



“Neuroprotección y Cannabinoides”

Carolina Echeverry, PhD

caroliecheverry@gmail.com

Laboratorio de Mecanismos de Neurodegeneración y
Neuroprotección - Depto. Neurofarmacología Experimental, IIBCE

Junio, 2022



Ministerio
de Educación
y Cultura



Neuroprotección se refiere al conjunto de medidas terapéuticas destinadas a prevenir o limitar muerte neuronal

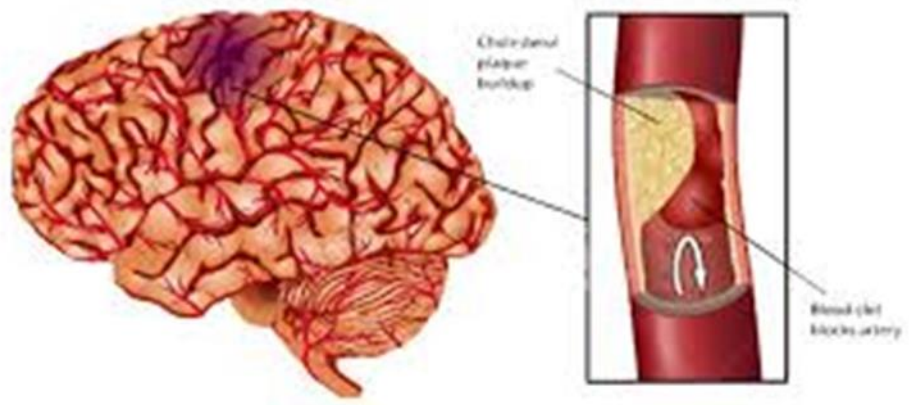


Agentes neuroprotectores

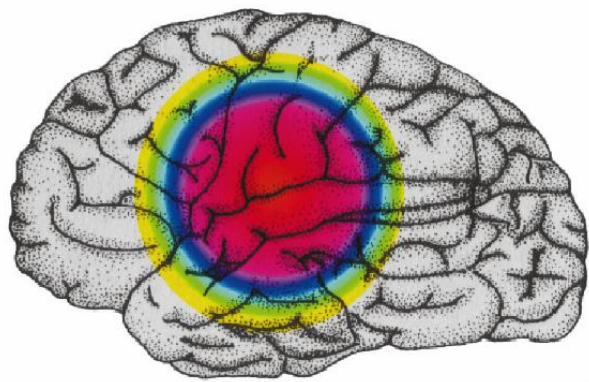
Atención considerable para el tratamiento farmacológico de trastornos neurológicos

Isquemia/ traumatismo craneoencefálico

1960, el término "neuroprotección" se aplicó a la protección del cerebro durante intervenciones neuroquirúrgicas de alto riesgo que requerían la interrupción de la circulación sanguínea al cerebro



Morphology	Biochemistry
Infarction	Ionic failure Anoxic depolarization Glucose use ↓
Inflammation and apoptosis	Glutamate release Glucose use ↑
	Protein synthesis ↓ Acidosis Oxygen extraction ↑
	Selective gene expression



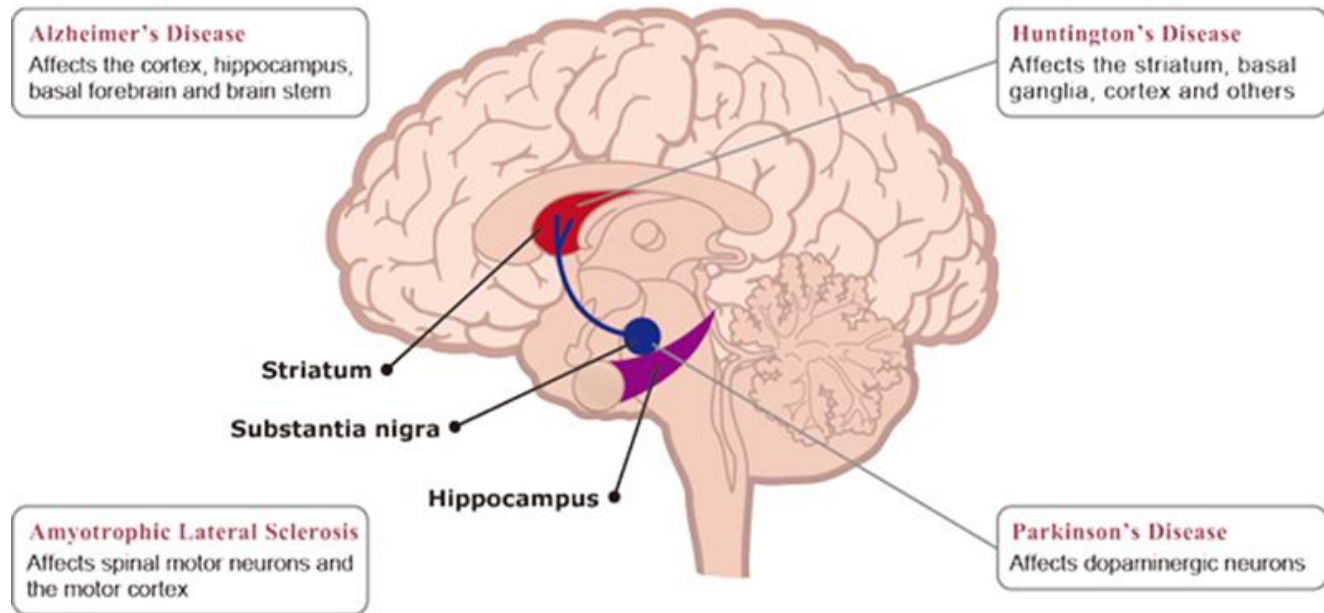


Agentes neuroprotectores

Enfermedades neurodegenerativas

A pesar de ser clínicamente distintas e involucrar daños en diferentes regiones del SNC. Caracterizadas por una pérdida irreversible y progresiva de neuronas en regiones específicas del cerebro.

Las terapias disponibles son sintomáticas y no detienen o retrasan el proceso degenerativo.





Agentes neuroprotectores

Trastornos Neuropsiquiátricos

esquizofrenia, trastorno bipolar y depresión

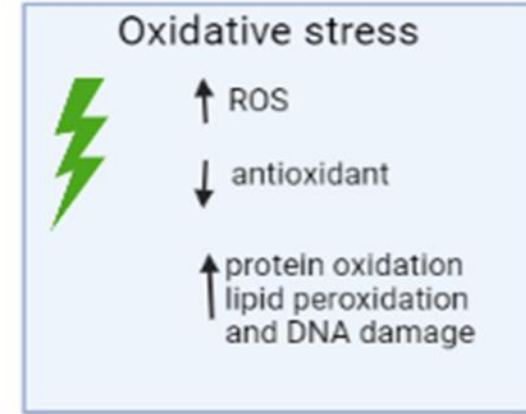
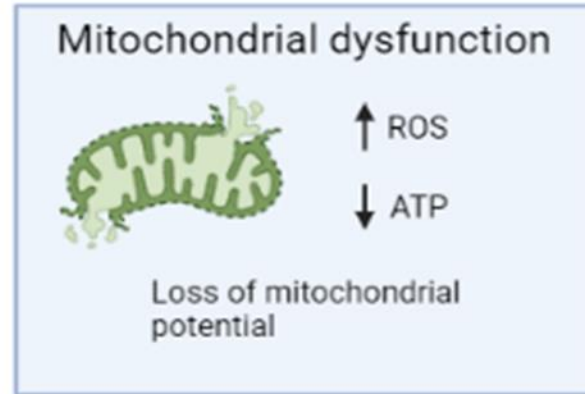
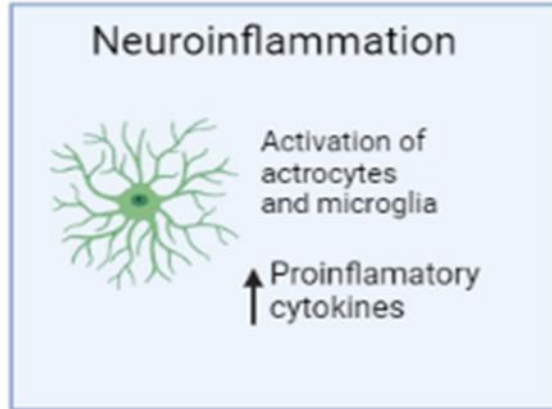


Históricamente, conceptualizado como disturbios neuroquímicos. Sin embargo, estudios post mortem y de imágenes cerebrales reveló cambios morfológicos en el cerebro de pacientes con estos trastornos mentales, como agrandamiento del ventrículo, reducción volumétrica, pérdida de neuronas y células gliales en regiones cerebrales corticales y límbicas particulares (Hunsberger et al 2009, Wee et al 2016).

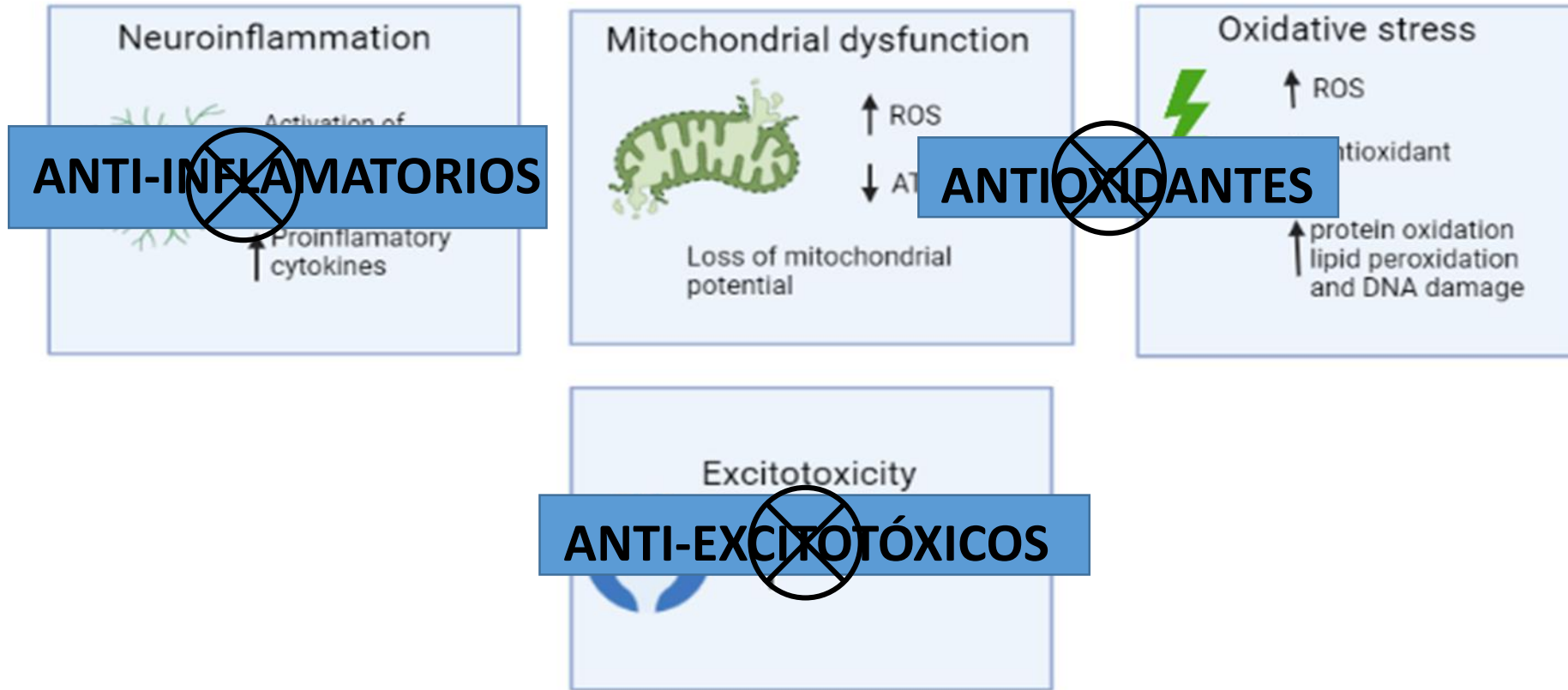
Recientes datos respaldan la idea de que los agentes psicotrópicos utilizados para tratar trastornos psiquiátricos, están asociados con efectos neurotróficos/neuroprotectores significativos (litio y ácido valproico).

El paradigma anterior en el que las terapias farmacológicas ejercen su eficacia principalmente en las vías neuroquímicas está evolucionando hacia un modelo en el que las acciones de los fármacos desencadenan varias cascadas de neuroplasticidad para reconstruir las vías neuronales dañadas por la enfermedad.

Eventos bioquímicos que llevan a una alteración funcional y posterior muerte neuronal



Eventos bioquímicos que llevan a una alteración funcional y posterior muerte neuronal

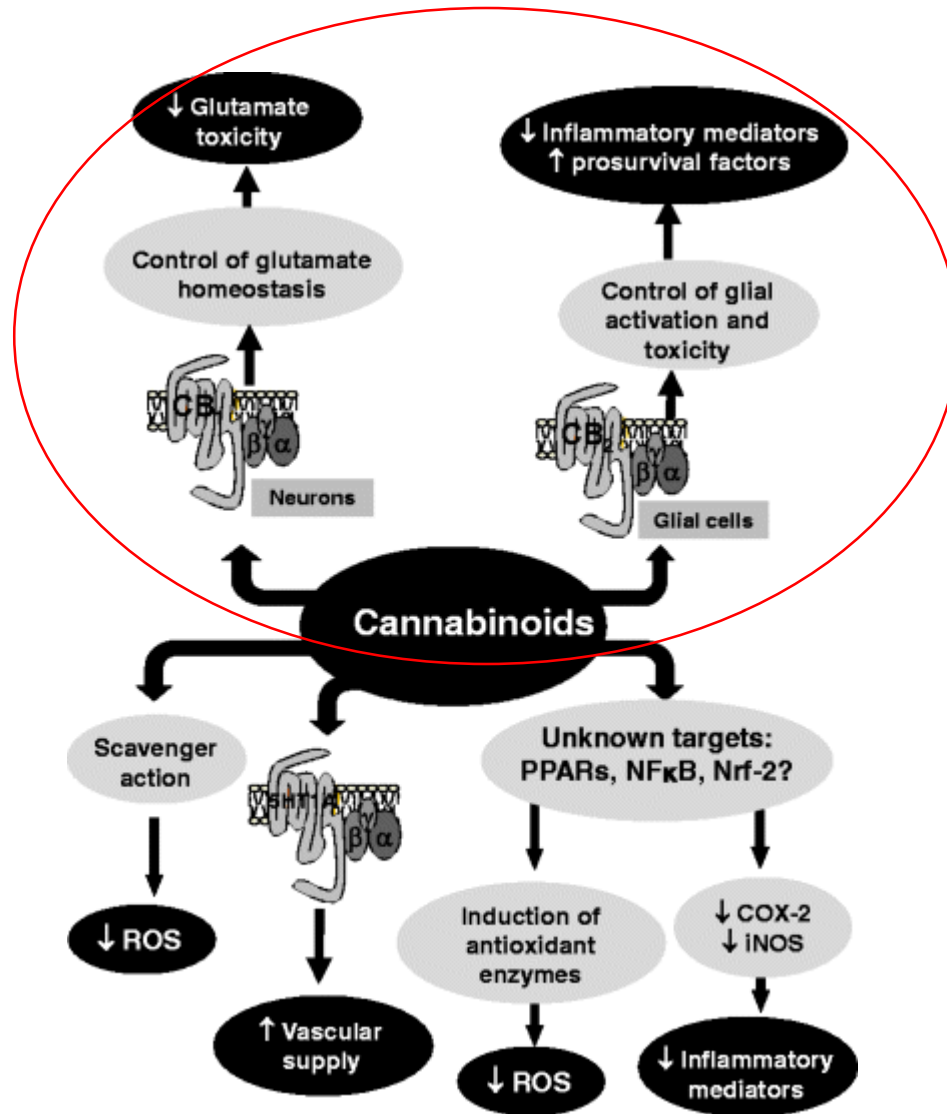


Hasta el presente, no existe en la clínica una droga que sea lo suficientemente efectiva y con acceso seguro al SNC, para ser usada como neuroprotector en enfermedades neurológicas en etapa aguda o crónica

Desafío principal en la terapéutica

Tratamiento neuroprotector debería necesariamente plantearse como una estrategia POLIFARMACOLÓGICA: agentes de amplio espectro capaces de limitar a la vez la mayoría de los distintos factores citotóxicos, o usando combinaciones de agentes más selectivos.

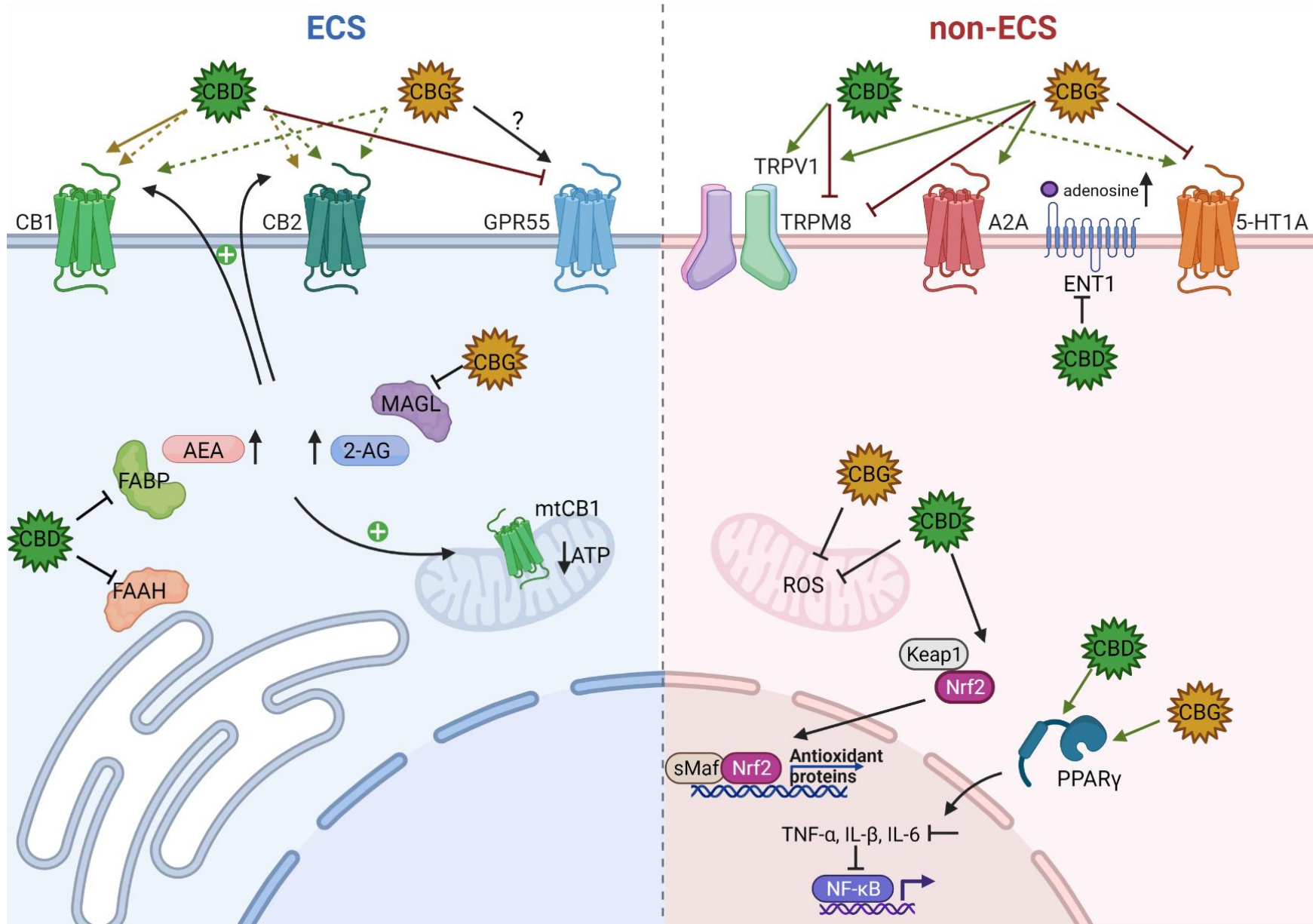
Fitocannabinoides como neuroprotectores



Su potencial como **NEUROPROTECTOR** se basa en:

1. Su amplio espectro de acción: dentro del **sistema endocannabinoide (SeCB)** y fuera de este sistema neuromodulador.

Su amplio espectro de acción: dentro y fuera del sistema endocannabinoide (SeCB)

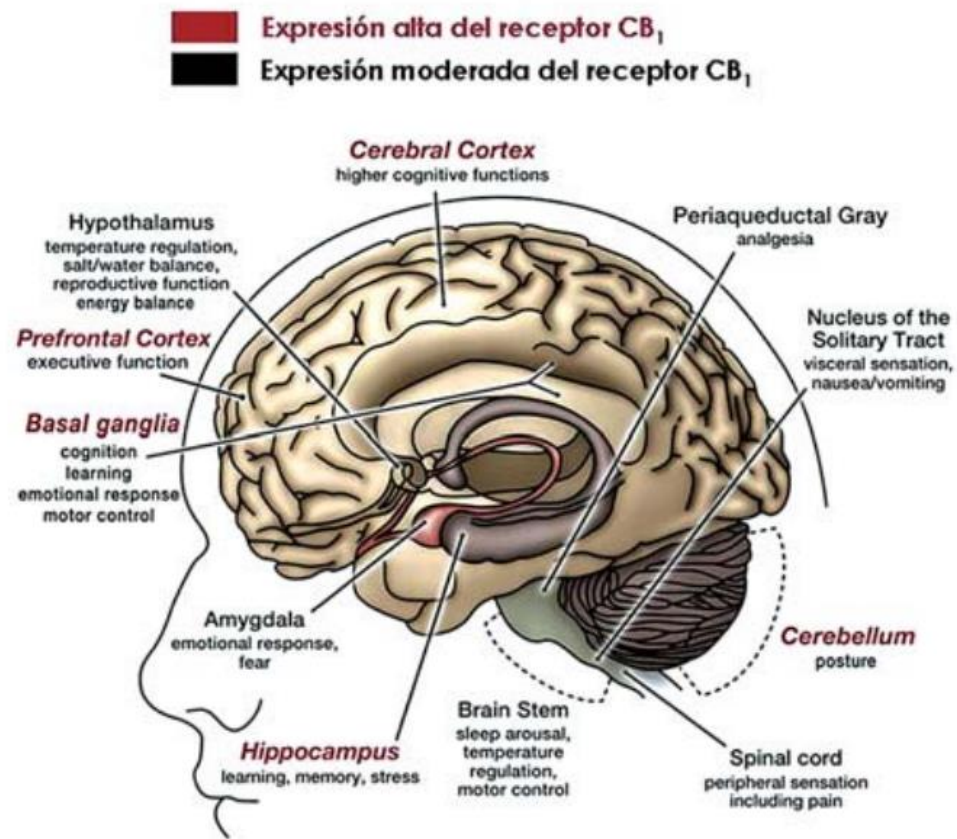
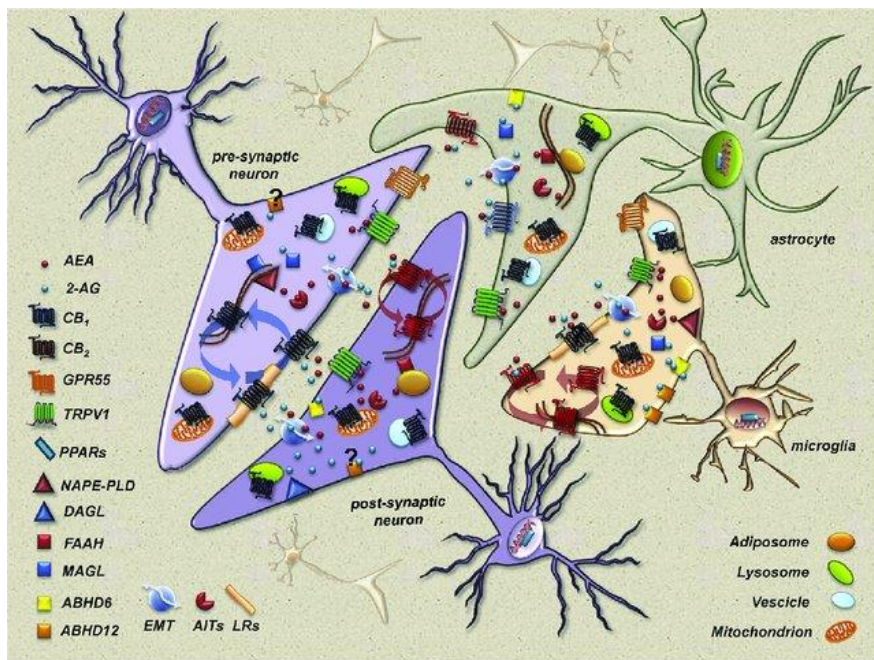


- Agonist
- - - → Partial agonist
- Inverse agonist
- - - → Allosteric Modulator
- ⊥ Antagonist

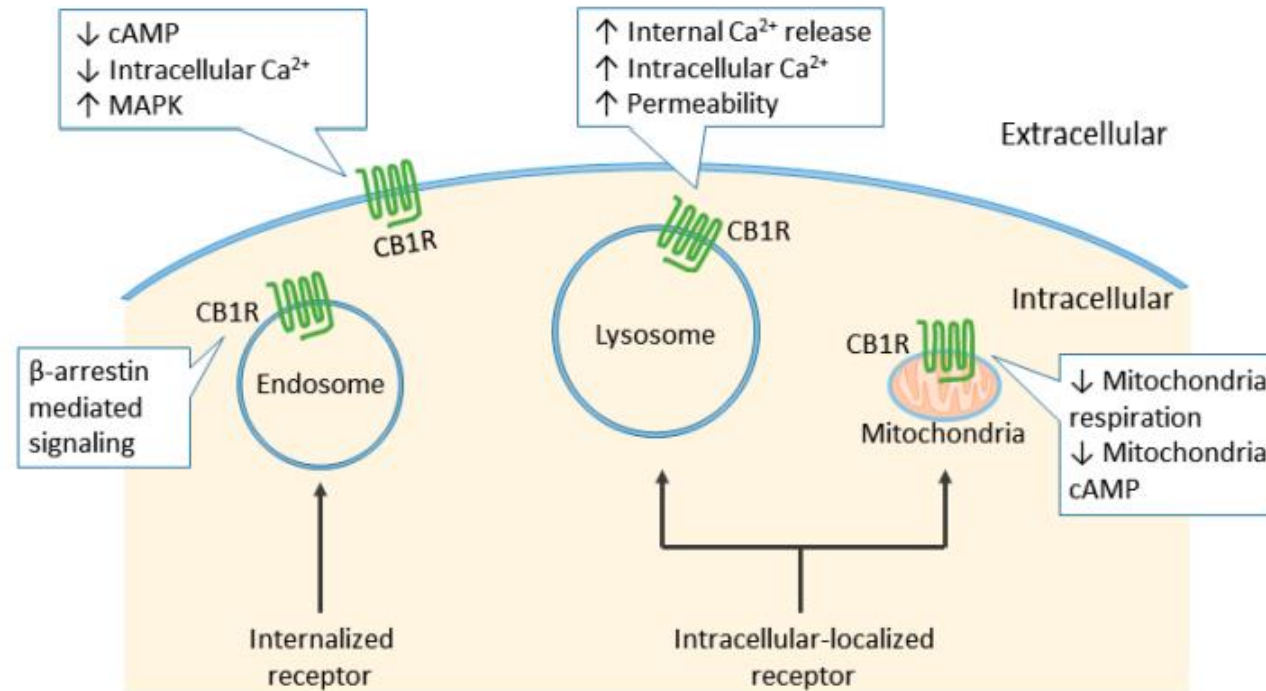
-expanded endocannabinoid system-endocannabinoidome. (Di Marzo, 2019)

Fitocannabinoides como neuroprotectores

2. La ubicación de esos posibles blancos de acción



CB1-Rs: localización intracelular

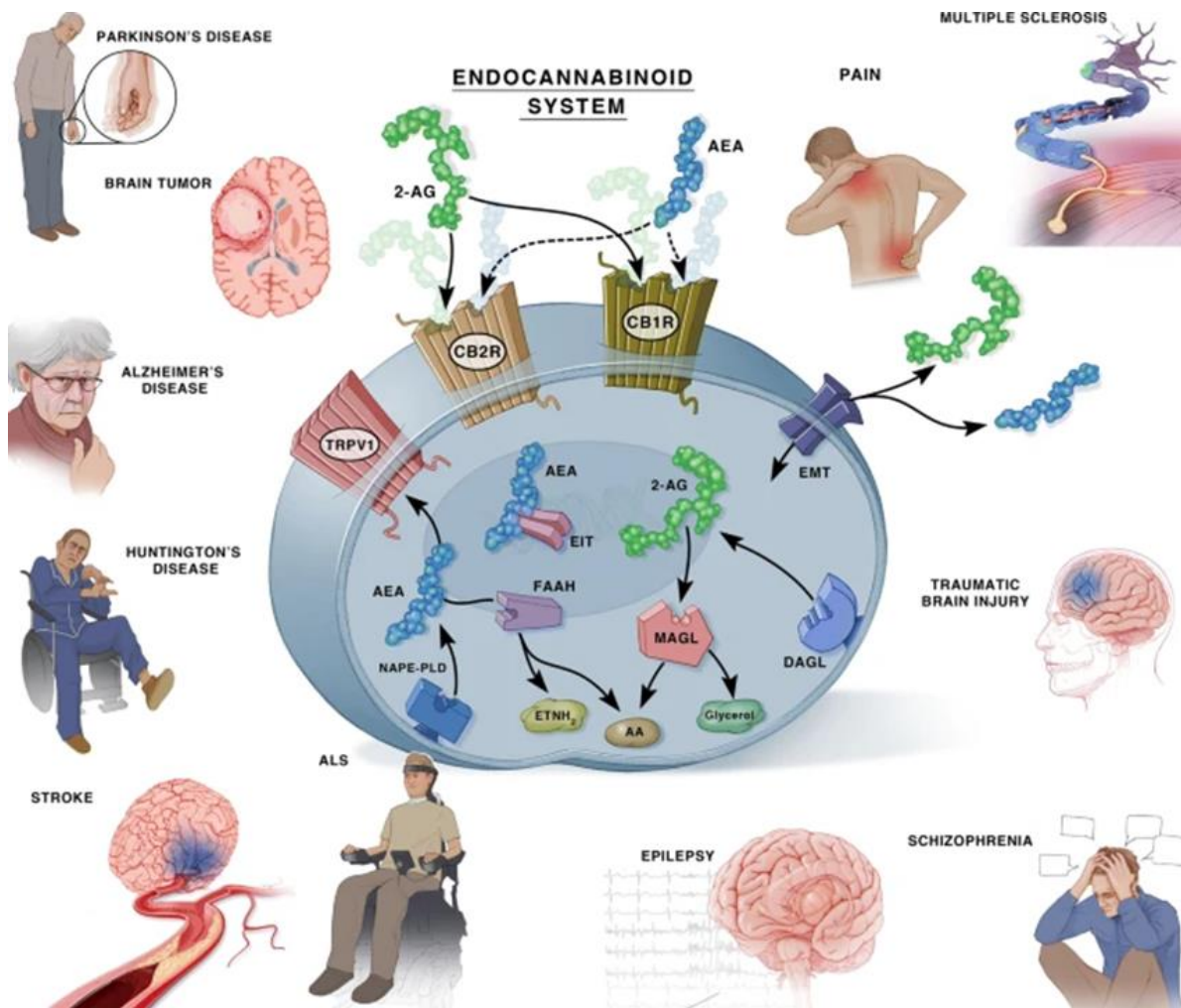


CB1Rs inhibit mitochondrial cellular respiration and cAMP production, hence regulating cellular energy metabolism

Zou and Kumar, 2018

- la distribución típica de CB1-R es en la membrana plasmática. Sin embargo, hay localización intracelular, todavía apenas se conoce las funciones que estos receptores controlan por ej. por la internalización de los receptores, o **en mitocondrias**, Piomelli, 2014 Vallee y cols., 2014 (**una posible conexión con las acciones neuroprotectoras de cannabinoides**)

Fitocannabinoides como neuroprotectores



3. Evidencias sugieren que ciertos componentes del SeCB están desregulados en varias neuropatologías



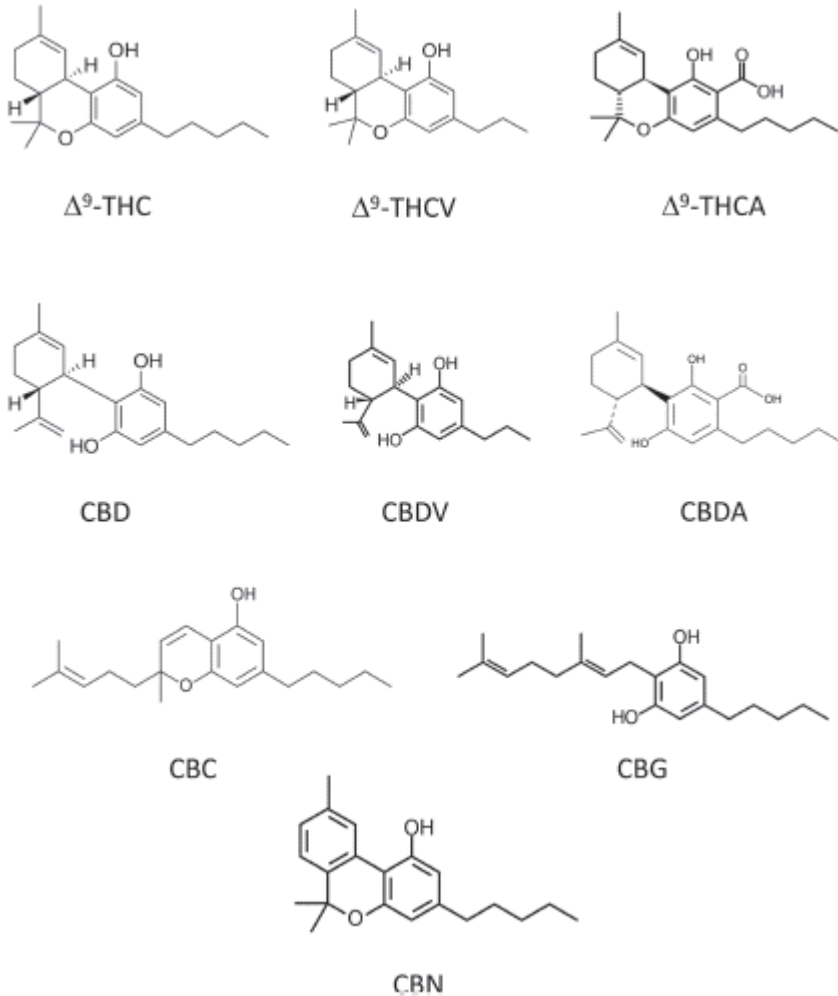
Potencial de los fitocannabinoides para actuar como nuevos agentes terapéuticos en trastornos del SNC

Por un lado, pueden combinar diferentes mecanismos de neuroprotección y por otro lado, tienen la capacidad de regular la transmisión sináptica de los circuitos neuronales implicados en la enfermedad.

Dados los amplios efectos neuroprotectores del Δ^9 -THC y el CBD ya establecidos, es razonable sugerir que otros fitocannabinoides pueden exhibir propiedades neuroprotectoras similares o más potentes.

		NEUTRAL					ACIDIC				VARINIC			
		Δ^9 THC	CBD	CBG	CBC	CBN	Δ^9 THCA	CBDA	CBGA	CBCA	Δ^9 THCV	CBDV	CBGV	CBCV
CB ₁ R	Action(s)	- Partial agonist [5-50 nM] - Agonist, decrease intracellular cAMP levels [>100 nM]	Negative allosteric modulator [<100 nM]	No interact	No interact	Agonist [>430 nM]	Non agonist-like effects [0.05-0.5 mg/kg]	Unknown			Antagonist [>300 nM]	Unknown		
	Data	Biochemical assays and biological responses [4]	- Biological responses [15,17] - Biochemical assays [18] - Structural data [19-22]	- Biochemical assays [13] - Biological responses [13]	Biological <i>in vivo</i> responses [68]	Biochemical <i>in vitro</i> [77] and <i>in vivo</i> [78, 91] assays	Biological <i>in vivo</i> responses [156, 158]				Biochemical assays and biological response [16, 109]			
CB ₂ R	Action(s)	Partial agonist [3-40 nM], increases ERK1/2 phosphorylation.	Negative allosteric modulator [<100 nM]	Bind (Orthosteric site) [0,1-1 μ M]	Agonist [>10 μ M]	Agonist [>1 μ M]	Weak agonist (Low affinity)	Unknown			Partial agonist [>120 nM]	Unknown		
	Data	Biological responses [15]	- Biological responses [15,17] - Biochemical assays [18] - Structural data [19-22]	- Biochemical assays and biological responses [13]	Biochemical assays and biological responses [67]	- Biochemical <i>in vitro</i> assays [77] - Biological responses [98]	Biochemical assays and biological responses [158]				Biochemical assays and biological response [16]			
Others	Action(s)		Agonist [>10 μ M] or positive allosteric modulator [5-15 nM] of 5-HT _{1A} receptor.	- Agonist of PPAR- γ [10 mg/kg] - Agonist of α (2)-AR [3-33 nM] - Antagonist 5-HT _{1A} receptor. [>1 μ M]	Agonist of TRPA ₁ [0,001-1 μ M]		- Agonist of PPAR- γ [>200 nM] - Agonist of 5HT _{1A} receptor [5 μ g/kg]	Agonist of 5HT _{1A} receptor [5 mg/kg]			- Inhibition of TRPV ₅ and TRPV ₆ [1-3 μ M] - Agonist of 5HT _{1A} receptor [>100 nM]	Activate TRPV ₁ channel [60 mg/kg]		
	Data		-Biochemical assays [47, 50] - Biological responses [47-51]	- Biochemical assays [46] - Biological responses [40, 46]	Biochemical assays and biological <i>in vitro</i> responses [66]		Biochemical assays and biological responses [154,155, 157]	Biological <i>in vivo</i> responses [160-162]			Biological <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> responses [116, 123]	Biochemical assays and biological responses [138,139]		

- ✓ Reportes que demuestran el potencial terapéutico de fitocannabinoides como agentes neuroprotectores (Stone et al., 2020).



Derivatives of CBG, known as VCE-003 or VCE-002.3 (Diaz-Alonso et al., 2016)

TABLE 3 Summary of the conditions where emerging cannabinoids have been studied

	Cannabigerol (CBG)/derivatives	Cannabidivarin (CBDV)	Cannabichromene (CBC)	Cannabinol (CBN)	Cannabidiolic acid (CBDA)	Δ^9 -THCV	Δ^9 -THCA
Huntington's	✓	-	-	✓	X	-	✓ PPAR γ ^a
Multiple sclerosis	✓	-	-	-	-	-	-
Autoimmune encephalomyelitis	✓PPAR γ /CB $_2$ ^a	-	-	-	-	-	-
Parkinson's	✓PPAR γ ^a	-	-	-	-	✓	✓
Neuroinflammation / neuroprotection	✓	✓	✓	✓	-	✓	✓
Epilepsy/seizure	x	✓TRPV1 ^a	✓	-	-	✓	-
Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	✓	-	-	✓	-	-	-
Oxidative stress	-	-	-	✓	-	-	-
Rett syndrome	-	✓	-	-	-	-	-
Alzheimer's disease	✓	✓	✓	-	-	-	-

Note. A tick or cross represents whether a cannabinoid showed efficacy in a condition or not. A dash means that a cannabinoid has yet to be studied in a condition. ^aSome of the compounds neuroprotective effects were mediated by this receptor, but no other receptors were probed.

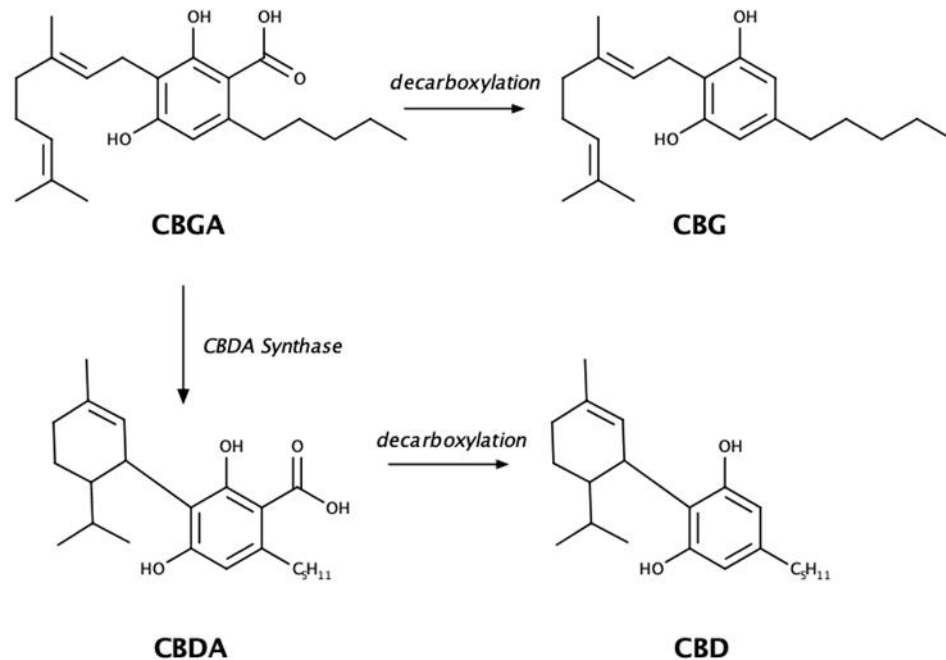
Se requieren más estudios para investigar todo el potencial neuroprotector de estos compuestos, en particular los mecanismos subyacentes a sus efectos protectores, así como explorar si sus combinaciones pueden mejorar sus capacidades como neuroprotectores

Structured of some of the minor phytocannabinoids with cannabidiol (CBD) and tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) included for reference: Δ^9 -tetrahydrocannabinolic acid (Δ^9 -THCA), Δ^9 -tetrahydrocannabinolic (Δ^9 -THCV), cannabidivarin (CBDV), cannabidiolic acid (CBDA), cannabichromene (CBC), cannabigerol (CBG), and cannabinol (CBN)



A Comparative In Vitro Study of the Neuroprotective Effect Induced by Cannabidiol, Cannabigerol, and Their Respective Acid Forms: Relevance of the 5-HT_{1A} Receptors

Carolina Echeverry¹ · Giselle Prunell¹ · Camila Narbondo¹ · Verónica Sánchez de Medina² · Xavier Nadal³ · Miguel Reyes-Parada^{4,5} · Cecilia Scorza⁶

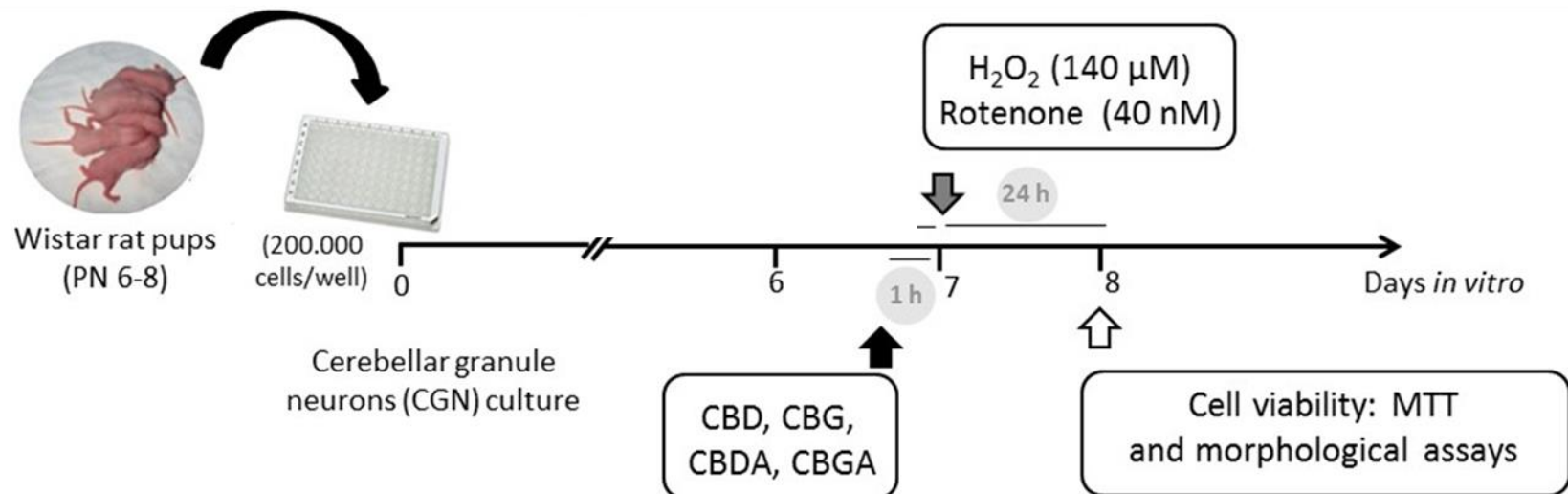
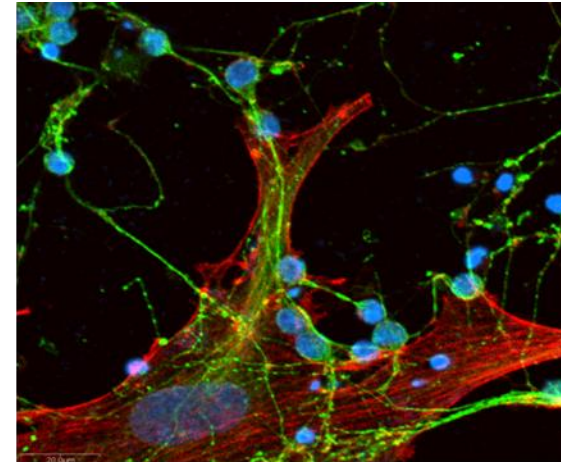
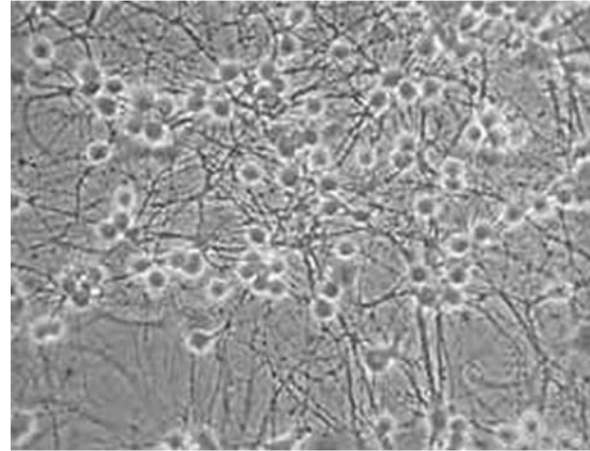


Objetivo

Estudiar la capacidad neuroprotectora del CBD, CBG y sus ácidos, en un modelo de muerte neuronal causado por dos toxinas que inducen estrés oxidativo y daño mitocondrial. Elucidar sus mecanismos de acción.

Paradigma Experimental

- Cultivo primario de neuronas granulares de cerebelo



Modelo de muerte por estrés oxidativo: Tratamiento con H₂O₂

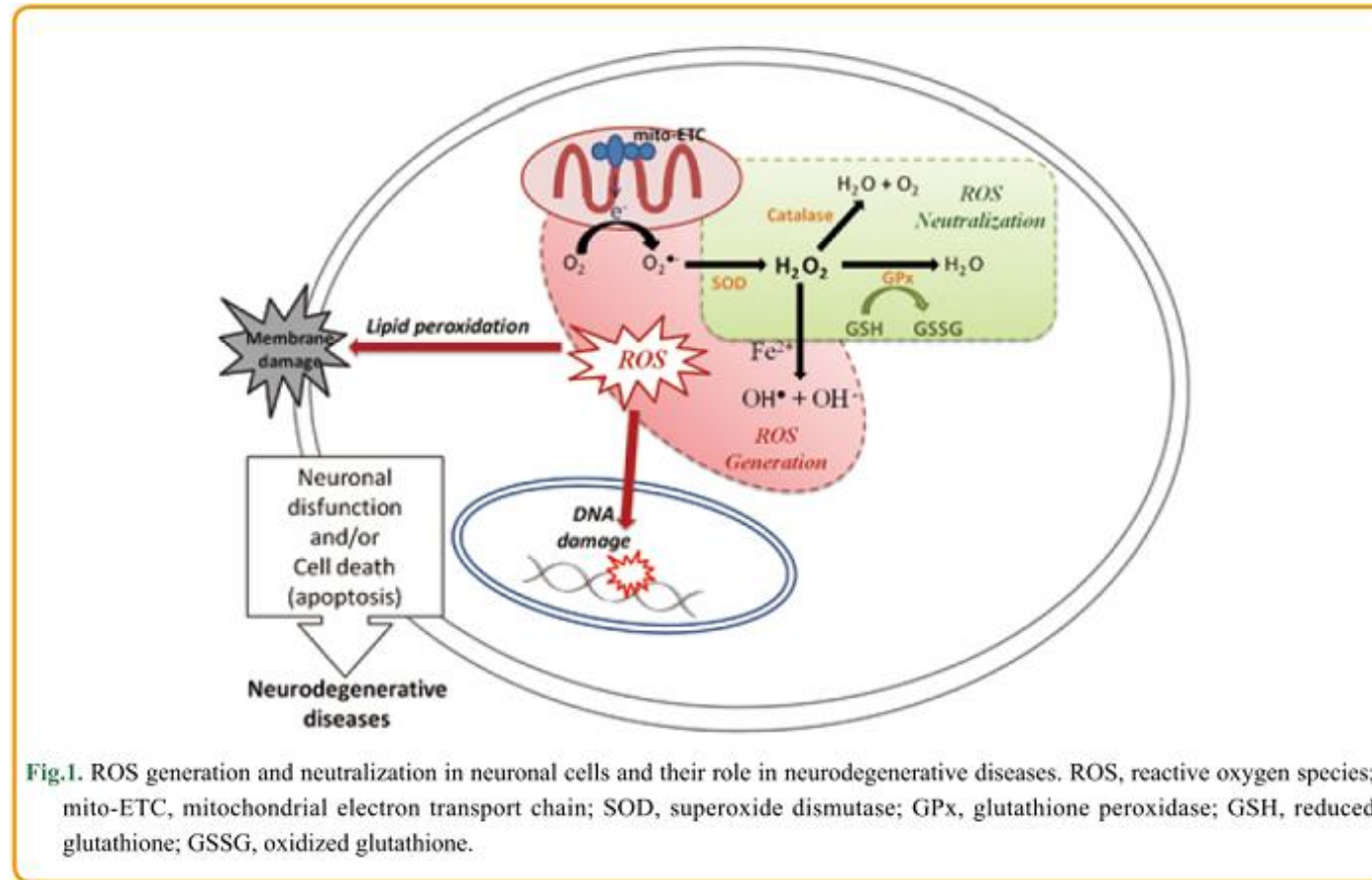
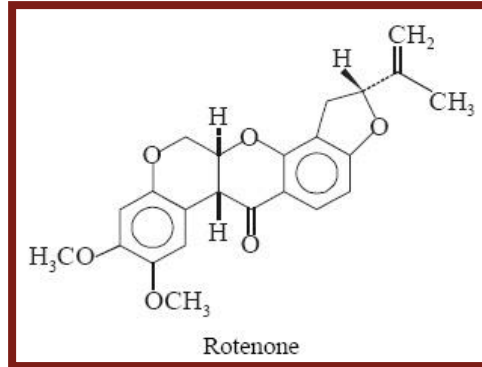


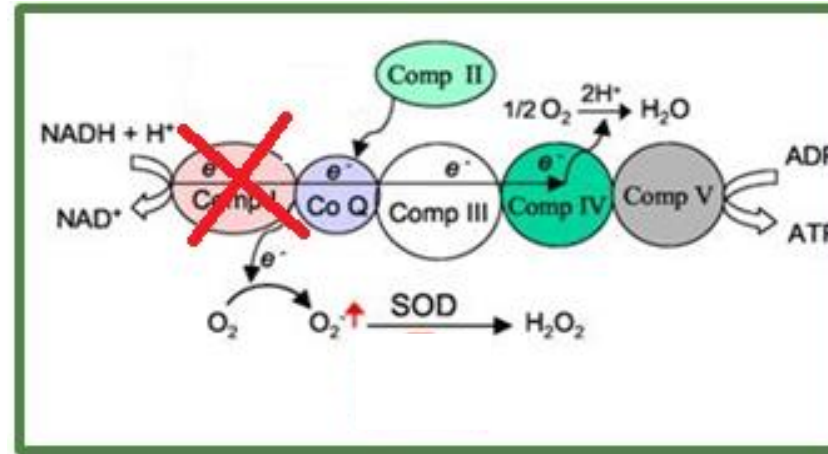
Fig.1. ROS generation and neutralization in neuronal cells and their role in neurodegenerative diseases. ROS, reactive oxygen species; mito-ETC, mitochondrial electron transport chain; SOD, superoxide dismutase; GPx, glutathione peroxidase; GSH, reduced glutathione; GSSG, oxidized glutathione.

Modelo de muerte por alteración en la función mitocondrial: Tratamiento con rotenona

ROTENONA



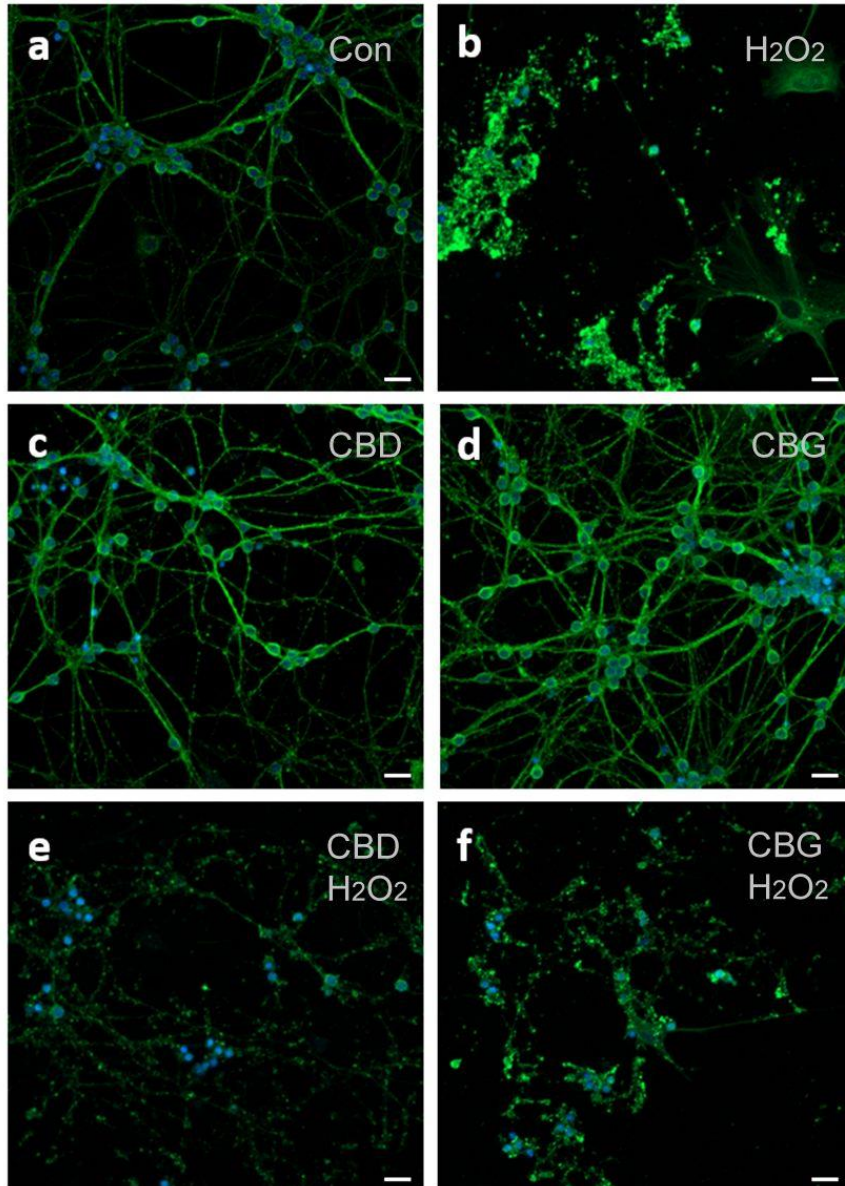
Rotenona = insecticida



- Aumento de estrés oxidativo
- Disminución de la producción de ATP

Neuroprotección frente a H₂O₂

A)



B)

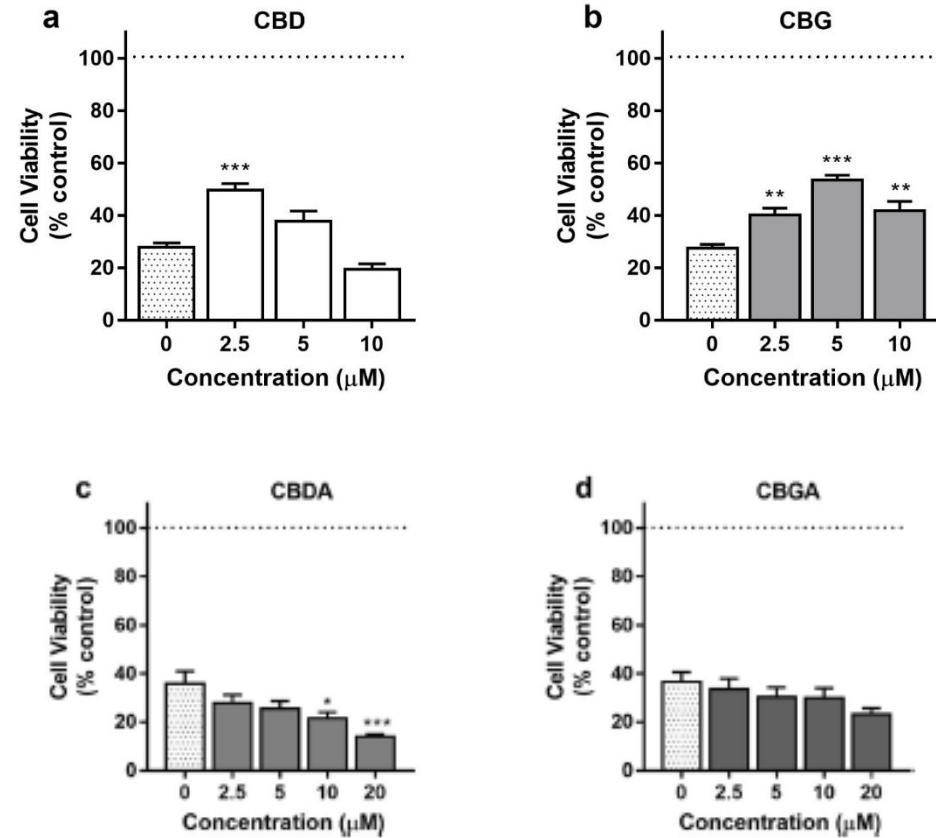
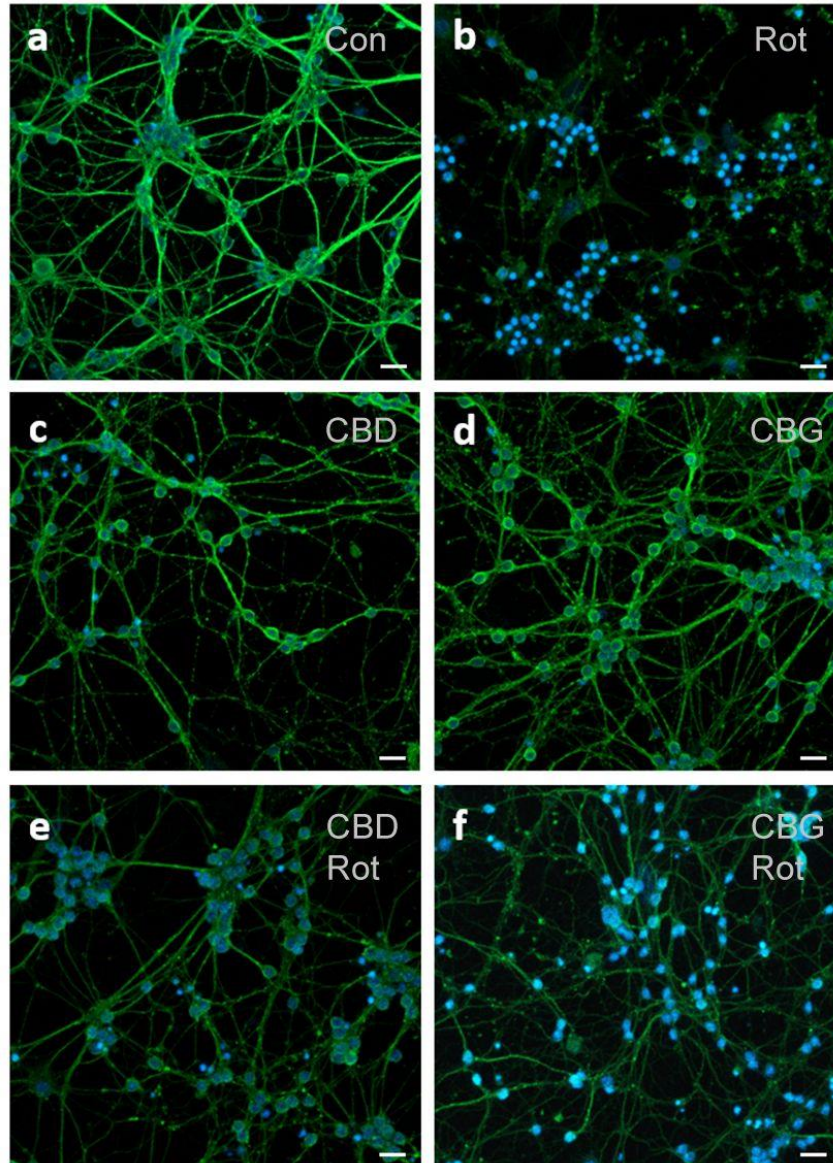


Figura 1: Capacidad neuroprotectora de CBD y CBG frente al H₂O₂. A) Imágenes de neuronas granulares de cerebelo: a) grupo control, b) expuestas a H₂O₂, c) pretratadas con CBD, d) pretratadas con CBG, e) pretratadas con CBD y H₂O₂, f) pretratadas con CBG y H₂O₂. En azul se ven los núcleos y en verde el citoplasma neuronal. B) Viabilidad celular evaluada por el método del MTT. Las graficas muestran el efectos neuroprotector inducido por el pretratamiento durante 1 h de CBD (a) y CBG (b) contra H₂O₂.

Neuroprotección frente a Rotenona

A)



B) Cannabinoids neuroprotection - rotenone (1 h)

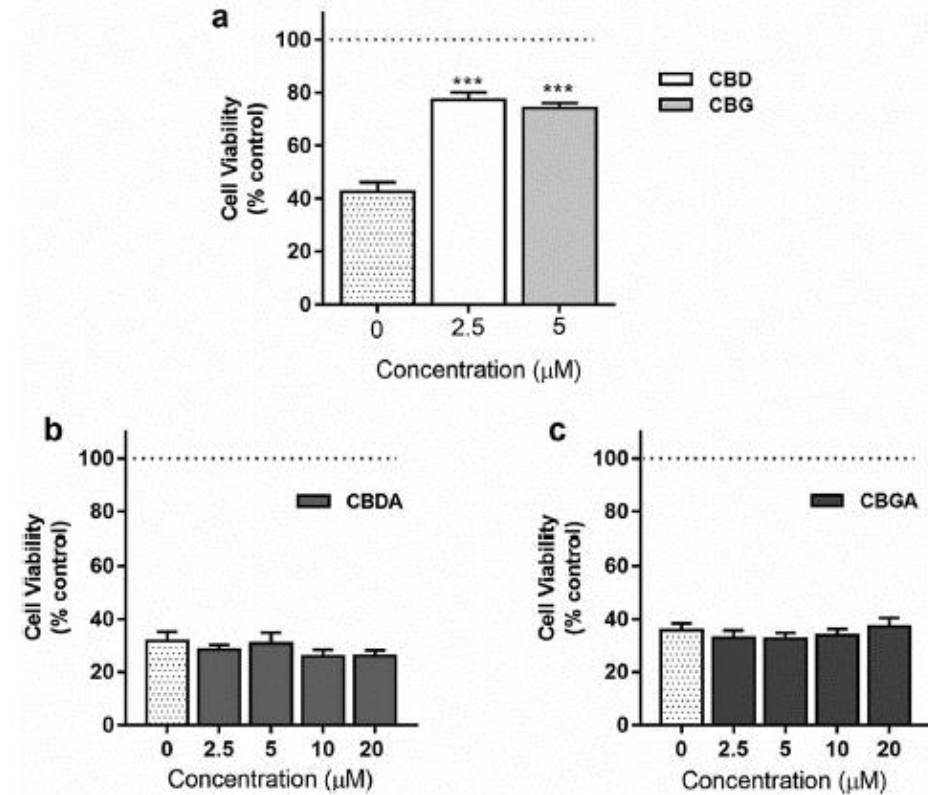


Figura 2: Capacidad neuroprotectora de CBD y CBG frente a rotenona. A) Imágenes de neuronas granulares de cerebelo: a) grupo control, b) expuestas a rotenona, c) pretratadas con CBD, d) pretratadas con CBG, e) pretratadas con CBD y rotenona, f) pretratadas con CBG y rotenona. En azul se ven los núcleos y en verde el citoplasma neuronal. B) Viabilidad celular evaluada por el método del MTT. La grafica muestra el efectos neuroprotector inducido por el pretratamiento durante 1 h de CBD (a) y CBG (b) contra rotenona.

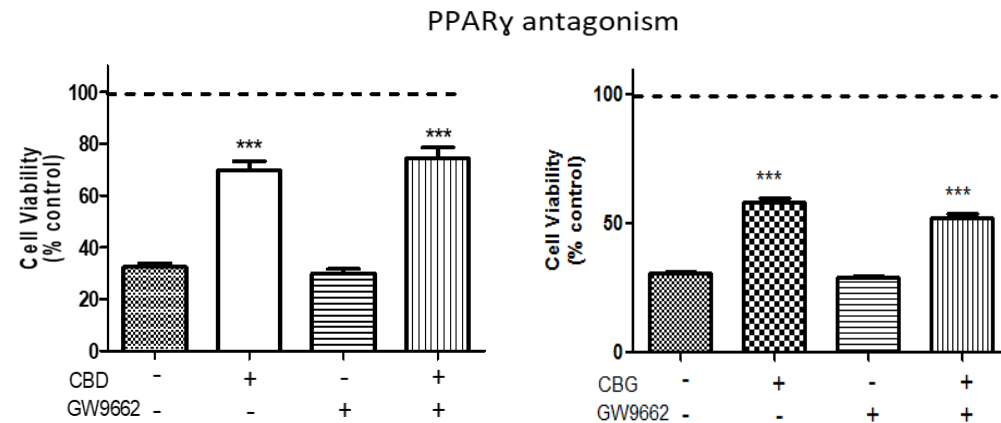
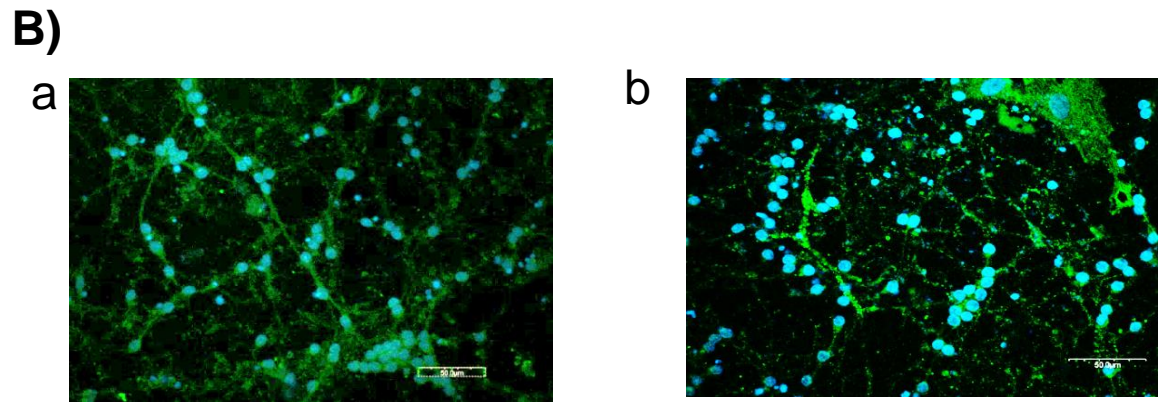
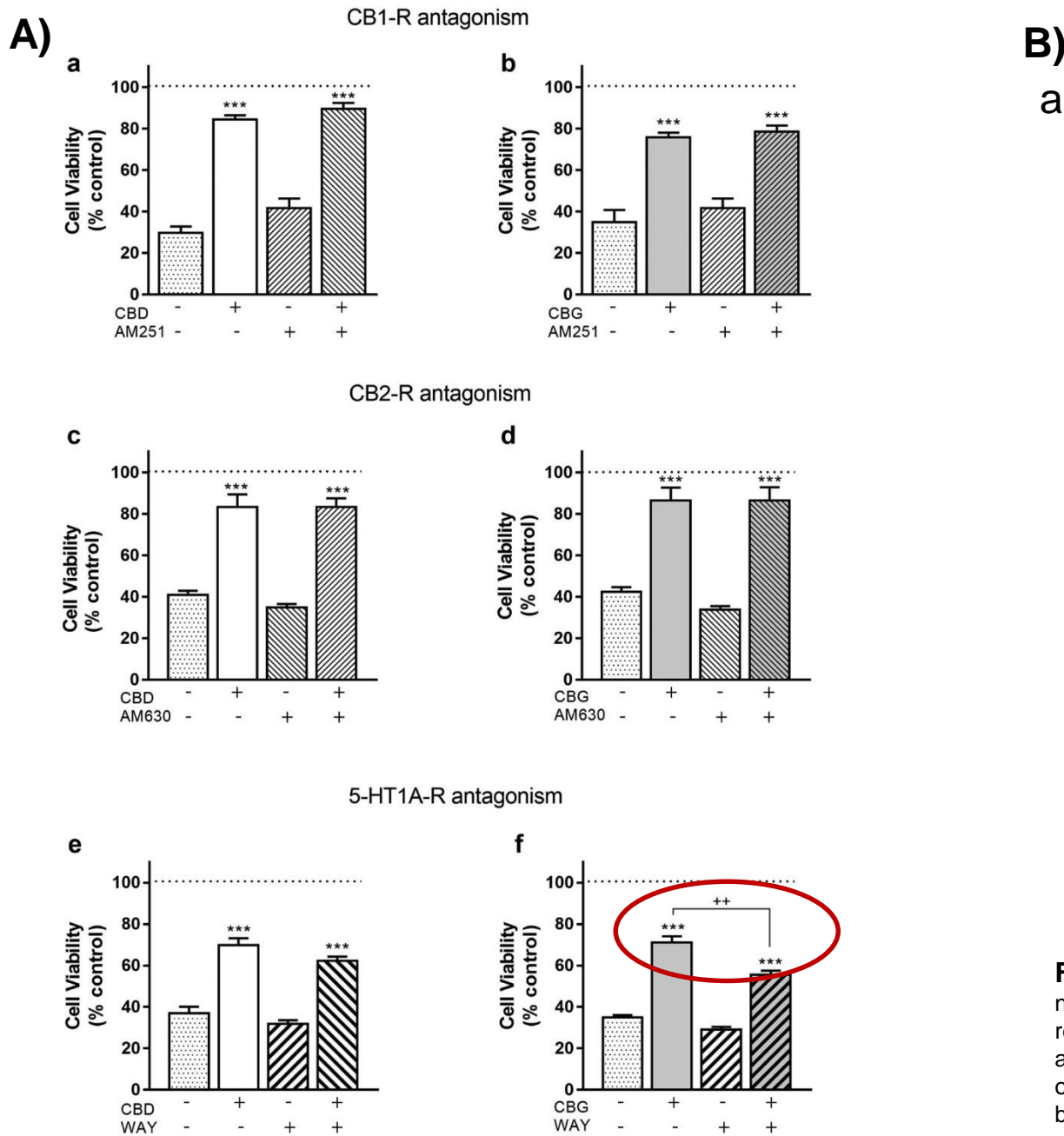


Figura 3: A) Evaluación de la participación de los receptores CB1, CB2 y 5-HT1A sobre la capacidad neuroprotectora de CBD (2.5 μ M) y CBG (5 μ M) frente a rotenona. a y b- en presencia de antagonista de receptor CB1 (AM251), c y d- en presencia de antagonista de CB2 (AM630), e y f- en presencia de antagonista 5-HT1A (WAY-100635). B) Imágenes de neuronas granulares de cerebelo controles para observar la presencia de receptores CB1 y CB2: a) en azul se ven los núcleos y en verde el receptor CB1; b) en azul se ven los núcleos y en verde el receptor CB2.

Conclusiones Principales

- ✓ CBD y CBG, pero no sus respectivos ácidos, son neuroprotectores frente al H_2O_2 y rotenona. Esto indica que podrían tener un potencial terapéutico para tratar neuropatologías que involucran diferentes vías de muerte celular.
- ✓ Nuestros datos contribuyen a la comprensión del mecanismo de acción del CBD y CBG como agentes neuroprotectores. El efecto neuroprotector de CBD y CBG es independiente de los receptores CB1 y CB2.
- ✓ Se destaca el papel de los receptores 5-HT1A particularmente en el mecanismo de acción del CBG.



Proyectos actuales

Dado que el efecto neuroprotector de CBD y CBG es independiente de su acción sobre CB1-R y CB2-R, su combinación con THC podría potenciar sus efectos ya que este cannabinoide presenta alta afinidad por estos receptores cannabinoides.

FCE_3_2020_1_162440

Proyecto de investigación Fundamental Fondo Clemente

Estable - 2020



DATOS GENERALES

DATOS GENERALES

Título en español

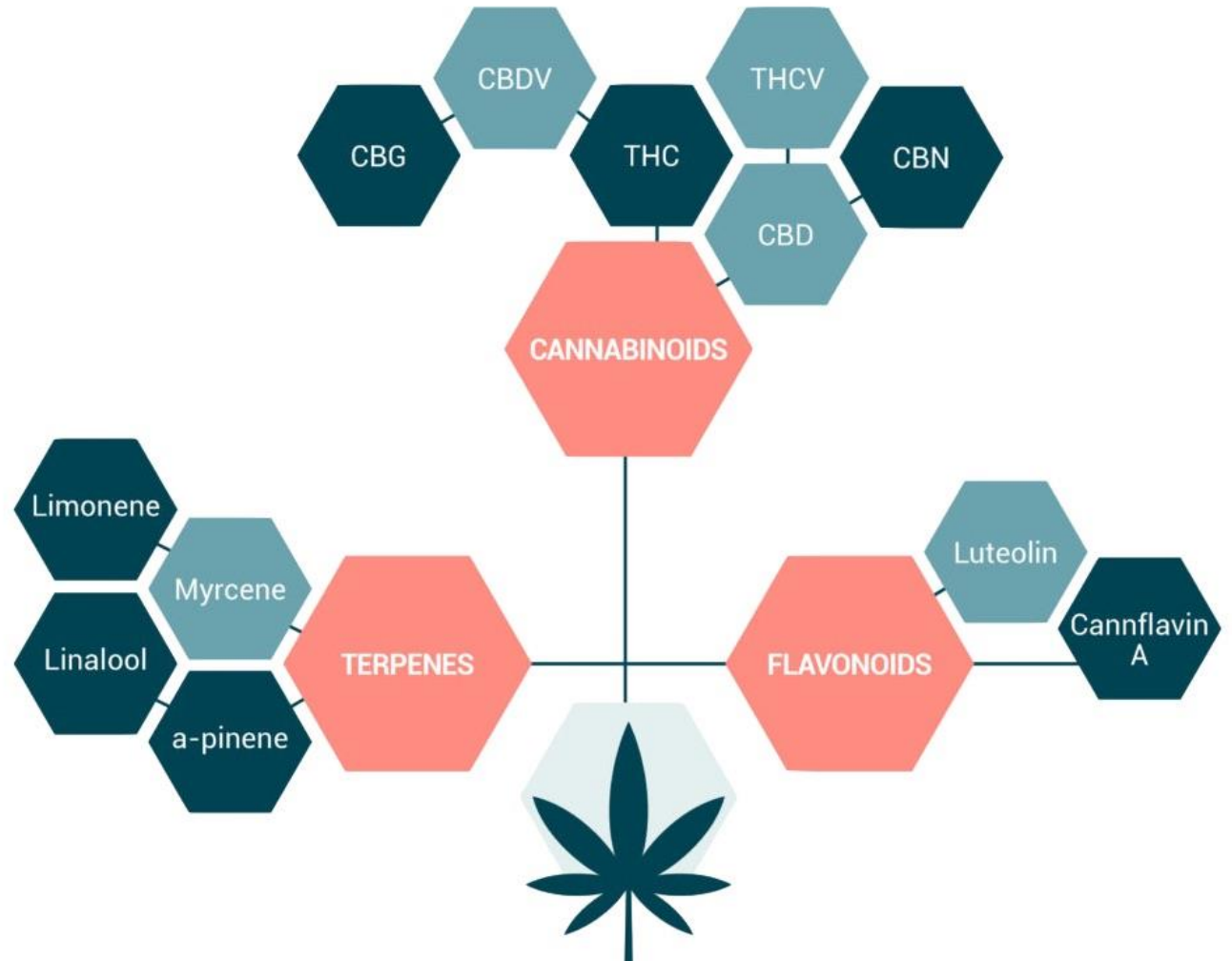
Uso medicinal de Cannabinoides: búsqueda de una combinación THC:CBD o THC:CBG que potencie su acción como agentes neuroprotectores y mejore su biodisponibilidad cerebral

Efecto séquito y Neuroprotección

Hipótesis que surgió a comienzos de la década del 2000, basada en la noción de que el consumo de la planta en su totalidad podría ser más efectivo que consumir un solo compuesto activo aislado de la planta (McPartland and Russo, 2001, Russo, 2011).

Ventajas clínicas: una potenciación de su actividad individual, un aumento de la ventana terapéutica de dosis y una disminución de los efectos secundarios.

Sin embargo, hasta la fecha, no se ha identificado una clara interacción entre los diferentes compuestos de la planta

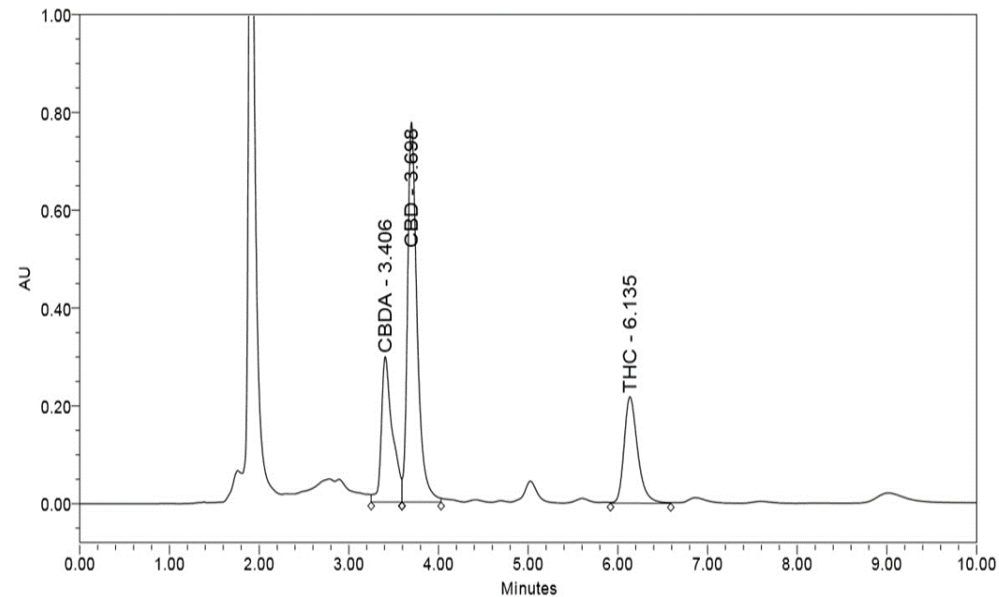
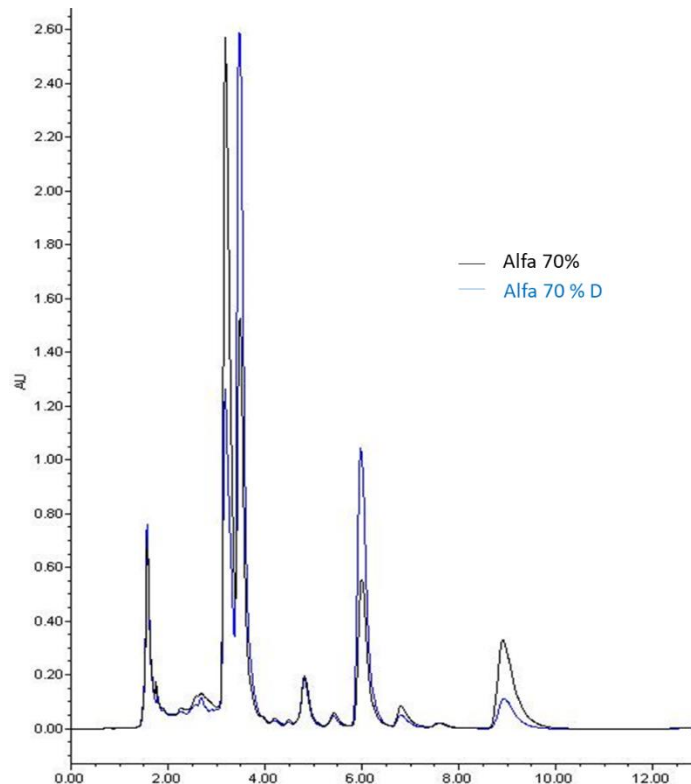


Estudio de la capacidad neuroprotectora de extractos de las variedades de Cannabis alfa y beta.



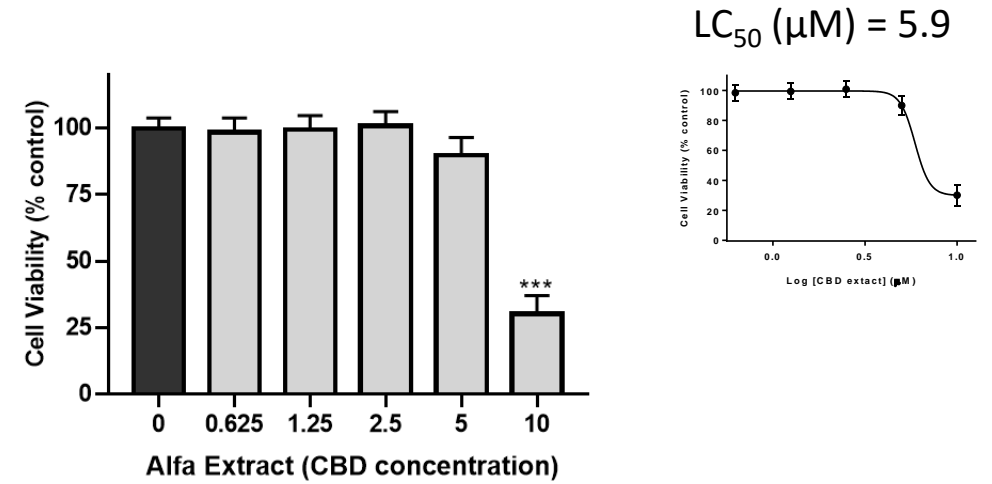
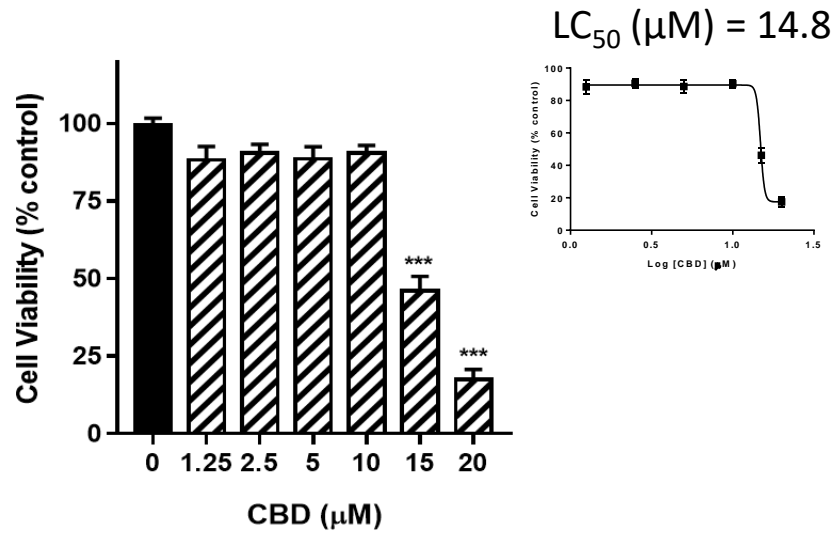
F. Vignolo

- Extractos en EtOH-H2O
- Descarboxilación
- Determinación del contenido de CBD, CBDA y THC

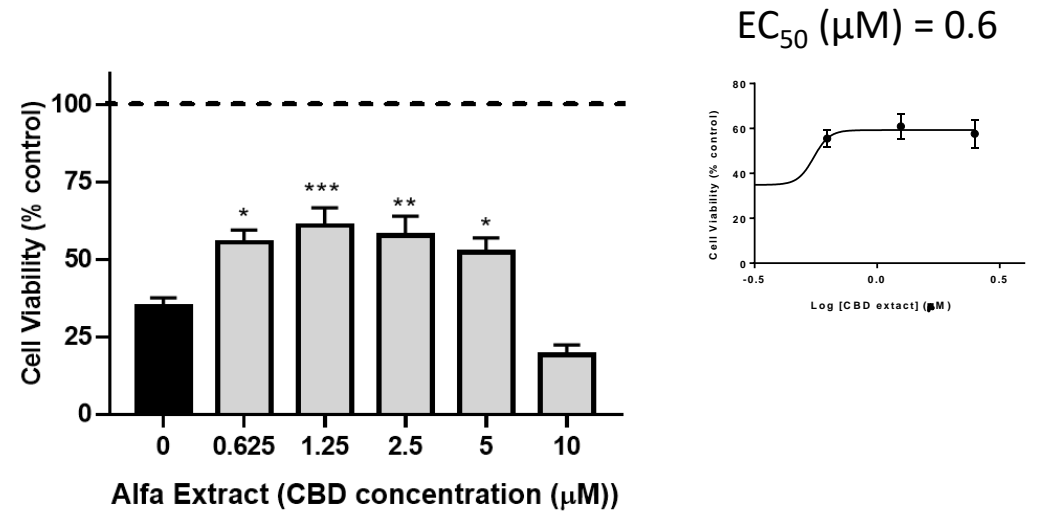
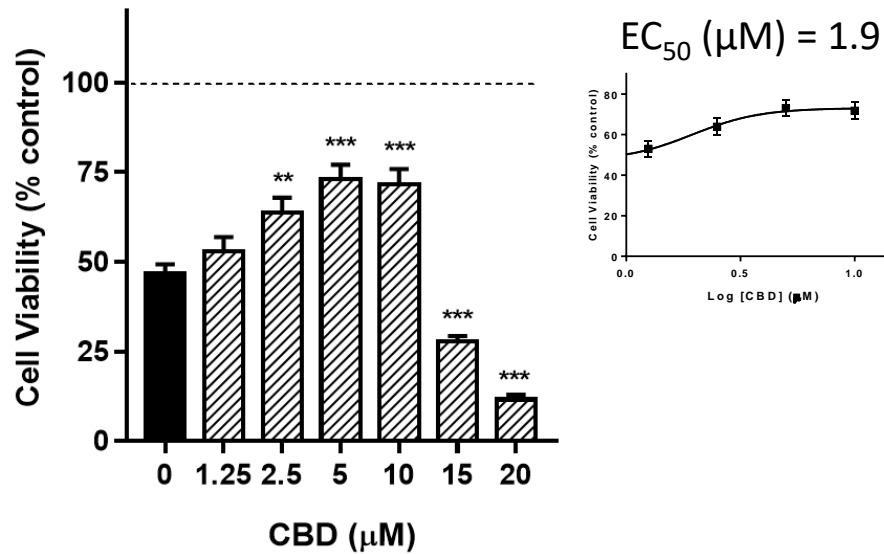


Licencia de investigación

Neurotoxicidad



Neuroprotección



AGRADECIMIENTOS



Ministerio
de Educación
y Cultura



Depto. de Neuroquímica

Carolina Echeverry
Jimena Fagetti
Federico Vignolo
Dra. Giselle Prunell
Camila Narbondo

Depto. de Neurofarmacología Experimental

Dra. Cecilia Scorza
Dra. Analia Richeri
Dra. Gaby Martinez
Dra. Ximena López
Dra. Jessika Urbanabicius



AGENCIA NACIONAL
DE INVESTIGACIÓN
E INNOVACIÓN

