

Efecto de Cannabinoides en la glándula parótida

LUCILA BUSCH

Cátedra de Farmacología.
Facultad de Odontología. Universidad de Buenos Aires

GENERALIDADES

Los cannabinoides son compuestos naturales derivados de la planta *Cannabis sativa*. Desde hace 5000 años se conocen sus propiedades medicinales y su uso potencial en terapéutica como analgésicos, antieméticos, antireumáticos, antipiréticos, relajantes bronquiales y relajantes del tracto intestinal¹. Los derivados sintéticos nabilone y Δ^9 -tetrahidrocannabinol se usan en clínica para aliviar las náuseas y los vómitos provocados por las drogas anticancerosas². La legislación reciente de varios estados de Estados Unidos de América legalizó el uso médico de la marihuana como tal (es decir, hierba) para estimular el apetito en pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida con síndrome de emaciación³.

Por otro lado los cannabinoides pertenecen al grupo de drogas de abuso con efectos alucinógenos. Se los conoce como marihuana, cáñamo indiano, hachis, guaja, guaza, pango, diamba. La *Cannabis sativa* crece prácticamente en todo el mundo, pero el contenido de alucinógeno varía según la región de cultivo. Las partes usadas son las terminaciones florales y las hojas. La extracción de la resina produce el hachis, con mayor actividad. La marihuana es la droga más frecuentemente utilizada por los adolescentes en el periodo de iniciación en el consumo de drogas. Se estima que cerca de 200 a 300 millones de personas usan *cannabis* en alguna forma³.

Se identificaron tres cannabinoides importantes en la *cannabis*: el canabidiol (CBD), D^9 -tetrahidrocannabinol (THC) y el canabinol (CBN). La vía sintética comienza con el CBD, procede a THC y finaliza con CBN, de manera que puede deducirse la edad de la planta a partir de las proporciones de estos cannabinoides en el material vegetal. La vía de administración preferida en los países occidentales es fumarla. La alta liposolubilidad de la THC facilita que se atrape en el revestimiento surfactante de los pulmones. Estudios farmacocinéticos indican que fumarla es casi equivalente a la administra-

ción endovenosa, excepto que se obtienen concentraciones plasmáticas máximas más bajas de THC. También se preparan maceraciones para uso oral que se usan con frecuencia mezcladas con otras bebidas³.

Los dos signos característicos de la intoxicación con *cannabis* son el aumento de la frecuencia de pulso y el enrojecimiento de las conjuntivas. Esta última se correlaciona bien con la presencia de concentraciones plasmáticas de droga detectables³.

La tolerancia a los cannabinoides se observó en casi todas las especies animales que se analizaron. En los seres humanos sólo se manifiesta entre usuarios inveterados crónicos. Aparecen diferentes grados de tolerancia para diversos efectos de la droga. La tolerancia al efecto que genera taquicardia sobreviene con bastante rapidez. Se observa un leve síndrome de supresión después de dosis muy altas³.

La certeza que las drogas cannabinomiméticas ejercen sus efectos a través de la unión a receptores selectivos de membrana y el hecho que en tejidos animales se encontraran sustancias con acción cannabinomimética con estructura química diferente a la de las plantas, avalan la existencia de un sistema de cannabinoides endógeno. Durante la actividad neuronal se liberan sustancias con propiedades cannabinomiméticas que son eliminadas por mecanismos paralelos pero distintos de los utilizados para eliminar los neurotransmisores esterificados⁴.

Los dos cannabinoides endógenos identificados, araquidoniletanolamida (anandamide) y 2-araquidonilglicerol (2-AG) son derivados químicos del ácido graso no saturado, ácido araquidónico. Estos compuestos tienen una semejanza estructural con los eicosanoides, una clase ubicua de lípidos bioactivos producidos por la oxigenación enzimática del ácido araquidónico no esterificado. A pesar del origen común, el anandamide y el 2-AG constituyen un grupo aparte de los eicosanoides debido a su diferente mecanismo de síntesis que no parece involucrar la liberación seguida del metabolismo oxidativo del araquidonato⁴.

El anandamide puede sintetizarse a través de una reacción de condensación entre el araquidonato no esterificado y la etanolamina por acción reversa de la enzima amidohidrolasa o derivar del clivaje de un fosfolípido precursor, N-araquidonil fosfatidiletanolamina, catalizado por la acción de una fosfodiesterasa, como la fosfolipasa D. El 2-AG puede provenir del 1,2-diacilglicerol a través de la acción de una lipasa o de la hidrólisis de un lisofosfolípido generado por la fosfolipasa A₁. Ambas drogas se producen y liberan a demanda sin que medie almacenamiento previo en vesículas⁴.

El anandamide pierde su actividad biológica a través de la hidrólisis a ácido araquidónico y etanolamina. Esta reacción es catalizada por la enzima amidohidrolasa que se encuentra en cerebro y en varios tejidos periféricos como hígado, intestino, estómago, glándula parótida, glándula submandibular, pulmón, riñón, ojo, testículos. La presencia de la enzima amidohidrolasa, que participa tanto en la síntesis como en la degradación del anandamide, fuera del sistema nervioso central está relacionada con los efectos observados con los cannabinoides en tejidos periféricos⁵.

A pesar que los efectos psicoactivos y medicinales de la marihuana se conocen desde hace tanto tiempo, recién en la última década se conoció su mecanismo de acción. Muchos de los efectos de los cannabinoides son mediados por receptores presentes en el sistema nervioso central así como en tejidos periféricos neuronales y no neuronales. Se identificaron dos tipos de receptores cannabinoides denominados CB₁ y CB₂. A pesar de la gran homología en su secuencia de aminoácidos, presentan algunas diferencias en sus propiedades farmacológicas y bioquímicas. El subtipo de receptor CB₁ se encuentra principalmente distribuido en el sistema nervioso central y mucho menos en los tejidos periféricos. El subtipo de receptor CB₂ está expresado predominantemente en el sistema inmune, incluyendo el bazo y los macrófagos. Esta localización se asocia con la función inmunomoduladora de los cannabinoides. La distribución diferente de los subtipos de receptores cannabinoides sugiere que tienen diferente participación en la mediación de los efectos⁶.

Ambos tipos de receptores son miembros de la super familia de receptores acoplados a la proteína G. Uno de sus efectos es inhibir a la adenilato ciclasa en distintos sistemas provocando una disminución en los niveles de AMP cíclico⁷. Otros estudios demuestran, sin embargo, que los cannabinoides son capaces de producir un aumento del AMP cíclico en varios tejidos⁸. Otros efectos de los cannabinoides se relacionan con la modulación de los canales de calcio⁹ y de potasio¹⁰.

A los síntomas y efectos psíquicos de los cannabinoides se los conoce como "embriaguez cannábica". De manera esquemática es posible distinguir tres fases:

Primera fase (euforia): Comienza con una sensación de bienestar físico y psíquico; en esta fase la capacidad de juicio se conserva relativamente intacta, el intoxicado es todavía espectador consciente de la progresiva perturbación de sus movimientos y el incremento de la captación de sensaciones. El menor ruido adquiere enorme resonancia y los colores se perciben en tonos brillantes.

Segunda fase (errores): El intoxicado ve los objetos reales deformados, los contornos rectos se vuelven sinuosos. Se observa ansiedad y reacciones de pánico, especialmente en los debutantes. Le siguen las alucinaciones, desorientación y despersonalización.

Tercera fase: Caracterizada por somnolencia y posterior sueño del que el intoxicado se despierta con una sensación de debilidad acompañada de depresión.

EFFECTOS DE CANNABINOIDES EN GLÁNDULA PARÓTIDA

Los cannabinoides no solo producen efectos en sistema nervioso central sino que también sus acciones se manifiestan en tejidos periféricos.

La síntesis de anandamide fue demostrada en células endoteliales¹¹ y el receptor cannabinoide CB₁ se expresa tanto en células endoteliales como en el músculo liso vascular¹². Es posible que, en condiciones fisiológicas, los cannabinoides endógenos como el anandamide modulen el tono arterial estimulando a las células endoteliales a liberar sustancias vasodilatadoras o actuando directamente sobre el músculo liso vascular¹³.

En el plexo mesentérico se encuentran receptores cannabinoides presinápticos del subtipo CB₁¹⁴. Su activación inhibe la liberación de acetilcolina¹⁵ y la respuesta contráctil no-adrenérgica no-colinérgica (NANC)¹⁶. Por otro lado se demostró la síntesis de anandamide en el mesenterio aislado perfundido¹⁷. Esto sugiere que la activación endógena de los receptores CB₁ podría modular en forma negativa la defecación, la acumulación de fluido y la motilidad intestinal¹⁸.

Ambos subtipos de receptores cannabinoides, CB₁ y CB₂, se expresan en la aurícula. Su activación está ligada a la producción de óxido nítrico con la consiguiente acumulación de GMP cíclico que constituye el mediador final en la protección del miocardio en condiciones patológicas. Este sería el mecanismo por el cual los cannabinoides protegen el sistema cardiovascular, particularmente en pre-acondicionamiento, shock e isquemia¹⁹.

En la boca, los derivados del *cannabis*, pueden producir, al igual que el tabaco, hiperqueratosis, leucoplasias,

tinciones dentarias, sequedad bucal e infecciones dentarias y predisposición a neoplasias bucales malignas²⁰.

La función de las glándulas salivales depende de muchos factores como la dieta, tratamiento con rayos, medicamentos, enfermedades virales o genéticas²¹. El sistema simpático y parasimpático son los principales reguladores de la función glandular. La estimulación simpática produce una saliva rica en proteínas mientras que la estimulación parasimpática induce la secreción de saliva acuosa con baja concentración de proteínas. Estos sistemas actúan en colaboración con otros transmisores como la histamina²², el óxido nítrico²³, la sustancia P²⁴, el péptido intestinal vasoactivo (VIP)²⁵ y las prostaglandinas²⁶. Inclusive estudios realizados en la década del 70 demostraron la influencia de los cannabinoides en la fisiología de las glándulas salivales^{27,28}. Sin embargo, el mecanismo por el cual los cannabinoides ejercían sus efectos en las glándulas salivales no se conocían.

Recientemente nosotros demostramos la expresión del receptor cannabinoide CB₁ en la glándula parótida de la rata. Es sabido que los receptores cannabinoides están acoplados a proteína G y pueden inducir tanto una acumulación como una inhibición de AMP cíclico^{7,8}. En la glándula parótida el sistema de adenilato ciclasa AMP cíclico representa la vía más importante que liga la activación del receptor b-adrenérgico con la secreción de amilasa²⁹. Por otro lado, entre los mecanismos de secreción salival, la enzima Na⁺-K⁺-ATPasa presente tanto en los acinos como en los conductos^{30,31}, regula los movimientos de agua a través de inducir los movimientos iónicos³². La actividad de la enzima Na⁺-K⁺-ATPasa es modulada por los niveles de AMP cíclico³³.

En nuestros estudios en glándula parótida, el cannabinoide endógeno anandamide provocó la acumulación de AMP cíclico. Comprobamos que su efecto fue a través del receptor CB₁ porque fue inhibido por el antagonista selectivo de dicho receptor, AM281, y no fue modificado por el AM630, antagonista selectivo del subtipo de receptor CB₂.

En la glándula parótida el anandamide indujo secreción de amilasa. En este efecto, además del AMP cíclico, participó el calcio ya que el efecto secretor del anandamide disminuyó al bloquear los canales de calcio voltaje dependientes. La interacción entre el AMP cíclico y el calcio en los fenómenos secretores de la glándula parótida ya fueron descritos³⁴, inclusive se sugirió que la movilización del calcio es producida por el propio AMP cíclico³⁵. Teniendo en cuenta que el anandamide es capaz de movilizar calcio a través de la activación del receptor CB₁¹³ y que los cannabinoides inducen la entrada de calcio³⁶, podemos decir que en la glándula parótida el anandamide provoca un aumento de AMP cíclico y entrada de calcio y que ambos mensajeros participan en la secreción de amilasa.

La actividad de la enzima Na⁺-K⁺-ATPasa fue inhibida por el anandamide. En este efecto fue evidente la participación del AMP cíclico porque disminuyó en presencia de un inhibidor de la enzima adenilato ciclasa. La modulación de la enzima por el AMP cíclico es específica del tejido donde se encuentre la bomba, y su actividad puede ser aumentada o disminuida³³. En este caso la parótida se comportó como los acinos pancreáticos en donde el AMP cíclico inhibe la actividad de la enzima Na⁺-K⁺-ATPasa³⁷.

De los resultados obtenidos surge que, en la glándula parótida, el anandamide provoca secreción de amilasa e inhibición de la actividad de la enzima Na⁺-K⁺-ATPasa. El efecto del anandamide sobre la secreción de amilasa y la enzima Na⁺-K⁺-ATPasa es AMP cíclico dependiente. Asimismo, observamos una correlación entre la secreción de amilasa y la inhibición de la actividad de la enzima Na⁺-K⁺-ATPasa, inducidas por el anandamide, con la acumulación de AMP cíclico.

Podemos concluir que el anandamide, a través de la activación del receptor cannabinoide CB₁ induce la acumulación de AMP cíclico el que a su vez provoca la secreción de amilasa y la inhibición de la enzima Na⁺-K⁺-ATPasa³⁸ (Figura 1).

Las glándulas salivales son tejidos hormono-dependientes³⁹. Tanto la expresión de los receptores b-adrenérgicos⁴⁰ como los muscarínicos colinérgicos⁴¹ dismi-

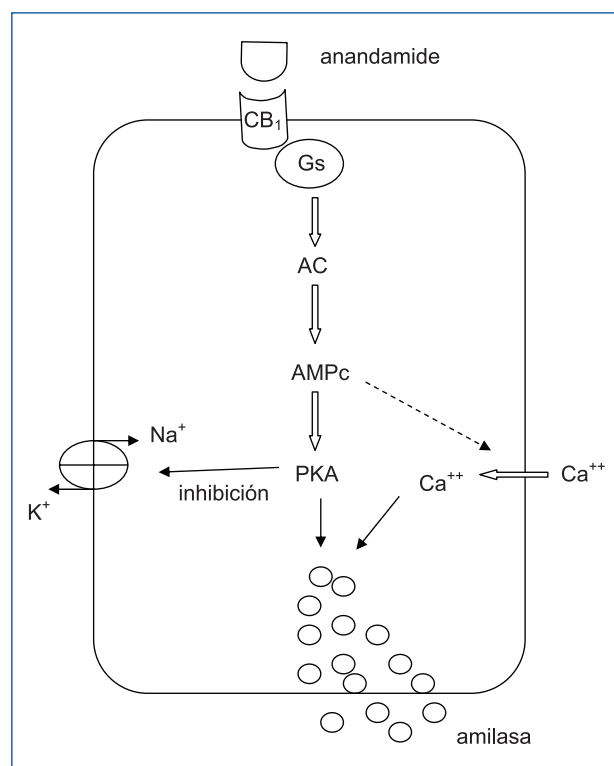


Figura 1: Efectos del anandamide sobre la secreción de amilasa y la actividad de la Na⁺-K⁺-ATPasa en la glándula parótida. CB₁: receptor cannabinoide; Gs: proteína G; AC: enzima adenilato ciclasa; AMPc: adenosinmonofosfato cíclico; PKA: proteína quinasa A.

nuye después de la castración. La expresión de los receptores a cannabinoides (CB₁) también disminuye después de la castración⁴². Este hecho podría resaltar el papel del sistema cannabinoide endógeno que, en conjunto con el sistema nervioso autónomo, interactuaría con el eje hormono-gonadal en la glándula parótida.

Los efectos observados con el anandamide en la glándula parótida aportan un nuevo conocimiento en la fisiología de la glándula y por otro lado contribuyen a entender el mecanismo por el cual los cannabinoides producen efectos no deseables en la cavidad bucal.

BIBLIOGRAFÍA

- Howlett C. Pharmacology of cannabinoid receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 35: 607-634, 1995.
- Pertwee RG. Pharmacological, physiological and clinical implications of the discovery of cannabinoid receptors. *Biochem Soc Trans* 26: 267-272, 1998.
- Kosten TR, Hollister LE. Abuso de drogas en: "Farmacología Básica y Clínica", 8ª Edición, 2001, pp 610-613. Katzung BG, Editor.
- Piomelli D, Beltramo M, Giuffrida A, Stella N. Endogenous cannabinoid signaling. *Neurobiol Dis* 5: 462-473, 1998.
- Katayama K, Ueda N, Kurahashi Y, Suzuki H, Yamamoto S, Kato I. Distribution of anandamide amidohidrolase in rat tissues with special reference to small intestine. *Biochim Biophys Acta* 1347: 212-218, 1997.
- Chin CH, Murphy JW, Huffman JW, Kendall DA. The third transmembrane helix of the cannabinoid receptor plays a role in the selectivity of aminoalkylindoles for CB₂, peripheral cannabinoid receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 291: 837-844, 1999.
- Childers SR, Deadwyler SA. Role of cyclic AMP in the actions of cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 52: 819-827, 1996.
- Pertwee RG. The central neuropharmacology of cannabinoids. *Pharmacol Ther* 36: 189-261, 1988.
- Felder CC, Briley EM, Axelrod J, Simpson JT, Mackie K, Devane WA. Anandamide, an endogenous cannabimimetic eicosanoid, binds to the cloned human cannabinoid receptor and stimulates receptor-mediated signal transduction. *Proc Natl Acad Sci* 90: 7656-7660, 1993.
- Schweitzer P. Cannabinoids decrease the K⁺ M-current in hippocampal CA1 neurons. *J Neurosci* 20: 51-58, 2000.
- Deutsch DG, Goligorsky PD, Krebsqch RJ, Schmid HHO, Das SK, Key SK, Arreaza G, Thorup C, Stefano G, Piomelli D. Production and physiological actions of anandamide in the vasculature of the rat kidney. *J Clin Invest* 100: 1538-1546, 1994.
- Sugiura T, Kodaka T, Nakane S, Kishimoto S, Kondo S, Waku K. Detection of an endogenous cannabimimetic molecule, 2-arachidonylglycerol and cannabinoid CB₁ receptor mRNA in human vascular cells: is 2-arachidonylglycerol a possible vasomodulator? *Biochem Biophys Res Commun* 243: 838-843, 1998.
- Mombouli JV, Schaeffer G, Holzmann S, Kostner GM, Graier WF. Anandamide-induced mobilization of cytosolic Ca²⁺ in endothelial cells. *Br J Pharmacol* 126: 1593-1600, 1999.
- Griffin G, Fernando SR, Ross RA, McKay NG, Ashford MLJ, Shire D, Huffman JW, Yu s, Lainton JAH, Pertwee RG. Evidence for the presence of CB₂-like cannabinoid receptors on peripheral nerve terminals. *Eur J Pharmacol* 339: 53-61, 1997.
- Pertwee RG, Fernando SR, Nash JE, Coutts AA. Further evidence for the presence of cannabinoid CB₁ receptors in guinea-pig small intestine. *Br J Pharmacol* 118: 2199-2205, 1996.
- Izzo AA, Mascolo N, Borrelli F, Capasso F. Excitatory transmission to the circular muscle of the guinea-pig ileum: evidence for the involvement of cannabinoid CB₁ receptors. *Br J Pharmacol* 124: 1363-1368, 1998.
- Randall MD; Alexander SPH, Bennet T, Boyd EA, Fry JR, Gardiner SM, Kemp PA, McCulloch AI, Kendall DA. An endogenous cannabinoid as an endothelium-derived vasorelaxant. *Biochem Biophys Res Commun* 229: 114-120, 1996.
- Izzo AA, Mascolo N, Borrelli F, Capasso F. Defecation, intestinal fluid accumulation and motility in rodents: implications of cannabinoid CB₁ receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 359: 65-70, 1999.
- Sterin-Borda L, Del Zar F, Borda E. Differential CB₁ and CB₂ cannabinoid receptor-ionic response of rat isolated atria: Endogenous signal transduction pathways. *Biochem Pharmacol* 69: 1705-1713, 2005.
- Govantes Estes C, Fernández PL. Sistema Nervioso Central en: "Bases Farmacológicas de la Terapéutica Odontológica" 1ra Edición, 2000 pp. 110. Bascones A, Bullón P, Castillo JR, Machuca G, Manso FJ, Serrano JS, Editores.
- Herrera JL, Lyons II MF, Johnson LF. Saliva: its roles in health and disease. *J Clin Gastroenterol* 10: 569-578, 1988.
- Hashioka T. Recepto-secretory mechanism in histamine-stimulated amylase release from rat parotid gland. *Inflamm Res* 44: 245-247, 1995.
- Rosignoli F, Pérez Léiros C. Activation of nitric oxide synthase through muscarinic receptors in rat parotid gland. *Eur J Pharmacol* 439: 27-33, 2002.
- Iwabuchi Y, Kimura T. Interaction between substance P and b-adrenergic agonists in the modulation of the secretion of fluid and protein by the rat submandibular gland. *J Pharm Pharmacol* 50: 335-341, 1998.
- Bobyock E, Chernick WS. Vasoactive intestinal peptide interacts with alpha-adrenergic-, cholinergic-, and substance P-mediated responses in rat parotid and submandibular glands. *J Dent Res* 68: 1489-1494, 1989.
- Abdel-Hakim SM. Prostaglandin E₂ production in submandibular salivary glands in essential fatty acid deficiency. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 50: 141-145, 1994.
- Mc Connell WR, Dewey WL, Harris LS, Borzelleca JF. A study of the effect of delta 9-tetrahydrocannabinol (delta 9-THC) on mammalian salivary flow. *J Pharmacol Exp Ther* 206: 567-573, 1978.
- Nagle B, Tomassone BM, Digregorio J, Piraino A. The influence of delta 9-tetrahydrocannabinol on pilocarpine-induced parotid secretions of the rat. *Eur J Pharmacol* 40: 337-343, 1976.
- Putney Jr JW. Identification of cellular activation mechanisms associated with salivary secretion. *Annu Rev Physiol* 48: 75-88, 1986.
- Speight PM, Chisholm DM. The relationship between localization of Na⁺-K⁺-ATPase and cellular fine structure in the rat parotid gland. *Histochem J* 16: 721-731, 1984.
- Simson J, Chao AJ. Sub-cellular distribution of tissue kallikrein and Na⁺-K⁺-ATPase alpha sub-unit in rat parotid striated duct cells. *Cell Tissue Res* 275: 407-417, 1994.
- Martinez JR, Cassidy N, Barker S. Differential effects of prostaglandins and isoproterenol on cAMP content and Na, K, pump activity in rat submandibular acini. *Experientia* 43: 1013-1015, 1987.
- Kreydiyyeh SI. Cyclic AMP and furosemide stimulate the Na⁺-K⁺-ATPase pump in isolated rat jejunal cells. *Pharmacol Res* 41: 179-185, 2000.
- McKinney JS, Desole MS, Rubin RP. Convergence of cAMP and phosphoinositide pathway during rat parotid secretion. *Am J Physiol* 257: C651-657.

- 35) Rubin RP, Adolf MA. Cyclic AMP regulation of calcium mobilization and amylase release from isolated permeabilized rat parotid cells. *J Pharmacol Exp Ther* 268: 600-606, 1994.
- 36) Filipeanu CM, De Zeeuw D, Nelemans SA. α -9-tetrahydrocannabinol activates $[Ca^{2+}]_i$ increases partly sensitive to capacitative store refilling. *Eur J Pharmacol* 336: R1-3, 1997.
- 37) Tung P, Pai G, Johnson DG, Punzaloan R, Levin SR. Relationships between adenylate cyclase and Na^+K^+ -ATPase in rat pancreatic islets. *J Biol Chem* 265: 3936-3939, 1990.
- 38) Busch L, Sterin-Borda L, Borda E. Expression and biological effects of CB_1 cannabinoid receptor in rat parotid gland. *Biochem Pharmacol* 68: 1767-1774, 2004.
- 39) Prabir KDE. Sex-hormonal regulation of 20.5 and 24 kDa major male-specific proteins in Syrian hamster submandibular gland. *J Steroid Biochem Mol Biol* 58: 183-187, 1996.
- 40) Busch L, Borda E. Influence of castration on isoprenaline-induced amylase release in parotid gland from male rats. *Exp Physiol* 87: 447-452, 2002.
- 41) Busch L, Borda E. Castration decreases amylase release associated with muscarinic acetylcholine receptor down-regulation in rat parotid gland. *Br J Pharmacol* 139: 399-407, 2003.
- 42) Busch L, Sterin-Borda L, Borda E. Influence of castration upon cannabinoid CB_1 receptor expression and its biological effects on rat parotid gland. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. En prensa, 2005.