



## **TRABAJO DE FIN DE GRADO**

### **GRADO EN FARMACIA**

# **INHIBIDORES DE LA ENZIMA ÁCIDO GRASO AMIDA HIDROLASA Y SU PAPEL EN EL TRATAMIENTO DEL DOLOR NEUROPÁTICO**

Alumno: Álvaro Laborie Martínez.

Tutora: María Salud García Gutiérrez.

Modalidad: Revisión bibliográfica.

Presentación: Facultad de Farmacia, edificio Marie Curie. 4 de febrero de 2020.

## ÍNDICE

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE.....	3
ANTECEDENTES.....	4
OBJETIVOS.....	20
MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
RESULTADOS.....	23
DISCUSIÓN.....	34
BIBLIOGRAFÍA.....	36



## Resumen

El dolor neuropático es un trastorno en el que los mecanismos de control de la señal dolorosa a nivel del sistema nervioso están alterados, lo que repercute en una anómala percepción y activación de un determinado estímulo doloroso (alodinia), así como en la magnitud del mismo (hiperalgesia). El arsenal terapéutico actual para tratar esta patología es variado, pero con una eficacia relativamente baja, especialmente cuando se compara con otras patologías donde el dolor agudo o inflamatorio juega un factor importante. En el control del estímulo doloroso intervienen diversas estructuras, tanto anatómicas como bioquímicas que pueden plantearse como nuevas dianas farmacológicas para desarrollar nuevas terapias contra el dolor neuropático. El sistema endocannabinoide es una de las estructuras bioquímicas ampliamente localizada en las zonas del sistema nervioso implicadas en el control del estímulo doloroso, y su modulación puede traducirse en una nueva ventana terapéutica para desarrollar terapias contra el dolor neuropático. Entre las diferentes zonas del sistema endocannabinoide susceptibles de ser moduladas, la ácido graso amida hidrolasa, la enzima degradadora de la anandamida (principal neurotransmisor del sistema endocannabinoide), parece ser una buena diana para el desarrollo futuros fármacos para tratar esta patología al permitir una modulación indirecta de los niveles de anandamida y con ello una modulación más fina del sistema endocannabinoide. De esta manera, los inhibidores de la ácido graso amida hidrolasa han sido desarrollados durante las últimas 2 décadas para poder convertirse en futuros fármacos para el tratamiento del dolor neuropático. En el presente trabajo se realiza una revisión sistemática sobre el desarrollo, efectividad clínica y otras condiciones clave que representa el desarrollo de los inhibidores de la enzima ácido graso amida hidrolasa para el tratamiento del dolor neuropático.

**Palabras clave:** Dolor Neuropático; Sistema Endocannabinoide; Anandamida; Acido Graso Amida Hidrolasa.

## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 El dolor neuropático: definición y clínica

Según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP, de sus siglas en inglés *International Association for the Study of Pain*), el dolor neuropático (DN) se ha considerado clásicamente como «dolor provocado por una lesión o disfunción causada en el sistema nervioso». Recientemente la propia IASP ha modificado esta definición, hacia una versión más integral considerándose como «dolor que surge como consecuencia directa de una lesión o enfermedad que afecta al sistema somatosensorial» <sup>(1)</sup>. Esta referencia al sistema somatosensorial es importante, y deriva del amplio abanico de condiciones que el DN puede presentar, desde dolores urentes o punzantes, a sordos o lacerantes <sup>(2)</sup>. Además, el DN puede aparecer de manera continua o intermitente, y en respuesta a un impulso físico que origina esa percepción o *per se*.

Clínicamente, se distinguen dos tipos según su origen<sup>(3)</sup> :

→DN periférico, que representa aproximadamente el 90 % de los casos.

→DN central, que representa el 10% de los casos restantes y es más complicado de manejar terapéuticamente.

En cuanto a los factores precipitantes y enfermedades asociadas destacan las lesiones traumáticas osteoarticulares, neuralgias postherpéticas, vasculitis, infarto agudo de miocardio, neuralgias nerviosas periféricas y el síndrome del dolor regional complejo *en el DN periférico* y tumores cerebrales, traumatismo craneoencefálico, poliomelitis, accidentes cerebrovasculares y esclerosis múltiple *en el DN central* <sup>(2)(3)(4)</sup> (*ver tabla 1*).

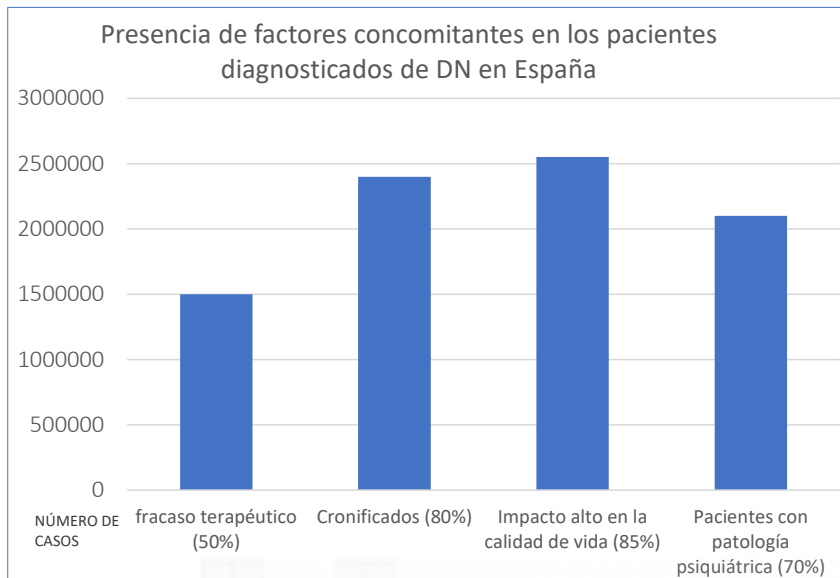
DN origen periférico	DN origen central
Miembro fantasma	Mielitis
Neuralgia del trigémino	Lesión medular
Neuropatía diabética	Siringomielia
Neuralgia post-herpética	Esclerosis múltiple
Neuralgia post-VIH	Tras accidente vascular encefálico
Neuropatía post-traumática	
Síndrome dolor regional complejo	

**Tabla 1:** Factores precipitantes y enfermedades asociadas a los diferentes tipos de dolor neuropático <sup>(2)(3)(4)</sup>.

## 1.2 Diagnóstico y prevalencia del dolor neuropático

El diagnóstico del DN es complejo, y los organismos nacionales e internacionales consideran que actualmente está infradiagnosticado <sup>(2)(4)(5)</sup>. En la actualidad, el diagnóstico se realiza mediante una exploración clínica que incluye la medición de la temperatura de la piel, vascularización periférica, sudoración, sensibilidad periférica, actividad simpática periférica y el propio dolor <sup>(2)(4)</sup>. Para ello se realizan termografías completas, así como pruebas específicas, como Q-SART (de sus siglas en inglés *Quantitative Sudomotor Axon Reflex*) para medir indirectamente la actividad simpática <sup>(6)</sup> y la electromiografía <sup>(7)</sup>, entre otras.

En España la prevalencia del DN es relativamente alta. Según la Sociedad Española de Neurología (SEN), las consultas a los servicios de neurología por esta patología constituyen la octava causa frecuente <sup>(5)</sup>. Además, el DN representa el 12.5% de las consultas en atención primaria. La SEN también advierte de que cerca del 20% de los casos son difíciles de diagnosticar, dada la ausencia de signos en las pruebas diagnósticas y la heterogeneidad de la patología. Cabe destacar que, en España, podrían estar afectadas más de 3 millones de personas, de los cuales más del 80% serían pacientes crónicos. Solamente en el 50% de los pacientes con DN se consigue controlar relativamente el dolor, en el 85% de los pacientes la patología tiene un impacto negativo alto en su calidad de vida y el 70% de los pacientes presentan una patología psiquiátrica <sup>(5)</sup> (*ver figura 1*).



**Figura 1: Factores concomitantes de los pacientes diagnosticados de DN en España.**

La prevalencia aproxima del DN en España es 3.000.000 de habitantes <sup>(5)</sup>.

Comentado [GGMS1]: Introduce la cita

### 1.3. Tratamiento del dolor neuropático: grupos farmacológicos e indicaciones terapéuticas

La terapéutica del DN plantea varios retos. Aunque en la actualidad se dispone de un arsenal terapéutico útil para paliar parte del problema, ninguna opción farmacológica es definitiva, siendo recomendable realizar un enfoque multidisciplinar (farmacológico, psicológico y fisioterapéutico) <sup>(2)(8)(9)</sup>. Igualmente, como en la mayoría de las patologías, es importante encontrar en primera instancia la causa base que desencadena el trastorno.

Según el origen del DN (central o periférico), se emplean los siguientes grupos farmacológicos <sup>(10)(8)</sup>:

En el *tratamiento farmacológico del DN periférico* destaca el empleo de fármacos antidepresivos, corticoides, moduladores  $\alpha_2$ -adrenérgicos, anticonvulsivantes, anestésicos locales, antagonistas del receptor del ácido N-metil-D-aspartico (NMDA) y fármacos opioides.

*Antidepresivos tricíclicos (ATC):* son los fármacos más utilizados en la actualidad para el manejo del DN. Tienen un efecto analgésico independiente a su efecto como antidepresivos <sup>(10)</sup>. Actúan inhibiendo la recaptación de serotonina (5-HT) y noradrenalina (NA) a nivel de sinapsis, provocando un aumento de estos neurotransmisores, que a su vez estimulan y potencian los sistemas inhibidores de la respuesta dolorosa. Este mecanismo no está totalmente dilucidado, pero se ha podido demostrar la implicación del bloqueo de los receptores  $\alpha_2$ -adrenérgicos. Diversos estudios han demostrado como la desipramina, un inhibidor selectivo de la recaptación de NA, tiene una potencia casi equiparable a la amitriptilina en términos de analgesia <sup>(10)</sup>, y, por otro lado, la fluoxetina, un inhibidor selectivo de la recaptación de 5-HT (ISRS), presenta menor eficacia en comparación con la amitriptilina y la desipramina <sup>(10)</sup>. Asimismo, los ATC bloquean los receptores muscarínicos colinérgicos (M) y el receptor histaminérgico H<sub>1</sub>. Estas dos acciones junto con el bloqueo  $\alpha_2$ -adrenérgico de algunos ATC, contribuyen a la modulación de la respuesta nociceptiva.

De manera complementaria, se han hallado evidencias de que el uso crónico de ATC podría tener un papel trófico sobre los receptores opioides, aumentando el número de dichos receptores, y como consecuencia, aumentando también el efecto de los péptidos opioides endógenos que actúan sobre dichos receptores <sup>(10)</sup>.

Por último, destacar que la dosis y el tiempo de latencia necesario para observar un efecto clínico con este grupo de fármacos es menor que cuando se emplean para el tratamiento de la depresión <sup>(10)</sup>.

Dentro de este grupo terapéutico los más empleados son la amitriptilina, siendo actualmente uno de los tratamientos de primera línea <sup>(8)</sup>, y la clomipramina.

*Antagonistas del receptor ácido N-metil-D-aspartico:* existen evidencias de que el DN puede ser secundario a una lesión con posterior regeneración anómala <sup>(2)</sup>, lo que lleva a una activación mantenida en el tiempo de los haces nerviosos aferentes, que envían señales confusas a los ganglios raquídeos y a la médula espinal, afectando a las neuronas nociceptivas de la médula espinal <sup>(10)</sup>. Esta cadena de neurotransmisión provoca en último lugar una hiperactividad

neuronal mediada por glutamato y aspartato, a través de los receptores de NMDA. El uso de fármacos antagonistas de este receptor, como la ketamina, el dextrometorfano y la memantina, podrían atenuar la señal dolorosa, si bien actualmente no son una línea muy empleada.

La ketamina ha mostrado atenuar relativamente el dolor continuo, la alodinia y la hiperalgesia en pacientes con dolor de miembro fantasma, neuropatía postherpética y otros síndromes asociados al DN <sup>(10)</sup>. El tratamiento se establece con una dosis de carga intravenosa (iv) de 15mg, seguidos de perfusiones continuas de 70-260mg/24h por vía subcutánea (sc). Sin embargo, se suele abandonar por la alta incidencia de efectos secundarios, como sedación, efectos psicotomiméticos y simpaticomiméticos, especialmente cuando se emplean a dosis elevadas <sup>(10)</sup>.

El dextrometorfano (antitusígeno no opioide) y la memantina (utilizada en la enfermedad de Alzheimer) parecen tener mayor utilidad en el tratamiento del DN que la ketamina al carecer de estos efectos psicotomiméticos, pero de momento su utilidad solo ha podido ser demostrada en ensayos con modelos animales <sup>(10)</sup>.

*Opioides:* aunque históricamente se ha pensado que el DN no respondía a la analgesia con opioides, en la actualidad se están empezando a realizar tratamientos analgésicos con este grupo de fármacos en determinados pacientes <sup>(8)</sup>, y siempre que no haya respuesta al tratamiento de primera línea con ATC. Se emplean dosis mayores que las usadas en la terapéutica del dolor nociceptivo, siendo ineficaces en el tratamiento del DN central <sup>(10)</sup>. Presentan buenos resultados en las neuralgias postherpéticas, las derivadas del VIH y en el dolor del miembro fantasma <sup>(8)</sup>.

Son tratamientos con una eficacia similar a la amitriptilina, pero presentan más problemas derivados de su administración y de sus efectos secundarios <sup>(10)</sup>.

Se suele emplear morfina por vía intratecal a través de sistemas de perfusión implantados, pero esta alternativa solo se usa en pacientes seleccionados cuando el resto de líneas de tratamiento fracasan, dado que se necesitan dosis altas, los efectos secundarios (estreñimiento, bradipnea, sedación, entre otros.) son muy marcados y la forma de administración es compleja <sup>(8)(10)</sup>.



*Anticonvulsivantes:* los tratamientos con fármacos anticonvulsivos a dosis relativamente bajas han demostrado presentar eficacia en el manejo del dolor agudo y repentino, como en la neuralgia del trigémino y la neuralgia postherpética <sup>(10)</sup>. Se usan por su propiedad estabilizadora de membrana y por disminuir las descargas repetitivas nerviosas por un mecanismo doble. Por un lado, bloquean los canales de Na<sup>+</sup> dependientes de voltaje de manera uso-dependiente, con lo que solo se bloquean aquellas neuronas hiperestimuladas, mecanismo por el que ejercen su efecto el ácido valproico y el clonazepam. Por otro lado, algunos antiepilépticos tienen un efecto inhibitorio sobre el neurotransmisor ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), como es el caso de la fenitoína y la carbamazepina.

En la actualidad el fármaco más empleado dentro de este grupo es la pregabalina, considerado, junto con los ATC, el tratamiento de primera línea por diversos organismos <sup>(8)</sup>. La pregabalina es un fármaco anticonvulsivo de nueva generación que ejerce sus efectos analgésicos por su capacidad de unirse a la subunidad proteica  $\alpha$ -2- $\delta$  de los canales de Ca<sup>2+</sup> sensibles al voltaje en el SNC. En varios modelos animales de dolor, la pregabalina ha demostrado una eficacia antihiperalgésica y un perfil antialodínico iguales a la morfina y a la amitriptilina <sup>(10)(11)</sup>. Revisiones sistemáticas muestran eficacia en la neuralgia postherpética, la neuralgia diabética y el DN postraumático, pero son ineficaces en el DN asociado al VIH <sup>(10)</sup>.

*Corticoides:* su mecanismo de acción parece estar relacionado con su efecto inhibitorio directo sobre las fibras lesionadas o reparadas. Su uso en la práctica clínica no es común, y se suelen escoger los de mayor potencia antiinflamatoria y menor acción mineralocorticoide, como la dexametasona, metilprednisolona o triamcinolona <sup>(10)</sup>. Esta última destaca porque la disponibilidad de formas depot que pueden ser administradas por vía intramuscular una vez por semana.

*Moduladores  $\alpha$ <sub>2</sub>-adrenérgicos:* la clonidina es un agonista parcial que ha demostrado cierta utilidad como analgésico en este tipo de patologías al bloquear a nivel central y periférico la liberación de NA además de otros mecanismos secundarios. Al igual que el resto de grupos, la clonidina es usada cuando la terapia con fármacos ATC no presenta eficacia.

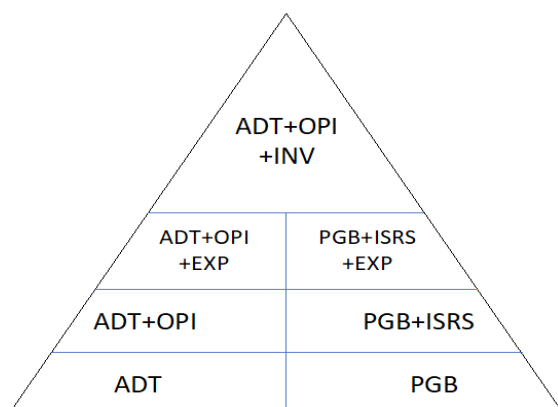
En cuanto al **tratamiento farmacológico del DN de origen central** el arsenal terapéutico presenta menos eficacia <sup>(8)(10)</sup>. En primer lugar, se emplean los grupos usados para el DN periférico. Si todos los tratamientos fallan, se pueden usar dos fármacos adicionales: el baclofeno y la naloxona.

El *baclofeno* es un agonista específico de los receptores GABAérgicos. Bloquea la liberación de dopamina (DA) y NA a nivel presináptico en la médula espinal y con ello la transmisión del dolor. Presenta mayor utilidad terapéutica en el tratamiento de la esclerosis múltiple (EM), algunas neuralgias y dolores postherpéticos oculares <sup>(10)</sup>.

La *naloxona* se ha empleado a dosis altas por vía iv con resultados relativamente buenos, pero con problemas de tolerancia <sup>(10)</sup>.

Existen otras alternativas a los tratamientos descritos anteriormente, como por ejemplo el uso de *pomadas de capsaicina* <sup>(8)(10)</sup> (un alcaloide presente en algunas variedades de pimienta que) en la zona del dolor, *calcitonina* iv o sc en casos de dolor por miembro fantasma resistentes a tratamiento convencional <sup>(10)</sup>, *fenoxibenzamina* (antagonista  $\alpha_1$ -adrenérgico) en episodios agudos, *antagonistas de la sustancia P* (en fase de investigación) y algunas clases de *antimicóticos* (griseofulvina y naftidrofuril por sus propiedades vasodilatadoras y antiinflamatorias)<sup>(10)</sup>.

A continuación, se detalla la escala de elección de tratamiento del DN en la actualidad <sup>(8)(10)</sup> ([ver figura 2](#)):



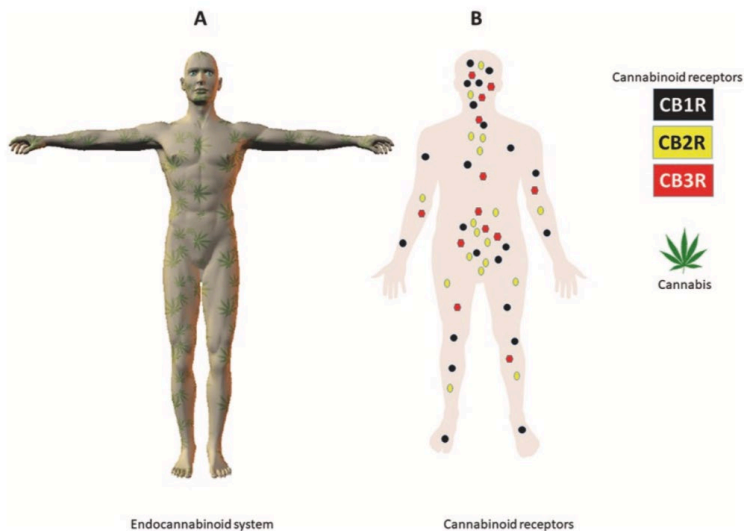
**Figura 2: Principal escala aceptada de elección del tratamiento del DN en la actualidad.**  
ADT: antidepresivo tricíclico; PGB: pregabalina; ISRS: inhibidor selectivo de recaptación de serotonina; OPI: opioides; EXP: medicación atípica o experimental; INV: técnicas invasivas.

#### 1.4 Sistema cannabinoide endógeno

Aunque la planta de la marihuana (*Cannabis sativa L.*) se ha utilizado desde hace siglos tanto de forma recreativa como terapéutica, la identificación de sus componentes biológicamente activos, así como sus estructuras químicas y dianas fisiológicas en el cuerpo humano no se estableció hasta la década de 1960, cuando se identificó la estructura del  $\Delta^9$ -tetrahidrocannabinol (THC), principal componente psicoactivo de la marihuana <sup>(12)</sup>. Posteriormente se identificaron otros componentes secundarios, como el cannabidiol (CBD) y el cannabinol, hasta los más de 100 fitocannabinoides descubiertos en la actualidad <sup>(13)</sup>.

En el siglo XXI, se caracterizó el sistema cannabinoide endógeno (SCE) <sup>(14)(15)</sup> (ver figura 3), formado por dos receptores cannabinoide: el receptor cannabinoide subtipo 1 (rCB<sub>1</sub>) y el receptor cannabinoide subtipo 2 (rCB<sub>2</sub>), cannabinoide endógenos que interactúan con estos receptores, entre los que destaca la araquidonoiletanolamida (anandamida, AEA), más afín por rCB<sub>1</sub>, y el 2-araquidonilglicerol (2-AG), con mayor afinidad por rCB<sub>2</sub> <sup>(15)(16)(17)</sup>. Se han identificado otros receptores asociados a las acciones de los cannabinoide endógenos, pero que no forman parte del SCE, como el receptor GPR55, y el receptor vanilloide subtipo 1 (TRPV-1), activado por AEA e implicado en la modulación de la nocicepción <sup>(18)</sup>.

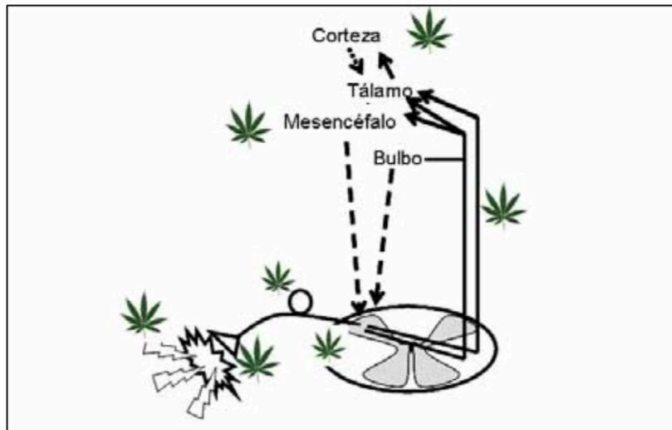
El rCB<sub>1</sub> y rCB<sub>2</sub> pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G e intervienen en numerosas rutas de señalización intracelular, entre las que destacan la vía de la adenilciclase (AC)-adenosina 3', 5'-monofosfato cíclico (AMPc)-proteína quinasa-A (vía AC-cAMP-PKA), la síntesis del esfingolípido ceramida y la vía de la quinasa akt <sup>(12)</sup>.



**Figura 3: Distribución del sistema cannabinoide endógeno (SCE) (A) y de los receptores  $CB_1$  (CB1R),  $CB_2$  (CB2R) y el receptor vanilloide subtipo 1 (TRPV-1) (B) en el cuerpo humano** <sup>(17)</sup>.

La acción de los endocannabinoides finaliza con su recaptación, a través de sistemas específicos de transporte, hacia el interior del axón y su posterior degradación por enzimas lipasas específicas <sup>(16)(12)</sup>. La degradación de la AEA se realiza por la acción de la Ácido Graso Amida Hidrolasa (FAAH, de sus siglas en inglés *Fatty Acid Amide Hydrolase*) <sup>(16)(17)(19)</sup>. La FAAH es una enzima intracelular, por lo que previamente la AEA tiene que ser reintroducida en el citosol, proceso que es llevado a cabo por un transportador específico de AEA (ANT, de las siglas en inglés *Anandamide Transporter*) <sup>(16)</sup>. El 2-AG es degradado por la Monoacil Glicerol Lipasa (MAGL) <sup>(12)(17)</sup>.

Gracias al descubrimiento del SCE y los avances sobre la comprensión de su implicación en la modulación en la respuesta del dolor en el sistema nervioso central (SNC) <sup>(16)</sup> (*ver figura 4*) su potencial uso terapéutico está en alza.



**Figura 4: Vías de transmisión de la señal dolorosa y localización de receptores cannabinoides.**

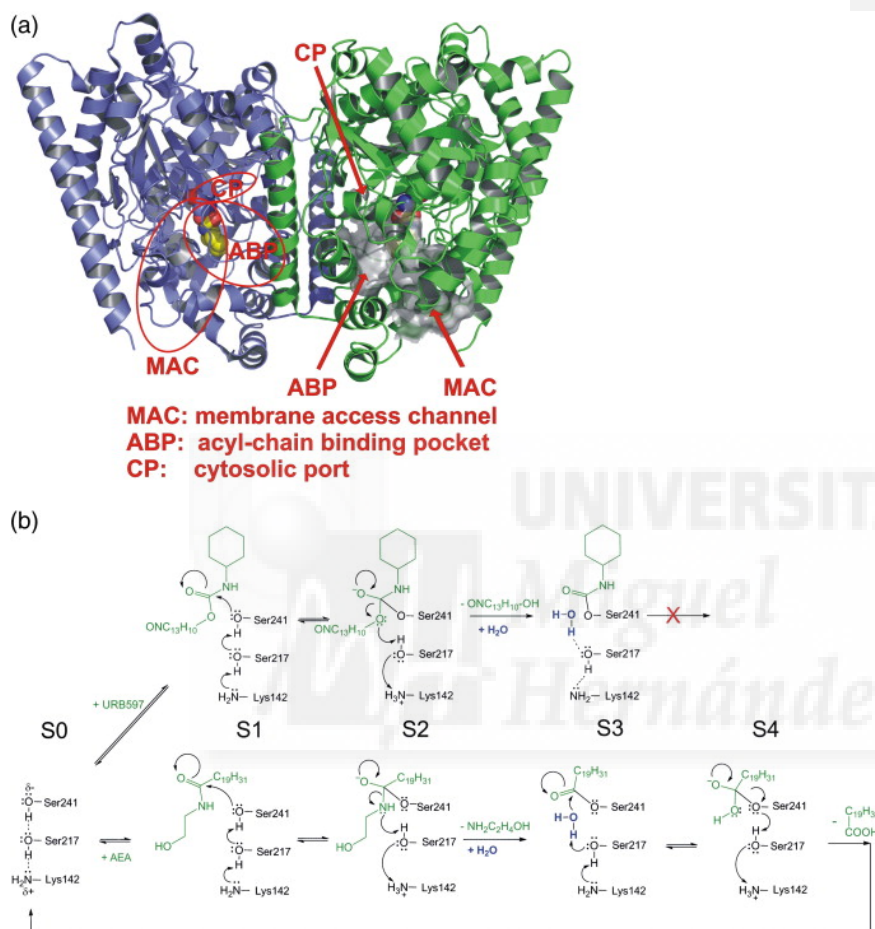
Los receptores se localizan en tejidos periféricos no neurales, terminaciones nerviosas periféricas, ganglios dorsales, asta posterior, diferentes puntos de las vías ascendentes y en centros encefálicos que controlan no sólo la transmisión del estímulo sino también la actividad de las vías descendentes inhibitorias (trazo discontinuo) <sup>(16)</sup>.

La manipulación farmacológica de los niveles de cannabinoides a través de la modulación de componentes concretos del SCE, como la inhibición de sus enzimas de metabolización, FAAH y/o MAGL <sup>(20)</sup>, o la activación directa de los receptores rCB<sub>1</sub> y rCB<sub>2</sub>, a través del empleo de agonistas de los mismos <sup>(16)</sup>, se está investigando como posibles alternativas terapéuticas en diferentes patologías dolorosas, incluido el DN <sup>(14)(15)(20)</sup>.

La FAAH fue clonada por primera vez en 1996 y ya entonces se observó su similitud con otras amidasas bacterianas previamente conocidas <sup>(16)</sup>. Este hecho, junto con la importancia fisiológica de sus sustratos (AEA y otras oleamidas) impulsó el desarrollo de estudios para profundizar en el conocimiento de dicha enzima. De esta manera, en las últimas dos décadas se ha estudiado su mecanismo catalítico, organización genómica y localización cromosómica, y se han desarrollado inhibidores potentes y específicos <sup>(15)(16)(17)(21)</sup>.

Estructuralmente, la FAAH se caracteriza por varios aspectos (*ver figura 5*). En primer lugar, la enzima presenta una secuencia de aa altamente conservada, de aproximadamente 130 residuos denominada «secuencia de las amidasas» (*amidase signature sequence*) con especial abundancia de serina y glicocola <sup>(16)</sup>. Por otro lado, se han descrito dos dominios más de interés: el primero se encuentra próximo al extremo N terminal de la enzima y su función es el anclaje

a membrana <sup>(16)</sup>. El segundo dominio relevante es una zona abundante en residuos de prolina entre los aa 307-315, con propiedades para ser una zona de reconocimiento e interacción con otras proteínas <sup>(16)</sup>.



**Figura 5: (a) Vista de la estructura cristalizada de un dímero de FAAH unido al inhibidor URB597 (en amarillo). (b) mecanismo de hidrólisis de la FAAH (línea de abajo) y mecanismo de inhibición de la FAAH por URB597 (línea de arriba) <sup>(22)</sup>.**

En cuanto a la distribución tisular de la FAAH, se ha estudiado exhaustivamente en las distintas especies donde ha sido identificada, variando su distribución de una especie a otra <sup>(16)</sup>. En el ser humano, la FAAH se expresa principalmente en cerebro, páncreas, riñón y músculo esquelético. Abunda menos en hígado y tejido placentario y se encuentra ausente en pulmón y corazón. También se ha podido detectar en algunas líneas celulares del sistema inmune, pero de manera más diseminada <sup>(16)(23)</sup>.

Respecto a su actividad enzimática los estudios confirman que los lugares de mayor concentración de FAAH son también las localizaciones tisulares donde más hidrólisis se detecta <sup>(16)(23)</sup>. Destaca también que la localización de la FAAH es relativamente paralela a la localización del rCB<sub>1</sub> (y en menor medida del rCB<sub>2</sub>).

Recientemente, se ha esclarecido el mecanismo catalítico de la FAAH <sup>(19)</sup>. Dentro de la secuencia de amidasas nombradas anteriormente se ha identificado la serina-241 como el centro nucleofílico, y la lisina-142 como el catalizador ácido-base, siendo estos dos aminoácidos los responsables del proceso de hidrólisis <sup>(16)</sup>. Existen también otros residuos colaboradores en el proceso, todos ubicados en la secuencia de amidasas <sup>(16)</sup>.

La importancia de la FAAH en la regulación del SCE ha sido uno de los motivos por los que se han sintetizado una gran batería de inhibidores, reversibles e irreversibles, con diferencias en su potencia <sup>(24)(25)</sup>. Estos compuestos destacan por su elevada especificidad por la FAAH, aspecto fundamental para impulsar el desarrollo de nuevos fármacos, ya que en el marco teórico este hecho les otorga un mayor perfil de seguridad al minimizar mecanismos no deseados que se pudieran dar fruto de su inespecificidad.

A pesar del enorme potencial terapéutico que la modulación del SCE representa para el tratamiento de numerosas patologías, sus principales desventajas son los efectos psicotrópicos derivados de una activación de los rCB<sub>1</sub>, por lo que el uso de compuestos que actúen directamente agonizando estos receptores no ha sido nunca una vía de desarrollo de fármacos muy útil <sup>(26)</sup>. Es en este aspecto donde los inhibidores de la FAAH presentan interés terapéutico. Esta diferencia respecto al uso de moduladores directos de receptores cannabinoides es fundamental, ya que al inhibir la FAAH sólo se van a potenciar las vías en las que la AEA participa de una manera activa <sup>(26)</sup>. De esta manera, la FAAH puede constituir una importante diana terapéutica para el

tratamiento del dolor, sobre todo en aquellas patologías relacionadas con este que son difícilmente manejables con los analgésicos clásicos, como es el caso del DN <sup>(26)(27)(28)</sup>.

### **1.5 El papel del SCE en la modulación del dolor neuropático**

Aunque el DN no tenga un componente somático *per se*, las vías periféricas del dolor juegan un papel clave en la transmisión de la respuesta dolorosa. De este modo, las búsquedas de dianas farmacológicas para el tratamiento del DN se centran en la médula espinal, ya que es la zona donde el estímulo doloroso se puede ver alterado o combinado con otros estímulos. De esta manera, el control de estos estímulos es un punto de apoyo muy importante para el tratamiento del DN <sup>(29)</sup>.

La elección de las dianas adecuadas que sean de utilidad en esta patología se basa en numerosos factores. La combinación de estudios genéticos, modelos animales *knockout* y el conocimiento farmacológico ha llevado a considerar que los canales de sodio <sup>(30)</sup>, potasio <sup>(31)</sup> y calcio <sup>(32)</sup>, neurotrofinas <sup>(33)</sup>, citoquinas <sup>(34)</sup>, los receptores de glutamato <sup>(35)</sup>, NMDA <sup>(36)</sup> y el rCB<sub>1</sub> <sup>(25)(29)(37)(38)</sup>, entre otros, podrían ser dianas farmacológicas para el tratamiento del DN.

Existen áreas cerebrales en las que se ha investigado el papel del SCE en la modulación de la respuesta nociceptiva, como la sustancia gris periacueductal (SGP) y el córtex insular (CI). La SGP es una zona del encéfalo localizada alrededor del acueducto cerebral del mesencéfalo y está formada por neuronas implicadas en el flujo simpático y la entrada sensorial aferente. De este modo, se puede considerar que la SGP es un punto de control del estímulo doloroso <sup>(39)</sup>. Las entradas nociceptivas transmitidas desde la lámina superficial de la médula espinal a zonas específicas de la SGP activan vías moduladoras descendentes que pueden inhibir o facilitar la entrada aferente nociva <sup>(40)</sup>. Existen numerosas evidencias de que el SCE está presente en esas áreas de la SGP, modulando los estímulos nociceptivos que llegan de la médula espinal <sup>(41)</sup>. Adicionalmente, se ha observado un aumento de los niveles de FAAH en determinadas zonas de la SGP en modelos animales de DN, lo que conlleva a una disminución de AEA y a un aumento de las respuestas adaptativas al dolor <sup>(39)</sup>.



El CI es una región perteneciente al sistema límbico involucrada en el procesamiento del dolor, entre otras funciones <sup>(42)</sup>. Como ocurre con la SGP, el CI es una zona con abundante presencia del SCE. En modelos animales, la inhibición de la FAAH en el CI se ha relacionado con efectos antinociceptivos <sup>(43)</sup>.

Adicionalmente, se ha podido establecer la relación entre el SCE y la modulación del dolor gracias al amplio abanico de modelos animales de DN <sup>(44)(45)</sup>. Los resultados obtenidos con estos modelos indican que la FAAH juega un papel importante en la regulación de los procesos en los que la AEA participa activamente, como la percepción y modulación del dolor <sup>(28)(45)</sup>. Los estudios experimentales han demostrado que el efecto antinociceptivo está mediado por la activación de rCB<sub>1</sub> y rCB<sub>2</sub> en el SNC, y se han descritos mecanismos tanto centrales como periféricos <sup>(45)</sup>. También es interesante señalar que existen otros receptores de importancia en los efectos de los endocannabinoides, como los receptores no rCB<sub>1</sub>/rCB<sub>2</sub> o los receptores TRPV-1 <sup>(29)(46)</sup>.

Los cannabinoides ejercen efectos antinociceptivos a través de complejos mecanismos que afectan el SNC, la médula espinal y los nervios sensoriales periféricos. Este hecho es coherente con la ubicación anatómica de los rCB<sub>1</sub> en áreas cerebrales relevantes para el dolor <sup>(47)</sup> (ver [figura 4](#)). Ya se sabe que activar rCB<sub>1</sub> de manera generalizada empleando agonistas conduce a analgesia, pero con una gran cantidad de efectos secundarios psicotrópicos. La clave consiste en modular los receptores a través de sus ligandos endógenos, la AEA y 2-AG, empleando inhibidores de la FAAH y de la MAGL.

La inhibición de la actividad de la FAAH magnifica un mecanismo analgésico endógeno, mediado por la AEA, que regula la transmisión de señales de dolor emergentes a la médula espinal y al cerebro a través de una sobreactivación de rCB<sub>1</sub>, especialmente en la médula espinal <sup>(25)(29)</sup>. Es decir, la AEA, actúa como una señal paracrina difusa en la modulación de la intensidad de la percepción del dolor (ver [figura 6](#)). Dicho mecanismo está argumentado por:

1) las señales generadas por la inflamación y la lesión neuronal pueden desencadenar la producción local y la liberación de AEA. Por ejemplo, la despolarización de la membrana y la activación de los canales TRPV-1 estimulan la formación de AEA en cultivos de neuronas sensoriales <sup>(25)(29)(42)</sup>. Estas señales, y probablemente otras que quedan por identificar, pueden contribuir a las elevaciones de AEA periférica.

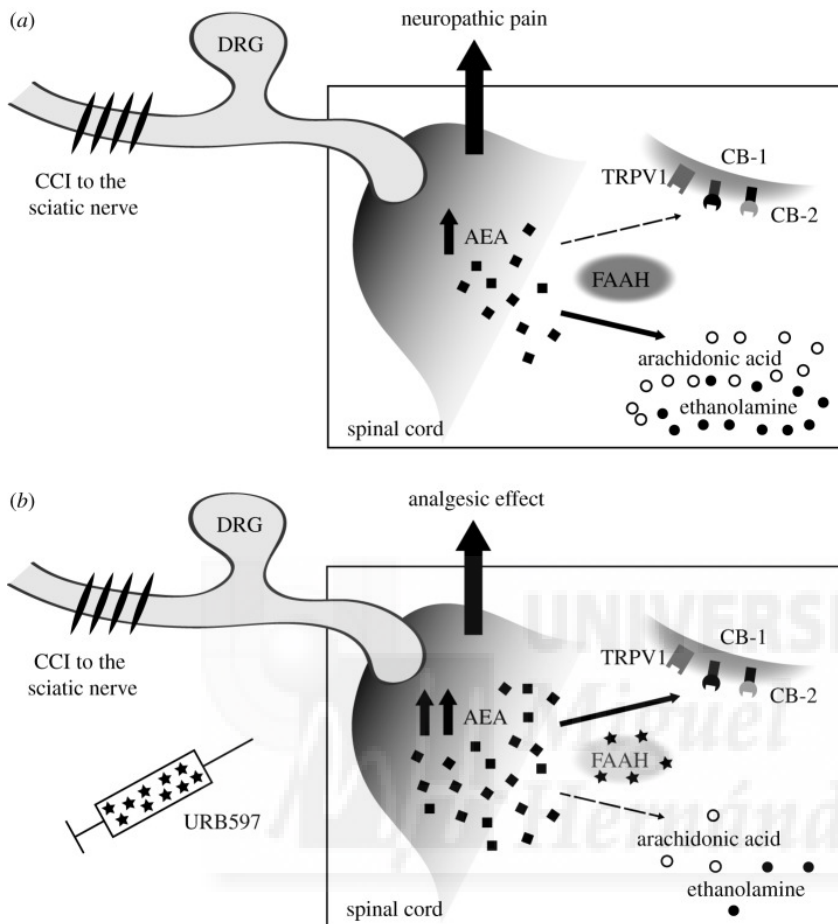
2) Los rCB<sub>1</sub> se distribuyen ampliamente por los tejidos. Principalmente se expresan en células sensoriales primarias, y de ahí se exportan a terminaciones neuronales periféricas, donde se acaban acumulando en mayor medida en las zonas relacionadas con el control del impulso nervioso.

3) Como tercera razón está el hecho de que al producir una lesión nerviosa en los modelos animales **aumenta la expresión** de TRPV-1, rCB<sub>1</sub> y FAAH en los centros moduladores del dolor, además de en la propia lesión nerviosa <sup>(29)(42)</sup>.

Comentado [GGMS2]: Donde?

4) En último lugar, cabe destacar que el bloqueo de rCB<sub>1</sub> con SR-141716A (rimonabant), un antagonista de este receptor, anula los efectos antialodínicos de la AEA en la casi totalidad de modelos animales de DN <sup>(25)(26)(42)</sup>. Por otro lado, también se ha observado mayor severidad de los signos y síntomas alodínicos e hiperalgésicos en modelos animales de DN con deficiencias en los niveles de AEA <sup>(48)</sup>.





**Figura 6: Esquema de la manipulación de los niveles de anandamida espinal(29).**

(a) Los efectos de la anandamida están mediados por la activación de rCB<sub>1</sub> y rCB<sub>2</sub>, y el TRPV-1. La anandamida es internalizada por su transportador (ANT) e hidrolizada por la ácido graso amida hidrolasa (FAAH), produciendo ácido araquidónico y etanolamina; (b) La inyección de URB597, un inhibidor de la FAAH, produce niveles elevados de anandamida.

CCI: modelo de constricción crónica del nervio espinal (del inglés *Chronic Constriction Injury*), un modelo animal de dolor neuropático; DRG: ganglio espinal

Comentado [GGMS3]: Defina la abreviatura

## **2. OBJETIVOS**

En el presente trabajo se ha realizado una revisión bibliográfica sobre el papel de los inhibidores de la FAAH en el manejo del DN. Para ello se han tenido en cuenta tanto las bases de los mecanismos teóricos implicados, así como los modelos animales de investigación y compuestos químicos en investigación y en fase de ensayo clínico presentes en la actualidad.



### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Diseño**

Para la realización de este trabajo se hizo una revisión sistemática empleando la base de datos Pubmed (ver figura 7).

#### **3.2 Estrategia de búsqueda**

Se realizó la búsqueda en Pubmed usando los siguientes encabezados de temas médicos (*Medical Subject Heading*, MeSH): ("Neuralgia"[Mesh]) y "fatty-acid amide hydrolase" [Supplementary Concept]. ("Neuralgia" [Mesh]) aparece automáticamente tras buscar "Neurophatic Pain" en MeSH. Tras escoger los MeSHs se efectuó la búsqueda en el motor Pubmed: «("Neuralgia"[Mesh]) AND "fatty-acid amide hydrolase" [Supplementary Concept]», obteniéndose 22 resultados. Adicionalmente, se realizó la búsqueda de otros componentes del SCE que pudieran estar implicados en la modulación del dolor y que tuvieran relevancia en el manejo del DN. Tras una búsqueda rápida sobre la actualidad de la implicación del SCE en el DN al margen de los inhibidores de la FAAH, se encontró que los moduladores alostéricos de los rCB<sub>1/2</sub> eran también una fuente de estudio relevante. De esta manera, se buscaron también los MeSH de "Receptor, Cannabinoid, CB1"[Mesh], "Allosteric Regulation"[Mesh], realizándose una segunda búsqueda en el motor Pubmed: «(Allosteric Regulation"[Mesh]) AND "Receptor, Cannabinoid, CB1"[Mesh] AND "neuralgia" [MeSH]», encontrándose 2 resultados sin filtros adicionales. Por último, se hizo una búsqueda exhaustiva de ensayos clínicos aleatorizados en humanos (EC) con inhibidores de la FAAH, encontrándose 4 resultados.

#### **3.3 Criterios de inclusión y exclusión**

Tras realizar la búsqueda, se realizó un filtrado de los estudios publicados en los 10 últimos años, quedando en 19 los resultados finales de la búsqueda inicial, de los cuales, 4 resultados eran de estudios realizados en humanos y 1 resultado era EC, a parte de los 4 EC adicionales encontrados en la búsqueda exhaustiva sin criterios de inclusión y exclusión.

### 3.4 Extracción de los datos

Se extrajeron datos de las 3 búsquedas realizadas en Pubmed, 19 de la primera búsqueda y 2 de la segunda, más los 4 EC. En total se analizaron un total de 24 artículos, ya que uno de ellos era común a las dos búsquedas, para la realización de este trabajo.

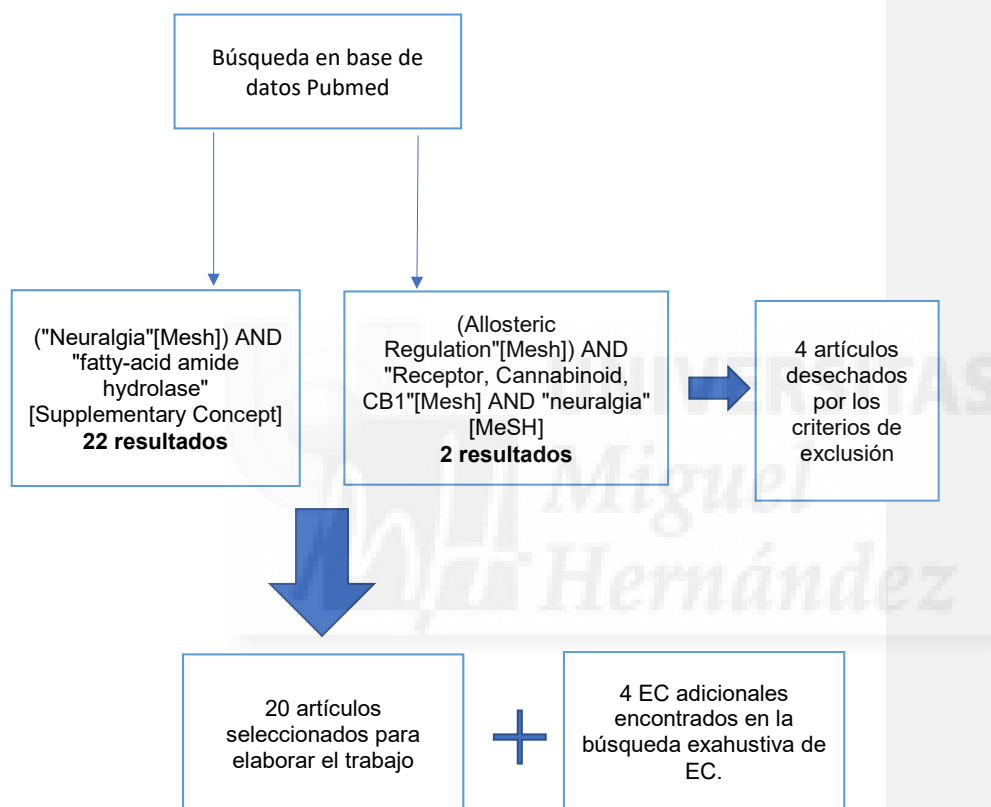


Figura 7: Algoritmo de búsqueda empleado para realizar el trabajo

#### 4. RESULTADOS

Los resultados se estructuran en desarrollo químico de los inhibidores de la FAAH, resultados obtenidos en modelos animales de DN con inhibidores de la FAAH y ensayos clínicos aleatorizados en humanos con inhibidores de la FAAH para el tratamiento del DN.

##### 4.1 Desarrollo químico de fármacos inhibidores de la FAAH

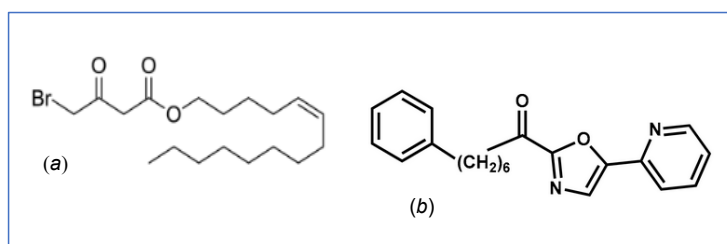
La importancia de la FAAH en el control de la actividad del SCE, más allá de su orientación en la modulación del DN, ha hecho que numerosos grupos de investigación centren sus esfuerzos en desarrollar una amplia batería de inhibidores con características muy diferentes entre sí. En líneas generales, estos inhibidores se pueden clasificar en dos grandes grupos: los inhibidores de la FAAH reversibles y los irreversibles, aunque también hay otros inhibidores, como los competitivos <sup>(49)</sup> y los duales FAAH/MAGL <sup>(50)</sup>.

Inhibidores reversibles de la FAAH: son aquellos inhibidores que se han desarrollado basándose en la estrategia de mimetizar el complejo enzima-sustrato que presenta la FAAH con los cannabinoides endógenos (AEA, principalmente) <sup>(16)</sup>. Desde el punto de vista de su estructura química podemos diferenciar 2 clases de inhibidores reversibles: los carbonilos activados y los  $\alpha$ -cetoheterociclos (ver [figura 8](#)). También existen otros compuestos de química variable clasificados en un grupo más heterogéneo formado por tiohidantoínas e imidazolidinedionas, oxima y enol carbamatos, benzotiazoles y benzoxazoles, ácidos arilborónicos, sulfonamidas seleccionadas y ureas y lactamas cíclicas.

*Carbonilos activados*: fueron los primeros compuestos sintetizados. Tras el descubrimiento de la estructura proteica de la FAAH se descubrió que una molécula endógena, el 2-octil- $\alpha$ -bromoacetoacetato, era un potente inhibidor de la misma <sup>(51)</sup>. A partir de este compuesto se desarrollaron inhibidores de la FAAH basándose en el carbonilo activado que poseía esta molécula endógena. Años más tarde se culminó el desarrollo de estos compuestos con los  $\alpha$ -cetoésteres y las trifluorometilcetonas, aunque actualmente estos compuestos han sido desplazados por los  $\alpha$ -cetoheterociclos por su falta de especificidad <sup>(52)</sup>.

*$\alpha$ -Cetoheterociclos*: estos compuestos son los más prometedores dentro del grupo de los inhibidores reversibles. Se anclan a una serina del centro activo de la FAAH a través de una unión de tipo hemiacetal, estos inhibidores muestran

una afinidad y selectividad muy alta para la FAAH (afinidad del orden micromolar para FAAH), y se han demostrado sus propiedades analgésicas en modelos animales de DN <sup>(53)</sup>.



**Figura 8: Estructura química de dos inhibidores reversibles de la FAAH.**

(a): primer inhibidor de la FAAH sintetizado, un análogo del el 2-octil- $\alpha$ -bromoacetoacetato; (b): OL-135: inhibidor de última generación de tipo  $\alpha$ -cetoheterociclo. Obsérvese como ha evolucionado el diseño racional de fármacos desde análogos de compuestos endógenos con gran similitud con AEA (a) hasta los compuestos actuales (b).

Inhibidores irreversibles de la FAAH: estos inhibidores se unen covalentemente a un residuo crucial del sitio catalítico de la FAAH (normalmente la serina-241) impidiendo su acción de forma definitiva. Son más potentes que los reversibles, y suelen ser también más selectivos <sup>(16)</sup>. Además de ventajas también tienen inconvenientes, la mayoría inherentes al hecho de que estas uniones covalentes pueden darse con otras proteínas del organismo. Estos inhibidores se han desarrollado mucho más que los irreversibles, principalmente por dos razones: la facilidad de observar una actividad farmacológica *in vivo*, y la facilidad de monitorizar las interacciones de los inhibidores irreversibles con el resto del proteoma de organismo <sup>(52)</sup>. Estos inhibidores se clasifican en varios grupos: de tipo carbamato, los de tipo arilurea y los fluoruros de sulfonilo (ver figura 9).

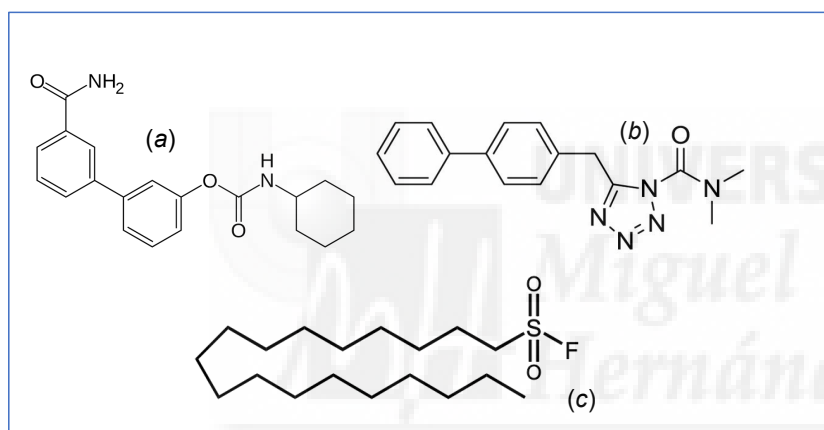
Carbamatos: son la clase mejor estudiada de inhibidores de FAAH. Se descubrieron mediante la modificación de un carbamato inhibidor de la acetilcolina <sup>(54)</sup>, aunque este carbamato no es un inhibidor de la FAAH, modificaciones simples condujeron al carbamato de O-arilo (URB524) y más tarde a URB597, compuestos muy potentes, con una afinidad del orden de nanomolar (nM) (y afinidades del orden micromolar por rCB<sub>1</sub>). Estos estudios demostraron la necesidad de un carbonilo activado para lograr la inhibición de la FAAH. URB597 representa el paradigma actual de los inhibidores de la FAAH,



tiene buenos resultados en modelos animales de DN, y prácticamente carece de efectos secundarios <sup>(52)</sup>.

**Arilureas:** presentan el mismo mecanismo de acción molecular que los de tipo carbamato, y durante algunos años las grandes compañías farmacéuticas se lanzaron en una carrera por desarrollar este tipo de fármacos, pero se descubrió que no tenían la especificidad prevista, ya que interaccionaban con otras hidrolasas con serina en el centro activo <sup>(52)</sup>.

**Fluoruros de sulfonilo:** los fluoruros de palmitil- y estearilsulfonilo (AM374 y AM381 respectivamente), con unas constantes de Inhibición de entre 4-7 nM, son de los inhibidores más potentes desarrollados <sup>(16)</sup>.



**Figura 9: Ejemplos de tres inhibidores irreversibles representativos de la FAAH.**  
(a): URB597, inhibidor de tipo carbamato con una afinidad de 4,6 nM; (b): LY-2183240, inhibidor de tipo arilurea con una afinidad de 12,4 nM; (c): AM381, con una afinidad de 4,0 nM

#### 4.2 Resultados obtenidos en modelos animales de DN con inhibidores de la FAAH

Existe una amplia cantidad de información en la literatura científica sobre ensayos en modelos animales de DN con inhibidores de la FAAH. Tradicionalmente se ha estudiado la efectividad y seguridad de inhibidores que eran exclusivos de la FAAH. Para ello, los investigadores solían desarrollar y emplear inhibidores con una gran selectividad y potencia, pero ante el bajo perfil de efectividad obtenido, en la actualidad la orientación está más dirigida a la investigación de inhibidores duales FAAH/MAGL y sinergias farmacológicas

entre los inhibidores de la FAAH y otros fármacos ya comercializados en el mercado. De esta manera se puede clasificar la información obtenida sobre resultados en modelos animales en dos categorías: los modelos farmacológicos monoterápicos y los modelos farmacológicos duales.

#### **4.2.1 Modelos farmacológicos monoterápicos**

Actualmente estos modelos no son muy empleados por dos razones fundamentales. Primero, porque se podría decir que el desarrollo de inhibidores exclusivos de la FAAH ha culminado con compuestos como el URB597, con constantes de afinidad del orden nanomolar para la FAAH acompañados de constantes de afinidad para otros componentes del SCE inferiores al orden micromolar. Consecuentemente, ya se dispone de compuestos químicos muy potentes y selectivos <sup>(21)(52)(55)</sup>. En segundo lugar, los inhibidores altamente selectivos y potentes de la FAAH, a pesar de aumentar en gran medida los niveles de AEA en las zonas del SNC responsables de la modulación de la respuesta farmacológica, siguen sin lograr una eficacia en los modelos lo suficientemente significativa como para continuar con su desarrollo, especialmente en los estudios que emplean controles activos, como la pregabalina, en la que este fármaco muestra efectos antialodónicos superiores a los inhibidores de la FAAH <sup>(56)</sup>. Esta falta de efectividad se vuelve aún más significativa en algunos modelos de DN concretos, como aquellos en los que el DN es inducido por una lesión nerviosa de la médula espinal, donde apenas se observan efectos antihiperálgésicos <sup>(43)</sup>. Por estos motivos la investigación en modelos animales se ha centrado más en el desarrollo de modelos duales, donde los inhibidores de la FAAH juegan un papel complementario o sinérgico junto a otros fármacos ya comercializados o compuestos químicos en fase de investigación preclínica.

#### **4.2.2 Modelos farmacológicos duales**

Los modelos duales sí que muestran mayor potencial de desarrollo, especialmente porque se consigue sortear el problema de la eficacia que plantean los inhibidores monoterápicos.

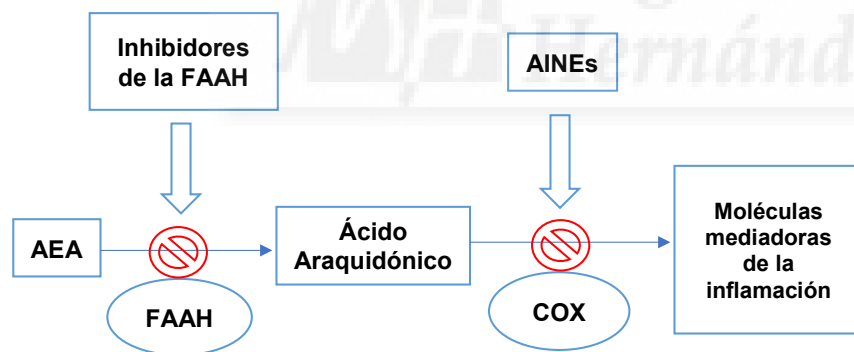
Inhibidores duales de FAAH/MAGL: como se ha comentado a lo largo de este trabajo, existe una relación positiva entre un aumento de la activación del SCE y el tratamiento del DN. Existen otros componentes del SCE susceptibles de ser modulados, como la MAGL, enzima degradadora de 2-AG, o la modulación de los rCB<sub>2</sub> <sup>(56)</sup>. En base a ello, se ha investigado la eficacia de inhibir de manera conjunta la FAAH y la MAGL. Experimentalmente se ha establecido que los inhibidores duales tienen una potencia similar a los agonistas del rCB<sub>1</sub>, con un perfil de seguridad a priori positivo <sup>(50)</sup>. Este hecho se argumenta en que al inhibir la FAAH se produce un aumento de AEA, que sobreactiva el rCB<sub>1</sub>. Además, al inhibir también MAGL, se produce un incremento de 2-AG, que activa principalmente al rCB<sub>2</sub>, y con menor afinidad al rCB<sub>1</sub> <sup>(16)(17)</sup>. En definitiva, el efecto sinérgico de inhibir la FAAH y la MAGL es doble: por un lado se sobreestimula aún más el rCB<sub>1</sub>, y por otro, se activa el rCB<sub>2</sub>, hecho que también repercute con propiedades antialodínicas <sup>(56)(57)</sup>.

Otro punto importante de estos inhibidores duales es que al actuar sobre los rCB<sub>2</sub> (vía 2-AG), además de sobre rCB<sub>1</sub> (vía AEA), se minimizan los efectos de dependencia y tolerancia, mediados por la sobreactivación y la consiguiente sobreexpresión de rCB<sub>1</sub> que causan los inhibidores exclusivos de la FAAH, pudiendo permitir administraciones repetidas a dosis bajas sin que se observe una disminución significativa del efecto antialodínico y antihiperalgésico <sup>(58)</sup>. Dentro de este grupo destaca el compuesto JZL195, que en estudios preclínicos ha mostrado una eficacia bastante superior que la mostrada por inhibidores exclusivos MAGL o FAAH, lo cual puede abrir una nueva ventana terapéutica.

Sinergia entre inhibidores de la FAAH e inhibidores de la COX: Probablemente la AEA tenga una ruta alternativa de degradación a través de algunas familias de enzimas lipooxigenasas (LOX) y ciclooxigenasas (COX). Esta teoría es bastante probable dado que AEA es degradada a ácido araquidónico por la FAAH, y este compuesto (y la propia AEA en menor medida) es sustrato de la COX (ver [figura 10](#)). Por otra parte, un subtipo de LOX, 15-LOX<sub>1</sub>, interviene también en el metabolismo de la AEA <sup>(38)</sup>. Además, se sabe que cuando se administra un inhibidor de la FAAH en un modelo animal de DN, este aumenta la transcripción de genes para LOX, especialmente en las áreas de la espina dorsal involucradas en la transmisión del impulso doloroso, donde también se encuentra la mayor concentración de rCB<sub>1</sub> y TRPV-1 <sup>(38)</sup>. Dadas estas

similitudes se han realizado estudios farmacológicos en modelos animales, con inhibidores de la FAAH e inhibidores de la COX (concretamente antiinflamatorios no esteroideos, AINEs), con buenos resultados <sup>(59)</sup>. Estos estudios muestran que hay una sinergia entre ambos compuestos debida, al menos en parte, a dos mecanismos. Por un lado, al inhibir la COX se merma en alguna medida la vía alternativa de degradación de AEA vía oxigenasa. Este efecto es paradójico, ya que al inhibirse la vía degradativa de COX con AINEs se potencian otras vías secundarias como la vía 15-LOX-1, de la que la AEA es un sustrato <sup>(45)(60)</sup>. Por otro lado, la AEA es sustrato de la COX, por lo que se inhibe doblemente la vía sintética del ácido araquidónico y de sus productos pro-inflamatorios (ver **figura 10**).

La sinergia es de mayor utilidad al tratar patologías de dolor inflamatorio que en el caso de tratar DN, ya que, además de inhibir la síntesis de mediadores inflamatorios sinérgicamente, permite emplear dosis inferiores de AINE, lo cual es útil desde un punto de vista de las complicaciones que generan los tratamientos crónicos con estos fármacos, como pueden ser alteraciones a nivel cardiaco y hemorragias digestivas, entre otros <sup>(61)</sup>.



**Figura 10: Esquema de la sinergia entre inhibidores de la FAAH/AINE en la formación de mediadores inflamatorios.**

Sinergia entre inhibidores de la FAAH y agonistas del receptor  $\mu$ -opioide: el uso de agonistas de los receptores opioides (ARO) para el tratamiento del DN es una práctica relativamente habitual en la actualidad. Al tratarse los ARO de fármacos esencialmente analgésicos, la comunidad científica ha estudiado la

sinergia de estos tratamientos con la administración concomitante de inhibidores de la FAAH, obteniendo resultados en términos de analgesia superiores a los esperados teóricamente por la suma de los efectos de ambos compuestos por separado, desplazando hacia la izquierda la curva dosis-respuesta de los ARO <sup>(62)</sup>. Al haber un estado de antihiperalgnesia provocado por los inhibidores de la FAAH, la dosis de ARO requerida para mejorar las condiciones clínicas del DN son menores. Esta sinergia puede ser interesante que conllevaría una disminución del impacto del tratamiento con opioides en la calidad de vida de los pacientes, reduciendo los problemas de uso y dependencia.

Inhibidores dobles FAAH/TRPV-1: diversos estudios han demostrado que el bloqueo de TRPV-1, al margen del bloqueo FAAH, también produce analgesia en modelos animales <sup>(63)</sup>. La capsaicina, por ejemplo, ejerce su efecto antialodínico en el DN bloqueando estos receptores, fármaco que además se comercializa actualmente en forma de pomadas y parches transdérmicos con indicación terapéutica para DN <sup>(10)</sup> (ver *antecedentes*). La activación de TRPV1 desencadena una entrada de iones de calcio y sodio que a su vez inicia una cascada de eventos que resultan en la despolarización de la membrana, la activación neuronal y la transducción de los impulsos neurales. Esta cascada de activaciones mediadas por este receptor finaliza con la liberación de péptidos pronociceptivos, por lo que al bloquear esta vía de señalización neuronal se consiguen los efectos antialodínicos comentados anteriormente <sup>(74)</sup>. La N-araquidonoil-serotonina (AA-5HT) es un endopéptido que en la década de 1990 se describió que actuaba como un inhibidor endógeno de la FAAH <sup>(75)</sup>. Recientemente se ha descubierto que la AA-5HT también inhibe el TRPV-1, y se han realizado estudios en modelos animales con este inhibidor, con resultados superiores a los esperados al inhibir FAAH y TRPV-1 por separado <sup>(76)</sup>. La base de este mecanismo se presupone que es una suma del efecto antihiperalgésico y antialodínico doble mediado por el bloqueo de ambas dianas farmacológicas. Por lo que se espera que en el futuro continúe el desarrollo de esta clase de inhibidores duales.

### **4.3 Ensayos clínicos aleatorizados en humanos con inhibidores de la FAAH para el tratamiento del DN**

Al realizar la búsqueda en Pubmed para la realización de esta revisión (ver apartado *Materiales y Métodos*) se encontró un ensayo clínico aleatorizado en humanos para la comercialización de un inhibidor de la FAAH con indicación del tratamiento del DN de origen periférico <sup>(64)</sup>. Por otro lado, se realizó una búsqueda exhaustiva en otras bases de datos (*clinicaltrials.gov*) para evaluar si se habían realizado otros EC con estos inhibidores en el pasado, y así poder realizar una síntesis lo más completa posible del panorama global de los ensayos clínicos con inhibidores de la FAAH. Se encontraron 4 EC más en esta búsqueda secundaria <sup>(65)(66)(67)(68)</sup>. De los 5 EC encontrados, uno se encuentra en fase IIa, otro en fase I y el resto han finalizado sin pasar de la fase II. Ningún EC ha culminado con éxito y no se encuentran inhibidores de la FAAH en el mercado actualmente.

Antecedentes de los EC con inhibidores de la FAAH. El fracaso de BIA 10-2474: si bien los primeros EC realizados con inhibidores de la FAAH fueron realizados por Pfizer® y Vernallis (R&D) Ltd, concluyeron sin la comercialización del inhibidor, pero tampoco se reportó ningún efecto adverso <sup>(67)(68)</sup>. En 2015, BIAL pharmaceuticals obtuvo la aprobación de la Agencia Europea del Medicamento (EMA) para realizar estudios en fase I, es decir, estudios de farmacocinética y farmacodinamia en voluntarios sanos, de su inhibidor de la FAAH BIA 10-2474. Un total de 128 participantes fueron reclutados para el ensayo, de los cuales 90 recibieron el inhibidor, y el resto fueron tratados con placebo. Cinco de los voluntarios que fueron sometidos a múltiples dosis del fármaco se vieron afectados negativamente y fueron ingresados en el hospital, de los cuales uno falleció con muerte cerebral y los otros cuatro acabaron con daños cerebrales irreversibles <sup>(69)</sup>. Estudios de resonancia magnética en los voluntarios afectados determinó que la causa de dichos acontecimientos fue hemorragia y necrosis cerebral sistémica.

Se trata del primer caso de fallecimiento en un EC en fase I en Europa, de los más de 12.500 EC en fase I que han sido realizados en el continente en los últimos 20 años <sup>(70)</sup>. Las causas aún se están dilucidando, y la EMA, además de diversos grupos de investigación europeos, barajan motivos como una baja

afinidad de los inhibidores (que acabarían inhibiendo otras hidrolasas cerebrales), irreversibilidad de la unión fármaco-receptor o reacciones de hipersensibilidad (mediadas por una activación de rCB<sub>2</sub> en el sistema inmune), fallos en el proceso de síntesis del compuesto y presencia de impurezas en el mismo, o la más plausible el uso de unas dosis del rango de 50-100 veces superiores que las máximas teorizadas para conseguir el mínimo efecto biológico observable <sup>(71)</sup>, junto con la inhibición irreversible que estos componentes realizaban sobre la FAAH, inhibición que se producía incluso a concentraciones de BIA 10-2474 indetectables para la farmacéutica <sup>(65)</sup>. Este fatal suceso cambió por completo el paradigma de los EC con inhibidores de la FAAH, modificando la percepción de alta seguridad de la que gozaban.

Ensayo clínico con V158866: Este EC fue promovido por Vernalis (R&D) Ltd. para llevar al mercado V158866 con indicación terapéutica para tratar el DN central <sup>(67)</sup>. El EC empezó en 2011, y en 2016 finalizó la fase II, donde finalizó el estudio al no conseguir el compuesto la eficacia esperada por la compañía <sup>(72)</sup>.

Ensayo clínico con PF-04457845: Este compuesto, desarrollado por Pfizer®, entró en EC en 2009 con indicación para tratar la osteoartritis de rodilla <sup>(68)</sup>. El EC culminó en 2017, pero la farmacéutica no ha publicado más datos desde que en 2010 se evaluara la eficacia y seguridad del compuesto <sup>(73)</sup>.

Ensayos clínicos con ASP8477: ASP8477 es un inhibidor de nuevo desarrollo, selectivo y potente de la FAAH que está actualmente implicado en dos EC, los dos que actualmente no parecen haber finalizado. A continuación se hace una síntesis de dichos ensayos:

→ *The MOBILE Study-A Phase IIa Enriched Enrollment Randomized Withdrawal Trial to Assess the Analgesic Efficacy and Safety of ASP8477, a Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibitor, in Patients with Peripheral Neuropathic Pain.*

**Objetivos:** Este estudio, que se encuentra en fase IIa, tiene como objetivo evaluar la eficacia analgésica y la seguridad de ASP8477 en pacientes con DN periférico.

**Diseño del estudio:** Inscripción inicial en el que todos los voluntarios empiezan tomando el compuesto, con posterior retiro aleatorio.

**Centros de estudio:** 4 centros en Polonia, 6 en República Checa y 2 en Reino Unido.

**Sujetos:** Pacientes mayores de 18 años o más, con DN periférico causado por neuropatía diabética o neuralgia postherpética.

**Métodos:** Un primer período de detección de cuatro semanas seguido de un período ciego simple (titulación de dosis de seis días y período de mantenimiento de tres semanas con ASP8477 [(20 /30mg cada 12h) por vía oral]. Los pacientes que respondieron al tratamiento (definido como una disminución de ~ 30% en la intensidad media diaria del dolor durante los últimos tres días del período de simple ciego) fueron estratificados por enfermedad y aleatorizados para recibir placebo o continuar con ASP8477 durante un período de tres semanas doble ciego. El punto de evaluación primario fue el cambio en la escala de calificación numérica promedio de dolor (NPRS, de sus siglas en inglés *Numeric Pain Rating Scale*).

**Resultados:** Entre los 132 pacientes que se inscribieron, 116 ingresaron al período de simple ciego y 63 (ASP8477, N=5; placebo, N=5) completaron el período de doble ciego. No hubo diferencias en el puntaje promedio NPRS promedio de 24 horas (P=0.644) o en el fracaso hasta el tratamiento (P=0.485) entre ASP8477 o placebo. Durante el período de simple ciego, el 57.8% de los pacientes respondieron al tratamiento. ASP8477 fue bien tolerado. Durante el período de simple ciego, el 22% de los pacientes experimentaron al menos una reacción adversa a la medicación (RAM). Durante el período de doble ciego, el 8% en el brazo ASP8477 y el 18% en el brazo placebo experimentaron al menos una RAM.

**Discusión:** el compuesto ASP8477 fue bien tolerado en pacientes con DN periférico. Sin embargo, en cuanto a su eficacia, no demostró presentar una diferencia estadísticamente significativa en comparación con el placebo.

→ *A Randomized, Double-Blind, Placebo- and Active Comparator-Controlled Phase I Study of Analgesic/Antihyperalgesic Properties of ASP8477, a Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibitor, in Healthy Female Subjects*

**Objetivos:** Evaluar el efecto analgésico/antihiperalgésico de ASP8477.

**Diseño:** Estudio aleatorizado, doble ciego, doble simulado, cruzado, controlado con placebo y comparador activo.

**Centro de estudio:** HPR Dr. Schaffler GmbH, Munich, Alemania.

**Sujetos:** mujeres sanas. De entre 18-65 años de edad.



**Métodos:** Los sujetos elegibles fueron asignados aleatoriamente a una de las seis secuencias de tratamiento y recibieron múltiples dosis ascendentes de ASP8477 (30mg-60mg-100mg), duloxetina(30mg-60mg) y placebo durante tres ciclos de tratamiento (cada uno de los cuales consistió en dosificaciones de 21 días separadas por períodos sin toma de medicación de 14 días). El último día de cada dosis (el día 21), se evaluaron los síntomas relacionados con un incremento de la respuesta dolorosa mediante potenciales evocados con láser (LEP), que evalúan la activación de las vías nerviosas relacionadas con el dolor, o escalas de dolor visuales analógicas tras tratar la piel con capsaicina (que causa dolor punzante en la zona de aplicación), según el grupo de estudio, al inicio y en múltiples puntos de tiempo después de las dosis. El punto final primario fue la diferencia en las amplitudes pico a pico LEP N2-P2 para ASP8477 100 mg versus placebo.

Comentado [GGMS4]: Dosis?

Comentado [GGMS5]: Cuántos ciclos de tratamiento se realizaron?

Comentado [GGMS6]: Redacta mejor este párrafo

**Resultados:** Veinticinco sujetos fueron asignados al azar. En todos los sujetos, las amplitudes LEP N2-P2 pico a pico fueron numéricamente más bajas para ASP8477 100 mg frente a placebo ( $P=0.0721$ ). En los sujetos que demostraron efectos positivos en la piel de capsaicina, se observó una mayor diferencia media de  $-2,24$  mV ( $P=0,0146$ ). En todas las dosis, las amplitudes LEP N2-P2 PtP fueron más bajas para la duloxetina en comparación con ASP8477 (diferencia media  $-3,80$  mV;  $P < 0,0001$ ) o placebo (diferencia media  $-5,21$  mV;  $P < 0,0001$ ). El efecto de ASP8477 (todas las dosis) en la reducción de la puntuación de dolor VAS fue significativo en comparación con el placebo (diferencia media  $-2.55\%$ ;  $P < 0.0007$ ), pero no lo fue en comparación con la duloxetina.

Comentado [GGMS7]: Y con la duloxetina????

**Discusión:** ASP8477 fue bien tolerado en este estudio. El análisis de todos los sujetos no demostró una diferencia significativa en la LEP para ASP8477 100 mg sobre el placebo, pero sí en los sujetos en los que se trató la piel con capsaicina, donde si que se observaron efectos positivos.

## 5. DISCUSIÓN

En base a todo lo desarrollado en el presente trabajo, se pueden extraer las siguientes conclusiones en relación al manejo del DN con inhibidores de la FAAH:

- El manejo clínico del DN como base: A diferencia de las patologías de dolor agudo, que tienen una relativa facilidad de manejo en todos los ámbitos clínicos, el manejo del DN es mucho más complicado, por lo que, partiendo de esa base, todo esfuerzo científico y terapéutico que orbite alrededor de esta patología va a estar condicionado por esa dificultad. Basta con remitirse a los retos que plantean el diagnóstico y la farmacoterapéutica actual en el manejo del DN para pensar que el desarrollo de nuevas terapias farmacológicas va a ser complicado.

- El desarrollo de modelos animales de DN: otra complicación adicional en la investigación de esta patología es la dificultad intrínseca que plantean los estudios en modelos animales de DN, modelos que son clave para el desarrollo científico, y en los que los parámetros cualitativos y cuantitativos referidos a la respuesta dolorosa son mucho más complicados de medir que en los modelos de dolor agudo.

- La eficacia clínica de los inhibidores de la FAAH: como se ha ido comentando numerosas veces a lo largo del presente trabajo, los inhibidores de la FAAH están aún lejos de presentar una eficacia que pueda ser usada como argumento de peso para desarrollar nuevas terapias, además del incidente ocurrido en el EC de BIA 10-2474. Las sinergias con otros fármacos aumentan la efectividad de los inhibidores, pero siguen faltando resultados relevantes en modelos animales y en EC que sirvan de punto de apoyo para fomentar la investigación de la utilidad de los inhibidores de la FAAH en el DN.

- Alternativas para modular la respuesta nociceptiva a través del SCE usando una vía no-FAAH: una alternativa interesante que se ha planteado para controlar la respuesta nociceptiva modulando el SCE son los moduladores alostéricos positivos de rCB<sub>1</sub> (rCB<sub>1</sub>PAM, de sus siglas en inglés *Cannabinoid Receptor-1 Positive allosteric Modulator*)<sup>(77)</sup>. Los moduladores alostéricos se caracterizan por unirse a un sitio distinto, no ortostérico del receptor, provocando cambios conformacionales que alteran la estructura del mismo, modificando la potencia y/o eficacia del ligando<sup>(78)</sup>. En consecuencia, se ha planteado la

hipótesis de que el uso de rCB<sub>1</sub>PAM debería mejorar los efectos antinociceptivos y otros efectos funcionales derivados de un aumento del tono del SEC, pero con efectos secundarios cannabimiméticos limitados, al aumentar la sensibilidad de rCB<sub>1</sub> a los propios endocannabinoides que son liberados en la respuesta fisiológica normal <sup>(79)</sup>.

Comentado [GGMS8]: Explica esto mejor

- Aunque el desarrollo de rCB<sub>1</sub>PAMs es relativamente nuevo, y no hay tanta variedad de estos compuestos como inhibidores de la FAAH, los resultados de los estudios experimentales son muy ambiciosos, logrando generalmente efectos antialodínicos y antihiperalgésicos en modelos animales de DN cuantitativamente superiores a los observados con los inhibidores de la FAAH <sup>(77)</sup>.

- En conclusión, los rCB<sub>1</sub>PAM pueden suplir las carencias de efectividad de los inhibidores de la FAAH y convertirse a medio plazo, en los compuestos químicos más idóneos para desarrollar futuros fármacos con indicación en el tratamiento del DN.



## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. Jensen TS, Baron R, Haanpää M, Kalso E, Loeser JD, Rice ASC, et al. A new definition of neuropathic pain. *PAIN*. octubre de 2011;152(10):2204.
2. Colloca L, Ludman T, Bouhassira D, Baron R, Dickenson AH, Yarnitsky D, et al. Neuropathic pain. *Nat Rev Dis Primers*. 16 de febrero de 2017;3:17002.
3. Meacham K, Shepherd A, Mohapatra DP, Haroutounian S. Neuropathic Pain: Central vs. Peripheral Mechanisms. *Curr Pain Headache Rep*. junio de 2017;21(6):28.
4. Torrance N, Smith BH, Bennett MI, Lee AJ. The Epidemiology of Chronic Pain of Predominantly Neuropathic Origin. Results From a General Population Survey. *The Journal of Pain*. abril de 2006;7(4):281-9.
5. Prevalencia del dolor neuropático en España SEN [Internet]. [citado 3 de enero de 2020]. Disponible en: <http://www.sen.es/saladeprensa/pdf/Link196.pdf>
6. Quantitative Sudomotor Axon Reflex Test (QSART) - BioScan [Internet]. [citado 3 de enero de 2020]. Disponible en: [https://www.bioscan.com/dtr\\_bioscan\\_qsart.htm](https://www.bioscan.com/dtr_bioscan_qsart.htm)
7. Neuropatía periférica - Diagnóstico y tratamiento - Mayo Clinic [Internet]. [citado 3 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/peripheral-neuropathy/diagnosis-treatment/drc-20352067>
8. Rey R. Tratamiento del dolor neuropático. Revisión de las últimas guías y recomendaciones. *Neurología Argentina*. septiembre de 2013;5:1-7.
9. Rang H, Ritter JM. *Farmacología Rang y Dale*. 8ª. Londres: Elsevier; 2016. 760 p.
10. Torres Morera LM. *Medicina del Dolor*. 1.ª ed. Masson; 1997. 792 p.
11. González-Escalada JR. Pregabalina en el tratamiento del dolor neuropático periférico. *2005*;12:12.
12. Guzmán M, Galve-Roperh I. Endocannabinoides: un nuevo sistema de comunicación en el cerebro. *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia* [Internet]. 2009 [citado 3 de enero de 2020];0(0). Disponible en: <https://www.analesranf.com/index.php/mono/article/view/911>
13. Amin MR, Ali DW. Pharmacology of Medical Cannabis. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1162:151-65.
14. Ramos Atance JA, Fernández Ruiz J, Guzmán Pastor M. Actualización sobre el potencial terapéutico de los cannabinoides. Madrid: Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides; 2009.
15. Marzo VD, Bifulco M, Petrocellis LD. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nat Rev Drug Discov*. septiembre de 2004;3(9):771-84.
16. Miranda L. Guía Básica sobre los Cannabinoides SOCIEDAD ESPAÑOLA DE INVESTIGACIÓN SOBRE CANNABINOIDES. [citado 3 de enero de 2020]; Disponible en: [https://www.academia.edu/39204481/Gu%C3%ADa\\_B%C3%A1sica\\_sobre\\_los\\_Cannabinoides\\_SOCIEDAD\\_ESPA%C3%91OLA\\_DE\\_INVESTIGACI%C3%93N\\_SOBRE\\_CANNABINOIDES](https://www.academia.edu/39204481/Gu%C3%ADa_B%C3%A1sica_sobre_los_Cannabinoides_SOCIEDAD_ESPA%C3%91OLA_DE_INVESTIGACI%C3%93N_SOBRE_CANNABINOIDES)
17. Joshi N, Onaivi ES. Endocannabinoid System Components: Overview and Tissue Distribution. En: Bukiya AN, editor. *Recent Advances in Cannabinoid Physiology and Pathology* [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2019 [citado 27 de diciembre de 2019]. p. 1-12. Disponible en: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-21737-2\\_1](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-21737-2_1)
18. Rosenbaum T, Simon SA. TRPV1 Receptors and Signal Transduction. En: Liedtke WB, Heller S, editores. *TRP Ion Channel Function in Sensory Transduction and Cellular Signaling Cascades* [Internet]. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2007 [citado 3 de enero de 2020]. (Frontiers in Neuroscience). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5260/>
19. Deutsch DG, Ueda N, Yamamoto S. The fatty acid amide hydrolase (FAAH). Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids (PLEFA). febrero de 2002;66(2-3):201-10.
20. Jee Kim M, Tanioka M, Woo Um S, Hong S-K, Hwan Lee B. Analgesic effects of FAAH inhibitor in the insular cortex of nerve-injured rats. *Mol Pain*. enero de 2018;14:174480691881434.

21. Brindisi M, Borrelli G, Brogi S, Grillo A, Maramai S, Paolino M, et al. Development of Potent Inhibitors of Fatty Acid Amide Hydrolase Useful for the Treatment of Neuropathic Pain. *ChemMedChem*. 8 de octubre de 2018;13(19):2090-103.
22. Mileni M, Kamtekar S, Wood DC, Benson TE, Cravatt BF, Stevens RC. Crystal Structure of Fatty Acid Amide Hydrolase Bound to the Carbamate Inhibitor URB597: Discovery of a Deacylating Water Molecule and Insight into Enzyme Inactivation. *Journal of Molecular Biology*. 23 de julio de 2010;400(4):743-54.
23. Romero J, Hillard CJ, Calero M, Rábano A. Fatty acid amide hydrolase localization in the human central nervous system: an immunohistochemical study. *Molecular Brain Research*. 30 de abril de 2002;100(1):85-93.
24. Ahn K, Johnson DS, Mileni M, Beidler D, Long JZ, McKinney MK, et al. Discovery and Characterization of a Highly Selective FAAH Inhibitor that Reduces Inflammatory Pain. *Chemistry & Biology*. abril de 2009;16(4):411-20.
25. Clapper JR, Moreno-Sanz G, Russo R, Guijarro A, Vacondio F, Duranti A, et al. Anandamide suppresses pain initiation through a peripheral endocannabinoid mechanism. *Nat Neurosci*. octubre de 2010;13(10):1265-70.
26. Kwilasz AJ, Abdullah RA, Poklis JL, Lichtman AH, Negus SS. Effects of the fatty acid amide hydrolase inhibitor URB597 on pain-stimulated and pain-depressed behavior in rats. *Behav Pharmacol*. abril de 2014;25(2):119-29.
27. Schlosburg JE, Kinsey SG, Lichtman AH. Targeting fatty acid amide hydrolase (FAAH) to treat pain and inflammation. *AAPS J*. marzo de 2009;11(1):39-44.
28. Malek N, Kucharczyk M, Starowicz K. Alterations in the anandamide metabolism in the development of neuropathic pain. *Biomed Res Int*. 2014;2014:686908.
29. Starowicz K, Przewlocka B. Modulation of neuropathic-pain-related behaviour by the spinal endocannabinoid/endovanilloid system. *Philos Trans R Soc Lond, B, Biol Sci*. 5 de diciembre de 2012;367(1607):3286-99.
30. Strichartz GR, Zhou Z, Sinnott C, Khodorova A. Therapeutic concentrations of local anaesthetics unveil the potential role of sodium channels in neuropathic pain. *Novartis Found Symp*. 2002;241:189-201; discussion 202-205, 226-32.
31. Rasband MN, Park EW, Vanderah TW, Lai J, Porreca F, Trimmer JS. Distinct potassium channels on pain-sensing neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*. 6 de noviembre de 2001;98(23):13373-8.
32. Saegusa H, Kurihara T, Zong S, Kazuno A, Matsuda Y, Nonaka T, et al. Suppression of inflammatory and neuropathic pain symptoms in mice lacking the N-type Ca<sup>2+</sup> channel. *EMBO J*. 15 de mayo de 2001;20(10):2349-56.
33. Ramer MS, Bisby MA. Adrenergic innervation of rat sensory ganglia following proximal or distal painful sciatic neuropathy: distinct mechanisms revealed by anti-NGF treatment. *Eur J Neurosci*. marzo de 1999;11(3):837-46.
34. Okamoto K, Martin DP, Schmelzer JD, Mitsui Y, Low PA. Pro- and anti-inflammatory cytokine gene expression in rat sciatic nerve chronic constriction injury model of neuropathic pain. *Exp Neurol*. junio de 2001;169(2):386-91.
35. Simmons RMA, Webster AA, Kalra AB, Iyengar S. Group II mGluR receptor agonists are effective in persistent and neuropathic pain models in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. septiembre de 2002;73(2):419-27.
36. Malmberg AB, Gilbert H, McCabe RT, Basbaum AI. Powerful antinociceptive effects of the cone snail venom-derived subtype-selective NMDA receptor antagonists conantokins G and T. *Pain*. enero de 2003;101(1-2):109-16.
37. Starowicz K, Makuch W, Osikowicz M, Piscitelli F, Petrosino S, Di Marzo V, et al. Spinal anandamide produces analgesia in neuropathic rats: possible CB(1)- and TRPV1-mediated mechanisms. *Neuropharmacology*. marzo de 2012;62(4):1746-55.
38. Starowicz K, Makuch W, Korostynski M, Malek N, Slezak M, Zychowska M, et al. Full inhibition of spinal FAAH leads to TRPV1-mediated analgesic effects in neuropathic rats and possible lipoxygenase-mediated remodeling of anandamide metabolism. *PLoS ONE*. 2013;8(4):e60040.
39. Dean C, Hillard CJ, Seagard JL, Hopp FA, Hogan QH. Upregulation of fatty acid amide

- hydrolase in the dorsal periaqueductal gray is associated with neuropathic pain and reduced heart rate in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 01 de 2017;312(4):R585-96.
40. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol*. abril de 2002;66(6):355-474.
  41. Dean C. Endocannabinoid modulation of sympathetic and cardiovascular responses to acute stress in the periaqueductal gray of the rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. marzo de 2011;300(3):R771-779.
  42. Jee Kim M, Tanioka M, Woo Um S, Hong S-K, Hwan Lee B. Analgesic effects of FAAH inhibitor in the insular cortex of nerve-injured rats. *Mol Pain*. diciembre de 2018;14:1744806918814345.
  43. Hama AT, Germano P, Varghese MS, Cravatt BF, Milne GT, Pearson JP, et al. Fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitors exert pharmacological effects, but lack antinociceptive efficacy in rats with neuropathic spinal cord injury pain. *PLoS ONE*. 2014;9(5):e96396.
  44. Baños JE, Ruiz-Barría G. La evaluación del dolor experimental en el laboratorio: los modelos de dolor neuropático en animales. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*. noviembre de 2006;13(8):542-52.
  45. Cravatt BF, Demarest K, Patricelli MP, Bracey MH, Giang DK, Martin BR, et al. Supersensitivity to anandamide and enhanced endogenous cannabinoid signaling in mice lacking fatty acid amide hydrolase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 31 de julio de 2001;98(16):9371-6.
  46. De Petrocellis L, Di Marzo V. Non-CB1, non-CB2 receptors for endocannabinoids, plant cannabinoids, and synthetic cannabimimetics: focus on G-protein-coupled receptors and transient receptor potential channels. *J Neuroimmune Pharmacol*. marzo de 2010;5(1):103-21.
  47. Hohmann AG, Briley EM, Herkenham M. Pre- and postsynaptic distribution of cannabinoid and mu opioid receptors in rat spinal cord. *Brain Res*. 20 de marzo de 1999;822(1-2):17-25.
  48. Bishay P, Häussler A, Lim H-Y, Oertel B, Galve-Roperh I, Ferreirós N, et al. Anandamide deficiency and heightened neuropathic pain in aged mice. *Neuropharmacology*. agosto de 2013;71:204-15.
  49. Keith JM, Hawryluk N, Apodaca RL, Chambers A, Pierce JM, Seierstad M, et al. 1-Aryl-2-((6-aryl)pyrimidin-4-yl)amino)ethanols as competitive inhibitors of fatty acid amide hydrolase. *Bioorg Med Chem Lett*. 1 de marzo de 2014;24(5):1280-4.
  50. Adamson Barnes NS, Mitchell VA, Kazantzis NP, Vaughan CW. Actions of the dual FAAH/MAGL inhibitor JZL195 in a murine neuropathic pain model. *Br J Pharmacol*. enero de 2016;173(1):77-87.
  51. Torii S, Mitsumori K, Inubushi S, Yanagisawa I. The REM sleep-inducing action of a naturally occurring organic bromine compound in the encéfale isolé cat. *Psychopharmacologia*. 27 de febrero de 1973;29(1):65-75.
  52. Otrubova K, Ezzili C, Boger DL. The Discovery and Development of Inhibitors of Fatty Acid Amide Hydrolase (FAAH). *Bioorg Med Chem Lett*. 15 de agosto de 2011;21(16):4674-85.
  53. Otrubova K, Brown M, McCormick MS, Han GW, O'Neal ST, Cravatt BF, et al. Rational design of fatty acid amide hydrolase inhibitors that act by covalently bonding to two active site residues. *J Am Chem Soc*. 24 de abril de 2013;135(16):6289-99.
  54. Tarzia G, Duranti A, Tontini A, Piersanti G, Mor M, Rivara S, et al. Design, synthesis, and structure-activity relationships of alkylcarbamate aryl esters, a new class of fatty acid amide hydrolase inhibitors. *J Med Chem*. 5 de junio de 2003;46(12):2352-60.
  55. Bhuniya D, Kharul RK, Hajare A, Shaikh N, Bhosale S, Balwe S, et al. Discovery and evaluation of novel FAAH inhibitors in neuropathic pain model. *Bioorg Med Chem Lett*. 15 de 2019;29(2):238-43.
  56. Kinsey SG, Long JZ, Cravatt BF, Lichtman AH. Fatty acid amide hydrolase and monoacylglycerol lipase inhibitors produce anti-allodynic effects in mice through distinct cannabinoid receptor mechanisms. *J Pain*. diciembre de 2010;11(12):1420-8.
  57. Comelli F, Giagnoni G, Bettoni I, Colleoni M, Costa B. The inhibition of monoacylglycerol lipase by URB602 showed an anti-inflammatory and anti-nociceptive effect in a murine model of acute inflammation. *Br J Pharmacol*. noviembre de 2007;152(5):787-94.
  58. Kinsey SG, Wise LE, Ramesh D, Abdullah R, Selley DE, Cravatt BF, et al. Repeated

low-dose administration of the monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 retains cannabinoid receptor type 1-mediated antinociceptive and gastroprotective effects. *J Pharmacol Exp Ther.* junio de 2013;345(3):492-501.

59. Grim TW, Ghosh S, Hsu K-L, Cravatt BF, Kinsey SG, Lichtman AH. Combined inhibition of FAAH and COX produces enhanced anti-allodynic effects in mouse neuropathic and inflammatory pain models. *Pharmacol Biochem Behav.* septiembre de 2014;124:405-11.
60. Shureiqi I, Chen D, Lee JJ, Yang P, Newman RA, Brenner DE, et al. 15-LOX-1: a Novel Molecular Target of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug-Induced Apoptosis in Colorectal Cancer Cells. *J Natl Cancer Inst.* 19 de julio de 2000;92(14):1136-42.
61. Kinsey SG, Nomura DK, O'Neal ST, Long JZ, Mahadevan A, Cravatt BF, et al. Inhibition of monoacylglycerol lipase attenuates nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced gastric hemorrhages in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* septiembre de 2011;338(3):795-802.
62. Slivicki RA, Saberi SA, Iyer V, Vemuri VK, Makriyannis A, Hohmann AG. Brain-Permeant and -Impermeant Inhibitors of Fatty Acid Amide Hydrolase Synergize with the Opioid Analgesic Morphine to Suppress Chemotherapy-Induced Neuropathic Nociception Without Enhancing Effects of Morphine on Gastrointestinal Transit. *J Pharmacol Exp Ther.* 2018;367(3):551-63.
63. Gunthorpe MJ, Chizh BA. Clinical development of TRPV1 antagonists: targeting a pivotal point in the pain pathway. *Drug Discov Today.* enero de 2009;14(1-2):56-67.
64. Bradford D, Stirling A, Ernault E, Liosatos M, Tracy K, Moseley J, et al. The MOBILE Study-A Phase IIa Enriched Enrollment Randomized Withdrawal Trial to Assess the Analgesic Efficacy and Safety of ASP8477, a Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibitor, in Patients with Peripheral Neuropathic Pain. *Pain Med.* 1 de diciembre de 2017;18(12):2388-400.
65. Kaur R, Sidhu P, Singh S. What failed BIA 10-2474 Phase I clinical trial? Global speculations and recommendations for future Phase I trials. *J Pharmacol Pharmacother.* 2016;7(3):120-6.
66. Schaffler K, Yassen A, Reeh P, Passier P. A Randomized, Double-Blind, Placebo- and Active Comparator-Controlled Phase I Study of Analgesic/Antihyperalgesic Properties of ASP8477, a Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibitor, in Healthy Female Subjects. *Pain Med.* 01 de 2018;19(6):1206-18.
67. A Safety, Tolerability and Efficacy Study of V158866 in Central Neuropathic Pain Following Spinal Cord Injury - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [citado 20 de enero de 2020]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01748695>
68. A Study To Investigate Whether PF-04457845 Is Effective In Treating Pain, Is Safe And Tolerable In Patients With Osteoarthritis Of The Knee - Full Text View - ClinicalTrials.gov [Internet]. [citado 20 de enero de 2020]. Disponible en: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00981357>
69. Kroll D. Scientists Speculate On What Caused The Bial Drug Testing Tragedy In France [Internet]. *Forbes.* [citado 20 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.forbes.com/sites/davidkroll/2016/01/18/scientists-speculate-on-what-caused-the-bial-drug-testing-tragedy-in-france/>
70. Farmacéuticos CG de. La seguridad de los ensayos clínicos: el caso del BIA 10-2474 [Internet]. *Portalfarma.* [citado 20 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.portalfarma.com/Profesionales/DestacadosProfesionales/Paginas/Seguridad-ensayos-clinicos-caso-BIA-10-2474.aspx>
71. Report by the Temporary Specialist Scientific Committee (TSSC), «FAAH (Fatty Acid Amide Hydrolase)», on the causes of the accident during a Phase 1 clinical trial. En 2016.
72. vernalis. V158866 [Internet]. *Vernalis Research.* [citado 21 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.vernalis.com/Glossary/v158866/>
73. NCT00981357 | Knee Osteoarthritis Clinical Trial | Pfizer [Internet]. [citado 21 de enero de 2020]. Disponible en: <https://www.pfizer.com/science/find-a-trial/nct00981357>
74. Kym PR, Kort ME, Hutchins CW. Analgesic potential of TRPV1 antagonists. *Biochem Pharmacol.* 1 de agosto de 2009;78(3):211-6.
75. Bisogno T, Melck D, De Petrocellis L, Bobrov MYu null, Gretskaya NM, Bezuglov VV, et al. Arachidonoylserotonin and other novel inhibitors of fatty acid amide hydrolase.

Biochem Biophys Res Commun. 30 de julio de 1998;248(3):515-22.

76. Malek N, Kostrzewa M, Makuch W, Pajak A, Kucharczyk M, Piscitelli F, et al. The multiplicity of spinal AA-5-HT anti-nociceptive action in a rat model of neuropathic pain. *Pharmacol Res.* 2016;111:251-63.

77. Ignatowska-Jankowska BM, Baillie GL, Kinsey S, Crowe M, Ghosh S, Owens RA, et al. A Cannabinoid CB1 Receptor-Positive Allosteric Modulator Reduces Neuropathic Pain in the Mouse with No Psychoactive Effects. *Neuropsychopharmacology.* diciembre de 2015;40(13):2948-59.

78. Kenakin T. A Scale of Agonism and Allosteric Modulation for Assessment of Selectivity, Bias, and Receptor Mutation. *Mol Pharmacol.* 2017;92(4):414-24.

79. Pertwee RG. The therapeutic potential of drugs that target cannabinoid receptors or modulate the tissue levels or actions of endocannabinoids. *AAPS J.* septiembre de 2005;7(3):E625-54.

