

Contenido:

1. Saludo del Presidente
2. Premio de la 11ª Reunión Anual de la SEIC, Pontevedra, 2010: "Differential role of anandamide and 2-arachidonoylglycerol in memory and anxiety-like responses" (Arnau Busquets-García)
3. Premio de la 11ª Reunión Anual de la SEIC, Pontevedra, 2010: "WIN 55,212-2 attenuates brain damage after perinatal hypoxic-ischemic injury" (Daniel Alonso-Alconada)
4. Artículo: "Cannabis antibacteriano" (Eduardo Muñoz y Giovanni Appendino)
5. Agenda
6. Últimas publicaciones sobre cannabinoides de investigadores españoles

1. Saludo del Presidente

Estimados miembros de la SEIC,

Lo primero que quiero hacer en esta carta del último boletín del curso 2010-2011 es desearos que tengáis un feliz verano lleno de descanso, ocio y aventuras. Creo que nos lo hemos merecido después de unos meses que seguro que han resultado exhaustivos en todo tipo de tareas. Venimos de mucha actividad, lo que se demuestra por la larga lista de artículos científicos, revisiones y libros publicados por los grupos y personas de la SEIC, y que hemos ido recogiendo en estos últimos boletines, por los muchos congresos, simposios, seminarios, etc., de los que también nos hemos ido haciendo eco en estas páginas, y también por algo quizás menos evidente, menos público, pero también a valorar que son las tesis doctorales que se han presentado en numerosas universidades del país por parte de investigadores jóvenes. Que yo recuerde ahora mismo, al menos 6 que son en las que he tenido el placer de participar en la correspondiente comisión, pero seguro que hay muchas otras, y que, como siempre hemos dicho, son una garantía del futuro joven y prometedor que tiene esta sociedad científica. Desde aquí mi enhorabuena a todos ellos y ellas que se han doctorado con una tesis "cannabinóloga" en este curso académico.

Bueno, pues descanso, ocio y aventura para este verano, y sobre todo cargar las pilas que lo que se avecina en el próximo no es peor y no es menos. Empezaremos justo en los últimos días de vacaciones con un simposio ("The endocannabinoid system: novel therapeutic opportunities in brain repair?") dentro de la reunión conjunta de las sociedades europea e internacional sobre neuroquímica (ISN-ESN) que se celebrará en Atenas del 28 de Agosto al 1 de Septiembre. También a primeros de Septiembre tendremos la reunión conjunta del workshop europeo (5ª edición) y la IACM, que se celebrará en Bonn con un atractivo programa científico en el que participarán algunos investigadores de la SEIC (dentro del boletín tenéis la información precisa). Seguiremos con alguna actividad específica sobre los cannabinoides ("Endocannabinoides en la comunicación interneuronal en el sistema nervioso") dentro de la reunión bianual de la SENC (Sociedad Española de Neurociencia) que se celebrará en Salamanca a finales de Septiembre. En Noviembre celebraremos nuestra 12ª reunión anual en Pamplona, para la que

contaremos con Beat Lutz como invitado para la conferencia inaugural, y para la que ya estamos trabajando en un programa atractivo y a gusto de todos los participantes. En Septiembre os enviaremos la segunda circular sobre la reunión. Ya metidos en 2012, tendremos muchas actividades especialmente en los meses de Junio y Julio ya que se juntará la reunión de la ICRS que se celebrará en Friburgo, Alemania, en plena Selva Negra, con un simposio sobre cannabinoides ("Phytocannabinoid-based medicines: promising perspectives for brain disorders") en la reunión de la EPHAR en Granada (del 17 al 20 de Julio) y un simposio satélite ("The cannabinoid system as a therapeutic target in neurological disorders") que se celebrará el día anterior (13 de Julio) al inicio del FENS-Forum 2012 (14 al 18 de Julio) de Barcelona. Mucha actividad que esperamos que sea motivo de orgullo y sobre todo de ánimo para seguir adelante en esta tarea de investigar sobre los cannabinoides.

Un abrazo y Feliz Verano

Javier Fernández Ruiz

2. Premio de la 11ª Reunión Anual de la SEIC, Pontevedra, 2010

DIFFERENTIAL ROLE OF ANANDAMIDE AND 2-ARACHIDONOYLGLYCEROL IN MEMORY AND ANXIETY-LIKE RESPONSES

Arnau Busquets-García

Universidad Pompeu Fabra, Barcelona

El sistema endocannabinoide regula distintos procesos fisiológicos como son la memoria (1), ansiedad (2) y analgesia (3). Los agonistas cannabinoides son agentes con un gran potencial terapéutico aunque uno de los principales problemas de su empleo es el deterioro de los procesos cognitivos (4, 5, 6). Una alternativa para evitar esta limitación consiste en aumentar específicamente la concentración de los principales cannabinoides endógenos como la anandamida (AEA) y el 2-araquidonoilglicerol (2-AG).

En los últimos años se han desarrollado fármacos capaces de actuar selectivamente sobre componentes del sistema endocannabinoide lo que ha permitido estudiar sus funciones más relevantes y con ello caracterizar posibles dianas terapéuticas encuadradas en este sistema neuromodulador. Además de agonistas y antagonistas específicos de los receptores para cannabinoides, se han desarrollado inhibidores capaces de reducir la actividad de las enzimas que metabolizan los principales endocannabinoides: amido hidrolasa de ácidos grasos (fatty acid amide hydrolase, FAAH, involucrada en el metabolismo de AEA) y mono-

acilglicerol lipasa (monoacyl glycerol lipase, MAGL, involucrada en el metabolismo de 2-AG).

Utilizando dosis bajas de los inhibidores selectivos para las enzimas encargadas de la degradación de AEA y 2-AG hemos conseguido aumentar independientemente los niveles endógenos de AEA (mediante el inhibidor URB597, 1 mg/kg) y 2-AG (mediante el inhibidor JZL184, 8 mg/kg) en cerebro de ratón. De esta manera hemos estudiado el efecto agudo y crónico de la modulación de estos endocannabinoides en la consolidación de la memoria, la ansiolisis y la analgesia.

Para estudiar los efectos sobre la consolidación de la memoria hemos empleado el test de reconocimiento de objetos, administrando de forma aguda o crónica estos inhibidores justo después de la fase de entrenamiento. De esta manera, sólo el aumento específico de los niveles de AEA, mediante URB597, y no el aumento de los niveles de 2-AG producido por JZL184, produjo efectos deletéreos en la memoria de reconocimiento. Además hemos demostrado cómo el aumento específico de AEA produce la activación de la vía de señalización intracelular mTOR en el hipocampo, un efecto que se relaciona con los posibles efectos amnésicos de los cannabinoides, como se describió para el delta9-tetrahidrocannabinol (THC) (7).

Para estudiar los posibles efectos del aumento específico de los dos principales endocannabinoides en el control de la ansiedad

hemos empleado el test del laberinto en cruz elevado. En este sentido, era previamente conocido el efecto ansiolítico de la administración de URB597, siendo estos efectos dependientes del receptor cannabinoide CB1 (8). La administración de JZL184 también produjo efectos ansiolíticos, aunque sorprendentemente estos efectos se preservaban en los animales que no expresan el receptor CB1, o en animales que habían sido pre-tratados con rimonabant (antagonista del receptor CB1). En cambio, el efecto ansiolítico del JZL184 desapareció cuando administramos JZL184 a ratones que no expresan el receptor CB2 o que habían sido pre-tratados con antagonistas específicos del receptor CB2 (AM630 o SR144528). Este interesante resultado va en la línea de estudios recientes que relacionan el receptor CB2 en el control de la ansiedad (9).

Por último, otro de los principales problemas del posible uso terapéutico de los cannabinoides es el desarrollo de tolerancia a sus efectos farmacológicos (9) debido en cierta manera, a la reducción de la expresión del receptor CB1 después de una exposición prolongada a agonistas cannabinoides (11). En este estudio hemos observado que la administración crónica de cualquiera de los dos inhibidores específicos de la degradación de endocannabinoides, preserva los efectos analgésicos en un test de dolor visceral y los efectos ansiolíticos en el test del laberinto en cruz elevado. Además, después del tratamiento crónico con URB597 o JZL184 no se observaron diferencias en el nivel de expresión de los receptores CB1, mientras que la administración de THC durante el mismo tiempo sí producía una clara disminución en la expresión de este receptor.

En resumen, los resultados de este trabajo demuestran que la AEA juega un papel importante regulando la consolidación de la memoria, mientras que el 2-AG parece no estar implicado en este tipo de proceso. Además, los dos fármacos inducen efectos ansiolíticos mediante la activación de distintos receptores cannabinoides, CB1 en el caso de la AEA y CB2 en el caso del 2-AG. Además, los efectos analgésicos y ansiolíticos de estos inhibidores, se mantienen después de un tratamiento crónico evitando así la posible tolerancia a los efectos con potencial uso terapéutico de los cannabinoides. Por último, estos resultados disocian el papel de la AEA y del 2-AG en la modula-

ción de la memoria y la ansiedad, y postulan al receptor CB2 como una nueva diana para tratar problemas relacionados con la ansiedad.

Referencias

1. Marsicano G, Wotjak CT, Azad SC, Bisogno T, Rammes G, Cascio MG, et al. (2002): The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. *Nature* 418:530-534.
2. Ahn K, McKinney MK, Cravatt BF (2008): Enzymatic pathways that regulate endocannabinoid signaling in the nervous system. *Chemical Reviews* 108:1687-1707.
3. Pertwee RG (2001): Cannabinoid receptors and pain. *Prog Neurobiol* 63:569-611.
4. Ranganathan M, D'Souza DC (2006): The acute effects of cannabinoids on memory in humans: a review. *Psychopharmacology* 188:425-444.
5. Castellano C, Rossi-Arnaud C, Cestari V, Costanzi M (2003): Cannabinoids and memory: animal studies. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 2:389-402.
6. Honarmand K, Tierney MC, O'Connor P, Feinstein A. (2011): Effects of cannabis on cognitive function in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 76:1153-60.
7. Puighermanal E, Marsicano G, Busquets-García A, Lutz B, Maldonado R, Ozaita A (2009): Cannabinoid modulation of hippocampal long-term memory is mediated by mTOR signaling. *Nat Neurosci* 12:1152-1158.
8. Moreira FA, Kaiser N, Monory K, Lutz B. (2008): Reduced anxiety-like behaviour induced by genetic and pharmacological inhibition of the endocannabinoid-degrading enzyme fatty acid amide hydrolase (FAAH) is mediated by CB1 receptors. *Neuropharmacology* 54:141-150.
9. García-Gutiérrez MA, Manzanares J. (2010): Overexpression of CB2 cannabinoid receptors decreased vulnerability to anxiety and impaired anxiolytic action of alprazolam in mice. *J Psychopharmacol* [Epub ahead of print].
10. Suplita RL 2nd, Eisenstein SA, Neely MH, Moise AM, Hohmann AG (2008): Cross-sensitization and cross-tolerance between exogenous cannabinoid antinociception and endocannabinoid-mediated stress-induced analgesia. *Neuropharmacology* 54:161-171.
11. Sim-Selley LJ (2003): Regulation of cannabinoid CB1 receptors in the central nervous system by chronic cannabinoids. *Crit Rev Neurobiol* 15:91-119.

3. Premio de la 11ª Reunión Anual de la SEIC, Pontevedra, 2010

WIN 55,212-2 ATTENUATES BRAIN DAMAGE AFTER PERINATAL HYPOXIC-ISCHEMIC INJURY

Daniel Alonso-Alconada

Universidad del País Vasco

Pese a los avances de la Neonatología y la Perinatología, la asfixia perinatal afecta a 2-6 de cada 1000 recién nacidos [1], relación que aumenta hasta el 60% en el caso de los recién nacidos pre-término. El daño cerebral hipóxico-isquémico que tiene lugar durante el periodo perinatal es la causa más frecuente de déficits neurológicos severos a largo plazo en niños [2-4]. Esta patología puede desembocar en la muerte del neonato y, entre otros, producir alteraciones motoras y afectar a áreas del conocimiento y de la conducta [5].

La hipoxia-isquemia (HI) inicia una cadena de acontecimientos sumamente compleja, que continúa y se amplifica durante el periodo de recuperación tras la reanimación del recién nacido, y que, a menudo, lesiona la totalidad del cerebro [6]. La disminución del aporte de oxígeno al cerebro causa la lesión directa de las neuronas, debido al déficit energético derivado de la precariedad de oxígeno a nivel tisular [7], la rápida extinción de fosfatos de alta energía, el aumento de lactato y la exacerbación de la acidosis producida por el incremento del CO₂ secundario a la asfixia [8]. Además, la hipoxia desencadena múltiples cascadas bioquímicas que contribuyen a la patogénesis del daño cerebral HI, destacando el papel desempeñado por los aminoácidos excitatorios, los radicales libres, el calcio libre intracelular, el óxido nítrico y las citoquinas [5, 9-12]. Todos estos factores determinarán que algunas células neurales mueran y otras permanezcan en estado de penumbra isquémica. Muchas de ellas finalmente morirán, a pesar de restablecerse el flujo sanguíneo cerebral, en un fenómeno denominado muerte celular retrasada y cuya expresión celular es la necrosis selectiva y la apoptosis.

Existen razones para pensar que el empleo de los cannabinoides en el tratamiento del daño HI puede generar buenos resultados tras su aplicación clínica, ya que mientras que muchos de los agentes empleados hasta la fecha no pueden atravesar la barrera hematoencefálica, los cannabinoides no presentan este problema, debido a su carácter lipofílico. Además, el sistema endocannabinoide endógeno es multifactorial, y mediante el empleo de un solo tipo de droga se puede actuar en una gran cantidad de rutas bioquímicas, entre las que se encuentran la inhibición de la entrada intraneuronal de calcio, la modulación de la producción tóxica de óxido nítrico, el descenso en la liberación de citoquinas, la inducción de hipotermia, la vasodilatación de arterias cerebrales y el efecto promotor de la supervivencia de los precursores oligodendrogliciales [13-19], mecanismos de acción todos ellos implicados en el posible efecto neuroprotector de los cannabinoides tras HI neonatal.

En este sentido, el objetivo principal del presente trabajo fue evaluar la eficacia del agonista cannabinoide WIN 55,212-2 en la disminución del daño cerebral en los primeros momentos tras el evento HI inducido por la oclusión parcial del cordón umbilical en corderos prematuros.

Para ello, nos planteamos en primer lugar valorar la capacidad del cannabinoide para evitar la muerte celular/tisular tras el daño, cuantificando y valorando su extensión y su patrón de distribución. Posteriormente decidimos estudiar las principales vías celulares implicadas en la lesión cerebral tras HI utilizando diferentes marcadores biológicos in vivo (grado de muerte celular (Anexina V y IP), niveles de potencial (Rh123) e integridad (NAO) de la membrana mitocondrial, fluctuaciones de los niveles de calcio intracelular (Fluo-3) y producción de radicales superóxido (DCFDA), y analizar la posible modulación de las mismas tras la administración del cannabinoide.

18 corderos pretérmino fueron asignados aleatoriamente a los siguientes grupos experimentales: un grupo Control y dos grupos HI, recibiendo estos últimos, o no, una dosis i.p. de 0.01 µg/kg de WIN inmediatamente después del daño (generado me-

dian­te la oclu­sión par­cial del cor­dón um­bi­li­cal du­ran­te 60min). To­dos los ani­ma­les fue­ron man­te­ni­dos du­ran­te 3 ho­ras me­di­an­te téc­ni­cas con­ven­cio­na­les de ven­ti­la­ción me­cá­ni­ca has­ta su sacri­fi­cio. Los ce­re­bros fi­ja­dos fue­ron des­ti­na­dos pa­ra los es­tu­dios de va­lo­ra­ción del pa­trón de mu­er­te ce­lu­lar (ne­cro­sis: Nissl y apo­pto­sis: TUNEL) y los no fi­ja­dos fue­ron dis­gre­ga­dos, mar­ca­dos con los di­fe­ren­tes fluo­ro­cromos *in vivo* y ana­li­za­dos me­di­an­te ci­to­me­tría de flu­jo pa­ra el es­tu­dio de las prin­ci­pa­les vías mo­le­cu­la­res im­pli­ca­das en el da­ño.

La cuan­ti­fi­ca­ción de cé­lu­las con cam­bios coa­gu­la­ti­vos ca­rac­te­ris­ti­cos de ne­cro­sis re­ve­ló que el tra­ta­mien­to con el ago­ni­sta can­na­bi­noi­de no dis­mi­nu­yó su nú­me­ro res­pec­to al gru­po que no re­ci­bió tra­ta­mien­to, apa­re­ci­en­do en nú­me­ro y lo­ca­li­za­ción si­mi­lar en los dos gru­pos ex­pe­ri­men­ta­les so­me­ti­dos a HI. Este he­cho nos su­ge­ri­ó que el da­ño le­tal in­ci­al y di­rec­to pro­du­ci­do por la a­gre­sión HI no es re­ver­si­ble y que nues­tra in­ter­ven­ción de­be es­tar di­ri­gi­da a mi­ti­gar la mu­er­te ce­lu­lar se­cun­da­ria.

A di­fe­ren­cia de los re­sul­ta­dos ob­te­ni­dos en el es­tu­dio de ne­cro­sis, sí ob­ser­va­mos di­fe­ren­cias en el nú­me­ro de cé­lu­las TUNEL po­si­ti­vas, en­ten­di­en­do que cor­res­pon­den tan­to a cé­lu­las que eje­cu­tan la vía de la apo­pto­sis o que pue­den su­frir una ne­cro­sis se­cun­da­ria. En cual­quier ca­so, se tra­ta de cé­lu­las que tie­nen una mu­er­te di­fe­ri­da, y que ge­né­ricamente re­fe­ri­re­mos como apo­pto­ti­cas. Así, los ani­ma­les per­te­nen­cien­tes al gru­po ex­pe­ri­men­tal que re­ci­bió tra­ta­mien­to con el ago­ni­sta can­na­bi­noi­de WIN 55,212-2, pre­sen­ta­ron un des­cen­so ($p < 0.05$) en el nú­me­ro de cé­lu­las apo­pto­ti­cas con res­pec­to al gru­po HI.

Pos­te­rior­mente com­pro­ba­rí­a­mos cómo los re­sul­ta­dos de los es­tu­dios in­tra­ce­lu­la­res *in vivo* apo­ya­ban nues­tros hallazgos en los es­tu­dios mor­fo­ló­gi­cos, po­ni­en­do de ma­ni­fi­es­to el pa­pel pro­tec­tor del WIN.

Me­di­an­te el es­tu­dio de la An­exina V se lle­vó a ca­bo el aná­li­sis de la si­me­tría de la mem­bra­na ce­lu­lar. Así, pu­di­mos con­sta­tar la pre­sen­cia de cé­lu­las apo­pto­ti­cas en el gru­po HI y como tras la ad­mi­nis­tra­ción del WIN, los va­lo­res de cé­lu­las po­si­ti­vas pa­ra la An­exina V dis­mi­nu­ye­ron sig­ni­fi­ca­ti­vamente en to­das las re­gi­o­nes es­tu­di­a­das, in­di­can­do un des­cen­so en el nú­me­ro de cé­lu­las apo­pto­ti­cas. En con­so­nan­cia con los re­sul­ta­dos ob­te­ni­dos en el es­tu­dio mor­fo­ló­gi­co de la ne­cro­sis me­di­an­te la tin­ción de Nissl, no se

pro­du­jo un des­cen­so sig­ni­fi­ca­ti­vo en el nú­me­ro de cé­lu­las po­si­ti­vas pa­ra el IP tras la ad­mi­nis­tra­ción del WIN, se­ña­lan­do que la mu­er­te ce­lu­lar ne­cró­ti­ca no po­dría ser re­ver­ti­da me­di­an­te este tra­ta­mien­to.

Pues­to que la mi­to­con­dria de­se­mpeña un pa­pel cru­cial en el man­te­ni­mien­to de la fun­cio­nalidad ce­lu­lar, se re­a­li­zó una va­lo­ra­ción de la ac­ti­vi­dad mi­to­con­dria­li­ca me­di­an­te la Rh 123 y la NAO. En am­bos es­tu­dios pu­di­mos com­pro­bar cómo se pro­du­cía un des­cen­so en el por­cen­ta­je de cé­lu­las po­si­ti­vas pa­ra la Rh 123 y pa­ra la NAO en el gru­po HI res­pec­to al con­tro­l, y cómo tras la ad­mi­nis­tra­ción del WIN, no se pro­du­cía este des­cen­so en nin­gu­na de las re­gi­o­nes del ce­re­bro es­tu­di­a­das. Asi­mis­mo, el gru­po tra­ta­do pre­sen­ta­ba va­lo­res si­mi­la­res al gru­po con­tro­l, su­ge­rien­do que la dis­fun­ción mi­to­con­dria­li­ca en el te­ji­do ce­re­bral es res­ta­ble­ci­da por el tra­ta­mien­to.

En un úl­ti­mo es­tu­dio, uti­li­za­mos el Fluo-3 como mar­ca­dor pa­ra el aná­li­sis de la con­cen­tra­ción de Ca^{2+} li­bre ci­to­so­lú­ci­co, y pu­di­mos ob­ser­var un in­cre­men­to sig­ni­fi­ca­ti­vo en el gru­po HI en to­das las á­reas es­tu­di­a­das. Tras la ad­mi­nis­tra­ción del WIN 55,212-2, los re­sul­ta­dos ob­te­ni­dos con el Fluo-3 in­di­ca­ron un des­cen­so de Ca^{2+} ci­to­so­lú­ci­co en los ani­ma­les tra­ta­dos con el can­na­bi­noi­de, en re­gi­o­nes ta­les como el hi­po­cam­po, el tron­co­en­cé­falo y el ce­re­be­lo, has­ta va­lo­res si­mi­la­res a los del gru­po con­tro­l.

En re­su­men, nues­tros re­sul­ta­dos su­ge­rien que la ad­mi­nis­tra­ción del ago­ni­sta can­na­bi­noi­de WIN 55,212-2 tras el da­ño HI ce­re­bral en cor­de­ros pre­tér­mi­no no re­duce la mu­er­te ce­lu­lar por ne­cro­sis, pe­ro re­duce sig­ni­fi­ca­ti­vamente los va­lo­res de mu­er­te ce­lu­lar por apo­pto­sis. Por otro la­do, el WIN con­si­gue man­te­ner al­gu­nos de los pa­rá­me­tros in­tra­ce­lu­la­res in­volu­cra­dos en las cas­ca­das lesi­vas si­mi­la­res a los ob­ser­va­dos en el gru­po con­tro­l, su­ge­rien­do que el tra­ta­mien­to con WIN pu­die­ra pre­sen­tar po­ten­cial te­ra­péu­ti­co tras el da­ño HI ne­o­na­tal.

Referencias

[1] de Hann M, Wyatt JS, Roth S, Vargha-Khadem F, Gadian D, Mishki M. Brain and cognitive-behavioural development after asphyxia at term birth. *Dev Sci* 2006; 9: 350-8.

- [2] du Plessis AJ, Volpe JJ. Perinatal brain injury in the preterm and term newborn. *Curr Opin Neurol* 2002; 15: 151-7.
- [3] Hamrick SE, Ferriero DM. The injury response in the term newborn brain: can we neuroprotect? *Curr Opin Neurol* 2003; 16: 147-54.
- [4] Perlman JM. Brain injury in the term infant. *Semin Perinatol* 2004; 28: 415-24.
- [5] Edwards AD, Azzopardi DV. Perinatal hypoxia-ischemia and brain injury. *Ped Res* 2000; 47: 431-2.
- [6] Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM. Nelson, Tratado de Pediatría. 15ª edición. Mc Graw-Hill Interamericana. Madrid. 1997.
- [7] Marks DB, Marks AD, Smith Cm. Basic medical biochemistry. A clinical approach. Williams & Wilkins. Baltimore, USA, 1996.
- [8] Cater HL, Chandratheva A, Benham CD, Morrison B, Sundstrom LE. Lactate and glucose as energy substrates during, and after, oxygen deprivation in rat hippocampal acute and cultured slices. *J Neurochem* 2003; 87: 1381-90.
- [9] Grow J, Barks JD. Pathogenesis of hypoxic-ischemic cerebral injury in the term infant: Current concepts. *Clin Perinatol* 2002; 29: 585-602.
- [10] Edwards AD, Yue X, Cox P, Hope PL, Azzopardi DV, Squier MV, Mehmet H. Apoptosis in the brains of infants suffering intrauterine cerebral injury. *Pediatr Res* 1997; 42: 684-9.
- [11] Biagas K. Hypoxic-ischemic brain injury: advancements in the understanding of mechanisms and potential avenues for therapy. *Curr Opin Pediatr* 1999; 11: 223-8.
- [12] Dammann O, Leviton A. Brain damage in preterm newborns: biological response modification as a strategy to reduce disabilities. *J Pediatr* 2000; 136: 433-6.
- [13] Waksman Y, Olson JM, Carlisle SJ, Cabral GA. The central cannabinoid receptor (CB1) mediates inhibition of nitric oxide production by rat microglial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 288(3): 1357-66.
- [14] Klein TW, Lane B, Newton CA, Friedman H. The cannabinoid system and cytokine network. *Proc Soc Exp Biol Med* 2000; 225: 1-8.
- [15] Grundy RI, Rabuffetti M, Beltramo M. Cannabinoids and neuroprotection. *Mol Neurobiol* 2001; 24: 29-51.
- [16] Molina-Holgado E, Vela JM, Arévalo-Martín A, Almazán G, Molina-Holgado F, Borrell J, Guaza C. Cannabinoids promote oligodendrocyte progenitor survival: involvement of cannabinoid receptors and phosphatidylinositol-3 kinase/Akt signaling. *J Neurosci* 2002; 22: 9742-53.
- [17] Mechoulam R, Panikashvili D, Shohami E. Cannabinoids and brain injury. Therapeutic implications. *Trends Mol Med* 2002; 8: 58-61.
- [18] Howlett AC, Breivogel CS, Childers SR, Deadwyler SA, Hampson RE, Porrino LJ. Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. *Neuropharmacology*. 2004; 47 Suppl 1: 345-58.
- [19] Viscomi MT, Oddi S, Latini L, Pasquariello N, Florenzano F, Bernardi G, Molinari M, Maccarone M. Selective CB2 receptor agonism protects central neurons from remote axotomy-induced apoptosis through the PI3K/Akt pathway. *J Neurosci* 2009; 29: 4564-70.

4. Artículo

CANNABIS ANTIBACTERIANO

Eduardo Muñoz¹
Giovanni Appendino²

¹Universidad de Córdoba

²Università del Piemonte Orientale, Novara, Italia

Recientemente hemos asistido a una nueva epidemia causada por un agente infeccioso, en este caso bacteriano. Según la OMS la infección por la *Escherichia coli* responsable de esta epidemia mortal ha dejado 50 muertos y 4.400 infectados en Europa y ha sido causada por una nueva cepa resultante de una combinación entre dos variantes conocidas y más comunes de la bacteria,

por lo que se trata de un cruce y no de una mutación. Esta nueva cepa produce la toxina Shiga que es la causante de síndrome urémico hemolítico responsable de la mayoría de las muertes ocurridas durante la epidemia.

La resistencia a antibióticos representa un grave problema sanitario y es, probablemente, una condición que ha favorecido la aparición de esta nueva cepa de *E. coli*, la cual es resistente a ocho tipos distintos de antibióticos. La resistencia a antibióticos está mediada fundamentalmente por las bombas de eflujo (EP) que son capaces de expulsar diversas moléculas incluidos los antibióticos dando lugar a bacterias resistentes a fármacos (MDR; *multidrug resi-*

tant). Ejemplos de bacterias MDR son los *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, y como no la *Escherichia coli*, además de algunas micobacterias.

El *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina (MRSA) es un grave problema sanitario y causa infecciones en piel y tejidos blandos principalmente. En Reino Unido el número de muertes por MRSA aumentó de 398 en 1.998 a 1.168 en 2004. En los últimos 30 años solamente una nueva clase de antibióticos ha sido introducida en el mercado y por tanto existe una urgente necesidad de nuevos antibióticos o de estrategias terapéuticas que mejoren la actividad de los actuales. Una de estas estrategias sería el uso de combinaciones de inhibidores de EP con antimicrobianos y en este sentido diversos metabolitos de plantas se han identificado como inhibidores de EP (Stavri y cols, 2007). Así, los compuestos derivados de plantas representan una oportunidad de oro para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos que pueden actuar sobre diferentes dianas moleculares.

Aunque actualmente la actividad antimicrobiana no es una de las más conocidas y estudiadas en la planta *Cannabis sativa*, esta actividad está documentada desde tiempos ancestrales y demostrada científicamente en tiempos más recientes.

Las primeras indicaciones del uso médico del *Cannabis* se describen el papiro de Ebers, el cual fue escrito 1.500 años A.C. durante el reinado de Amenhotep I y en el que ya se describe una receta para el tratamiento de uñeros mediante cataplasmas donde se incluía *Cannabis* en combinación con otros componentes. Otras descripciones del uso tópico de preparados de *Cannabis* también se encuentran descritas en los papiros de Herts y de Berlín. También se describe la acción antihelmíntica tópica, lo que también fue descrito por Celso 1.700 después. Desde esa fecha hasta principios del siglo XX existen numerosas citas del uso de *Cannabis* como agente antimicrobiano y antiparasitario. En el siglo XIX eran enormemente populares las tinturas de *Cannabis* para el tratamiento de los helomas y prácticamente todos los preparados farmacéuticos contenían extracto de la planta en su composición. Los helomas son a menudo la causa de importantes infecciones en el pie diabético. Estas tinturas eran usadas no solamente por su actividad antibacteriana

sino también como colorantes. Esta práctica tan popular decreció y prácticamente desapareció en 1937 con la aplicación de una ley en USA que aplicaba un impuesto sobre todas las aplicaciones médicas de la marihuana (Marihuana Tax Act Pub. 238, 75th Congress, 50 Stat. 551. Aug. 2, 1937).

En los años 50 renació el interés en estudiar la actividad antibacteriana del *Cannabis* usado de forma tópica para infecciones de la piel y de la cavidad bucal (Krcji, Z. 1952). Sin embargo es esa época la investigación fitoquímica de la planta se encontraba todavía en sus albores y la actividad antiséptica no podía asignarse a ningún compuesto específico aislado de la planta. Las primeras evidencias de la actividad antimicrobiana de los cannabinoides datan de 1959, en donde se describe el efecto antibacteriano del pre-cannabidiol (Schultz and Haffner, 1959). Un poco más adelante en el tiempo también se pudo identificar esta actividad para el cannabicromeno (CBC), el cannabigerol (CBG), el cannabidiol (CBD) e incluso para el tetrahidrocannabinol (THC). Estas investigaciones, junto con el hecho de que otros compuestos aislados de la planta no tienen actividad antimicrobiana, revelan la importancia de los fitocannabinoides como compuestos que presentan un importante potencial de desarrollo como fármacos antibacterianos.

Este potencial se ha visto reforzado por la demostración de que ciertos fitocannabinoides presentan una potente actividad antibacteriana sobre MRSA. De estos fitocannabinoides el CBG y el CBD son especialmente potentes con un MIC de 1 µg/ml sobre 6 cepas MRSA. Estos dos compuestos son entre 4 y 8 veces más potentes que el THC en su actividad antibacteriana reforzando aún más el hecho de que las propiedades medicinales del *Cannabis* van más allá de un efecto mediado por el THC (Appendino y cols, 2008). Además, de la actividad antibacteriana directa, la planta contiene una gran variedad de compuestos fenólicos muy similares a otros compuestos aislados de otras plantas y que tienen capacidad de inhibir las EPs bacterianas (Stavri y cols, 2007). Sería muy interesante investigar si los compuestos cannabinoides y no cannabinoides del *Cannabis* potencian la actividad de los antibióticos clásicos en MRSA.

Dada la disponibilidad de variedades de *C. sativa* que producen altas concentraciones de fitocannabinoides no psicotrópicos (especialmente CBG y CBD), esta planta representa una importante fuente de agentes antibacterianos contra MRSA resistentes a mupirocina (el fármaco de elección) y otras cepas patógenas. Aunque el uso sistémico de fitocannabinoides antibacterianos está lejos de ser demostrado, su uso tópico (infecciones de piel, bucales, conjuntivas...) es muy prometedor dados los antecedentes históricos y científicos de esta planta. Además, dado que la actividad anti-MRSA de los fitocannabinoides no cambia con las modificaciones en el grupo prenilo se podrían desarrollar también preparaciones de bajo coste conteniendo mezclas semipurificadas de fitocannabinoides como anti-

sépticos alternativos al uso de compuestos sintéticos, que están siendo cuestionados por su eficacia y por efectos negativos sobre el medio ambiente.

Referencias

1. Stavri M., Piddock, L.J.V., and Gibbons S. 2007. *J. Antimicrob Chemother.* 59, 1247-1260
2. Krjci, Z. *Lekarske Listy* 1952, 7, 500–503; *Chem. Abstr.* 1952, 48, 78326.
3. Schultz O. E., Haffner, G. A. Z. *Naturforsch.* 1959, 14b, 98–100.
4. Appendino, G., Gibbons, S., Giana, A., Pagani, A., Grassi, G, Stavri, M., Smith, E., and Rahman, M.M. 2008. *J. Nat. Prod.* 71, 1427-1430

5. Agenda

Congresos sobre cannabinoides

IACM 6th Conference on Cannabinoids in Medicine & 5th European Workshop on Cannabinoid Research
8-10 septiembre de 2011
Bonn, Alemania
Más información: <http://www.bonn2011.org>

12ª Reunión Nacional de la SEIC
24-26 noviembre de 2011
Pamplona
Más información: <http://www.ucm.es/info/seic-web>

Otros congresos de interés

XIV Congreso Nacional Sociedad Española de Neurociencia
28-30 septiembre de 2011
Salamanca
Más información: <http://www.senc2011.com/salamanca.html>

24th ECNP Congress
3-7 septiembre de 2011
París, Francia
Más información: <http://www.ecnp-congress.eu>

Society for Neuroscience meeting
12-16 noviembre de 2011
Washington DC, USA
Más información: <http://www.sfn.org/am2011>

6. Últimas publicaciones sobre cannabinoides de investigadores españoles

Altered expression of neuronal tryptophan hydroxylase-2 mRNA in the dorsal and median raphe nuclei of three genetically modified mouse models relevant to depression and anxiety. Jahanshahi A, Le Maitre E, Temel Y, Lanfumey L, Hamon M, Lesch KP, Tordera RM, Del Río J, Aso E, Maldonado R, Hökfelt T, Steinbusch HW. *J Chem Neuroanat*. 2011 Jun 15. [Epub ahead of print]

The endocannabinoid system in the regulation of emotions throughout lifespan: a discussion on therapeutic perspectives. Marco EM, Laviola G. *J Psychopharmacol*. 2011 Jun 27. [Epub ahead of print]

Differential role of anandamide and 2-arachidonoylglycerol in memory and anxiety-like responses. Busquets-García A, Puighermanal E, Pastor A, de la Torre R, Maldonado R, Ozaita A. *Biol Psychiatry*. 2011 Jun 18. [Epub ahead of print]

Screening and quantitation of multiclass drugs of abuse and pharmaceuticals in hair by fast liquid chromatography electrospray time-of-flight mass spectrometry. Domínguez-Romero JC, García-Reyes JF, Molina-Díaz A. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2011 May 30. [Epub ahead of print]

Development of endocannabinoid-based chemical probes for the study of cannabinoid receptors. Martín-Couce L, Martín-Fontecha M, Capolicchio S, López-Rodríguez ML, Ortega-Gutiérrez S. *J Med Chem*. 2011 Jun 27. [Epub ahead of print]

Involvement of cannabinoid CB1 receptor in associative learning and in hippocampal CA3-CA1 synaptic plasticity. Madroñal N, Gruart A, Valverde O, Espadas I, Moratalla R, Delgado-García JM. *Cereb Cortex*. 2011 Jun 14. [Epub ahead of print]

Cannabinoid CB2 receptor-mediated regulation of impulsive-like behaviour in DBA/2 mice. Navarrete F, Pérez-Ortiz JM, Manzanares J. *Br J Pharmacol*. 2011 Jun 15. [Epub ahead of print]

The endocannabinoid system in critical neurodevelopmental periods: sex differences and neuropsychiatric implications. Viveros MP, Llorente R, Suarez J, Llorente-Berzal A, Lopez-Gallardo M, Rodriguez de Fonseca F. *J Psychopharmacol*. 2011 Jun 13. [Epub ahead of print]

Roles of G1359A polymorphism of the cannabinoid receptor gene (CNR1) on weight loss and adipocytokines after a hypocaloric diet. De Luis DA, González Sagrado M, Aller R, Conde R, Izaola O, de la Fuente B, Primo D. *Nutr Hosp*. 2011 Mar-Apr;26(2):317-22.

Anti-tumoral action of cannabinoids on hepatocellular carcinoma: role of AMPK-dependent activation of autophagy. Vara D, Salazar M, Olea-Herrero N, Guzmán M, Velasco G, Díaz-Laviada I. *Cell Death Differ*. 2011 Jul;18(7):1237.

Dual inhibition of alpha/beta hydrolase domain 6 and fatty acid amide hydrolase increases endocannabinoid levels in neurons. Marrs WR, Horne EA, Ortega-Gutierrez S, Cisneros JA, Xu C, Lin YH, Muccioli GG, Lopez-Rodriguez ML, Stella N. *J Biol Chem*. 2011 Jun 10.

Evaluation of the presence of drugs of abuse in tap waters. Rosa Boleda M, Huerta-Fontela M, Ventura F, Galceran MT. *Chemosphere*. 2011 Jun 9. [Epub ahead of print]

Neurobiological background for the development of new drugs in schizophrenia. López-Muñoz F, Alamo C. *Clin Neuropharmacol*. 2011 May-Jun;34(3):111-26.

Prospects for cannabinoid therapies in basal ganglia disorders. Fernández-Ruiz J, Moreno-Martet M, Rodríguez-Cueto C, Palomo-Garo C, Gómez-Cañas M, Valdeolivas S, Guaza C, Ro-

mero J, Guzmán M, Mechoulam R, Ramos JA. *Br J Pharmacol*. 2011 Mar 24. [Epub ahead of print]

Role of G1359A polymorphism of the cannabinoid receptor gene on weight loss and adipocytokines levels after two different hypocaloric diets. Antonio de Luis D, Sagrado MG, Aller R, Conde R, Izaola O, de la Fuente B, Primo D. *J Nutr Biochem*. 2011 May 2. [Epub ahead of print]

Cannabis use in patients with fibromyalgia: effect on symptoms relief and health-related quality of life. Fiz J, Durán M, Capellà D, Carbonell J, Farré M. *PLoS One*. 2011 Apr 21;6(4):e18440.

Positron Emission Tomographic Imaging of the Cannabinoid Type 1 Receptor System with [(11)C]OMAR ([(11)C]JHU75528): Improvements in Image Quantification Using Wild-Type and Knockout Mice. Herance R, Rojas S, Abad S, Jiménez X, Gispert JD, Millán O, Martín-García E, Burokas A, Serra MA, Maldonado R, Pareto D. *Mol Imaging*. 2011 Apr 27. [Epub ahead of print]

Sex-dependent effects of maternal deprivation and adolescent cannabinoid treatment on adult rat behaviour. Llorente-Berzal A, Fuentes S, Gagliano H, López-Gallardo M, Armario A, Viveros MP, Nadal R. *Addict Biol*. 2011 Apr 26. [Epub ahead of print]

Cannabinoid receptor agonists modulate oligodendrocyte differentiation by activating phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and the mammalian target of rapamycin (mTOR). Gomez O, Sanchez-Rodriguez A, Le M, Sanchez-Caro C, Molina-Holgado F, Molina-Holgado E. *Br J Pharmacol*. 2011 Apr 12. [Epub ahead of print]

Anti-tumoral action of cannabinoids on hepatocellular carcinoma: role of AMPK-dependent activation of autophagy. Vara D, Salazar M, Olea-Herrero N, Guzmán M, Velasco G, Díaz-Laviada I. *Cell Death Differ*. 2011 Jul;18(7):1099-111.

Relation of G1359A polymorphism of the cannabinoid receptor gene (CB1) with metabolic syndrome by ATP III classification. de Luis DA, González Sagrado M, Aller R, Izaola O, Conde R. *Diabetes Metab Res Rev*. 2011 Apr 6. [Epub ahead of print]

Composición de la Junta Directiva de la SEIC

<u>Presidente:</u>	Javier Fernández Ruiz (Universidad Complutense de Madrid)
<u>Vicepresidente:</u>	Carmen Guaza (Instituto Cajal, CSIC, Madrid)
<u>Tesorero:</u>	Julián Romero (Fundación Hospital Alcorcón, Madrid)
<u>Vocales:</u>	Koldo Callado (Universidad del País Vasco) Emilio Fernández-Espejo (Universidad de Sevilla) Onintza Sagredo (Universidad Complutense de Madrid) Eduardo Molina-Holgado (Hospital Nacional de Parapléjicos, Toledo) Eduardo Muñoz (Universidad de Córdoba) José Antonio Ramos (Universidad Complutense de Madrid)
<u>Secretario:</u>	Manuel Guzmán (Universidad Complutense de Madrid)

Dirección de contacto de la SEIC

Sociedad Española de Investigación sobre Cannabinoides (SEIC)
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular III
Facultad de Medicina, Universidad Complutense
Ciudad Universitaria, s/n, 28040 Madrid
Teléfonos: 913941450/913941454; fax: 913941691; e-mail: seic@med.ucm.es
Dirección web: <http://www.ucm.es/info/seic-web>