



FACULTAD DE FARMACIA

Grado en Farmacia

Potencial terapéutico del cannabidiol en la enfermedad de Alzheimer

Memoria de Trabajo Fin de Grado

Sant Joan d'Alacant

Junio 2020

Autor: Elena Sánchez Pastor

Modalidad: Revisión bibliográfica

Tutor: Francisco Navarrete Rueda

ÍNDICE

1.RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN	4
2.1 La enfermedad de Alzheimer (EA): epidemiología, clínica y diagnóstico	4
2.2 Neuropatología de la EA	6
2.3 Abordaje terapéutico de la EA.....	7
2.4 Implicación del sistema endocannabinoide en la EA.....	9
2.5 Cannabidiol	11
3.OBJETIVOS	14
3.1 Objetivo general	14
3.2 Objetivos específicos	14
4.MATERIALES Y MÉTODOS	15
5.RESULTADOS	17
5.1 Acciones del CBD sobre las alteraciones neuropatológicas características de la EA.....	17
5.2 Acciones del CBD sobre alteraciones conductuales y cognitivas en la EA	27
6.DISCUSION	32
7.CONCLUSIONES	35
8.REFERENCIAS	36

1. RESUMEN

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es una de las enfermedades neurológicas con mayor presencia e impacto en la sociedad debido al creciente aumento de la esperanza de vida. Actualmente no hay tratamientos disponibles para curar o revertir la progresión de la enfermedad, y la limitada eficacia de la farmacoterapia actual motiva la necesidad de investigar nuevas intervenciones. El cannabidiol (CBD) ha cobrado relevancia en los últimos años como candidato alternativo en el manejo terapéutico de la EA, debido a su amplio perfil mecanístico, ya que modula gran cantidad de dianas en el organismo, y su elevada seguridad.

El objetivo principal de este trabajo ha sido recoger y analizar toda la literatura científica disponible de las evidencias existentes acerca del potencial terapéutico del CBD en el tratamiento de la EA. Para este fin, se ha procedido a realizar una búsqueda bibliográfica en la base de datos Medline a través de su buscador PubMed.

Los resultados de la revisión se han subdividido en dos bloques temáticos. El primero dirigido a valorar la capacidad del CBD de modificar la etiopatogenia de la enfermedad y sus acciones sobre la neuroinflamación, el estrés oxidativo y la supervivencia celular. En segundo lugar, se han analizado aquellos artículos orientados a evaluar los efectos procognitivos del CBD en modelos animales de la EA.

Aunque los hallazgos recopilados en esta revisión revelan las considerables ventajas del CBD en el tratamiento de la EA, sigue siendo necesario realizar más investigaciones no solo a nivel preclínico sino más destacadamente a nivel clínico. De este modo se podría disponer de datos relevantes sobre la eficacia y seguridad que puedan avalar el empleo del CBD como posible nueva terapia farmacológica de la EA.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 La enfermedad de Alzheimer (EA): epidemiología, clínica y diagnóstico

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa irreversible, que se asocia con pérdida neuronal y deterioro cognitivo progresivo. Es la causa más importante de demencia en pacientes mayores de 65 años y es reconocida por la OMS (Organización Mundial de la Salud) como prioridad mundial de salud pública por sus repercusiones tanto en los pacientes como en sus familias, así como por su impacto socioeconómico¹.

Estimaciones recientes sugieren que 47 millones de personas padecen demencia en todo el mundo, y está previsto que aumente a más del triple para 2050 a medida que la población envejece. La EA es la principal causa de demencia, representa entre el 50% y el 75% de los casos, y su prevalencia se duplica cada 5 años después de los 65 años con predominio en el sexo femenino. Según una estimación de la fundación *Alzheimer's Disease International*, en 2010 el coste global de la enfermedad ascendía a 604.000 millones de dólares, y en 2015 a 818.000 millones, lo que representa un incremento en cinco años del 35%².

Su evolución es variable, pero por término medio la supervivencia tras el diagnóstico es de 8 a 10 años³. En la mayoría de los casos los síntomas aparecen después de los 60 años. La característica principal de la enfermedad es la pérdida progresiva de memoria, seguida de problemas con el lenguaje verbal y la capacidad de expresarse, con empobrecimiento del lenguaje. También es frecuente que haya desorientación, cambios conductuales, insomnio, agitación nocturna y pérdida de apetito. En la fase inicial el enfermo mantiene su autonomía y sólo necesita supervisión en las tareas complejas. A medida que la condición progresa, el deterioro cognitivo se vuelve más acusado, interfiriendo con las actividades de la vida diaria e incrementando la dependencia del paciente.⁴ En la EA avanzada pueden aparecer alteración de la movilidad, alucinaciones y convulsiones. El fallecimiento se produce a causa de los procesos intercurrentes como infecciones secundarias debidas frecuentemente a úlceras por decúbito y neumonías.⁵

En cuanto al diagnóstico, suele partir de una sospecha de deterioro cognitivo, ya sea por parte del propio afectado, de algún familiar o del equipo de atención primaria. Es fundamentalmente clínico y se basa en los criterios del DSM-V (Manual Diagnóstico y Estadístico de las Enfermedades Mentales en su V edición), de la CIE-10 (Clasificación Internacional de las Enfermedades en su 10ª edición) o de manera más específica mediante los criterios de Dubois o los criterios del Instituto Nacional del Envejecimiento y la Asociación de Alzheimer (NIA-AA por sus siglas en inglés)⁶.

En todos los pacientes en los que se sospeche o detecte demencia, es recomendable realizar las siguientes pruebas de laboratorio: hemograma, TSH, electrolitos, calcio y glucosa. Éstas tienen el objetivo de descartar causas potencialmente reversibles de demencia y cribar comorbilidades. Pueden añadirse también la determinación de niveles de folatos y niveles de B12. También existen pruebas como el análisis de biomarcadores presentes en líquido cefalorraquídeo. Numerosos estudios han hallado de forma consistente un aumento de la proteína tau total (T-tau) y de tau fosforilada (P-tau), y una reducción de la proteína amiloide A β 42 en el LCR de pacientes con EA respecto a controles. Estos marcadores tienen una alta sensibilidad y especificidad (>80%) para diferenciar EA de controles, depresión y demencia alcohólica, pero son poco específicos para diferenciar la EA de otras demencias. Puede usarse la determinación de T-tau, A β 42 y P-tau en LCR como prueba complementaria en casos de diagnóstico diferencial dudoso entre EA y otras demencias, si bien no se recomienda su uso rutinario en el diagnóstico de la demencia, y en casos de deterioro cognitivo ligero cuando los rasgos clínicos, neuropsicológicos y evolutivos hacen sospechar una EA como etiología de este.

La realización de pruebas de imagen, como los estudios de tomografía computerizada (TC) y resonancia magnética (RM), aporta información útil para el diagnóstico diferencial de las demencias, mostrando por ejemplo atrofia del hipocampo en la EA. Pruebas como SPECT (Tomografía computarizada de emisión monofotónica) y PET (Tomografía por emisión de positrones) se pueden emplear como complemento a la neuroimagen estructural para apoyar el diagnóstico o para ayudar a diferenciar entre diferentes tipos de demencia

cuando el diagnóstico es incierto. No se recomienda su uso rutinario ni como herramienta única de diagnóstico.⁷

2.2 Neuropatología de la EA

La EA se asocia a una retracción del encéfalo y una pérdida localizada de neuronas que afecta sobre todo al hipocampo y la porción basal del prosencéfalo. La pérdida de neuronas colinérgicas del hipocampo y la corteza frontal es característica de la entidad y se considera que subyace a la deficiencia cognitiva y la pérdida de la memoria a corto plazo en la EA. Aunque se han descrito modificaciones de numerosos sistemas transmisores, sobre todo a partir de mediciones *post mortem* en el tejido cerebral de pacientes con EA, la más característica es la pérdida relativamente selectiva de neuronas colinérgicas en los núcleos de la base del prosencéfalo. Se reconoce una notable reducción de la actividad de acetilcolina transferasa, del contenido de acetilcolina y de acetilcolinesterasa, además del transporte de colina en la corteza y el hipocampo de los pacientes con EA.

Los rasgos microscópicos de la EA son las placas de amiloide y los ovillos neurofibrilares. Por su parte, las placas de amiloide están formadas por depósitos extracelulares amorfos de proteína β -amiloide (conocida como $A\beta$) que contienen fragmentos de 40 o 42 aminoácidos ($A\beta_{40}$ se forma normalmente en pequeñas cantidades, mientras que la $A\beta_{42}$ se produce en exceso) debido al mal procesamiento de la proteína precursora del amiloide (APP), una proteína normal de la membrana de las neuronas, por parte de la acción de las secretasas β y γ . Esta formación excesiva de $A\beta$ provoca neurotoxicidad, si bien, no se conoce la razón por la que se pierden de forma selectiva neuronas colinérgicas por la formación de $A\beta$.

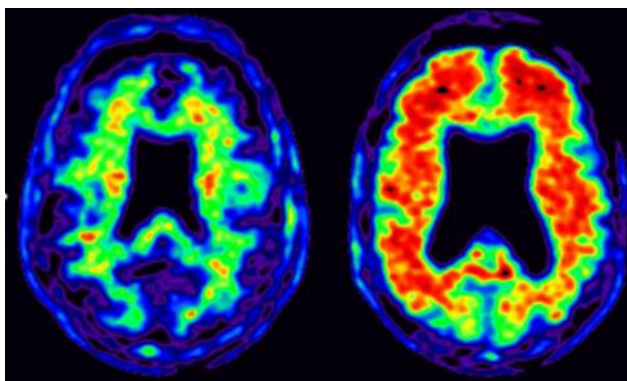


Figura 1. Tomografía de emisión de positrones con florbetapir en un paciente sano (izquierda) y un paciente con enfermedad de Alzheimer (derecha). Los colores cálidos indican alta acumulación de amiloide (Lane C. A. y cols., 2017¹).

El otro protagonista importante en el escenario bioquímico es Tau, la proteína que forma los ovillos neurofibrilares. La proteína Tau es un componente normal de las neuronas, en las que se asocia a los microtúbulos intracelulares. En la EA y otras taupatías, se hiperfosforila y deposita en el interior de la célula formando filamentos helicoidales emparejados; cuando la célula muere, estos filamentos se agregan y ocasionan ovillos neurofibrilares extracelulares. Es posible, aunque no está demostrado, que la presencia de placas de A β favorezca la fosforilación de Tau. No está claro que la hiperfosforilación y el depósito intracelular de Tau dañen las células, pero sí se sabe que esta fosforilación dificulta el transporte axonal rápido, un proceso que depende de los microtúbulos. No se conoce la relación entre estas estructuras y la neurodegeneración. Otros factores que se cree que contribuyen a la fisiopatología de la EA incluyen la alteración de la homeostasis del calcio intracelular y la citotoxicidad⁸.

2.3 Abordaje terapéutico de la EA

Respecto al abordaje terapéutico de la enfermedad, actualmente, los únicos fármacos autorizados para tratar la EA son los inhibidores de la colinesterasa y memantina.

Inhibidores de acetilcolinesterasa:

Tacrina fue el primer fármaco autorizado para el tratamiento de la EA, ya que su acción potenciadora de la transmisión colinérgica podría compensar el déficit colinérgico. En los ensayos clínicos se observaron mejorías moderadas en las pruebas de memoria y cognición en alrededor del 40% de los pacientes con EA, pero sin mejorías en otras mediciones funcionales que influyen en la calidad de vida. Tacrina ha de administrarse cuatro veces al día y produce efectos secundarios colinérgicos, como náuseas y cólicos abdominales, así como hepatotoxicidad en algunos pacientes, por lo que dista de ser un fármaco ideal. Otros fármacos más modernos, de eficacia limitada pero mayor que la de tacrina en cuanto a la mejoría de la calidad de vida, son donepezilo, rivastigmina y galantamina. Estos fármacos consiguen una mejoría ligera, aunque medible, de la función cognitiva en enfermos con EA, aunque su magnitud puede ser demasiado pequeña para tener repercusión de cara a la vida diaria.

Los estudios de laboratorio indican que los inhibidores de colinesterasa pueden reducir en cierta medida la formación o neurotoxicidad de A β , de forma que podrían retrasar la progresión de la EA al tiempo que aportan un beneficio sintomático. Sin embargo, los ensayos clínicos sólo han demostrado una pequeña mejora de la función cognitiva, sin efecto alguno sobre la progresión de la enfermedad.

Antagonistas del receptor NMDA:

La memantina, es un antagonista no competitivo de los receptores del NMDA (N-metil D-Aspartato), que se une de forma reversible a estos receptores bloqueando la entrada de calcio, disminuyendo la concentración del glutamato y modulando los efectos de los niveles tónicos de glutamato elevados patológicamente que pueden ocasionar disfunción neuronal. Consigue una ligera mejora en los casos moderados a graves de EA. Algunos de los efectos secundarios informados incluyen alucinaciones, mareos y cansancio.

Los inhibidores de acetilcolinesterasa y los antagonistas de NMDA mejoran de forma detectable el deterioro cognitivo en ensayos clínicos, pero provocan efectos secundarios importantes y su utilidad clínica es limitada. La eficacia se controla de forma periódica en los pacientes y la administración sólo sigue si se considera que los fármacos funcionan y que los efectos de retraso del deterioro funcional y conductual superan a los efectos adversos⁸. Por tanto, la poca o relativa eficacia de la terapia existente hace necesario recurrir a nuevas perspectivas y enfoques para afrontar la enfermedad. Recientemente ha cobrado relevancia la manipulación del sistema endocannabinoide como se describirá a continuación.

2.4 Implicación del sistema endocannabinoide en la EA

El sistema endocannabinoide (SEC) es un sistema de señalización que está formado principalmente por los receptores cannabinoides 1 y 2 (CB1 y CB2), los ligandos endógenos que se unen a éstos (anandamida y 2-araquidonilglicerol) y las enzimas requeridas para su síntesis y degradación: DAGL (diacilglicerol lipasa), FAAH (hidrolasa de amidas de ácidos grasos) y MAGL (monoacil glicerol lipasa).⁹

Los receptores de cannabinoides son miembros típicos de la familia de receptores acoplados a proteínas G. Los receptores CB1 se relacionan con la inhibición del adenilato ciclasa y los canales de calcio controlados por voltaje a través de Gi/o, así como a la activación de canales de potasio de rectificación interna sensibles a las proteínas G (GIRK), lo que da lugar a hiperpolarización. Estos efectos son similares a los mediados por los receptores de opioides. Se hallan en la membrana plasmática de las terminaciones nerviosas e inhiben la liberación de transmisores por los terminales presinápticos. Igualmente, estos receptores afectan a la expresión génica, tanto de manera directa por activación de la proteína cinasa activada por mitógenos, como de forma indirecta por reducción de la actividad de la proteína cinasa A resultado de una menor actividad del adenilato ciclasa.

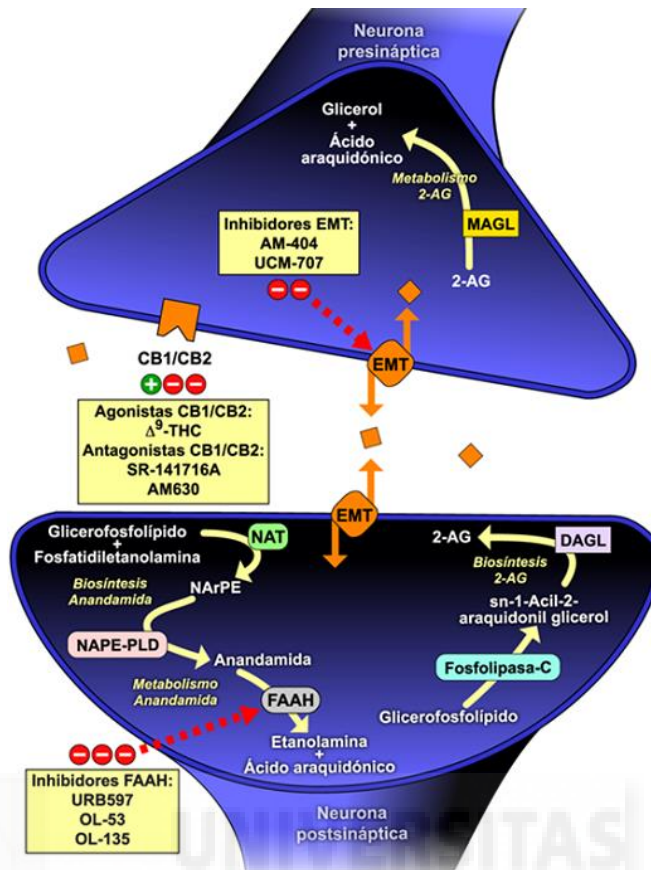


Figura 2. Representación gráfica de los principales componentes del sistema cannabinoide endógeno. MAGL: enzima monoacilglicerol lipasa, 2-AG: 2-araquidonilglicerol, EMT: sistema de transporte de cannabinoides endógenos, NAT: enzima N-aciltransferasa, NArPE: N-araquidonil-fosfatidiletanolamina, NAPE-PLD: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

El grupo de los receptores CB1 es uno de los más numerosos en el cerebro y su distribución no es homogénea, de modo que se concentran en el hipocampo (una propiedad interesante con relación a los efectos de los cannabinoides en la memoria), el cerebelo (relevante con respecto a la coordinación), el hipotálamo, la sustancia negra, y las vías mesolímbicas de dopamina implicadas en las «recompensas» psicológicas, así como en algunas zonas de la corteza cerebral. Son relativamente escasos en el tronco encefálico, lo que podría explicar la ausencia de efectos secundarios graves en los sistemas respiratorios o

cardiovasculares de los cannabinoides. A nivel celular, se localizan en el espacio presináptico e inhiben la liberación de neurotransmisores. Sin embargo, al igual que los opioides, pueden aumentar la actividad de algunas vías neuronales mediante la inhibición de las conexiones inhibitorias, como las interneuronas GABAérgicas del hipocampo y la amígdala. Además de su conocida localización en el SNC, los receptores se expresan en los tejidos periféricos, como las células endoteliales y los adipocitos.

El receptor periférico de cannabinoides (subtipo CB2) se concentra, principalmente, en el tejido linfoide y también se encuentran en la microglía. Los receptores CB2 se distinguen por su capacidad de respuesta a los ligandos cannabinoides en comparación con los CB1. Se conectan con la adenilato ciclasa, los canales GIRK y la proteína cinasa activada por mitógenos a través de Gi/o de forma semejante a lo descrito para CB1, pero no están relacionados con los canales de calcio controlados por voltaje.⁸

Numerosos estudios demuestran la implicación del sistema endocannabinoide en enfermedades neurológicas como es el caso de la EA. Alteraciones en el sistema han sido detectadas en muestras de tejido cerebral *post mortem* en enfermos de EA y existe evidencia de su papel en la regulación de los eventos que se dan durante el curso de esta, particularmente la eliminación de A β , su participación en el proceso de inflamación, la regulación del estrés oxidativo, o la homeostasis de acetilcolina y la memoria, entre otros.¹⁰

Por consiguiente su manipulación puede suponer una nueva estrategia en el manejo terapéutico de la EA¹¹, destacando un creciente interés en la potencial utilidad del compuesto cannabinoide cannabidiol (CBD).⁹

2.5 Cannabidiol

El CBD es uno de los principales componentes de la planta *Cannabis sativa*, destacado por no presentar propiedades psicoactivas negativas a diferencia del componente más abundante de ésta, el delta-9 tetrahidrocannabinol (THC). Se trata de un cannabinoide con múltiples mecanismos de acción, actuando sobre más de 65 dianas terapéuticas¹². Además de actuar como antagonista o agonista

inverso de los receptores CB1 y CB2 ¹³(aunque posee baja afinidad por estos), puede inhibir la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH), aumentar los niveles de anandamida, inhibir el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-kB) y el interferón-β, y modular muchos otros sistemas de señalización. Además, actúa como antagonista del receptor 55 acoplado a proteínas G (GPR55), como agonista de 5-hidroxitriptamina 1A (5HT1A), agonista del receptor activado por proliferadores peroxisomales y (PPARγ), y modula alostéricamente los receptores mu y delta opioides.¹⁴



Figura 3. Estructura química del cannabidiol o CBD. (Suero-Garcia Carlos y cols. 2015)¹⁵

Su gran variedad de mecanismos de acción hace que posea múltiples propiedades farmacológicas como vasorelajante, antiespasmódico, analgésico, antiemético, antiisquémico, antibacteriano, inmunomodulador, antidiabético, antiepiléptico¹⁶ y destacando especialmente por su relación con la EA, como ansiolítico, antidepresivo, antipsicótico, antiinflamatorio, antioxidante, procognitivo, proneurogénico y neuroprotector¹⁷ (Figura 4).

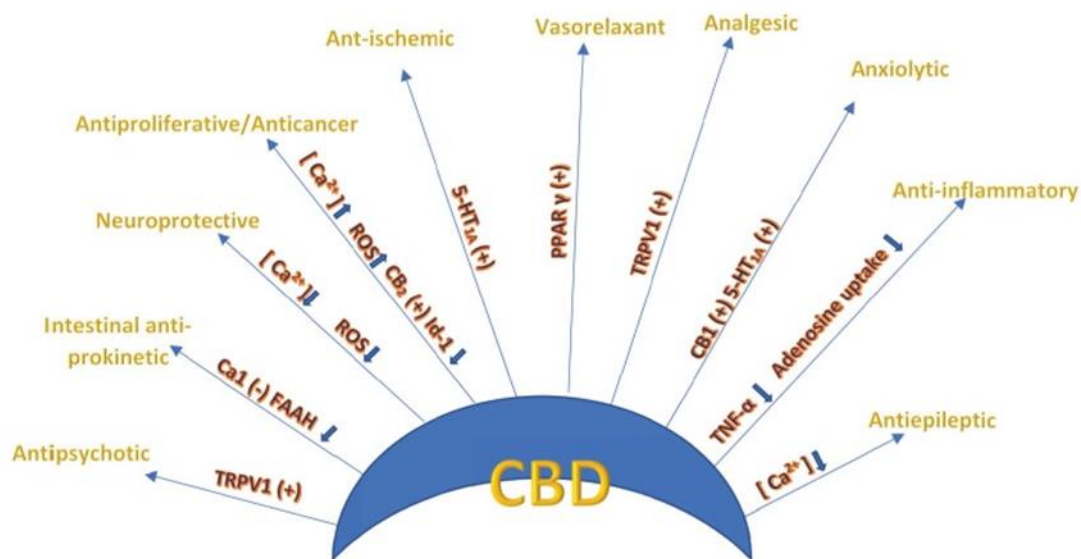


Figura 4: Algunas de las múltiples acciones farmacológicas del CBD (Norren Nida y cols. 2018¹⁸).

Ha sido aprobado tanto por la FDA (Food and Drug Administration) como por la EMA (Agencia Europea del Medicamento).¹⁹ Entre los fármacos comercializados que contienen CBD se encuentran el Sativex (combinación de CBD y THC), utilizado para el tratamiento coadyuvante para pacientes adultos con espasticidad moderada o grave debida a la esclerosis múltiple, y el Epidiolex (CBD únicamente), utilizado en el tratamiento infantil de dos formas raras de epilepsia, el síndrome de Dravet y el síndrome Lennox-Gastaut, por lo que queda demostrado su buen perfil de seguridad.²⁰

Desafortunadamente como ha quedado antes reflejado, actualmente no hay tratamientos disponibles para curar ni para revertir la progresión de la EA, lo que implica la necesidad de recurrir a nuevas intervenciones terapéuticas que no solo consigan modificar el curso de la enfermedad, sino mejorar su pronóstico. El CBD, debido a su amplio margen de propiedades y su bajo perfil de reacciones adversas²¹, resulta un candidato factible para este objetivo lo que ha llevado a la realización de este trabajo de revisión bibliográfica de todas las evidencias existentes hasta la fecha.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Este trabajo tiene la finalidad de revisar y analizar la literatura científica existente sobre la potencial utilidad del CBD como herramienta en el abordaje del tratamiento de la EA.

3.2 Objetivos específicos

1. Valorar la eficacia del CBD en la modificación de la etiopatogenia de la EA, su efecto sobre $A\beta$ y la hiperfosforilación de tau e investigar su potencial como neuroprotector, antioxidante, antiinflamatorio y antiapoptótico en la enfermedad.

2. Evaluar las cualidades del CBD en la mejora de los aspectos cognitivos y conductuales que se ven alterados durante el curso de la EA.



4. MATERIALES Y MÉTODOS

La búsqueda de información para la presente revisión bibliográfica sobre el potencial terapéutico del cannabidiol en la EA, se ha realizado a través de la consulta directa en la principal base de datos biomédica Medlars Online International Literature (Medline), vía Pubmed. Las palabras clave empleadas en la búsqueda fueron las siguientes: “Cannabidiol” y “Alzheimer disease”.

La ecuación de búsqueda se desarrolló para su empleo en la base de datos mediante la utilización de los conectores booleanos: ("cannabidiol"[MeSH Terms] OR "cannabidiol"[All Fields]) AND ("alzheimer disease"[MeSH Terms] OR ("alzheimer"[All Fields] AND "disease"[All Fields]) OR "alzheimer disease"[All Fields])

Los criterios de inclusión y exclusión utilizados en la revisión fueron los que se enumeran a continuación:

- Criterios de inclusión:
 - Artículos que sean estudios originales, revisiones bibliográficas, ensayos *in vitro* e *in vivo* o publicaciones científicas.
 - Que el texto completo esté redactado en lengua inglesa o española.
 - Que existiera disponibilidad de acceso a dichos estudios, es decir, que se pudiera acceder al texto completo.
- Criterios de exclusión:
 - Artículos que estuvieran enfocados en otros cannabinoides distintos del CBD.
 - Artículos que no relacionaran el CBD con la EA.
 - Artículos que se centraran en otras enfermedades neurológicas distintas de la EA.

Tras realizar la búsqueda bibliográfica se recuperaron 59 resultados y en base a los criterios de inclusión y exclusión, fueron seleccionados finalmente 23 resultados.

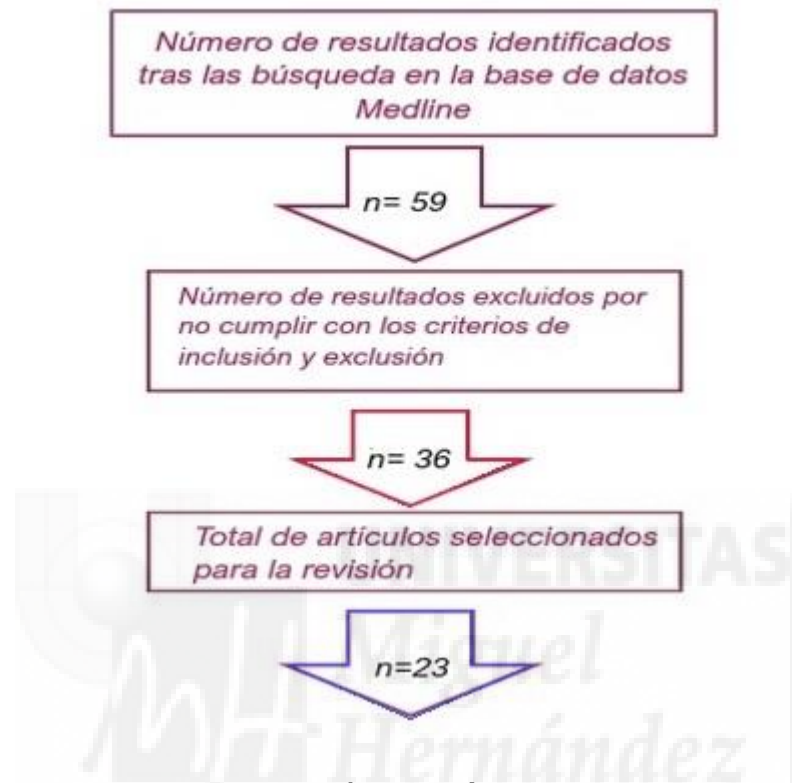


Figura 5: Diagrama de selección de artículos incluidos en la revisión. Figura de elaboración propia.

5. RESULTADOS

En este apartado se recogen los resultados obtenidos tras el análisis de los documentos incluidos en esta revisión bibliográfica, en la que se han considerado estudios preclínicos tanto *in vitro* como *in vivo*.

Se ha dividido en dos epígrafes, el primero en concordancia con los efectos beneficiosos del CBD sobre las alteraciones neuropatológicas presentes en la EA, como sus acciones sobre la hiperfosforilación de tau, sobre A β , sus efectos neuroprotectores, antiinflamatorios, antioxidantes y antiapoptóticos; y un segundo epígrafe abarcando los efectos del CBD en las alteraciones conductuales y cognitivas que pueden manifestarse en la enfermedad.

5.1 Acciones del CBD sobre las alteraciones neuropatológicas características de la EA

Como se ha expuesto anteriormente en este trabajo, la formación de placas de A β es una de las características clave de la neuropatología de la EA por ello la mayoría de los estudios que se han realizado se han dirigido en este sentido. Los primeros hallazgos importantes que demostraron la acción beneficiosa del CBD en la EA se dieron en relación con su efecto en modelos *in vitro*. Tras exponer células PC12 a A β (1 μ g/mL), se observó una reducción en la supervivencia de estas, efecto que se vio asociado con el aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), peroxidación lipídica, así como la aparición de caspasa 3 (enzima clave en la apoptosis en la cascada de señalización celular), fragmentación de ADN y aumento de calcio intracelular.

Los acontecimientos celulares relacionados con el estrés oxidativo pueden ser una de las vías que conducen a la degeneración celular. El aumento de estrés oxidativo y los mecanismos de defensa alterados se producen en el cerebro de pacientes con EA, lo que puede dar lugar a la cascada auto propagada de eventos neurodegenerativos. ROS ha mostrado estar involucrado en el daño y la muerte celular inducidos por A β y la terapia antioxidante ha supuesto mejoras en pacientes con EA. Excesiva manifestación de ROS puede llevar a un número de efectos nocivos, incluyendo peroxidación lipídica. Existe

evidencia de que la manipulación farmacológica de la homeostasis de calcio en la neurona puede ser una aproximación terapéutica útil en enfermedades neurodegenerativas, incluyendo EA, y un aumento en la concentración intracelular de calcio ha sugerido ser responsable de los efectos tóxicos de A β . Muchos estudios experimentales sugieren también, una asociación entre la acumulación de A β , el estrés oxidativo y la apoptosis. A β ha mostrado inducir apoptosis en neuronas, incluyendo células PC12, lo que puede ser responsable de la muerte de neuronas en EA. La apoptosis está asociada con la activación de la familia de las cisteín-proteasas, conocidas como caspasas, que son sintetizadas como moléculas precursoras inactivas, conocidas como pro-caspasas. La activación de pro-caspasa 3 a caspasa 3 es un evento central en la ejecución de la fase de apoptosis y parece servir de punto de convergencia de diferentes vías de señalización apoptótica.

El tratamiento de estas células con CBD (10^{-7} y 10^{-4} M) previamente expuestas a A β , elevó significativamente la supervivencia celular y demostró que el CBD reduce de forma concentración-dependiente la acumulación de ROS y la peroxidación lipídica por parte de A β . También se manifestó que el CBD aumenta los niveles de pro-caspasa 3 y en paralelo reduce los niveles de caspasa 3, en las células PC12 tratadas con A β . El efecto inhibitor del CBD en la apoptosis fue reforzado por la observación de que puede inhibir también la fragmentación de ADN inducida por A β . Se observó también que el CBD contrarresta el aumento de la concentración de calcio intracelular, inducida por A β , lo que es acorde con las propiedades antioxidantes del cannabinoide. Todos estos resultados reflejaron que el CBD ejerce una combinación de efectos neuroprotectores, antioxidantes y antiapoptóticos contra la toxicidad inducida por A β , y que la inhibición de caspasa 3 estaría envuelta en esta vía de neuroprotección.²²

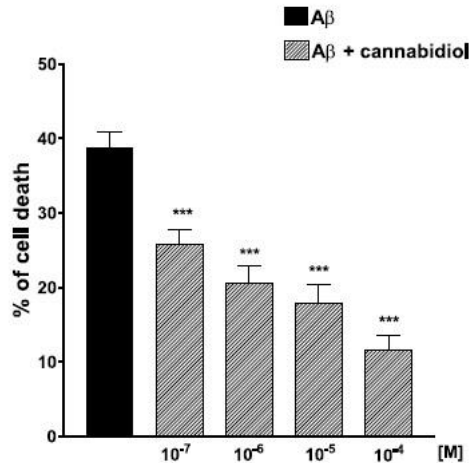


Figura 6: Gráfica de barras que muestra el efecto dosis-dependiente del CBD (10^{-7} - 10^{-4}) sobre la muerte celular inducida por A β ($1 \mu\text{g/ml}$). Imagen extraída de: Expósito G. y cols, 2004²²

Por otra parte, se ha demostrado que la vía de señalización Wnt tiene múltiples acciones en la cascada de eventos desencadenados por A β , y los fármacos que rescatan la actividad de Wnt pueden ser considerados innovadores en la terapia de EA. Wnt forma parte de una familia de proteínas ligando secretadas, ricas en cisteína, que están involucradas en la regulación del ciclo celular, modulando la proliferación y diferenciación celular. La activación de Wnt conlleva a dos principales mecanismos moleculares, que están representados por la inhibición de la glicógeno sintetasa quinasa 3 beta (GSK-3 β) y la relativa acumulación de β -catenina en el citoplasma. Se ha observado que en neuronas del hipocampo y de la corteza expuestas a A β se activa GSK-3 β a través de fosforilación, indicando que las funciones de señalización de Wnt se perdían dramáticamente. Además, en estas condiciones, la GSK-3 β activa fosforilada, que es también conocida como proteína tau quinasa, es responsable de la masiva hiperfosforilación de tau y la formación de ovillos neurofibrilares observados en la EA. Aparte de su habilidad de inducir la hiperfosforilación de tau, la activación de GSK-3 β media un fuerte procesamiento de APP resultando en la sobreproducción de A β .

Se descubrió que el CBD inhibe la hiperfosforilación de tau en células PC12 estimuladas con A β , efecto mediado a través del rescate de la vía Wnt/ β -

catenina, reduciendo pGSK-3 β , la forma fosforilada de GSK-3 β . El mecanismo de inhibición de pGSK-3 β por parte del CBD puede deberse en parte a sus previamente descritos efectos antioxidantes. De hecho, se ha demostrado que GSK-3 β puede ser fosforilada por influencia del estrés oxidativo. ²³

En otro experimento, de nuevo empleando células PC12 estimuladas con A β , causó un incremento significativo de la producción de nitrito comparado con células no estimuladas. El estrés oxidativo activa la familia de las quinasas inducidas por estrés, las proteínas quinasas activadas por mitógeno. Entre estas, la p38 MAP quinasa, que juega un papel fundamental durante la etiopatogénesis de la EA. La isoforma fosforilada de p38 MAP quinasa actúa independientemente y coordinadamente, implicando factores de transcripción NF- κ B, regulando la expresión de genes, incluyendo el gen de iNOS, induciendo un aumento de los niveles del mediador neurotóxico nitrito (el metabolito NO). El CBD (10^{-6} y 10^{-4} M) inhibió tanto la formación de nitrito como la expresión de iNOS inducida por A β , acción mediada por la inhibición de la forma fosforilada de p38 MAP quinasa y la activación de la transcripción de NF- κ B de manera dependiente de la concentración. ²⁴ Asimismo, para confirmar las propiedades antiinflamatorias del CBD, se realizó un estudio *in vivo* con ratones inoculados con A β en la parte dorsal derecha del hipocampo, a los que se administraron dosis de 2,5 y 10 mg/kg de CBD durante 7 días. El CBD inhibió significativamente de forma dosis-dependiente los niveles de la proteína glial fibrilar ácida (GFAP) y en las mismas condiciones experimentales, redujo la expresión proteica de iNOS y de interleuquina 1 β (IL-1 β), que está asociada a procesos neurodegenerativos. En gliosis reactiva, GFAP sirve como indicador de astrocitos activados, cuyos principales factores de activación son la hipertrofia y la constante proliferación, implicados en la neuroinflamación en la EA. ²⁵

Otros estudios evaluaron la implicación de PPAR γ en los efectos terapéuticos del CBD ya que estos receptores se encuentran aumentados en la EA. Se demostró la implicación selectiva de PPAR γ en los efectos antiinflamatorios y neuroprotectores de CBD tanto *in vivo* como *in vitro*. La interacción entre CBD y PPAR γ da como resultado una inhibición aguda de la gliosis reactiva, mostrada por la reducción de la expresión de las proteínas GFAP Y S100B conjuntamente, con un marcado declive de las moléculas

proinflamatorias y de la liberación de citoquinas observadas en astrocitos afectados por A β . En concordancia, los resultados obtenidos *in vitro* se replicaron en experimentos *in vivo* en un modelo de ratones transgénicos, resultando en una profunda inhibición de la activación de astrocitos alrededor del área CA1 del hipocampo afectada por A β inyectado. Se indujo un rescate de la viabilidad neuronal de CA1 con el tratamiento de CBD (10mg/kg) tanto con la presencia como con la ausencia de un antagonista de PPAR γ o PPAR α durante 15 días. El CBD a través de la activación de PPAR γ provocó una reducción de la liberación de NO, del factor de necrosis tumoral α (TNF α) y IL-1 β en asociación con una reducción paralela de la expresión proteica de GFAP, S100B y iNOS (ver figura 7).

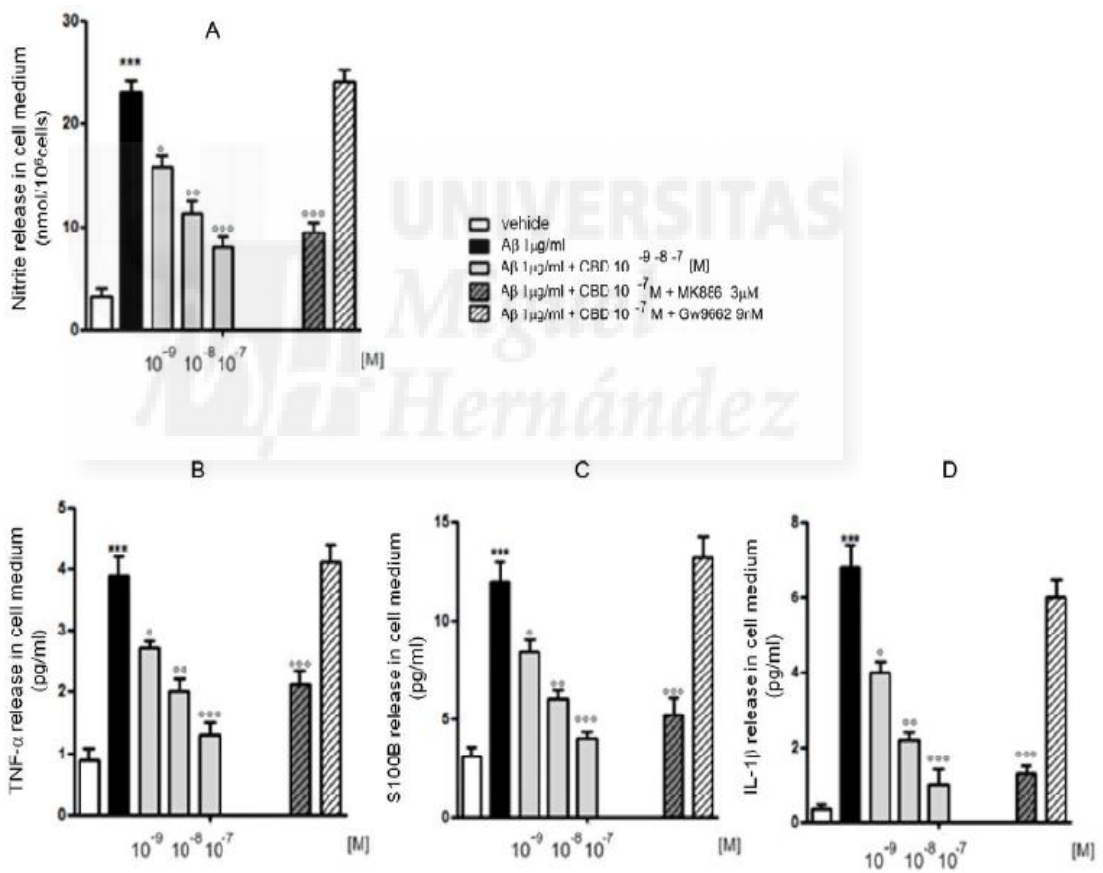


Figura 7: Gráficas que muestran el efecto del CBD en la liberación de mediadores inflamatorios en cultivos *in vitro* de astrocitos. Astrocitos inducidos con A β (1 μ g/ml) fueron tratados con CBD (10⁻⁹-10⁻⁷) en presencia de antagonistas de PPAR α (MK886, 3 nM) o PPAR γ (GW9662, 9 nM). Imagen extraída de: Expósito G. y cols, 2011²⁶.

La observación en el hipocampo de la activación selectiva de PPAR γ causó un aumento de la expresión proteica de p50 y p65, lo que refuerza que la secuencia de eventos asociados a la activación de PPAR γ y la inhibición de NF- κ B es responsable del efecto antiinflamatorio del CBD. Además, la inhibición de S100B mediada por PPAR γ que induce el CBD representa un paso crucial al interrumpir la auto perpetuación del ciclo de gliosis reactiva²⁶.

El efecto antiapoptótico del CBD fue también analizado en el córtex N13 de células microgliales de ratas neonatales. Después de exponerse a 400 μ M de ATP, se observó que las células microgliales que estaban muriendo, liberaron y acumularon niveles superiores a los normales de calcio intracelular. La incubación celular con CBD previno la liberación de calcio, revirtiendo la muerte celular programada. En posteriores experimentos, la incubación simultánea con un antagonista del receptor cannabinoide de adenosina A2A revirtió los efectos protectores del CBD, sugiriendo que el bloqueo de la afluencia de calcio inducida por ATP estaba mediado por el receptor de adenosina A2A. La incubación celular con CBD disminuyó el incremento del calcio y de nuevo revirtió la muerte celular programada. La posible implicación de la activación de la modulación glial fue determinada midiendo la expresión del gen de citoquinas. En ratones inyectados con A β tanto la expresión de TNF α como interleuquina 6 (IL-6) aumentó marcadamente, pero en cambio se encontraron bajos niveles de citoquinas proinflamatorias TNF α y IL-6 en los cerebros homogeneizados de los ratones tratados con CBD²⁷.

Un artículo publicado por Scuderi y cols en el año 2013, mostró que células SHSY5Y^{APP+} transfectadas con APP, presentaron un aumento significativo en la expresión de APP y de PPAR γ en comparación con células controles (SHSY5Y^{vacío}), incremento que fue contrarrestado de forma dosis-dependiente por el CBD (10^{-9} - 10^{-7} M). Los resultados de este estudio muestran que el CBD es capaz de reducir la sobreexpresión de APP, al inducir su ubiquitinación y, consecuentemente, se reduce la sobreproducción y liberación de A β en células SHSY5Y^{APP+}. Esta actividad es resultado de la activación selectiva de PPAR γ por el CBD que tiene como consecuencia un aumento de la supervivencia de las neuronas SHSY5Y^{APP+}, reduciendo su apoptosis y aumentando a largo plazo la resistencia del cultivo celular.

El hecho de que las células SHSY5Y^{vacío} no se vieran afectadas por el CBD puede explicar su capacidad de afectar únicamente a la sobreproducción aberrante de APP y sus consecuencias neuropatológicas. Esta afirmación se refuerza por la evidencia de que PPAR γ no está activado en condiciones normales pero parece trabajar a demanda en muchas patologías como en la EA²⁸.

Así mismo se ha estudiado la capacidad del CBD de modular genes relacionados con la patología de EA. Destaca un estudio realizado con células madre mesenquimales derivadas de tejido gingival (GMSCs), en el que se comparó los perfiles de expresión entre GMSCs tratadas con CBD y células GMSCs control. Los autores del estudio mostraron que el CBD inhibió la expresión de GSK3- β , promocionando la señalización de la vía fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K/Akt) y modulando la transcripción de un panel de genes que codifican las principales quinasas implicadas en la fosforilación de tau y las proteínas quinasas activadas por mitógeno (MAPKs). Estos hallazgos indicaban que el CBD puede prevenir la hiperfosforilación de tau y consecuentemente la formación de ovillos neurofibrilares por esta vía, al reducir los niveles de transcripción de estas quinasas. Además, se descubrió que el CBD aumentó la regulación de la expresión de α -secretasa y en paralelo disminuyó la de β -secretasa y γ -secretasa. Las α -secretasas promueven el proceso no-amiloidogénico que conlleva a la escisión de la proteína APP pero, en cambio, la escisión de APP mediada por β y γ -secretasas es responsable de la generación de A β en la EA. También se mostró un aumento de la regulación del gen codificante de las enzimas de degradación de A β . Estos datos sugerían que el CBD podía reducir la producción de A β atenuando la expresión de enzimas involucradas en el proceso amiloidogénico, y promoviendo las implicadas en el proceso no-amiloidogénico.

Otro mecanismo potencial implicado en la regulación de tau y de los niveles de A β podría estar relacionado con las proteínas HSPs (Heat shock proteins), que son chaperonas moleculares involucradas en el mantenimiento de la homeostasis proteica, incluyendo almacenamiento, degradación y tráfico subcelular. Las HSPs no solo reconocen proteínas no almacenadas, sino que también son capaces de promover su degradación a través del sistema del

proteosoma de ubiquitina. Como consecuencia, el aumento de la regulación de estas proteínas puede prevenir la acumulación de tau y de A β . Los resultados mostraron la expresión aumentada de diferentes genes de HSPs en células GMSCs tratadas con CBD, y también una expresión aumentada de genes codificantes de los miembros del sistema de ubiquitina y de las enzimas conjugadoras de ubiquitina, lo que indica un aumento de la actividad de los sistemas de ubiquitina responsables de la degradación de proteínas aberrantes²⁹.

Se ha evidenciado, además, que el CBD puede proteger la plasticidad sináptica en modelos *in vitro* de EA. Para demostrarlo, se midió la potenciación a largo plazo del hipocampo (LTP), que es actividad-dependiente y aumenta con la efectividad sináptica, y es usada frecuentemente para estudiar mecanismos celulares relacionados con la memoria. La aplicación de A β atenuó la LTP en el hipocampo en cortes de ratones C57Bl/6. Por su parte, la aplicación de CBD solo no alteró la LTP, pero el pretratamiento de los cortes con CBD rescató el déficit en la LTP mediado por A β ³⁰.

A continuación, se recogen los principales mecanismos implicados en la reducción del estrés oxidativo y la neuroinflamación que induce el CBD (Figura 8), y se incluye una tabla resumen con los resultados analizados (Tabla 1).

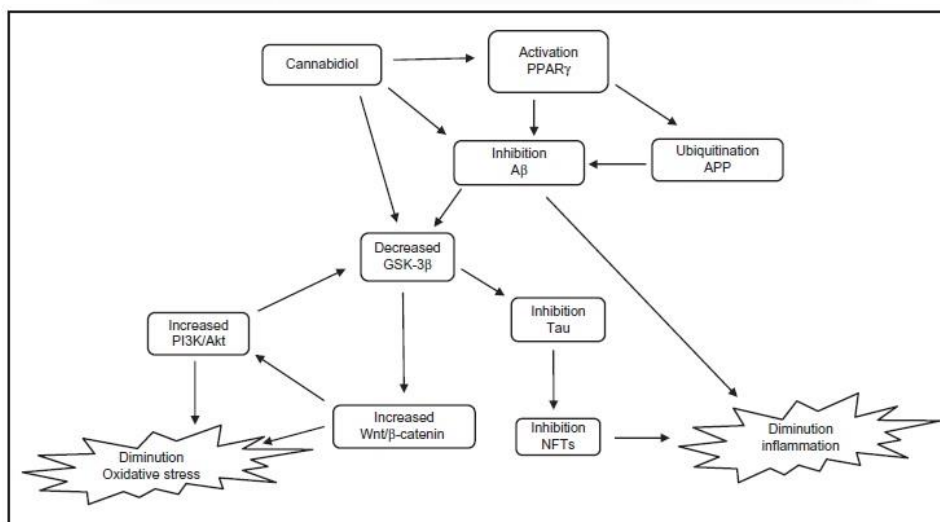


Figura 8. Interacciones entre el CBD y las distintas vías que resultan en una disminución de la inflamación y del estrés oxidativo. El término NFTs (neurofibrillary tangles) se refiere a los ovillos neurofibrilares. Imagen extraída de Vallée y cols., 2017³¹.

Modelo/Especie	Intervención	Parámetro evaluado	Resultados	Referencias
Estudio in vitro Células PC12	Estimulación con A β (1 μ g/mL) durante 24h en presencia o ausencia de CBD (10^{-7} - 10^{-4} M)	-Viabilidad celular (ensayo de reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazo (MTT)) -Formación de ROS (fluorescencia emitida por diclorofluoresceína (DFC)) -Peroxidación lípida (medición de malonil-dialdehído (MDA) con ensayo colorimétrico con ácido tiobarbiturico) -Proteína caspasa 3 (Western blot) -Fragmentación ADN (Electroforesis y visualización con luz ultravioleta) -Calcio intracelular (método fura-2)	↑Viabilidad celular ↓ROS ↓Peroxidación lípida ☉ Caspasa 3 ↓Fragmentación de ADN ↓Calcio intracelular	Giuseppe Esposito et al, 2004 ²²
Estudio in vitro Células PC12	Estimulación con A β (1-42) (1 μ g/ml) durante 24h, en presencia o ausencia de CBD (10^{-7} - 10^{-5} M) administrado 15 min antes	-Hiperfosforilación de tau y pGSK3 β (Western blot) -Viabilidad celular (ensayo MTT)	☉Hiperfosforilación de tau y pGSK3 β ↑Viabilidad celular	Giuseppe Esposito et al, 2005 ²³
Estudio in vitro Células PC12	Estimulación con A β (1-42) (1 μ g/ml) durante 24h, en presencia o ausencia de CBD (10^{-6} - 10^{-4} M) administrado 15 min antes	-Producción de NO evaluada midiendo la cantidad de nitrito (espectrofotometría basada en la reacción de Griess). -Expresión relativa de tau (escáner densimétrico de rayos X y programa de ordenador)	☉ Formación de nitrito y de expresión de iNOS ↓Expresión de tau	Giuseppe Esposito et al, 2006 ²⁴

		-Activación de NF-kB (ensayo de cambio de movilidad electroforética (EMSA)) - p38 MAP quinasa (Western blot)	↑Activación de la transcripción de NF-kB ⊕p38 MAP quinasa	
Estudio in vivo Ratones C57BL/6J (35–40 g) de 3-5 meses de edad	Inyección de 10ng de Aβ (1-42) en la parte derecha dorsal del hipocampo. Tres días después se trataron con CBD (2,5 o 10mg/kg) por vía intraperitoneal durante 7 días	-Expresión de GFAP mRNA (Escáner densimétrico y programa de ordenador) -Medición de nitrito (reacción de Griess) -Cuantificación de IL-1β (test ELISA)	⊕ARNm GFAP ↓NO ↓IL-1β	Giuseppe Esposito et al, 2009 ²⁵
Estudio in vitro e in vivo -Cultivos primarios de astrocitos tratados con 1 mg/ml de Aβ (1–42) en presencia o ausencia de CBD (10 ⁻⁹ -10 ⁻⁷ M) -Ratas macho adultas Sprague-Dawley (300–350 g)	-Cultivos primarios de astrocitos tratados con 1 mg/ml de Aβ (1–42) en presencia o ausencia de CBD (10 ⁻⁹ -10 ⁻⁷ M) -Ratas inoculadas con Aβ (1-42) y se les administro CBD (10 mg/kg) durante 15 días	-Cantidad de nitrito (reacción de Griess) -Cuantificación de TNF-α, IL-1β y S100B (test ELISA) -Expresión de NOS, GFAP, S100B y p50/p65 (Western blot) -Cantidad de nitrito (reacción de Griess)	↓NO ↓ TNF-α, IL-1β y S100B ↓ Expresión de NOS, GFAP, S100B y p50/p65 ↓NO	Giuseppe Esposito et al, 2011 ²⁶
Estudio in vitro e in vivo -Cultivos primarios microgliales de rata -Células microgliales BV-2 -Células microgliales N13	-Cultivos celulares tratados con Aβ (1-40) durante 24h y después con CBD 10mM -Células transfectadas con APP (400 μM)	-Concentración intracelular de calcio (emisión de fluorescencia) -Cantidad de nitrito (reacción de Griess) -Inmunotinción de cultivos celulares y análisis cuantitativo con PCR	↓Concentración de Calcio intracelular ↓NO ↑Modulación de microglía	Ana María Martín-Moreno et al, 2011 ²⁷
Estudio in vitro Células SHSY5Y	Células transfectadas con APP695 y tratadas después con CBD (10 ⁻⁹ -10 ⁻⁶ M)	-Viabilidad celular (ensayo MTT) -Expresión de APP (Western blot e inmunofluorescencia)	↑Viabilidad celular ↓ APP	Caterina Scuderi et al, 2013 ²⁸

Estudio in vitro Células GMS	Tratamiento con CBD (5 μ M) durante 24 h	-Hibridación de ADN y análisis de inmunocitoquímica	↑Modulación de multitud de genes implicados en EA	Rosaliana Libro et al, 2016 ²⁹
Estudio in vitro Cortes hipocampales de ratones C57BL/6 de 8 a 10 semanas de edad	Tratamiento con CBD (10 μ M), seguido de A β 1-42 (80% de pureza) durante 30 min	-Potenciación a largo plazo (LTP) en el hipocampo	↑LTP	Blathnaid Hughes et al, 2018 ³⁰

Tabla 1. Resumen de los estudios incluidos en este epígrafe, incluyendo los resultados asociados a los efectos del CBD. ↑: aumento, ↓: reducción, ⊙: bloqueo. *Tabla de elaboración propia.*

5.2 Acciones del CBD sobre alteraciones cognitivas y emocionales en la EA

Los efectos positivos del CBD en la EA se han descrito también a nivel cognitivo, asociado a mejoras en el aprendizaje y la memoria como se comentará en detalle en este epígrafe. Asimismo, también se han revisado los efectos del CBD sobre las alteraciones emocionales que suelen acompañar a la EA, dado su reconocido perfil ansiolítico, así como sus acciones antidepresivas.

Los efectos protectores del CBD en el deterioro cognitivo, y más concretamente en alteraciones del aprendizaje espacial y la memoria, fueron evaluados en un modelo murino de EA. Los ratones tratados con CBD demostraron mejoras en la realización del laberinto acuático de Morris, utilizado para evaluar el aprendizaje espacial y la memoria de trabajo, comparado con los ratones tratados con vehículo²⁷.

Para esclarecer el potencial terapéutico y preventivo del CBD se realizaron dos estudios en un mismo laboratorio empleando ratones transgénicos con EA. En el primer estudio se determinan los efectos terapéuticos del tratamiento crónico con CBD (20 mg/kg), administrado por vía intraperitoneal diariamente durante 3 semanas, en un modelo genético de la EA empleando ratones APP^{swE}/PS1 Δ E9 (APPxPS1). Se llevaron a cabo diversas pruebas para valorar varios aspectos cognitivos, incluyendo el test de preferencia social, el test de reconocimiento de objetos y el paradigma de condicionamiento al miedo. También se analizó el efecto del CBD sobre los rasgos de ansiedad en la prueba de laberinto elevado en cruz. Brevemente, el test de preferencia social fue

utilizado para evaluar la sociabilidad y la memoria de reconocimiento social. El test de reconocimiento de objetos permite valorar la memoria de reconocimiento al presentar objetos familiares y nuevos. El condicionamiento al miedo, regulado por el hipocampo y la amígdala, evalúa el aprendizaje asociativo. La exposición a un estímulo que era neutro previamente provoca una respuesta de miedo (congelación) después de que se asocie con un estímulo aversivo. Por último, el laberinto elevado en cruz evalúa el conflicto natural entre la tendencia de los ratones a explorar un nuevo medio y evitar un lugar iluminado, elevado y abierto. Fue empleado para determinar los efectos de la administración prolongada de CBD sobre rasgos de ansiedad.

El tratamiento crónico con CBD mejoró las alteraciones cognitivas en la memoria de reconocimiento de objetos y en la memoria de reconocimiento social en ratones APPxPS1 sin afectar a los parámetros de ansiedad. Este es el primer estudio que investigaba el efecto del tratamiento crónico con CBD en la cognición en un modelo de ratón transgénico de la EA³².

Las propiedades preventivas a largo plazo del tratamiento con CBD se evaluaron en un segundo estudio, de nuevo en ratones macho transgénicos A β PP^{Swe}/PS1 Δ E9 (A β PPxPS1). Tanto los ratones control como los transgénicos fueron tratados por vía oral desde los 2,5 meses de edad con CBD (20 mg/kg), diariamente durante 8 meses. Los ratones fueron evaluados con el test de preferencia social, el laberinto elevado en cruz y el paradigma de condicionamiento del miedo. El test de preferencia social determinó que los ratones A β PPxPS1 tenían un déficit en la memoria de reconocimiento social, confirmando hallazgos de otros estudios. Se demostró que la administración intraperitoneal previa de CBD durante 3 semanas mejoró este déficit cognitivo. También desarrollaron un déficit en reconocimiento social que fue de nuevo revertido por el tratamiento con CBD. Sin embargo, el CBD no modificó rasgos de ansiedad o el aprendizaje asociativo.

La mejora del déficit en el reconocimiento social que indujo el tratamiento con CBD no se asoció con ningún cambio en la carga amiloide, en el daño oxidativo o en los niveles de A β 40 y A β 42. Además, tampoco se detectaron cambios en los niveles de oxidación lipídica en los animales tratados con CBD, a pesar de sus conocidas propiedades antioxidantes. Sin embargo, el estudio sí

reveló un sutil impacto del CBD en la neuroinflamación, en los niveles de colesterol y en la retención de fitoesterol dietario que requiere de más investigación. El colesterol aumento en los ratones A β PP \times PS1 tratados con CBD en comparación con los ratones control. Este resultado puede deberse a una alteración en el proceso de captación o un mecanismo de compensación, y se sugirió que podría estar relacionado con mecanismos de protección frente a la neurodegeneración que sufren estos ratones. El mantenimiento del nivel necesario de colesterol es importante para combatir la pérdida de sinapsis y la neurodegeneración. Cantidades insuficientes de colesterol pueden interrumpir procesos esenciales como la formación de mielina, la transmisión sináptica y la habilidad cognitiva en los ratones, mientras que una reducción en oxiteroles ha demostrado estar relacionada con demencia severa y atrofia cerebral.

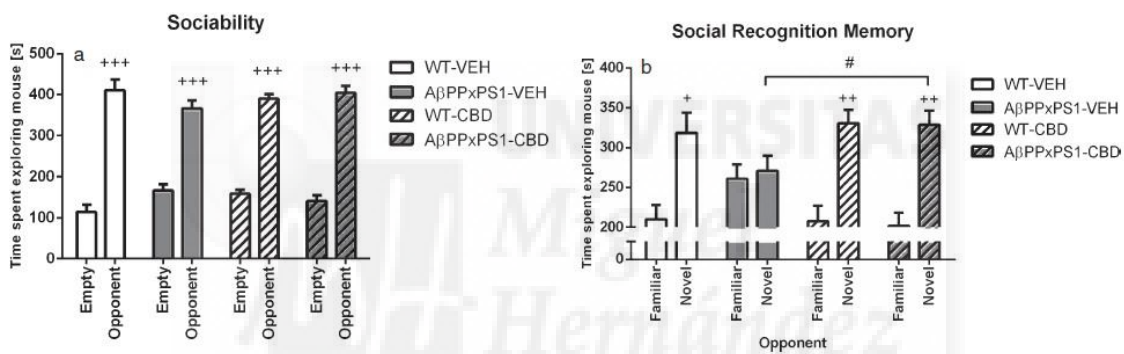


Figura 9: Gráficas que muestran la evaluación de la sociabilidad y el reconocimiento social en el test de preferencia social. Las gráficas muestran el tiempo total (en segundos) que pasaron los ratones estudiados evaluando: a) el compartimento en el que se encontraba un ratón desconocido (considerado como un oponente) o una cámara vacía, b) el compartimento que contenía un ratón familiar o un ratón desconocido (nuevo). Los datos se obtuvieron de ratones silvestres (WT) y ratones A β PP \times PS1 tratados con vehículo o con CBD. Imagen extraída de: Cheng D. y cols., 2014³³.

Los resultados de ambos estudios proporcionaban la primera evidencia de que el CBD podía tener potencial como tratamiento preventivo en el manejo de alteraciones cognitivas desde el punto de vista social que puedan asociarse a la EA³³.

Otro estudio, el más reciente encontrado en esta revisión, determinó los efectos crónicos de la administración de 50 mg/kg de CBD en ratones A β PPxPS1 macho. Estos ratones de 12 meses de edad fueron tratados con CBD o vehículo con inyecciones diarias por vía intraperitoneal durante 3 semanas antes de realizar la conducta. Entre los aspectos cognitivos que fueron evaluados se incluyó el reconocimiento social y de objetos, la memoria espacial y el condicionamiento asociado al miedo. Las pruebas que se utilizaron fueron el test de preferencia social, el paradigma de condicionamiento del miedo, la tarea de reconocimiento de objetos, y el test de tabla de quesos, que evalúa la adquisición y retención de la memoria de referencia espacial.

El tratamiento crónico con CBD revirtió los déficits conductuales en la memoria de reconocimiento social y en el aprendizaje reverso. Además, cabe destacar que estos efectos se asociaron a una reducción de los niveles de A β 40 en el hipocampo de ratones A β PPxPS1, pero no tuvo efecto en la neuroinflamación, la neurodegeneración o en los niveles de PPAR β . Por otro lado, el CBD tuvo un efecto moderado en el hipocampo de los ratones A β PPxPS1, que exhibieron un aumento cortical de los niveles de α -secretasa, comparados con los ratones control. Los niveles corticales de PPAR β y de IL-1 no se vieron afectados por el fenotipo ni por el tratamiento con CBD. Este estudio puso en evidencia que los déficits de memoria espacial en los ratones APPxPS1 pueden depender de la edad, antecedentes genéticos, o el género de los animales evaluados. Previamente este mismo laboratorio no encontró déficits en aprendizaje espacial en ratones macho de 7 meses de edad, pero sí un deterioro en la retención de memoria inversa espacial en ratones APPxPS1 hembras de 9 meses de edad.

En la tarea de reconocimiento de objetos nuevos, los ratones APPxPS1 exhibieron un déficit en el índice de reconocimiento del objeto nuevo frente al familiar, alteración que no fue revertida por el tratamiento con CBD. Según indicaban los propios autores, es posible que al tener 12 meses de edad las alteraciones relacionadas con la EA estuvieran demasiado avanzadas como para que el CBD fuera todavía beneficioso. Por otra parte, en el paradigma de condicionamiento al miedo no hubo diferencias significativas. Esto concuerda

con un estudio previo en el que no apareció déficit en la memoria asociada al miedo en ratones APPxPS1 de 6 meses de edad³⁴.

A continuación, se muestra una tabla resumen con los artículos que se han recopilado y analizado en este segundo epígrafe, acerca de los efectos del CBD sobre las alteraciones cognitivas y/o emocionales que aparecen en diferentes modelos murinos de la EA.

Modelo/Especie	Intervención	Paradigma experimental	Resultados	Referencias
Estudio in vitro e in vivo Ratones C57Bl/6 de 3 meses de edad	Se inyectó intraventricularmente 2,5 µg de Aβ y al siguiente día se empezó tratamiento con CBD (20 mg/kg)	Laberinto acuático de Morris	↑ memoria de aprendizaje espacial	Ana María Martín-Moreno et al, 2011 ²⁷
Estudio in vivo Ratones macho transgénicos AβPPSwe/PS1ΔE9 (AβPPxPS1) de 2.5 meses de edad	Tratamiento con CBD (20mg/kg) diariamente durante 8 meses vía intraperitoneal	Test de preferencia social, laberinto elevado en cruz y paradigma de condicionamiento del miedo	↓síntomas de retroceso social ↑ reconocimiento social No efecto sobre miedo o ansiedad	David Cheng et al, 2014 ³²
Estudio in vivo Ratones macho transgénicos AβPPSwe/PS1ΔE9 (AβPPxPS1) de 24 semanas de edad	Tratamiento con CBD (20mg/kg) vía intraperitoneal durante 3 semanas	Test de preferencia social, test de reconocimiento de objetos, paradigma de condicionamiento del miedo y test de laberinto elevado en cruz	↑ memoria de reconocimiento de objetos ↑ memoria de reconocimiento social ↑ memoria de aprendizaje espacial No efecto sobre ansiedad	David Cheng et al, 2014 ³³
Estudio In vivo Ratones macho transgénicos AβPPSwe/PS1ΔE9 (AβPPxPS1) de 12 meses de edad	Administración de CBD (50mg/kg) vía intraperitoneal durante 3 semanas	Test de preferencia social, paradigma de condicionamiento del miedo, tarea de reconocimiento de objetos y test de tabla de quesos	↑ memoria de reconocimiento de objetos ↑ memoria de reconocimiento social No efecto sobre memoria asociada al miedo ni sobre neuroinflamación	Georgia Watt et al, 2020 ³⁴

Tabla2. Resumen de los estudios incluidos en este epígrafe, incluyendo los resultados más relevantes asociados a los efectos del CBD. ↑: aumento, ↓: reducción. Tabla de elaboración propia.

6.DISCUSION

Como se ha expuesto en esta revisión, la EA es la forma más frecuente de demencia y su neuropatología se caracteriza por la acumulación de placas de A β (placas seniles) y la aparición de ovillos neurofibrilares de proteína tau hiperfosforilada en el cerebro. Los beneficios esperados de las terapias actuales son limitados por lo que hay una creciente demanda por descubrir nuevos tratamientos capaces de ralentizar la progresión de la enfermedad o prevenir su origen. En este sentido, de forma reciente se ha evidenciado el interés en el potencial terapéutico del CBD en la EA por sus múltiples propiedades farmacológicas, siendo destacables su efecto neuroprotector o procognitivo.

La bibliografía revisada en este trabajo evidenció que el CBD ejerce efectos neuroprotectores, antioxidantes y antiapoptóticos contra la neurotoxicidad inducida por A β . Diversos estudios de modelos *in vitro* mostraron que el CBD aumenta significativamente la supervivencia neuronal y disminuye la producción de ROS, la peroxidación lipídica y aumenta pro-caspasa 3, reduciendo paralelamente los niveles de caspasa 3 e inhibiendo la fragmentación de ADN, contrarrestando asimismo el aumento de la concentración de calcio intracelular.

Por otro lado, se observó que el CBD inhibe la hiperfosforilación de tau, a través del rescate de la vía Wnt/ β -catenina, reduciendo la forma fosforilada de GSK3 β . Inhibió también tanto la formación de nitrito como la expresión de iNOS, mediante la inhibición de la forma fosforilada de p38 MAP quinasa y la activación de la transcripción de NF- κ B. Acciones que se vieron confirmadas en estudios *in vivo*, donde el CBD inhibió de forma significativa los niveles de GFAP y disminuyó la expresión proteica de iNOS y de IL-1 β .

Asimismo, los resultados recopilados en este trabajo también ponen de manifiesto la interacción entre CBD y PPAR γ , resultando en una inhibición de la gliosis reactiva y en una reducción de la liberación de NO, de TNF α y IL-1 β en asociación con una disminución paralela de la expresión proteica de GFAP, S100B y iNOS. El efecto antiapoptótico del CBD fue también observado en células expuestas a ATP en las que el CBD, como resultado de la activación selectiva de PPAR γ , es capaz de reducir la sobreexpresión de APP mediante su ubiquitinación, afectando únicamente en caso de sobreproducción aberrante de

APP. El CBD activa la señalización de PI3K/Akt y puede disminuir la regulación de genes ligados a EA, incluyendo genes que codifican a las quinasas responsables de la fosforilación de tau y de las secretasas implicadas en la generación de A β . Se ha evidenciado asimismo que puede proteger la plasticidad sináptica en modelos animales con EA.

Además de las múltiples evidencias acerca de los mecanismos implicados en los fenómenos de neuroprotección que parece ejercer el CBD en el contexto de diversos modelos experimentales de la EA, también se tienen datos interesantes sobre los efectos del CBD sobre las alteraciones cognitivas y emocionales asociadas a la EA. El tratamiento crónico con CBD puede mejorar las alteraciones en la memoria de reconocimiento de objetos y en la memoria de reconocimiento social en ratones transgénicos A β PPSwe/PS1 Δ E9, sin haberse evidenciado cambios en rasgos de ansiedad. Estos efectos no se asociaron a cambios importantes en la carga amiloide o en el daño oxidativo, pero sí tuvieron un impacto sutil en la neuroinflamación, en los niveles de colesterol y en la retención de fitoesterol dietario. Cabe destacar que en los estudios que se han realizado hasta ahora se han incluido solo ratones machos, siendo necesario que se lleven a cabo más estudios incluyendo hembras puesto que la EA es más prevalente en mujeres, y los efectos del CBD podrían ser diferentes dependiendo del sexo. De la misma forma se hace necesario investigar modelos con diferentes rangos de edad, ya que se constató que en ratones de más de 12 meses los efectos del CBD no eran tan efectivos como en el caso de ratones de menor edad.

Además de los efectos del CBD sobre las alteraciones cognitivas características de la EA, sería interesante poner un mayor énfasis en la utilidad que el CBD podría aportar por su efecto antipsicótico, ansiolítico y antidepressivo^{17, 18}, teniendo en cuenta que es común que se manifiesten alteraciones psiquiátricas con rasgos de psicosis, ansiedad y depresión en pacientes con EA. Asimismo, el amplio perfil farmacológico y mecanístico del CBD lo convierten en un candidato interesante para el abordaje de otras patologías que puedan presentarse de forma simultánea durante el curso clínico de la EA, teniendo en cuenta que se trata de pacientes con edad avanzada y múltiples comorbilidades. Por tanto, los estudios que se realicen con el CBD

podrían no sólo enfocarse en tratar la sintomatología asociada directamente a la EA, sino que además podrían tener en cuenta las ventajas que el CBD aportaría en otras afecciones (psiquiátricas, neurológicas, endocrinas, etc.) que presentara el paciente.

En definitiva, los hallazgos recopilados en esta revisión apuntan a la potencial utilidad terapéutica del CBD en el manejo de la EA. No obstante, sigue siendo necesario realizar más investigaciones, principalmente ensayos clínicos en humanos que permitan valorar su seguridad y eficacia. Para ello, resulta imprescindible poder conjugar la evaluación de los efectos neuroprotectores del CBD con herramientas que permitan realizar un diagnóstico temprano de la EA, hecho que dará más oportunidades para poder modificar su curso clínico.



7.CONCLUSIONES

1. Actualmente no se dispone de estrategias terapéuticas que sean capaces de modificar el rumbo clínico de la EA desde un punto de vista etiológico.
2. El CBD tiene la capacidad de disminuir la acumulación de $A\beta$ y la hiperfosforilación de tau a través de diversas vías.
3. El CBD ha demostrado poseer propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antiapoptóticas, aumentando la supervivencia celular
4. El CBD posee propiedades neuroprotectoras y procognitivas que suponen una mejora en aspectos relacionados con la memoria y el aprendizaje.
5. Debido al amplio perfil farmacológico del CBD, podría ser un candidato interesante para el tratamiento no sólo de las alteraciones cognitivas características de la EA, sino de otras comorbilidades que se pueden manifestar durante el transcurso de la enfermedad.
6. A pesar de las evidencias que sugieren el potencial terapéutico del CBD en el tratamiento de la EA, todavía son necesarios más estudios que permitan dilucidar los mecanismos implicados y evaluar los efectos en pacientes con EA.

8. REFERENCIAS

1. Lane, C.A., J. Hardy, and J.M. Schott, *Alzheimer's disease*. Eur J Neurol, 2018. **25**(1): p. 59-70.
2. Garre-Olmo, J., *Epidemiología de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias*. Rev. Neurol, 2018. **66**(11): p. 377-386.
3. *Progress report on Alzheimer's disease: Taking the next steps*. Ageing International, 2000. **26**(1): p. 38-125.
4. Rodríguez, E.L., *Manual Psicología Aplicada al Envejecimiento. Formación para el Empleo*. 2011.
5. Gil, A.M., *El Alzheimer*. 2009.
6. Barrera-López, F.J., et al., *Diagnóstico actual de la enfermedad de Alzheimer*. Revista de Medicina Clínica, 2018. **2**(2): p. 57-73.
7. de trabajo de la Guía, G., *de Práctica Clínica sobre la atención integral a las personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias*. Guía de Práctica Clínica sobre la atención integral a las personas con enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad, Política Social e Igualdad. Agència d'Informació, Avaluació i Qualitat en Salut de Catalunya, 2010.
8. Rang H. P. , D.M.M., Ritter J. M. , Flower R. J, *Farmacología Rang y Dale*, ed. Elseiver. 2008. 820.
9. Watt, G. and T. Karl, *In vivo Evidence for Therapeutic Properties of Cannabidiol (CBD) for Alzheimer's Disease*. Front Pharmacol, 2017. **8**: p. 20.
10. Aso, E. and I. Ferrer, *Cannabinoids for treatment of Alzheimer's disease: moving toward the clinic*. Front Pharmacol, 2014. **5**: p. 37.
11. Karl, T., B. Garner, and D. Cheng, *The therapeutic potential of the phytocannabinoid cannabidiol for Alzheimer's disease*. Behav Pharmacol, 2017. **28**(2 and 3-Spec Issue): p. 142-160.
12. Ibeas Bih, C., et al., *Molecular Targets of Cannabidiol in Neurological Disorders*. Neurotherapeutics, 2015. **12**(4): p. 699-730.
13. Tham, M., et al., *Allosteric and orthosteric pharmacology of cannabidiol and cannabidiol-dimethylheptyl at the type 1 and type 2 cannabinoid receptors*. Br J Pharmacol, 2019. **176**(10): p. 1455-1469.

14. Pisanti, S., et al., *Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications*. Pharmacol Ther, 2017. **175**: p. 133-150.
15. Suero-García, C., L. Martín-Banderas, and M. Holgado, *Efecto neuroprotector de los cannabinoides en las enfermedades neurodegenerativas*. Ars Pharmaceutica (Internet), 2015. **56**(2): p. 77-87.
16. Organization, W.H. *Cannabidiol (CBD) pre-review report agenda item 5.2. in Expert Committee on Drug Dependence Thirty-ninth Meeting, Geneva*. 2017.
17. Elsaid, S., S. Kloiber, and B. Le Foll, *Effects of cannabidiol (CBD) in neuropsychiatric disorders: A review of pre-clinical and clinical findings*. Prog Mol Biol Transl Sci, 2019. **167**: p. 25-75.
18. Noreen, N., et al., *Is Cannabidiol a Promising Substance for New Drug Development? A Review of its Potential Therapeutic Applications*. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2018. **28**(1): p. 73-86.
19. Rubin, R., *The path to the first FDA-approved cannabis-derived treatment and what comes next*. Jama, 2018. **320**(12): p. 1227-1229.
20. Devinsky, O., E. Marsh, and D. Friedman, *Cannabidiol en pacientes con epilepsia*. 2017, Intramed.
21. Chesney, E., et al., *Adverse effects of cannabidiol: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials*. Neuropsychopharmacology, 2020.
22. Iuvone, T., et al., *Neuroprotective effect of cannabidiol, a non-psychoactive component from Cannabis sativa, on beta-amyloid-induced toxicity in PC12 cells*. J Neurochem, 2004. **89**(1): p. 134-41.
23. Esposito, G., et al., *The marijuana component cannabidiol inhibits beta-amyloid-induced tau protein hyperphosphorylation through Wnt/beta-catenin pathway rescue in PC12 cells*. J Mol Med (Berl), 2006. **84**(3): p. 253-8.
24. Esposito, G., et al., *Cannabidiol inhibits inducible nitric oxide synthase protein expression and nitric oxide production in beta-amyloid stimulated PC12 neurons through p38 MAP kinase and NF-kappaB involvement*. Neurosci Lett, 2006. **399**(1-2): p. 91-5.

25. Esposito, G., et al., *Cannabidiol in vivo blunts beta-amyloid induced neuroinflammation by suppressing IL-1beta and iNOS expression*. Br J Pharmacol, 2007. **151**(8): p. 1272-9.
26. Esposito, G., et al., *Cannabidiol reduces Abeta-induced neuroinflammation and promotes hippocampal neurogenesis through PPARgamma involvement*. PLoS One, 2011. **6**(12): p. e28668.
27. Martin-Moreno, A.M., et al., *Cannabidiol and other cannabinoids reduce microglial activation in vitro and in vivo: relevance to Alzheimer's disease*. Mol Pharmacol, 2011. **79**(6): p. 964-73.
28. Scuderi, C., L. Steardo, and G. Esposito, *Cannabidiol promotes amyloid precursor protein ubiquitination and reduction of beta amyloid expression in SHSY5YAPP+ cells through PPARgamma involvement*. Phytother Res, 2014. **28**(7): p. 1007-13.
29. Libro, R., et al., *Cannabidiol Modulates the Expression of Alzheimer's Disease-Related Genes in Mesenchymal Stem Cells*. Int J Mol Sci, 2016. **18**(1).
30. Hughes, B. and C.E. Herron, *Cannabidiol Reverses Deficits in Hippocampal LTP in a Model of Alzheimer's Disease*. Neurochem Res, 2019. **44**(3): p. 703-713.
31. Vallee, A., et al., *Effects of cannabidiol interactions with Wnt/beta-catenin pathway and PPARgamma on oxidative stress and neuroinflammation in Alzheimer's disease*. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2017. **49**(10): p. 853-866.
32. Cheng, D., et al., *Chronic cannabidiol treatment improves social and object recognition in double transgenic APPswe/PS1E9 mice*. Psychopharmacology (Berl), 2014. **231**(15): p. 3009-17.
33. Cheng, D., et al., *Long-term cannabidiol treatment prevents the development of social recognition memory deficits in Alzheimer's disease transgenic mice*. J Alzheimers Dis, 2014. **42**(4): p. 1383-96.
34. Watt, G., et al., *Chronic Treatment with 50 mg/kg Cannabidiol Improves Cognition and Moderately Reduces Abeta40 Levels in 12-Month-Old Male AbetaPPswe/PS1DeltaE9 Transgenic Mice*. J Alzheimers Dis, 2020. **74**(3): p. 937-950.