

LOS ENDOCANABINOIDES: UNA OPCIÓN TERAPÉUTICA PARA EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER

ENDOCANNABINOIDS: A THERAPEUTIC OPTION TO CANCER TREATMENT

Fabio MAYORGA N.^{1*}, Rosa H CÁRDENAS S.¹

Recibido: 2 de mayo de 2009 Aceptado: 6 de junio de 2009

RESUMEN

Los avances científicos en el campo de la química y de la medicina se han apropiado la inquietud popular que desde hace muchos años utiliza los recursos que ofrece la naturaleza. La planta *Cannabis sativa* ha sido tradicionalmente utilizada con propósitos medicinales, así como con fines recreativos. Sin embargo, sus importantes efectos psicoactivos han constituido una limitante para su uso. Algunos gobiernos han comenzado a permitir su uso de forma controlada, con fines medicinales. El descubrimiento de compuestos endógenos con propiedades similares a los cannabinoides (endocannabinoides), y el previo conocimiento de los receptores CB₁ y CB₂, sobre los cuales actúan, ha despertado interés en el mundo entero por descubrir nuevas rutas terapéuticas para el tratamiento de diferentes patologías. Las posibilidades de aprovechar la estructura de los endocannabinoides para diseñar nuevas moléculas con actividad antineoplásica están llevando a enfrentar este reto, buscando fármacos tan eficaces como los actualmente utilizados pero con menos efectos tóxicos. Se está avanzando en el conocimiento de los aspectos moleculares de muchos de estos compuestos, así como en las rutas bioquímicas sobre las cuales actúan.

Palabras clave: endocannabinoides, anandamida, receptores CB₁ y CB₂, cáncer.

ABSTRACT

Scientific advances in Chemistry and Medicine now study wise ancestral popular usages of natural resources. *Cannabis sativa* has been traditionally used for medicinal and recreational purposes. However, its important psychoactive effects limit its use. Some governments allow its controlled use for medicinal purposes since the discovery of endogenous compounds with similar properties to cannabinoids (endocannabinoids) combined with the previous knowledge on CB₁ and CB₂ receptors on which they act. A great interest to discover new therapeutic substances for several pathologies treatment has grown increasingly the world over. The possibilities to take advantage of the endocannabinoids structures to design new molecules with antineoplastic activity are coming closer to this challenge, which looks for new efficient drugs like those used today, but less toxic. Knowledge of the molecular aspects of many of these compounds as well as the biochemical ways on which such compounds act, attract now more interest everywhere.

Keywords: endocannabinoids, anandamide, receptors CB₁ y CB₂, cancer.

¹ Grupo de Investigación en Química Medicinal y Farmacología, Escuela de Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Antiguo Hospital San Rafael, Calle 24 Carrera 5, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia.

* Autor a quien se debe dirigir la correspondencia: fabio.mayorga@uptc.edu.co

INTRODUCCIÓN

A pesar de su mala reputación, la historia de la marihuana es más luminosa que sombría. Su nombre, para algunos, es arquetipo de perdición, abandono social y muerte; para otros, es un adyuvante para sobrellevar el estrés de la vida cotidiana y de paso escapar a la realidad; otros sabemos que la marihuana es más que eso. Su historia es milenaria, se extiende en el tiempo y la geografía de varios continentes. Su uso ha sido enfocado a lo largo de estos años hacia la medicina, la magia, la cultura; en torno a ella se han creado verdaderos rituales religiosos y amnistías a través de los siglos.

Sin saberlo, todos y cada uno, sin importar cuáles sean nuestras creencias religiosas, orientación política o aficiones recreativas, “cultivamos” en el cerebro unas sustancias similares a las producidas por la planta de marihuana: los *endocannabinoides* (cuyo nombre proviene de *Cannabis sativa*, el nombre científico de la marihuana).

La investigación sobre sustancias naturales que semejan los efectos de la marihuana en el cerebro o los bloquean, es prometedora en el diseño de nuevos tratamientos para el dolor, la ansiedad, los desórdenes alimentarios, las fobias y otros trastornos de gran interés terapéutico, tales como el cáncer y enfermedades neurológicas, como el mal de Parkinson.

Los efectos biológicos de la marihuana se deben a un conjunto de compuestos presentes en la resina secretada por las hojas y brotes florecidos de la planta, la cual produce cerca de cuatrocientos compuestos químicos, de los que unos sesenta se consideran dentro del grupo de los cannabinoides. Aunque no se conoce bien la función de los cannabinoides en las plantas, se ha propuesto que tienen un efecto protector contra los insectos. En los animales, las cannabinoides ejercen su acción principalmente sobre los sistemas cardiovascular, inmunológico y nervioso central (SNC).

El término *fitocanabinoide* se refiere a las sustancias cannabinoides naturales de la planta de cannabis (en 1964 se identificó el Δ^9 -*tetrahidrocannabinol*, *THC*, como principal componente activo de la marihuana) (1), mientras que *canabinoide* incluye todos los productos químicos o sus derivados que se acoplan a los receptores cannabinoides presentes en el organismo animal. A los ligandos endógenos (producidos por el organismo) que se unen a los receptores cannabinoides se les denomina *endocanabi-*

noides y se derivan de ácidos grasos poliinsaturados. Entre éstos se encuentran la *araquidonoiletanolamida* (*anandamida*), el *2-araquidonoil glicerol* (*2-AG*), éter de noladina, la virodhamina y la N-araquidonildopamina (NADA). La anandamida fue el primer endocanabinoide, descubierto en 1992. Los *receptores canabinoides* son sitios específicos de acople para los cannabinoides, sean endógenos o exógenos, y se activan al contacto con ellos; se encuentran en la superficie de muchos tipos de células. En 1990, uno de estos receptores cannabinoides, el “receptor canabinoide tipo 1” (conocido como receptor CB_1), se identificó por primera vez en roedores y humanos. Estos receptores se encuentran en la membrana de las células del cerebro, la médula espinal, el sistema nervioso periférico, el tejido adiposo y las células musculares. Los receptores CB_2 se encuentran en las células inmunitarias, el bazo y las amígdalas. Por tanto, su función se relaciona con los procesos inmunológicos, entre ellos la inflamación (2). Ambos tipos pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteína G. Su activación crea una inhibición de la adenilciclasa y así impide la transformación del ATP a AMP cíclico; también actúan sobre ciertos canales iónicos.

Las investigaciones realizadas hasta el momento demuestran que los endocannabinoides constituyen un grupo de compuestos de gran potencial curativo en muchos campos de la medicina, por lo que se abren nuevos caminos para usos terapéuticos de moléculas con acciones agonistas y/o antagonistas sobre los receptores CB_1 y CB_2 , un trabajo novedoso y prometededor que constituye el principal interés de nuestro Grupo de Investigación en Química Medicinal y Farmacología, y en el cual invertimos nuestro esfuerzo y estudio con la finalidad de aportar conocimiento y experiencia investigativa para el desarrollo de nuevas alternativas farmacológicas.

EL SISTEMA CANABINOIDE ENDÓGENO

Como ya se comentó, en la actualidad se conoce el sistema canabinoide endógeno o endocanabinoide, que semeja ampliamente los efectos del Δ^9 -THC, el principal constituyente activo de la planta *Cannabis sativa*, popularmente conocida como marihuana. Esta planta contiene al menos 400 compuestos químicos diferentes, de los cuales unos 60 se clasifican dentro del grupo de los cannabinoides. A partir de 1964, año en que fue aislado el Δ^9 -THC (1), se co-

menzó a estudiar el comportamiento farmacológico de los cannabinoides, encontrándose como principal responsable de los efectos psicoactivos y otros, a este compuesto, aunque algunos otros cannabinoides también mostraron su responsabilidad en diversas acciones de la marihuana.

El sistema endocanabinoide está constituido por los receptores cannabinoides, los ligandos endógenos y las enzimas responsables de su formación y destrucción (3).

Receptores Canabinoides. Por aquellos tiempos en que se aislaron e identificaron los constituyentes de la marihuana, se pensaba que, dada su alta liposolubilidad, el Δ^9 -THC actuaba inespecíficamente sobre lípidos de membranas, ejerciendo así sus diferentes acciones farmacológicas y tóxicas. Tiempo después se identificaron dos tipos de receptores para cannabinoides: CB_1 y CB_2 . Pero sólo fue en el año 1990 cuando Matsuda *et al.* divulgaron la caracterización del receptor CB_1 (4), y en 1993, Munro *et al.* informaron de la plena identificación del receptor CB_2 (5). Se ha encontrado que el receptor CB_1 se localiza principalmente en el sistema nervioso central, determinándose en forma bastante detallada la distribución de este receptor en los cerebros de algunos animales y en seres humanos (6). Así, la mayor concentración de estos receptores se encuentra en los ganglios basales, capa molecular del cerebelo y ciertas partes del hipocampo y, en menor concentración, en las capas I y IV de la corteza cerebral, mientras que un escaso número se localizan en el hipotálamo, el tallo cerebral y la médula espinal. En concentraciones menos importantes, los receptores CB_1 se encuentran en algunos tejidos periféricos, tales como el bazo, el corazón, la próstata, los ovarios, el útero y, a nivel presináptico, las terminales nerviosas (7). Sólo basta considerar cuidadosamente la ubicación de los receptores CB_1 para entender los efectos farmacológicos que exhiben los cannabinoides. Así, la importante presencia de estos receptores en los ganglios basales, explica los marcados efectos de los cannabinoides sobre la actividad motora de los roedores; su presencia en áreas del hipocampo y zonas corticales justifica los efectos de los cannabinoides sobre la memoria y el aprendizaje, así como sus acciones anticonvulsivantes.

Los receptores CB_2 , por su parte, se localizan principalmente en el bazo, las amígdalas y el sistema inmune. Los efectos inmunosupresores de la marihuana pueden explicarse por la presencia de receptores CB_2 en estos tejidos.

Los principales mecanismos intracelulares en los que están implicados los receptores CB_1 incluyen inhibición de la adenilato ciclasa, regulación de diferentes canales iónicos y la activación de la vía de las MAP quinasas (8). La estimulación de los receptores cannabinoides induce una inhibición de los canales de calcio y un aumento de la conductancia del potasio. El efecto combinado sobre ambos tipos de canales parece ser la base de la inhibición de la liberación de neurotransmisores.

Además de los tipos de receptores ya comentados, los cannabinoides y endocannabinoides pueden actuar sobre receptores vanilloides y, al parecer, sobre un nuevo tipo de receptores aún no identificado.

Endocannabinoides

Los ligandos de los receptores CB_1 y CB_2 , así como de los vanilloides, inicialmente conocidos, eran los cannabinoides derivados de la *Cannabis sativa*, principalmente el Δ^9 -THC. Cuando se descubrieron, primero los receptores CB_1 y luego el tipo CB_2 , se pensó que su presencia suponía la existencia de ligandos endógenos, específicos de tales receptores. Fue éste el motor que impulsó a los científicos a darse a la búsqueda de esos compuestos hasta entonces desconocidos. Así, en 1992, Devane *et al.* (9) informaron el aislamiento de un nuevo constituyente cerebral encontrado por ellos en el cerebro de porcinos, pero que luego fue detectado en humanos y en muchos otros animales. A este nuevo compuesto lo bautizaron *anandamida*, que en sánscrito significa bienaventurado. Mechoulam, en 1995 (10), informó de la presencia de otro compuesto de alto interés: el *2-araquidonoilglicerol*.

Químicamente la anandamida es la etanolamida del ácido araquidónico, lo cual habla claramente de su posible relación con las prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos y, en fin, con aquellos metabolitos que se desprenden de analizar la cascada del ácido araquidónico y que están implicados en importantes procesos como la inflamación, la función sanguínea, la contracción de músculo liso, etc. La síntesis de la anandamida, que es el cannabinoide endógeno más estudiado hasta la fecha, se produce mediante la hidrólisis de la N-araquidonilfosfatidiletanolamina, un precursor fosfolípido. Este proceso es catalizado por una fosfolipasa D (11), en el momento en que el organismo requiera la liberación de la anandamida y se hace de una manera dependiente de canales de calcio; sin embargo, existe evidencia de que receptores acoplados a proteínas G

pueden disparar este proceso, tal como sucede con los receptores dopaminérgicos D_2 . La vida media de la anandamida es muy corta, lo cual hace difícil la tarea de su aislamiento. La enzima encargada de realizar la hidrólisis es la amidohidrolasa de ácido graso (FAAH).

Además de la anandamida y del 2-araquidonoilglicerol, posteriormente se descubrieron otros endocannabinoides que ofrecen interesantes perspectivas farmacológicas: noladín éter, que activa receptores CB_2 ; la virodhamina, el éster del ácido araquidónico y la etanolamina, que actúa sobre receptores CB_1 y, finalmente, el agonista vanilloide N-araquidonoildopamina, que también exhibe afinidad por receptores cannabinoides.

Como ya se adelantó, existen enzimas responsables de la formación e hidrólisis de la anandamida, el endocanabinoide que ofrece mayor perspectiva e interés farmacológico. En la formación de la anandamida interviene una fosfolipasa D, para permitir su liberación a partir de la N-araquidonilfosfatidiletanolamina, y para su degradación actúa la FAAH.

IMPLICACIONES FISIOLÓGICAS DEL SISTEMA ENDOCANABINOIDE

A partir del descubrimiento del sistema canabinoide endógeno, son muchos los esfuerzos por parte de científicos de diferentes lugares del mundo, para comprender a carta cabal las implicaciones fisiológicas de estos compuestos, ya que de esta manera se ganan herramientas para enfrentar la lucha contra diversas enfermedades. Se ha avanzado rápida, pero aún incompletamente, en este sentido.

Los diferentes estudios muestran importantes compromisos de estos compuestos en funciones tan básicas, pero a la vez tan complejas, como la cardiovascular, en donde se ha observado que, en animales de experimentación, la anandamida produce una disminución dependiente de la dosis en la presión arterial, debido a una caída de la resistencia vascular sistémica. Esta observación deja en claro que a nivel fisiológico los endocannabinoides, particularmente la anandamida, ejercen efectos hemodinámicos sistémicos y portales. Los endocannabinoides y, en especial la anandamida, asumen interesantes compromisos en el sistema nervioso, tanto central como periférico. Se ha reportado que la anandamida inhibe el receptor muscarínico de acetilcolina en el cerebro humano, el cual está involucrado en la

correcta función de la memoria. En modelos de la enfermedad de Parkinson se observa un aumento importante en los receptores cannabinoides CB_1 , así como en los niveles de los ligandos endógenos en ganglios basales; la anandamida afecta evidentemente los niveles de dopamina nigroestriatal, lo que le confiere injerencia en la enfermedad de Parkinson (12), y puede estar implicada en pacientes esquizofrénicos (13). En modelos de la enfermedad de Huntington se han observado cambios de la transmisión endocanabinoide en los ganglios basales. La percepción del dolor y las alteraciones en la neurocognición (14) están mediadas en parte por la anandamida. Los endocannabinoides, además, cumplen funciones importantes en el desarrollo cerebral (15). Se sabe que la anandamida ejerce importantes funciones neuroprotectoras. Algunos endocannabinoides inhiben la proliferación celular en cáncer de seno humano (16), pero juegan papel fundamental en otros tipos de cáncer (17-25). Existe franca evidencia en el sentido de que la anandamida regula las funciones del esperma humano, para hacerlo apto en el proceso de fertilización. Por otra parte, la anandamida y los receptores cannabinoides CB_1 están involucrados en la tolerancia al alcohol (26). El hecho de que algunos antagonistas de la anandamida hayan exhibido interesantes efectos, como el aporte en el abandono del tabaco, el tratamiento de la obesidad y el aumento de la transmisión monoaminérgica en el córtex prefrontal medio, muestran que este compuesto endocanabinoide está implicado en múltiples procesos fisiológicos.

FARMACOLOGÍA DEL SISTEMA CANABINOIDE ENDÓGENO. ACCIONES ANTINEOPLÁSICAS

Dado el amplio abanico de funciones fisiológicas en las que intervienen la anandamida y algunos otros cannabinoides endógenos, no es difícil imaginar que éstos se constituyen en cabeza de serie para el desarrollo de nuevos fármacos. Agonistas y antagonistas de los receptores cannabinoides ofrecen grandes esperanzas terapéuticas para enfrentar enfermedades hasta hoy intratables, o para diseñar alternativas a tratamientos actuales que resultan altamente riesgosos por su toxicidad. Actualmente se está trabajando en diferentes países del mundo en el diseño y síntesis de compuestos agonistas y antagonistas de anandamida, buscando moléculas que pudieran ser útiles para combatir enfermedades

del sistema nervioso central, de los sistema gastrointestinal, cardiovascular, endocrino, inmunológico, hematológico (27) y con acción antiproliferativa.

No es nueva, por supuesto, la idea de emplear cannabinoides y/o endocannabinoides en el tratamiento del cáncer. Ya en 1975 se escucharon las primeras voces que hablaban de la actividad antineoplásica de los cannabinoides (28), pese a que se han descrito estudios que muestran que los cannabinoides también pueden presentar efectos pro-proliferativos en cáncer (29-30). En 1998, de Petrocellis, Bifulco, di Marzo *et al.* se pronunciaron respecto a la importante acción inhibitoria de la anandamida sobre la proliferación de células de cáncer de seno humano (16,31-32); Bifulco *et al.* estudiaron la influencia del sistema cannabinoide en el control del crecimiento de tumores dependiente del oncogén ras (33); Guzmán *et al.* expresaron en 2001 acerca del control de la decisión supervivencia/muerte celular por cannabinoides (34); basados en los estudios antes mencionados y en muchos otros no reportados aquí, Bifulco y di Marzo convocaron a unir esfuerzos en la búsqueda de nuevas moléculas derivadas de endocannabinoides con el propósito de lograr un mejor control del cáncer. Guzmán insistió en 2003 en el potencial anticancerígeno de los cannabinoides (35) y, recientemente lo hicieron Pisanti *et al.* (36), y sobre esta base también se deberá explorar la acción de los endocannabinoides. La inhibición de la angiogénesis tumoral por parte de los cannabinoides fue propuesta por Guzmán *et al.* (34, 35). Nuevamente Blázquez *et al.*, informaron que los cannabinoides inhiben el factor de crecimiento endotelial en gliomas (37, 38), como un importante aporte al entendimiento de la acción de estos compuestos sobre células cancerosas. El efecto positivo de los cannabinoides en el control del cáncer de próstata fue reportado por Sarfaraz *et al.* en 2005 (39); ese mismo año, Nithipatikon y su grupo de trabajo informaron sobre nuevos inhibidores de la hidrólisis del 2-araquidonoilglicerol como alternativa para el tratamiento del cáncer de próstata (40), mientras que Grimaldi *et al.* ratificaron en 2006 la interesante acción de la anandamida sobre células de cáncer de seno (41). DeMorrow *et al.* describieron en 2007 la acción de los endocannabinoides sobre el crecimiento del colangiocarcinoma; en abril del mismo año, Bifulco, Laezza, Gazzero y Pentimalli publicaron una interesante revisión acerca de los endocannabinoides como supresores emergentes de la angiogénesis y la invasión tumoral (42), y como ya hemos comentado, son muchos los investiga-

dores que se han dedicado a estudiar los posibles éxitos de la terapia cannabinoide en el tratamiento del cáncer.

Consideración de los posibles mecanismos de acción de los endocannabinoides en su actividad antineoplásica, y algunas formas de conseguir su efecto

Los investigadores han propuesto diferentes mecanismos a través de los cuales los cannabinoides y los endocannabinoides ejercen su acción anticancerígena. Brevemente nos referiremos aquí a algunos de los estudios más relevantes acerca de la manera como los endocannabinoides parecen ejercer su acción antineoplásica, así como a algunas formas de conseguir este propósito.

Una de las formas que ha resultado útil para conseguir la acción antineoplásica de los endocannabinoides es el bloqueo de las enzimas que inactivan dichos compuestos. Se ha demostrado que los niveles de cannabinoides endógenos, principalmente anandamida, resultan ser considerablemente más altos en células cancerosas y premalignas que en tejidos normales. Así, se han hecho intentos por incrementar la concentración local de endocannabinoides en las células tumorales, bloqueando su sistema de transporte o las enzimas que los inactivan, como la monoacilglicerol (MAGL) y la amidohidrolasa de ácido graso (FAAH). De esta manera, se han inducido los efectos antitumorales de las rutas de señalización de los receptores cannabinoides (CB) en varios tipos de cáncer, como los de tiroides, cerebro y próstata (42-45). El bloqueo del metabolismo de la anandamida puede resultar útil en el control del cáncer, ya que además de incrementar los niveles de este endocannabinoide, evita la generación de etanolamina. Sin embargo, se ha observado que las sustancias hasta ahora ensayadas para bloquear las enzimas que degradan la anandamida y el 2-araquidonoilglicerol, así como el inhibidor del transporte de anandamida VDM11, tienen algunos efectos colaterales diversos e inespecíficos, lo cual hace pensar en diseñar modificaciones estructurales de dichos compuestos con el propósito de conseguir una acción más específica y limpia sobre la degradación y transporte de los endocannabinoides. Esta estrategia convendría ensayarla paralelamente con consideraciones acerca de los ritmos biológicos celulares que pudieran alterar el comportamiento de las células cancerígenas, así como el momento de mayor activación de las MAGL y FAAH, lo cual

constituiría hasta ahora un criterio novedoso en la lucha por la búsqueda de nuevas herramientas contra el cáncer (46).

Existen efectos directos e indirectos de los cannabinoides sobre el cáncer, que se pueden explicar a través de diferentes mecanismos de acción. Se sabe que los cannabinoides exógenos pueden atacar directamente las células cancerosas a través de su unión a receptores CB, afectando así las rutas de señalización celular, lo cual puede inducir la supresión del crecimiento celular, así como su muerte, o inhibir la migración. Además, los cannabinoides pueden actuar indirectamente, inhibiendo el proceso de la angiogénesis o por interferencia con el sistema inmune (29). En tumores cerebrales, los cannabinoides inducen la muerte celular porque estimulan la síntesis de ceramida de novo, resultando en apoptosis (29,47). En cáncer de seno, puesto que éste puede ser dependiente de hormonas como los estrógenos y la prolactina, los cannabinoides inducen la supresión del crecimiento porque influyen en la subregulación de los receptores de prolactina, además de contrarrestar los efectos proliferativos de la prolactina misma (29,30), aunque se ha demostrado que, además, inhiben el cáncer de seno por acción directa sobre receptores CB₁ (39). En el cáncer de próstata incurren al menos tres factores sobre los cuales actúan los cannabinoides: por una parte, en sus células se expresan niveles superiores de receptores CB₁ y CB₂ que en la células normales de próstata; en segundo lugar, de forma similar a como ocurre con el cáncer de seno, en las células cancerosas de próstata también se expresan receptores de prolactina (25); y finalmente, el receptor del factor de crecimiento endotelial, EGFR, encontrado en tales células. Los cannabinoides actúan sobre los tres factores, controlando de esta manera el crecimiento de las células anormales. La acción sobre los EGFR resulta en una inhibición de la proliferación en el día 3 y en muerte celular masiva en el día 5 por apoptosis/necrosis (47). Además, se ha reportado que los cannabinoides subregulan el receptor de andrógenos y el antígeno específico de próstata. En cáncer de colon también se expresan receptores CB₁ y CB₂, y se sabe que los cannabinoides inducen apoptosis de estas células anormales a través de efectos mediados por receptores CB₁ (29,48). Otro mecanismo a través del cual actúan los cannabinoides es la inhibición de la angiogénesis (49), bloqueando los factores proangiogénicos o por efecto directo sobre la formación de vasos *in vivo*.

Esto ha sido especialmente estudiado en cáncer de piel, tiroides y gliomas, ya que se ha observado que los cannabinoides inhiben la producción del factor de crecimiento endotelial vascular, VEGF (36,48), un factor proangiogénico. Actualmente se avanza en el entendimiento de si los cannabinoides son realmente efectivos en condiciones como la leucemia mieloide aguda (AML), síndromes mielodisplásicos o desórdenes mieloproliferativos (29), ya que ha sido documentado que condiciones como la AML expresan receptores CB₂ (50).

Aspectos varios de los cannabinoides en cáncer

Cuando se analiza el potencial terapéutico de los cannabinoides en cáncer, deben considerarse los posibles efectos procancerígenos de estos compuestos, ya que existen algunos reportes que indican que compuestos como el THC y la anandamida pueden inducir activación del factor de crecimiento endotelial en líneas de células de cáncer, tales como cáncer de pulmón, carcinoma escamoso de piel, carcinoma de vejiga, glioblastoma, astrocitoma y cáncer de riñón (30). Por otra parte, puesto que los cannabinoides pueden suprimir las respuestas mediadas por células y la respuesta humoral inmune, deben tenerse en cuenta los efectos sobre la inmunidad del tumor cuando se considere atacar el sistema canabinoide *in vivo*. La administración de cannabinoides a ratones transplantados, con cáncer, carentes de receptores CB, puede promover el crecimiento del cáncer mediante la supresión de la respuesta anti-tumoral inmune (51). Se ha demostrado, además, que el antagonista del receptor canabinoide CB₁, SR141716A, en bajas dosis, presenta efectos anticancerígenos en algunas líneas de cáncer, tales como cáncer de seno, de tiroides y carcinoma de colon (52). Se ha postulado un mecanismo de acción antineoplásico diferente de los endocannabinoides, particularmente de la anandamida, a través de receptores vanilloides (53-54). También se ha sugerido que la anandamida induce muerte celular de manera independiente del receptor, a través de su interacción con dominios de membrana ricos en colesterol, como sucede con el colangiocarcinoma, donde la anandamida induce apoptosis e inhibe la proliferación celular mediante esta interacción y a través de la acumulación de ceramida. Otro mecanismo, por demás curioso por lo aparentemente contradictorio, es el que implica interacción con ciclooxigenasa (COX) y lipooxigenasa (LOX), que se ha observado en estudios animales,

donde la metanandamida estimuló la proliferación celular de una manera independiente de receptores CB, mediante la inducción de COX-2 (55), mientras una dosis 10 veces menor redujo la metástasis de una manera dependiente del receptor CB₁ (48). Finalmente, existe creciente evidencia de que los cannabinoides pueden actuar de una manera selectiva sobre células cancerosas, en tanto su acción sobre células sanas es mínima, dada la menor sensibilidad de estas últimas a la acción de tales compuestos (29). Se ha demostrado que la acción del THC sobre células de glioma resulta en síntesis de ceramida y muerte celular, mientras que la misma sustancia brinda una acción protectora sobre los astrocitos contra el estrés oxidativo (56).

Posible influencia de los ritmos circadianos en el efecto anticancerígeno de los cannabinoides y endocannabinoides

Los ritmos circadianos en los seres humanos gobiernan un gran número de funciones fisiológicas, incluyendo el ciclo sueño-despertar, la producción de hormonas, la formación y liberación de neurotransmisores y el ciclo celular, entre otros. Así, los ritmos biológicos juegan un papel importante tanto en la salud como en la enfermedad. Por esta razón, en la actualidad se está haciendo un gran esfuerzo por conocer los parámetros de la cronofarmacología, que permitan una acción cronoterapéutica eficaz y potencialmente exenta de las complicaciones que trae el uso de fármacos en horarios establecidos sin tener en cuenta los ciclos circadianos. Estudios de varios agentes antineoplásicos han demostrado que cada uno posee un patrón de acción cronofarmacológica óptimo, de acuerdo con la fase del ciclo celular en la cual ejercen su acción citotóxica (57-60). Así, el 5-fluorouracilo (5-FU) presenta un pico máximo de acción citotóxica a las 4 p.m. para pacientes con cáncer cuya actividad es diurna, y posiblemente resultará diferente en pacientes con cáncer cuya actividad sea nocturna. Hasta el momento es poco lo que se ha hecho al respecto, considerando la acción antineoplásica de los endocannabinoides y endocannabinoides.

CONCLUSIONES

El sistema endocanabinoide, formado por los receptores CB₁ y CB₂; por ligandos endógenos tales como la anandamida, el 2-araquidonoilglicerol, el nolandín éter y la araquidonoildopamina, y por las

enzimas encargadas de su liberación (fosfolipasa D) y de su hidrólisis (FAAH), se erige como fuente inconmensurable de inspiración en el desarrollo de nuevos fármacos, dado su compromiso en múltiples procesos fisiológicos y, por ende, en diversos eventos patológicos. Estudios continuos desde 1975, cuando se determinó el potencial antitumoral del delta-9-THC, hasta hoy, demuestran que tanto los cannabinoides como los endocannabinoides ofrecen una importante alternativa para el tratamiento del cáncer. Un aspecto de gran interés es el hecho de que estos compuestos son selectivos para ejercer sus acciones citotóxicas sobre células cancerosas, dejando libres las células normales. Puesto que pueden actuar a través de diferentes mecanismos, convendría conocer los momentos del día en que deberían administrarse, de acuerdo con los ritmos circadianos, para conseguir de ellos una acción terapéutica óptima, con el mínimo de efectos adversos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gaoni Y. and Mechoulam R. Isolation, Structure and Partial Synthesis of an Active constituent of Hachis. *Journal of the American Chemical Society*. 1964; 86 (8): 1463-1654.
2. Rodríguez U, Carrillo E, Soto E. Cannabinoides: Neurobiología y Usos Médicos. *Elementos*. 2005; 12 (60): 3-9.
3. Grotenhemen F. Los Cannabinoides y el Sistema Endocanabinoide. *Cannabinoids*. 2006; 1 (1): 10-14.
4. Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC and Bonner TI. Structure of Cannabinoid Receptor as Functional Expression of the Coned cDNA. *Nature*. 1990; 346 (6284): 561-564.
5. Munro S, Thomas KL and Abu-Shaar M. Molecular Characterization of a Peripheral Receptor of Cannabinoids. *Nature*. 1993; 365 (6441): 614-618.
6. Tsou K, Brown S, Sañudo-Peña MC, Mackie K, Walker JM. Immunohistochemical Distribution of Cannabinoid CB₁ Receptors in the Rat Central Nervous System. *Neuroscience*. 1998; 83 (2): 393-411
7. Galiegue S, Mary S, Marchand J, Dussossoy D, Carriere D, Carayon P. et al. Expression of Central and Peripheral cannabinoid Receptors in Human Immune Tissues and Leukocytes Subpopulations. *Eur J Biochem*. 1995; 232 (1): 54-61.
8. Howlett AC. The CB₁ Cannabinoid Receptor in the Brain. *Neurobiol Dis*. 1998; 5 (6): 405-416.
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 (5090): 1946-1949.
10. Mechoulam R, Ben-Shabat Sh, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, et al. Identification of an Endogenous 2-mono-glyceride, Present in Canine Gut, that Binds to the Cannabinoid Receptors. *Biochem Pharmacol*. 1995; 50 (1): 83-90.
11. Felder CC. Endocannabinoids and Their Receptors as Targets for Treating Metabolic and Psychiatric Disorders. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*. 2006, 3 (4): 561-567.
12. Di Marzo V, Berrendero F, Bisogno T, González S, Cavaliere P, Romero J. et al. Enhancement of Anandamide Formation in the Limbic Forebrain and Reduction of Endocannabinoid Contents in the Striatum of delta 9-Tetrahydrocannabinol-tolerant Rats. *J Neurochem*. 2000; 74 (4): 1627-1635

13. Leweke FM, Giuffrida A, Wurster U, Emrich HM, Piomelli D. Elevated Endogenous Cannabinoids in Schizophrenia. *Neuroreport*. 1999; 10 (8): 1665-1669.
14. Calignano A, La Rana G, Russo R, Piomelli D. Endogenous Acylethanolamines Modulates Pain Perception in Mice. *Eur Neuropsychopharm*. 2002; 12, Suppl. 3: S130.
15. Fernández-Ruiz JJ, Berrendero F, Hernández ML, Romero J, Ramos JA. Role of Endocannabinoids in Brain Development. *Life Science*. 1999; 65 (6-7): 725-736.
16. De Petrocellis L, Melck D, Palmisano A, Bisogno T, Laezza Ch, Bifulco M. et al. The Endogenous Cannabinoid Anandamide Inhibits Human Breast Cancer Cell Proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998; 95 (14): 8375-8380
17. Di Marzo V, De Petrocellis L, Sepe N, Buono A. Biosynthesis of Anandamide and Related Acylethanolamines in Mouse J774 Macrophages and N18 Neuroblastoma Cells. *Biochem J*. 1996; 316: 977-984.
18. Bisogno T, Maurelli S, Melck D, De Petrocellis L, Di Marzo V. Biosynthesis, Uptake and Degradation of Anandamide and Palmitoylethanolamide in Leukocytes. *J Biol Chem*. 1997; 272 (6): 3315-3323.
19. Bisogno T, Katayama K, Melck D, Ueda N, De Petrocellis L, Yamamoto S, Di Marzo V. Biosynthesis and Degradation of Bioactive Fatty Acid Amides in Human Breast cancer and Rat Pheochromocytoma Cells. *Eur J Biochem*. 1998; 254 (3): 634-642.
20. Di Marzo V, Bisogno T, De Petrocellis L, Melck D, Orlando P, Wagner JA. et al. Biosynthesis and Inactivation of the Endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol in Circulating and Tumor Macrophages. *Eur J Biochem*. 1999; 264 (1): 258-267.
21. Parolaro D, Massi P, Rubino T, Monti E. Endocannabinoids in the Immune System and Cancer. *Prostaglandin Leukot Essent Fatty Acids*. 2002; 66 (2-3): 319-332.
22. 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 (1-2): 191-209.
23. Di Marzo V, Melck D, De Petrocellis L, Bisogno T. Cannabinomimetic Fatty Acid Derivates in Cancer and Inflammation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2000; 61 (1-2): 43-61.
24. De Petrocellis L, Bisogno T, Ligresti A, Bifulco M, Melck D, Di Marzo V. Effects on Cancer Cell Proliferation of Palmitoylethanolamide, a Fatty Acid Amide Interacting with Both the Cannabinoid and Vanilloid Signaling Systems. *Fundam Clin Pharmacol*. 2002; 16 (4): 297-302.
25. Melck D, De Petrocellis L, Orlando P, Bisogno T, Laezza Ch, Bifulco M. Suppression of Nerve Growth Factor Trk receptors and Prolactin Receptors by Endocannabinoids Leads to Inhibition of Human Breast and Prostate Cancer Cell Proliferation. *Endocrinology*. 2000; 141(1): 118-126.
26. Hungund BL and Basavarajapa BS. Are Anandamide and Cannabinoid Receptors Involved in Ethanol Tolerance? A Review of the Evidence. *Alcohol and Alcoholism* 2000; 35 (2): 126-133
27. Randal MD. Endocannabinoids and the Haematological System (Review). *British Journal of Pharmacology*. 2007; 152 (5): 671-675.
28. Munson AE, Harris LS, Friedman MA, Dewey WL, Carchman RA. Anticoplastic Activity of Cannabinoids. *J Nat Cancer Inst*. 1975; 55 (3): 597-602.
29. Flygare J, Sander B. The Endocannabinoid system in Cancer: Potential Therapeutic Target?. *Seminars in Cancer Biology*. 2008; 18 (3): 176-189.
30. Hart S, Fischer OM, Ulrich A. Cannabinoids induce Cancer Cell Proliferation Via Tumor Necrosis Factor Alpha-Converting Enzyme (TACE/ADAM17)- Mediated Transactivation of the Epidermal Growth Factor Receptor. *Cancer Res*. 2004; 64 (6): 1943-1950.
31. Burstein S, Salmons R. Acylamido Analogs of Endocannabinoids Selectively Inhibit cancer Cell Proliferation. *Bioorg Med Chem*. 2008; 16 (22): 9644-9651.
32. Caffarel MM, Sarrió D, Palacios J, Guzmán M, Sánchez C. Delta-9-Tetrahydrocannabinol Inhibits Cell Cycle Progression in Human Breast Cancer Cells Through Cdc2 Regulation. *Cancer Res*. 2006; 66 (13): 6615-6621.
33. Bifulco M, Laezza Ch, Portella G, Vitale M, Orlando P, De Petrocellis L. Control by Endogenous Cannabinoid System of Ras Encogen-Dependent Tumor Growth. *FASEB J*. 2001; 15 (14): 2745-2747.
34. Guzmán M, Sánchez C, Galve-Roperh I. Control of the Cell Survival/Death Decision by Cannabinoids. *J Mol Med*. 2001; 78 (11): 613-625.
35. Guzmán M. Cannabinoids: Potential Anticancer Agents. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3 (10): 745-755.
36. Pisanti S, Malfitano AM, Grimaldi C, Santoro A, Gazzero P, Laezza C, Bifulco M. Use of Cannabinoid Receptor Agonists in Cancer Therapy as Palliative and Curative Agents. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2009; 23 (1): 117-131.
37. Blázquez C, Llanos Casanova M, Planas A, Gómez del pulgar T, Villanueva C, Fernández-Aceñero MJ. et al. Inhibition of Tumor Angiogenesis by Cannabinoids. *FASEB J*. 2003; 17 (3): 529-531.
38. Blázquez C, González-Feria L, Álvarez L, Hato A, Llanos Casanova M, Guzmán M. Cannabinoids Inhibit the Vascular Endothelial Growth Factor Pathway in Gliomas. *Cancer Res*. 2004; 64 (16): 5617-5623.
39. Sarfaraz S, Afaq F, Adhami VM, Mukhtar H. Cannabinoid Receptors as Novel Target for the Treatment of Prostate Cancer. *Cancer Res*. 2005; 65 (5): 1635-1641.
40. Nithipatikon K, Endsley MP, Isbell MA, Wheelock CE, Mammock BD and Campbell WB. A New Class of Inhibitors of 2-arachidonoylglycerol Hydrolysis and Invasion of Prostate Cancer Cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005; 332 (4): 1028-1033.
41. Grimaldi C, Pisanti S, Laezza C, Malfitano AM, Di Marzo V, Bifulco M. et. al. Anandamide Inhibits Adhesion and Migration of Breast Cancer Cells. *Exp Cell Res*. 2006; 312 (4): 363-373.
42. Bifulco M, Laezza C, Gazzero P. And Pentimalli F. Endocannabinoids as emerging Suppressors of Angiogenesis and Tumor Invasion (Review). *Oncology Reports*. 2007; 17 (4): 813-816.
43. Ligresti A, Bisogno T, Matias I, De Petrocellis L, Cascio MG, Cosenza V et al. Possible Endocannabinoid Control of Colorectal Cancer Growth. *Gastroenterology*. 2003; 125 (3): 677-687.
44. Bifulco M, Laezza C, Valenti M, Ligresti A, Portella G, Dim V. A New Strategy to Block Tumor Growth by Inhibiting Endocannabinoid Inactivation. *FASEB J*. 2004; 18 (13): 1606-1608.
45. Endsley MP, Aggarwal N, Isbell MA, Wheelock CE, Hammock BD, Falck JR et al Diverse Roles of 2-araquidonoylglycerol in Invasion of Prostate Carcinoma Cells: Location, Hydrolysis and 12-lipoxygenase Metabolism. *Int J Cancer*. 2007; 121 (5): 984-991.
46. Smolensky MH, Peppas NA. Chronobiology, drug delivery and chronotherapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2007; 59 (9-10): 828-851.
47. Gómez del Pulgar T, Velasco G, Sánchez C, Haro A, Guzmán M. De novo synthesized ceramide is involved in cannabinoid-induced apoptosis. *Biochem J*. 2002; 363 (Pt 1):183-188.
48. Mimeault M, Pommery N, Watzet N, Bailly C, Henichart JP. Antiproliferative and apoptotic effects of anandamide in human prostatic cancer cells lines: implication of epidermal growth factor receptor down-regulation and ceramide production. *Prostate*. 2003; 56 (1): 1-12.
49. Portella G, Laezza C, Laccetti P, De Petrocellis L, Di Marzo V, Bifulco M. Inhibitory effects of cannabinoid CB₁ receptor sti-

- mulation on tumor growth and metastatic spreading: actions on signals involved in angiogenesis and metastasis. *FASEB J* 2003; 17 (12): 1771-1773.
50. Alberich Jorda M, Rayman N, Tas M, Verbakel SE, Battista N, van Lom K et al. The peripheral cannabinoid receptor CB₂, frequently expressed on AML blasts, either induces a neutrophilic differentiation block or confers abnormal migration properties in a ligand-dependent manner. *Blood*. 2004; 104 (2): 526-534.
 51. McKallip RJ, Nagarkatti M, Nagarkatti PS. Delta-9-tetrahydrocannabinol enhances breast cancer growth and metastasis by suppression of antitumor immune response. *J Immunol*. 2005; 174 (6): 3281-3289.
 52. Sarnataro D, Pisanti S, Gazzero P, Santoro A, Malfitano AM, Laezza C. et al. The cannabinoid CB₁ receptor antagonist rimonabant (RS141716A) inhibits human breast cancer cells proliferation through a lipid raft-mediated mechanism. *Mol Pharmacol*. 2006; 70 (4): 1298-1306.
 53. Maccarrone M, Lorenzon T, Bari M, Melino G, Finazzi-Agro A. Anandamide induces apoptosis in human cells via vanilloid receptors. Evidence for a protective role of cannabinoid receptors. *J Biol Chem*. 2000; 275 (41): 31938-31945.
 54. Contassot E, Wilmotte R, Tenan M, Belkouch MC, Schnüriger V, De Tribolet N et al. Arachidonylethanolamine induces apoptosis of human glioma cells through vanilloid receptor-1. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2004; 63 (9):956-963.
 55. Gardner B, Zhu LX, Sharma S, Tashkin DP, Dubinett SM. Methanandamide increases COX-2 expression and tumor growth in murine lung cancer. *FASEB J*. 2003; 17 (14): 2157-2159.
 56. Carracedo A, Geelen MJ, Diez M, Hanada K, Guzmán M, Velasco G. Ceramide sensitizes astrocytes to oxidative stress: protective role of cannabinoids. *Biochem J*. 2004; 380 (Pt 2): 435-440.
 57. Focan C. Circadian rhythms and cancer chemotherapy. *Pharmacol Ther*. 1995; 67 (1): 1-52.
 58. Lévi F. Circadian chronotherapy for human cancers. *Lancet Oncol*. 2001; 2 (5): 307-315.
 59. Lévi F. From circadian rhythms to cancer chronotherapeutics. *Chronobiol Int*. 2002; 19 (1): 1-19.
 60. Mormont MC, Lévi F. Cancer chronotherapy: principles, applications and perspectives. *Cancer*. 2003; 97 (1): 155-169.