



**Universidad de Concepción
Facultad Farmacia**

**EFFECTO DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS PRESENTES
EN LA PLANTA DE *CANNABIS SATIVA* SOBRE LA
MODULACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA EN
EL SISTEMA MONOCITO-MACRÓFAGO.**

POR PEDRO ANTONIO MOISES ZÚÑIGA VALDEBENITO

Tesis presentada a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción
para optar al título profesional de Bioquímico

Profesor guía: Dr Fernando Sepúlveda Briceño
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular
Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

Marzo, 2022

Concepción, Chile

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.

TABLA DE CONTENIDOS

TABLA DE CONTENIDOS	iii
INDICE DE TABLAS	v
INDICE DE ILUSTRACIONES.....	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Sistema endocannabinoide (SEC)	1
1.2 Componentes clásicos del SEC	2
1.3 Componentes no clásicos del SEC	5
1.4 SEC y sistema inmune	8
1.5 SEC y sistema monocito-macrófago	9
1.6 Principios activos presentes en la planta de <i>Cannabis sativa</i>	10
2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	14
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	14
4. HIPÓTESIS.....	15
5. OBJETIVO GENERAL	15
6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
7. METODOLOGÍA.....	16
7.1 Establecer un protocolo de búsqueda de información e identificación de literatura.....	16
8. MÉTODO	18
8.1 Revisión bibliográfica	18
8.1.1 Estrategia de búsqueda.....	18
8.1.2 Criterios de Inclusión y exclusión	19
8.1.3 Selección de estudios y extracción de datos	19
9. RESULTADOS	20

9.1 Estudios seleccionados	20
10. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	21
10.1 Introducción: El sistema Endocannabinoide (SEC) y su rol fisiológico.....	21
10.2 SEC y sistema inmune	28
10.3 SEC y sistema monocito-macrófago	31
10.4 Principios activos presentes en la planta de <i>Cannabis sp.</i> con importancia biomédica..	32
10.5 Mecanismos de acción de Fitocannabinoides sobre el sistema monocito-macrófago ..	38
10.5.1 Cannabidiol.....	38
10.5.2 Tetrahidrocannabinol.....	40
10.5.3 Otros Fitocannabinoides	42
10.6 Mecanismos de acción de terpenos y flavonoides sobre el sistema <i>monocito-macrófago</i>	52
10.6.1 β -cariofileno	52
10.6.2 Otros terpenos y flavonoides	55
10.7 Análisis cualitativo de los efectos encontrados producidos por los principios activos presentes en la planta de <i>Cannabis sativa</i>	63
11. CONCLUSIONES	66
12. DISCUSIÓN Y PROYECCIONES	68
12.1 Consideraciones farmacológicas de los principios activos presentes en la planta de <i>Cannabis sp</i> con importancia biomédica.....	70
12.1.1 Farmacocinética y toxicidad	71
12.1.2 Contraindicaciones e Interacciones farmacológicas relevantes en el contexto inmunológico.	75
13. ABREVIATURAS	78
14. BIBLIOGRAFÍA	79

INDICE DE TABLAS

Tabla 10-1. Efectos del THC sobre el sistema monocito-macrófago en diferentes modelos y estímulos.....	45
Tabla 10-2. Efectos del CBD sobre el sistema monocito-macrófago en diferentes estímulos.....	48
Tabla 10-3. Efectos de otros Fitocannabinoides sobre el sistema monocito-macrófago bajo diferentes estímulos.....	50
Tabla 10-4. Efecto del BCP en el sistema monocito-macrófago bajo diferentes estímulos.....	57
Tabla 10-5. Efecto otros Terpenos y Flavonoides en el sistema monocito-macrófago bajo diferentes estímulos.....	60
Tabla 10-6. Análisis cualitativo de los receptores y vías de señalización involucradas en los efectos de Fitocannabinoides, Terpenos y Flavonoides.....	62
Tabla 10-7. Análisis cualitativo de los receptores y vías de señalización involucradas en los efectos de Fitocannabinoides, Terpenos y Flavonoides.....	62
Tabla 10-8. Análisis cualitativo de los efectos en las citoquinas por parte de los Fitocannabinoides, Terpenos y Flavonoides.....	63

INDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 10-1. Principales moléculas presentes en la planta de <i>Cannabis sativa</i> ...	33
Figura 10-2. Efecto de los distintos Fitocannabinoides sobre el sistema monocito-macrófago.....	44
Figura 10-3. Efectos de Terpenos y Flavonoides sobre el sistema monocito-macrófago.....	56
Figura 10-4. Efectos de los principios activos presentes en la planta de <i>Cannabis sativa</i> sobre el sistema monocito-macrófago bajo estímulo inflamatorio.....	64

RESUMEN

Los macrófagos son células del sistema inmunitario que orientan y coordinan procesos en la respuesta inmune innata y adaptativa, sus funciones básicas son la fagocitosis de agentes infecciosos, presentación antigénica y secreción de citoquinas. Estas funciones pueden ser reguladas por el Sistema Endocannabinoide mediante sus receptores, clásicos y no clásicos, y sus ligandos endógenos. Sin embargo, las moléculas presentes en la planta de *Cannabis sativa*, los fitocannabinoides, flavonoides y terpenos, también actúan como ligandos para el sistema endocannabinoide provocando un efecto celular en el sistema monocito-macrófago que modulan la respuesta inflamatoria y otros aspectos de la respuesta inmune, lo que conlleva a un cambio en el funcionamiento inmunológico. Este es un punto relevante para el estudio de diversas patologías asociadas a procesos inflamatorios y para el entendimiento de los efectos de variedades de *Cannabis sativa* y/o sus principios activos sobre el sistema inmune.

Para sistematizar las funciones que tienen los principios activos de la planta de *Cannabis sativa* en el sistema monocito-macrófago, se realizó una revisión utilizando bases de datos disponibles por el servicio de Bibliotecas de la Universidad de Concepción. En ella se describieron los determinantes moleculares, el efecto celular y la dosis utilizada de los principios activos. De esta forma se obtuvo una vista global, pero específica, de la regulación de la respuesta inflamatoria en el sistema monocito-macrófago por parte de moléculas presentes en la planta de *Cannabis sativa*.

ABSTRACT

Macrophages are cells of the Immune system that guide and coordinate processes in the innate and adaptive immune response, phagocytosis of infectious agents, antigen presentation and cytokine secretion are some of their basic functions. These functions can be regulated by the Endocannabinoid system through its classical and non-classical receptors and its endogenous ligands. However, in the *Cannabis sativa* plant, there are molecules that can also act as ligands for the Endocannabinoid system: the phytocannabinoids, flavonoids and terpenes, causing a cellular effect in the monocyte-macrophage system that manages to modulate the inflammatory response and other aspects of the immune response, which leads to a change in immune function. This is a relevant point of view for the study of various pathologies associated with inflammatory processes.

To better understand the functions that the active constituents of the *Cannabis sativa* plant have in the monocyte-macrophage system, a literature review was conducted using databases available from the library service of the University of Concepción. In the review, the molecular determinants, the cellular effect, and the dose of the active constituents were described. In this way, a global but specific view of the regulation of the inflammatory response in the monocyte-macrophage system by molecules present in the *Cannabis sativa* plant was obtained.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Sistema endocannabinoide (SEC)

El SEC es un sistema de señalización fisiológico que está involucrado en varias funciones esenciales para el organismo(Vincenzo Di Marzo & Piscitelli, 2015). Para dichas funciones sus determinantes moleculares utilizan mecanismos biológicos de señalización intracelular y numerosas interacciones moleculares para modular diversos procesos biológicos de relevancia fisiológica. Estos están relacionados con el aprendizaje y plasticidad sináptica, metabolismo y balance energético, el desarrollo neuronal, la sensación al dolor, regulación de la ingesta alimenticia y modulador del sistema inmunológico, entre otros. Esta participación en varios procesos vitales lo convierten en un objetivo clave para potenciales estrategias terapéuticas(Crowe et al., 2014; Vincenzo Di Marzo, 2008).

1.2 Componentes clásicos del SEC

A nivel celular, el SEC incluye dos receptores mayormente caracterizados: receptor cannabinoide 1 (CB1) y el receptor cannabinoide 2 o receptor CB2, ambos poseen siete dominios transmembrana conectados por tres bucles extracelulares y tres intracelulares, el lado N-terminal está orientado hacia el exterior de la membrana celular, mientras que el lado C-terminal es intracelular (Iannotti et al., 2016). Ambos receptores pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteína G (GPCRs), más específicamente a Gi/o, inhibiendo la función de la enzima adenilato ciclasa o activando las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK)(Feng et al., 2014). El receptor CB1 es uno de los GPCRs más abundantes en el cerebro, está altamente expresado en el núcleo ganglio basal, hipocampo, corteza y cerebelo(Iannotti et al., 2016; Mackie, 2005). La distribución de este receptor está relacionada con su papel en el control de la función motora, la cognición, memoria, metabolismo y la analgesia(Morales & Jagerovic, 2020; Zou & Kumar, 2018) . A nivel celular, este receptor se localiza principalmente en los terminales de neuronas centrales y periféricas, donde modulan la inhibición de la liberación de neurotransmisores(Mackie, 2005). También se puede encontrar expresado en tejidos u órganos fuera del sistema nervioso, sin embargo, a niveles más bajos que en este; aquí se encuentran los pulmones, el tracto gastrointestinal, el sistema reproductivo, los músculos y el sistema cardiovascular; además, a un nivel a un más bajo de expresión, en el

sistema inmune, páncreas y médula ósea(Aizpurua-Olaizola et al., 2017; Croxford & Yamamura, 2005). Por su parte, el receptor CB2, está ampliamente expresado en órganos o tejidos periféricos con función inmune, aquí se incluye el bazo, el timo, la amígdala y en células como macrófagos y leucocitos(Tanasescu & Constantinescu, 2010). Si bien su expresión varía dependiendo del tipo celular, es posible encontrar el receptor CB2 en otros órganos como la piel, huesos y tracto gastrointestinal o en tejidos o células del sistema nervioso tales como astrocitos y microglías.

La activación de estos receptores esta mediada por ligando endógenos, o también llamados endoanabinoides (eECs), los que más se han descrito son la Anandamida (AEA) y el 2-araquidonilglicerol (2-AG)(Vincenzo Di Marzo, 2008). La AEA actúa como agonista parcial de CB1 y CB2, presentando una mayor afinidad para el receptor CB1. El 2-AG tiene una baja afinidad para ambos receptores, pero es un agonista más efectivo que la AEA(Pertwee et al., 2010). Ambos eECs son producidos desde precursores fosfolipídicos cuando la concentración del catión Ca^{2+} intracelular está elevada(V. Di Marzo et al., 2005). La AEA, al igual que otras N-aciletanolaminas (NAEs), es producida principalmente por la hidrólisis de su correspondiente N-acil-fosfatidil-etanolamina (NAPE), reacción catalizada por la enzima Fosfolipasa D selectiva para NAPE (NAPE-PLD). El 2-AG y otros Acilglicerolos son producidos en un paso mediante

la hidrólisis de diacilglicerol (DAGs) por las diacilglicerol lipasas (DAGLs) (Grazia & Marini, 2015). Cabe mencionar que existen otros eECs, que al igual que la AEA y 2-AG, tienen distinta afinidad para los receptores. En este grupo está la Oleoiletanolamida (OEA), Palmitoiletanolamida (PEA), Lisofosfatidilinositol (LPI), entre otros (Prospéro-García et al., 2019).

Una vez que los eCBs son liberados al espacio extracelular, son rápidamente captados por una célula, hidrolizados o ambos. Se han reportado cuatro mecanismos para este proceso: Transporte facilitado por una proteína Carrier, difusión pasiva por gradiente acoplado a un metabolismo intracelular por enzimas como la Monoacilglicerol lipasa (MAGL) y la FAAH, difusión pasiva por gradiente acoplado a una captación del eCBs por las proteínas de unión a ácido graso (FABPs) y transporte mediado por caveola (Yates & Barker, 2009). Una vez que la AEA y 2-AG entran al citoplasma se hidrolizan, FAAH-1 y FAAH-2 son las enzimas responsables de la hidrólisis de AEA en ácido araquidónico (AA) y etanolamina. Mientras que para 2-AG, las enzimas hidrolíticas son la MAGL, con un 85% de actividad 2-AG hidrolasa, y la ABHD6, responsable del 15% restante. Como ruta alternativa, los eCBs pueden ser oxidados por la ciclooxigenasa-2 (COX-2), las lipoxigenasas (LOX) o el citocromo P450 (CYP).

1.3 Componentes no clásicos del SEC

Debido a que muchas veces no es posible conocer o entender por completo los efectos farmacológicos y fisiológicos de los cannabinoides, es que en estudios más recientes se señala la existencia de componentes no clásicos del SEC (Irving et al., 2017). Dentro de estos blancos se encuentran otros GPCRs: GPR55, GPR18, GPR119 (Morales & Reggio, 2017); receptores de potencial transitorio (TRP), como TRPV1 y los receptores activados por proliferadores de peroxisoma (PPARs) (O'Sullivan, 2016).

Algunos de los efectos de los eCBs no están directamente relacionados a receptores clásicos del SEC (CB1 y CB2), sino que son mediados por los receptores de potencial transitorio V1 y V2. TRPV1 y TRPV2 respectivamente. El receptor TRPV1 está ampliamente expresado en el cerebro, lo cual indicaría que ligandos endógenos del SEC median procesos celulares no exclusivamente por el receptor CB1, su estructura posee seis dominios transmembrana con un loop intramembranoso adicional que conecta los dominios transmembrana quinto y sexto para formar el poro del canal (Caterina et al., 1997; Tóth et al., 2005). La activación de TRPV1 por la AEA induce una vasodilatación acompañada de la liberación del péptido relacionado con el gen de la calcitonina, lo cual puede ser inhibido con el antagonista selectivo para TRPV1 capsazepina. En cuanto al receptor TRPV2, posee un 50% de homología con el receptor TRPV1 y dentro

de los ligandos endógenos están el LPI y el Lisofosfatidilcolina (LPC), los cuales inducen el influjo de Calcio (Monet et al., 2009). Es posible encontrar otros receptores de potencial transitorio relacionados con el SEC, como los TRPV3, TRPV4, TRPM8 y TRPA1; en los cuales, a excepción del TRPM8, la AEA y otros eCBs actúan como agonistas para estos receptores (Muller et al., 2019).

Por otro lado, otros blancos que tienen los cannabinoides son los PPARs, miembros de la superfamilia de receptores nucleares y existen tres tipos, PPAR α , PPAR γ y PPAR δ . Estos regulan el metabolismo, la diferenciación celular, el desarrollo y la inflamación; respecto a estas funciones es que algunos eCBs se presentan como candidatos a modularlas mediante la unión con los PPARs (Iannotti et al., 2016; O'Sullivan, 2016). Se ha demostrado, por ejemplo, que la OEA está relacionada con la estimulación de la lipólisis y efectos neuroprotectivos mediante la interacción con PPAR α (Deblon et al., 2011). Asimismo, la AEA y 2-AG son capaces de activar la actividad transcripcional de PPAR γ y tener efectos antiinflamatorios (H. Du et al., 2011).

En cuanto a otros GPCRs se encuentran el GPR55, GPR18, GPR119, y por su relación filogenética los receptores GPR3, GPR6 y GPR12 (Aizpurua-Olaizola et al., 2017). Los receptores GPR55 y GPR18, pertenecientes a la clase A de receptores similares a rodopsina, tienen poca similitud estructural con CB1 y CB2 pero responden de igual forma frente a ciertos eCB: el receptor GPR18 es

activado por el N-araquidonoilglicina (NAGly, perteneciente a la superfamilia de los eicosanoides y está relacionado a la AEA) y el receptor GPR55 por el LPI y la AEA(Balenga et al., 2011; Burstein et al., 2011; McHugh et al., 2010). Dentro de las funciones del GPR55 se destaca su participación en la inflamación, balance energético y progresión del cáncer (Guerrero-Alba et al., 2019; Tudurí et al., 2017). Cabe destacar que algunos grupos de la industria farmacéutica (Glaxo SmithKline y Atrazeneca) sugirieron, en forma de solicitud de patente, que el receptor GPR55 sea un nuevo receptor cannabinoide, siendo activado por múltiples cannabinoides y mediar algunas acciones sin la participación de CB1 y CB2 (Baker et al., 2006; Morales & Jagerovic, 2016) Por su parte, el receptor GPR18, se relaciona con enfermedades cardiovasculares, presión intraocular y resolución de la inflamación(Burstein et al., 2011; Pirault & Bäck, 2018). El receptor GPR119 puede ser activado por la OEA, ejerciendo funciones en la regulación de la Diabetes mellitus tipo 2, desordenes metabólicos y obesidad(Ye et al., 2019). Los receptores GPR3, GPR6 y GPR12 son los que poseen mayor relación filogenética con los receptores CB1, CB2; por esta razón comparten residuos conservados y motivos de secuencia única con CB1 y CB2(Fredriksson et al., 2003). La actividad de estos receptores se relaciona con el crecimiento y diferenciación celular, además de la participación que tienen en diferentes procesos neurológicos(Morales & Reggio, 2017; Tanaka et al., 2007). Actualmente la lista de receptores que muestran algún tipo de relación o afinidad con los componentes del SEC va aumentando, encontrando otros receptores

como FFAR y 5-HT. Además, estudios demuestran interacciones moleculares entre los receptores Cannabinoides con otros GPCRs, los cuales sugieren la presencia de homo- y heterodimeros de estos receptores. La dimerización de los receptores no solo podría influenciar en la farmacología del SEC, sino que también aporta un dato relevante para el estudio de las vías de señalización involucradas(Morales & Reggio, 2017).

1.4 SEC y sistema inmune

El sistema inmune de los mamíferos contiene una amplia variedad de células, las cuales de forma coordinada conducen a la maduración celular, dirigir la actividad antimicrobiana y promover la reparación tisular(Chaplin, 2006). Muchas de estas actividades se logran gracias a la secreción de quimioquinas y citoquinas por parte de las células inmunológicas, las cuales se unen a sus receptores afines u otros blancos celulares para activar cascadas de señalización que culminan en la expresión de determinados genes(Commins et al., 2010). Esta interacción entre diferentes linajes y tipos celulares ocurre de una manera que mantiene el equilibrio homeostático del sistema inmunológico.

Ambos receptores, CB1 y CB2, están presentes en células del sistema inmunológico; sin embargo, el que encuentra mayormente expresado es el

receptor CB2, debido a lo anterior se le asocia una mayor participación en la regulación de la respuesta inmune (Galiègue et al., 1995). En cuanto a los eCBs, se han identificado en células inmune como monocitos/macrófagos, basófilos, linfocitos y células dendríticas (Chiurchiu et al., 2015). Se ha reportado que el 2-AG estimula la liberación de óxido nítrico desde tejidos vasculares e inmunes de humano, además puede modular la respuesta inmune y diferenciación celular por mecanismos dependientes e independientes de receptores cannabinoides (Massi et al., 2007), así como actuar como sustancia quimiotáctica reclutando células dendríticas y sus precursores durante la respuesta inmune innata (Maestroni, 2004). Por otro lado, la AEA disminuye los niveles de interleuquina (IL)-6 e IL-8 desde monocitos humanos, y en células T, tiene un efecto en la proliferación celular y secreción de citoquinas (Croxford & Yamamura, 2005).

1.5 SEC y sistema monocito-macrófago

Dentro de las células que pueden responder frente a un estímulo inflamatorio están los macrófagos. Estas células se activan tempranamente en respuesta a un desafío inmunológico y juegan un rol importante en la respuesta inmune innata y adaptativa, elimina patógenos y desechos celulares, procesan antígenos y su posterior proceso de presentación (Pradeep Kumar et al., 2018). Se originan a partir de monocitos derivados de la médula ósea y migran a los diferentes tejidos,

donde se diferencian y especializan desarrollando distintas funciones. Tanto los monocitos como macrófagos expresan ambos receptores clásicos del SEC, CB1 y CB2, (Chiurchiù et al., 2014) y los receptores no clásicos, como el GPR55 y los PPARs (Chiurchiù et al., 2015; H. Du et al., 2011). Esto sugiere que ligandos del SEC pueden modular la respuesta inflamatoria y migración celular de estas células inmunológicas.

1.6 Principios activos presentes en la planta de *Cannabis sativa*

Además de los eECs, existen ligandos o cannabinoides exógenos llamados Fitocannabinoides que se encuentran en la planta de *Cannabis sativa* capaces de interactuar con los receptores, tanto clásicos como no clásicos, y provocar una respuesta frente a este estímulo (Morales et al., 2017). Estos compuestos han permitido un estudio más detallado del SEC, su rol en la homeostasis del organismo y su rol como blanco farmacológico (Vincenzo Di Marzo & Piscitelli, 2015). Como consecuencia, es que han surgido diferentes medicamentos, aceites y cremas con el fin de otorgar una terapia anexa o complementaria a muchas enfermedades. Ejemplo de lo anterior es el marinol (dronabinol), que contiene THC sintético, fármaco aprobado por la FDA, y ha sido usado para el tratamiento de cáncer, sida y esclerosis múltiple (Gonçalves et al., 2019).

El cannabidiol (CBD) es el mayor componente no psicotrópico de la planta de *Cannabis sativa* y tiene principal interés por su efecto terapéutico en distintos

estados patológicos. Puede actuar como ansiolítico, antidepresivo, antipsicótico, antioxidante, antiinflamatorio, antineoplásico, antiviral y regulador de la respuesta inmune (Nichols & Kaplan, 2020). Por otro lado, el THC es el compuesto que se encuentra en mayor proporción dentro de la planta de cannabis, sus funciones se relacionan con la regulación del metabolismo, dolor, desordenes cardiovasculares y gastrointestinales, asma y cáncer(Baron, 2018).

Aparte de los fitocannabinoides también es posible encontrar otros principios activos, sin embargo, estos no son exclusivos de la planta de *Cannabis sativa* sino que también están presentes en un gran grupo del reino vegetal y algunos animales(Paduch et al., 2007). Aquí es donde se encuentran los terpenos y flavonoides, una amplia variedad de hidrocarburos cuyas funciones para el organismo vegetal están relacionadas con el crecimiento, la pigmentación, la comunicación con otras especies, mecanismos de defensa, entre otras funciones metabólicas(Chen et al., 2011). En el ser humano se ha demostrado una gran capacidad de estos compuestos bioactivos en regular algunas funciones, como la actividad antiinflamatoria, analgésica y antioxidante en diversas enfermedades (Nuutinen, 2018).

Los terpenos son una familia de compuestos derivados del isopreno, dentro de la planta de cannabis sativa se encuentran alrededor de 200 de estos

compuestos(Downer, 2020). En la mayoría de las variedades de esta planta los terpenos que están presentes en mayor proporción son: β -cariofileno, α -humuleno, mirceno, α -pineno, limoneno, linalol, bisabolol y β -farneseno(Bedini et al., 2016). Si bien aún no han sido caracterizados como ligandos de los receptores clásicos del SEC (a excepción del β -cariofileno según algunos estudios), se ha evidenciado que tienen un efecto en el organismo, como antiinflamatorio, antibacterial, anticancerígeno y antiviral(Koziol et al., 2014).

Finalmente, es importante destacar que variedades de *Cannabis sativa* presentan flavonoides, una larga clase de polifenoles que en el caso de la planta de *Cannabis sativa* se encuentran alrededor de 20 tipos distintos(Pollastro et al., 2017). Los que están en mayor proporción son la quercetina y el kaempferol, además de los flavonoides exclusivos de la planta de *C. sativa*: cannflavinas A y B(Rea et al., 2019). Al igual que la mayoría de los terpenos, los flavonoides no han sido descritos como ligandos de los receptores clásicos del SEC. Sin embargo, también tienen propiedades que ejercen un efecto en el organismo, como antiinflamatorias, antioxidantes y neuroprotectoras(Panche et al., 2016).

En esta revisión se recopiló información relevante sobre las distintas vías de señalización identificadas para los principios activos presentes en la planta de *Cannabis sativa*, sobre el sistema monocito-macrófago con el fin de englobar los

efectos celulares que podrían estar ejerciendo de manera conjunta, como es la realidad al utilizar un extracto derivado de la planta completa. En este contexto se distingue el efecto inmunomodulador que tiene la *Cannabis sativa* sobre procesos inflamatorios y su potencial rol para enfermedades relacionadas con dicho proceso.

2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Actualmente, los mecanismos que presentan los principios activos de la planta de *Cannabis sativa* sobre el sistema inmunológico no están completamente descritos. Además, no está del todo comprendida la acción conjunta que presentan las moléculas de la planta de *Cannabis sativa*, tales como fitocannabinoides, terpenos y flavonoides, en la regulación de la respuesta inflamatoria en células del linaje monocito-macrófago bajo condiciones inflamatorias.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son los mecanismos que se han descrito para la regulación del sistema monocito-macrófago mediada por fitocannabinoides y otros principios activos presentes en la planta de *Cannabis sativa*?

4. HIPÓTESIS

Los principios activos presentes en la planta de *Cannabis sativa* logran, de manera individual y conjunta, generar una disminución de la respuesta inflamatoria en el sistema monocito-macrófago.

5. OBJETIVO GENERAL

Estudiar mecanismos descritos por los cuales los fitocannabinoides, terpenos y flavonoides de la planta de *Cannabis sativa* regulan la respuesta inflamatoria del sistema monocito-macrófago

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Describir mecanismos de acción de fitocannabinoides sobre la dinámica del sistema monocito-macrófago.
2. Describir mecanismos de acción de terpenos y flavonoides presentes en la planta de *Cannabis sativa* sobre la dinámica del sistema monocito-macrófago.
3. Proponer un posible mecanismo de acción conjunto para los principios activos presentes en la planta de *Cannabis sativa* sobre determinantes moleculares en el sistema monocito-macrófago.

7. METODOLOGÍA

En relación con el contexto sanitario actual (Pandemia SARS-Coronavirus 2), la Facultad de Farmacia de la Universidad de Concepción pone a disposición la modalidad de realizar una Tesis no presencial, la cual puede ser mediante la realización de proyecto concursable o bien la redacción de una revisión bibliográfica. Según lo anterior decido realizar la segunda opción.

7.1 Establecer un protocolo de búsqueda de información e identificación de literatura

Racional: Si bien hay estudios que demuestran un efecto de los fitocannabinoides y terpenos en una regular una respuesta inflamatoria en el sistema monocito-macrófago, hasta ahora no hay artículos que recopilen tales efectos y los relacionen para demostrar un posible efecto sinérgico.

Resultados Esperados: Mediante el uso de palabras clave y operadores booleanos se implementará un protocolo de búsqueda. A partir de lo anterior se espera realizar una revisión sistemática de la literatura existente.

Comentarios y Observaciones: La realización de esta actividad no presenta gran dificultad gracias a la disponibilidad de bases de datos otorgadas por el servicio de bibliotecas de la Universidad de Concepción.

8. MÉTODO

8.1 Revisión bibliográfica

8.1.1 Estrategia de búsqueda

Se realizará una búsqueda en las bases de datos “PubMed”, “Scopus”, “Web of science” y “Science Direct”. Las palabras clave se escribirán en inglés y se clasificarán en tres grupos, utilizando los operadores lógicos booleanos “AND” y/o “OR” y/o “NOT”:

Grupo 1: “Fitocannabinoides”, “Cannabinoides”, “CBD”, “THC”, “CBG”
“Terpenos”, “Flavonoides”, “humuleno”, “ β -cariofileno”, “linalool”, “limoneno”,
“Mirceno”, “cannflavinas”

Grupo 2: “GPR55”, “CB1”, “CB2”, “GPR18”, “GPR119”, “receptor cannabinoide”,
“PPARs”, “TRPV”

Grupo 3: “Inflamación”, “Inflamasoma”, “Citoquinas proinflamatorias”,
“Macrófago”, “Monocito”, “Respuesta inmune”, “NF- κ B”, “NLRP3”

8.1.2 Criterios de Inclusión y exclusión

- Se incluirán estudios primarios escritos en inglés, desde enero del año 2000 hasta enero del año 2021.
- Se incluirán estudios que presenten al menos dos palabras clave de distinto grupo en su título o resumen.
- Se incluirán estudios que tengan una evidencia clínica o preclínica relacionada con los Fitocannabinoides.
- Se excluirán revisiones sistemáticas o reviews.
- Se excluirán artículos no relevantes para la revisión, los cuales serán discutidos con el profesor Tutor Dr. Fernando Sepúlveda B.

8.1.3 Selección de estudios y extracción de datos

Los estudios obtenidos de la búsqueda inicial se cargarán al software Mendeley para tener una biblioteca propia de la revisión y eliminar estudios duplicados. De cada estudio se extraerá el título, fecha de publicación, la dosis de principio activo utilizada, el modelo utilizado, efecto celular (receptor y cascada de señalización) y tiempo de estudio.

9. RESULTADOS

9.1 Estudios seleccionados

De las distintas bases de datos se obtuvieron 519 estudios, a los cuales se le aplicaron los criterios de inclusión y exclusión obteniendo finalmente 46 estudios para analizar y realizar la revisión bibliográfica. De los estudios no seleccionados, 25 fue por ser revisión sistemática o revisión Bibliográfica, 13 por no estar relacionados con los objetivos, 11 por no utilizar modelos relacionados con sistema monocito-macrófago, finalmente 424 estudios fue por no utilizar Fitocannabinoides, o bien Terpenos y Flavonoides que no han sido descritos como componentes de la planta de *Cannabis* sp. De todas formas, se construyó una base de datos en Microsoft Excel con todos los estudios para tener un mejor manejo de la información obtenida y poder incluir ciertos estudios relevantes en la introducción o discusión de la revisión.

10. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

10.1 Introducción: El sistema Endocannabinoide (SEC) y su rol fisiológico

El SEC es un sistema de señalización ampliamente distribuido en el organismo, interviene en distintas rutas metabólicas regulando diversos procesos. Dentro de estos se destacan el balance energético, plasticidad sináptica y respuestas a las agresiones endógenas y ambientales. El SEC está compuesto por receptores de cannabinoides, cannabinoides endógenos o endocannabinoides (eCBs), y las enzimas responsables de la síntesis y degradación de los eCBs. La alta participación de este sistema en los distintos procesos que regulan la homeostasis del cuerpo humano lo convierten en un foco de estudio importante para desarrollar nuevas estrategias terapéuticas. (Lu & Mackie, 2016).

Los efectos del SEC están mediados principalmente por los receptores cannabinoides 1 y 2, CB1 o CB2, respectivamente. Ambos receptores son receptores acoplados a proteína G (GPCRs), principalmente a las clases Gi y Go, y en menor frecuencia a G 11/q. A través de este acoplamiento inhiben la actividad de la enzima Adenilato ciclasa, y activan cascadas de señalización relacionadas con las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK), como las quinasas reguladas por señales extracelulares 1 y 2 (ERK 1/2). El receptor

CB1 se localiza esencialmente dentro del sistema nervioso central, es uno de los GPCRs más abundante del cerebro, particularmente en los terminales axonales de las neuronas ubicadas en la corteza, ganglio basal, hipocampo y cerebelo. Además de las neuronas, el receptor CB1 también puede estar expresado, aunque en menor proporción, en astrocitos, oligodendrocitos y microglías (Mackie, 2005). El receptor CB1 también está distribuido en el sistema nervioso periférico y otros tejidos (sistema gastrointestinal, sistema reproductivo, sistema cardiovascular, adipocitos, hígado, células de músculo esquelético, sistema inmunológico y páncreas), donde su activación contribuye en la regulación de la motilidad intestinal, regulación del metabolismo y progresión de enfermedades coronarias (Aizpurua-Olaizola et al., 2017; Croxford & Yamamura, 2005; Montecucco & Di Marzo, 2012). Por otro lado, el receptor CB2 está expresado en mucha menor medida en el sistema nervioso central, comparado con CB1. Está distribuido principalmente en órganos o tejidos con función inmunológica, aquí se pueden encontrar el bazo, el timo, la amígdala y en células como macrófagos y leucocitos. La ubicación de este receptor se relaciona directamente con la función que este tiene, la cual se centra en la atenuación de procesos inflamatorios, donde la activación del receptor CBD participa en la regulación de mediadores proinflamatorios e infiltración celular. (Tanasescu & Constantinescu, 2010)

La identificación del receptor CB1 permitió identificar a su vez a la Anandamida (AEA) en 1992 y posteriormente el descubrimiento del 2-araquidonilglicerol (2-AG), que son los eCBs más descritos hasta la fecha. Investigaciones siguientes dieron paso a la identificación y caracterización de las enzimas responsables del metabolismo de los eCBs (Ligresti et al., 2016). La AEA es un agonista con alta afinidad para los receptores CB1 y CB2, mientras que el 2-AG tiene una baja afinidad para ambos receptores, pero es un agonista mucho más eficaz que la AEA (Vincenzo Di Marzo et al., 2015). A pesar de esta diferencia ambos eCBs son producidos en demanda al aumento de la concentración de calcio intracelular, sin embargo, son sintetizados, transportados y degradados por mecanismos diferentes. La AEA se origina a partir de un fosfolípido precursor: N-araquidonil-fofatidil-etanolamina (NAPE), el cual es formado por acilación de la etanolamina del Fosfatidiletanolamina por acción de la N-aciltransferasa. Si bien hay varios mecanismos descritos para la conversión final de la AEA, el principal es la conversión directa de la AEA por acción de la enzima Fosfolipasa D selectiva para NAPE (NAPE-PLD), mediante este mecanismo la reacción ocurre en un solo paso por la hidrólisis de NAPE. En el caso de 2-AG, es producido casi exclusivamente por la hidrólisis de Diacilglicerol (DAGs) por acción de las diacilglicerol lipasas (DAGLs) α y β . La isoforma α está más presente en el cerebro adulto, mientras que la isoforma β se desenvuelve a nivel periférico. Los precursores de DAGs para la biosíntesis de 2-AG son producidos por la hidrólisis

de 2-araquidonil-fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP₂) por la enzima fosfolipasa C (PLC) específica para PIP₂(Grazia & Marini, 2015).

Una vez liberados al espacio extracelular, los eCBs son captados por las células mediante cuatro mecanismos principales: Transporte facilitado por proteína carrier, difusión simple por gradiente de concentración generado por degradación enzimática, la cual puede estar acoplada a una captación de los eCBs por las proteínas de unión a ácidos grasos (FABPs), y endocitosis por medio de claveolas(Turcotte et al., 2015). Una vez dentro de la célula la AEA y 2-AG se inactivan mediante hidrólisis enzimática. Para AEA, esta reacción es catalizada por la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH) produciendo ácido araquidónico (AA) y etanolaminas, mientras que 2-AG ocurre principalmente por la monoacilglicerol lipasa (MAGL) produciendo AA y glicerol (Blankman et al., 2007; Vincenzo Di Marzo et al., 2015). Ambos endocannabinoides, 2-AG y AEA, pueden ser metabolizados por otros procesos, como oxidación por las enzimas ciclooxigenasa 2 (COX2) y Lipoxigenasas (Cravatt et al., 2001). Los productos del metabolismo de los eCBs son inactivos para los receptores cannabinoides CB1 y CB2, sin embargo, actúan en otros blancos, tales como PPARs, TRPV1 y receptores de prostaglandinas (Rouzer & Marnett, 2008; Woodward et al., 2008).

En muchas ocasiones no es posible atribuir los efectos reguladores del SEC solo a los elementos anteriormente descritos, ya sea los receptores CB1 y CB2 o los

endocannabinoides y sus enzimas respectivas encargadas de la síntesis y degradación, por lo que se ha propuesto la existencia de componentes no clásicos del SEC (Irving et al., 2017). En esta clasificación se pueden encontrar otros GPCRs, receptores de potencial transitorio (TRP) y receptores activados por proliferadores de peroxisoma (PPARs)(Morales & Reggio, 2017; O'Sullivan, 2016).

Dentro de los TRP se pueden encontrar los receptores de potencial transitorio V1 Y V1, TRPV1 y TRPV2 respectivamente, los cuales pueden ser activados por ligandos endógenos como la AEA; dentro de estos receptores el que está más caracterizado como receptor no clásico del SEC es el TRPV1, el cual está expresado en los terminales de nervios sensoriales involucrados en la ruta o vía de señalización del dolor, además de estar localizado en el cerebro lo que puede indicar una estrecha comunicación con el receptor CB1(Tóth et al., 2005). Dentro de las funciones de este receptor se destacan su alta participación en la transmisión del dolor, inflamación y plasticidad neuronal; además de activar ciertas proteínas como la calmodulina y la calcineurina que se relacionan con el proceso de desensibilización del TRPV1(Iannotti et al., 2016). En cuanto al receptor TRPV2, dentro de sus ligandos endógenos están el LPI y el Lisofosfatidilcolina (LPC), los cuales inducen el influjo de Calcio(Monet et al., 2009).

Del mismo modo, se ha descrito la existencia de otros GPCRs, que probablemente sean un blanco farmacológico importante. Los datos sugieren que GPR55 puede ser activado por múltiples cannabinoides y, por lo tanto, podría ser un candidato para mediar algunas de las acciones sin la participación de CB1 ni CB2(Baker et al., 2006). También se ha propuesto que el receptor GPR119 es un nuevo receptor de cannabinoides debido a su similitud filogénica y al hecho de que las etanolamidas de ácidos grasos actúan como ligandos para GPR119, siendo OEA el ligando endógeno más potente; sin embargo, los principales endocannabinoides AEA y 2-AG no activan GPR119(Irving et al., 2017). Otro ejemplo de estos receptores es el GPR18, cuyo ligando endógeno es el NAGly(Burstein et al., 2011). Actualmente la lista de receptores que muestran algún tipo de relación o afinidad con los componentes del SEC va aumentando, es así como también podemos encontrar a otros receptores tales como GPR3, GPR6, GPR12, FFAR4, 5-HT, entre otros(Morales & Reggio, 2017; Ye et al., 2019).

Por último, se encuentran los PPARs, miembros de la superfamilia de receptores nucleares, aquí se encuentran tres tipos: PPAR α , PPAR γ y PPAR δ . Dentro de las funciones principales se encuentran la diferenciación y desarrollo celular, inflamación y regulación metabólica(Towfighi & Ovbiagele, 2008). Estos

receptores se expresan principalmente en el riñón, hígado, intestino delgado y corazón; en células endoteliales, de musculatura lisa y sistema monocito-macrófago(Mirza et al., 2019). Los PPARs pueden ser por activados por ligandos de diferente estructura química, algunos de estos pueden ser ácidos grasos insaturados, eicosanoides y eCBs(O'Sullivan, 2016); respecto a estos últimos se ha demostrado, por ejemplo, que la OEA está relacionada con la estimulación de la lipólisis y efectos neuroprotectivos mediante la interacción con PPAR α (Deblon et al., 2011). Asimismo, la AEA y 2-AG son capaces de activar la actividad transcripcional de PPAR γ y tener efectos antiinflamatorios(H. Du et al., 2011).

Como se ha descrito, debido a la gran cantidad de elementos que componen este sistema y su amplia distribución por el cuerpo humano, es que participa en varios procesos fisiológicos y patológicos. De manera general, dentro del sistema nervioso central, en neuronas y células progenitoras neurales el 2-AG y la AEA estimulan la migración y diferenciación celular, interviniendo en el desarrollo cerebral; además 2-AG tiene un papel clave en la regulación de ingesta de alimentos interaccionado con péptidos y neurotransmisores orexígenos y anorexígenos(Guindon & Hohmann, 2012; Iannotti et al., 2016). En el sistema gastrointestinal la AEA puede disminuir la motilidad intestinal a través de los receptores CB1, que están altamente expresados en los nervios entéricos(Vincenzo Di Marzo, 2008). Por medio de los receptores CB2, ampliamente distribuidos en el sistema inmunológico, se regulan funciones como la hematopoyesis y respuestas de linfocitos Th1 y Th2, además de la secreción

de mediadores inflamatorios(Tanasescu & Constantinescu, 2010). En la piel, la AEA interviene en la diferenciación de los queratinocitos por intermedio del receptor CB1(Chiurchiù et al., 2016).

Gracias a los estudios que fueron demostrando el rol fisiológico del SEC, y de herramientas farmacológicas apuntando a los componentes del SEC, se han realizado estudios preclínicos demostrando su potencial rol terapéutico en distintos modelos patológicos. En ciertos desordenes neurodegenerativos, como esclerosis múltiple, Alzheimer y Parkinson, una inhibición de las enzimas encargadas de la hidrólisis y reabsorción de eCBs tiene como consecuencia un efecto neuromodulador, por la activación de CB1; y un efecto antiinflamatorio por la activación de CB2. Este mismo efecto se puede conseguir con agonistas para el receptor CB2 y antagonistas para CB1.

10.2 SEC y sistema inmune

El sistema inmune de los mamíferos contiene una amplia variedad de células, las cuales de forma coordinada conducen a la maduración celular, dirigir la actividad antimicrobiana y promover la reparación tisular(Chaplin, 2006). Muchas de estas actividades se logran gracias a la secreción de quimioquinas y citoquinas por parte de las células inmunológicas, estas moléculas se unen a sus receptores

afines u otros blancos celulares para activar cascadas de señalización que culminan en la expresión de determinados genes(Commins et al., 2010). Esta interacción entre diferentes linajes y tipos celulares ocurre de una manera que mantiene el equilibrio homeostático del sistema inmunológico. Ejemplo de una alteración a este estado es un daño tisular, el cual puede ser dividido en tres pasos(Gurtner et al., 2008). Primero hay una respuesta o fase inflamatoria, la cual es caracterizada por la activación del sistema inmune innato. Esta activación desencadena una infiltración de neutrófilos y monocitos que luego se diferenciarán en macrófagos, los cuales limpiarán restos celulares, combatirán agentes patógenos y coordinarán la nueva etapa(Oishi & Manabe, 2018). Una vez resuelta la fase inflamatoria se repara el daño de la herida y comienza la fase proliferativa, hay una polarización macrofágica del fenotipo M1 (proinflamatorio) al M2 (antiinflamatorio) y liberación de factores de crecimiento. Finalmente, en la fase de remodelación, el tejido íntegro reestablece sus funciones fisiológicas(Kumar et al., 2020). Sin embargo, existen ocasiones donde no se logra la homeostasis en el tejido, la fase inflamatoria se mantiene y se habla de un proceso crónico concluyendo en una resolución inadecuada de la herida o daño. Aquí es donde se hace participe el sistema endocannabinoide, como regulador de la respuesta inmune frente a un estímulo que altere su equilibrio(Chiurchiù, 2016).

Ambos receptores, CB1 y CB2, están presentes en células del sistema inmunológico; sin embargo, el que encuentra mayormente expresado es el receptor CB2, debido a lo anterior se le asocia una mayor participación en la regulación de la respuesta inmune. La expresión de CB2 en los ganglios linfáticos y el bazo es mayor que en las células sanguíneas periféricas y es diferente en varias poblaciones de células inmune (Células B>células NK> monocitos>neutrófilos>células T)(Galiègue et al., 1995). En cuanto a los eCBs, se han identificado en células inmune como monocitos/macrófagos, basófilos, linfocitos y células dendríticas. El 2-AG presenta una mayor concentración en el plasma sanguíneo que en la médula ósea y es capaz de movilizar células madre de sangre periférica a través del receptor CB2(Köse et al., 2018). Se ha reportado que el 2-AG estimula la liberación de óxido nítrico desde tejidos vasculares e inmunes de humano, además puede modular la respuesta inmune y diferenciación celular por mecanismos dependientes e independientes de receptores(Massi et al., 2007), así como actuar como sustancia quimiotáctica capaz de reclutar células dendríticas y sus precursores durante la respuesta inmune innata (Maestroni, 2004). En modelos *in vivo* de hipersensibilidad el 2-AG modula la inflamación por células B y células T activadas (Sido et al., 2016). Por otro lado, la AEA disminuye los niveles de interleuquina (IL)-6 e IL-8 desde monocitos humanos, y en células T, tiene un efecto en la proliferación celular y secreción de citoquinas(Croxford & Yamamura, 2005).

10.3 SEC y sistema monocito-macrófago

Dentro de las células que pueden responder frente a un estímulo inflamatorio están los macrófagos. Estas células se activan tempranamente en respuesta a un desafío inmunológico y juegan un rol importante en la respuesta inmune innata y adaptativa, elimina patógenos, complejos antígeno-anticuerpos, eliminan desechos celulares, procesan antígenos y su posterior proceso de presentación (Pradeep Kumar et al., 2018). Se originan a partir de monocitos derivados de la médula ósea y migran a los diferentes tejidos, donde se diferencian y especializan desarrollando distintas funciones. Los fenotipos de polarización más descritos son M1 (macrófago clásico activado, estimulado por ligandos de los TLRs e interferón- γ) y M2 (macrófago alternativo activado, estimulado por IL-4 e IL-13) (Wang et al., 2019). Cuando ocurre un evento inflamatorio las citoquinas proinflamatorias producidas por células residentes son quimioatrayentes para monocitos, los que ayudados por moléculas de adhesión (ICAM-1, P-Selectina) pasan de los vasos sanguíneos a los tejidos. En este punto los macrófagos se activan y polarizan a M1, produciendo una mayor cantidad de citoquinas proinflamatorias como IL-1, IL-6 y TNF- α , especies reactivas de oxígeno y especies reactivas de nitrógeno. Luego, juntos a los neutrófilos se inicia la resolución de la fase inflamatoria, la cual comienza con la liberación de micropartículas con anexina A1 y otros mediadores proresolutivos por parte de los neutrófilos (Murray, 2017). Tanto los monocitos como macrófagos expresan

ambos receptores clásicos del SEC, CB1 y CB2, (Chiurchiù et al., 2014) y los receptores no clásicos, como el GPR55 y los PPARs (Chiurchiù et al., 2015; H. Du et al., 2011). Esto sugiere una participación importante en la regulación de la respuesta inflamatoria y migración celular de estas células inmunológicas.

10.4 Principios activos presentes en la planta de *Cannabis sp.* con importancia biomédica

Además de los eECs, existen ligandos o cannabinoides exógenos que se encuentran en la planta de *Cannabis sativa* capaces de interactuar con los receptores, tanto clásicos como no clásicos, y provocar una respuesta frente a este estímulo (Morales et al., 2017). Esta especie herbácea ha estado presente por milenios en la historia humana, tanto para fines recreativos, por su efecto psicoactivo, como para uso medicinal en diversos estados patológicos (Bonini et al., 2018). El primer registro data de hace aproximadamente cinco mil años, en China, donde utilizaron extractos de la planta para disminuir el dolor. Sin embargo, no fue hasta el siglo XIX, en que se describieron efectos farmacológicos y se logró aislar ciertas moléculas que posee la planta, las cuales pueden tener un potencial blanco en el organismo (Ligresti et al., 2016). Finalmente, en 1988, se logra identificar uno de los receptores (CB1) gracias al estudio del delta-9-tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC), un componente psicotrópico de la planta (Devane, 1994). Desde ese entonces que se han descrito más de 100 fitocannabinoides, los cuales se encuentran en diferente proporción dependiendo de la variedad de

planta de *Cannabis*(Andre et al., 2016). Estos compuestos han permitido un estudio más detallado del SEC, su rol en la homeostasis del organismo y su rol como blanco farmacológico. Como consecuencia, es que han surgido diferentes medicamentos, aceites y cremas con el fin de otorgar una terapia anexa o complementaria a muchas enfermedades. Ejemplo de lo anterior es el marinol (dronabinol), que contiene THC sintético y es usado para el tratamiento de cáncer, sida y esclerosis múltiple(Gonçalves et al., 2019). En la figura 10-1 se muestran los componentes o principios activos de la planta de *Cannabis sativa* más importantes.

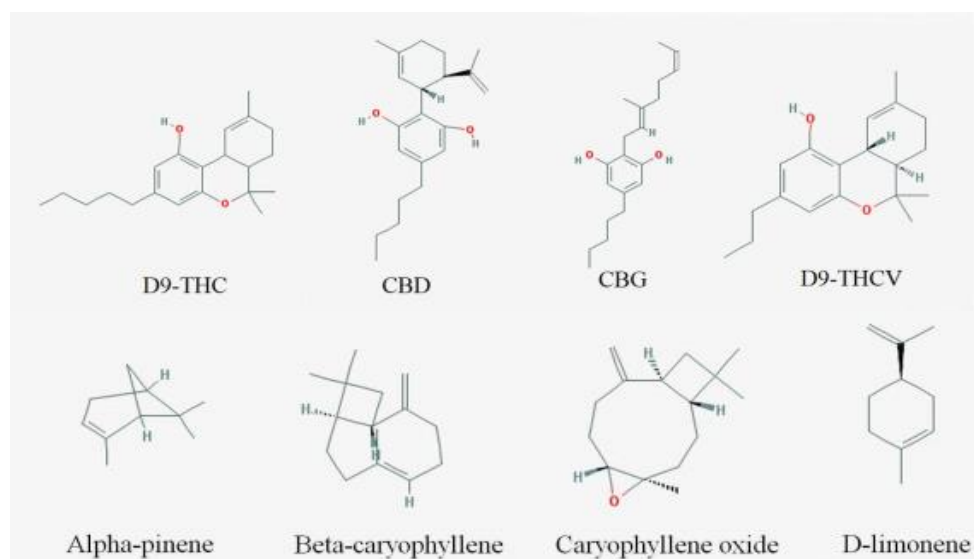


Figura 10-1. Principales moléculas presentes en la planta de *Cannabis sativa*.

El cannabidiol (CBD) es el mayor componente no psicotrópico de la planta de *Cannabis sativa* y tiene principal interés por su efecto terapéutico en distintos estados patológicos. Puede actuar como ansiolítico, antidepresivo, antipsicótico, antioxidante, antiinflamatorio, antineoplásico, antiviral y regulador de la respuesta inmune (Nichols & Kaplan, 2020). Ha sido un foco de estudio en numerosos estudios para determinar su actividad en CB1 y CB2, para CB1 tiene una constante de inhibición $k_i = 1,5 \mu\text{M}$ en humanos; 4,9 y 4,8 μM en ratón y 4,3 μM para desplazar unión de [3H]CP-55,940 (agonista sintético no selectivo para receptores CB) en membrana de cerebro de rata. En CB2 actúa levemente como agonista inverso, esta afirmación se relaciona con el efecto antagónico sobre CP-55,940 con un $k_i = 4,2 \mu\text{M}$ en membrana de células CHO y $k_i = 0,75 \mu\text{M}$ en membranas de células HEK293. Sin embargo, otros autores señalan que a concentraciones submicromolares el CBD si puede actuar como un modulador alostérico negativo en CB1, reduciendo la actividad de 2-AG y THC (Amin M.R. & Ali DW., 2019; Landmark & Brandl, 2020; Tham et al., 2019). Ciertos estudios de actividad funcional usando ensayos con [25S]GTP γ S indican que CBD puede actuar como antagonista sobre agonistas del receptor CB1, con una concentración inhibitoria del 50% $\text{IC}_{50} = 3,35 \mu\text{M}$. No obstante, la mayoría de los ensayos apuntan a un valor de $\text{IC}_{50} > 30 \mu\text{M}$ para ambos receptores (Ryberg et al., 2007). En cuanto a los componentes o receptores no clásicos del SEC, CBD presenta actividad funcional en varios canales pertenecientes a la familia de los TRP como: TRPV1 en rata y humano y TRPV2 y TRPA1 en rata (Pellati et al.,

2018); también se ha descrito una activación del PPAR γ , afinidad con el receptor 5-HT1A y otros GPCRs (Hind et al., 2016).

Por otro lado, el THC es el compuesto que se encuentra en mayor proporción dentro de la planta de cannabis, sus funciones se relacionan con la regulación del metabolismo, dolor, desordenes cardiovasculares y gastrointestinales, asma y cáncer (Bonini et al., 2018; Ligresti et al., 2016). Presenta una gran afinidad por los receptores CB1 y CB2, con una $K_i = 0,005 \mu\text{M}$ y $0,002 \mu\text{M}$ respectivamente, actuando como agonista parcial (su eficacia es más baja que algunos agonistas sintéticos). Lo anterior se complementa por estudios con [25S]GTP γ S que muestran una $EC = 6\text{nM}$ para CB1 y una $EC_{50} = 0,4 \text{ nM}$ para CB2 (Vincenzo Di Marzo & Piscitelli, 2015). A pesar de los efectos y gran afinidad que tiene el THC por los receptores CB1 y CB2 se han sugerido otros blancos farmacológicos para THC, como otros GPCRs, receptores 5HT3, receptores de glicina, TRPV1 y TRPA1 (De Petrocellis et al., 2011; Yang et al., 2010).

Aparte de los fitocannabinoides también es posible encontrar otros principios activos, sin embargo, estos no son exclusivos de la planta de *Cannabis sativa* sino que también están presentes en un gran grupo del reino vegetal y algunos animales (Paduch et al., 2007). Aquí es donde se encuentran los terpenos y flavonoides, una amplia variedad de hidrocarburos cuyas funciones para el

organismo vegetal están relacionadas con el crecimiento, la pigmentación, la comunicación con otras especies, mecanismos de defensa, entre otras funciones metabólicas (Chen et al., 2011). En el ser humano se ha demostrado una gran capacidad de estos compuestos bioactivos en regular algunas funciones, como la actividad antiinflamatoria, analgésica y antioxidante en diversas enfermedades (Nuutinen, 2018).

Los terpenos son una familia de compuestos derivados del isopreno, dentro de la planta de cannabis sativa se encuentran alrededor de 200 de estos compuestos (Downer, 2020). En la mayoría de las variedades de esta planta los terpenos que están presentes en mayor proporción son los sesquiterpenos β -cariofileno y α -humuleno y el monoterpeno mirceno. Otros compuestos que se pueden encontrar comúnmente son: α -pineno, limoneno, linalol, bisabolol y b-farneseno (Bedini et al., 2016). Si bien aún no han sido caracterizados como ligandos de los receptores clásicos del SEC (a excepción del b-cariofileno según algunos estudios), se ha evidenciado que tienen un efecto en el organismo, como antiinflamatorio, antibacterial, anticancerígeno y antiviral (Koziol et al., 2014). Esto podría indicar un posible efecto sinérgico de los terpenos al ser administrado junto a los fitocannabinoides. Por ejemplo, mediante el uso de un aceite esencial extraído de la planta de *Cannabis sativa*.

Por último, finalmente se encuentran los flavonoides, una larga clase de polifenoles que en el caso de la planta de *Cannabis sativa* se encuentran alrededor de 20 tipos distintos(Pollastro et al., 2017). Los que están en mayor proporción son la quercetina y el kaempferol, además de los flavonoides exclusivos de la planta de *Cannabis*: cannflavinas A y B(Rea et al., 2019). Al igual que los terpenos, los flavonoides no son ligandos de los receptores clásicos del SEC. Sin embargo, también tienen propiedades que ejercen un efecto en el organismo, como antiinflamatorias, antioxidantes y neuroprotectoras(Panche et al., 2016). Debido a la complejidad de la acción que tienen los principios activos de la planta de *Cannabis sativa* es que se hace necesario desarrollar un conocimiento más profundo sobre la farmacología molecular y explorar el efecto que tienen sobre los receptores, tanto clásicos como no clásicos del SEC, y la consecuencia de su modulación en el sistema monocito-macrófago.

A continuación, mediante la revisión de literatura realizada, se describirán los efectos que tienen los principios activos presentes en la planta de *Cannabis* sp. sobre el sistema monocito-macrófago, resumiendo estos efectos en tablas, junto con el receptor involucrado y vía de señalización afectada. Además, se describe brevemente los efectos mas relevantes en modelos de patología similares

10.5 Mecanismos de acción de Fitocannabinoides sobre el sistema monocito-macrófago

10.5.1 Cannabidiol

En estudios relacionados con modelos de inflamación, utilizando microglías activadas por lipolisacárido (LPS), el CBD a concentraciones de 1 a 10 μM reduce la producción de citoquinas proinflamatorias, como $\text{TNF-}\alpha$ e $\text{IL-1}\beta$, además de reducir el estrés oxidativo disminuyendo los niveles de especies reactivas de oxígeno (EROs) por medio del receptor CB2 o interviniendo en la función de la NADPH oxidasa, culminando en la inhibición de la activación del factor $\text{NF-}\kappa\text{B}$ y reduciendo la expresión de miRNAs relacionados con la regulación de este factor y procesos inflamatorios, como miR-146a y miR-34a(Dos-Santos-Pereira et al., 2019; Juknat et al., 2019). Resultados similares se pueden apreciar en otro estudio, en el cual el CBD a una concentración de 5 μM , disminuye la expresión de $\text{TNF-}\alpha$ en la línea celular RAW 264.7 estimulada con LPS(Rajan et al., 2016). En la línea celular de macrófagos THP-1, estimulada con LPS se observa que CBD atenúa la respuesta inflamatoria aguas arriba de la activación de IRF3, disminuyendo la expresión a nivel de ARNm de CXCL10 y $\text{IFN-}\beta$ (Fitzpatrick et al., 2020).

Los efectos del CBD sobre los macrófagos también pueden regular diferentes aspectos en modelos de cáncer. Por ejemplo, en cáncer de mama, la

administración de CBD a ratones tratados con células cancerígenas inhibe el reclutamiento y activación de macrófagos. En consecuencia, en este modelo de xenotransplante, hay un menor crecimiento del tumor y menor riesgo de metástasis. Similar a lo anterior, en estudios *in vitro*, se demostró que hay una disminución en la migración de células RAW 264.7, las cuales fueron condicionadas con medio proveniente de células cancerígenas tratadas con CBD; además de reducir la expresión de citoquinas importantes para la activación, reclutamiento y proliferación de macrófagos (CCL3, GM-CSF, CXCL2)(Elbaz et al., 2015). De la misma forma, en un cultivo primario de microglías activadas por haloperidol el CBD logra atenuar la activación de estas células hacia un fenotipo inflamatorio por medio del receptor PPAR γ (Sonego et al., 2018).

En cultivos primarios de monocitos derivados de sangre periférica humana, frente a una infección con bacterias patógenas orales, el CBD (Además de THC y CBN) inhibe la expresión de citoquinas proinflamatorias: TNF- α , IL-6, IL-12, IL-8; y aumenta la de IL-10. Esto interviene directamente en la respuesta inmunológica innata frente a patógenos bucales a través de del receptor CB2 y la vía de señalización PI3K (Gu et al., 2019). Otros autores señalan la importancia del receptor TRPV1 y TRPV2, a través de los cuales el CBD, a concentración de 10 μ M , ocasiona un aumento de la capacidad fagocítica y del calcio intracelular en

células BV-2, HAPI y RAW 264.7 por la vía de señalización PI3K (Hassan et al., 2014). En la tabla 10-2 se resumen los principales efectos descritos para CBD sobre el sistema monocito-macrófago.

10.5.2 Tetrahidrocannabinol

El tratamiento con THC 5 mg/kg administrado a ratones inyectados con LPS provoca un aumento en la expresión de IL-10 en monocitos derivados de la médula ósea, además del aumento a nivel plasmático de IL-10, y una disminución de IL-6 y CCL2. Este efecto estaría mediado por la señalización del receptor CB1, interviniendo en la función del TLR4 (Joffre et al., 2020). Lo anterior evidencia que el THC tiene propiedades inmunomoduladoras anti-inflamatorias a través de IL-10. Además, un estudio realizado *in vitro*, el pretratamiento de células madre mesenquimales derivadas de médula ósea (BM-MSCs) con THC 1 μ M por 24 hrs provoca una disminución de citoquinas proinflamatorias en un cultivo primario de microglías condicionadas con el sobrenadante del cultivo de BM-MSCs; esto podría estar ocurriendo a través de la ruta PI3K/Akt (Xie et al., 2016). También se ha demostrado que en células dendríticas derivadas de médulas ósea estimuladas con LPS, el THC 10 μ M afecta en la maduración de estas células disminuyendo la expresión del marcador CD86 y del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (MHC-II) involucrando a los receptores CB1 y CB2 (Karmaus et al., 2013), a la misma concentración el THC, en un modelo *ex vivo*,

logra reducir la expresión de miRNA relacionados con procesos inflamatorios, fenómeno que ocurre de igual forma con el CBD(Juknat et al., 2019).

El tratamiento con THC en un modelo *in vivo* de cáncer colorrectal regula el cambio en las células dendríticas hacia un fenotipo antiinflamatorio caracterizado por una disminución en la expresión de marcadores CD80 y CD11b. En células dendríticas derivadas de médula ósea el mismo tratamiento con THC provoca un aumento en los niveles de TGF- β 1, disminuye la migración celular y la secreción de mediadores proninflamatorios IL-23, IL-22, IL-1b y MCP-1; provocando una protección frente a la inflamación y desarrollo del cáncer, mediado por el agonismo de THC en el receptor CB2(Becker et al., 2020).

En infección con virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se ha descrito una alta participación del THC, durante la diferenciación de monocito a macrófago la exposición a THC modifica el fenotipo de las células disminuyendo la capacidad migratoria y la expresión de marcadores de superficie CD14, CD16 y CD163, los cuales están relacionados con carga viral; además de disminuir los niveles del antígeno p24 en el sobrenadante de las células diferenciadas y posteriormente infectadas con el virus VIH-1. Este efecto se logra a través del receptor CB2, con dosis de THC 1, 10 y 30 μ M; aumentando efecto mientras aumenta la dosis(Williams et al., 2014). En células dendríticas derivadas de monocitos

infectadas con VIH se puede apreciar un resultado similar, en las cuales un tratamiento con THC disminuye los niveles intracelulares del antígeno p24 a través del receptor CB2, asimismo, disminuye la expresión de ciertas citoquinas indicando una capacidad inmunomoduladora del THC(Agudelo et al., 2015). En otro estudio, utilizando la proteína Tat recombinante de VIH, se demostró que el THC 1 μ M aminora la migración y adhesión celular realizando un cambio morfológico en monocitos infectados, específicamente en los receptores b1 integrina y actina(Raborn et al., 2014). Finalmente, en un modelo *in vivo* de infección por el virus de la influenza, de acuerdo con la citometría de flujo de un lavado bronco alveolar, el THC 75 mg/kg reduce la presencia de células presentadoras de antígeno, posiblemente por medio de los receptores CB1 y CB2(Karmaus et al., 2013). En la tabla 10-1 se resumen los principales efectos del THC sobre el sistema monocito-macrófago.

10.5.3 Otros Fitocannabinoides

Otros principios activos presentes en la planta de cannabis también son capaces de modular el sistema monocito-macrófago. El THCA-A administrado en ratones con dosis de 20 mg/kg disminuye la activación del factor de transcripción NF- κ B, por medio de PPAR γ , logrando disminuir el estado de inflamación crónica causado por una dieta rica en grasas (modelo de obesidad)(Palomares et al.,

2020). En monocitos humanos estimulados con patógenos orales el CBN disminuye la expresión de citoquinas inflamatorias por medio del receptor CB2 y la vía de señalización PI3K, al igual que como ocurre con THC y CBD(Gu et al., 2019). Bajo estímulo de LPS, los Fitocannabinoides CBC y CBG controlan la inflamación reduciendo la expresión de citoquinas proinflamatorias y moléculas relacionadas con migración del macrófago, así como también elementos que participan en el estrés oxidativo. Estos efectos están mediados por la participación de CB2, TRPA1 y PPAR γ (Borrelli et al., 2013; Granja et al., 2012; Romano et al., 2013). En la tabla 10-3 se resumen los efectos encontrados para otros Fitocannabinoides. En la figura 10-2 se esquematizan las principales vías de señalización estimuladas por Fitocannabinoides.

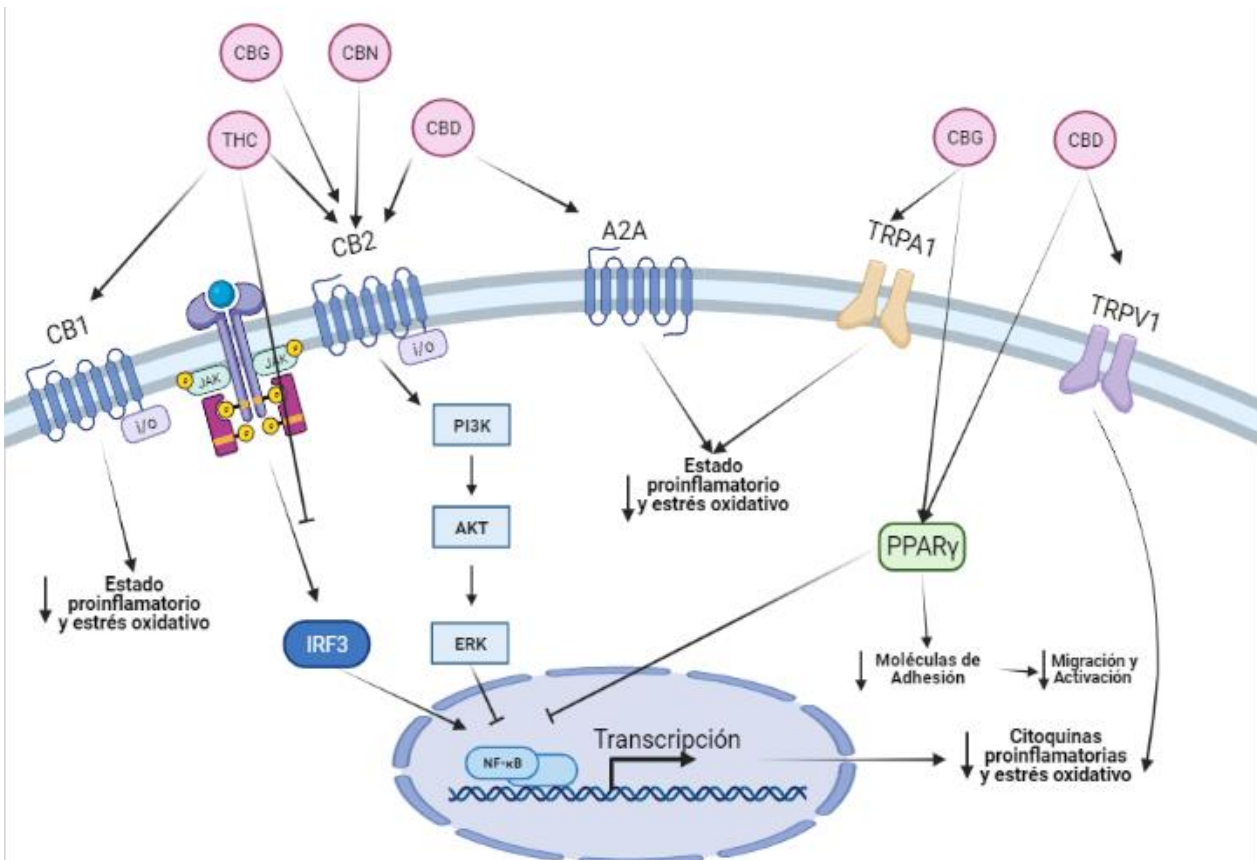


Figura 10-2. Efecto de los distintos Fitocannabinoides sobre el sistema monocito-macrófago. Bajo un estímulo inflamatorio (LPS, por ejemplo). THC y CBD actúan principalmente sobre receptores clásicos del SEC, y por medio de la vía PI3K/ERK inhiben la actividad del factor de transcripción NF-κB atenuando la expresión de citoquinas inflamatorias. Otros cannabinoides, como CBG, aportan a este estado por medio del receptor PPAR γ , disminuyendo además la migración y activación de células del linaje monocito-macrófago.

Tabla 10-1. Efectos del THC sobre el sistema monocito-macrófago en diferentes modelos y estímulos.

Tratamiento	Efecto	Receptor	vía señalización	Modelo	Estimulo/Patología	Referencia
10 mg/Kg	↓ Infiltración ↓ IL-22 ↑ TGF- β 1 ↓ MCP-1 ↓ IL-23 ↓ IL-1 β	CB2		Macrófagos CD11B+ f4/80+	Cáncer de colon	(Becker et al., 2020b)
5 mg/Kg	↑ IL-10 ↓ IL-6 ↓ IL-6/IL-10 ↓ NF- κ B	CB1		Monocitos derivados de C5BL/6J WT y KO para TRPV1 y CB2	LPS	(Joffre et al., 2020)
1 ug/mL	↓ TNF- α ↓ IL-6 ↓ IL-12 ↓ IL-8 ↑ IL-10	CB2	PI3K	Monocitos derivados de sangre total humana	Infección bucal	(Gu et al., 2019)
10 μ M	↓ miR-146a ↑ miR-449a ↑ DII1 ↓ TNF- α		NF- κ B/IRF3	BV-2	LPS	(Juknat et al., 2019)
THC inhalado	↑ Citoquinas proinflamatorias ↑ Infiltración			Ratón macho CD1		(Helyes et al., 2017)

Continúa

1 μ M	↓ TNF- α ↓ IL-1 β ↓ IL-6 ↓ IL-8 ↑ IL-10	CB2	PI3K/AKT	Cultivo primario de microglía	LPS	(Xie et al., 2016)
5 mg/Kg	↓ Iba-1			Rata hembra Sprague dawlei		(Zamberletti et al., 2015)
5 μ M	↑ IL-3 ↑ IL-7 ↑ M-CSF ↑ MIP-1 δ ↑ TGF- β 1 ↓ Eotaxin ↓ IL-1 ↓ IL-11 ↓ IL-12 p40 ↓ MIG ↓ PDGF-BB	CB1 y CB2		Células dendríticas derivadas de sangre periférica	Infección con VIH	(Agudelo et al., 2015)
20 mg/Kg por 5 días	↑ IL-1 β ↑ TNF- α ↑ COX-2 ↑ CXCL2 ↑ CD11B			C5BL/6 KO para CB1	Exposición crónica a THC	(Cutando et al., 2013)

Continúa

75 mg/Kg 10 µM	↓ Influj o de APC a pulmones ↓ maduración ↓ MHC-II ↓ CD86			C5BL/6 KO para CB1 Y CB2 Células dendríticas derivadas de médula ósea	Infección con virus influenza LPS	(Karmaus et al., 2013)
1 y 30 µM	↓ p24 ↓ CD4 ↓ CCR5 ↓ CXCR4 ↓ CD14 ↓ CD16 ↓ CD163	CB2		Macrófagos derivados de monocitos humanos	Infección con VIH	(Williams et al., 2014)
1 µM	↓ Adhesión celular ↓ Migración	CB2		U937	Infección VIH	(Raborn et al., 2014)
10 µM	↓ CXCL10 ↓ IFN-β		IRF3	THP-1	LPS	(Fitzpatrick et al., 2020a)

Tabla 10-2. Efectos del CBD sobre el sistema monocito-macrófago en diferentes estímulos.

Tratamiento	Efecto	Receptor	vía señalización	Modelo	Estimulo/Patología	Referencia
1-10 μ M	↓ TNF- α ↓ IL-1 β ↓ ROS	CB2	NF- κ B	Cultivo primario de microglía	LPS	(Dos-Santos-Pereira et al., 2019)
1 ug/mL	↓ TNF- α ↓ IL-8 ↑ IL-10	CB2	PI3K	Monocitos derivados de sangre total humana	Infección Bucal	(Gu et al., 2019)
10 μ M	↓ miR-146a ↓ miR-155 ↑ miR-449a ↓ TNF- α ↑ DII1		Notch	BV-2	Inflamación, Microglías activadas por LPS	(Juknat et al., 2019)
60 mg/kg	↓ IL-1b ↓ TNF- α ↑ IL-10	PPAR γ	NF- κ B	Microglías aisladas de C5BL/6J	Disquinesia orofacial inducida por haloperidol	(Sonego et al., 2018)
5 μ M	↓ TNF- α ↑ IL-10 ↓ TLR4 ↓ NF- κ B ↑ I κ B- α ↓ Nitrotirosina	TRPV1		RAW 264.7	Estimulación con LPS	(Rajan et al., 2016)

Continúa

9 μ M	↓ Migración ↓ CCL3 ↓ GM-CSF ↓ CXCL2		EGF/EGFR: AKT, ERK, NF- κ B	RAW 264.7	Tratamiento con medio proveniente de células cancerígenas	(Elbaz et al., 2015)
10 mg/Kg	↓ Reclutamiento ↓ Activación			Ratón Balb/c		
10 μ M	↑ Capacidad Fagocítica ↑ Concentración Ca intracelular	TRPV1	PI3K	BV-2 y RAW 264.7		(Hassan et al., 2014)
5 mg/Kg	↓ IL-1 β ↓ TNF- α ↓ VCAM ↓ Infiltración	A2A		Ratón SJL/J	Esclerosis múltiple inducida con virus	(Mecha et al., 2013)
5 mg/Kg	↓ Iba-1 ↓ Expresión Mac2/galectin			C5BL/6J	Esclerosis múltiple inducida con MOG	(Kozela et al., 2011)
10 μ M	↓ CXCL10 ↓ INF- β			THP-1		(Fitzpatrick et al., 2020b)
10 μ M	Regula genes relacionados con homeostasis de Zn			BV-2		(Juknat et al., 2012)

Continúa

10mg/Kg	↓ CCL3 ↓ CXCL2 ↓ ICAM ↓ TNF-α ↓ Activación NF-κB		NF-κB	C5BL/6J	Isquemia hepática	(Mukhopadhyay et al., 2011)
1 μM				Células Kupffer	LPS	
10mg/Kg	↓ MAC3	PPARγ		Ratón Swiss	LPS	(de Filippis et al., 2011)

Tabla 10-3. Efectos de otros Fitocannabinoides sobre el sistema monocito-macrófago bajo diferentes estímulos

Compuesto(s)	Tratamiento	Efecto	Receptor	Vía señalización	Modelo	Estimulo/Patología	Referencia
THCA-A	20mg/Kg	↓ NF-κB	PPARγ		C5BL/6J	Obesidad	(Palomares et al., 2020)
CBN	1ug/mL	↓ IL-12	CB2	PI3K	Monocitos derivados de sangre total humana	Infección Bucal	(Gu et al., 2019)
THCV y THCV-BDS	1μM	↓ IL-1β ↓ COX-2 ↓ mRNA CB1 ↓ NO	CB2		Macrófagos peritoneales murinos	LPS	(Barbara Romano et al., 2016)
CBC	1μM	↓ IL-10 ↓ NO ↓ IFN-γ	TRPA1		Macrófagos peritoneales murinos	LPS/COLITIS	(B. Romano et al., 2013)

Continúa

CBG	1μM	↓ iNOS ↑ SOD	CB2 o TRPA1		Macrófagos peritoneales murinos	LPS/COLITIS	(Borrelli et al., 2013)
CBG	25μM	↓ IL-1β ↓ IL-6 ↓ TNF-α ↓ MIP-1α ↓ PGE2	PPARγ		Cultivo primario de microglía	LPS	(Granja et al., 2012)

10.6 Mecanismos de acción de terpenos y flavonoides sobre el sistema monocito-macrófago

10.6.1 β -cariofileno (BCP)

El efecto protector de este sesquiterpeno se puede evidenciar en un modelo *in vitro* de neuro inflamación, en el cual se utilizan microglías aisladas de ratón C5BL/6J estimuladas con LPS; el BCP a concentraciones de 0.2-25 μ M mantiene un fenotipo M2 de las microglías, liberando mediadores antiinflamatorios, así como también enzimas antioxidantes. Este estado es potenciado además por la reducción de citoquinas inflamatorias y marcadores oxidativos que se logra a través de la acción del BCP sobre el receptor CB2, el cual, a altas concentraciones provoca una sobreproducción de ceramidas por la enzima SMasa concluyendo en la activación de la vía de señalización de PPAR γ ; y a bajas concentraciones provoca un efecto antiinflamatorio directamente por el receptor CB2(Askari & Shafiee-Nick, 2019). A esta misma conclusión llegaron otros autores con un modelo *in vivo* de encefalomiелitis alérgica experimental inducida por la administración del péptido 35-55 de la glicoproteína de mielina de oligodendrocitos, en el cual, con dosis de 5 mg/kg a 50 mg/kg administrados diariamente después del estímulo con el péptido MOG35-55 logran reducir la secreción de citoquinas proinflamatorias en sangre, resultado que se correlaciona con los ensayos *ex vivo*, donde además se evidencia una disminución en la

activación y migración de microglías. El mecanismo propuesto tiene relación con la activación del receptor CB2 y la vía de señalización PI3K/AKT(Alberti et al., 2017; Askari et al., 2019). Aportando a esta evidencia en otro estudio *in vivo* relacionado con neuro inflamación indica que, en un modelo de enfermedad de Parkinson, el BCP administrado con dosis de 50 mg/kg logra efectos similares: disminuye el estrés oxidativo, restaurando la actividad de enzimas antioxidantes; e inhibe la producción de mediadores proinflamatorios, por consecuencia de una disminución en la traslocación de NF- κ B p65 a través del receptor CB2. Si bien estos resultados son de tejido completo de mesencéfalo el efecto se puede atribuir directamente a las células microgliales, por su alta participación en los procesos inflamatorios y además porque hay una disminución de microglías activadas, resultado que fue determinado con inmunofluorescencia(Javed et al., 2016).

El tratamiento crónico con BCP (10 mg/kg por diez días) tiene efectos beneficiosos en un modelo de daño hepático inducido por alcohol mediante la atenuación de la respuesta proinflamatoria, activando un cambio fenotípico M1 de las células de Kupffer y disminuyendo la secreción de citoquinas como la IL-6 e IL-1b. Además, hay una disminución en la expresión de moléculas de adhesión, tales como E-selectina y P-selectina, lo que en conjunto con una disminución de quimioquinas (CXCL2, CCL2), provoca una disminución en la migración y

activación de estas células. Los resultados protectores frente al daño hepático fueron atenuados en un modelo Knockout para CB2, lo que sugiere que el mecanismo involucrado para dichos efectos tiene relación con la activación del receptor CB2; sin embargo no se descarta una participación directa del BCP sobre el PPAR α (Varga et al., 2018).

En un modelo murino de nefropatía inducida por cisplatino, el BCP administrado diariamente con dosis de 10 mg/kg, atenúa la respuesta inflamatoria y la infiltración de macrófagos, además es capaz de reducir el estrés oxidativo; esto se logra gracias a la acción del BCP sobre el receptor CB2. Al igual que el efecto que tiene sobre el tejido hepático, en tejido renal también se ha descrito una disminución en la expresión de proteínas de adhesión celular y quimioquinas (Horváth et al., 2012).

El BCP a concentración de 10 μ M, en macrófagos derivados de médula ósea de rata estimulados con LPS, disminuye la expresión a nivel de ARNm de TNF- α y CXCL1. Este efecto está asociado a la activación de los receptores CB2 y PPAR γ concluyendo en la disminución de citoquinas proinflamatorias e influjo de células que estarían aportando a un estado o fenotipo M2. EL mecanismo propuesto es a través de los factores de transcripción nucleares NF- κ B p65, IKK, CREB y las vías de señalización relacionadas con la activación de ERK1/2 y Caspasa 3

(Bento et al., 2011; Gertsch et al., 2008). En la tabla 10-4 se resumen los efectos encontrados para BCP.

10.6.2 Otros terpenos y flavonoides

La estimulación con LPS en líneas de macrófago murinos RAW 264.7 y macrófagos peritoneales provoca un estado de inflamación caracterizado por un aumento de citoquinas inflamatorias y óxido nítrico, efecto que puede ser regulado por el terpeno Linalool y el flavonoide Quercetina por mecanismos independientes de PPAR γ y NF- κ B (Maeda et al., 2013; Qureshi et al., 2011). En modelos de obesidad la narigenina disminuye los niveles de ARNm para el factor de necrosis tumoral TNF- α a través de PPAR γ , inhibiendo la activación de NF- κ B y la vía de señalización JNK; en el mismo modelo la luteolina intervienen en la regulación de factores proinflamatorios y proteínas de unión a macrófagos por medio de la vía de señalización PKC (Xu et al., 2014; Yoshida et al., 2013). En ratones tratados con sulfato de dextrano sódico (DSS) para inducir colitis, los terpenos α y β -Amilina reducen los niveles de moléculas de adhesión a nivel de ARNm por medio del receptor CB1, actuando como antagonista e interviniendo en la actividad de NF- κ B. Este efecto se logra tanto en tratamiento preventivo como terapéutico (Matos et al., 2013). Por último, el terpeno TCP a concentraciones de 1 a 5 μ M logra efectos semejantes a las otras moléculas presentes en la planta de *Cannabis sativa*, reduciendo la expresión de proteínas

inflamatorias y moléculas oxidativas. La inhibición de la fosforilación de I κ B α (molécula responsable de la inhibición de NF- κ B) por medio la vía de señalización JAK2/STAT1/IRF-1 a través del receptor CB2 sería la responsable de regular los efectos antiinflamatorios(Guo et al., 2014; Zhang et al., 2017). En la tabla 10-5 se resumen los efectos encontrados para otros terpenos y flavonoides sobre el sistema monocito-macrófago. En la figura 10-3 se esquematizan las principales vías de señalización estimuladas por Fitocannabinoides.

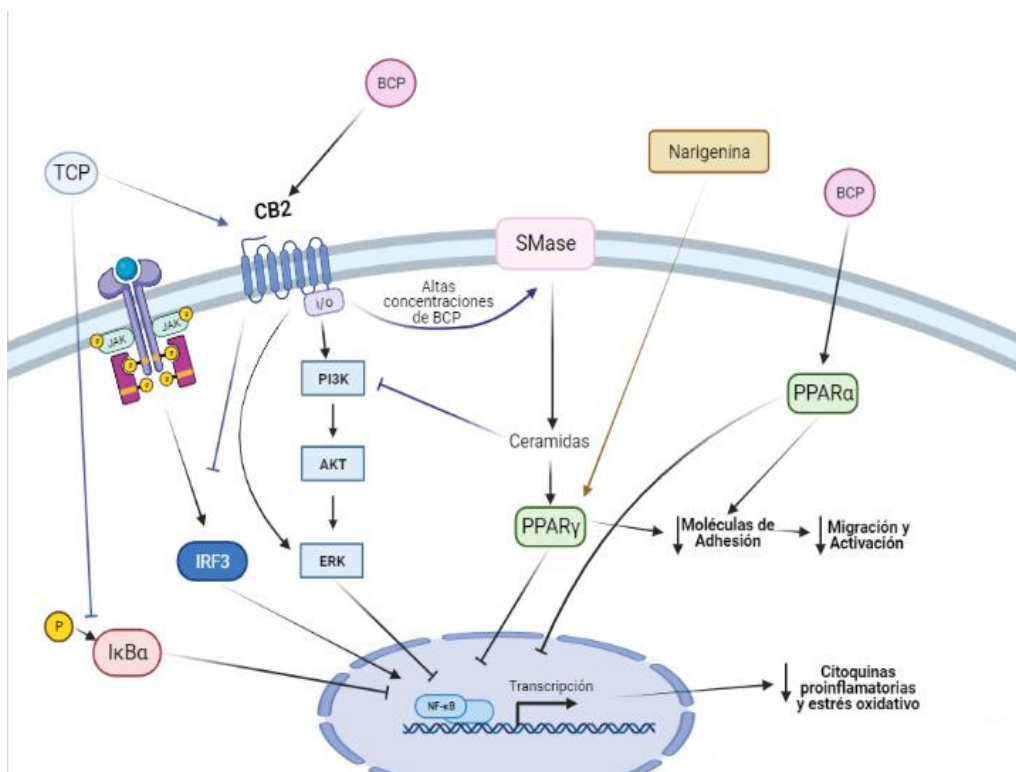


Figura 10-3. Efectos de Terpenos y Flavonoides sobre el sistema monocito-macrófago. El BCP, al igual que THC y CBD, actúa sobre el receptor CB2

inhibiendo la vía PI3K/ERK atenuando la expresión de citoquinas inflamatorias. Otros terpenos actúan sobre receptores PPAR α / γ aumentando el efecto atenuante de la migración celular.

Tabla 10-4. Efecto del BCP en el sistema monocito-macrófago bajo diferentes estímulos

Tratamiento	Efecto	Receptor involucrado	Vía señalización	Modelo	Estimulo/Patología	Referencia
5mg/kg por día	↓ Proliferación ↓ iNOS/Arg-1 ↓ TNF- α ↓ iNOS ↑ IL-10 ↓ NF- κ B ↓ PGE2	CB2	PI3K/AKT	Microglías aisladas de C5BL/6J	Esclerosis múltiple inducida con MOG	(Askari et al., 2019)
0,2-25 μ M	↓ TNF- α ↓ IL-1 β ↑ GSH ↑ IL-10 ↓ PGE-2 ↑ Arg-1 ↑ urea ↓ ROS	CB2	sobre producción de ceramidas por Smasa	Cultivo primario de Microglía	LPS	(Askari & Shafiee-Nick, 2019)
50mg/kg por día	↓ Activación Microglía ↓ Daño oxidativo	CB2		C5BL/6J	Esclerosis múltiple	(Alberti et al., 2017)

Continúa

10 mg/kg por 10 días	↑ F4/80 ↑ CD86 ↑ IBA-1 ↓ CD11b ↓ Arg-1 ↓ CD163 ↑ IL-10 ↓ IL-1b ↓ IL-6 ↓ CCL2 ↓ CxCL2 ↓ CxCL2 ↓ Adhesión celular	CB2	PPAR α	C5BL/6J	Esteatohepatitis alcohólica	(Varga et al., 2018)
50mg/kg/dia por 4 semanas	↑ Enzimas anti oxidativas ↓ Iba-1 ↓ iNOS ↓ IL-1 β ↓ IL-6 ↓ TNF- α ↓ COX-2 ↓ NF- κ B	CB2	BCP inhibe la translocación de NF- κ B p65	Rata Wistar	Enfermedad de Parkinson inducida con rotenona	(Javed et al., 2016)

Continua

10 mg/kg	↓ Citoquinas proinflamatorias ↓ F4/80 ↓ Actividad MPO ↓ NOX2 ↓ NOX4 ↓ infiltración	CB2	Disminuye fragmentación ADN, actividad PPAR y actividad caspasa 3/7	C5BL/6J	Nefropatía inducida por cisplatin	(Horváth et al., 2012)
10μMol/L	↓ CXCL1 ↓ MIP-2 ↓ TNF-α ↓ CXCL1 ↓ TNF-α	CB2 y PPARγ	Inhibición NF-κB y CREB	Macrófagos derivados de nódulos linfáticos de rata Macrófagos derivados de médula ósea de rata	LPS/COLITIS	(Bento et al., 2011)
500 nM		CB2	Disminuye activación de ERK 1/2 y JNK 1/2	Cultivo primario de monocitos humanos	LPS	(Gertsch et al., 2008)

Tabla 10-5. Efecto otros terpenos y flavonoides en el sistema monocito-macrófago bajo diferentes estímulos

Compuesto(s)	Tratamiento	Efecto	Receptor	Vía de señalización	Modelo	Estímulo/patología	Referencia
Luteolina	0,001%	↓ MAC2 ↓ F4/80 ↓ MCP-1 ↓ IL-6 ↓ TNF-α		PKC	C5BL/6J	Dietas altas en grasa/Obesidad	(Xu et al., 2014)
α,β-Amirina	10mg/Kg	↓ VCAM-1 ↓ ICAM-1 ↓ PCAM-1 ↓ β2-Integrina ↓ CD68 ↓ FAAH	CB1 (Antagonista)	NF-κB	Ratón CD1	Colitis inducida por DSS	(Matos et al., 2013)
Narigenina	100μM	↓ TNF-α	PPARγ	NF-κB y JNK	RAW 264.7	Ácido palmítico/Obesidad	(Yoshida et al., 2013)
Linalool	50ug/mL	↓ IL-6 ↓ NO ↓ iNOS		Independiente de NF-κB y PPARγ	RAW 264.7	LPS	(Maeda et al., 2013)

Continúa

Quercetina	100ppm en 100 mL etanol por 4 semanas	↓ Genes asociados a inflamación			Macrófagos peritoneales de ratón	LPS	(Qureshi et al., 2011)
TCP	1-5μM	↓ Adhesión celular	CB2	JAK2/STAT1/IRF-1	THP-1	TNF-α	(Zhang et al., 2017)
	10mg/Kg	↓ Infiltración celular			C5BL/6J	Aterosclerosis	
	5μM	↓ ROS ↓ IL-1β ↓ TNF-α ↓ IL-6 ↓ NF-κB	CB2	Inhibe fosforilación IκBa, manteniendo inactivación de NF-κB	BV2	Hipoxia (ACV)	(Guo et al., 2014)

10.7 Análisis cualitativo de los efectos encontrados producidos por los principios activos presentes en la planta de *Cannabis sativa*

Tabla 10-6. Análisis cualitativo de los receptores y vías de señalización involucradas en los efectos de Fitocannabinoides, terpenos y flavonoides.

Receptores involucrados	Número de artículos
CB2	22
PPAR γ	8
CB1	3
TRPV1	2
TRPA1	2
PPAR α	1
A2A	1

Tabla 10-7. Análisis cualitativo de los receptores y vías de señalización involucradas en los efectos de Fitocannabinoides, terpenos y flavonoides.

Vías de señalización	Número de artículos
NF- κ B	11
PI3K	6
IRF3	3
AKT/ERK	3
PKC	1
JAK/STAT	1

Tabla 10-8. Análisis cualitativo de los efectos en las citoquinas por parte de los Fitocannabinoides, Terpenos y Flavonoides.

Citoquinas y otros			
Efecto	Número de artículos	Efecto	Número de artículos
Aumento IL-10	8	Disminución TNF- α	19
Aumento TNF- α	2	Disminución IL-1 β	11
Aumento migración y/o adhesión celular	2	Disminución migración y/o adhesión celular	9
Aumento Iba-1	2	Disminución IL-6	8
Aumento IL-1 β	1	Disminución IL-10	2
		Disminución IFN- β/γ	2
		Disminución IL-8	2
		Disminución Iba-1	2

El análisis cualitativo (Tablas 10-6, 7 y 8) muestra la cantidad de estudios que describen los efectos señalados en cada ítem. En el caso de Citoquinas y otros, de manera practica se seleccionaron los efectos que guardan mayor relación con la regulación del estado inflamatorio. De acuerdo con este análisis, el CB2 es el principal receptor de la actividad de varios fitocannabinoides, terpenos y flavonoides, que pueden influir en la vía de señalización de PI3K, culminando en la inhibición del factor de transcripción NF- κ B. Este efecto reduce la expresión de las citoquinas IL-1b (proteína secretada por los macrófagos activados e importante en la señalización inflamatoria) e IL-6 (estimulan la diferenciación celular, inducen la síntesis de proteínas de fase aguda) además del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α , promotor inflamatorio). Además, en algunos

estudios se han observado niveles elevados de IL-10. Esta citoquina contribuye a la homeostasis tisular e inhibe la síntesis de citocinas inflamatorias por parte de los macrófagos. En la figura 10-4 se pueden apreciar los efectos que tendrían los principios activos de la planta de *Cannabis sativa* sobre el sistema monocito-macrófago bajo un estímulo inflamatorio, por ejemplo, LPS.

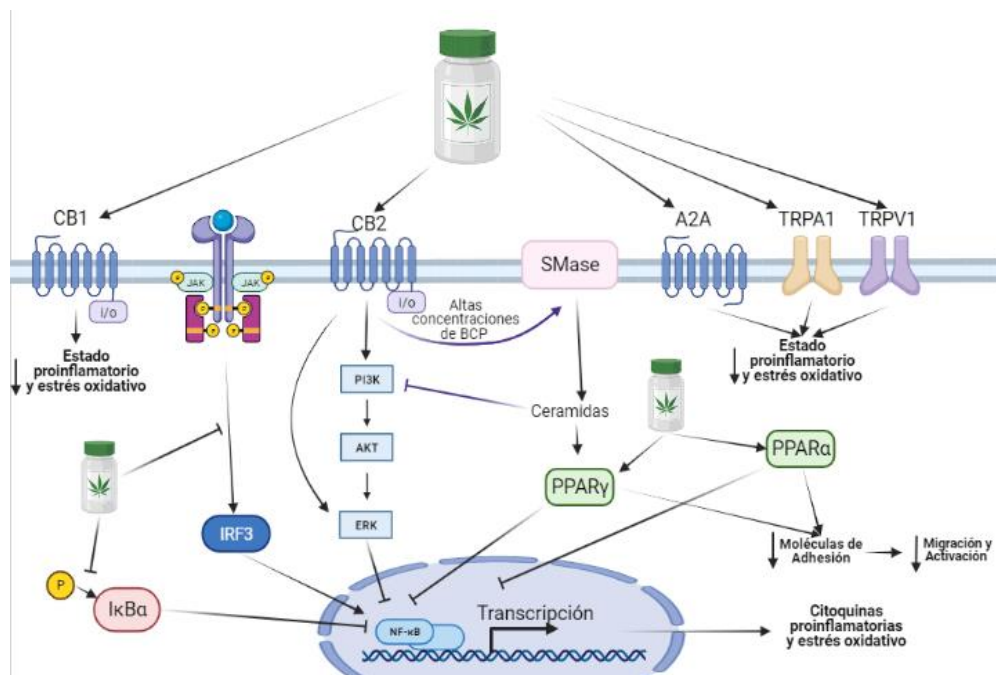


Figura 10-4. Efectos de los principios activos presentes en la planta de *Cannabis sativa* sobre el sistema monocito-macrófago bajo estímulo inflamatorio. De manera conjunta los diferentes elementos que componen la planta de *Cannabis* atenúan la respuesta inflamatoria, actuando como inmunomodulador por medio de receptores clásicos y no clásicos del SEC.

11. CONCLUSIONES

En esta revisión se buscó ofrecer una visión completa del papel regulador que desempeñan los principios activos presentes en la planta de *Cannabis sativa*, sobre el sistema inmunológico con énfasis en el sistema monocito-macrófago, a través de elementos (clásicos y no clásicos) del sistema endocannabinoide. Para dicho objetivo se realizó una búsqueda de literatura en diversas bases de datos, filtrando de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión, dando como resultado un cuadro resumen con los datos necesarios para la revisión. De acuerdo con el trabajo realizado se desarrollan las siguientes conclusiones:

-Los Fitocannabinoides, a concentraciones del orden micro molar, ejercen un efecto inmunomodulador en células del linaje monocito-macrófago, logrando reducir la expresión de proteínas inflamatorias, como las IL-1b, IL-6 y TNF- α (efecto que en algunos casos se relaciona con los niveles de ARNm). El mecanismo principal tiene relación con la regulación del factor de transcripción NF- κ B por medio de la vía de señalización PI3K y ERK/AKT, donde los fitocannabinoides actuaran principalmente sobre el receptor CB2 (y otros receptores del SEC, en menor medida) atenuando dichas vías de señalización.

-De manera similar, los terpenos logran atenuar la respuesta inflamatoria de los macrófagos. En el caso de estas moléculas las vías de señalización más descritas para lograr los efectos antiinflamatorios en los estudios seleccionados son a través de PI3K y ERK/AKT, además se detallan mecanismos que concluyen en la inhibición de la fosforilación de I κ Ba (molécula que mantiene inactivo a NF- κ B).

-Combinando los diversos mecanismos descritos se concluye que el estado antiinflamatorio que presentan los Fitocannabinoides, terpenos y flavonoides ocurre principalmente por una disminución en la activación del factor nuclear NF- κ B, culminando en la inhibición de citoquinas proinflamatorias y mediadores oxidativos, así como también de quimioquinas; involucrando receptores tanto clásicos como no clásicos del SEC. Estos efectos se presentan de manera similar en tratamientos realizados con compuestos sintéticos que intervienen en el Sistema Endocannabinoides. Por ejemplo, el agonista sintético para CB2, JWH-133 disminuye las respuestas inflamatorias en macrófagos activados con LPS, además de restringir la polarización M1; efectos que se correlacionan en modelos *In vitro* e *In vivo* (Y. Du et al., 2018; Persidsky et al., 2015; Wu et al., 2020).

12. DISCUSIÓN Y PROYECCIONES

Con los antecedentes presentados en esta revisión pueden surgir la posibilidad de desarrollar nuevos proyectos y estudios para dilucidar los mecanismos por los que actúan los compuestos bioactivos que se encuentran en la planta de *Cannabis sativa*, la cual no es solo THC y CBD, si no una variedad compleja de compuestos que contribuyen a la farmacología de la planta de *Cannabis sativa* y, por lo tanto, es muy probable que se produzcan efectos diferentes a los que se presentan al realizar tratamientos con los compuestos de forma aislada; de hecho, la eficiencia clínica que tenga un extracto derivado de planta completa dependerá de su composición. Debido a lo anterior es de vital importancia describir las acciones e identificar los determinantes moleculares de los principales principios activos presentes en la planta de *Cannabis sativa*.

Como metodología experimental para aportar más evidencia a la revisión realizada se propone realizar un estudio en un modelo que se asemeje a un escenario fisiológico, en este sentido se pueden utilizar macrófagos derivados de células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) y evaluar la expresión de citoquinas y la activación de NF- κ B. Para realizar este estudio, las

PBMC se estimulan con LPS, determinando la viabilidad celular bajo los diferentes fitocannabinoides a utilizar (THC, CBD, BCP, Mirceno, extracto de planta) mediante recuento con azul de tripán o por absorciometría con el reactivo Alamar blue. Una vez establecidas las condiciones adecuadas para el estudio se aplican los diferentes estímulos: fitocannabinoides a distintas concentraciones, así como también agonistas y antagonistas selectivos para los elementos del SEC (CB1/2, TRPV1 y PPAR α/γ). Para la evaluación de citoquinas se puede realizar un ensayo de ELISA Multiplex con el sobrenadante de cada grupo experimental testeando TNF- α , IL-6, IL-10, IL-8, IL-1b; finalmente, para determinar la actividad de NF- κ B el ensayo a considerar es el western blot y determinar los niveles de expresión total de NF- κ B y p-NF- κ B, utilizando como control a GAPDH. De forma complementaria se pueden adicionar ensayos de migración celular, realizando el ensayo de la herida o con cámaras Transwell y ensayos de capacidad fagocítica con Zymosan. Los resultados esperados para este estudio destacarían en la atenuación de las citoquinas proinflamatorias, pero con un aumento en la expresión de la citoquina IL-10, efecto que se lograría a través de una disminución de la activación de NF- κ B por medio de elementos del SEC. Junto con lo anterior se esperaría que el extracto completo de la planta de *Cannabis sativa* logre un mayor efecto atenuante que las moléculas por si solas.

Otro aspecto para tener en cuenta es el marco regulatorio que tiene la planta de *Cannabis sativa*. En Chile, esta sustancia se encuentra regulada por la ley 20000, que sanciona la venta ilícita de estupefacientes y sustancias psicotrópicas; y por el reglamento de dicha ley que incluye a la planta de *Cannabis* en el artículo 5 y la lista I y II. De acuerdo con esta ley se sanciona al que, sin la debida autorización, porte, trafique y cultive *Cannabis*, a menos que se demuestre que sea para un tratamiento médico y/o el consumo sea personal exclusivo y próximo en el tiempo. Sin embargo, la redacción de esta ley es confusa y permite una interpretación incorrecta por parte de policías y fiscales llevando a los usuarios de esta planta a una persecución penal. Esto puede resultar perjudicial para llevar a cabo estudios con diferentes variedades de *Cannabis*, debido a la criminalización de los usuarios de *Cannabis*, y los procesos engorrosos y burocráticos para contar con la debida autorización.

12.1 Consideraciones farmacológicas de los principios activos presentes en la planta de *Cannabis sativa* con importancia biomédica

Las características farmacológicas de los principios activos presentes en variedades de la planta de *Cannabis sativa* juegan un rol relevante al momento de ejercer las funciones inmunomoduladores, las cuales dependerán de la concentración plasmática alcanzada en sangre periférica y en los tejidos blanco,

además de las características metabólicas de cada usuario y su frecuencia de consumo. Por este motivo, es relevante tener presente aspectos críticos de la farmacología de moléculas bioactivas de la planta de *Cannabis sativa* como THC y CBD

12.1.1 Farmacocinética y toxicidad

En general, los parámetros farmacocinéticos de un fármaco (Absorción, distribución, metabolismo y excreción) se verán afectados por la vía de administración utilizada, la dosis empleada, la formulación y de factores del mismo usuario, como la edad, peso, género, antecedentes familiares y el estado fisiológico. En el caso de *Cannabis sativa*, la vía de administración más común de esta planta es la inhalación de las sumidades floridas secas, esta puede ser mediante la utilización de vaporizadores o bien fumada en forma de cigarro, siendo la segunda no recomendada debido a que la combustión que se genera, y que puede afectar órganos internos. El principal problema que tiene esta vía de administración es que alrededor del 30% de los compuestos se pierde por pirolisis(Amin & Ali, 2019; Cox et al., 2019). Una vez inhalada, las concentraciones máximas plasmáticas se alcanzan rápidamente (dentro de tres a diez minutos) y la biodisponibilidad del THC y el CBD varía entre el 10 y el 35% (Lucas et al., 2018), esta variabilidad se atribuye a distintos factores, como el número de inhalaciones, la duración e intervalo de estas, el tiempo retenido del

humos y el volumen inhalado; además del dispositivo utilizado y el tamaño de partículas inhaladas (Grotenhermen, 2017). Otra forma de administración es por la vía oral, en la cual el THC y el CBD presentan una baja biodisponibilidad, cercana al 6%, la cual puede aumentarse administrando de manera conjunta alimentos con alto contenido lipídico (Gaston & Friedman, 2016). Las formulaciones o preparados orales muestran una absorción variable y pasan por el metabolismo hepático, por consecuencia hay una concentración plasmática más baja que por la vía inhalada, además de necesitar un tiempo más prolongado para alcanzar la concentración máxima (hasta dos horas aproximadamente), esto puede ser útil en usuarios que requieran alivio durante más tiempo ya que el efecto perdura por varias horas, llegando hasta seis a ocho horas (Dinis-Oliveira, 2016).

Las vías de administración menos utilizadas pueden ser la transdérmica y la rectal, las cuales pueden resultar provechosas para el potencial uso medicinal de la planta de *Cannabis sativa* en pacientes pediátricos o adulto mayor. Para la vía transdérmica se evita el metabolismo de primer paso, pero al ser los principios activos de naturaleza lipídica limita la difusión a través de la barrera acuosa de la piel; por ejemplo, en un estudio *in vivo* se obtuvo que el THC alcanza una concentración plasmática de 4,4 ng/mL en 1,4 horas por lo que su uso se vería limitado y es necesario de más estudios para comprobar su eficacia en algunas

patologías. Finalmente, en el caso de la vía rectal, su uso y eficacia dependerá de factores como el contenido fecal y el estado de la mucosa rectal; pero uno de los beneficios es que se salta el primer hepático y entra directamente a la circulación(Bonn-Miller et al., 2019).

Los Fitocannabinoides se distribuyen rápidamente en órganos altamente vascularizados, como pulmones, corazón, cerebro e hígado(Gaston & Friedman, 2016) alcanzando volúmenes de distribución cercanos a 32 lKg-1 para CBD (intravenosa) y 3.4 lKg-1 para THC (Inhalada)(Huestis, 2007). Esta puede verse afectada por el tamaño y la composición corporal, el estilo de vida, el microbioma y ciertos estados patológicos que influyan en la permeabilidad de las barreras tisulares, como es el caso del cáncer(Lucas et al., 2018). Otro factor a considerar es la frecuencia de uso, por ejemplo, el consumo crónico de *Cannabis sativa* puede llevar a una acumulación en los tejidos adiposos y su posterior liberación y redistribución puede aumentar la biodisponibilidad y mantener la actividad de los cannabinoides durante varias semanas después de la administración(Zhornitsky & Potvin, 2012).

El metabolismo de los compuestos derivados de la planta de *Cannabis sativa* es principalmente hepático. En el caso del THC mediante las isoenzimas CYP2C9, CYP2C19 y CYP3A4 del citocromo P450 (CYP 450). Se metaboliza

principalmente a 11-hidroxi-THC (con actividad psicotrópica) y 11-carboxi-THC (utilizado para detectar consumo de *Cannabis* en orina), los cuales, mediante la glucuronidación, se excretan en heces y orina (Gaston & Friedman, 2016). El CBD también se metaboliza en el hígado principalmente por las isoenzimas CYP2C19 y CYP3A4, después de una hidroxilación hay una excreción fecal, y en menor medida, urinaria. En general, la vida media de los cannabinoides es de aproximadamente de 31 horas en dosis única y cinco días en consumidores habituales (Amin & Ali, 2019).

La toxicidad asociada al consumo de *Cannabis* está ligada a la dosis y vía de administración utilizada. Por ejemplo, en una intoxicación aguda, principalmente por el THC, hay un efecto psicótico caracterizado por episodios de amnesia, ansiedad, agitación, taquicardia y alteración de la percepción (D'Souza et al., 2004). Sin embargo, si se consume variedades con altas concentraciones de CBD, o preparados con CBD, no se presenta toxicidad asociada al consumo ya que se ha informado que reduce los efectos psicotrópicos y cardiovasculares asociados al THC. A pesar de los efectos adversos que puedan ocurrir no se conocen casos de muerte por intoxicación asociada al consumo de *Cannabis* propiamente tal, lo que puede ocurrir es ser un factor de riesgo para patologías respiratorias en el caso de consumirla fumada en forma de cigarrillo, como tos crónica e infiltrados pulmonares difusos. En un estudio realizado con modelo

animal de esclerosis múltiple no se observó cambios clínicos significativos al administrar THC. Además, una examinación al tejido del sistema nervioso reveló una marcada reducción del estado inflamatorio(Gonçalves et al., 2019).

El consumo de *Cannabis sativa* a largo plazo puede llegar a producir diversos efectos, entre ellos se puede encontrar la adicción, no obstante, esto dependerá de factores como la disposición genética, frecuencia de uso, edad a la que empezó a consumir, entorno socioambiental, entre otros; junto con lo anterior puede producir síndrome de abstinencia, donde se incluyen síntomas como náuseas, vómito, inapetencia, insomnio, depresión y ansiedad. La probabilidad de generar adicción en adultos es cercana al 9%, pudiendo duplicarse en adolescentes (Solymosi & Köfalvi, 2017). El uso de *Cannabis sativa* también puede producir cierto nivel de déficit cognitivo y afectar la memoria a corto plazo, efecto relacionado con el THC, sin embargo, no se evidenció mismo resultado con el CBD(Bonini et al., 2018).

12.1.2 Contraindicaciones e Interacciones farmacológicas

Considerando a la *Cannabis sativa* y/o sus derivados como un fármaco hay que tener en cuenta ciertos elementos a la hora de ser administradas a los pacientes, algunas de estas características es que no debe causar cuadros alérgicos, por lo que no debe ser administrada en usuarios que posean antecedentes alérgicos por la exposición o consumo de *Cannabis*, ya sea de forma inhalada, oral o

dérmica(Jackson et al., 2020); en cuanto a las personas embarazadas y en periodo de lactancia se debe prestar atención y hacer un seguimiento exhaustivo debido a que los principios activos de la planta de *Cannabis* son capaces de atravesar la barrera placentaria, exponiendo al feto a posibles daños, siendo un factor de riesgo para de parto prematuro y restricción del crecimiento intrauterino, además, por la naturaleza lipofílica que presentan los cannabinoides, pueden ser excretados por la leche materna y alterar el desarrollo neurológico normal, lo que podría afectar la salud mental en etapas de crecimiento posteriores; además de intervenir en el desarrollo inmunológico suprimiendo la respuesta de las Células T alterando la expresión de citoquinas y factores de transcripción Ifn- γ y FoxP3(Zumbrun et al., 2015). Dependiendo de la relación THC:CBD que sea administrada también se debe considerar a los usuarios con antecedentes familiares o personales de alucinaciones, esquizofrenia o trastorno bipolar, ya que concentraciones altas de THC pueden ocasionar o agravar las alucinaciones en este tipo de pacientes. Se ha descrito que pacientes tratados con esta combinación (THC/CBD) tienen un incremento en los niveles de TNF- α e IL-12 (Zhornitsky & Potvin, 2012).

En cuanto a las interacciones farmacocinéticas que puedan tener los principios activos de la planta de *Cannabis sativa* con otras sustancias, estas pueden existir a diferentes niveles y dependerá en su mayoría de la vía de administración

utilizada. El THC y CBD poseen un alto grado de unión a proteínas plasmáticas, cercano al 97%, por lo que se podrían esperar interacciones en la distribución de otros fármacos. En relación con las interacciones producidas en el metabolismo de las moléculas de la planta de *Cannabis sativa*, pueden ocurrir en preparados que sean altos en CBD, debido a que este compuesto es un inhibidor importante del CYP2C19, CYP3A4 y CYP1A1(Cox et al., 2019). Se ha demostrado que el ketoconazol, un inhibidor del CYP3A4, duplica las concentraciones de THC y CBD, y la rifampicina, un inductor para el CYP3A4, reduce las concentraciones de CBD(Stott et al., 2013). Otro estudio demuestra que el CBD, al ser un inhibidor del CYP2C19 es capaz de triplicar los efectos del clobazam en pacientes pediátricos con epilepsia refractaria, lo que podría estar asociado a un aumento de los efectos adversos(Geffrey et al., 2015). También se ha descrito que en pacientes con VIH el THC inhalado puede disminuir la Cmax del fármaco Indinavir, pudiendo reducir la eficacia del tratamiento(Qian et al., 2019). Sobre las interacciones farmacodinámicas, una administración alta de THC puede interaccionar de forma sinérgica con sustancias depresoras del sistema nervioso central, aumentando el efecto de fármacos barbitúricos, opiáceos, algunos analgésicos y el alcohol (Dinis-Oliveira, 2016).

13. ABREVIATURAS

2-AG: 2-Araquidonilglicerol

AEA: Anandamida

CB1: Receptor cannabinoide 1

CB2: Receptor cannabinoide 2

CBC: Cannabicromeno

CBD: Cannabidiol

CBDV: Cannabidivarina

CBG: Cannabigerol

eCBs: Endocannabinoides

GPCR: Receptores acoplados a proteína G

IL-n°: Interleuquina n°

LPS: Lipopolisacárido

MAPK: Proteína quinasa activada por mitógenos

NF-κB: Factor nuclear kappa de las células B

OMS: Organización Mundial de la Salud

PBMCs: Células mononucleares de sangre periférica

PI3K: Fosfatidilinositol 3-quinasa

SEC: Sistema Endocannabinoide

THC: Tetrahidrocannabinol

THCV: Tetrahidrocannabivarina

14. BIBLIOGRAFÍA

- Agudelo, M., Figueroa, G., Yndart, A., Casteleiro, G., Muñoz, K., Samikkannu, T., Atluri, V., & Nair, M. P. (2015). Alcohol and cannabinoids differentially affect HIV infection and function of human monocyte-derived dendritic cells (MDDC). *Frontiers in Microbiology*, 6(DEC), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01452>
- Aizpurua-Olaizola, O., Elezgarai, I., Rico-Barrio, I., Zarandona, I., Etxebarria, N., & Usobiaga, A. (2017). Targeting the endocannabinoid system: future therapeutic strategies. *Drug Discovery Today*, 22(1), 105–110. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.08.005>
- Alberti, T. B., Barbosa, W. L. R., Vieira, J. L. F., Raposo, N. R. B., & Dutra, R. C. (2017). (–)- β -caryophyllene, a CB2 receptor-selective phytocannabinoid, suppresses motor paralysis and neuroinflammation in a murine model of multiple sclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(4), 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijms18040691>
- Amin, M. R., & Ali, D. W. (2019). Pharmacology of Medical Cannabis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1162, 151–165. https://doi.org/10.1007/978-3-030-21737-2_8
- Amin M.R., & Ali DW. (2019). Pharmacology of Medical Cannabis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1162, 151–165.
- Andre, C. M., Hausman, J. F., & Guerriero, G. (2016). Cannabis sativa: The plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in Plant Science*, 7(FEB2016), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00019>
- Askari, V. R., Baradaran Rahimi, V., Tabatabaee, S. A., & Shafiee-Nick, R. (2019). Combination of Imipramine, a sphingomyelinase inhibitor, and β -caryophyllene improve their therapeutic effects on experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *International Immunopharmacology*, 77(November), 105923. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.105923>
- Askari, V. R., & Shafiee-Nick, R. (2019). The protective effects of β -caryophyllene on LPS-induced primary microglia M1/M2 imbalance: A mechanistic evaluation. *Life Sciences*, 219, 40–73. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.12.059>
- Baker, D., Pryce, G., Davies, W. L., & Hiley, C. R. (2006). In silico patent searching reveals a new cannabinoid receptor. *Trends in Pharmacological Sciences*, 27(1), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2005.11.003>

- Balenga, N. A. B., Henstridge, C. M., Kargl, J., & Waldhoer, M. (2011). Pharmacology, Signaling and Physiological Relevance of the G Protein-coupled Receptor 55. In *Advances in Pharmacology* (1st ed., Vol. 62). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385952-5.00004-X>
- Baron, E. P. (2018). Medicinal Properties of Cannabinoids, Terpenes, and Flavonoids in Cannabis, and Benefits in Migraine, Headache, and Pain: An Update on Current Evidence and Cannabis Science. *Headache*, 58(7), 1139–1186. <https://doi.org/10.1111/head.13345>
- Becker, W., Alrafas, H. R., Wilson, K., Miranda, K., Culpepper, C., Chatzistamou, I., Cai, G., Nagarkatti, M., & Nagarkatti, P. S. (2020). Activation of Cannabinoid Receptor 2 Prevents Colitis-Associated Colon Cancer through Myeloid Cell De-activation Upstream of IL-22 Production. *IScience*, 23(9), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101504>
- Bedini, S., Flamini, G., Cosci, F., Ascrizzi, R., Benelli, G., & Conti, B. (2016). Cannabis sativa and Humulus lupulus essential oils as novel control tools against the invasive mosquito Aedes albopictus and fresh water snail Physella acuta. *Industrial Crops and Products*, 85, 318–323. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.008>
- Bento, A. F., Marcon, R., Dutra, R. C., Claudino, R. F., Cola, M., Leite, D. F. P., & Calixto, J. B. (2011). β -caryophyllene inhibits dextran sulfate sodium-induced colitis in mice through CB2 receptor activation and PPAR γ pathway. *American Journal of Pathology*, 178(3), 1153–1166. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2010.11.052>
- Blankman, J. L., Simon, G. M., & Cravatt, B. F. (2007). A Comprehensive Profile of Brain Enzymes that Hydrolyze the Endocannabinoid 2-Arachidonoylglycerol Jacqueline. 14(12), 1347–1356. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2007.11.006.A>
- Bonini, S. A., Premoli, M., Tambaro, S., Kumar, A., Maccarinelli, G., Memo, M., & Mastinu, A. (2018). Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. *Journal of Ethnopharmacology*, 227(May), 300–315. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.09.004>
- Bonn-Miller, M. O., Pollack, C. V., Casarett, D., Dart, R., Elsohly, M., Good, L., Guzmán, M., Hanuš, L., Hill, K. P., Huestis, M. A., Marsh, E., Sisley, S., Skinner, N., Spahr, J., Vandrey, R., Viscusi, E., Ware, M. A., & Abrams, D. (2019). Priority Considerations for Medicinal Cannabis-Related Research. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 4(3), 139–157. <https://doi.org/10.1089/can.2019.0045>
- Borrelli, F., Fasolino, I., Romano, B., Capasso, R., Maiello, F., Coppola, D.,

- Orlando, P., Battista, G., Pagano, E., Di Marzo, V., & Izzo, A. A. (2013). Beneficial effect of the non-psychotropic plant cannabinoid cannabigerol on experimental inflammatory bowel disease. *Biochemical Pharmacology*, 85(9), 1306–1316. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.01.017>
- Burstein, S. H., McQuain, C. A., Ross, A. H., Salmonsén, R. A., & Zurier, R. E. (2011). Resolution of inflammation by N-arachidonoylglycine. *Journal of Cellular Biochemistry*, 112(11), 3227–3233. <https://doi.org/10.1002/jcb.23245>
- Caterina, M. J., Schumacher, M. A., Tominaga, M., Rosen, T. A., Levine, J. D., & Julius, D. (1997). The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature*, 389(6653), 816–824. <https://doi.org/10.1038/39807>
- Chaplin, D. D. (2006). 1. Overview of the human immune response. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 117(2 SUPPL. 2), 430–435. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.09.034>
- Chen, F., Tholl, D., Bohlmann, J., & Pichersky, E. (2011). The family of terpene synthases in plants: A mid-size family of genes for specialized metabolism that is highly diversified throughout the kingdom. *Plant Journal*, 66(1), 212–229. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04520.x>
- Chiurchiù, V. (2016). Endocannabinoids and Immunity. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 1(1), 59–66. <https://doi.org/10.1089/can.2016.0002>
- Chiurchiu, V., Battistini, L., & Maccarrone, M. (2015). Endocannabinoid signalling in innate and adaptive immunity. *Immunology*, 144(3), 352–364. <https://doi.org/10.1111/imm.12441>
- Chiurchiù, V., Lanuti, M., Catanzaro, G., Fezza, F., Rapino, C., & Maccarrone, M. (2014). Detailed characterization of the endocannabinoid system in human macrophages and foam cells, and anti-inflammatory role of type-2 cannabinoid receptor. *Atherosclerosis*, 233(1), 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.12.042>
- Chiurchiù, V., Lanuti, M., De Bardi, M., Battistini, L., & Maccarrone, M. (2015). The differential characterization of GPR55 receptor in human peripheral blood reveals a distinctive expression in monocytes and NK cells and a proinflammatory role in these innate cells. *International Immunology*, 27(3), 153–160. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxu097>
- Chiurchiù, V., Rapino, C., Talamonti, E., Leuti, A., Lanuti, M., Gueniche, A., Jourdain, R., Breton, L., & Maccarrone, M. (2016). Anandamide Suppresses Proinflammatory T Cell Responses In Vitro through Type-1 Cannabinoid Receptor–Mediated mTOR Inhibition in Human Keratinocytes. *The Journal*

- of *Immunology*, 197(9), 3545–3553.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500546>
- Commins, S. P., Borish, L., & Steinke, J. W. (2010). Immunologic messenger molecules: Cytokines, interferons, and chemokines. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2 SUPPL. 2), S53–S72.
<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.07.008>
- Cox, E., Maharao, N., Patilea-Vrana, G., & Unadkat, J. (2019). A Marijuana-Drug Interaction Primer: Precipitants, Pharmacology, and Pharmacokinetics. *Pharmacology and Therapeutics*, 201, 25–38.
<https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.05.001.A>
- Cravatt, B. F., Demarest, K., Patricelli, M. P., Bracey, M. H., Giang, D. K., Martin, B. R., & Lichtman, A. H. (2001). Supersensitivity to anandamide and enhanced endogenous cannabinoid signaling in mice lacking fatty acid amide hydrolase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(16), 9371–9376.
<https://doi.org/10.1073/pnas.161191698>
- Crowe, M. S., Nass, S. R., Gabella, K. M., & Kinsey, S. G. (2014). Brain , Behavior , and Immunity The endocannabinoid system modulates stress , emotionality , and inflammation. *Brain, Behavior, and Immunity*, 42, 1–5.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.06.007>
- Croxford, J. L., & Yamamura, T. (2005). Cannabinoids and the immune system: Potential for the treatment of inflammatory diseases? *Journal of Neuroimmunology*, 166(1–2), 3–18.
<https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2005.04.023>
- D'Souza, D. C., Perry, E., MacDougall, L., Ammerman, Y., Cooper, T., Wu, Y. Te, Braley, G., Gueorguieva, R., & Krystal, J. H. (2004). The psychotomimetic effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: Implications for psychosis. *Neuropsychopharmacology*, 29(8), 1558–1572. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300496>
- De Petrocellis, L., Ligresti, A., Moriello, A. S., Allarà, M., Bisogno, T., Petrosino, S., Stott, C. G., & Di Marzo, V. (2011). Effects of cannabinoids and cannabinoid-enriched Cannabis extracts on TRP channels and endocannabinoid metabolic enzymes. *British Journal of Pharmacology*, 163(7), 1479–1494. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2010.01166.x>
- Deblon, N., Veyrat-Durebex, C., Bourgoin, L., Caillon, A., Bussier, A. L., Petrosino, S., Piscitelli, F., Legros, J. J., Geenen, V., Foti, M., Wahli, W., Di Marzo, V., & Rohner-Jeanrenaud, F. (2011). Mechanisms of the anti-obesity effects of oxytocin in diet-induced obese rats. *PLoS ONE*, 6(9).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025565>

- Devane, W. (1994). New dawn of cannabinoid pharmacology. *Trends in Pharmacological Sciences*, 15(2), 40–41.
- Di Marzo, V., Bisogno, T., & De Petrocellis, L. (2005). The biosynthesis, fate and pharmacological properties of endocannabinoids. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 168, 147–185. https://doi.org/10.1007/3-540-26573-2_5
- Di Marzo, Vincenzo. (2008). Targeting the endocannabinoid system: To enhance or reduce? *Nature Reviews Drug Discovery*, 7(5), 438–455. <https://doi.org/10.1038/nrd2553>
- Di Marzo, Vincenzo, & Piscitelli, F. (2015). The Endocannabinoid System and its Modulation by Phytocannabinoids. *Neurotherapeutics*, 12(4), 692–698. <https://doi.org/10.1007/s13311-015-0374-6>
- Di Marzo, Vincenzo, Stella, N., & Zimmer, A. (2015). Endocannabinoid signalling and the deteriorating brain. *Nature Reviews Neuroscience*, 16(1), 30–42. <https://doi.org/10.1038/nrn3876>
- Dinis-Oliveira, R. J. (2016). Metabolomics of δ^9 -tetrahydrocannabinol: Implications in toxicity. *Drug Metabolism Reviews*, 48(1), 80–87. <https://doi.org/10.3109/03602532.2015.1137307>
- Dos-Santos-Pereira, M., Guimarães, F. S., Del-Bel, E., Raisman-Vozari, R., & Michel, P. P. (2019). Cannabidiol prevents LPS-induced microglial inflammation by inhibiting ROS/NF- κ B-dependent signaling and glucose consumption. *Glia*, 68(3), 561–573. <https://doi.org/10.1002/glia.23738>
- Downer, E. J. (2020). Anti-inflammatory Potential of Terpenes Present in Cannabis sativa L. *ACS Chemical Neuroscience*, 11(5), 659–662. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00075>
- Du, H., Chen, X., Zhang, J., & Chen, C. (2011). Inhibition of COX-2 expression by endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol is mediated via PPAR- γ . *British Journal of Pharmacology*, 163(7), 1533–1549. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01444.x>
- Du, Y., Ren, P., Wang, Q., Jiang, S. K., Zhang, M., Li, J. Y., Wang, L. L., & Guan, D. W. (2018). Cannabinoid 2 receptor attenuates inflammation during skin wound healing by inhibiting M1 macrophages rather than activating M2 macrophages. *Journal of Inflammation*, 15(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12950-018-0201-z>
- Elbaz, M., Nasser, M. W., Ravi, J., Wani, N. A., Ahirwar, D. K., Zhao, H., Oghumu, S., Satoskar, A. R., Shilo, K., Carson, W. E., & Ganju, R. K. (2015). Modulation of the tumor microenvironment and inhibition of EGF/EGFR pathway: Novel anti-tumor mechanisms of Cannabidiol in

- breast cancer. *Molecular Oncology*, 9(4), 906–919.
<https://doi.org/10.1016/j.molonc.2014.12.010>
- Feng, Z., Alqarni, M. H., Yang, P., Tong, Q., Chowdhury, A., Wang, L., & Xie, X. Q. (2014). Modeling, molecular dynamics simulation, and mutation validation for structure of cannabinoid receptor 2 based on known crystal structures of GPCRs. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54(9), 2483–2499. <https://doi.org/10.1021/ci5002718>
- Fitzpatrick, J. M., Minogue, E., Curham, L., Tyrrell, H., Gavigan, P., Hind, W., & Downer, E. J. (2020). MyD88-dependent and -independent signalling via TLR3 and TLR4 are differentially modulated by Δ 9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol in human macrophages. *Journal of Neuroimmunology*, 343(March), 577217. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2020.577217>
- Fredriksson, R., Lagerström, M. C., Lundin, L. G., & Schiöth, H. B. (2003). The G-protein-coupled receptors in the human genome form five main families. Phylogenetic analysis, paralogon groups, and fingerprints. *Molecular Pharmacology*, 63(6), 1256–1272. <https://doi.org/10.1124/mol.63.6.1256>
- Galiègue, S., Mary, S., Marchand, J., Dussossoy, D., Carrière, D., Carayon, P., Bouaboula, M., Shire, D., LE Fur, G., & Casellas, P. (1995). Expression of Central and Peripheral Cannabinoid Receptors in Human Immune Tissues and Leukocyte Subpopulations. *European Journal of Biochemistry*, 232(1), 54–61. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1995.tb20780.x>
- Gaston, T. E., & Friedman, D. (2016). Pharmacology of cannabinoids in the treatment of epilepsy. *Epilepsy and Behavior*, 70, 313–318.
<https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2016.11.016>
- Geffrey, A. L., Pollack, S. F., Bruno, P. L., & Thiele, E. A. (2015). Drug-drug interaction between clobazam and cannabidiol in children with refractory epilepsy. *Epilepsia*, 56(8), 1246–1251. <https://doi.org/10.1111/epi.13060>
- Gertsch, J., Leonti, M., Raduner, S., Racz, I., Chen, J. Z., Xie, X. Q., Altmann, K. H., Karsak, M., & Zimmer, A. (2008). Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(26), 9099–9104.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0803601105>
- Gonçalves, J., Rosado, T., Soares, S., Simão, A., Caramelo, D., Luís, Â., Fernández, N., Barroso, M., Gallardo, E., & Duarte, A. (2019). Cannabis and Its Secondary Metabolites: Their Use as Therapeutic Drugs, Toxicological Aspects, and Analytical Determination. *Medicines*, 6(1), 31.
<https://doi.org/10.3390/medicines6010031>
- Granja, A. G., Carrillo-Salinas, F., Pagani, A., Gómez-Cañas, M., Negri, R.,

- Navarrete, C., Mecha, M., Mestre, L., Fiebich, B. L., Cantarero, I., Calzado, M. A., Bellido, M. L., Fernandez-Ruiz, J., Appendino, G., Guaza, C., & Muñoz, E. (2012). A cannabigerol quinone alleviates neuroinflammation in a chronic model of multiple sclerosis. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 7(4), 1002–1016. <https://doi.org/10.1007/s11481-012-9399-3>
- Grazia, M., & Marini, P. (2015). Biosynthesis and Fate of Endocannabinoids. In *Handbook of Experimental Pharmacology 231 Endocannabinoids* (pp. 1–472). <https://doi.org/10.1007/978-3-319-20825-1>
- Grotenhermen, F. (2017). Molecular Pharmacology of Phytocannabinoids. In *Handbuch Psychoaktive Substanzen*. https://doi.org/10.1007/978-3-642-55125-3_40
- Gu, Z., Singh, S., Niyogi, R. G., Lamont, G. J., Wang, H., Lamont, R. J., & Scott, D. A. (2019). Marijuana-Derived Cannabinoids Trigger a CB2/PI3K Axis of Suppression of the Innate Response to Oral Pathogens. *Frontiers in Immunology*, 10, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02288>
- Guerrero-Alba, R., Barragán-Iglesias, P., González-Hernández, A., Valdez-Morales, E. E., Granados-Soto, V., Condés-Lara, M., Rodríguez, M. G., & Marichal-Cancino, B. A. (2019). Some prospective alternatives for treating pain: The endocannabinoid system and its putative receptors GPR18 and GPR55. *Frontiers in Pharmacology*, 9(1496), 1–20. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01496>
- Guindon, J., & Hohmann, A. (2012). The Endocannabinoid System and Pain. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 8(6), 403–421. <https://doi.org/10.2174/187152709789824660>
- Guo, K., Mou, X., Huang, J., Xiong, N., & Li, H. (2014). Trans-caryophyllene suppresses hypoxia-induced neuroinflammatory responses by inhibiting NF- κ B activation in microglia. *Journal of Molecular Neuroscience*, 54(1), 41–48. <https://doi.org/10.1007/s12031-014-0243-5>
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314–321. <https://doi.org/10.1038/nature07039>
- Hassan, S., Eldeeb, K., Millns, P. J., Bennett, A. J., Alexander, S. P. H., & Kendall, D. A. (2014). Cannabidiol enhances microglial phagocytosis via transient receptor potential (TRP) channel activation. *British Journal of Pharmacology*, 171(9), 2426–2439. <https://doi.org/10.1111/bph.12615>
- Hind, W. H., England, T. J., & O'Sullivan, S. E. (2016). Cannabidiol protects an in vitro model of the blood-brain barrier from oxygen-glucose deprivation via

- PPAR γ and 5-HT_{1A} receptors. *British Journal of Pharmacology*, 173(5), 815–825. <https://doi.org/10.1111/bph.13368>
- Horváth, B., Mukhopadhyay, P., Kechrid, M., Patel, V., Tanchian, G., Wink, D. A., Gertsch, J., & Pacher, P. (2012). B-Caryophyllene Ameliorates Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in a Cannabinoid 2 Receptor-Dependent Manner. *Free Radical Biology and Medicine*, 52(8), 1325–1333. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.01.014>
- Huestis, M. A. (2007). Human cannabinoid pharmacokinetics. *Chemistry and Biodiversity*, 4(8), 1770–1804. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200790152>
- Iannotti, F. A., Di Marzo, V., & Petrosino, S. (2016). Endocannabinoids and endocannabinoid-related mediators: Targets, metabolism and role in neurological disorders. *Progress in Lipid Research*, 62, 107–128. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2016.02.002>
- Irving, A., Abdulrazzaq, G., Chan, S. L. F., Penman, J., Harvey, J., & Alexander, S. P. H. (2017). Cannabinoid Receptor-Related Orphan G Protein-Coupled Receptors. In *Advances in Pharmacology* (1st ed., Vol. 80). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.04.004>
- Jackson, B., Cleto, E., Jeimy, S., & Jeimy, S. (2020). An emerging allergen: Cannabis sativa allergy in a climate of recent legalization. *Allergy, Asthma and Clinical Immunology*, 16(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s13223-020-00447-9>
- Javed, H., Azimullah, S., Haque, M. E., & Ojha, S. K. (2016). Cannabinoid type 2 (CB₂) receptors activation protects against oxidative stress and neuroinflammation associated dopaminergic neurodegeneration in rotenone model of parkinson's disease. *Frontiers in Neuroscience*, 10, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00321>
- Joffre, J., Yeh, C.-C., Wong, E., Thete, M., Xu, F., Zlatanova, I., Lloyd, E., Kobzik, L., Legrand, M., & Hellman, J. (2020). Activation of CB₁ R Promotes Lipopolysaccharide-Induced IL-10 Secretion by Monocytic Myeloid-Derived Suppressive Cells and Reduces Acute Inflammation and Organ Injury. *The Journal of Immunology*, 204(12), 3339–3350. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.2000213>
- Juknat, A., Gao, F., Coppola, G., Vogel, Z., & Kozela, E. (2019). MiRNA expression profiles and molecular networks in resting and LPS-activated BV-2 microglia-Effect of cannabinoids. *PLoS ONE*, 14(2), 1–25. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.021203>
- Karmaus, P. W. F., Chen, W., Crawford, R., Kaplan, B. L. F., & Kaminski, N. E. (2013). δ 9-tetrahydrocannabinol impairs the inflammatory response to

influenza infection: Role of antigen-presenting cells and the cannabinoid receptors 1 and 2. *Toxicological Sciences*, 131(2), 419–433.
<https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs315>

- Köse, S., Aerts-Kaya, F., Köprü, Ç. Z., Nemutlu, E., Kuşkonmaz, B., Karaosmanoğlu, B., Taşkiran, E. Z., Altun, B., Uçkan Çetinkaya, D., & Korkusuz, P. (2018). Human bone marrow mesenchymal stem cells secrete endocannabinoids that stimulate in vitro hematopoietic stem cell migration effectively comparable to beta-adrenergic stimulation. *Experimental Hematology*, 57, 30-41.e1. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2017.09.009>
- Kozioł, A., Stryjewska, A., Librowski, T., Salat, K., Gawel, M., Moniczewski, A., & Lochynski, S. (2014). An Overview of the Pharmacological Properties and Potential Applications of Natural Monoterpenes. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 14(14), 1156–1168.
<https://doi.org/10.2174/1389557514666141127145820>
- Kumar, V., Abbas, A., & Aster, J. (2020). Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. In *15th june 2020* (10th ed.).
<https://doi.org/10.37573/9781585283934.004>
- Landmark, C. J., & Brandl, U. (2020). Pharmacology and drug interactions of cannabinoids. *Epileptic Disorders*, 22(S1), S16–S22.
<https://doi.org/10.1684/epd.2019.1123>
- Ligresti, A., De Petrocellis, L., & Di Marzo, V. (2016). From phytocannabinoids to cannabinoid receptors and endocannabinoids: Pleiotropic physiological and pathological roles through complex pharmacology. *Physiological Reviews*, 96(4), 1593–1659. <https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2016>
- Lu, H., & Mackie, ken. (2016). An introduction to the endogenous cannabinoid system. *Biological Psychiatry*, 79(7), 516–525.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.07.028>
- Lucas, C. J., Galettis, P., & Schneider, J. (2018). The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 84(11), 2477–2482. <https://doi.org/10.1111/bcp.13710>
- Mackie, K. (2005). Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 168, 299–325. https://doi.org/10.1007/3-540-26573-2_10
- Maeda, H., Yamazaki, M., & Katagata, Y. (2013). Kuromoji (lindera umbellata) essential oil inhibits LPS-induced inflammation in raw 264.7 cells. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 77(3), 482–486.
<https://doi.org/10.1271/bbb.120692>
- Maestroni, G. J. M. (2004). The endogenous cannabinoid 2-arachidonoyl

- glycerol as in vivo chemoattractant for dendritic cells and adjuvant for Th1 response to a soluble protein. *The FASEB Journal*, 18(15), 1914–1916. <https://doi.org/10.1096/fj.04-2190fje>
- Massi, P., Vaccani, A., & Parolaro, D. (2007). Cannabinoids, Immune System and Cytokine Network. *Current Pharmaceutical Design*, 12(24), 3135–3146. <https://doi.org/10.2174/138161206777947425>
- Matos, I., Bento, A. F., Marcon, R., Claudino, R. F., & Calixto, J. B. (2013). Preventive and therapeutic oral administration of the pentacyclic triterpene α,β -amyrin ameliorates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice: The relevance of cannabinoid system. *Molecular Immunology*, 54(3–4), 482–492. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2013.01.018>
- McHugh, D., Hu, S. S. J., Rimmerman, N., Juknat, A., Vogel, Z., Walker, J. M., & Bradshaw, H. B. (2010). N-arachidonoyl glycine, an abundant endogenous lipid, potently drives directed cellular migration through GPR18, the putative abnormal cannabidiol receptor. *BMC Neuroscience*, 11(44), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-11-44>
- Mirza, A. Z., Althagafi, I. I., & Shamshad, H. (2019). Role of PPAR receptor in different diseases and their ligands: Physiological importance and clinical implications. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 166, 502–513. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.01.067>
- Monet, M., Gkika, D., Lehen'kyi, V., Pourtier, A., Abeele, F. Vanden, Bidaux, G., Juvin, V., Rassendren, F., Humez, S., & Prevarsakaya, N. (2009). Lysophospholipids stimulate prostate cancer cell migration via TRPV2 channel activation. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1793(3), 528–539. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2009.01.003>
- Montecucco, F., & Di Marzo, V. (2012). At the heart of the matter: The endocannabinoid system in cardiovascular function and dysfunction. *Trends in Pharmacological Sciences*, 33(6), 331–340. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2012.03.002>
- Morales, P., Hurst, D. P., & Reggio, P. H. (2017). Molecular Targets of the Phytocannabinoids-A Complex Picture. In *Progress in the chemistry of organic natural products*. https://doi.org/10.1007/978-3-642-55214-4_40-1
- Morales, P., & Jagerovic, N. (2016). Advances Towards The Discovery of GPR55 Ligands. *Current Medicinal Chemistry*, 23(20), 2087–2100. <https://doi.org/10.2174/0929867323666160425113836>
- Morales, P., & Jagerovic, N. (2020). Novel approaches and current challenges with targeting the endocannabinoid system. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 15(8), 917–930. <https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1752178>

- Morales, P., & Reggio, P. H. (2017). An Update on Non-CB 1 , Non-CB 2 Cannabinoid Related G-Protein-Coupled Receptors . *Cannabis and Cannabinoid Research*, 2(1), 265–273.
<https://doi.org/10.1089/can.2017.0036>
- Muller, C., Morales, P., & Reggio, P. H. (2019). Cannabinoid ligands targeting TRP channels. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11, 1–15.
<https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00487>
- Murray, P. J. (2017). Macrophage Polarization. *Annual Review of Physiology*, 79, 541–566. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-022516-034339>
- Nichols, J. M., & Kaplan, B. L. F. (2020). Immune Responses Regulated by Cannabidiol. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 5(1), 12–31.
<https://doi.org/10.1089/can.2018.0073>
- Nuutinen, T. (2018). Medicinal properties of terpenes found in Cannabis sativa and Humulus lupulus. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 157, 198–228. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.076>
- O’Sullivan, S. E. (2016). An update on PPAR activation by cannabinoids. *British Journal of Pharmacology*, 173(12), 1899–1910.
<https://doi.org/10.1111/bph.13497>
- Oishi, Y., & Manabe, I. (2018). Macrophages in inflammation, repair and regeneration. *International Immunology*, 30(11), 511–528.
<https://doi.org/10.1093/intimm/dxy054>
- Paduch, R., Kandefer-Szerszeń, M., Trytek, M., & Fiedurek, J. (2007). Terpenes: Substances useful in human healthcare. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 55(5), 315–327.
<https://doi.org/10.1007/s00005-007-0039-1>
- Palomares, B., Ruiz-Pino, F., Garrido-Rodriguez, M., Eugenia Prados, M., Sánchez-Garrido, M. A., Velasco, I., Vazquez, M. J., Nadal, X., Ferreiro-Vera, C., Morrugares, R., Appendino, G., Calzado, M. A., Tena-Sempere, M., & Muñoz, E. (2020). Tetrahydrocannabinolic acid A (THCA-A) reduces adiposity and prevents metabolic disease caused by diet-induced obesity. *Biochemical Pharmacology*, 171(November 2019), 113693.
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2019.113693>
- Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Pellati, F., Borgonetti, V., Brighenti, V., Biagi, M., Benvenuti, S., & Corsi, L. (2018). Cannabis sativa L. and Nonpsychoactive Cannabinoids: Their Chemistry and Role against Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer. *BioMed Research International*, 2018.

<https://doi.org/10.1155/2018/1691428>

- Persidsky, Y., Fan, S., Dykstra, H., Reichenbach, N. L., Rom, S., & Ramirez, S. H. (2015). Activation of Cannabinoid Type Two Receptors (CB2) Diminish Inflammatory Responses in Macrophages and Brain Endothelium. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 10(2), 302–308. <https://doi.org/10.1007/s11481-015-9591-3>
- Pertwee, R. G., Howlett, A. C., Abood, M. E., Alexander, S. P. H., Di Marzo, V., Elphick, M. R., Greasley, P. J., Hansen, H. S., Kunos, G., Mackie, K., Mechoulam, R., & Ross, R. A. (2010). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: Beyond CB1 and CB2. *Pharmacological Reviews*, 62(4), 588–631. <https://doi.org/10.1124/pr.110.003004>
- Pirault, J., & Bäck, M. (2018). Lipoxin and resolvins receptors transducing the resolution of inflammation in cardiovascular disease. *Frontiers in Pharmacology*, 9(1273), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01273>
- Pollastro, F., Minassi, A., & Fresu, L. G. (2017). Cannabis Phenolics and their Bioactivities. *Current Medicinal Chemistry*, 25(10), 1160–1185. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170810164636>
- Prame Kumar, K., Nicholls, A. J., & Wong, C. H. Y. (2018). Partners in crime: neutrophils and monocytes/macrophages in inflammation and disease. In *Cell and Tissue Research* (Vol. 371, Issue 3, pp. 551–565). Cell and Tissue Research. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2753-2>
- Prospéro-García, O., Ruiz Contreras, A. E., Ortega Gómez, A., Herrera-Solís, A., & Méndez-Díaz, M. (2019). Endocannabinoids as Therapeutic Targets. *Archives of Medical Research*, 50(8), 518–526. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2019.09.005>
- Qian, Y., Gurley, B. J., & Markowitz, J. S. (2019). The Potential for Pharmacokinetic Interactions between Cannabis Products and Conventional Medications. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 39(5), 462–471. <https://doi.org/10.1097/JCP.0000000000001089>
- Qureshi, A. A., Tan, X., Reis, J. C., Badr, M. Z., Papasian, C. J., Morrison, D. C., & Qureshi, N. (2011). Inhibition of nitric oxide in LPS-stimulated macrophages of young and senescent mice by δ -tocotrienol and quercetin. *Lipids in Health and Disease*, 10(1), 239. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-239>
- Raborn, E. S., Jamerson, M., Marciano-Cabral, F., & Cabral, G. A. (2014). Cannabinoid inhibits HIV-1 Tat-stimulated adhesion of human monocyte-like cells to extracellular matrix proteins. *Life Sciences*, 104, 15–23.

<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2014.04.008>

- Rajan, T. S., Giacoppo, S., Iori, R., De Nicola, G. R., Grassi, G., Pollastro, F., Bramanti, P., & Mazzon, E. (2016). Anti-inflammatory and antioxidant effects of a combination of cannabidiol and moringin in LPS-stimulated macrophages. *Fitoterapia*, 112, 104–115. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.05.008>
- Rea, K. A., Casaretto, J. A., Al-Abdul-Wahid, M. S., Sukumaran, A., Geddes-McAlister, J., Rothstein, S. J., & Akhtar, T. A. (2019). Biosynthesis of cannflavins A and B from *Cannabis sativa* L. *Phytochemistry*, 164(July 2018), 162–171. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.05.009>
- Romano, B., Borrelli, F., Fasolino, I., Capasso, R., Piscitelli, F., Cascio, M. G., Pertwee, R. G., Coppola, D., Vassallo, L., Orlando, P., Di Marzo, V., & Izzo, A. A. (2013). The cannabinoid TRPA1 agonist cannabichromene inhibits nitric oxide production in macrophages and ameliorates murine colitis. *British Journal of Pharmacology*, 169(1), 213–229. <https://doi.org/10.1111/bph.12120>
- Rouzer, C. A., & Marnett, L. J. (2008). Non-redundant functions of cyclooxygenases: Oxygenation of endocannabinoids. *Journal of Biological Chemistry*, 283(13), 8065–8069. <https://doi.org/10.1074/jbc.R800005200>
- Ryberg, E., Larsson, N., Sjögren, S., Hjorth, S., Hermansson, N. O., Leonova, J., Elebring, T., Nilsson, K., Drmota, T., & Greasley, P. J. (2007). The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *British Journal of Pharmacology*, 152(7), 1092–1101. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707460>
- Sido, J. M., Nagarkatti, P. S., & Nagarkatti, M. (2016). Production of endocannabinoids by activated T cells and B cells modulates inflammation associated with delayed type hypersensitivity Jessica. *European Journal of Immunology*, 46(6), 1472–1479. <https://doi.org/10.1002/eji.201546181>.Production
- Solymosi, K., & Köfalvi, A. (2017). Cannabis: A Treasure Trove or Pandora's Box? *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 7(13), 1223–1291.
- Sonego, A. B., Prado, D. S., Vale, G. T., Sepulveda-Diaz, J. E., Cunha, T. M., Tirapelli, C. R., Del Bel, E. A., Raisman-Vozari, R., & Guimarães, F. S. (2018). Cannabidiol prevents haloperidol-induced vacuolar chewing movements and inflammatory changes in mice via PPAR γ receptors. *Brain, Behavior, and Immunity*, 74, 241–251. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.09.014>
- Stott, C., White, L., Wright, S., Wilbraham, D., & Guy, G. (2013). A phase I, open-label, randomized, crossover study in three parallel groups to evaluate

- the effect of rifampicin, ketoconazole, and omeprazole on the pharmacokinetics of THC/CBD oromucosal spray in healthy volunteers. *SpringerPlus*, 2(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-236>
- Tanaka, S., Ishii, K., Kasai, K., Sung, O. Y., & Saeki, Y. (2007). Neural expression of G protein-coupled receptors GPR3, GPR6, and GPR12 up-regulates cyclic AMP levels and promotes neurite outgrowth. *Journal of Biological Chemistry*, 282(14), 10506–10515. <https://doi.org/10.1074/jbc.M700911200>
- Tanasescu, R., & Constantinescu, C. S. (2010). Cannabinoids and the immune system: An overview. *Immunobiology*, 215(8), 588–597. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2009.12.005>
- Tham, M., Yilmaz, O., Alaverdashvili, M., Kelly, M. E. M., Denovan-Wright, E. M., & Laprairie, R. B. (2019). Allosteric and orthosteric pharmacology of cannabidiol and cannabidiol-dimethylheptyl at the type 1 and type 2 cannabinoid receptors. *British Journal of Pharmacology*, 176(10), 1455–1469. <https://doi.org/10.1111/bph.14440>
- Tóth, A., Boczán, J., Kedei, N., Lizanecz, E., Bagi, Z., Papp, Z., Édes, I., Csiba, L., & Blumberg, P. M. (2005). Expression and distribution of vanilloid receptor 1 (TRPV1) in the adult rat brain. *Molecular Brain Research*, 135(1–2), 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.molbrainres.2004.12.003>
- Towfighi, A., & Ovbiagele, B. (2008). Partial peroxisome proliferator-activated receptor agonist angiotensin receptor blockers: Potential multipronged strategy in stroke prevention. *Cerebrovascular Diseases*, 26(2), 106–112. <https://doi.org/10.1159/000139656>
- Tudurí, E., Imbernon, M., Hernández-Bautista, R. J., Tojo, M., Fernø, J., Diéguez, C., & Nogueiras, R. (2017). Gpr55: A new promising target for metabolism? *Journal of Molecular Endocrinology*, 58(3), R191–R202. <https://doi.org/10.1530/JME-16-0253>
- Turcotte, C., Chouinard, F., Lefebvre, J. S., & Flamand, N. (2015). Regulation of inflammation by cannabinoids, the endocannabinoids 2-arachidonoyl-glycerol and arachidonoyl-ethanolamide, and their metabolites. *Journal of Leukocyte Biology*, 97(6), 1049–1070. <https://doi.org/10.1189/jlb.3ru0115-021r>
- Varga, Z. V., Matyas, C., Erdelyi, K., Cinar, R., Nieri, D., Chicca, A., Nemeth, B. T., Paloczi, J., Lajtos, T., Corey, L., Hasko, G., Gao, B., Kunos, G., Gertsch, J., & Pacher, P. (2018). β -Caryophyllene protects against alcoholic steatohepatitis by attenuating inflammation and metabolic dysregulation in mice. *British Journal of Pharmacology*, 175(2), 320–334. <https://doi.org/10.1111/bph.13722>

- Wang, Y., Smith, W., Hao, D., He, B., & Kong, L. (2019). M1 and M2 macrophage polarization and potentially therapeutic naturally occurring compounds. *International Immunopharmacology*, 70(January), 459–466. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.02.050>
- Williams, J. C., Appelberg, S., Goldberger, B. A., Klein, T. W., Sleasman, J. W., & Goodenow, M. M. (2014). Δ^9 -tetrahydrocannabinol treatment during human monocyte differentiation reduces macrophage susceptibility to HIV-1 infection. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 9(3), 369–379. <https://doi.org/10.1007/s11481-014-9527-3>
- Woodward, D. F., Liang, Y., & Krauss, A. H. P. (2008). Prostaglandins (prostaglandin-ethanolamides) and their pharmacology. *British Journal of Pharmacology*, 153(3), 410–419. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707434>
- Wu, Q., Ma, Y., Liu, Y., Wang, N., Zhao, X., & Wen, D. (2020). CB2R agonist JWH-133 attenuates chronic inflammation by restraining M1 macrophage polarization via Nrf2/HO-1 pathway in diet-induced obese mice. *Life Sciences*, 260(77), 118424. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118424>
- Xie, J., Xiao, D., Xu, Y., Zhao, J., Jiang, L., Hu, X., Zhang, Y., & Yu, L. (2016). Up-regulation of immunomodulatory effects of mouse bone-marrow derived mesenchymal stem cells by tetrahydrocannabinol pre-treatment involving cannabinoid receptor CB2. *Oncotarget*, 7(6), 6436–6447. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7042>
- Xu, N., Zhang, L., Dong, J., Zhang, X., Chen, Y. G., Bao, B., & Liu, J. (2014). Low-dose diet supplement of a natural flavonoid, luteolin, ameliorates diet-induced obesity and insulin resistance in mice. *Molecular Nutrition and Food Research*, 58(6), 1258–1268. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300830>
- Yang, K. H. S., Isaev, D., Morales, M., Petroianu, G., Galadari, S., & Oz, M. (2010). The effect of δ^9 -tetrahydrocannabinol on 5-HT₃ receptors depends on the current density. *Neuroscience*, 171(1), 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.08.044>
- Yates, M. L., & Barker, E. L. (2009). Inactivation and biotransformation of the endogenous cannabinoids anandamide and 2-arachidonoylglycerol. *Molecular Pharmacology*, 76(1), 11–17. <https://doi.org/10.1124/mol.109.055251>
- Ye, L., Cao, Z., Wang, W., & Zhou, N. (2019). New Insights in Cannabinoid Receptor Structure and Signaling. *Current Molecular Pharmacology*, 12(3), 239–248. <https://doi.org/10.2174/1874467212666190215112036>
- Yoshida, H., Watanabe, W., Oomagari, H., Tsuruta, E., Shida, M., & Kurokawa, M. (2013). Citrus flavonoid naringenin inhibits TLR2 expression in

- adipocytes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(7), 1276–1284.
<https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.10.003>
- Zhang, Z., Yang, C., Dai, X., Ao, Y., & Li, Y. (2017). Inhibitory effect of trans-caryophyllene (TC) on leukocyte-endothelial attachment. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 329, 326–333.
<https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.06.016>
- Zhornitsky, S., & Potvin, S. (2012). Cannabidiol in humans-The quest for therapeutic targets. *Pharmaceuticals*, 5(5), 529–552.
<https://doi.org/10.3390/ph5050529>
- Zou, S., & Kumar, U. (2018). Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: Signaling and function in the central nervous system. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3). <https://doi.org/10.3390/ijms19030833>
- Zumbrun, E. E., Sido, J. M., Nagarkatti, P. S., & Nagarkatti, M. (2015). Epigenetic Regulation of Immunological Alterations Following Prenatal Exposure to Marijuana Cannabinoids and its Long Term Consequences in Offspring. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 10(2), 245–254.
<https://doi.org/10.1007/s11481-015-9586-0>