
AYUDAS ECONÓMICAS PARA EL DESARROLLO DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN 2014

Investigadora principal: SANCHEZ BLAZQUEZ, Pilar

Nº de expediente: 2014I012

Entidad: AGENCIA ESTATAL CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS (CSIC)

Departamento: INSTITUTO CAJAL

Tipo de investigación: BÁSICA

Nombre del proyecto: *Cannabinoides y riesgo de psicosis: implicaciones de la asociación del receptor CB1 con el glutamatérgico NMDA*

Número de anualidades: 3

1ª anualidad: 41416

2ª anualidad: 14686

3ª anualidad: 31338

Total concedido: 87440

RESUMEN DEL PROYECTO

El abuso del cannabis acarrea efectos negativos en la población, especialmente en los más jóvenes por encontrarse su sistema nervioso en fases críticas de maduración y diferenciación. En este sentido, el receptor cannabinoide CB1 al regular negativamente la función del de NMDA protege a las células neurales de posibles daños por exceso de calcio/zinc citosólico así como por la generación de NO y radicales libres. Por tanto, el sistema cannabinoide endógeno es beneficioso ya que controla la excitabilidad del de glutamato NMDAR que a su vez es esencial en procesos como la memoria y el aprendizaje. Dado que enfermedades mentales como la psicosis y la esquizofrenia se relacionan con una hipofunción NMDAR, el abuso del cannabis pudiera activar este mecanismo con más frecuencia e intensidad de la que precisa el sistema nervioso lo que daría lugar a la psicosis cannábica, y en sujetos con predisposición genética incluso precipitar signos de esquizofrenia.

Por tanto, proponemos continuar el estudio de la regulación CB1 sobre el NMDAR en función de reguladores como HINT1 y el $\sigma 1R$ de los que parece depender el éxito del control cannabinoide sobre el del NMDA. En el proyecto se analizarán parámetros comportamentales sobre diferentes cepas de ratones, cambios moleculares sobre estos animales, y análisis genético en muestras humanas procedentes de consumidores habituales de cannabis con conductas asociadas de psicosis/esquizofrenia. El objetivo principal es caracterizar este mecanismo y su posible regulación farmacológica a fin de poder desarrollar aproximaciones que eviten o reviertan los inconvenientes derivados de un exceso de regulación negativa cannabinoide sobre el receptor de NMDA, posiblemente psicosis.

OBJETIVOS

El objetivo prioritario del trabajo propuesto es continuar el estudio del papel de las proteínas HINT1 y $\sigma 1R$ en control negativo que ejercen los cannabinoides sobre la función NMDAR. Se trata de identificar anomalías en este mecanismo que pudiesen conducir a la hipofunción NMDAR y por tanto a la aparición de signos de psicosis/esquizofrenia en humanos. Mediante

reguladores endógenos y exógenos de la función de estas proteínas, HINT1 y σ 1R, pretendemos explorar la posibilidad de regular este proceso a fin de evitar o revertir esta situación de un acoplamiento excesivo CB1-NMDAR. Esta investigación contribuiría a conocer mejor los mecanismos que subyacen en el consumo compulsivo de cannabis y podría proporcionarnos biomarcadores de vulnerabilidad a desarrollar conductas psicóticas en consumidores jóvenes.

Objetivos específicos:

1. Evaluación de parámetros comportamentales: temperatura corporal, actividad locomotora, memoria, apetito, el grado de adicción y la tolerancia inducidos por la administración de agonistas cannabinoideos en cepas de animales que presentan diferente sensibilidad al consumo de drogas, así como en ratones HINT1^{-/-} y σ 1R^{-/-}. Atención particular al deterioro del PPI por psicoestímulos y reguladores indirectos de la función NMDAR como ciertos agonistas y antagonistas de RAPG, CB1 incluido. Se evaluará el efecto de reguladores de la actividad enzimática del HINT1 y del receptor Sigma 1 sobre PPI y demás parámetros comportamentales.
2. Continuar la producción de proteínas recombinantes como CB1, subunidad NR1 del NMDAR, HINT1, σ 1R largo, RGS22 y G α para establecer las condiciones de asociación CB1R-NR1 en función de HINT1 y su unión o no a RGS22 y G α GTP, y de NR1 y su unión al σ 1R. Luego, se evaluarán reguladores potenciales de la función del HINT1 como AMP/ADP/ATP/APPPA GMP/GDP/GTP, y de la del σ 1R como neuroesteroides tipo pregnenolona y progesterona y también agonistas y antagonistas exógenos de la serie BD y Pre.
3. En el modelo de hipofunción NMDAR con acoplamiento CB1 que hemos publicado para ratón, profundizaremos el estudio dirigido a desacoplar ambos receptores y así evitar la co-internalización CB1-NR1 tras agonistas cannabinoideos. Se seleccionarán los reguladores que en el estudio del objetivo 3 se determine que refuerzan la asociación CB1-NR1 frente a los que la debiliten –los de potencial terapéutico. Se pretende evitar una hipofunción NMDAR al fallar la desconexión CB1 del NMDAR e identificar posibles reguladores endógenos que pudieran ser causa del fallo.
4. Según lo observado en el estudio preliminar se analizará el papel de PKC/PKA/CaMKII/Cdk5(p35) serina/treonina quinasas, la vía Akt-GSK3 α/β y el de calcineurina en la interacción de CB1R y NMDAR. Estas quinasas y fosfatasa y la vía Akt/GSK3 α/β regulada por estos GPCR se encuentra alterada en pacientes diagnosticados de esquizofrenia y depresión. Proponemos identificar la influencia de HINT1-RGS22, NR1- σ 1R y del NO/zinc en esta regulación rescatando los déficits que se observen en ratones HINT1^{-/-} y σ 1R^{-/-} mediante expresión de estas proteínas en SN del animal (lentivirus y/o proteínas recombinantes).
5. Estudio genético en pacientes. Estudio genético de los locus 5q31.2, 6q25.3, 9p13.3 y 9q34.3 (donde se localiza HINT1, RGS22, σ 1R y NR1) en un grupo de pacientes que presentan un diagnóstico de esquizofrenia paranoide según los criterios diagnósticos DSM IV-TR y los correspondientes controles. Se obtendrán dos subgrupos, según tengan diagnóstico comórbido de abuso o dependencia de cannabis y pacientes que no presenten dicho diagnóstico comórbido.

HIPÓTESIS

Es bien conocido que los cannabinoides poseen propiedades neuroprotectoras, y en aquellos casos en que estas son producto de su acción en receptores cannabinoides el control negativo de la hiperfunción NMDAR parece ser lo que aumenta o protege la supervivencia celular. Es conocido que el CB1 es un inhibidor fisiológico de los receptores de NMDA y nuestros datos indican que aparte de interferencia con la liberación de glutamato o convergencias de caminos de señalización en la postsinapsis, ambos receptores se acoplan para hacer efectivo este control. Es la actividad NMDAR la que “llama” al CB1 a acoplarse para que así pueda mantener la función NMDAR dentro de márgenes fisiológicos sin dañar la función celular. Nuestro estudio previo indica que este proceso requiere de proteínas como HINT1 y el $\sigma 1R$, así como la función de ciertas quinasas. Una vez acoplados CB1 con NMDAR los cannabinoides endógenos al promover la internalización del CB1 arrastran a la subunidad NR1 del NMDAR lo que reduce el impacto de esta función glutamatérgica. Cuando el CB1 retorna a la superficie celular si la actividad NMDAR todavía requiriese control, se acoplaría a nuevos NMDAR para proceder con su inactivación hasta que el proceso diese el fruto esperado, una actividad NMDAR bajo control. Es importante que el CB1 se desacople del NMDAR cuando la actividad cannabinoide comprometiese la función glutamatérgica, p.ej., producción de hipofunción NMDAR. Puesto que la psicosis y la esquizofrenia concurren con esta hipofunción NMDAR y el bloqueo farmacológica de este receptor agudiza estos síndromes e incluso los precipita en sujetos sanos, si tal desconexión fallase se incurriría en el riesgo de abocar en psicosis. Si a esta situación se la añade la llegada de cannabinoides exógenos entonces las consecuencias negativas de este problema se precipitarían. Por tanto, nuestra hipótesis es que fallos en la regulación CB1 sobre NMDAR subyacen en la vulnerabilidad hacia psicosis/esquizofrenia que ciertos individuos muestran ante el consumo abusivo del cannabis.

La proteína HINT1 y el $\sigma 1R$ son esenciales para mantener la conexión entre el CB1R y el NMDAR, y a ambas se las ha relacionado con la neuropatología de distintas enfermedades mentales, principalmente esquizofrenia y trastorno bipolar. Ambas patologías estrechamente relacionadas con una mayor vulnerabilidad al consumo de drogas. La relevancia sanitaria de estos hallazgos justifica el estudio que proponemos en el que se persigue relacionar psicosis cannabica con alteraciones en estas proteínas, así como explorar la posibilidad de usar reguladores de ellas para prevenir/revertir estas situaciones. No solo sería beneficioso en el ámbito del abuso del cannabis, sino que podría ayudar a la utilización terapéutica de derivados cannabicos a fin de proteger en individuos vulnerables frente a la aparición de estos efectos indeseables.