

Endocannabinoides y su modulación en el sueño

Eric Murillo-Rodríguez, René Drucker-Colín

RESUMEN

A principios de los 1990s, se descubrieron proteínas transmembranales que reconocían al componente activo de la marihuana, el delta-9-tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC). Dichos receptores se clasificaron de acuerdo a su localización en centrales y periféricos. Eventualmente de esta forma fueron caracterizados y denominados como receptores para cannabinoides CB_1 y CB_2 , respectivamente.

En la actualidad se ha reportado la presencia en el sistema nervioso central (SNC) de lípidos que se unen a los receptores CB_1 y CB_2 . Los efectos evaluados en roedores han demostrado que la administración de dichas moléculas induce efectos canabimiméticos, de tal forma que dichas moléculas han sido sugeridas como cannabinoides endógenos o endocannabinoides. Anandamida (ANA), 2-araquidonilglicerol (2-AG), Virodamina (VIR), noladin-éter (NE) y *N*-araquidonildopamina (NADA) son moléculas que pertenecen a la familia de los endocannabinoides.

El sistema de cannabinoides endógenos, o endocannabinoides, está presente en el SNC tanto de roedores como en humanos. Este sistema incluye receptores, ligandos endógenos y enzimas. Dado que ANA fué el primer endocanabinoide descrito, ha sido el más estudiado. Experimentos farmacológicos han

reportado que este endocanabinoide induce diversos cambios intracelulares y conductuales. Desafortunadamente no existe en la literatura suficiente evidencia experimental sobre el papel fisiológico del 2-AG, VIR, NE y NADA.

El papel neurobiológico de los endocannabinoides incluye aspectos en la modulación de diversas conductas como el aprendizaje, ingesta de alimento, percepción al dolor y el ciclo sueño-vigilia. En el presente artículo revisaremos los principales elementos del sistema de endocannabinoides así como su función fisiológica en la modulación de los estados de vigilancia.

Palabras clave: Anandamida, cannabinoides, enzima, sueño de movimientos oculares rápidos.

ENDOCANNABINOIDS AND SLEEP.

ABSTRACT

During the 1990s, transmembrane proteins were described that recognize the principal compound of marijuana, delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC). These receptors were classified as central or peripheral based in their neuroanatomical localization. They were named CB_1 and CB_2 . Later, several endogenous compounds were described as a natural agonist for those receptors. To this date, the presence in central nervous system of specific lipids that bind naturally to the CB_1/CB_2 receptors has been documented. Injection of those compounds induce cannabimimetic Effects. Anandamide (ANA), 2-araquidonylglycerol (2-AG), Virodhamine (VIR), noladin-ether (NE) and *N*-arachidonyldopamine (NADA) are currently molecules

Recibido: Aceptado:

Depto. Neurociencias. Instituto de Fisiología Celular Universidad Nacional Autónoma de México. Correspondencia: Eric Murillo-Rodríguez. Depto. Neurociencias/Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México Apdo. Postal 70-600 CP 05410 México DF, México. Email: emurillo@ifc.unam.mx

that belong to the family of endocannabinoids. The system of the endogenous cannabinoids, or endocannabinoids, is present in the CNS of several species, including humans. The system of endocannabinoids includes receptors, endogenous ligands, and enzymes. Since ANA was the very first endocannabinoid described, it has been the most studied so far. Pharmacological experiments have shown that this lipid induces several intracellular and behavioral changes. No solid evidence is available to this date about the physiological properties of 2-AG, VIR, NE y NADA.

The endocannabinoids have a active role modulating diverse neurobiological functions, such as learning and memory, feeding, pain perception and sleep generation. In the present work, the principal elements of the system of the endocannabinoids as well as their physiological function in the modulation of the state of alertness will be revisited.

Key words: anandamide, cannabinoids, enzyme, rapid eye movement sleep.

Canabinoides exógenos

La Marihuana es una palabra que se usa comúnmente para referirse a la planta *Cannabis sativa*. Esta misma ha sido empleada desde tiempos ancestrales como un elemento para diversos propósitos, desde los sociales, religiosos, místicos hasta los terapéuticos^{1,2}.

Es importante señalar que el principal componente activo en la marihuana es una molécula que se denominó originalmente dronabinol (Marinol), y actualmente es conocida como delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC)³. El Δ^9 -THC es una resina pegajosa y no soluble en agua, regularmente es fumada aunque también puede ser ingerida oralmente⁴.

Existen una variedad de reportes que demuestran que el uso de la marihuana tiene beneficios terapéuticos. Por ejemplo, se sabe que el fumar marihuana mejora de manera considerable la presión intraocular en pacientes con glaucoma. Por otro lado, en pacientes que presentan cáncer terminal, el fumar marihuana controla la náusea e induce analgesia, ambos como resultado de la quimioterapia. También se ha documentado que pacientes que cursan con esclerosis múltiple, la administración de marihuana disminuye el dolor así como el número de sacudidas musculares. Finalmente, se ha reportado que pacientes que presentan el síndrome de inmuno deficiencia adquirida, el uso de marihuana les disminuye de ma-

nera considerable la náusea ocasionada por el tratamiento de medicinas retrovirales⁵⁻⁷.

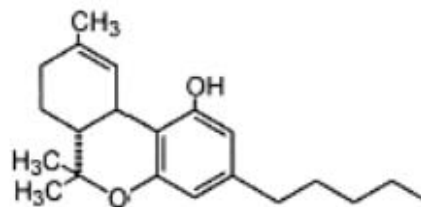


Figura 1. Estructura química del delta-9 tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC). El principal componente activo de la *Cannabis Sativa* (Marihuana) es el Δ^9 -THC, responsable de los cambios celulares y conductuales.

A pesar de que la marihuana presenta propiedades terapéuticas, paradójicamente se ha reportado que el Δ^9 -THC es una molécula toxica ya que induce cambios moleculares, los cuales incluyen fragmentación del DNA y apoptosis⁸⁻¹⁰.

Por otro lado, experimentos farmacológicos evaluados en animales han demostrado que la administración de este canabinoide modifica diversas conductas. Por ejemplo, inyecciones sistémicas o centrales de Δ^9 -THC inducen hipomotilidad, hipotermia y antinocicepción¹¹⁻¹⁷.

Actualmente es aceptado que la mayoría de los efectos moleculares y conductuales inducidos por los canabinoides son a través de receptores transmembranales. Hasta el momento, se sabe que 2 tipos de receptores responden al Δ^9 -THC, de tal modo que dichos receptores han sido sugeridos como receptores para canabinoides. Dichos receptores se conocen actualmente como CB₁, localizado en el SNC^{18,19}; y el CB₂, que de acuerdo con Munro *et al.* presenta una distribución en células del sistema inmune²⁰.

Receptores para canabinoides.

La familia de receptores a canabinoides incluye el receptor central (CB₁) y el periférico (CB₂). Herkenham *et al.* (1990) detectaron la distribución del receptor CB₁ en el cerebro de la rata empleando radiografía cuantitativa mientras que Matsuda y colaboradores (1990) reportaron la localización del RNA mensajero empleando hibridación *in situ*. En ambos experimentos se demostró que el receptor CB₁ se encuentra localizado en el SNC en áreas como corteza cerebral, hipocampo, estriado, sistema límbico, tálamo, cerebelo y tallo cerebral^{21,22}. La presencia del receptor CB₁ también ha sido confirmada mediante inmunohistoquímica en las mismas regiones del SNC²³.

El receptor CB₁ posee 7 dominios transmem-

branales y está acoplado a proteínas G inhibitorias (PG_i). Una vez que el receptor CB₁ se activa, las PG_i transducen la señal entre el receptor y la adenil ciclasa (AC) induciendo una inhibición de ésta última y como resultado, se presenta una disminución en la síntesis de cAMP^{15, 24}.

Los primeros estudios habían mostrado que el receptor CB₁ estaba localizado en el SNC en axones pre-sinápticos. Sin embargo la evidencia actual ha demostrado que esta proteína está también localizada tanto pre- como pos-sinápticamente²⁵. Se ha especulado que de este modo, el receptor CB₁ podría estar modulando la función sináptica tanto pre- como pos-sinápticamente y de este modo, dicho sistema de receptores controlaría la liberación de diversos neurotransmisores.

Por ejemplo, se sabe que el receptor CB₁ modifica la actividad *in vitro* del sistema a GABA^{26,27}. Específicamente se ha demostrado que dicho receptor induce una reducción en la amplitud de receptores a GABA²⁶ mientras que también se ha documentado una inhibición del sistema glutamatérgico después de la activación del receptor CB₁^{28,29}.

En otros casos, la activación del receptor CB₁ ocasiona un incremento en otro tipo de sistemas como por ejemplo, favorece la liberación de acetilcolina³⁰. El sistema de receptores a serotonina también modifica su actividad tras la activación del receptor CB₁³¹⁻³⁴. Finalmente, Venance *et al.* (1995) demostraron una inhibición en las sinapsis eléctricas cómo resultado del funcionamiento de el receptor CB₁.

El mecanismo celular involucrado en la inhibición de la liberación de neurotransmisores por los receptores a cannabinoides permanece aún por ser descrito en detalle. Algunos grupos de investigación han sugerido que los efectos de la activación del receptor CB₁ podrían ser a través de canales de calcio (Ca²⁺) o potasio (K⁺). Este hecho ha sido sustentado por la evidencia que señala que la activación del receptor CB₁ inhibe los canales a Ca²⁺ tipo P, Q y N además de que induce un incremento en la activación de canales a K⁺^{36, 37, 38}.

Además de los efectos mencionados anteriormente, nuestro grupo ha reportado variaciones circadianas del CB₁ en el cerebro de la rata. Específicamente encontramos que el pico máximo está presente en el tallo cerebral a las 13:00 h para la proteína, mientras que para el RNA mensajero el zenit es a las 21:00h. La mínima expresión se encontró a las 01:00 y 09:00 h, tanto para la proteína y RNA mensajero, respectivamente³⁹.

Es importante señalar que los receptores CB₁

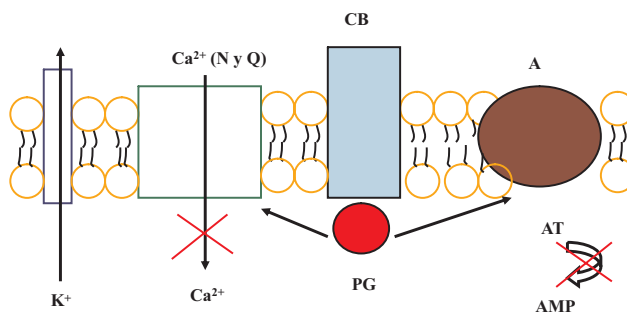


Figura 2. Activación del receptor CB1 induce bloqueo de canales calcio (Ca²⁺) tipo N y Q así como una inhibición de la adenil ciclasa (AC) decrementando la síntesis de AMPc. Ambos efectos llevados a cabo por proteínas G inhibitorias (PGi). La activación del receptor CB1 también ocasiona un flujo significativo de potasio (K⁺).

están presentes en organismos maduros y ampliamente distribuidos en tejido neuronal así como en tejido no neuronal, incluyendo sistema reproductivo, inmune y digestivo⁴⁰.

Por otro lado, en el caso del receptor CB₂, éste fue originalmente clonado por Munro *et al.* (1993). La localización de dicho receptor se limita al sistema inmune. El RNA mensajero del receptor CB₂ está presente en macrófagos así como en monocitos pero aparentemente ausente en el SNC²⁰. Brown *et al.* (2002) han confirmado en rata la localización del RNA mensajero del receptor CB₂ usando hibridación *in situ* y reportaron que dicha proteína se encuentra en pulmón, vaso, testículos pero completamente ausente en el SNC. Sin embargo, de manera sorprendente, Van Sickle y cols (2005) demostraron recientemente la presencia del receptor CB₂ en tallo cerebral, sugiriendo con esto que dicho receptor podría estar también en otras áreas del SNC.

El receptor CB₂ comparte algunos de los elementos intracelulares que son activados por el receptor CB₁, como por ejemplo, involucra PG_i e inhibe la actividad de la AC⁴⁰. Sin embargo, aún faltan por describir otras vías intracelulares que podrían ser activadas por dicho receptor.

La distribución anatómica y densidad de los receptores CB₁ para cannabinoides en el cerebro humano ha originado nuevas perspectivas sobre el papel funcional del sistema de endocannabinoides así como su potencial vínculo con procesos cognitivos. En cerebros normales de humano, la densidad del receptor para cannabinoides CB₁ incluye áreas del diencefalo como tálamo, e hipotálamo. También en corteza cerebral, hipocampo, sistema limbico y ganglios basales^{18,19,21,23}. La presencia de dicho receptor en estas áreas sugiere un papel activo del sistema de

endocannabinoides en la modulación de diversas conductas como control motor, procesos de aprendizaje, memoria y sueño.

Sin embargo, dicho sistema de receptores parece estar vinculado con patologías. Por ejemplo, Glass y colaboradores (1993) describieron que el receptor CB₁ estaba disminuido significativamente (97%) en cerebros de pacientes que presentaron la enfermedad de Huntington. Dicha pérdida estaba localizada en áreas específicas del SNC como sustancia nigra. Los autores concluyen que la pérdida de dicho receptor podría estar relacionada con la generación de dicha enfermedad, así como con la génesis de la pérdida del control motor.

Canabinoides endógenos.

La identificación, localización y caracterización de receptores específicos que reconocían a la marihuana y al ⁹-THC originó la búsqueda de agonistas endógenos que de manera natural se unían a dichos receptores.

N-araquidonoyletanolamina (anandamida [ANA]) fue el primer lípido descrito en el cerebro del cerdo que se unía de manera natural a los receptores para cannabinoides CB₁/CB₂ además de que presentaba propiedades canabimiméticas⁴⁴. El segundo endocanabinoide identificado en el intestino canino fue el 2-araquidonilglicerol (2-AG), el cual mostraba tener efectos *in vivo* muy semejantes al ⁹-THC⁴⁵. De esta forma, se acepta actualmente el hecho de que tanto ANA como el 2-AG se unen y activan a los receptores para cannabinoides⁴⁶.

Un tercer endocanabinoide fue reportado por Hanus et al (2001) el cual fue denominado noladin éter (NE). NE se une al receptor CB₁ con una afinidad nanomolar, mientras que su selectividad al CB₂ se encuentra en un rango micromolar.

En el 2002, Porter y colaboradores desarrollando métodos bioanalíticos para la identificación y cuantificación de ANA, descubrieron la presencia de una molécula que presentaba el mismo peso molecular que ANA pero que poseía un tiempo de retención más corto lo cual indicaba que no era dicho lípido. Una vez analizados los valores cromatográficos así como las propiedades espectrométricas de masa de ésta molécula desconocida, los autores concluyeron que dicho lípido se trataba de ácido araquidónico y etanolamina unidos por una molécula éster (lo opuesto a ANA, de quien se sabe es ácido araquidónico unido a etanolamina mediante una unión amida). Basados en ésta orientación opuesta, la molécula fue denominada O-araquidoniletanolamina

también llamada *Virodamina* (VIR), del sánscrito que significa *opuesto*.

Finalmente, N-araquidonildopamina (NADA) ha sido recientemente identificada como un miembro más de la familia de los endocannabinoides dada su afinidad a los receptores para cannabinoides⁴⁹. Sin embargo, aún es necesario caracterizar las propiedades químicas y farmacológicas de NE, VIR y NADA.

La distribución de ANA en el SNC del roedor incluye regiones como la corteza, hipocampo, estriado, cerebelo y tallo cerebral^{50,51}. Por otro lado, el 2-AG presenta una distribución neuroanatómica semejante a ANA, sin embargo, presenta cantidades mucho más elevadas que las mostradas por ANA⁵². Es importante señalar que tanto ANA como el 2-AG están presentes en las mismas áreas del SNC en donde se localizan los receptores CB₁.

Un punto que ha generado consternación entre la comunidad científica es el hecho de que los endocannabinoides no se almacenan en vesículas sinápticas como regularmente sucede con otros neuromoduladores, en cambio se ha hipotetizado que son producidos «en demanda»⁵³. Esto significa que el mecanismo biológico de formación involucra la existencia de fosfolípidos membranales específicos que son los precursores de dichas moléculas. De tal modo que la biosíntesis de los endocannabinoides es seguida por su inmediata liberación.

Bioquímicamente se ha establecido que el mecanismo de inactivación de los endocannabinoides involucra dos vías: La primera establece un desplazamiento al interior de la neurona vía un transportador; una vez en el interior de la célula, entonces los endocannabinoides son sometidos a una hidrólisis mediante una enzima denominada hidrolasa de los ácidos grasos amidas (o Fatty acid amide hydrolase, FAAH por sus siglas en inglés) en el caso de ANA. Mientras que la ruta de degradación de 2-AG involucra una lipasa monoacil glicerol⁵⁴⁻⁵⁹.

Efectos intracelulares de los endocannabinoides

Dado que ANA ha sido el endocanabinoide más estudiado, es del que más efectos farmacológicos conocemos. Entre las diversas funciones *in vitro* que ANA posee podemos mencionar algunos como la inhibición de los canales de Ca^{2+} tipo N^{60, 61}, induce además una activación de canales de K^{+} ⁶⁰ y facilita la actividad de la vía de las proteínas cinasas activadas por mitógenos⁶²⁻⁶⁴.

La administración de ANA en roedores incrementa además la expresión de *c-fos* en áreas del SNC como corteza, tálamo, cerebelo y tallo cerebral^{65,66}.

Efectos conductuales de los endocannabinoides

La evidencia farmacológica disponible hasta el momento señala que ANA produce en roedores efectos semejantes a los ocasionados por la marihuana y el ⁹-THC, incluyendo antinocicepción, hipotermia, hipomotilidad, cataplexia, hiperfagia e induce un deterioro en procesos de aprendizaje y memoria^{7,9,16,67-74}. Los efectos farmacológicos en diversas conductas de los otros endocannabinoides permanecen aún por ser descritos.

Como todo sistema biológico de receptores, el endocannabinoidérgico poseía receptores y ligandos exógenos y endógenos. Sin embargo faltaba por describir alguna molécula con propiedades antagonistas. Una vez identificado el receptor para cannabinoides y el ligando agonista natural, los laboratorios Sanofi desarrollaron un fármaco antagonista a receptores CB_1 , el SR141716A⁷⁵. Varios de los efectos ocasionados por ⁹-THC, ANA y 2-AG eran bloqueados empleando este fármaco^{76,77}. Este dato señalaba que ciertamente tanto la marihuana como los endocannabinoides estudiados hasta el momento, modulaban diversas conductas empleando el sistema de receptores a cannabinoides.

Efectos de los endocannabinoides en el sueño

Es conocido además que tanto la marihuana como el ⁹-THC modulan el ciclo sueño-vigilia. Durante los 1960s se realizaron diversos experimentos, muchos de ellos llevados a cabo en humanos, evaluando el efecto de los cannabinoides exógenos sobre el sueño. En general podemos concluir que dichos estudios mostraron efectos inductores de sueño. Incrementos en el sueño de ondas lentas (SOL) y en el sueño de movimientos oculares rápidos (SMOR) fueron observados como resultado de la administración tanto de la marihuana como del ⁹-THC⁷⁸⁻⁸⁴.

Como señalamos anteriormente, los estudios pioneros mostraron que los cannabinoides podían ciertamente modular el sueño. Sin embargo, en algunos estudios los extractos de la marihuana usados, incluido el ⁹-THC, iban mezclados con otros componentes importantes de la marihuana como el canabidiol y canabinol. De tal modo que era un poco difícil atribuir los efectos a una determinada molécula. Recientemente se reportó que la administración sistémica del canabidiol, componente no psicotrópico de la marihuana, incrementaba la vigilia (VIG) en el humano⁸⁴. Este efecto era opuesto al reportado por el ⁹-THC. Parecería entonces que diversos cannabinoides exógenos modulan el sueño en direcciones opuestas.

¿Pero cuál era el papel fisiológico del sistema de endocannabinoides en el sueño? El primer intento en explorar el papel biológico del sistema de endocannabinoides en el sueño fue probado por Santucci y colaboradores en 1996. Dicho grupo administró sistémicamente SR141716A en ratas y encontraron un incremento en la VIG y una disminución del SOL. Los autores atribuyeron dicho efecto al bloqueo del receptor CB_1 . Esto sugería que dicho receptor presentaba un papel activo en la modulación del sueño.

Por otro lado, nuestro laboratorio⁷¹ demostró por primera vez que el endocanabinoide ANA modulaba el sueño en ratas. Administraciones intracerebroventriculares ocasionaban un efecto opuesto al reportado por Santucci y asociados. Un decremento en la VIG y un aumento en el SOL así como en el SMOR fue el efecto observado tras la administración de ANA⁷¹. Dichos efectos fueron más evidentes cuando ANA fue inyectada en una región del SNC que participa en la generación del SMOR, el núcleo tegmental pedunculopontino (PPTg).

Partiendo de la hipótesis que los efectos observados por ANA en el sueño serían a través del receptor para cannabinoides CB_1 , nuestro laboratorio encontró que la administración del SR141716A 15 minutos antes de la inyección de ANA en ratas, tanto icv como en PPTg bloqueaba eficientemente los cambios observados en el sueño⁷⁷.

Nuestros resultados sugerían que el mecanismo por el cual ANA modula el sueño, involucraba ciertamente al receptor CB_1 ⁷⁷. Sin embargo, existían otros elementos celulares que podrían estar involucrados en los efectos inducidos por ANA en el sueño. Por ejemplo, analizamos si la inhibición de la fosfolipasa C (PLC), acoplada al receptor CB_1 , podía prevenir los efectos inductores de sueño de ANA. Los resultados de dicho experimento mostraron que el U73122,

inhibidor de la PLC, bloqueaba los efectos observados en el sueño después de la microinyección de ANA. Concluimos entonces que las propiedades inductoras de sueño de ANA requerían del receptor CB_1 así como de la PLC⁷⁷.

Es importante mencionar que existen otros sistemas neurobiológicos involucrados en el efecto inductor de sueño de ANA. Por ejemplo, posteriormente nuestro grupo evaluó el efecto de ANA sobre los niveles de adenosina, un factor inductor de sueño. La administración sistémica de ANA en ratas inducía, además del efecto en el sueño reportado anteriormente (un incremento en el sueño), un aumento en las concentraciones de adenosina colectadas mediante la técnica de microdialisis y analizadas a través del HPLC⁸⁶. Encontramos además una correlación entre el aumento del sueño y el incremento de adenosina en el cerebro basal de las ratas tratadas con ANA. Interesantemente ambos efectos fueron bloqueados con el SR141716A, confirmando que el efecto inductor de sueño ocasionado por ANA era a través del receptor CB_1 ⁸⁶. Además, el resultado de dicho estudio sugería que el aumento en el sueño ocasionado por ANA podía deberse a la liberación del factor inductor de sueño adenosina⁸⁶.

Toda esta evidencia sugería que ciertamente el sistema de endocannabinoides modula el ciclo sueño-vigilia^{71,77,85,86}. Además de los efectos farmacológicos que hemos descrito anteriormente, el receptor CB_1 presenta variaciones en ratas como resultado del estado de vigilancia en el cual se encuentra el animal⁸⁷. Específicamente, después de la privación total de SMOR, el receptor CB_1 se encuentra incrementado de manera significativa comparado con animales no privados de sueño⁸⁷. Este dato sugiere que el receptor CB_1 responde cambios en la homeostasis del sueño. Desafortunadamente las propiedades biológicas en el sueño de los otros endocannabinoides permanecen aún por ser descritas dada su reciente descripción.

El sistema de endocannabinoides y su potencial uso terapéutico

El sistema de endocannabinoides, incluyendo ANA, 2-AG, los receptores CB_1 y CB_2 así como la FAAH, han sido propuestos para tratar diversas patologías o condiciones medicas como dolor⁸⁸, enfermedades vasculares, entre otras⁸⁸⁻⁹⁴.

La evidencia que describimos anteriormente sobre los efectos farmacológicos de los endocannabinoides ofrece una tentadora perspectiva en el desarrollo de fármacos con fines terapéuticos, en especial, para el tratamiento de alteraciones del sueño,

como el insomnio. Conociendo la fisiología del sistema de endocannabinoides es posible diseñar novedosas estrategias terapéuticas.

Sabemos hasta el momento que la activación del receptor CB_1 induce sueño, mientras que su bloqueo empleando el SR141716A incrementa la VIG. Podríamos especular entonces que la administración de ANA podría mejorar la calidad de sueño en pacientes con insomnio, mientras que el SR141716A podría ser considerado para un escenario opuesto, somnolencia excesiva.

Otra potencial vía sería evaluar el papel de la enzima que degrada ANA, la FAAH⁵⁹. Modulando los niveles endógenos de los endocannabinoides mediante fármacos que inhiban la FAAH podría resultar en una exitosa terapia para aminorar diversos padecimientos.

CONCLUSIONES

El sistema de los endocannabinoides esta conservado a través de la evolución, incluyendo varios invertebrados, lo cual significa que dicho sistema posee una potencial relevancia fisiológica.

Como comentamos en la presente revisión, la administración central o sistémica del endocanabinoide ANA, induce efectos conductuales como los ocasionados por los cannabinoides exógenos, la marihuana y el Δ^9 -THC. Los cambios conductuales y moleculares reportados tanto por los cannabinoides exógenos como por los endocannabinoides, son la resultante de la activación de receptores a cannabinoides, clasificados en CB_1 y CB_2 dada su localización.

Por otro lado, los efectos farmacológicos en diversos modelos experimentales descritos en la presente revisión, son bloqueados eficientemente empleando el SR141716A, el antagonista a receptores para cannabinoides. Esto indica que las diversas alteraciones conductuales o moleculares inducidas por los endocannabinoides requieren del receptor CB_1 .

En el caso de los efectos de ANA sobre el sueño, hemos demostrado que este lípido posee propiedades inductoras de sueño. Un potencial mecanismo por el cual ANA induce sueño involucra al factor inductor de sueño adenosina. Las administraciones de ANA incrementan el sueño así como los niveles extracelulares de adenosina.

Finalmente, desde el punto de vista farmacológico y farmacéutico, el sistema de endocannabinoides, incluyendo receptores, ligandos y enzimas, podría ser considerado un blanco más para el desarrollo de fármacos dirigidos al aumento o inhibición de su actividad, esto con fines médicos para tratar diversas

alteraciones del dormir, incluido el insomnio.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado gracias al apoyo FI-DEICOMISO-UNAM a René Drucker-Colín.

REFERENCIAS

- Zias J, Stark H, Seligman J, Levy R, Werker E, Breuer A, Mechoulam R. Early medical use of cannabis. *Nature* 1993; 363: 215-6.
- Iversen L. Cannabis and the brain. *Brain* 2003; 126:1252-70.
- Gaoni Y, Mechoulam R. Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J Am Chem Soc* 1964; 86: 1646-7.
- Howlett AC. Pharmacology of Cannabis. Handbook of Substance Abuse: Neurobehavioral Pharmacology. New York, USA: Editorial Plenum Trater et al (Eds), 1995; 113-29.
- Hollister LE. Health aspects of cannabis. *Pharmacol Rev* 1986; 38: 1-20.
- Kalant H. Medicinal use of cannabis: history and current status. *Pain Res Manag* 2001; 6: 80-91.
- de Jong BC, Prentiss D, McFarland W, Machekano R, Israelski DM. Marijuana Use and Its Association With Adherence to Antiretroviral Therapy Among HIV-Infected Persons With Moderate to Severe Nausea. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005; 38: 43-6.
- Martin BR. Cellular effects of cannabinoids. *Pharmacol Rev* 1986; 38: 45-74.
- Scallet AC, Uemura E, Andrews A, Ali SF, McMillan DE, Paule MG, et al. Morphometric studies of the rat hippocampus following chronic delta-9-tetrahydrocannabinol (THC). *Brain Res* 1987; 436: 193-8.
- Hall W, Solowji N. Adverse effects of cannabis. *The Lancet* 1998; 352: 1611-5.
- Perez-Reyes M, Timmons MC, Wall MA. Intravenous injection in man of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and 11-OH- Δ^9 -Tetrahydrocannabinol. *Science* 1972; 177: 633-5.
- Turkanis SA, Karler R. Excitatory and depressant effects of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol and cannabidiol on cortical evoked responses in the conscious rat. *Psychopharmacol* 1981; 75: 294-8.
- Molina-Holgado F, González MI, Leret ML. Effects of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol on short-term memory in rats. *Physiol Behav* 1995; 57: 177-9.
- Chan GC, Hinds TR, Impey S, Storm D. Hippocampal neurotoxicity of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol. *J Neurosci* 1998; 18: 5322-32.
- Ameri A. The effects of cannabinoids on the brain. *Progr Neurobiol* 1999; 58: 315-48.
- Williams CM, Kirkham TC. Observational analysis of feeding induced by Delta(9)-THC and anandamide. *Physiol Behav* 2002; 76: 241-250.
- Whitlow CT, Freedland CS, Porrino LJ. Functional consequences of the repeated administration of Delta9-tetrahydrocannabinol in the rat. *Drug Alcohol Depend* 2003; 71: 169-77.
- Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, et al. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1932-6.
- Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990; 346: 561-4.
- Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 1993; 365: 61-5.
- Glass M, Dragunow M, Faull RLM. Cannabinoid receptor in the human brain: a brain detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neurosci* 1997; 77: 299-318.
- McPartland JM, Glass M. Functional mapping of cannabinoid receptor homologs in mammals, other vertebrates, and invertebrates. *Gene* 2003; 312: 297-303.
- Moldrich G, Wenger T. Localization of the CB1 cannabinoid receptor in the rat brain. An immunohistochemical study. *Peptides* 2000; 21: 1735-42.
- Glass M, Northup JK. Agonist selective regulation of G proteins by cannabinoid CB(1) and CB(2) receptors. *Mol Pharmacol* 1999; 56: 1362-9.
- Salio C, Fischer J, Franzoni MF, Conrath M. Pre- and postsynaptic localizations of the CB1 cannabinoid receptor in the dorsal horn of the rat spinal cord. *Neurosci* 2002; 110: 755-64.
- Katona I, Sperlagh B, Magloczky Z, Santha E, Kofalvi A, Czirjak S, et al. GABAergic interneurons are the targets of cannabinoid action in the human hippocampus. *Neurosci* 2000; 100: 797-804.
- Azad SC, Eder M, Marsicano G, Lutz B, Zieglansberger W, Rammes G. Activation of the cannabinoid receptor type 1 decreases glutamatergic and GABAergic synaptic transmission in the lateral amygdala of the mouse. *Learn Mem* 2003; 10: 116-28.
- Hampson AJ, Bornheim LM, Scanziani M, Yost CS, Gray AT, Hansen BM, et al. Dual effect of anandamide on NMDA receptor-mediated responses and neurotransmission. *J Neurochem* 1998; 70: 671-76.
- Gerdeman G, Lovinger DM. CB₁ cannabinoid receptor inhibits synaptic release of glutamate in rat dorsolateral striatum. *J Neurophysiol* 2000; 85: 468-71.
- Acquas E, Pisanu A, Marrocu P, Di Chiara G. Cannabinoid CB₁ receptor agonist increase rat cortical and hippocampal acetylcholine release in vivo. *Eur J Pharmacol* 2000; 401: 179-85.
- Fan P. Cannabinoids agonists inhibit the activation of 5-HT₃ receptors in rat nodose ganglion neurons. *J Neurophysiol* 1995; 73: 907-10.
- Kimura T, Ohta T, Watanabe K, Yoshimura H, Yamamoto I. Anandamide, an endogenous cannabinoid receptor ligand, also interacts with 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptor. *Biol Pharm Bull* 1998; 21: 224-6.
- Nakazi M, Bauer U, Nickel T, Kathmann M, Schlicker E. Inhibition of serotonin release in the mouse brain via presynaptic cannabinoid CB₁ receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 2000; 361: 19-24.
- Devlin MG, Christopoulos A. Modulation of cannabinoid agonist binding by 5-HT in the rat cerebellum. *J Neurochem* 2002; 80: 1095-1102.
- Venance L, Piomelli D, Glowinsky J, Giaume Ch. Inhibition by anandamide of gap junctions and intercellular calcium signaling in striatal astrocytes. *Nature* 1995; 376: 590-4.
- Mackie K, Lai Y, Westernbroek R, Mitchell R. Cannabinoid activate an inwardly rectifying potassium conductance and inhibit Q-type calcium currents in ATT20 cells transfected with rat brain cannabinoid receptors. *J Neurosci* 1995; 15: 6552-61.
- Twitchell W, Brown S, Mackie K. Cannabinoids inhibit N- and P/Q-type calcium channels in cultured rat hippocampal

- neurons. *J Neurophysiol* 1997; 78: 43-50.
38. Daniel H, Rancillac A, Crepel F. Mechanisms underlying cannabinoid inhibition of presynaptic Ca²⁺ influx at parallel fibre synapses of the rat cerebellum. *J Physiol* 2004; 557: 159-74.
 39. Martinez-Vargas M, Murillo-Rodríguez E, Gonzalez-Rivera R, Landa A, Mendez-Diaz M, Prospero-García O, et al. Sleep modulates cannabinoid receptor 1 expression in the pons of rats. *Neurosci* 2003; 117:197-201.
 40. Axelrod J, Felder CC. Cannabinoid receptors and their endogenous agonist, anandamide. *Neurochem Res* 1998; 23: 575-81.
 41. Brown SM, Wager-Miller J, Mackie K. Cloning and molecular characterization of the rat CB2 cannabinoid receptor. *Biochim Biophys Acta* 2002; 1576: 255-64.
 42. Van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ, Mouihate A, Urbani P, Mackie K, et al. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science* 2005; 310(5746): 329-32.
 43. Glass M, Faul RLM, Dragunow M. Loss of cannabinoid receptors in the substantia nigra in Huntington's disease. *Neurosci* 1993; 56: 523-7.
 44. Devane WA, Hanues L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 1992; 258: 1946-9.
 45. Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 1995; 50: 83-90.
 46. Hillard CJ. Biochemistry and pharmacology of the endocannabinoids arachidonylethanolamide and 2-arachidonylglycerol. *Prost Lip Med* 2000; 61: 3-18.
 47. Hanus L, Abu-Lafi S, Fride E, Breuer A, Vogel Z, Shalev DE, et al. 2-arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 7: 3662-5.
 48. Porter AC, Sauer JM, Knierman MD, Becker GW, Berna MJ, Bao J, et al. Characterization of a novel endocannabinoid, virodhamine, with antagonist activity at the CB1 receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 301 (3): 1020-4.
 49. Huang SM, Bisogno T, Trevisani M, Al-Hayani A, De Petrocellis L, Fezza F, et al. An endogenous capsaicin-like substance with high potency at recombinant and native vanilloid VR1 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(12): 8400-5.
 50. Felder Ch, Nielsen A, Briley EM, Palkovits M, Priller J, Axelrod J, et al. Isolation and measurement of the endogenous cannabinoid receptor agonist, anandamide, in brain and peripheral tissues of human and rat. *FEBS Lett* 1996; 393:231-5.
 51. Bisogno T, Berrendero F, Ambrosino G, Cebeira M, Ramos JA, Fernández-Ruiz JJ, et al. Brain regional distribution of endocannabinoids: Implications for their biosynthesis and biological function. *Biochem Biophys Res Comm* 1999; 256: 377-80.
 52. Sugiura T, Waku K. 2-Arachidonylglycerol and the cannabinoid receptors. *Chem Phys Lip* 2000; 108: 89-106.
 53. Cadas H, di Tomaso E, Piomelli D. Occurrence and biosynthesis of endogenous cannabinoid precursor, N-arachidonoyl phosphatidylethanolamine, in rat brain. *J Neurosci* 1997; 17: 1226-42.
 54. Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, et al. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature* 1994; 372(6507):686-91.
 55. Dinh TP, Carpenter D, Leslie FM, Freund TF, Katona I, Sensi SL, et al. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 10819-24.
 56. Ueda N. Endocannabinoid hydrolases. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2002; 68-69: 521-34.
 57. Gaetani S, Cuomo V, Piomelli D. Anandamide hydrolysis: a new target for anti-anxiety drugs? *Trends Mol Med* 2003; 9: 474-8.
 58. Sun YX, Tsuboi K, Okamoto Y, Tonai T, Murakami M, Kudo I, et al. Biosynthesis of anandamide and N-palmitoylethanolamine by sequential actions of phospholipase A2 and lysophospholipase D. *Biochem J* 2004; 380:749-56.
 59. Rodríguez de Fonseca F, Del Arco I, Bermudez-Silva FJ, Bilbao A, Cippitelli A, Navarro M. The endocannabinoid system: physiology and pharmacology. *Alcohol Alcohol* 2005; 40:2-14.
 60. Mackie K, Devane WA, Hille B. Anandamide, an endogenous cannabinoid, inhibits calcium currents as a partial agonist in N18 neuroblastoma cells. *Mol Pharmacol* 1993; 44: 498-503.
 61. Guo J, Ikeda SR. Endocannabinoids modulate N-type calcium channels and G-protein-coupled inwardly rectifying potassium channels via CB1 cannabinoid receptors heterologously expressed in mammalian neurons. *Mol Pharmacol* 2004; 65: 665-74.
 62. Wartmann M, Campbell D, Subramanian A, Burstein SH, Davis RJ. The MAP Kinase signal transduction pathway is activated by the endogenous cannabinoid anandamide. *FEBS Lett* 1995; 359: 133-6.
 63. Valk P, Verbakel S, von Lindern M, Lowenberg B, Delwel R. Enhancement of erythropoietin-stimulated cell proliferation by Anandamide correlates with increased activation of the mitogen-activated protein kinases ERK1 and ERK2. *Hematol J* 2000; 1: 254-63.
 64. Sanchez MG, Ruiz-Llorente L, Sanchez AM, Diaz-Laviada I. Activation of phosphoinositide 3-kinase/PKB pathway by CB(1) and CB(2) cannabinoid receptors expressed in prostate PC-3 cells. Involvement in Raf-1 stimulation and NGF induction. *Cell Signal* 2003; 15: 851-9.
 65. McGregor IS, Arnold JC, Weber MF, Topples AN, Hunt GEA. Comparison of delta 9-THC and anandamide induced c-fos expression in the rat forebrain. *Brain Res* 1998; 802: 19-26.
 66. Patel NA, Moldow RL, Patel JA, Wu d-G, Chang SL. Arachidonylethanolamide (AEA) activation of FOS proto-oncogene protein immunoreactivity in the rat brain. *Brain Res* 1998; 797: 225-33.
 67. Fride E, Mechoulam R. Pharmacological activity of the cannabinoid receptor agonist, anandamide, a brain constituent. *Eur J Pharmacol* 1993; 231: 313-4.
 68. Smith PB, Compton DR, Welch SP, Razdan RK, Mechoulam R, Martin BR. The pharmacological activity of anandamide, a putative endogenous cannabinoid, in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 270: 219-27.
 69. Wiley J, Balster R, Martin B. Discriminative stimulus effects of anandamide in rats. *Eur J Pharmacol* 1995; 276: 49-54.
 70. Stein EA, Fuller SA, Edgemond WS, Campbell WB. Physiological and behavioral effects of the endogenous cannabinoid, arachidonylethanolamide (anandamide), in the rat. *Brit J Pharmacol* 1996; 119: 107-14.
 71. Murillo-Rodríguez E, Sánchez-Alavez M, Navarro L, Martínez-González D, Drucker-Colín R, Prospero-García O. Anandamide modulates sleep and memory in rats. *Brain Res* 1998; 812: 270-4.
 72. Williams CM, Kikham TC. Anandamide induces overeating: mediation by central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacol* 1999; 143: 315-7.
 73. Costa B, Giagnoni G, Colleoni M. Precipitated and

- spontaneous withdrawal in rats tolerant to anandamide. *Psychopharmacol* 2000; 149: 121-8.
74. Sanudo-Pena MC, Romero J, Seale GE, Fernandez-Ruiz JJ, Walker JM. Activational role of cannabinoids on movement. *Eur J Pharmacol* 2000; 391: 269-74.
75. Rinaldi-Carmona M, Barth F, Heaulme M, Shire D, Calandra B, Congy C, et al. Biochemical and pharmacological characterization of SR141716A, the first potent and selective brain cannabinoid receptor antagonist. *Life Sci* 1995; 56: 1941-7.
76. Mallet P, Beninger RJ. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716A attenuates the memory impairment produced by Δ^9 -tetrahydrocannabinol or anandamide. *Psychopharmacol* 1998; 140: 11-9.
77. Murillo-Rodríguez E, Cabeza RJ, Méndez-Díaz M, Navarro L, Prospéro-García, O. Anandamide effects on sleep are blocking with the CB₁ cannabinoid receptor antagonist, SR141716A and also with the U73122, a Phospholipase C inhibitor. *Neuroreport* 2001; 12: 2131-6.
78. Pivik RT, Zarccone V, Dement WC, Hollister LE. Delta-9-tetrahydrocannabinol and synhexl: Effects on human sleep patterns. *Clin Pharmacol Ther* 1972; 13: 426-35.
79. Moreton JE, Davis WM. Electroencephalographic study of the effects of tetrahydrocannabinols on sleep in the rat. *Neuropharmacol* 1973; 12: 897-907.
80. Feinberg I, Jones R, Walker JM, Caveness C, March J. Effects of high dosage delta-9-tetrahydrocannabinol on sleep patterns in man. *Clin Pharmacol Ther* 1975; 17: 458-66.
81. Feinberg I, Jones R, Walker J, Cavness C, Floyd T. Effects of marijuana extract and tetrahydrocannabinol on electroencephalographic sleep patterns. *Clin Pharmacol Ther* 1976; 19: 782-94.
82. Buonamici M, Young GA, Khazan N. Effects of acute delta 9-THC administration on EEG and EEG power spectra in the rat. *Neuropharmacol* 1982; 21: 825-9.
83. Freeman FR. The effect of chronically administered delta-9-tetrahydrocannabinol upon the polygraphically monitored sleep of normal volunteers. *Drug Alcohol Depend* 1982; 10: 345-53.
84. Nicholson AN, Turner C, Stone BM, Robson PJ. Effect of Delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on nocturnal sleep and early-morning behavior in young adults. *Clin Psychopharmacol* 2004; 24(3): 305-13.
85. Santucci V, Storme JJ, Soubrié P, Le Fur G. Arousal-enhancing properties of the CB₁ cannabinoid receptor antagonist SR141716A in rats as assessed by electroencephalographic spectral and sleep-waking analysis. *Life Sci* 1996;58:PL103-10.
86. Murillo-Rodríguez E, Blanco-Centurión C, Sánchez C, Piomelli D, Shiromani PJ. Anandamide enhances extracellular levels of adenosine and induces sleep: an in vivo microdialysis study. *Sleep* 2003; 26: 943-7.
87. Navarro L, Martínez-Vargas M, Murillo-Rodríguez E, Landa A, Méndez-Díaz M, Prospéro-García O. Potential role of the cannabinoid receptor CB₁ in rapid eye movement sleep rebound. *Neurosci* 2003; 120: 855-9.
88. Calignano A, La Rana G, Giuffrida A, Piomelli D. Control of pain initiation by endogenous cannabinoids. *Nature* 1998; 16: 277-81.
89. Porter AC, Felder CC. The endocannabinoid nervous system: unique opportunities for therapeutic intervention. *Pharmacol Ther* 2001; 90: 45-60.
90. Robson P. Therapeutic aspects of cannabis and cannabinoids. *Br J Psychiat* 2001; 178: 107-15.
91. Mechoulam R, Panikashvili D, Shohami E. Cannabinoids and brain injury: therapeutic implications. *Trends Mol Med* 2002; 8: 58-61.
92. Mendizabal VE, Adler-Graschinsky E. Cannabinoid system as a potential target for drug development in the treatment of cardiovascular disease. *Curr Vasc Pharmacol* 2003; 1: 301-13.
93. Frède E. The endocannabinoid-CB receptor system: Importance for development and in pediatric disease. *Neuro Endocrinol Lett* 2004; 25: 24-30.
94. Pazos MR, Nunez E, Benito C, Tolon RM, Romero J. Role of the endocannabinoid system in Alzheimer's disease: new perspectives. *Life Sci* 2004; 75: 1907-15.