectly associated with problematic alcohol use. *Genes*, 14(9), 1826. <https://doi.org/10.3390/genes14091826>
27. Alteba, S., Mizrahi Zer-Aviv, T., Tenenhaus, A., Ben David, G., Adelman, J., Hillard, C. J., Doron, R., & Akirav, I. (2020). Antidepressant-like effects of URB597 and JZL184 in male and female rats exposed to early life stress. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2020.08.005>
28. Morena, M., Aukema, R. J., Leitl, K. D., Rashid, A. J., Vecchiarelli, H. A., Josselyn, S. A., & Hill, M. N. (2019). Upregulation of anandamide hydrolysis in the basolateral complex of amygdala reduces fear memory expression and indices of stress and anxiety. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 39(7), 1275–1292. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2251-18.2018>

29. Morena, M., Aukema, R. J., Leidl, K. D., Rashid, A. J., Vecchiarelli, H. A., Josselyn, S. A., & Hill, M. N. (2019). Upregulation of anandamide hydrolysis in the basolateral complex of amygdala reduces fear memory expression and indices of stress and anxiety. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 39(7), 1275–1292. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.2251-18.2018>
30. Marco, E. M., Rapino, C., Caprioli, A., Borsini, F., Laviola, G., & Maccarrone, M. (2015). Potential therapeutic value of a novel FAAH inhibitor for the treatment of anxiety. *PloS One*, 10(9), e0137034. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137034>
31. Spohrs, J., Ulrich, M., Grön, G., Plener, P. L., & Abler, B. (2022). FAAH polymorphism (rs324420) modulates extinction recall in healthy humans: an fMRI study. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 272(8), 1495–1504. <https://doi.org/10.1007/s00406-021-01367-4>
32. Gärtner, A., Dörfel, D., Diers, K., Witt, S. H., Strobel, A., & Brocke, B. (2019). Impact of FAAH genetic variation on fronto-amygdala function during emotional processing. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 269(2), 209–221. <https://doi.org/10.1007/s00406-018-0944-9>

