

Sistema endocannabinoide, obesidad y síndrome metabólico

Dres. Antonio J. Paragano*, Antonio Abdala*, Jorge O. Vilariño#, Clemente H. Magallanes*, Jorge Curotto Grasiosi*, Diego Alasia*, Diego Cordero*, Pablo M. Merlo* y Ricardo J. Esper*

INTRODUCCION

En los mamíferos la conjunción de mecanismos centrales y periféricos regula la ingesta de alimentos y el consumo de energía, manteniendo así la textura corporal y el metabolismo. En nuestros días un importante porcentaje de individuos adultos padece de sobrepeso u obesidad¹, más inquietante aún es que la proporción va en aumento, exponiéndolos a la enfermedad cardiovascular y la diabetes. En los pacientes obesos la pérdida de peso mejora significativamente los factores de riesgo afines con la enfermedad cardiovascular e impide o retrasa el advenimiento de la diabetes tipo 2, mejorando el status vital de muchos de ellos^{2,3}. Aunque para un gran número de personas es complejo reducir el sobrepeso, mantener la pérdida alcanzada es todavía más difícil, además las opciones para el tratamiento farmacológico efectivo son limitadas y a veces con secuelas nocivas⁴. A pesar del importante progreso en la investigación aún no disponemos de una droga potente y segura para alcanzar este objetivo. El optimismo promovido por el descubrimiento de la leptina fue rápidamente ensombrecido cuando los estudios clínicos demostraron que sus efectos reductores del peso estaban limitados a un puñado de pacientes, los privados congénitamente de la hormona^{5,6}. Actualmente otros mecanismos neuroendocrinos responsables del balance energético están bajo investigación, en este contexto el sistema endógeno cannabinoide representa un nuevo y alentador objetivo. El cannabis sativa, nombre botánico latino del cáñamo, se cultiva hace más de 5000 años y fue considerado en la antigüedad como uno de los recursos terapéuticos más importantes. En la medicina popular asiática el tratamiento de la inapetencia era una de sus tantas aplicaciones; sin embargo, hasta el descubrimiento de sus principios activos (cannabinoides) no se pudo develar si esta pretendida eficacia terapéutica se sustentaba en argumentos reales. Los cannabinoides son moléculas que ejercen sus funciones al interactuar con receptores específicos del organismo, la identificación de estos receptores sugirió inmediatamente la existencia de un sistema cannabinoide endógeno. Al presente hay suficiente evidencia que apoya esta teoría; existen drogas "cannabino-miméticas" que ejercen sus acciones a través de la unión con estos receptores celulares, además en los tejidos animales se hallaron sustancias con propiedades similares a los cannabinoides naturales. Derivados de los lípidos de la membrana, los cannabinoides endógenos pertenecen a la familia de las acilglicerolaminas y los acilglicerolaminas⁷⁻⁹. El efecto estimulante del cannabis sobre el apetito ha permitido revelar que el sistema endocannabinoide (SEC) participa regulando la ingesta de alimentos, sin embargo, existen numerosos interrogantes sobre el papel

fisiológico y la modulación intrínseca de este sistema en el organismo. Caracterizado como un regulador endógeno esencial para la homeostasis de la energía, representa un blanco alentador para el tratamiento de la obesidad. En esta revisión expondremos el desempeño de las acilglicerolaminas como neuromoduladores, sus efectos en los tejidos periféricos y sobre el apetito. Comentaremos finalmente los resultados de los ensayos clínicos con los antagonistas del receptor cannabinoide practicados en pacientes con sobrepeso u obesos.

El Sistema Endocannabinoide, reseña histórica: el cáñamo (marihuana, hachis, cannabis) atrajo la atención de los científicos europeos hace años, en particular por su propiedad psicotrópica, y sus extractos se introdujeron ampliamente en la comunidad médica. En 1948, la farmacopea Británica resaltó, quizá acertadamente, estos efectos del cannabis y apuntó sus méritos como analgésico y antiespasmódico.⁽¹⁰⁾ El delta 9-tetrahydro-cannabinol (D9-THC) o principio activo del cannabis se descubrió en la década del '60, su propiedad psicoactiva se reconoció inmediatamente, sin embargo el mecanismo de acción se ignoraba. En 1990, se clonó el receptor Cannabinoide tipo 1 (rCB1) en el cerebro de rata y tres años más tarde en el sistema inmune se identificó su par, el rCB2^{11,12}. Descubrimientos que permitieron comprender el mecanismo de acción del D9-THC¹³ asimismo, la presencia de este receptor específico que media el efecto de la marihuana derivó en la búsqueda de su ligando endógeno.

En 1992, se reconoció en el cerebro porcino el primer cannabinoide endógeno semejante al THC, imprevistamente el factor aislado era un lípido en lugar de un péptido como se esperaba. A este agente, una amida del ácido araquidónico, se lo designó *anandamida*, nombre derivado del sánscrito⁹ (ananda=felicidad). Esta molécula lipídica no se asemeja a los neurotransmisores conocidos, sin embargo, comparte aspectos estructurales con los Eicosanoides (mediadores de la inflamación y el dolor con varias funciones en el intercambio de información neuronal)^{14,15}. La búsqueda de otros compuestos semejantes al THC persistió, extrayéndose otros lípidos bioactivos de los tejidos animales como el 2-araquidonoil-glicerol (2-AG), el noladin éter, la virodhamina y la n-araquidonoil-dopamina¹⁶⁻²⁰ (Figura 1). Así, el descubrimiento del receptor cannabinoide documentó la presencia de un sistema biológico que proporciona la base fisiológica para interpretar los efectos inducidos por la marihuana y sus derivados. Sistema que ocupa a receptores específicos, su ligando endógeno y a las enzimas que lo degradan, actuaría como un neuro-modulador influenciando la actividad de otros neurotransmisores. El alto grado de conservación a través de la evolución en distintas especies resalta la trascendencia de este sistema, destacándose la actividad intervenida por los cannabinoides en la fisiología del sistema nervioso central (SNC)^{21,22}. Se comportaría además como un sistema endógeno neuroprotector, preservando a las neuronas de la injuria hipóxica y traumática²³. Los cannabinoides estarían ligados con la anti-nocicepción, con el con-

*Unidad Coronaria e Internación de Cardiología, Hospital Militar Central. Ciudad de Buenos Aires. Rep. Argentina.

#Servicio de Cardiología, Hospital A. Gutiérrez, Venado Tuerto. Santa Fe. Rep. Argentina.

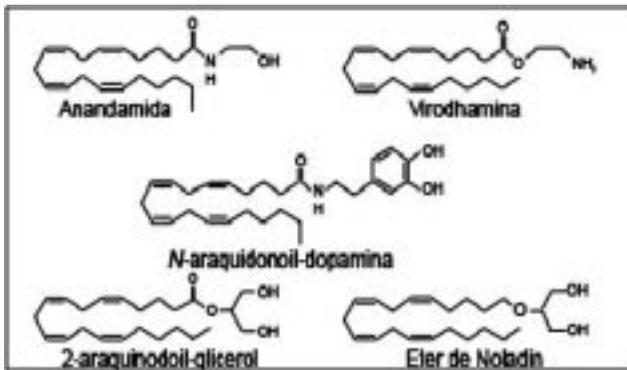


Figura 1. Estructura química de los endocannabinoides. Adaptado de Piomelli D. *Nature* 2003; 4:873-884

trol del movimiento y la inhibición de la memoria reciente²⁴. En la pituitaria humana regularían la secreción de hormonas, actuando primariamente en el hipotálamo aunque también directamente sobre la glándula²⁵. Su actividad reduciría la secreción de prolactina y hormona de crecimiento, ampliando la de adrenocorticotrofina (ACTH)²⁶. Las investigaciones indican que los agonistas cannabinoides provocarían un efecto ansiolítico, manifestando su habilidad para modular el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, modificando la respuesta al stress²⁷. Al mismo tiempo, serían capaces de controlar la respuesta inmune e inflamatoria, inducirían cambios en la frecuencia cardíaca y en el volumen minuto, promoverían vasodilatación, broncodilatación e hiper o hipoventilación. Originarían anovulación y relajación uterina e inhibirían la secreción de testosterona, también disminuyen la presión intraocular²⁸⁻³². Además conseguirían estimular la sensación de hambre y aumentar la apetencia, particularmente por los alimentos dulces³³.

El receptor: alojado en la membrana plasmática, el rCB1 es un miembro de la familia de receptores acoplados a proteínas G (PG), se une tanto al THC como a los cannabinoides endógenos¹¹. La clonación de su gen en la corteza cerebral de rata permitió la caracterización del receptor CB1 en los humanos, es un polipéptido de 476 aminoácidos y el gen que lo condifica se encuentra en la región q14-q15 del cromosoma 6³⁴. Se halla expresado en varias regiones del SNC y en órganos periféricos, incluyendo al sistema nervioso autónomo, hígado, músculo, tracto gastrointestinal, tejido adiposo y testículos^{12,35,36}. Su abundancia en los ganglios basales, cerebelo e hipocampo, explica los efectos de los cannabinoides sobre la actividad motora y la memoria. Los receptores localizados en el hipotálamo se vinculan con la regulación neuroendocrina, los ubicados en el tallo cerebral y médula espinal con el control nociceptivo. Aislado del bazo de rata y de una línea de células leucémicas humana (HL60), el receptor CB2 es un polipéptido de 360 aminoácidos y también se acopla a proteínas G¹². Se encuentra en células mieloides, macrófagos, monocitos de bazo y en otras células relacionadas con el sistema inmune. Este receptor podría ser participe del efecto inmunosupresor de los cannabinoides cuando interaccionan con el sistema inmune, algunos autores han indicado además su presencia en neuronas y astrocitos³⁷. En el cerebro adulto diversas circunstancias fisiológicas pueden alterar su proporción, se observa que la exposición crónica a cannabinoides produce un fenómeno de desensibilización, sugiriendo que la aparición de tolerancia para algunos de los efectos producidos por estos compuestos puede deberse a una disminución del número de receptores^{38,39}. Los rCB1 también son afectados por la variación cíclica de las hormonas sexuales femeninas y por los glucocorticoides^{40,41}, asimismo, la edad influye en la expresión de los genes que los codifican como sobre su funcionalidad. El envejecimiento se acompañaría con una disminución tanto de los niveles de ARNm rCB1 como de la

densidad y la afinidad de este receptor por sus agonistas, igualmente a lo observado en pacientes afectados por la enfermedad de Alzheimer⁴².

Los receptores cannabinoides se acoplan a la adenilciclasa (AC) a través de la proteína Gi, la unión con su ligando conduce a una disminución de los niveles de monofosfato cíclico de adenosina⁴³ (AMPC). Aunque también se reportó que los agonistas endógenos del receptor estimulan la síntesis de AMPC, posiblemente activando proteínas Gs, la explicación para esta singularidad puede radicar en la existencia de varios subtipos de AC. Se ha descrito que los receptores cannabinoides inhiben la actividad de la AC I, V, VI y VIII y estimulan la II, IV y VII. Las isoformas I y VIII están ampliamente distribuidas en el cerebro, lo que explicaría la actividad inhibitoria de los cannabinoides. Las isoformas II y VII aparecen en el núcleo estriado y la II en globo pálido, explicando los efectos activadores en ambas regiones⁴⁴. El alcance negativo sobre la AC redundaría en un declive del AMPC, que a su vez contraerá la fosforilación proteica necesaria para activar algunas quinasas. La disminución de la fosforilación de los canales de potasio (K⁺) produce un aumento de la conductancia, decrece así la despolarización de la membrana atenuando finalmente la liberación del neurotransmisor del terminal presináptico⁴⁵. Al mismo tiempo las quinasas dependientes de AMPC participan en la modificación de la expresión genética^{46,47}.

La prominente concentración de endocannabinoides (EC) y de sus receptores en el SNC, particularmente en las sinapsis GABAérgicas y Glutamatérgicas, sugiere un vínculo con la modulación de la transmisión sináptica, adecuada a las necesidades del organismo. El mecanismo de acción de los EC a nivel sináptico es del todo particular, liberados del terminal postsináptico van a estimular en sentido retrógrado al rCB1 de un terminal presináptico, como resultado final se produce un bloqueo transitorio de la liberación de GABA y glutamato. Los EC altamente lipofílicos salen de la célula postsináptica atravesando un mecanismo de difusión retrógrada, se ligan en la neurona presináptica al rCB1 acoplado a una proteína G cuya activación restringe el ingreso de los iones calcio y la liberación de los neurotransmisores calcio dependiente. Cuando este fenómeno se experimenta en las terminales GABAérgicas determina una reducción de la inhibición mediada por el GABA, denominada inhibición inducida por la despolarización (DSI), cuando ocurre a nivel de las Glutamatérgicas manifiesta una contracción de la excitación mediada por el glutamato definida como supresión de la excitación inducida por la despolarización (DSE)^{45,48}. La proteína-quinasa C consigue fosforilar el rCB1, deteriorando su capacidad de acción sobre los canales de K⁺ y de Ca⁺⁺, mecanismo que podría ser utilizado por las neuronas para revertir la inhibición promovida por los cannabinoides sobre la liberación de neurotransmisores. Los cannabinoides activarían la fosfolipasa A2 promoviendo la liberación de ácido araquidónico, ácido graso que puede ser utilizado para la síntesis de diversos eicosanoides como las prostaglandinas y los leucotrienos. Los eicosanoides producen diversos efectos sobre el SNC, entre ellos la alteración en la percepción del tiempo, el aumento del ritmo cardíaco y el "high" subjetivo que aparece en humanos tras el consumo de cannabis⁴⁹. Uno de los mecanismos comprometidos en la activación de la fosfolipasa A2 está relacionado con la acentuación de la actividad de la vía de las MAP quinasas, proteínas activadas por mitógenos que fosforilan diversos substratos biológicos⁵⁰. No se excluye la existencia de otros subtipos de receptores para cannabinoides que pudieran explicar algunos de los efectos desatados por estos compuestos y para los que todavía no se ha encontrado una explicación a nivel molecular. Además, se ha aislado un ARNm para el rCB1 procedente del procesamiento alternativo de su transcrito primario. El receptor resultante contiene 61 aminoácidos menos que el CB1 y se ha denominado CB1A^{51,52}.

Sus ligando: la anandamida es capaz de reproducir en los roedores el comportamiento típico que se observa con

la administración de D9-THC, conseguiría este resultado regulando la PG²² que opera sobre la AC y los canales de Ca⁺⁺. Como se delineó previamente, se han individualizado otros derivados ácidos grasos poli-insaturados colectivamente designados endocannabinoides, e intervendrían como agonistas funcionales del receptor^{16,17,53}. Estos compuestos lipofílicos no se hallarían almacenados en las vesículas sinápticas²², distinguiéndose así de los neurotransmisores clásicos. Los fosfolípidos constituyentes de la membrana celular contribuirían directamente, como precursores, para su síntesis y depósito¹⁵. Se han caracterizado varios cannabinoides vegetales y sintéticos que exhiben diferentes afinidades y potencias para activar el receptor, estos se dividen en cuatro grupos conforme a su estructura química. El primero incluye a los diferentes extractos de la planta o cannabinoides clásicos, como el D9-THC, D8-THC, cannabiol y cannabidiol. Además de varios compuestos sintéticos, como los desarrollados en la Universidad Hebrea en Israel y denominados HU, que promueven energicamente los efectos típicos de los cannabinoides. El segundo grupo abarca a los cannabinoides no clásicos, análogos bi o tricíclicos del D9-THC, como el CP-55,940. En el tercer grupo se ubican los compuestos aminoalquil-lindoles como el WIN-55,212, un agonista del CB1 generalmente aplicado en modelos experimentales. El cuarto grupo comprende a los cannabinoides desvinculados estructuralmente del D9-THC⁵⁴⁻⁵⁶. Paralelamente, la investigación farmacológica perfeccionó la elaboración de preparados que actúan como antagonistas de estos receptores. Entre los numerosos compuestos ensayados el SR 141716A (rimonabant) y el AM 281 desempeñan esta actividad, que es profundamente específica para el rCB1. Otros antagonistas ampliamente difundidos son el SR 144528, selectivo para el rCB2, y el AM630 que tiene afinidad por ambos receptores⁵⁷⁻⁶⁰. Diversos compuestos como el AM404, VDM11, UCM707, no operan como ligando del receptor celular pero interactúan con el sistema inhibiendo la recaptación de los EC, abastecen la oferta aumentando la síntesis y liberación de EC de manera natural, atenuando algunos de los efectos indeseables observados cuando se utilizan los agonistas del receptor⁶¹⁻⁶³.

Elaboración de los endocannabinoides: la membrana celular de los vegetales contiene una familia de lípidos peculiares, obtenidos a partir de una cadena de ácidos grasos enlazados por una unión amida a un grupo fosfatidil-etanolamina (PE). La enzima fosfolipasa D (PLD) degrada esos constituyentes de la membrana generando un conjunto de ácidos grasos de etanolamida utilizados para las señales intracelulares. Liberados por las células vegetales, en respuesta al stress o la infección, estimulan la expresión de genes ligados con la inmunidad sistémica de las plantas⁶⁴. Este dispositivo ancestral se conserva en las células de los mamíferos, que emplean la etanolamina del ácido araquidónico (anandamida) como intermediario primario del sistema de señal endocannabinoide. En las neuronas, la síntesis de anandamida y de otras N-aciletanolaminas (NAEs) comienza con la escisión del precursor fosfolípido N-araquidonoil-PE, reacción intervenida por la PLD, suministrando anandamida y ácido fosfatídico. El cerebro contiene ínfimas cantidades de N-araquidonoil-PE, probablemente muy pequeñas para sostener la liberación de anandamida por un período prolongado. Los depósitos celulares de este precursor serían reabastecidos por la enzima N-aciltransferasa (NAT), como se observa en los cultivos de neuronas corticales de rata^{15,65,66}. El calcio y el AMPc controlan la actividad de la NAT, el Ca⁺⁺ se requiere para estimular la NAT, inactiva en su ausencia, mientras que el AMPc opera sobre la proteínaquinasa A que fosforila y acentúa su eficacia⁶⁷. El impulso del Ca⁺⁺ en la producción de anandamida se acompaña generalmente con la manufactura de N-araquidonoil-PE, así, la síntesis de anandamida y su precursor lipídico se desencadenarían paralelamente^{65,66}. El Ca⁺⁺ ingresado en las neuronas no es el único dispositivo para la generación de anandamida, igualmente la PG acoplada a los receptores puede disparar

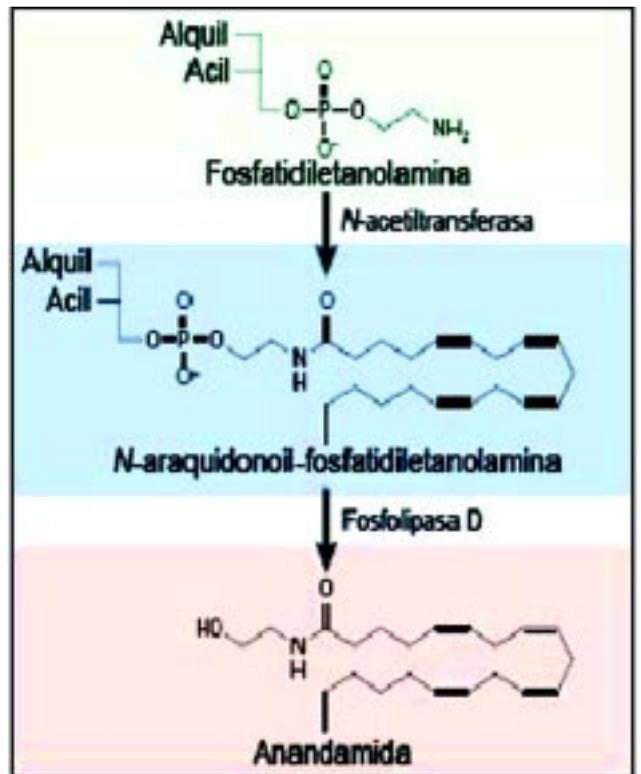


Figura 2. Síntesis de anandamida en las neuronas. Adaptado de Piomelli D. *Nature* 2003; 4:873-884

este proceso^{15,67-73} (Figura 2). Equivalente a otros mono-acilglicerol, el 2-araquidonoil-glicerol (2-AG) interviniendo como precursor o producto final, es la intersección de múltiples rutas del metabolismo lipídico. Este heterogéneo proceder metabólico explicaría su alta concentración en el tejido cerebral, 200 veces mayor que la anandamida, expresando que una fracción significativa del 2-AG estaría ligada con funciones locales en lugar de señalizar^{16,72}. La posición que ocupa en el metabolismo lipídico también complica los esfuerzos para definir la vía metabólica responsable de su síntesis, aunque hay suficiente información que indica dos rutas probables. Una de ellas comenzaría con la elaboración de 1,2 diacilglicerol (DAG) reacción intervenida por una fosfolipasa, este EC regula la actividad de la proteína-quinasa C que cumple funciones como segundo mensajero. El DAG es sustrato para dos enzimas, la DAG quinasa que cataliza su fosforilación a ácido fosfatídico y la DAG lipasa que lo hidroliza a mono-acilglicerol, atenuando su capacidad para señalizar^{75,76}. Las drogas inhibitorias de la PLC y DAG lipasa bloquean la acumulación de calcio dependiente del 2-AG en las neuronas corticales de las ratas, observación que sugiere la participación de estas enzimas para su elaboración⁷². La otra vía de síntesis iniciaría con la manufactura, intercedida por la fosfolipasa A1, de 2-araquidonoil-lisofosfolípido que puede ser hidrolizado a 2-AG por la actividad de la liso PLC^{77,78}. Independientemente del mecanismo, la producción de 2-AG principiaría con la acentuación de las concentraciones intracelulares de calcio^{74,79}. El Nolidin éter es otro ligando endógeno del rCB1, el conjunto de elementos necesarios para su síntesis no ha sido caracterizado, al mismo tiempo se debate su presencia en el cerebro^{18,80}. La virodhamina, un éster del ácido araquidónico-etanolamina, se halla en el tejido cerebral donde actuaría como un antagonista endógeno del rCB1. Es una molécula químicamente inestable, rápidamente transformada en anandamida en medio acuoso. Su dispositivo de síntesis se desconoce y su desactivación dependería de las mismas vías que degradan la anandamida¹⁹. Finalmente, la N-

araquidonoil-dopamina, un agonista endógeno del receptor vanilloide también exhibe afinidad por los rCB1 *in vitro*²⁰.

A propósito de la acción vanilloide, en los comienzos se sugirió que la anandamida era un ligando endógeno para el receptor de vanilloide VR₁ (TRPV1), aunque a mayor concentración que la necesaria para activar los rCB1. El receptor vanilloide TRPV1 es un canal catiónico no-selectivo, se expresa en un subgrupo de neuronas de la médula dorsal, ganglios sensitivos, en el hipocampo, ganglios basales y el cerebelo. A nivel sensorial el receptor TRPV1 se vincula con el dolor, y en el hipocampo con el fenómeno de la depresión neuronal. La anandamida activaría los canales TRPV1, dicho efecto es bloqueado por capsazepina (un bloqueante selectivo de TRPV1) pero no por el rimonabant. Los datos indican que los cannabinoides endógenos pueden modular la transmisión nociceptiva o fenómenos de depresión neuronal, por vías diferentes a los receptores CB, probablemente a través del receptor TRPV1⁸¹⁻⁸³.

Liberación desde las neuronas: comparada con los neurotransmisores clásicos, la concentración de anandamida en el cerebro es limitada, pero su liberación es semejante, se activa por la despolarización de la membrana y el ingreso de calcio al interior de la neurona. Sin embargo existen diferencias en su depósito, posiblemente por su naturaleza hidrófoba los EC no se retienen en vesículas. Su almacenamiento se produciría en forma de un precursor (fosfolípido de la membrana) que posteriormente se acila e hidrolisa, la síntesis del EC se desencadenará cuando es necesaria su actividad. Las NAEs, entre ellas la anandamida, podrían ser liberadas al espacio intersináptico por un mecanismo de difusión facilitada, a favor del gradiente⁸⁴. Así, los EC liberados desde las neuronas postsinápticas despolarizadas estimulan el rCB1 presináptico de las células adyacentes^{48,85,86}. Las proteínas extracelulares ligantes de lípidos como las lipocalinas, altamente expresadas en el cerebro, podrían agilizar este avance entregando los EC a las células blanco⁸⁷; sin embargo, esta teoría debe corroborarse.

Los EC podrían ser otro tipo de intermediario metabólico lipídico, que como los eicosanoides y el factor activador de plaquetas se sintetizan por la hidrólisis de un fosfolípido, actuando cerca del sitio de producción, donde también se degradan rápidamente. Su solubilidad en lípidos les permitiría difundir libremente a través de las membranas y actuar como moduladores de diversas actividades biológicas. Algunos datos apuntan a que la anandamida podría ser un mero transportador de ácido araquidónico como se describió en los hepatocitos, donde el ácido araquidónico, una vez degradada la anandamida que lo contiene, activa la producción de cuerpos cetónicos⁸⁸.

Desactivación: en el SNC, dos mecanismos intracelulares cooperan para atenuar las señales de los EC: la hidrólisis y el transporte operado por un carrier. La anandamida y el 2-AG pueden difundir pasivamente a través de la membrana lipídica, sin embargo el proceso puede ser acelerado por un sistema carrier rápido y selectivo, presente en las células gliales y en las neuronas^{61,84}. Superficialmente, es similar a otros sistemas; sin embargo, el transporte de EC no dependería del gradiente transmembrana de sodio. Se han desarrollado inhibidores del transportador, uno de ellos, el AM404 desacelera la eliminación de anandamida y 2-AG magnificando sus efectos biológicos^{61,89,90}. Este compuesto ha contribuido a revelar el rol del SEC en la regulación de la neurotransmisión y la ductilidad sináptica, sin embargo, esgrime algunas limitaciones determinadas por su afinidad con el receptor vanilloide y la propensión a ser atacado por la amida-hidrolasa de los ácidos grasos libres (FAAH) restricciones que intensifican la búsqueda de análogos más estables y selectivos^{82,91}. La FAAH, ampliamente distribuida en el cerebro de la rata, se halla altamente expresada en el soma y las dendritas de las neuronas donde intervendría desactivando la anandamida, aunque tam-

bién operaría a nivel de los axones terminales que expresan el rCB1.

Es una hidrolasa intra-celular ligada a la membrana, fragmenta la anandamida en ácido araquidónico y etanolamina⁹²⁻⁹⁵, igualmente degrada otros ácidos grasos de amida bioactivos. Con-juntamente, en el cerebro porcino se han distinguido dos enzimas cromatográficamente disímiles con la capacidad para hidrolisar el 2-AG, una ellas sería la monoacil-glicerol-lipasa también identificada en el cerebro de la rata, se distribuye en el SNC de igual forma que la FAAH pero se encuentra preferentemente a nivel presináptico (Figura 3)^{96,97}.

Señales del CB1 en el SNC: los endocannabinoides intervendrían como neuromoduladores, dominando la liberación de ciertos neurotransmisores durante los períodos de estimulación intensa. Su desempeño sobre los rCB1 presinápticos atenuaría la actividad neuronal a través de la inhibición de canales de Ca⁺⁺ sensibles a voltaje, cuya apertura es necesaria para producir la liberación del neurotransmisor. Alternativamente, la activación de los receptores podría incrementar la salida de K⁺, evento que limitaría la intensidad de la despolarización, la generación del potencial de acción y, en definitiva, la propagación del impulso nervioso⁴³⁻⁴⁸. El rCB1 abunda en cerebro de los mamíferos, se expresa en el neocórtex, hipocampo, ganglios basales, cerebelo y tronco encefálico, distribución que explica gran parte del efecto sobre el comportamiento impulsado por las drogas cannabinoides^{12,35,36}. En los roedores la intoxicación cannabinoide se asocia a cuatro signos clásicos: hipotermia, inmovilidad rígida, analgesia y disminución de la actividad motora; manifestaciones que no se perciben o están fuertemente atenuadas en los ratones CB1 ko^{10,99,100}. Previamente describimos que el CB1 es un receptor standard que se acopla a la proteína G para iniciar los eventos derivados de la señal, como el cierre de los canales de Ca⁺⁺, la apertura de los canales de potasio e inhibición de la actividad de la adenil-ciclasa contrayendo así la concentración intracelular de AMPc. Y al mismo tiempo, activar las quinasa que fosforilan los residuos de tirosina, serina y treonina de las proteínas. Acontecimientos que abrigan distintas traducciones en la respuesta biológica.

Los agonistas cannabinoides inhiben las corrientes de voltaje tipo N y P/Q que activan los canales de calcio¹⁰¹⁻¹⁰³, este resultado se logra a través de la interacción directa entre subunidades beta-gamma de proteína G i/o con los canales⁴⁵. Efecto que explicaría la depresión de la liberación de los neurotransmisores GABA y glutamato en las sinapsis del hipocampo y en el núcleo estriado res-

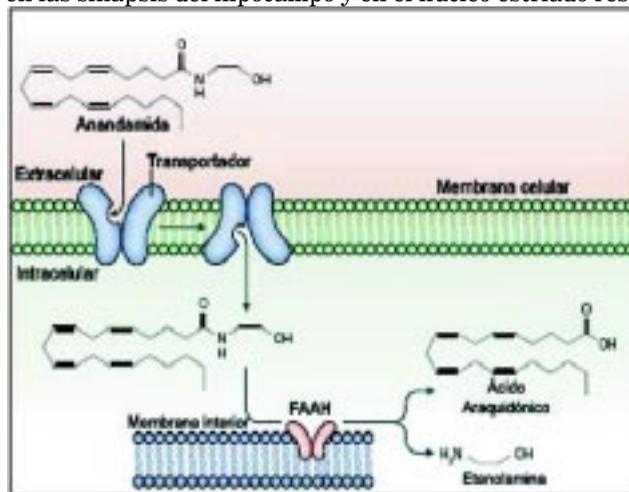


Figura 3. Desactivación de la anandamida. La anandamida ingresa a la neurona a través de un transporte de alta afinidad, dentro de la célula es degradada a ácido araquidónico y etanolamina por la enzima ácido graso amida hidrolasa (FAAH).

Adaptado de Piomelli D. Nature 2003; 4:873-884

pectivamente¹⁰⁴⁻¹⁰⁶. Por otro lado, el AMPc contribuiría regulando la expresión de genes neuronales dependientes del CB1, proceso que depende del reclutamiento de una compleja red de quinasas proteicas intracelulares¹⁰⁷. Dos de ellas, la quinasa reguladora de las señales extracelulares (ERK) y la quinasa de adhesión focal (FAK) se activan en los preparados de cortes de hipocampo abastecidos in vivo con agonistas cannabinoides^{108,109}. Esta acción es mimetizada por los inhibidores de las quinasas dependientes del AMPc, y se pierde cuando la célula es expuesta a los análogos que permeabilizan su ingreso. Indicando que la regulación de estas quinasas resulta de la caída en las concentraciones intracelulares de AMPc. La intervención de la ERK y FAK en los cambios de la expresión genética exterioriza que estas quinasas participarían en la plasticidad sináptica, administrando la persistente adaptación de las neuronas que acompaña a la oferta de cannabinoides¹¹⁰. En los humanos y los roedores el rCB1 se encuentra primariamente distribuido en los axones terminales de colecistoquinina-8 (CCK-8) y en las interneuronas GABA, patrón de expresión que predomina en el neocortex, hipocampo y amígdala. Las terminales que establecen sinapsis excitatorias carecen ostensiblemente de CB1¹¹¹⁻¹¹⁵. Sin embargo, hay evidencia de que algunas terminales nerviosas excitatorias lo contienen, por ejemplo, los agonistas cannabinoides reducen la transmisión glutamatergica en la amígdala del ratón normal, pero fracasa en el ratón mutante carente de CB1¹¹⁶. Asimismo, se encontraron bajas concentraciones de ARNm CB1 en las neuronas de la corteza que no contienen GABA, además el receptor se halla profundamente expresado en los ganglios basales¹¹². En el núcleo estriado se localiza en tres elementos neuronales diferentes: en las terminales glutamatergicas originadas en el cortex, en los circuitos locales de interneuronas GABA (neuronas de respuesta rápida que no expresan CCK-8), y en los axones terminales GABA de las neuronas de proyección (medium spiny neurons). Estas neuronas reciben las señales procedentes de la corteza y envían estímulos inhibitorios directamente a la sustancia nigra, o indirectamente a través del globo pálido y de los núcleos subtalámicos. En el globo pálido el CB1 es particularmente abundante, superando el número de receptores D1 dopaminérgicos^{36,105,106,117}. En el cerebelo se manifiesta en las terminales excitatorias de las fibras ascendentes y paralelas, también en las interneuronas GABA. En cambio, no se halla en sus compañeras postsinápticas, las neuronas de Purkinje. Un número pequeño de receptores se encuentra en el tálamo, hipotálamo, mesencéfalo y medula espinal^{106,118}. Por último, el rCB1 también se expresa en las neuronas sensitivas periféricas^{119,120}. Aunque los agonistas cannabinoides pierden su habilidad para inhibir la transmisión interpuesta por el GABA y el glutamato, en algunas regiones del cerebro del ratón adulto CB1 ko, sí pueden reducir la transmisión excitatoria en el hipocampo^{116,121,122}. Contraste respaldado por el hallazgo de que las sinapsis GABA y glutamato en el hipocampo responden heterogéneamente a estas drogas. Por ejemplo, los cannabinoides deprimen las corrientes excitatorias y esta acción es bloqueada por la capsazepina, un bloqueante selectivo de TRPV1, pero no deprimen de las corrientes inhibitorias¹²³. Fuera del SNC los EC se producen según la demanda y operan sobre las células cercanas al sitio de síntesis. Así, los elaborados por los leucocitos y plaquetas circulantes inducen relajación vascular, interactuando con los receptores en la superficie del endotelio y las células musculares lisas vecinas¹²⁴. Similar actividad paracrina puede ocurrir en el SNC, donde los EC consiguen señalizar a través de las neuronas principales modificando el tono de los impulsos sinápticos que ingresan. Cuando los impulsos inhibitorios GABA alcanzan las neuronas piramidales del hipocampo son transitoriamente suprimidos. Este suceso llamado supresión de la inhibición inducida por la despolarización (DSI) comienza a nivel postsináptico, por el influjo de calcio voltaje dependiente dentro del soma y las dendritas de las neuronas. Pero se expresa presinápticamente, inhibiendo la libera-

ción de transmisores desde los axones terminales de las interneuronas GABA¹²⁵. Esto indica que el mensajero químico, posiblemente el 2-AG, generado durante la despolarización de las células piramidales puede viajar retrógradamente a través de la sinapsis (Figura 4). Las siguientes observaciones sustentan esta hipótesis: primero, los agonistas CB1 incitan DSI mientras que sus antagonistas la bloquean^{48,85,86}. Segundo, la DSI está ausente en el ratón CB1 ko^{126,127}. Tercero, las interneuronas GABA, implicadas en la DSI, expresan altos niveles de rCB1 en sus axones terminales¹¹¹. Cuarto, el ingreso de Ca^{++} a las neuronas del hipocampo estimula la síntesis de 2-AG, pero no obtiene efecto sobre las concentraciones de anandamida⁷⁴. Otra función de la DSI podría relacionarse con la potenciación a largo plazo de las neuronas piramidales, debilitando la inhibición mediada por el GABA. Contribuyendo así a crear campos de lugar, u otras formas de aprendizaje dependiente del hipocampo¹²⁸. (Hay neuronas en el hipocampo que codifican información sobre dónde se localiza el animal en el espacio, por esta razón dichas neuronas se designan *place cells* o células de lugar. A las áreas del entorno en donde las neuronas disparan se denominan campos de lugar, *place fields*). Este realce cognitivo no contradice el efecto amnésico de las drogas cannabinoides¹²⁹, que pueden activar los rCB1 en otras áreas cerebrales para lograrlo. La DSI activada por los EC también ocurre en las interneuronas y en las principales células del cerebelo¹³⁰⁻¹³². El rCB1 se encuentra en las interneuronas selectivamente localizadas en una subdivisión de la amígdala, nominada complejo basolateral,^(114, 115) estación de crucial importancia en el circuito neuronal que procesa las emociones, y el asentamiento donde los cannabinoides inducirían analgesia¹³³. Esta localización y el hecho de que en los roedores la inactivación del CB1 desata una respuesta agresiva y ansiedad^{27,134}, indica que el SEC puede influenciar los estados afectivos a través de cambios en la actividad eferente de la amígdala. Idea sustentada en dos hallazgos, primero el stress incrementa las concentraciones de anandamida y el 2-AG en la amígdala de los ratones¹³⁵. Segundo, los inhibidores de la FAAH exhiben marcadas propiedades ansiolíticas en las ratas⁹³. Las neuronas del núcleo estriado, en los ganglios basales, contienen altas concen-

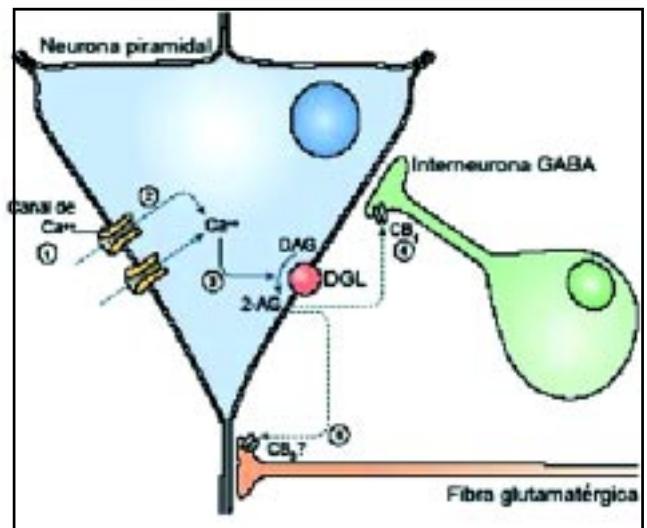


Figura 4. Señal sináptica mediada por EC. En las neuronas piramidales la despolarización abre los canales de Ca^{++} voltaje dependiente, el aumento del ión estimula la síntesis de 2-AG activando la DAGL, o la de anandamida a través de la FLD. Una vez sintetizados los cannabinoides pueden viajar a través de la sinapsis para interactuar con los rCB1 de los axones terminales de la interneuronas GABA provocando DSI, o DSE en las terminales glutamatergicas. Adaptado de Piomelli D. *Nature* 2003; 4:873-884

traciones de rCB1. La administración local de agentes cannabinoides inhibe la liberación de GABA, afectando profundamente el comportamiento motor¹³⁶. La activación del receptor dopaminérgico D2 estimula la producción de anandamida en este núcleo, revelando su participación en la regulación de la función de los ganglios basales⁶⁸. Coherente con esta hipótesis, el rimonabant mejora la actividad motora inducida por los agonistas de la dopamina en las ratas¹³⁷. Por el contrario, la inhibición del transportador de los EC con el compuesto AM404 atenúa esta respuesta⁹⁰. La anandamida puede actuar en múltiples circuitos de los ganglios basales como los intervenidos por las neuronas GABA, las terminales glutamatérgicas e interneuronas locales^{105,117,118}. Estas interneuronas son particularmente notables porque su funcionamiento se asemeja a las interneuronas CB1 positivas en el hipocampo, con las cuales no solamente comparten el fenotipo GABA, además tienen la habilidad de descargar pulsos de potenciales de acción de alta frecuencia, que pueden inhibir las descargas en amplios conjuntos de células de proyección¹³⁸. Yuxtapuesta a sus acciones en la amígdala, los agonistas cannabinoides pueden afectar las vías centrales del dolor interactuando con los rCB1 en la sustancia gris periacueductal, núcleo rostro-ventro-medial medular y núcleo trigémino espinal. En cada uno de estos sitios la activación del CB1 deprime la liberación de GABA, a través de un dispositivo presináptico, inhibe también la transmisión glicinérgica en el núcleo trigémino¹³⁹⁻¹⁴¹. Los estímulos dolorosos ocasionan la liberación de anandamida en la sustancia gris periacueductal de las ratas¹⁴², asimismo, la administración sistémica de antagonistas CB1 produce hiperalgesia en ratas y ratones¹⁴³⁻¹⁴⁵. Entonces, los estímulos nociceptivos pueden activar el circuito central de analgesia operado por los EC, manifestando así la propiedad analgésica de las drogas cannabinoides¹⁴⁶. Las principales neuronas del hipocampo y del cerebelo usan los EC para materializar un proceso de señales que es análogo en el mecanismo pero de signo opuesto a la DSI, llamado supresión de la excitación inducida por la despolarización (DSE). La DSE promovida por la despolarización, consiste en la supresión transitoria de la liberación de neurotransmisores y requiere de un mensajero EC retrogrado. Contrariamente a la DSI, la DSE apunta a los axones terminales glutamatérgicos en lugar de los GABA, resultando en la reducción del ingreso de impulsos excitatorios en las neuronas afectadas¹²⁵. La habilidad de los EC para inhibir la liberación de neurotransmisores en el SNC no se restringe al glutamato o el GABA, también atenúan la liberación de acetilcolina *in vivo* e *in vitro*¹⁴⁷⁻¹⁴⁹. La acetilcolina liberada en el neocórtex y el hipocampo facilita el aprendizaje y la memoria, las drogas cannabinoides desarticulan este proceso provocando efectos perjudiciales en la cognición. Los cannabinoides también atenúan la liberación de aminas esenciales como la noradrenalina y serotonina, también del neuropéptido colecistoquinina CCK-8^{147,150}. La estimulación de las fibras corticales que inervan el núcleo estriado induce una forma persistente de plasticidad sináptica, llamada depresión a largo plazo (LTD)¹⁵¹. La LTD en el núcleo estriado se desencadena cuando el Ca⁺⁺ ingresa al compartimiento dendrítico de las neuronas de proyección, restringiendo la liberación de glutamato desde los axones terminales de las fibras cortico-estriadas¹⁵². La LTD no se obtiene en el ratón CB1 ko, es bloqueada por los antagonistas del receptor y promovida por la anandamida o el AM 404¹⁵³. Asimismo la LTD dependiente de los EC puede desatarse estimulando las fibras corticales que inervan el núcleo accumbens¹⁵⁴, actividad que puede complementarse con la iniciada en el núcleo estriado. Ambas auxiliarían en la formación de los hábitos, el desarrollo de la habilidad motora dependiente del núcleo estriado, e implicadas en la patogénesis de la adicción a las drogas⁸⁵. En las ratas las sustancias cannabinoides provocan una recaída en la búsqueda de droga, aun después de prolongados periodos de abstinencia, los antagonistas del CB1 atenúan esta respuesta¹⁵⁵⁻¹⁵⁷. El rCB1 y los EC se hallan altamente expresados en el

hipotálamo¹⁵⁶, observación que los vincularía con una gestión en la regulación del apetito y la ingestión de alimentos. La relación entre la marihuana y el deseo de alimentarse se distingue desde hace más de 2.300 años, en la India se recomendaba para tratar la inapetencia y los médicos del siglo XIX mencionaban que con el consumo de cannabis crecía el apetito³³, consecuencia intervenida por el rCB1 central. La inyección intraperitoneal de rimonabant atenúa la sed y reduce la ingesta de sacarosa y alcohol en las ratas¹⁵⁷⁻¹⁵⁹. Asimismo, modera selectivamente la apatencia por los dulces en los monos¹⁶⁰. La administración diaria del mismo antagonista disminuye el hambre y el peso corporal en las ratas, además inhibe los efectos estimulantes sobre apetito del D9-THC y el WIN 55,212-2¹⁶¹⁻¹⁶³. Esta droga influencia negativamente la ingestión de sacarosa inducida por el neuropéptido Y (NPY), potente orexígeno¹⁵⁷. La estimulación del apetito intervenida por cannabinoides endógenos fue expuesta en los experimentos que emplearon anandamida, que promovió sobrealimentación en ratas bien alimentadas. El efecto hiperfágico es modesto comparado con el D9-THC, pero persiste más tiempo¹⁶⁴. En ratas prealimentadas la inyección intra hipotalámica de rimonabant reduce los efectos hiperfágicos de la anandamida, administrada por la misma vía¹⁶². El tratamiento con leptina, una hormona endógena que regula el apetito^{5,6}, reduce la anandamida y el 2-AG en el hipotálamo de ratones silvestres y ratones ob/ob (cepa mutante carente de leptina). Equivalentemente, los defectos en señal de la leptina se asocian con altos niveles hipotalámicos de EC, como se demostró en los ratones ob/ob y ratas fa/fa (rata con receptores de leptina incompetentes). Asimismo, el tratamiento de esos ratones con rimonabant redujo significativamente la ganancia de peso y la porción de alimento ingerida.⁽¹⁶⁵⁾ Experiencias que permiten concluir que los EC hipotalámicos están bajo un control parcial y negativo de la leptina, y se comportan como mediadores estimulantes del apetito. Los núcleos ventromedial, dorsomedial, lateral, arcuato y paraventricular hipotalámicos son las áreas involucradas en el control de la ingesta y con el comportamiento alimentario¹⁶⁶. Regiones que están interconectadas con las vías neuronales que regulan el sistema denominado de "gratificación o recompensa"¹⁶⁷. En los mamíferos este sistema consiste en una serie de núcleos cerebrales interrelacionados sinápticamente con el fascículo prosencefálico medial vinculando el área tegmental ventral, el núcleo accumbens y el núcleo pálido ventral (Figura 5). Circuito que esta implicado con la satisfacción producida por la recompensa natural, como el alimento y el sexo. También es el sustrato que justifica la adicción a las drogas y las manifestaciones inducidas por la suspensión de las mismas, como la sed y la disforia^{168,169}. La captación de alimento finalmente produce señales que alcanzan las neuronas dopaminérgicas, opioideas, serotoninérgicas y adrenérgicas, sus fibras conectan el cerebelo y el mesencéfalo con el hipotálamo, modulando la sensación de hambre y saciedad. Esta compleja red hipotalámica provee la base para la adaptabilidad a los estímulos externos e internos, coordinando el comportamiento alimentario. La alta expresión del rCB1 en los núcleos hipotalámicos y en las áreas involucradas con la recompensa, constituye una fuerte evidencia de que el SEC esta directamente involucrado con la regulación de la alimentación¹⁷⁰. Los ratones NPY ko no exhiben un fenotipo delgado¹⁷¹, observación que propone la presencia de mecanismos compensadores activados por la ausencia de su señal, y los endocannabinoides podrían ser los sustitutos. La administración de antagonistas del CB1 suprime el hambre en los ratones NPY ko como en los silvestres, confirmando que el NPY y los EC promueven la alimentación de manera independiente¹⁶⁵. Asimismo, los cannabinoides podrían influir sobre la ingesta amplificando el sabor o expandiendo la sensación orosensitiva de recompensa de los alimentos¹⁵⁷⁻¹⁵⁹. En animales de laboratorio, la administración de D9-THC o anandamida origina una exageración en el consumo de raciones apetitosas^{21,164}, además aumenta la motivación hacia los alimentos col-

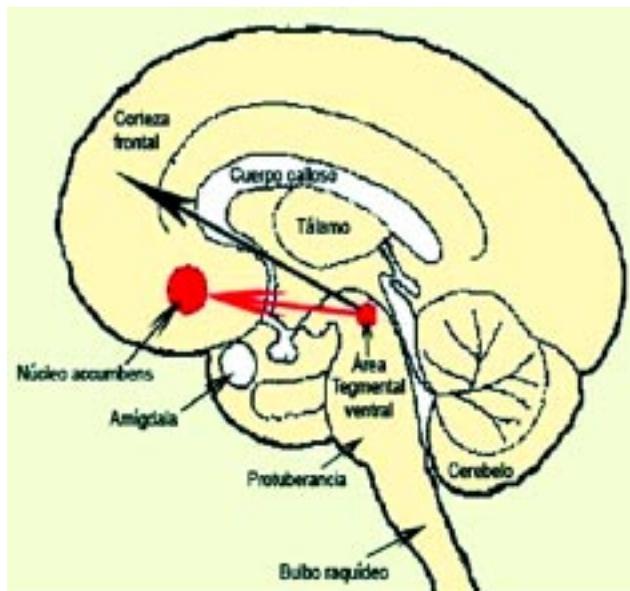


Figura 5. Esquema de las estructuras cerebrales que intervienen en los "circuitos de premio o de recompensa". Los estudios neuro-biológicos de las adicciones han demostrado que el sustrato anatómico de los trastornos adictivos se localiza en una zona del cerebro donde se encuentra el Circuito de Recompensa. La estructura neuroanatómica integrada por el área tegmental ventral, el cerebro anterior basal (núcleo accumbens, tubérculo olfatorio, corteza frontal y amígdala). Los mediadores neuroquímicos como la dopamina, la serotonina, los péptidos opioides y el GABA participan en la modulación de la señal. La conexión dopaminérgica entre el área tegmental ventral y el cerebro anterior basal es el llamado sistema dopaminérgico mesolímbico. Este sistema es considerado el centro cerebral del placer y la gratificación, su estimulación es responsable de la farmacodependencia y la necesidad de alimentarse, con cual el sujeto encuentra el efecto gratificante. Las vías principiarían en las neuronas dopaminérgicas del segmento ventral del cerebro medio, área tegmental ventral, y de allí asciende al núcleo Accumbens en las áreas prefrontales de la corteza cerebral. Así el aumento de dopamina en el núcleo accumbens, sistema de recompensa y gratificación, establece la necesidad por el alimento y la dependencia a las drogas. Sin embargo, además podrían participar otros neurotransmisores como los péptidos opiáceos, sistemas GABAérgicos y serotoninérgicos, que también interactúan en el área tegmental ventral y en el cerebro anterior.

mados en sacarosa y cerveza¹⁷². El bloqueo selectivo del receptor reduce esta aficción, indicando la presencia de un proceso motivacional positivo fuertemente conectado con el CB1¹⁷³. Los EC desempeñan un rol en el proceso que motiva a obtener comida apetitosa, el deseo y la apatencia crece gradualmente en el período entre comidas, alcanzando un nivel crítico cuando la motivación por alimentarse se dispara. Concordantemente, a mayor tiempo transcurrido de desde la última comida la actividad en los circuitos EC relevantes se eleva, reforzando la motivación para alimentarse¹⁷⁴. El fundamento neuroanatómico de este comportamiento aun es especulativo, sin embargo algunos circuitos, como la vía dopaminérgica constituida en el sistema mesolímbico, parecen estar cerradamente ligados a la activación de este sistema¹⁶⁷. El rCB1 y los EC se localizaron en el sistema límbico del cerebro de las ratas, donde cohabitan con los receptores tipo 1 y 2 de la dopamina. Las drogas psicoactivas como la marihuana, el etanol y también los estímulos placenteros como la comida apetitosa, provocarían la liberación de dopamina en estas regiones específicas del cerebro¹⁷⁵⁻¹⁷⁸. Se supone entonces que la interacción entre los EC

límbicos con la dopamina promueve el deseo de comida apetitosa¹⁶⁸, igualmente se examinó la relación del SEC con el sistema serotoninérgico, considerando que la serotonina estaría involucrada en el control del comportamiento alimentario¹⁷⁹. En las ratas la administración de antagonistas de los cannabinoides combinadas con dexfenfluramina, una droga que estimula la liberación de serotonina, deriva en efecto reductor del apetito, aditivo pero no sinérgico. Resultado coherente con la hipótesis que sostiene que las dos vías ejecutan mecanismos de acción independientes¹⁸⁰. De igual forma, los péptidos endógenos opioides estarían vinculados con el proceso de recompensa central, hay evidencia que manifiesta un importante cruce de información entre el sistema EC y el opioide en un amplio rango de procesos fisiológicos, incluyendo el apetito. Los opioides se encontrarían fuertemente involucrados con el mecanismo que regula la búsqueda de comida, y los agonistas o antagonistas de su receptor son capaces de aumentar o disminuir la captación de alimento respectivamente. Los efectos facilitadores de los agonistas cannabinoides sobre la alimentación no son revertidos exclusivamente por los antagonistas del rCB1, la naloxona, un antagonista del receptor opioide también modifica esta acción¹⁵⁸. La premisa que sostiene la coactivación del sistema EC y el opioide para el control del comportamiento alimentario se ve reforzada por la siguiente observación; en las ratas los efectos hiperfágicos del D9-THC son atenuados por el rimonabant y la naloxona. Igualmente, la manifestación de la dependencia física a la morfina esta reducida en los ratones CB1 ko¹⁸¹.

La intervención de la colecistoquinina podría ser otro mecanismo de interacción entre estos dos sistemas. La CCK altamente expresada en las áreas corticales y límbicas del cerebro se vincula con la alimentación, con el desarrollo de la memoria y otras funciones relacionadas con el comportamiento. Además es un factor que promueve saciedad y actúa como antiopioide^{112,182,183}. Los informes sugieren que los EC pueden reducir la liberación de CCK¹⁵⁰, así la inhibición del feedback negativo ejercido por las neuronas CCK en las vías opiáceas puede resultar en un reforzamiento de la acción EC. Un comentario final sobre la función del CB1 presente en el aparato digestivo, la expresión del receptor en esta área puede sugerir la existencia de un intercambio de información entre los tejidos centrales y periféricos, mediado por el SEC. Se demostró que la oleiletanolamida (OEA), un ácido graso análogo de la anandamida, disminuye sus concentraciones en el intestino delgado de las ratas privadas de alimento. Su efecto farmacológico no dependería de la activación de un receptor cannabinoide, al menos conocido¹⁸⁴. La OEA actuaría activando el receptor nuclear para proliferadores de peroxisomas subtipo alfa (PPARalfa), factor de transcripción perteneciente a la familia de receptores nucleares activados por ligandos, a las que también pertenecen los receptores para esteroides sexuales, los receptores para glucocorticoides o los de la hormona tiroidea. La administración periférica de OEA causa una potente disminución de la ingestión de alimento y del peso corporal, pero es completamente inefectiva cuando se administra centralmente¹⁸⁴.

La OEA podría modular las conductancias iónicas del receptor TRPV1, activado por vanilloides. Sus efectos inhibidores sobre la ingesta los obtendría actuando sobre los receptores PPARalfa y transmitiendo su influencia a través del sistema nervioso autónomo, la delección selectiva del receptor PPARalfa suprime la capacidad anorexígena de la OEA¹⁸⁴⁻¹⁸⁶. La anandamida y OEA emanan de un mismo precursor lipídico pero producen efectos opuestos, condición que induce a pensar que ambos transmisores actúan conjuntamente como un mecanismo dual regulador de la ingesta. El sistema anandamida/oleiletanolamida se comportaría como un sensor de saciedad, el ayuno prolongado promueve la liberación de anandamida en el plasma y territorio esplácnico suprimiendo la liberación de OEA. Inversamente, la llegada de alimento al tubo digestivo libera OEA y suprime la de anandamida. El resultado es un balance apetito-ingesta ajustado a la pre-

sencia de nutrientes en tubo digestivo y plasma sanguíneo. Datos que otorgan un papel fundamental a las acilatanolaminas y al SEC en la fisiopatología de la obesidad.

Otros efectos: el receptor CB1, distribuido fundamentalmente en el cerebro y en el tejido adiposo, también se expresa en el miocardio y el endotelio vascular, revelando un amplio rango de efectos^{118,186-188}. En las ratas, la administración de anandamida intravenosa produce una respuesta hemodinámica trifásica, prevaleciendo una prolongada vasodepresión, resultante de la inhibición en la liberación de noradrenalina mediada por el rCB1 desde las terminales nerviosas presinápticas^{189,190}. En los humanos la administración aguda de cannabinoides produce vasodilatación y taquicardia, con una respuesta variable sobre presión arterial sistémica, en cambio el consumo crónico de THC trasciende en hipotensión y bradicardia¹⁹¹⁻¹⁹³. Los EC inducen vasodilatación en los vasos cerebrales y cardíacos, actuando directamente sobre los rCB1 localizados en las células musculares lisas arteriales^{29,194}. Igualmente, impulsan vasodilatación ampliando la síntesis de óxido nítrico dependiente del endotelio, como se observa en una variedad de lechos vasculares¹⁹⁵, aunque una cuota del efecto vasodilatador probablemente es independiente del receptor. En las ratas espontáneamente hipertensas se activa el rCB1 del endotelio vascular y el cardíaco, suscitando una mayor respuesta hipotensora a la anandamida que en los animales silvestres. En estos animales el rimonabant bloquea los efectos vasodepresores de la anandamida, pero no lo hace en los animales sanos, indicando que en condiciones hemodinámicas normales el sistema CB1 está corrientemente inactivo¹⁹⁶. Hay evidencia que muestra al sistema EC participando en las alteraciones hemodinámicas de los estados shock. Durante la hemorragia experimental, el infarto miocárdico o en la endotoxemia, los macrófagos y las plaquetas circulares elaboran anandamida contribuyendo a promover hipotensión y finalmente shock, el rimonabant atenúa esos efectos¹⁹⁷⁻²⁰⁰. El rCB1 se halla ampliamente distribuido en las regiones que estarían involucradas con en el comportamiento adictivo a las drogas¹¹⁸. Hay argumentos convincentes sobre el desempeño del SEC en la formulación y propagación de la adicción a las sustancias psicoactivas como la cocaína, heroína, anfetaminas y el alcohol^{157,172,201-203}. Asimismo, participaría en la modulación del alcance gratificante de la nicotina y la adicción a la misma, efecto que no se observa en el ratón CB1 ko. El bloqueo del rCB1 con rimonabant disminuye el comportamiento de búsqueda de la sustancia, aunque la relación de los EC con la dependencia a la nicotina se limitaría a su aspecto psicológico²⁰⁴⁻²⁰⁶.

Los ensayos con drogas cannabinoides: la conexión entre la marihuana y el deseo de alimentarse se señala anecdóticamente a través de los años. El primer protocolo de investigación para comprobar los efectos de la marihuana, en soldados con anorexia, se formalizó en 1933. Se describió entonces que en ellos el cannabis aumentaba el apetito y la cantidad de alimento ingerida, si se comparaba con los sujetos control²⁰⁷. Los estudios ulteriores se enfocaron en la actividad de la marihuana y sus derivados sintéticos en los individuos sanos, confirmando su propiedad estimulante del apetito³³. Los participantes sentían la necesidad de comer alimentos preferentemente dulces y apetitosos, denominado "efecto malvavisco", aun cuando la sensación de hambre había desaparecido^{208,209}. Sin embargo, estas experiencias resultaron superficiales ya que no contaban con un criterio definido de reclutamiento para la randomización de los pacientes, y no estandarizaban la dosis de cannabis empleada. Transcurría 1971 cuando se promovió el primer ensayo confeccionado con un criterio científico estricto, reclutó jóvenes sanos previamente alimentados o en condiciones de ayuno. Se examinó entonces la actividad de una dosis oral de extractos de cannabis, normalizada según el contenido de D9-THC, versus placebo. La tendencia en ambos grupos fue comer copiosamente cuando

se ingería marihuana en relación al placebo, inclinación más significativa en los sujetos prealimentados²¹⁰. Otro ensayo, donde se precisó el contenido de D9-THC en los cigarrillos de marihuana, reveló que la acción sobre el apetito era dependiente de la dosis inhalada. Una dosis alta causaba inicialmente reducción y a continuación un incremento de la ingesta, mientras que dosis bajas estimulaban el apetito directamente²¹¹. Entonces, las investigaciones en humanos para observar la actividad de la marihuana en agudo, demostraron una potencia irregular supeditada al tenor de cannabinoides. En cambio, los formalizados para señalar los efectos del tratamiento crónico destacaron que la marihuana inhalada aumenta significativamente la ración de calorías ingeridas. En 1976 se programó el primer estudio sistemático para examinar el efecto a largo plazo de la marihuana inhalada en los humanos. Se advirtió un aumento del peso y la cantidad de calorías ingeridas en los primeros días, después el consumo de calorías se estabilizó aunque continuó escalando el peso, eventos que revirtieron al suspender la droga²¹². En 1986, otro análisis reveló que los consumidores de marihuana, con respecto del placebo, aumentan la toma de alimentos particularmente en los periodos de reunión social. Posteriormente se estableció que la administración de D9-THC (oral, supositorios o inhalado) anima un efecto selectivo sobre el alimento a ingerir^{213,214}, acción que se ratificó en estudios efectuados con animales. El efecto estimulante del apetito observado en los individuos sanos sugería la utilidad de los cannabinoides para el tratamiento de los síndromes clínicos que se acompañan de anorexia y pérdida de peso, como el cáncer y el SIDA. Al mismo tiempo el efecto antiemético del D9-THC, y otros componentes de la marihuana con reducida acción psicotrópica (D8-THC), incorporaría un beneficio adicional abreviando las náuseas y los vómitos frecuentemente asociados a las drogas quimioterápicas²¹⁵⁻²¹⁷. En 1970, se reportó la facultad antiemética del D9-THC administrado oralmente a pacientes portadores de cáncer tratados con quimioterapia, además de promover una ganancia significativa de peso, confrontándolo con placebo. La dosis requerida no produjo euforia y la incidencia de efectos colaterales como somnolencia, mareos y disociación cognitiva fue menor²¹⁸. En 1985, la FDA aceptó oficialmente la aplicación del D9-THC y del Dronabinol para el tratamiento de los pacientes oncológicos, en quienes la quimioterapia induce náuseas y vómitos refractarios a otras drogas. En 1992, el dronabinol se propuso para remediar la caquexia de los pacientes con HIV, los estudios han documentado que es extremadamente seguro, sus efectos colaterales son leves a moderados y se resuelven a las pocas horas de haberlo suspendido²¹⁹. La administración de Dronabinol a pacientes con HIV fue capaz de elevar el apetito, la cantidad de calorías ingeridas y el peso corporal, coligándose con un significativo aumento de la grasa corporal y una marcada mejoría del estado de ánimo^{216,220,221}. También, produce un efecto positivo sobre el peso corporal en pacientes portadores de enfermedad de Alzheimer²²². Existe controversia acerca del mecanismo de acción, igualmente falta aclarar por qué los pacientes escogen y toleran mejor la marihuana inhalada que la administración de su principal componente, el D9-THC. Una hipótesis es que la marihuana tiene otros cannabinoides, como el cannabidiol, que podrían atenuar los efectos psicotrópicos del D9-THC²¹⁹. El alcance de los cannabinoides sobre el apetito en modelos animales ha representado una herramienta fundamental para develar los mecanismos más sobresalientes de sus efectos; sin embargo, los datos son incompletos y no siempre confiables en sus conclusiones. Los resultados contradictorios obedecerían a la respuesta heterogénea obtenida con los extractos, dependiendo de la especie animal adoptada en los distintos experimentos³³. En 1965, se señaló que la administración de cannabis intraperitoneal en las ratas incrementaba la cantidad de alimento ingerido, experiencia que acreditó la repercusión sobre el apetito descrita anecdóticamente en los

humanos, inaugurando el camino para explorar con más detalle los mecanismos subyacentes de este efecto²²³. Los resultados obtenidos en la década del '70 fueron confusos, probablemente a causa de la alta dosis de D9-THC empleada²²⁴⁻²²⁹, en los animales dosis superiores a los 10 mg/kg/p de D9-THC tienen propiedades sedativas. Estas tempranas experiencias emplearon dosis superiores por lo que sus resultados, en término del efecto sobre la alimentación, deben ser interpretados con cautela. Una revisión de 25 ensayos, efectuados entre 1965 y 1975, demostró que la administración de cannabinoides fomentó la toma de alimentos en tres de ellos únicamente³³. La magnitud del efecto sobre la ingesta dependía estrictamente de la dosis utilizada, se concluyó entonces que en los animales las dosis menores de cannabinoides aumentan el apetito mientras que las superiores parecen disminuirlo, idénticamente a como se advirtió en los humanos. En las ratas, mínimas proporciones de D9-THC inducen una propensión a tomar comidas dulces y soluciones con sacarosa, un equivalente del "efecto malvavisco" especificado en los humanos, fortaleciendo la noción de que los cannabinoides avivan la preferencia de comidas apetitosas.⁽²³⁰⁾ Observaciones que se confirmaron en estudios posteriores, aun con otras especies animales^{161,231}. El desarrollo de componentes específicos con la capacidad de antagonizar la activación del rCB1, impulsó el estudio de la regulación del comportamiento alimentario dependiente de los cannabinoides. Además permitieron ratificar que el efecto del D9-THC sobre el hambre es mediado por este receptor en el SNC.

El rimonabant inhibe selectivamente el rCB1 en bajas concentraciones, también se comporta como antagonista del rCB2 con concentraciones mayores⁵⁷. Este compuesto bloquea los canales de calcio y de potasio, además afectaría directamente las uniones de hendidura celulares^{232,233} (*GAP junctions*). Los estudios formalizados en animales de laboratorio y en los humanos han resaltado el vínculo del sistema cannabinoide endógeno con la alimentación, parece razonable admitir la aplicación terapéutica de sus antagonistas para el tratamiento de la obesidad. Como citamos anteriormente en los proyectos iniciales se investigó el impacto terapéutico del rimonabant sobre el metabolismo, el hambre y la contextura corporal en ratones silvestres. Estas experiencias demostraron que la droga se asociaba con una reducción de la ingesta y del peso corporal, resultado que no se obtenía en el ratón CB1 ko. La merma de la masa grasa justificó en mayor medida la pérdida de peso, ya que la masa muscular permanecía sin cambio. En los animales alimentados con una dieta rica en grasas el rimonabant se asoció con una contracción transitoria de la ingesta, pero con un marcado y sostenido efecto reductor del peso. Asimismo, estos animales mostraron bajos niveles de glucosa e insulina plasmática con una mejoría de la resistencia a la insulina^{234,235}. Ampliaría también los niveles de adiponectina estimulando la expresión de su ARNm en los adipocitos¹⁸⁶. Se lo vincula además con la inducción de varias enzimas glucolíticas, revelando así el mecanismo reductor de la glucemia. Igualmente, restringiría la expresión de múltiples proteínas pro-inflamatorias sobre reguladas en la obesidad²³⁴. Con los datos obtenidos en los animales de experimentación se inició la búsqueda de la trascendencia del tratamiento con rimonabant en los humanos. Con este objetivo se desarrollaron los ensayos clínicos, que a continuación comentaremos, para investigar éste hipotético beneficio:

Estudio RIO-Lipid: (Rimonabant in Obesity-Lipids Study Group) incorporó 1.036 pacientes con sobrepeso u obesos y dislipémicos no tratados, con un índice de masa corporal (IMC) entre 27 y 40 kg/m². Fueron seleccionados de manera aleatoria para recibir a doble ciego y confrontado con placebo, 5 mg ó 20 mg de rimonabant al día durante un año, se requirió también que mantuvieran una dieta hipocalórica. Concluido el período de seguimiento, el 44,3% del grupo rimonabant 20 mg, el 16,3% del grupo 5 mg y el 10,3% del grupo placebo redujeron más del 10 % de su peso corporal, respectivamente. El número

de pacientes en el grupo rimonabant 20 mg que se clasificó como portador de síndrome metabólico al ingreso disminuyó de 52,9% a 25,8%; asimismo, los sujetos en el grupo del rimonabant dosis alta obtuvieron un incremento del 23% en los niveles de lipoproteína de alta densidad (HDL), junto a una mengua del 15% en las estimaciones de los triglicéridos. Las concentraciones de proteína C reactiva fueron más bajas en el grupo rimonabant dosis alta respecto al grupo placebo, pero las de lipoproteínas de baja densidad (LDL) no fueron afectadas por el tratamiento. El rimonabant 20 mg/día también aumentó los valores de adiponectina, un cambio que fue en principio independiente de la pérdida de peso. Conclusión: el bloqueo selectivo del rCB1 con rimonabant, en pacientes dislipémicos con sobrepeso u obesos y con alto riesgo aterogénico, reduce significativamente el peso y el perímetro abdominal, mejora además el perfil de varios factores metabólicos de riesgo²³⁶ (Figura 6).

Estudio RIO-EUROPE: enroló 1.507 pacientes, obesos con IMC ≥ 30 kg/m² ó con sobrepeso IMC ≥ 27 kg/m² asociado a hipertensión arterial y/o dislipemia. Los pacientes fueron seleccionados al azar para recibir rimonabant, 5mg ó 20mg diarios, confrontándolo con igual régimen de placebo, además los participantes fueron instruidos para que cumplieran un plan de ejercicio físico moderado y dieta hipocalórica. Luego de un año de tratamiento, el 61% de los alistados perdió aproximadamente un 5% del peso corporal, observación que fue más frecuente en ambos grupos rimonabant vs. placebo. Se vinculó con la reducción del perímetro abdominal y de los niveles de triglicéridos. También ascendieron las concentraciones de HDL, probablemente por el aumento de los niveles de adiponectina. Finalmente, el tratamiento con rimonabant 20 mg indujo una reducción del porcentaje de pacientes con síndrome metabólico²³⁷, confirmando los resultados del RIO-LIPIDS trial. Conclusión: el bloqueo del rCB1 con rimonabant 20 mg, combinado con una dieta hipocalórica durante 1 año, promueve un significativo descenso del peso corporal y del perímetro abdominal, mejorando el riesgo cardiovascular.

Estudio RIO-NA (Rimonabant In Obesity/North America): participaron varios centros de EEUU y Canadá, formalizado con el propósito de determinar la eficacia del rimonabant para inducir pérdida de peso, evaluó además si el efecto se mantenía después de retirar la droga. Igual que en las experiencias RIO preliminares los 3.045 participantes (obesos con IMC ≥ 30 kg/m² o con sobrepeso IMC ≥ 27 kg/m² asociado a hipertensión arterial y/o disli-

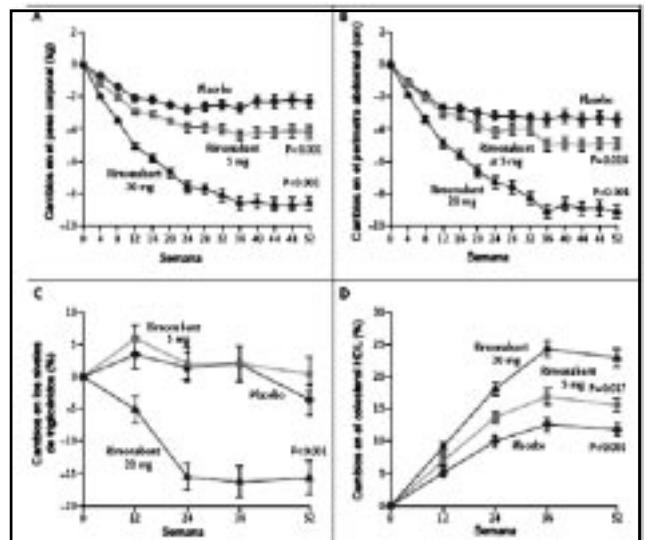


Figura 6. Efectos del tratamiento con rimonabant o placebo durante 52 semanas sobre el peso corporal, perímetro abdominal, triglicéridos y colesterol plasmáticos. Adaptado de Jean-Pierre Després. *N Engl J Med* 2005;353:2121-34.

pemia) fueron seleccionados para recibir al azar rimonabant 5 mg ó 20 mg diarios durante un año, vs placebo. Al finalizar el primer año de vigilancia los participantes de los dos grupos rimonabant experimentaron una segunda selección aleatoria, ya sea para conservar la dosis previamente asignada o ser permutados a placebo durante otro año. Los resultados de la primera etapa fueron similares a las otras experiencias RIO, pérdida significativa de peso en los grupos que recibieron rimonabant, mayor aún con 20 mg, versus placebo. Cumplido el segundo año, los pacientes reagrupados que continuaron con placebo habían recobrado su peso sobrenormal, comparados con los que permanecieron con rimonabant 20 mg/día. La droga se relacionó con una reducción en la incidencia de síndrome metabólico e incrementó los niveles de HDL. Hubo una alta tasa de deserción en los grupos y las náuseas, depresión y ansiedad fueron los efectos adversos más frecuentes²³⁸. Conclusión: el tratamiento con 20 mg de rimonabant más dieta, durante dos años, promovió un modesto pero sostenido efecto reductor del peso corporal y del perímetro abdominal. Además indujo cambios favorables en los factores de riesgo cardiometabólicos; sin embargo, hubo una alta tasa de deserción con efectos colaterales de la droga que requieren futuros estudios.

Estudio RIO-DIABETES: seleccionó aleatoriamente 1.047 pacientes diabéticos tipo 2, con un IMC entre 27 y 40 kg/m², para recibir rimonabant 5 mg ó 20 mg/día, vs placebo durante un año. Además, ellos debían continuar el tratamiento hipoglucemiante oral prescrito por su médico tratante, un tercio de ellos recibía sulfonilureas, el resto metformina. Al cabo de un año, la terapia con 20 mg de rimonabant se afilió con una pérdida de peso promedio de 5,3 kg versus 1,4 kg en el grupo del placebo, 3,9 kg de reducción substrayendo el placebo. En aquellos que recibían metformina la magnitud del descenso fue de 4,3 kg y 3,1 kg en los medicados con sulfonilureas. Los niveles de hemoglobina glicosilada disminuyeron aproximadamente un 0,6% en el grupo rimonabant 20 mg, pero aumentó un 0,1% en el grupo del placebo, diferencias significativas a nivel estadístico. En cambio, los efectos del rimonabant 5 mg fueron menos importantes. Considerablemente, el 43% de los pacientes que recibieron rimonabant logró una hemoglobina glicosilada óptima $\leq 6,5\%$, comparado con $\geq 21\%$ de los que recibieron placebo²³⁹. Hubo una mejoría de los niveles de HDL, glucosa en ayunas y del índice HOMA-IR (*homeostasis model assessment*), efecto que fue independiente del descenso de peso. también, cayeron significativamente los niveles de leptina y PCR, la reducción de la tensión arterial, triglicéridos y fibrinógeno no resultó significativa cuando los datos se corrigieron por el peso. Conclusión: La asociación de rimonabant 20 mg/día con dieta y ejercicio, en paciente diabéticos tipo 2 con sobrepeso u obesos que no están adecuadamente controlados con metformina o sulfonilureas, puede inducir una caída significativa del peso corporal, además de mejorar la hemoglobina glicosilada y un número de factores de riesgo cardiometabólico²³⁹.

Resumiendo, los ensayos RIO demostraron que en los pacientes obesos, incluyendo aquellos con comorbilidad cardiovascular, la terapia con rimonabant se asocia con una reducción significativa del perímetro abdominal y del peso corporal. Asimismo, el tratamiento se vincula con cambios favorables en el perfil de riesgo cardiometabólico, englobando una mejoría del control de la glucemia, una recuperación del perfil lipídico, y la disminución en la incidencia de síndrome metabólico. Estos resultados alentaron el desarrollo de otros estudios: el "STRADIVARIUS" que evalúa el efecto del rimonabant sobre la aterosclerosis; el "CRESCENDO" rimonabant y la incidencia de eventos cardiovasculares mayores, en pacientes obesos. Y "STRATUS" sobre la adicción a la nicotina, sus resultados preliminares presentados en el AHA 2005 revelaron un 37% de reducción/suspensión de la conducta adictiva al tabaco con rimonabant, versus el 21% en el grupo placebo.

CONCLUSION

Después de una década de investigación en la biología del SEC hemos arribado a una serie de descubrimientos interesantes, comprendimos que el cerebro contiene lípidos endocannabinoides, y que las neuronas los producen utilizando constituyentes de la membrana como material inicial. Descubrimos que esos lípidos se comportan de manera diferente a los neurotransmisores tradicionales, en lugar de ser secretados desde vesículas se producen y liberan según la demanda, para fusionarse con los receptores localizados en las cercanías de los sitios de síntesis. Sin embargo, a pesar de este progreso, falta aún revelar algunas piezas cruciales de este rompecabezas. Por ejemplo, caracterizar los circuitos neuronales responsables de la síntesis de anandamida y 2-AG, asimismo, identificar las enzimas responsables de su desactivación. Poder dar respuesta a cómo interactúan las drogas adictivas con estos circuitos, y explorar las consecuencias funcionales de tal interacción. El sistema endocannabinoide desempeñaría un papel fundamental modulando las vías centrales vinculadas con el apetito, regulando el metabolismo y la composición corporal. La actividad de este sistema se hallaría aumentada en las personas con sobrepeso u obesidad, provocando una excesiva ingesta de alimentos. Así, bloquear los receptores CB1 normalizaría la sobreactivación del sistema, que se traduce en una pérdida de peso y una mejoría de los factores de riesgo cardiovascular asociados a la obesidad. Necesitamos profundizar la investigación sobre los agentes farmacológicos dirigidos a los diferentes subtipos de receptores cannabinoides y los mecanismos responsables de su actividad. Examinar los efectos adversos relacionados con el bloqueo del receptor, considerando que el SEC se halla involucrado, además, en una variedad de procesos fisiológicos, como la memoria, el aprendizaje y la inmunidad, entre otros. Aunque esa tarea dista de ser sencilla, lo que actualmente conocemos del sistema endocannabinoide indica que vale la pena proseguir con la investigación.

BIBLIOGRAFIA

1. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000. *JAMA* 2002; 288:1723-7.
2. Yanovski, S.Z., and Yanovski, J.A. Obesity. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346:591-602.
3. Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N Engl J Med* 2002; 346:393-403.
4. Blanton HM, Khan LK, Serdula MK. Prescription weight loss pill use among Americans: patterns of pill use and lessons learned from the fen-phen market withdrawal. *Prev Med* 2004; 39:1243-8.
5. Paragano Antonio J, Curotto Grasiosi Jorge, Alasia Diego, Merlo Pablo M, Abdala Antonio, Bertelle Gabriela, Delgado Jorge, Esper Ricardo J. Leptina, Obesidad y Aterosclerosis. *Revista del CONAREC* 2006; 83:23-30.
6. Paragano Antonio J, Abdala Antonio, Curotto Grasiosi Jorge, Merlo Pablo M, Esper Ricardo J. Obesidad, Adipocitoquinas, Inflamación y Enfermedad cardiovascular. Universidad Abierta Interamericana. Extensión universitaria. Diplomatura en Aterosclerosis. 2006; Volumen II, Módulo N° 14, Capítulo 20.
7. Piomelli D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4(11):873-84. Review.
8. Howlett AC. Pharmacology of cannabinoid receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1995; 35:607-633.
9. Devane WA, Hanus 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.
10. Adams IB, Martin BR. Cannabis: pharmacology and toxicology in animals and humans. *Addiction* 1996; 91:1585-1614.
11. Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990; 346:561-564.
12. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 1993; 365:61-65.
13. Porter AC, Felder CC. The endocannabinoid nervous system: unique opportunities for therapeutic intervention. *Pharmacol Ther* 2001; 90: 45-60.
14. Piomelli D, Greengard P. Lipoxygenase metabolites of arachidonic acid in neuronal transmembrane signalling. *Trends Phar-*

- macol Sci 1990; 11:367-373.
15. Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, et al. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature* 1994; 372:686-691.
 16. Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, et al. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 215: 89-97.
 17. Mechoulam, R. et al. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem. Pharmacol.* 1995; 50:83-90.
 18. Hanus, L. et al. 2-Arachidonyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2001; 98: 3662-3665.
 19. Porter, A. C. et al. Characterization of a novel endocannabinoid, virodhamine, with antagonist activity at the CB1 receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2002; 301:1020-1024.
 20. Huang, S. M. et al. An endogenous capsaicin-like substance with high potency at recombinant and native vanilloid VR1 receptors. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2002; 99:8400-8405.
 21. De Petrocellis L, Melck D, Bisogno T, Milone A, Di Marzo V. Finding of the endocannabinoid signalling system in Hydra, a very primitive organism: possible role in the feeding response. *Neuroscience* 1999; 92: 377-387.
 22. Di Marzo V, Melck D, Bisogno T, De Petrocellis L. Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. *Trends Neurosci* 1998; 21: 521-528.
 23. Panikashvili D, Simeonidou C, Ben Shabat S, et al. An endogenous cannabinoid (2-AG) is neuroprotective after brain injury. *Nature* 2001; 413: 527-531.
 24. Lutz B. Molecular biology of cannabinoid receptors. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2002; 66: 123-142.
 25. Murphy LL, Munoz RM, Adrian BA, Villanua MA. Function of cannabinoid receptors in the neuroendocrine regulation of hormone secretion. *Neurobiol Dis* 1998; 5: 432-446.
 26. Pagotto U, Marsicano G, Fezza F, et al. Normal human pituitary gland and pituitary adenomas express cannabinoid receptor type 1 and synthesize endogenous cannabinoids: first evidence for a direct role of cannabinoids on hormone modulation at the human pituitary level. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 2687-2696.
 27. Navarro M, Hernandez E, Munoz RM, et al. Acute administration of the CB1 cannabinoid receptor antagonist SR 141716A induces anxiety-like responses in the rat. *Neuroreport* 1997; 8:491-496.
 28. De Petrocellis L, Melck D, Bisogno T, Di Marzo V. Endocannabinoids and fatty acid amides in cancer, inflammation and related disorders. *Chem Phys Lipids* 2000; 108: 191-209.
 29. Wagner JA, Jarai Z, Batkai S, Kunos G. Hemodynamic effects of cannabinoids: coronary and cerebral vasodilation mediated by cannabinoid CB1 receptors. *Eur J Pharmacol* 2001; 423:203-210.
 30. Calignano A, Katona I, Desarnaud F, Giuffrida A, et al. Bidirectional control of airway responsiveness by endogenous cannabinoids. *Nature* 2000; 408:96-101.
 31. Wenger T, Ledent C, Csernus V, Gerendai I. The central cannabinoid receptor inactivation suppresses endocrine reproductive functions. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 284:363-368.
 32. Beilin M, Neumann R, Belkin M, Green K, Bar-Ilan A. Pharmacology of the intraocular pressure (IOP) lowering effect of systemic dexamethasone (HU-211), a non-psychotropic cannabinoid. *J Ocul Pharmacol Ther* 2000; 16: 217-230.
 33. Abel EL. Cannabis: effects on hunger and thirst. *Behav Biol* 1975; 15: 255-281.
 34. Hoehe M.R., Caenazzo L, Martínez M.M, et al. Genetic and physical mapping of the human cannabinoid receptor gene to chromosome 6 q14-q15. *New Biol.* 1991; 3:880-885.
 35. Herkenham M., Lynn A.B., Johnson M.R., Melvin L.S., De Costa B.R., Rice K.C. (a) Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J. Neurosci.* 1991; 11:563-583.
 36. Di Marzo V, Matias I. Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nature Neuroscience* 2005; 8: 585-9.
 37. Sagan S, Venance L, Torrens Y, et al. Anandamide and WIN 55,212-2 inhibit cyclic AMP formation through G-protein-coupled receptors distinct from CB1 cannabinoid receptors in cultured astrocytes. *Eur. J. Neurosci.* 1999; 11:691-699.
 38. Rodriguez F, Gorriti M.A, Fernández-Ruiz J.J, et al. Down-regulation of rat brain cannabinoid binding sites after chronic D9-tetrahydrocannabinol treatment. *Pharmacol. Biochem Behavior* 1994; 47:33-40.
 39. Romero J., García-Palomero E., Castro J.G., et al. Effects of chronic exposure to D9-tetrahydrocannabinol on cannabinoid receptor binding and mRNA levels in several rat brain regions. *Mol. Brain Res* 1997; 46:100-108.
 40. Rodriguez F, Cebeira M, Ramos J.A, et al. Cannabinoid receptor in rat brain areas: sexual differences, fluctuations during estrous cycle and changes after gonadectomy and sex steroid replacement. *Life Science* 1994; 54:159-170.
 41. Mailleux P, Vanderhaeghe J.J. Glucocorticoid regulation of cannabinoid receptor messenger RNA levels in rat caudate-putamen. An in situ hybridization study. *Neurosci. Lett.* 1993; 156:51-53.
 42. Westlake T.M, Howlett A.C, Bonner T.I, et al. Cannabinoid receptor binding and messenger RNA expression in human brain: an "in vitro" receptor autoradiography and "in situ" hybridization histochemistry study of normal aged and Alzheimer's brains. *Neuroscience* 1994; 63:637-652.
 43. Breivogel C.S., Sim C.J., Childers S.R. Regional differences in cannabinoid receptor/G-protein coupling in rat brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997; 282:1632-1642.
 44. Rhee M, Bayewitch M, Avidor-Reiss T, Levy R, Vogel Z. Cannabinoid receptor activation differentially regulates the various adenyllyl cyclase isozymes. *J. Neurochem* 1998; 71:1525-1534.
 45. Wilson, R. I. & Nicoll, R. A. Endocannabinoid signaling in the brain. *Science* 2002; 296: 678-682.
 46. Mailleux P, Verslype M., Preud'Homme X., Vanderhaeghe J.J. Activation of multiple transcription factor genes by D9-tetrahydrocannabinol in rat forebrain. *Neuroreport* 1994; 5:1265-1268.
 47. Kaminski N.E. Regulation of the cAMP cascade, gene expression and immune function by cannabinoid receptors. *J. Neuroimmunol* 1998; 83:124-132.
 48. Wilson, R.I. & Nicol, R.A. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signaling at hippocampus synapses. *Nature* 2001; 410:588-592.
 49. Garcia D.E, Brown S, Hille B, Mackie K. Protein kinase C disrupts cannabinoid actions by phosphorylation of the CB1 cannabinoid receptor. *J. Neurosci.* 1998; 18:2834-2841.
 50. Wartmann M, Campbell D, Subramaniam A, Burstein S.H, Davis R.J. The MAP kinase signal transduction pathway is activated by the endogenous cannabinoid anandamide. *FEBS Letters.* 1995; 359:133-136.
 51. Pertwee R.G. Evidence for the presence of CB1 cannabinoid receptors on peripheral neurons and for the existence of neural non-CB1 cannabinoid receptors. *Life Sci* 1999; 65:597-605.
 52. Shire D, Carillon C, Kaghad M, et al. An amino-terminal variant of the central cannabinoid receptor resulting from alternative splicing. *J. Biol Chem* 1995; 270:3726-3731.
 53. Hanus L, Gopher A, Almog S, Mechoulam R. Two new unsaturated fatty acid ethanolamides in brain that bind to the cannabinoid receptor. *J Med Chem* 1993; 36:3032-3034.
 54. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, et al. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of Cannabinoid Receptors. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 161-202.
 55. Mechoulam R, Feigenbaum JJ, Lander N, et al. Enantiomeric cannabinoids: stereospecificity of psychotropic activity. *Experientia* 1988; 44: 762-764.
 56. Howlett AC, Johnson MR, Melvin LS. Classical and nonclassical cannabinoids: mechanism of action-brain binding. *NIDA Res Monogr* 1990; 96: 100-111.
 57. Rinaldi-Carmona M, Barth F, Heaulme M, et al. SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Lett* 1994; 350: 240-244.
 58. Lan R, Gatley J, Lu Q, Fan P, et al. Design and synthesis of the CB1 selective cannabinoid antagonist AM281: a potential human SPECT ligand. *AAPS Pharm Sci* 1999; 1: E4.
 59. Rinaldi-Carmona M, Barth F, Millan J, et al. SR 144528, the first potent and selective antagonist of the CB2 cannabinoid receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 284: 644-650.
 60. Landsman RS, Makriyannis A, Deng H, et al. AM630 is an inverse agonist at the human cannabinoid CB1 receptor. *Life Sci* 1998; 62: L109-L113.
 61. Beltramo M, Stella N, Calignano A, et al. Functional role of high-affinity anandamide transport, as revealed by selective inhibition. *Science* 1997; 277: 1094-1097.
 62. De Petrocellis L, Bisogno T, Davis JB, Pertwee RG, Di Marzo V. Overlap between the ligand recognition properties of the anandamide transporter and the VR1 vanilloid receptor: inhibitors of anandamide uptake with negligible capsaicin-like activity. *FEBS Lett* 2000; 483: 52-56.
 63. De Lago E, Fernandez-Ruiz J, Ortega-Gutierrez S, et al. UCM707, a potent and selective inhibitor of endocannabinoid uptake, potentiates hypokinetic and antinociceptive effects of anandamide. *Eur J Pharmacol* 2002; 449: 99-103.
 64. Chapman, K. D. Emerging physiological roles for N-acylphosphatidylethanolamine metabolism in plants: signal transduction and membrane protection. *Chem. Phys. Lipids* 2000; 108:221-229.
 65. Sugiura, T. et al. Transacylase-mediated and phosphodiesterase-mediated synthesis of N-arachidonylethanolamine, an endogenous cannabinoid receptor ligand, in rat brain microsomes. Comparison with synthesis from free arachidonic acid and ethanolamine. *Eur. J. Biochem* 1996; 240: 53-62.
 66. Cadas, H., di Tomaso, E. & Piomelli, D. Occurrence and biosynthesis of endogenous cannabinoid precursor, N-arachidonoyl phosphatidylethanolamine, in rat brain. *J. Neurosci* 1997; 17:1226-1242.
 67. Cadas, H., Gaillet, S., Beltramo, M., Venance, L. & Piomelli, D. Biosynthesis of an endogenous cannabinoid precursor in neurons and its control by calcium and cAMP. *J. Neurosci* 1996; 16: 3934-3942.
 68. Giuffrida, A. et al. Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum. *Nature Neurosci.* 1999; 2:358-363.
 69. Ferrer, B, Asbrock, N, Kathuria, S, Piomelli, D. & Giuffrida, A. Effects of levodopa on endocannabinoid levels in rat basal ganglia: implications for the treatment of levodopa induced dyskinesias. *Eur. J. Neurosci.* 2003; 18:1607-1614.
 70. Varma, N., Carlson, G. C., Ledent, C. & Alger, B. E. Metabotro-

- pic glutamate receptors drive the endocannabinoid system in hippocampus. *J. Neurosci* 2001; 21:1-5.
71. Kim, J., Isokawa, M., Ledent, C. & Alger, B. E. Activation of muscarinic acetylcholine receptors enhances the release of endogenous cannabinoids in the hippocampus. *J. Neurosci* 2002; 22:10182-10191.
 72. Senogles, S. E. The D2s dopamine receptor stimulates phospholipase D activity: a novel signaling pathway for dopamine. *Mol. Pharmacol* 2000; 58:455-462.
 73. Hernández-López, S. et al. D2 dopamine receptors in striatal medium spiny neurons reduce L-type Ca²⁺ currents and excitability via a novel PLC β 1-IP3-calcieneurin-signaling cascade. *J. Neurosci* 2000; 20:8987-8995.
 74. Stella, N., Schweitzer, P. & Piomelli, D. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature* 1997; 388: 773-778.
 75. Kanoh, H., Yamada, K. & Sakane, F. Diacylglycerol kinases: emerging downstream regulators in cell signaling systems. *J. Biochem* 2002; 131: 629-633.
 76. Farooqui, A. A., Rammohan, K. W. & Horrocks, L. A. Isolation, characterization, and regulation of diacylglycerol lipases from the bovine brain. *Ann. NY Acad. Sci* 1989; 559:25-36.
 77. Higgs, H. N. & Glomset, J. A. Identification of a phosphatidic acid-preferring phospholipase A1 from bovine brain and testis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1994; 91:9574-9578.
 78. Pete, M. J., Ross, A. H. & Exton, J. H. Purification and properties of phospholipase A1 from bovine brain. *J. Biol. Chem* 1994; 269:19494-19500.
 79. Stella, N. & Piomelli, D. Receptor-dependent formation of endogenous cannabinoids in cortical neurons. *Eur. J. Pharmacol* 2001; 425:189-196.
 80. Oka, S. et al. Ether-linked analogue of 2-arachidonoylglycerol (noladin ether) was not detected in the brains of various mammalian species. *J. Neurochem* 2003; 85:1374-1381.
 81. Zigmunt PM, Chuang H, Movahd P, Julius D, Hogestatt ED The anandamide transport inhibitor AM404 activates vanilloid receptors. *Eur J Pharmacol* 2000; 396:39-42.
 82. Szolcsányi J Are cannabinoids endogenous ligands for the VR1 capsaicin receptor? *Trends in pharmacological sciences* 2000; 21:41-42.
 83. Amol M. Patwardhan, Nathaniel A. Jeske, Theodore J. Price, et al. The cannabinoid WIN 55,212-2 inhibits transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) and evokes peripheral antihyperalgesia via calcineurin. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2006; 103:11393-11398.
 84. Hillard C.J., Edgemond W.S., Jarrahan A., Campbell W.A. Accumulation of N-arachidonylethanolamine (anandamide) into cerebellar granule cells occurs via facilitated diffusion. *J. Neurochem* 1997; 69:631-638.
 85. Kreitzer, A. C. & Regehr, W. G. Retrograde inhibition of presynaptic calcium influx by endogenous cannabinoids at excitatory synapses onto Purkinje cells. *Neuron* 2001; 29:717-727.
 86. Ohno-Shosaku, T., Maejima, T. & Kano, M. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signals from depolarized postsynaptic neurons to presynaptic terminals. *Neuron* 2001; 29:729-738.
 87. Beuckmann, C. T. et al. Cellular localization of lipocalin-type prostaglandin D synthase (?-trace) in the central nervous system of the adult rat. *J. Comp. Neurol.* 2000; 428: 62-78.
 88. Guzmán M, Fernández-Ruiz J.J, Sánchez C, Velasco G, Ramos J.A. Effects of anandamide on hepatic fatty acid metabolism. *Biochem Pharmacol* 1995; 50:885-888.
 89. Piomelli, D. et al. Structural determinants for recognition and translocation by the anandamide transporter. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1999; 96:5802-5807.
 90. Beltramo, M. et al. Reversal of dopamine D2 receptor responses by an anandamide transport inhibitor. *J. Neurosci* 2000; 20:3401-3407.
 91. Lopez-Rodriguez, M. L. et al. Design, synthesis and biological evaluation of novel arachidonic acid derivatives as highly potent and selective endocannabinoid transporter inhibitors. *J. Med. Chem* 2001; 44:4505-4508.
 92. Cravatt, B. F. et al. Supersensitivity to anandamide and enhanced endogenous cannabinoid signaling in mice lacking fatty acid amide hydrolase. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2001; 98: 9371-9376.
 93. Kathuria, S. et al. Modulation of anxiety through blockade of anandamide hydrolysis. *Nature Med* 2003; 9:76-81.
 94. Tsou, K. et al. Fatty acid amide hydrolase is located preferentially in large neurons in the rat central nervous system as revealed by immunohistochemistry. *Neurosci. Lett* 1998; 254:137-140.
 95. Egertová, M., Cravatt, B. F. & Elphick, M. R. Comparative analysis of fatty acid amide hydrolase and CB1 cannabinoid receptor expression in the mouse brain: evidence of a widespread role for fatty acid amide hydrolase in regulation of endocannabinoid signaling. *Neuroscience* 2003; 119: 481-496.
 96. Goparaju, S. K., Ueda, N., Taniguchi, K. & Yamamoto, S. Enzymes of porcine brain hydrolyzing 2-arachidonoylglycerol, an endogenous ligand of cannabinoid receptors. *Biochem. Pharmacol* 1999; 57:417-423.
 97. Dinh, T. P. et al. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2002; 99:10819-10824.
 98. Ledent, C. et al. Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB1 receptor knockout mice. *Science* 2001; 293:854-858.
 99. Zimmer, A., Zimmer, A. M., Hohmann, A.G., Herkenham, M. & Bonner, T. I. Increased mortality, hypoactivity, and hypoalgesia in cannabinoid CB1 receptor knockout mice. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1999; 96:5780-5785.
 100. Mackie, K. & Hille, B. Cannabinoids inhibit N-type calcium channels in neuroblastoma-glioma cells. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1992; 89:3825-3829.
 101. Caulfield, M. P. & Brown, D. A. Cannabinoid receptor agonists inhibit Ca current in NG108-15 neuroblastoma cells via a pertussis toxin-sensitive mechanism. *Br. J. Pharmacol* 1992; 106:231-232.
 102. 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.
 103. Hoffman, A. F. & Lupica, C. R. Mechanisms of cannabinoid inhibition of GABA_A synaptic transmission in the hippocampus. *J. Neurosci* 2000; 20:2470-2479.
 104. Gerdeman, G. & Lovinger, D. M. CB1 cannabinoid receptor inhibits synaptic release of glutamate in rat dorsolateral striatum. *J. Neurophysiol* 2001; 85:468-471.
 105. Huang, C. C., Lo, S. W. & Hsu, K. S. Presynaptic mechanisms underlying cannabinoid inhibition of excitatory synaptic transmission in rat striatal neurons. *J. Physiol* 2001; 532:731-748.
 106. Adams, J. P. & Sweatt, J. D. Molecular psychology: roles for the ERK MAP kinase cascade in memory. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol* 2002; 42:135-163.
 107. Derkinderen, P. et al. Regulation of a neuronal form of focal adhesion kinase by anandamide. *Science* 1996; 273:1719-1722.
 108. Derkinderen, P. et al. Regulation of extracellular signal regulated kinase by cannabinoids in hippocampus. *J. Neurosci* 2003; 23:2371-2382.
 109. Hoffman, A. F., Oz, M., Caulder, T. & Lupica, C. R. Functional tolerance and blockade of long-term depression at synapses in the nucleus accumbens after chronic cannabinoid exposure. *J. Neurosci* 2003; 23:4815-4820.
 110. Katona, I. et al. Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *J. Neurosci* 1999; 19:4544-4558.
 111. Marsicano, G. & Lutz, B. Expression of the cannabinoid receptor CB1 in distinct neuronal subpopulations in the adult mouse forebrain. *Eur. J. Neurosci* 1999; 11:4213-4225.
 112. Tsou, K., Brown, S., Sañudo-Peña, M. C., Mackie, K. & Walker, J. M. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience* 1998; 83:393-411.
 113. Katona, I. et al. Distribution of CB1 cannabinoid receptors in the amygdala and their role in the control of GABAergic transmission. *J. Neurosci* 2001; 21:9506-9518.
 114. McDonald, A. J. & Mascagni, F. Localization of the CB1 type cannabinoid receptor in the rat basolateral amygdala: high concentrations in a subpopulation of cholecystokinin-containing interneurons. *Neuroscience* 2001; 107:641-652.
 115. Azad, S. C. et al. Activation of the cannabinoid receptor type 1 decreases glutamatergic and GABAergic synaptic transmission in the lateral amygdala of the mouse. *Learn. Mem* 2003; 10:116-128.
 116. Hohmann, A. G. & Herkenham, M. Localization of cannabinoid CB1 receptor mRNA in neuronal subpopulations of rat striatum: a double-label in situ hybridization study. *Synapse* 2000; 37:71-80.
 117. Herkenham, M. et al. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1990; 87:1932-1936.
 118. Hohmann, A. G. & Herkenham, M. Cannabinoid receptors undergo axonal flow in sensory nerves. *Neuroscience* 1999; 92:1171-1175.
 119. Price, T. J., Helesic, G., Parghi, D., Hargreaves, K. M. & Flores, C. M. The neuronal distribution of cannabinoid receptor type 1 in the trigeminal ganglion of the rat. *Neuroscience* 2003; 120:155-162.
 120. Hájos, N., Ledent, C. & Freund, T. F. Novel cannabinoidsensitive receptor mediates inhibition of glutamatergic synaptic transmission in the hippocampus. *Neuroscience* 2001; 106:1-4.
 121. Rouach, N. & Nicoll, R. A. Endocannabinoids contribute to short-term but not long-term mGluR-induced depression in the hippocampus. *Eur. J. Neurosci* 2003; 18:1017-1020.
 122. Hájos, N. & Freund, T. F. Pharmacological separation of cannabinoid sensitive receptors on hippocampal excitatory and inhibitory fibers. *Neuropharmacology* 2002; 43:503-510.
 123. Bátkai, S. et al. Endocannabinoids acting at vascular CB1 receptors mediate the vasodilated state in advanced liver cirrhosis. *Nature Med* 2001; 7:827-832.
 124. Alger, B. E. Retrograde signaling in the regulation of synaptic transmission: focus on endocannabinoids. *Prog. Neurobiol* 2002; 68:247-286.
 125. Wilson, R. I., Kunos, G. & Nicoll, R. A. Presynaptic specificity of endocannabinoid signaling in the hippocampus. *Neuron* 2001; 31:1-20.
 126. Yoshida, T. et al. The cannabinoid CB1 receptor mediates retrograde signals for depolarization-induced suppression of inhibition in cerebellar Purkinje cells. *J. Neurosci* 2002; 22:1690-1697.
 127. Carlson, G., Wang, Y. & Alger, B. E. Endocannabinoids facilitate the induction of LTP in the hippocampus. *Nature Neurosci.* 2002; 5:100-102.

- 5:723-724.
129. Hampson, R. E. & Deadwyler, S. A. Cannabinoids, hippocampal function and memory. *Life Sci* 1999; 65:715-723.
 130. Llano, I., Leresche, N. & Marty, A. Calcium entry increases the sensitivity of cerebellar Purkinje cells to applied GABA and decreases inhibitory synaptic currents. *Neuron* 1991; 6:565-574.
 131. Kreitzer, A. C. & Regehr, W. G. Cerebellar depolarization-induced suppression of inhibition is mediated by endogenous cannabinoids. *J. Neurosci* 2001; 21:717-727.
 132. Trettel, J. & Levine, E. S. Endocannabinoids mediate rapid retrograde signaling at interneuron right-arrow pyramidal neuron synapses of the neocortex. *J. Neurophysiol* 2003; 89:2334-2338.
 133. Martin, W. J. et al. Anatomical basis for cannabinoid-induced antinociception as revealed by intracerebral microinjections. *Brain Res* 1999; 822:237-242 (1999).
 134. Martin, M., Ledent, C., Parmentier, M., Maldonado R. & Valverde, O. Involvement of CB1 cannabinoid receptors in emotional behaviour. *Psychopharmacology* 2002; 159:379-387.
 135. Marsicano, G. et al. The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. *Nature* 2002; 418:530-534.
 136. Romero, J. et al. The endogenous cannabinoid system and the basal ganglia: biochemical, pharmacological, and therapeutic aspects. *Pharmacol. Ther* 2002; 95:137-152.
 137. Gorriti M. A., Rodríguez de Fonseca F, Navarro M & Palomo, T. Chronic D9-tetrahydrocannabinol treatment induces sensitization to the psychomotor effects of amphetamine in rats. *Eur. J. Pharmacol* 1999; 365:133-142.
 138. Koos, T. & Tepper, J. M. Inhibitory control of neostriatal projection neurons by GABAergic interneurons. *Nature Neurosci* 1999; 2:467-472.
 139. Lichtman, A. H., Cook, S. A. & Martin, B. R. Investigation of brain sites mediating cannabinoid-induced antinociception in rats: evidence supporting periaqueductal gray involvement. *J. Pharmacol. Exp. Ther* 1996; 276:585-593.
 140. Meng, I. D., Manning, B. H., Martin, W. J. & Fields, H. L. An analgesia circuit activated by cannabinoids. *Nature* 1998; 395:381-383.
 141. Jennings, E. A., Vaughan, C. W. & Christie, M. J. Cannabinoid actions on rat superficial medullary dorsal horn neurons in vitro. *J. Physiol* 2001; 534:805-812.
 142. Walker, J. M., Huang, S. M., Strangman, N. M., Tsou, K. & Sañudo-Peña, M. C. Pain modulation by release of the endogenous cannabinoid anandamide. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1999; 96:12198-12203.
 143. Calignano, A., La Rana, G., Giuffrida, A. & Piomelli, D. Control of pain initiation by endogenous cannabinoids. *Nature* 1998; 394:277-281.
 144. Richardson, J. D., Aanonsen, L. & Hargreaves, K. M. SR 141716A, a cannabinoid receptor antagonist, produces hyperalgesia in untreated mice. *Eur. J. Pharmacol.* 1997; 319: R3-R4.
 145. Strangman, N. M., Patrick, S. L., Hohmann, A. G., Tsou, K. & Walker, J. M. Evidence for a role of endogenous cannabinoids in the modulation of acute and tonic pain sensitivity. *Brain Res* 1998; 813:323-328.
 146. Iversen, L. & Chapman, V. Cannabinoids: a real prospect for pain relief. *Curr. Opin. Pharmacol* 2002; 2:50-55.
 147. Schlicker, E. & Kathmann, M. Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends Pharmacol. Sci* 2001; 22:565-572.
 148. Gifford, A. N. & Ashby, C. R. Jr. Electrically evoked acetylcholine release from hippocampal slices is inhibited by the cannabinoid receptor agonist, WIN 55212-2, and is potentiated by the cannabinoid antagonist, SR 141716A. *J. Pharmacol. Exp. Ther* 1996; 277:1431-1436.
 149. Gessa, G. L., Casu, M. A., Carta, G. & Mascia, M. S. Cannabinoids decrease acetylcholine release in the medial prefrontal cortex and hippocampus, reversal by SR 141716A. *Eur. J. Pharmacol* 1998; 355:119-124.
 150. Beinfeld, M. C. & Connolly, K. Activation of CB1 cannabinoid receptors in rat hippocampal slices inhibits potassium evoked cholecystokinin release, a possible mechanism contributing to the spatial memory defects produced by cannabinoids. *Neurosci. Lett* 2001; 301:69-71.
 151. Calabresi, P., Maj, R., Pisani, A., Mercuri, N. B. & Bernardi, G. Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization. *J. Neurosci* 1992; 12:4224-4233.
 152. Choi, S. & Lovinger, D. M. Decreased probability of neurotransmitter release underlies striatal long-term depression and postnatal development of corticostriatal synapses. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1997; 94:2665-2670.
 153. Gerdeman, G. L., Ronesi, J. & Lovinger, D. M. Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. *Nature Neurosci* 2002; 5:446-451.
 154. Robbe, D., Kopf, M., Remaury, A., Bockaert, J. & Manzoni, O. J. Endogenous cannabinoids mediate long term synaptic depression in the nucleus accumbens. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2002; 99:8384-8388 155. Gerdeman, G. L., Partridge, J. G., Lupica, C. R. & Lovinger, D. M. It could be habit forming: drugs of abuse and striatal synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 2003; 26:184-192.
 156. De Vries, T. J. et al. A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nature Med* 2001; 7:1151-1154.
 157. Fattore, L., Spano, M. S., Cossu, G., Deiana, S. & Fratta, W. Cannabinoid mechanism in reinstatement of heroin-seeking after a long period of abstinence in rats. *Eur. J. Neurosci* 2003; 17:1723-1726.
 156. Gonzalez S, Manzanares J, Berrendero F, et al. Identification of endocannabinoids and cannabinoid CB1 receptor mRNA in the pituitary gland. *Neuroendocrinology* 1999; 70:137-145.
 157. Arnone M, Maruani J, Chaperon F, et al. Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR 141716, an antagonist of central cannabinoid CB1 receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 1997; 132:104-106.
 158. Gallate JE, McGregor IS. The motivation for beer in rats: effects of ritanserin, naloxone and SR 141716. *Psychopharmacology (Berl)* 1999; 142:302-308.
 159. Freedland CS, Sharpe AL, Samson HH, Porrino LJ. Effects of SR141716A on ethanol and sucrose self-administration. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25:277-282.
 160. Simiand J, Keane M, Keane PE, Soubrie P. SR 141716, a CB1 cannabinoid receptor antagonist, selectively reduces sweet food intake in marmoset. *Behav Pharmacol* 1998; 9:179-181.
 161. Williams CM, Rogers PJ, Kirkham TC. Hyperphagia in pre-fed rats following oral delta 9-THC. *Physiol Behav* 1998; 65:343-346.
 162. Colombo G, Agabio R, Diaz G, Lobina C, Reali R, Gessa GL. Appetite suppression and weight loss after the cannabinoid antagonist SR 141716. *Life Sci* 1998; 63:L113-L117.
 163. Freedland CS, Poston JS, Porrino LJ. Effects of SR141716A, a central cannabinoid receptor antagonist, on food-maintained responding. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 67:265-270.
 164. Williams CM, Kirkham TC. Anandamide induces overeating: mediation by central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 1999; 143:315-317.
 165. Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L, et al. Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature* 2001; 410:822-825.
 166. Schwartz MW, Woods SC, Porte Jr D, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000; 404:661-671.
 167. Spanagel R, Weiss F. The dopamine hypothesis of reward: past and current status. *Trends Neurosci* 1999; 22:521-527.
 168. Gardner EL, Vorel SR. Cannabinoid transmission and reward related events. *Neurobiol Dis* 1998; 5:502-533.
 169. Hoebel BG. Brain neurotransmitters in food and drug reward. *Am J Clin Nutr* 1985; 42:1133-1150.
 170. Breivogel CS, Childers SR. The functional neuroanatomy of brain cannabinoid receptors. *Neurobiol Dis* 1998; 5:417-431.
 171. Erickson JC, Clegg KE, Palmiter RD. Sensitivity to leptin and susceptibility to seizures of mice lacking neuropeptide Y. *Nature* 1996; 381:415-421.
 172. Gallate JE, Saharav T, Mallet PE, McGregor IS. Increased motivation for beer in rats following administration of a cannabinoid CB1 receptor agonist. *Eur J Pharmacol* 1999; 370:233-240.
 173. Chaperon F, Thiebot MH. Behavioral effects of cannabinoid agents in animals. *Crit Rev Neurobiol* 1999; 13:243-281.
 174. Kirkham TC, Williams CM. Endogenous cannabinoids and appetite. *Nutr Res Rev* 2001; 14:65-86.
 175. Bisogno T, Berrendero F, Ambrosino G, Cebeira M, Ramos JA, Fernandez-Ruiz JJ, Di Marzo V. Brain regional distribution of endocannabinoids: implications for their biosynthesis and biological function. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 256:377-380.
 176. Hermann H, Marsicano G, Lutz B. Coexpression of the cannabinoid receptor type 1 with dopamine and serotonin receptors in distinct neuronal subpopulations of the adult mouse forebrain. *Neuroscience* 2002; 109:451-460.
 177. Glass M, Dragunow M, Faul RL. Cannabinoid receptors in the human brain: a detailed anatomical and quantitative autoradiographic study in the fetal, neonatal and adult human brain. *Neuroscience* 1997; 77:299-318.
 178. Berridge KC. Food reward: brain substrates of wanting and liking. *Neurosci Biobehav Rev* 1996; 20:1-25.
 179. Vickers SP, Dourish CT, Kennett GA. Evidence that hypophagia induced by d-fenfluramine and d-norfenfluramine in the rat is mediated by 5-HT2C receptors. *Neuropharmacology* 2001; 41:200-209.
 180. Rowland NE, Mukherjee M, Robertson K. Effects of the cannabinoid receptor antagonist SR 141716, alone and in combination with dexfenfluramine or naloxone, on food intake in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2001; 159:111-116.
 181. Williams CM, Kirkham TC. Reversal of Delta9-THC hyperphagia by SR141716 and naloxone but not dexfenfluramine. *Pharmacol Biochem Behav* 2002; 71:333-340.
 182. Crawley JN, Corwin RL. Biological actions of cholecystokinin. *Peptides* 1994; 15:731-755.
 183. Wiesenfeld-Hallin Z, de Araujo LG, Alster P, Xu XJ, Hokfelt T. Cholecystokinin/opioid interactions. *Brain Res* 1999; 848:78-89.
 184. Rodriguez de Fonseca F, Navarro M, Gomez R, Escuredo L, Nava F, Fu J, Murillo-Rodriguez E, Giuffrida A, LoVerme J, Gaetani S, Kathuria S, Gall C, Piomelli D. An anorectic lipid mediator regulated by feeding. *Nature* 2001; 414:209-212.
 185. Fu J, Gaetani S, Oveisi F, et al. Oleylthanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR-alpha. *Nature* 2003; 425:90-3.

186. Ahern GP. Activation of TRPV1 by the satiety factor oleylethanolamide. *J Biol Chem* 2003; 33:30429-34.
186. Bensaid M, Gary-Boho M, Esclangon A, et al. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 increases Acip30 mRNA expression in adipose tissue of obese fa/fa rats and in cultured adipocyte cells. *Mol Pharmacol* 2003; 63: 908-14.
187. Bonz A, Laser M, Kullmer S, et al. Cannabinoids acting on CB1 receptors decrease contractile performance in human atrial muscle. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 41: 657-64.
188. Liu J, Gao B, Mirshahi F, et al. Functional CB1 cannabinoid receptors in human vascular endothelial cells. *Biochem J* 2000; 346: 835-40.
189. Varga K, Lake K, Martin BR, Kunos G. Novel antagonist implicates the CB1 cannabinoid receptor in the hypotensive action of anandamide. *Eur J Pharmacol* 1995; 278: 279-83.
190. Niederhoffer N, Schmid K, Szabo B. The peripheral sympathetic nervous system is the major target of cannabinoids in eliciting cardiovascular depression. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2003; 367:434-43.
191. Huestis MA, Sampson AH, Holicky BJ, Henningfield JE, Cone EJ. Characterization of the absorption phase of marijuana smoking. *Clin Pharmacol Ther* 1992; 52:31-41.
192. Benowitz NL, Jones RT. Cardiovascular effects of prolonged delta-9-tetrahydrocannabinol ingestion. *Clin Pharmacol Ther* 1975; 18:287-97.
193. Lake KD, Compton DR, Varga K, Martin BR, Kunos G. Cannabinoid-induced hypotension and bradycardia in rats mediated by CB1-like cannabinoid receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 281:1030-7.
194. Gebremedhin D, Lange AR, Campbell WB, Hillard CJ, Harder DR. Cannabinoid CB1 receptor of cat cerebral arterial muscle functions to inhibit L-type Ca₂₊ channel current. *Am J Physiol* 1999; 276:H2085-93.
195. Deutsch DG, Goligorsky MS, Schmid PC, et al. Production and physiological actions of anandamide in the vasculature of the rat kidney. *J Clin Invest* 1997; 100:1538-46.
196. Batkai S, Pacher P, Osei-Hyiaman D, et al. Endocannabinoids act on cannabinoid-1 receptors regulate cardiovascular function in hypertension. *Circulation* 2004; 110:1996-2002.
197. Wagner JA, Varga K, Ellis EF, Rzigalinski BA, Martin BR, Kunos G. Activation of peripheral CB1 cannabinoid receptors in haemorrhagic shock. *Nature* 1997;390: 518-21.
198. Wagner JA, Hu K, Bauersachs J, et al. Endogenous cannabinoids mediate hypotension after experimental myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38:2048-54.
199. Varga K, Wagner JA, Bridgen DT, Kunos G. Platelet- and macrophage-derived endogenous cannabinoids are involved in endotoxin-induced hypotension. *FASEB J* 1998; 12:1035-44.
200. Godlewski G, Malinowska B, Schlicker E. Presynaptic cannabinoid CB(1) receptors are involved in the inhibition of the neurogenic vasopressor response during septic shock in pithed rats. *Br J Pharmacol* 2004; 142:701-8.
201. De Vries TJ, de Vries W, Janssen MC, Schoffelmeier AN. Suppression of conditioned nicotine and sucrose seeking by the cannabinoid-1 receptor antagonist SR141716A. *Behav Brain Res* 2005; 161:164-8.
202. De Vries TJ, Shaham Y, Homberg JR, et al. A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nat Med* 2001; 7:1151-4.
203. Anggaredja K, Nakamichi M, Hiranita T, et al. Endocannabinoid system modulates relapse to methamphetamine seeking: possible mediation by the arachidonic acid cascade. *Neuropsychopharmacology* 2004; 29:1470-8.
204. Castane A, Valjent E, Ledent C, et al. Lack of CB1 cannabinoid receptors modifies nicotine behavioural responses, but not nicotine abstinence. *Neuropharmacology* 2002; 43:857-67.
205. LeFoll B, Goldberg SR. Rimonabant, a CB1 antagonist, blocks nicotine conditioned place preferences. *Neuroreport* 2004;15: 2139-43.
206. Balerio GN, Aso E, Berrendero F, Murtra P, Maldonado R. Delta 9-tetrahydrocannabinol decreases somatic and motivational manifestations of nicotine withdrawal in mice. *Eur J Neurosci* 2004; 20:2737-48.
207. Siler JF, Sheep WL, Bates LB, Clark GF, Cook GW, Smith WH. Marijuana smoking in Panama. *Mil Surg* 1933; 73: 269-280.
208. Tart CT. Marijuana intoxication common experiences. *Nature* 1970; 226:701-704.
209. Haines L, Green W. Marijuana use patterns. *Br J Addict Alcohol Other Drugs* 1970; 65:347-362.
210. Hollister LE. Hunger and appetite after single doses of marijuana, alcohol, and dextroamphetamine. *Clin Pharmacol Ther* 1971; 12:44-49.
211. Gagnon MA, Elie R. Effects of marijuana and D-amphetamine on the appetite, food consumption and various cardio-respiratory variables in man. *Union Med Can* 1975; 104:914-921.
212. Greenberg I, Kuehnle J, Mendelson JH, Bernstein JG. Effects of marijuana use on body weight and caloric intake in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 1976; 49:79-84.
213. Foltin RW, Fischman MW, Byrne MF. Effects of smoked marijuana on food intake and body weight of humans living in a residential laboratory. *Appetite* 1988; 11:1-14.
214. Mattes RD, Engelman K, Shaw LM, Elshohly MA. Cannabinoids and appetite stimulation. *Pharmacol Biochem Behav* 1994; 49:187-195.
215. Patsos HA, Hicks DJ, Greenhough A, Williams AC, Paraskeva C. Cannabinoids and cancer: potential for colorectal cancer therapy. *Biochem Soc Trans*. 2005; 33: 712-714.
216. Beal JE, Olson R, Lefkowitz L, et al. Long-term efficacy and safety of dronabinol for acquired immunodeficiency syndrome-associated anorexia. *J Pain Symptom Manage* 1997; 14:7-14.
217. Tramer MR, Carroll D, Campbell FA, et al. Cannabinoids for control of chemotherapy induced nausea and vomiting: quantitative systematic review. *BMJ*. 2001; 323:16-21.
218. Regelson W, Thomas DR, Boyle LE, Smith TL, Gehan EA, Samuels ML. D9-Tetrahydrocannabinol as an effective anti-depressant and appetite-stimulating agent in advanced cancer patients. In: Brande MC, Szara S (eds). *The pharmacology of marijuana*. Raven Press: New York; 1976. pp 763-776.
219. Plasse TF, Gorter RW, Krasnow SH, Lane M, Shepard KV, Wadleigh RG. Recent clinical experience with dronabinol. *Pharmacol Biochem Behav* 1991; 40:695-700.
220. Struwe M, Kaempfer SH, Geiger CJ, Pavia AT, Plasse TF, Shepard KV, Ries K, Evans TG. Effect of dronabinol on nutritional status in HIV infection. *Ann Pharmacother* 1993; 27:827-831.
221. Beal JE, Olson R, Laubenstein L, et al. Dronabinol as a treatment for anorexia associated with weight loss in patients with AIDS. *J Pain Symptom Manage* 1995; 10:89-97.
222. Volicer L, Stelly M, Morris J, McLaughlin J, Volicer BJ. Effects of dronabinol on anorexia and disturbed behavior in patients with Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry* 1997; 12:913-919.
223. Carlini EA, Kramer C. Effects of Cannabis sativa (marijuana) on maze performance of the rat. *Psychopharmacologia* 1965; 7:175-181.
224. Dewey WL, Harris LS, Kennedy JS. Some pharmacological and toxicological effects of 1-trans-8 and 1-trans-9-tetrahydrocannabinol in laboratory rodents. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1972; 196:133-145.
225. Thompson GR, Fleischman RW, Rosenkrantz H, Braude MC. Oral and intravenous toxicity of delta 9-tetrahydrocannabinol in rhesus monkeys. *Toxicol Appl Pharmacol* 1974; 27:648-665.
226. Manning FJ, McDonough Jr JH, Elsmore TF, Saller C, Sodetz FJ. Inhibition of normal growth by chronic administration of delta-9-tetrahydrocannabinol. *Science* 1971; 174:424-426.
227. Sjoden PO, Jarbe TU, Henriksson BG. Influence of tetrahydrocannabinols delta8-THC and delta 9-THC on body weight, food, and water intake in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1973; 1:395-399.
228. Fernandes M, Schabarek A, Coper H, Hill R. Modification of delta 9-THC-actions by cannabidiol and cannabidiol in the rat. *Psychopharmacologia* 1974; 38:329-338.
229. Sofia RD, Barry III H. Acute and chronic effects of delta 9-tetrahydrocannabinol on food intake by rats. *Psychopharmacologia* 1974; 39:213-222.
230. Brown JE, Kassoum M, Cross JK. Kinetic studies of food intake and sucrose solution preference by rats treated with low doses of delta 9-tetrahydrocannabinol. *Behav Biol* 1977; 20:104-110.
231. Van Den Broek GW, Robertson J, Keim DA, Baile CA. Feeding and depression of abomasal secretion in sheep elicited by elfezepam and 9-aza-cannabinol. *Pharmacol Biochem Beba* 1979; 11:51-56.
232. White R, Hiley CR. The actions of the cannabinoid receptor antagonist, SR 141716A, in the rat isolated mesenteric artery. *Br J Pharmacol* 1998; 125:689-96.
233. Chaytor AT, Martin PE, Evans WH, Randall MD, Griffith TM. The endothelial component of cannabinoid-induced relaxation in rabbit mesenteric artery depends on gap junctional communication. *J Physiol* 1999; 520:539-50.
234. Jbilo O, Ravinet-Trillou C, Arnone M, et al. The CB1 receptor antagonist rimonabant reverses the diet-induced obesity phenotype through the regulation of lipolysis and energy balance. *FASEB J* 2005; 19:1567-9.
235. Ravinet-Trillou C, Arnone M, Delgorge C, et al. Anti-obesity effect of SR141716, a CB1 receptor antagonist, in diet-induced obese mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003; 284:R345-53.
236. Despres JP, Golay A, Sjostrom L. Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *N Engl J Med* 2005; 353:2121-34.
237. VanGaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rossner S. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet* 2005; 365:1389-97.
238. Pi-Sunyer FX, Aronne LJ, Heshmati HM, et al. Effect of rimonabant, a cannabinoid-1 receptor blocker, on weight and cardiometabolic risk factors in overweight or obese patients: RIO-North America: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006; 295:761-75.
239. Scheen AJ. Effects of rimonabant in patients with type 2 diabetes mellitus. Results of the RIO-DIABETES trial. Presented at: American Diabetes Association Scientific Sessions; San Diego, CA:2005. www.incirculation.net.