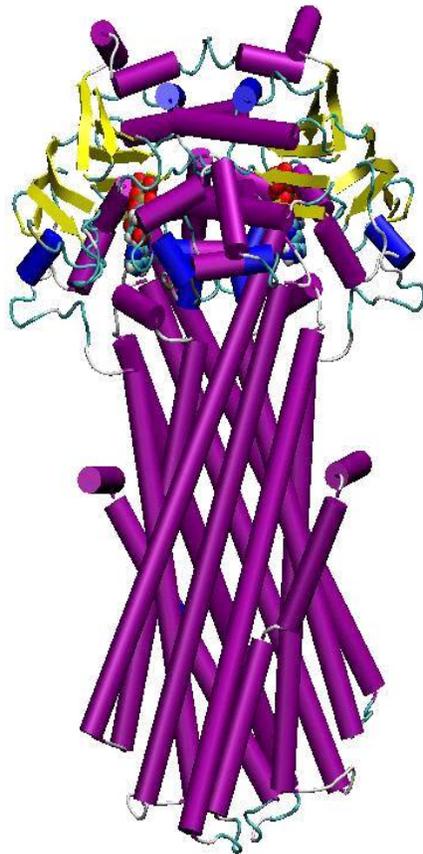


UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
CARRERA DE ESPECIALISTA EN
TOXICOLOGÍA



MODULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE
LA GLICOPROTEÍNA P POR LOS
CANNABINOIDES

AUTOR:

MARÍA LAURA FERREIRÓS GAGO

TUTORES:

PROF. DR. CARLOS F. DAMIN

PROF. DR. GUILLERMO DI GIROLAMO



Indice:

Introducción:	3
Regulación de la expresión transportadora:	6
Transportadores de la superfamilia ABC:	7
Distribución de los transportadores ABC:	8
Especificidad de los transportadores ABC en cuanto a sustratos:.....	9
Glicoproteína P:	11
Estructura y mecanismo de acción:	12
Modulación de la actividad de la glicoproteína P:	16
Rol de los transportadores en la farmacocinética y la farmacodinamia:	17
Inducción de la glicoproteína P:.....	18
Inhibición de la glicoproteína P:	19
Cannabinoides:	21
Farmacodinamia:	22
Receptores CB1:	22
Receptores CB2:	23
Clasificación de los cannabinoides:.....	25
Farmacocinética de los cannabinoides:	29
Absorción:	29
Distribución:.....	31
Metabolismo:	32
Eliminación:	33
Cannabinoides y glicoproteína P:	34
Bibliografía:	39

INTRODUCCIÓN:

La membrana plasmática actúa como una barrera semipermeable y como filtro selectivo permitiendo el ingreso y egreso de moléculas esenciales para las funciones celulares. El transporte de xenobióticos puede ser realizado sin gasto de energía como por ejemplo a través de difusión simple o con gasto de energía a partir de la hidrólisis del ATP.

El transporte asimétrico de distintas sustancias a través de una capa única de células polarizadas como son las células epiteliales y endoteliales de los capilares cerebrales, se denomina transporte vectorial.

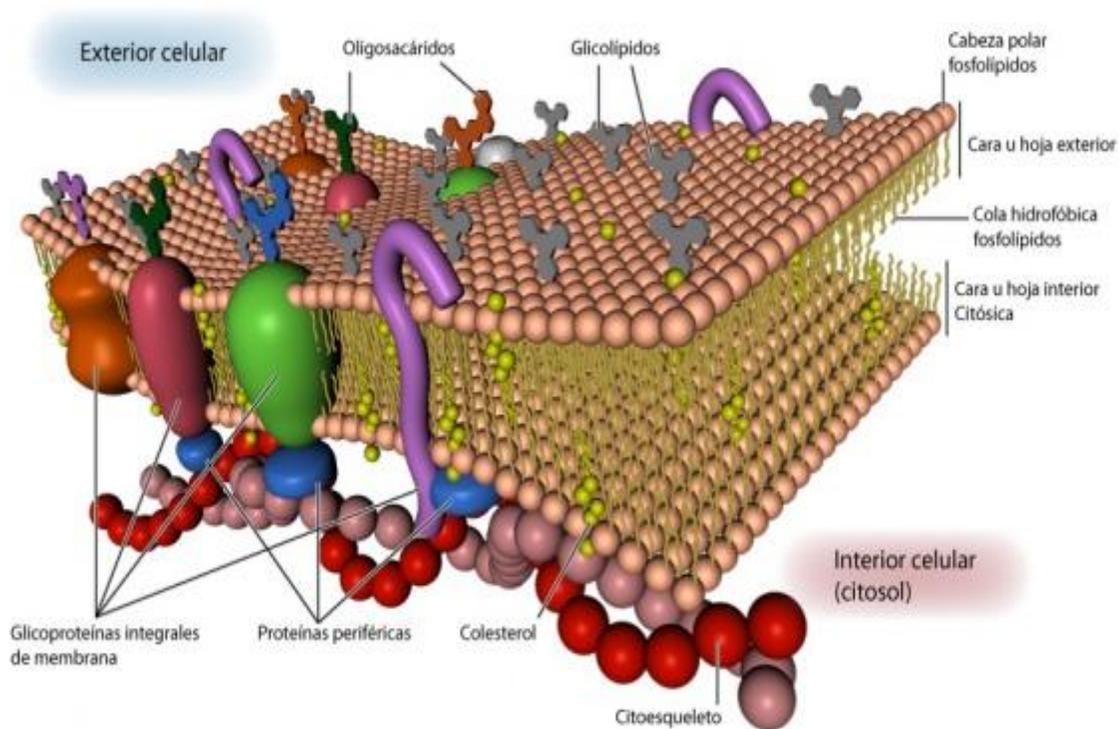


ILUSTRACIÓN 1: REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA MEMBRANA PLASMÁTICA COMO BICAPA LIPÍDICA MOSTRANDO LA UBICACIÓN DE GLICOPROTEÍNAS COMO ELEMENTOS TRANS-MEMBRANA

Este tipo de transporte es importante para la transferencia eficaz de los solutos a través de las barreras epiteliales o endoteliales; siendo fundamental para la absorción de nutrientes y ácidos biliares en el intestino.

En cuanto a la absorción y distribución de los fármacos, el transporte vectorial tiene una función central en la excreción hepatobiliar y urinaria de los mismos desde la sangre hasta la luz y en la absorción intestinal de fármacos. Además, la salida de fármacos del cerebro a través de las células endoteliales cerebrales y las células epiteliales del plexo coroideo se realiza por medio de transporte vectorial.

Los transportadores ABC por sí solos pueden realizar el transporte vectorial de los compuestos lipófilos con suficiente permeabilidad transmembrana expulsando a sus sustratos hacia el exterior de la célula sin la ayuda de los transportadores de entrada.

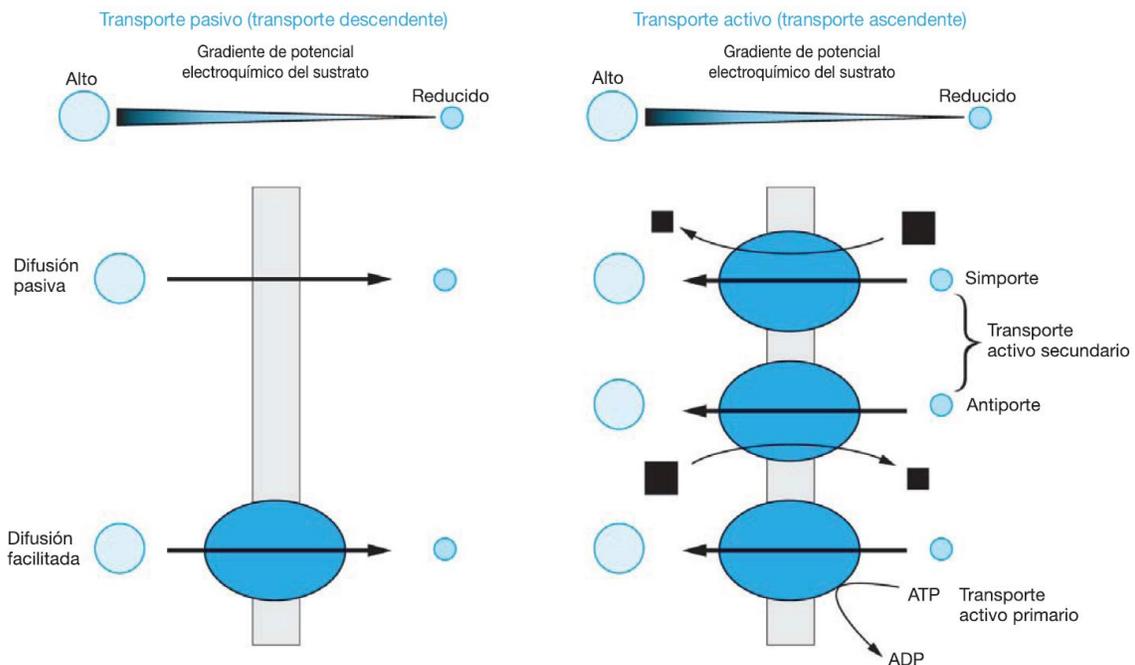


ILUSTRACIÓN 2: CLASIFICACIÓN DE LOS MECANISMOS DE TRANSPORTE DE MEMBRANA. LOS CÍRCULOS COLOR AZUL CLARO REPRESENTAN EL SUSTRATO. EL TAMAÑO DE LOS CÍRCULOS ES DIRECTAMENTE PROPORCIONAL A LA CONCENTRACIÓN DEL SUSTRATO. LAS FLECHAS SEÑALAN LA DIRECCIÓN DEL FLUJO. LOS CUADROS NEGROS REPRESENTAN EL IÓN QUE APORTA LA FUERZA ESTIMULANTE PARA EL TRANSPORTE (EL TAMAÑO ES DIRECTAMENTE PROPORCIONAL A LA CONCENTRACIÓN DEL IÓN). LOS ÓVALOS DE COLOR AZUL OSCURO REPRESENTAN LAS PROTEÍNAS DE TRANSPORTE. ADP, DIFOSFATO DE ADENOSINA (ADENOSINE DIPHOSPHATE); ATP, TRIFOSFATO DE ADENOSINA.

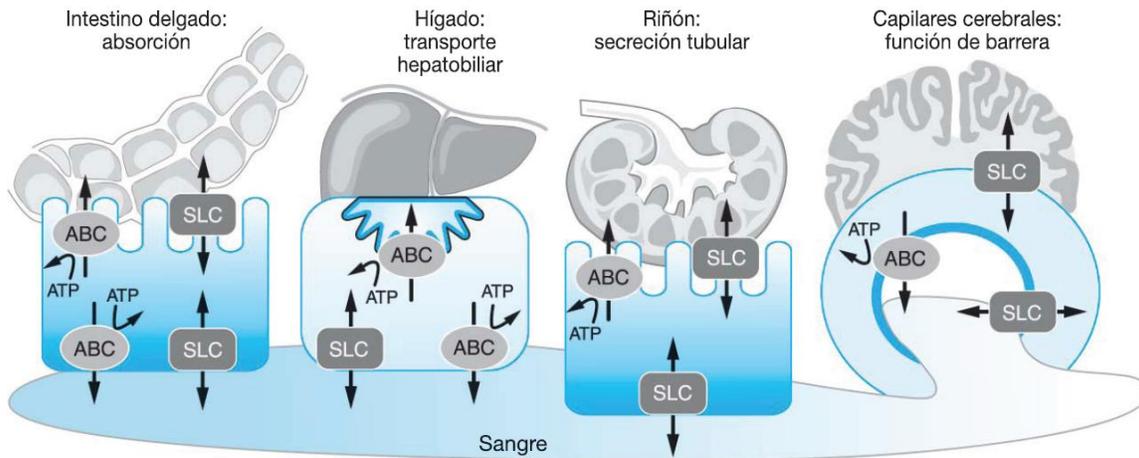


ILUSTRACIÓN 3: FLUJO TRANSEPITELIAL O TRANSENDOTELIAL. EL FLUJO TRANSEPITELIAL O TRANSENDOTELIAL DE LOS FÁRMACOS REQUIERE UNA SERIE DE TRANSPORTADORES DEFINIDOS EN AMBAS SUPERFICIES DE LA BARRERA EPITELIAL O ENDOTELIAL. EN EL ESQUEMA SE ILUSTRAN EL TRANSPORTE DE ÉSTOS A TRAVÉS DEL INTESTINO DELGADO (ABSORCIÓN), EL RIÑÓN Y EL HÍGADO (ELIMINACIÓN) Y LOS CAPILARES ENCEFÁLICOS QUE COMPRENEN LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA.

Por el contrario, los aniones y cationes relativamente hidrófilos requieren transportadores coordinados de entrada y salida para lograr el desplazamiento vectorial de los solutos a través del epitelio. Los sustratos comunes de los transportadores coordinados son transferidos con eficacia a través de la barrera epitelial.

El hígado posee varios transportadores en la membrana sinusoidal (hacia la sangre). Estos transportadores participan en la captación de ácidos biliares, aniones orgánicos anfipáticos y cationes orgánicos hidrófilos hasta los hepatocitos. Los transportadores ABC situados en la membrana canalicular eliminan estos compuestos hacia la bilis.

El transporte vectorial de los aniones orgánicos es altamente eficaz gracias a la superposición de las especificidades por el sustrato entre los transportadores de entrada (familia OATP) y de salida (familia MRP). También hay sistemas similares de transporte en el intestino, los túbulos renales y las células endoteliales de los capilares cerebrales.

REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN TRANSPORTADORA:

La expresión de los transportadores es regulada por medio de transcripción como respuesta al tratamiento farmacológico y ciertas afecciones fisiopatológicas, lo que origina inducción o regulación sustractiva de los ARNm (ácido ribonucleico mensajero) transportadores.

Los receptores nucleares tipo II, que forman heterodímeros con el receptor de ácido 9-cis-retinoico (RXR), intervienen en la regulación de las enzimas farmacometabolizantes y de los transportadores. Estos receptores comprenden al receptor X de pregnano (PXR), el receptor constitutivo del androstano (CAR), el receptor X de farnesoide (FXR), PPAR α (receptor α de peroxisoma activado por proliferador) y el receptor de ácido retinoico (RAR).

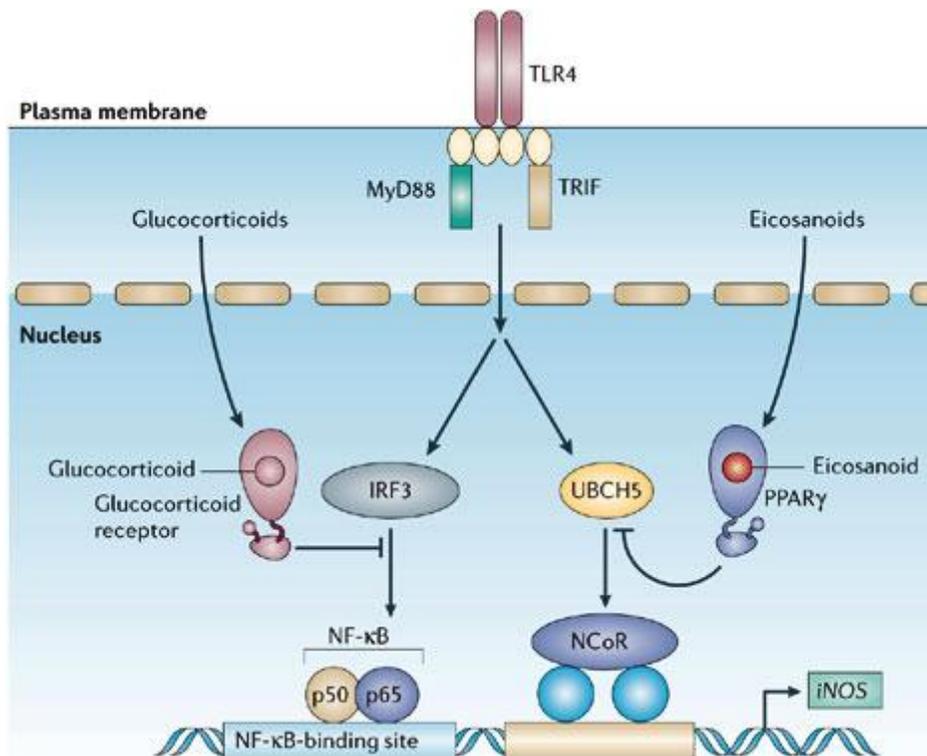


ILUSTRACIÓN 4: MECANISMO PROTOTÍPICO DE TRANSDUCCIÓN INTRACELULAR REGULANDO LA EXPRESIÓN DE GENES ILUSTRADO A TRAVÉS DEL EJEMPLO DE OTROS RECEPTORES



Con excepción de CAR, éstos son receptores nucleares que se activan por medio de ligandos que, al igual que los heterodímeros con RXR, se adhieren a elementos específicos en las regiones estimulantes de los genes destinatarios.

El CAR posee actividad constitutiva de transcripción que es antagonizada por ciertos agonistas inversos como *androstenol* y *androstanol* y estimulada por los barbitúricos. PXR, también llamado *receptor X de esteroides* (SXR) en el hombre, se activa por medio de esteroides sintéticos y endógenos, ácidos biliares y ciertos medicamentos como *clotrimazol*, *fenobarbital*, *rifampicina*, *sulfonpirazona*, *ritonavir*, *carbamazepina*, *fenitoína*, *sulfadimidina*, *taxol* e *hiperforina* (componente de la hierba de San Juan).

Existe una superposición de sustratos entre citocromo P450, CYP3A4 y la glucoproteína P. El PXR regula la coinducción de CYP3A4 y la glucoproteína P lo cual favorece su colaboración sinérgica en la detoxificación eficaz.

TRANSPORTADORES DE LA SUPERFAMILIA ABC:

En 1976, Juliano y Ling publicaron que la sobreexpresión de una proteína de membrana en células de ovario de hámster chino resistente a la *colchicina* también provocaba resistencia adquirida a varios fármacos distintos desde el punto de vista estructural (esto es, multirresistencia).

La primer proteína descubierta fue la glicoproteína P/ MDR1/ ABCB1, luego la superfamilia ABC ha seguido creciendo y en la actualidad consta de 49 genes y cada uno posee una o dos regiones ABC.

La región ABC es un dominio catalítico central de hidrólisis de ATP que contiene secuencias Walker A - B y una secuencia C. Las regiones ABC de estas proteínas fijan e hidrolizan el ATP, y las proteínas utilizan la energía para el transporte de sus sustratos a través de la membrana. A pesar de que algunos transportadores de la superfamilia ABC contienen un solo motivo ABC, forman homodímeros (BCRP/ABCG2) o heterodímeros (ABCG5 y ABCG8) que exhiben una función de transporte.



También se encuentran transportadores ABC (p. ej., MsbA) en los procariotes, donde participan principalmente en la importación de ciertos compuestos esenciales que no se pueden obtener por difusión pasiva (carbohidratos, vitaminas, metales, etc.).

La mayor parte de los productos de los genes ABC en los eucariotes transporta compuestos desde el citoplasma hasta el exterior o hasta un compartimiento intracelular (retículo endoplásmico, mitocondria, peroxisomas).

Los transportadores ABC se dividen en siete grupos según la homología de su secuencia: ABCA (12 miembros), ABCB (11 miembros), ABCC (13 miembros), ABCD (cuatro miembros), ABCE (un miembro), ABCF (tres miembros) y ABCG (cinco miembros).

Familia de transportadores de la Superfamilia ABC	HUGO*	Nombres comunes
MDR1,2	ABCB1,4	Glicoproteína P, cationes orgánicas, neutrales, lípidos
CBAT/BSEP	ABCB11	Transportador de ácidos biliares canalicular, sales biliares
MRP1,2,3...	ABCC1	Aniones orgánicos, GSX conjugados, GSH cotransportador
CMOAT	ABCC2	Transportador multiespecífico canalicular de anions
BCRP/MXR	ABCG2	Transportador de mitoxantrona, doxorubicina, danourubicina

TABLA 1: TRANSPORTADORES DE LA SUPERFAMILIA ABC
* Clasificación de la organización en el genoma humano

DISTRIBUCIÓN DE LOS TRANSPORTADORES ABC:

El MDR1 (*ABCB1*), MRP2 (*ABCC2*) y BCRP (*ABCG2*) se expresan en el lado apical del epitelio intestinal, donde actúan expulsando los productos xenobióticos.



El riñón y el hígado son los principales órganos encargados de eliminar los fármacos del organismo, teniendo en cuenta que este último participa en la eliminación presistémica de fármacos. Los transportadores ABC son muy importantes para la excreción vectorial de los fármacos en la orina o bilis y se expresan en los tejidos polarizados del riñón y el hígado: el MDR1, MRP2 y MRP4 (*ABCC4*) en la membrana con bordes de cepillo del epitelio renal y el MDR1, MRP2 y BCRP en la membrana canalicular biliar de los hepatocitos.

Algunos transportadores ABC se expresan específicamente en el lado hemático de las células endoteliales o epiteliales que forman barreras para la entrada libre de compuestos tóxicos en tejidos vírgenes como la barrera hematoencefálica (MDR1 y MRP4 en el lado luminal de las células endoteliales de los capilares encefálicos), la barrera del líquido cefalorraquídeo (LCR) (MRP1 y MRP4 en el lado basolateral del epitelio del plexo coroideo), la barrera hematotesticular (MRP1 en la porción basolateral de la membrana) y la barrera hematoplacentaria (MDR1, MRP2 y BCRP en el lado materno luminal y MRP1 en el lado fetal antiluminal de los trofoblastos placentarios).

ESPECIFICIDAD DE LOS TRANSPORTADORES ABC EN CUANTO A SUSTRATOS:

Los sustratos de MDR1/ABCB1 tienden a compartir una estructura hidrófoba en planos con fragmentos con carga positiva o neutra. Éstos comprenden distintos compuestos desde el punto de vista estructural y farmacológico, muchos de los cuales también son sustratos de CYP3A4.

Esta especificidad superpuesta para los sustratos significa que MDR1 y CYP3A4 tienen una función sinérgica de protección del organismo reduciendo la absorción intestinal de los productos xenobióticos. Una vez que los enterocitos captan ciertas moléculas farmacológicas las cuales son metabolizadas por CYP3A4, las moléculas que escapan a la conversión metabólica son eliminadas de las células a través de MDR1 y luego penetran de nuevo en los enterocitos. El tiempo que el



fármaco permanece en el intestino se prolonga, con lo que aumenta la probabilidad de que CYP3A4 realice su conversión metabólica local.

Los sustratos de los transportadores de la familia MRP/ABCC son en su mayor parte aniones orgánicos. Las especificidades de MRP1 y MRP2 en lo que se refiere a los sustratos son similares. Ambos aceptan conjugados de glutatión y glucurónido, conjugados sulfatados de sales biliares y aniones orgánicos no conjugados de naturaleza anfipática (cuando menos una carga negativa y cierto grado de hidrofobia). Además, transportan medicamentos neutros o catiónicos contra el cáncer, como *alcaloides de vinca* y *antraciclinas*, quizá a través de un cotransporte o mecanismo de simporte con glutatión reducido (GSH).

El MRP3 tiene además especificidad similar a la de MRP2 en cuanto a sustratos, pero con una menor afinidad para transportar conjugados de glutatión que MRP1 y MRP2. La mayor parte de los sustratos característicos de MRP3 corresponde a sales biliares monovalentes, que nunca son transportadas por MRP1 y MRP2. El MRP3 se expresa en el lado sinusoidal de los hepatocitos y es inducido cuando existe colestasis, se considera que el flujo retrógrado de sales biliares tóxicas y glucurónidos de bilirrubina hacia la circulación es su función fisiológica.

En lo referente a la especificidad de MRP4 y MRP5 actúan aceptando análogos de nucleótidos y algunos fármacos contra el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Se han identificado algunos sustratos para MRP6, pero no se han encontrado sustratos endógenos.



GLICOPROTEINA P:

Los transportadores son proteínas de membrana que regulan la entrada de nutrientes esenciales e iones, así como la salida de los productos del metabolismo celular, las toxinas ambientales y otros productos xenobióticos.

En lo referente al transporte de los fármacos, los transportadores más representativos son los miembros de dos superfamilias:

- ABC ([*ATP binding cassette*] casete enlazador de trifosfato de adenosina (ATP) .
- SLC ([*solute carrier*] acarreador de solutos).

La mayor parte de las proteínas ABC corresponden a transportadores activos primarios, que dependen de la hidrólisis del ATP para bombear en forma activa sus sustratos a través de la membrana.

Existen 49 genes conocidos para las proteínas ABC, que se pueden agrupar en siete subclases o familias de ABCA a ABCG.

Uno de los transportadores mejor conocido en la superfamilia ABC es la glicoproteína P, codificada por *ABCB1*, también llamada *MDR1* y el regulador transmembrana de la fibrosis quística, codificado por *ABCC7*.

La superfamilia SLC comprende genes que codifican transportadores facilitados y transportadores activos secundarios acoplados a iones que residen en diversas membranas celulares.

Muchos transportadores funcionan como objetivos de los fármacos o bien intervienen en la absorción y disposición de las sustancias farmacológicas.

El gen *mdr 1*, que se localiza en el brazo largo del cromosoma 7,9 codifica una proteína de 170 kd (p 170), también conocida como glicoproteína p (gP) (p de permeabilidad). Este gen forma parte de una pequeña familia que tiene 2 miembros en los humanos (*mdr 1 mdr 2/3*).



El polimorfismo humano del gen MDR1 puede alterar la expresión y función de la glicoproteína P resultando en una modificación de la farmacocinética y farmacodinamia de las drogas.

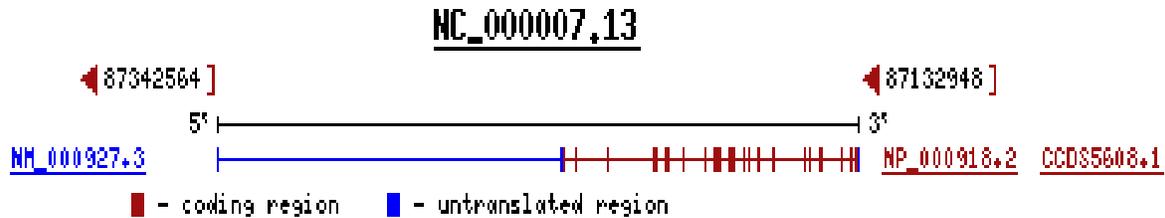


ILUSTRACIÓN 5: ESQUEMA QUE MUESTRA LA DISTRIBUCIÓN DE SECUENCIAS CODIFICANTES Y NO CODIFICANTES DEL GEN MDR1

La familia *mdr* pertenece a la superfamilia de proteínas ABC especializadas en el transporte celular dependiente de energía, que participa en un amplio rango de eventos como la expulsión de sustancias nocivas, secreción de toxinas y movilización de iones y péptido.

ESTRUCTURA Y MECANISMO DE ACCIÓN:

La molécula de glicoproteína P consiste en dos mitades homólogas (dímero), unidas entre sí. Cada mitad de la molécula presenta seis dominios hidrofóbicos transmembranales unidos, dispuestos en tres pares y asociados con un dominio hidrofílico C-terminal que contiene la secuencia consenso de unión e hidrólisis del ATP.

La secuencia de aminoácidos contiene un extenso segmento hidrofóbico en el extremo N-terminal. Los segmentos transmembrana en la membrana plasmática están orientados de forma que el extremo C-terminal se sitúe en el lado citoplásmico de la membrana.

Los tres pares de segmentos transmembrana están separados por largas cadenas de aminoácidos en la cara citoplásmica de la membrana y cortas cadenas en la superficie celular. Además, la molécula presenta una cadena externa de carbohidratos, situada sobre la cadena exterior de aminoácidos que une los dos primeros segmentos transmembrana, cerca del extremo N-terminal.

Al menos 20 kDa de los 170-180 kDa de la proteína corresponden a carbohidratos. Existen evidencias que aseguran que la porción exterior de carbohidratos no interviene en el transporte de drogas o en su reconocimiento.

El estudio de las secuencias de la glicoproteína P muestra una estructura altamente conservada en la porción transmembrana N-terminal, la cual contiene las características de un dominio en forma de canal. Los dominios intracitoplasmáticos de unión e hidrólisis del ATP forman un poro y actúan conjuntamente en el transporte activo de drogas al exterior celular. Esta proteína actúa como una bomba extrusora dependiente de energía. El eflujo se realiza a través del poro directa o indirectamente, tras la unión a moléculas transportadoras que pueden ser péptidos o proteínas.

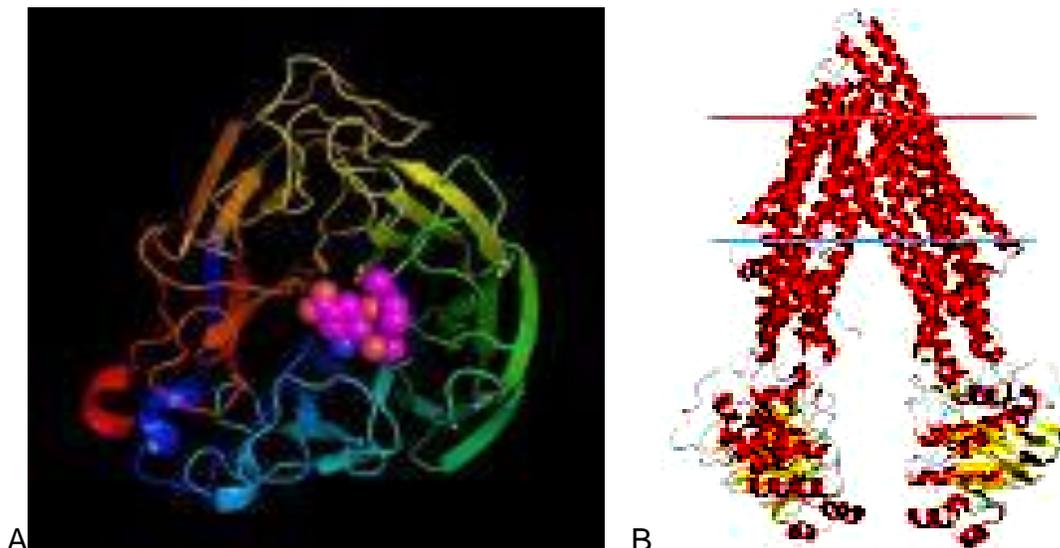


ILUSTRACIÓN 6: REPRESENTACION DEL MODELO TRIDIMENSIONAL DE LA GLICOPROTEÍNA P. PANEL A: VISTA DEL EXTREMO EXTRACELULAR. PANEL B: VISTA LATERAL MOSTRANDO LA UBICACIÓN DE DOMINIOS EXTRACELULARES, INTRACELULARES Y TRANSMEMBRANA.



La Gp-P forma un canal en la membrana plasmática y transporta drogas fuera de la célula usando la energía derivada de la hidrólisis del ATP. Cada mitad de la molécula no actúa independientemente en el transporte de drogas, ya que la inactivación de uno o dos puntos de unión e hidrólisis del ATP conlleva a la pérdida de su actividad.

En una versión de este modelo las drogas se unen a la glicoproteína P directamente y después son eliminadas de la célula. En lo referente a este punto hay que tener en cuenta dos consideraciones:

- La unión de la droga a la glicoproteína P debe ser reversible ya que las moléculas de droga tienen que ser eliminadas de la superficie celular.
- La transfección de ADNc de glicoproteína P a células sensibles da como resultado resistencia cruzada a drogas no relacionadas estructuralmente; por lo que la molécula de glicoproteína P debe tener sitios de unión para un diverso grupo de drogas, probablemente en su dominio hidrofóbico.

Existe evidencia experimental para sostener esta versión, ya que se han observado en líneas celulares MDR vesículas de membrana que sobreexpresan una proteína de 150-180 kDa, la cual presenta puntos específicos de unión para vinblastina.

Esta unión es inhibida por dos de las drogas con las que presentan resistencia cruzada (vincristina y daunorubicina). Este hecho sugiere que estos citostáticos pueden competir por el mismo punto de unión o unirse a sitios extremadamente adyacentes.

La glicoproteína P también une a otras drogas involucradas en el fenotipo MDR, tales como colchicina y actinomicina D, las cuales no compiten por el punto de unión para vinblastina en las vesículas de membrana.



La reversión de la resistencia a múltiples drogas puede ocurrir por la inhibición de la unión de las drogas con la glicoproteína P.

Existen dos evidencias que sugieren que puede haber múltiples dominios de unión a drogas en la glicoproteína P:

- La inhibición de la unión de análogos de la vinblastina a la glicoproteína P no está relacionada con la habilidad para revertir la resistencia a varios compuestos tales como trifluoperazina y cloroquina.
- Drogas como colchicina y actinomicina D, que están involucradas en el fenotipo MDR no compiten por el sitio de unión a vinblastina en las vesículas de membrana de células multirresistentes.

En la segunda versión del modelo de funcionamiento, una proteína de unión a la droga es transportada fuera de las células por la glicoproteína P, que actúa como una bomba.

Las drogas se unen irreversiblemente a esta proteína y el complejo droga-proteína es eliminado de la célula.

Esta proteína de unión puede ser un componente celular expresado normalmente, pero debe ser producido en cantidades suficientes ya que se exporta continuamente.

La glicoproteína P ha sido purificada a partir de extractos de membrana y se ha observado que presenta actividad ATPasa. Esto permite determinar si la hidrólisis del ATP por la glicoproteína P está emparejada al eflujo de droga, tal como predice este modelo.

La exagerada presencia de una molécula compleja como la glicoproteína P en la membrana plasmática de células MDR produce múltiples efectos sobre la estructura y función de la misma, incluyendo permeabilidad y respuesta a agentes activos de membrana tales como ionóforos, anestésicos locales y detergentes no iónicos.



MODULACION DE LA ACTIVIDAD DE LA GLICOPROTEINA P:

La proteína quinasa C (PKC) juega un papel importante en la resistencia a múltiples drogas. Varias modificaciones post translacionales de la molécula de glicoproteína P tales como glucosilación y fosforilación podrían ser consideradas como posibles mecanismos de modulación de su función; ya que contiene un gran componente de carbohidratos que supone aproximadamente el 20 % de su masa molecular relativa y además la glicoproteína P puede ser fosforilada *in vivo* e *in vitro*.

Las diferencias de fosforilación puedan jugar un papel importante en la alteración del fenotipo MDR (multiple drug resistance). En consecuencia, se ha visto en células resistentes una alteración en las actividades enzimáticas de varias quinasas y/o fosfatasas.

La glicoproteína P es fosforilada en la porción basal por la PKC, lo que afecta al transporte de drogas. Esta fosforilación se incrementa dos veces mediante el tratamiento con ésteres de forbol, en algunas líneas celulares de carcinoma.

Sin embargo, la estaurosporina y el H7, inhibidores de la PKC y de la actividad de la proteína quinasa dependiente de AMPc, no afectan a la tasa de fosforilación de la glicoproteína P.

La actividad de la glicoproteína P puede ser regulada por los agentes quimioterapéuticos. Este modelo predice que la exposición de las células a las sustancias anfipáticas, tales como antraciclinas, activa la fosfolipasa C (PLC), la cual cataliza la conversión de fosfatidil-inositol 4,5-bifosfato (PIP2) en inositol 1,4,5-trifosfato (IP3) y 1,2-diacil-glicerol (DAG).

El aumento de los niveles de DAG en la membrana da como resultado la traslocación de la PKC a la membrana plasmática donde fosforila a la glicoproteína P. La fosforilación de la glicoproteína aumenta la actividad extrusora y conduce a la eliminación de la droga de la membrana, con lo cual vuelve la actividad de la fosfolipasa C a su estado basal. Tras el metabolismo de DAG, la



glicoproteína P es desfosforilada gracias a la acción de fosfatasas específicas de serina/treonina, las cuales hacen que retorne a su estado basal.

La actividad de las fosfatasas podría ser incrementada mediante la liberación de calcio intracelular desde el retículo endoplásmico por acción del inositol trifosfato (IP3). En consonancia con esta alteración, los grupos fosfato de la glicoproteína P son metabólicamente activos y la proteína sufre ciclos rápidos de fosforilación y desfosforilación; lo que sugiere que este hecho juega un papel importante en la actividad biológica de esta molécula transportadora.

Las alteraciones del estado de fosforilación de la glicoproteína P parecen estar involucradas en los mecanismos de acción de varios compuestos que aumentan la acumulación de droga en células MDR, resultando en una reversión de la resistencia a drogas.

Así, el verapamilo y la trifluoperazina, entre otras, revierten parcialmente la multiresistencia.

Cambios en la fosforilación de proteínas parecen estar también involucrados en la reversión de la multiresistencia por estos compuestos.

ROL DE LOS TRANSPORTADORES EN LA FARMACOCINÉTICA Y LA FARMACODINAMIA:

La glicoproteína P y el CYP 3A4 se encuentran localizados en las células epiteliales intestinales con lo cual limitan la biodisponibilidad de las drogas ya sea por efecto del primer paso intestinal ejercido por CYP o por extrusión de los mismos a la luz intestinal por acción de la glicoproteína P.

La glicoproteína P se encarga de la eliminación de compuestos hacia la luz intestinal, y el CYP 3A4 se ocupa del metabolismo de la droga a través de reacciones en fase I. Además de contribuir al metabolismo del fármaco este sistema puede también interactuar en su propia regulación.



Algunos sustratos del CYP son también sustratos de la glicoproteína P y numerosos sustratos del CYP compiten por el transporte por la glicoproteína P y modifican sus niveles de expresión.

Los transportadores son críticos en la función de los endotelios capilares, barrera hematoencefalica (BHE) y la barrera hematoplacentaria entre otros.

La glicoproteína P previene el ingreso en el sistema nervioso central de diferentes drogas, favoreciendo su extrusión a nivel de la BHE.

Otros tejidos que presentan altas concentraciones de MDR1 son las células ductales pancreáticas, el plexo coroideo y corteza suprarrenal.

Otros transportadores han sido reconocidos a nivel de la BHE y del plexo coroideo como ser: el OATP1-OATP2 (polipeptidos transportadores de aniones orgánicos) y OCTS (transportador de cationes orgánicos) y distintas isoformas de MRP (proteínas relacionandaas con la resistencisa multidrogas). Estos transportadores juegan un rol fundamental en la regulación del ingreso y egreso de distintas sustancias químicas, fisiológicas y drogas al cerebro.

INDUCCION DE LA GLICOPROTEÍNA P:

La glicoproteína P se encuentra localizada en la superficie apical de los túbulos renales, células epiteliales intestinales, células epiteliales de la placenta, superficie canalicular de los hepatocitos, superficie luminal de los capilares de la BHE y en la superficie de los linfocitos.

En general, su función limita la exposición del organismo a una droga, excretándola hacia la bilis en el hígado, los túbulos renales en riñon o hacia la luz intestinal en el intestino. Actuaría también limitando el acceso de drogas al cerebro y a los linfocitos.

La glicoproteína P incrementa el sustrato expuesto al metabolismo por el CYP 3A4 a nivel luminal durante el proceso de extrusión de la droga. La coadministración de un sustrato de CYP 3A4-glicoproteina P con un inductor de glicoproteína P puede



resultar en una reducción de la exposición sistémica por aumento del contacto con el CYP3A4 intestinal.

La coadministración de un modulador de la glicoproteína P no reduce la biodisponibilidad del sustrato de la glicoproteína P cuando el flujo pasivo de la droga excede el rango de extrusión de la misma por la glicoproteína P.

El receptor nuclear PXR parece ser el responsable de la inducción de MDR1, causando activación de la glicoproteína P de manera dosis y sitio dependiente

INDUCTORES DE LA GLICOPROTEÍNA P	
Amiodarona	Indinavir
Bromocriptina	Morfina
Colchicina	Rifampicina
Ciclosporina	Ritonavir
Dexametasona	Hierba de San Juan
Diltiazem	Verapamilo
Eritromicina	Tacrolimus

TABLA 2: FÁRMACOS COMUNMENTE INVOLUCRADOS EN PROCESOS DE INDUCCIÓN DE LA GLICOPROTEÍNA P.

INHIBICION DE LA GLICOPROTEÍNA P:

El mecanismo de inhibición es complejo, involucrando competición en los sitios de unión de la droga así como también el bloqueo de la hidrólisis del ATP necesario para su función de transporte.

La inhibición de la glicoproteína P a nivel del sistema nervioso central se asocia a un aumento de la concentración tisular de determinadas drogas. Por ejemplo, la administración de quinidina con un sustrato de la glicoproteína P loperamida produce depresión respiratoria en voluntarios sanos, a pesar de no presentar cambios en las concentraciones plasmáticas de loperamida. La base de esta interacción es que la quinidina inhibe la glicoproteína P en la BHE resultando en un aumento de la penetración de la loperamida en el SNC.



La inhibición de la glicoproteína P renal podría desarrollar toxicidad o mayor eficacia clínica secundaria al aumento de la exposición a la droga.

Sin embargo, debe tenerse en cuenta que las variaciones individuales determinadas genéticamente en la función transportadora pueden contribuir a las diferencias interindividuales en los efectos terapéuticos y adversos de las drogas.

Inhibidores de la glicoproteína P		
Amiodarona Amitriptilina Astemizol Carvedilol Claritromicina Cortisol	Diltiazem Disulfiram Eritromicina Fluoperazina Jugo de arándanos Haloperidol	Nifedipina Rifampicina. Ritonavir. Simvastatina Tetosterona. Tacrolimus. Verapamilo

TABLA 3: SUSTANCIAS COMUNMENTE INVOLUCRADAS EN PROCESOS DE INHIBICIÓN DE LA GLICOPROTEÍNA P.



CANNABINOIDES:

La planta Cannabis sativa produce alrededor de 60 compuestos conocidos como cannabinoides.

Entre sus constituyentes se encuentran distintas sustancias químicas como, compuestos nitrogenados, hidrocarburos, carbohidratos, terpenos y ácidos grasos; los cuales contribuyen a los efectos farmacológicos y tóxicos del cannabis.

El THC (tetrahidrocannabinol) suele estar presente en el material vegetal del cannabis como una mezcla de ácidos monocarboxílicos, que fácilmente y eficientemente se descarboxilan después del calentamiento. El THC se descompone cuando se expone al aire, el calor o la luz; expuesto a los ácidos se oxida a un compuesto denominado cannabinol (CBN) mucho menos potente. La planta de cannabis secada al sol libera numerosa cantidad de THC a través de la descarboxilación. Durante su fumado más de 2000 compuestos son producidos por pirólisis.

El THC, el principal componente psicoactivo del cannabis, es metabolizado a 11-hidroxitetrahidrocannabinol (11-OH-THC) y 11-nor-9 carboxitetrahidrocannabinol (THC-COOH) y otro cannabinoide presente en altas concentraciones que es el cannabidiol (CBD), un agente no psicoactivo.



ILUSTRACIÓN 7: ASPECTO DE LA FUENTE NATURAL DE ACABINOIDES
(CANNABIS SATIVA)



El cannabis y los cannabinoides son utilizados como agentes terapéuticos, una de las aplicaciones es el tratamiento de las náuseas, vómitos y anorexia inducidos por los quimioterápicos en pacientes con cáncer.

FARMACODINAMIA:

Los efectos de los cannabinoides a nivel central y periférico dependen de la activación de los receptores CB1 y CB2. La expresión de estos receptores es abundante en el cerebro, particularmente en áreas relacionadas con el control de la actividad motora (ganglios de la base y cerebelo), memoria y cognición (corteza e hipocampo), emoción (amígdala), percepción sensorial (tálamo), y funciones autonómicas y endócrinas (hipotálamo y médula).

La ubicación de los receptores de cannabinoides ha sido estudiada:

- El receptor CB1 se expresa en terminales nerviosas periféricas, testículos, ojos, endotelio vascular y bazo.
- El receptor CB2 se expresa en sistema inmune, incluido linfocitos B y T, macrófagos; bazo, amígdalas y ganglios linfáticos.

Ambos receptores se encuentran acoplados a la proteína G inhibidora.

RECEPTORES CB1:

La mayor parte de los receptores CB1 se expresa en sistema nervioso central encontrándose presentes tanto en dendritas como en el soma neuronal.

Se expresa en bajos niveles en astrocitos, oligodendrocitos y células madre del sistema nervioso central.



Es el receptor más abundante en el cerebro, presentando altos niveles de expresión en estriado, cerebelo, ganglios basales, corteza cerebral e hipocampo. La densidad de receptores es moderada a alta en regiones relacionadas con la transmisión y modulación del dolor, como ser, ganglio de la raíz dorsal, médula espinal, talamo, sustancia gris periacueductal y amígdala.

El receptor se encuentra acoplado a proteína G inhibidora. La activación del receptor CB1 inhibe los canales de calcio tipo N-L y P/Q y activa los canales de potasio y las MAP kinasas.

La activación del receptor CB1 presináptico inhibe los canales de calcio tipo N, reduciendo la neurotransmisión sináptica.

La activación del receptor CB1 que se expresa en el soma neuronal incrementa la actividad Erk e induce la expresión del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) que presenta actividad neuroprotectora.

Este receptor también se encuentra relacionado con el remodelamiento neuronal.

RECEPTORES CB2:

Se expresan en leucocitos, mayoritariamente en la estirpe B y en orden decreciente en células NK, monocitos-macrófagos, neutrófilos, linfocitos T CD8+ y linfocitos T CD4+.

La activación del receptor CB2 inhibe la habilidad de los macrófagos en el procesamiento del antígeno y su presentación a los linfocitos T helper y en altas dosis puede inducir apoptosis de las células del sistema inmune.

Se ha encontrado receptores CB2 en células de la microglia.

Los agonistas de los receptores CB2 reducen la liberación de citotoxinas por las células inmunes e incrementan su proliferación.

Distintos estudios sugieren que la habilidad de distintos compuestos que actúan sobre los receptores CB2 en reducir la inflamación podría ser debido al incremento en la proliferación y el reclutamiento de células del sistema inmune.

Los receptores CB2 se encuentran acoplados a proteína G inhibidora. Actúan regulando las señales de transducción y distintas enzimas que intervienen en la producción de segundos mensajeros y kinasas.

El incremento de la actividad del Erk debido a la activación de los receptores CB2 induce migración de las células del sistema inmune y cambios en la expresión de distintos genes.

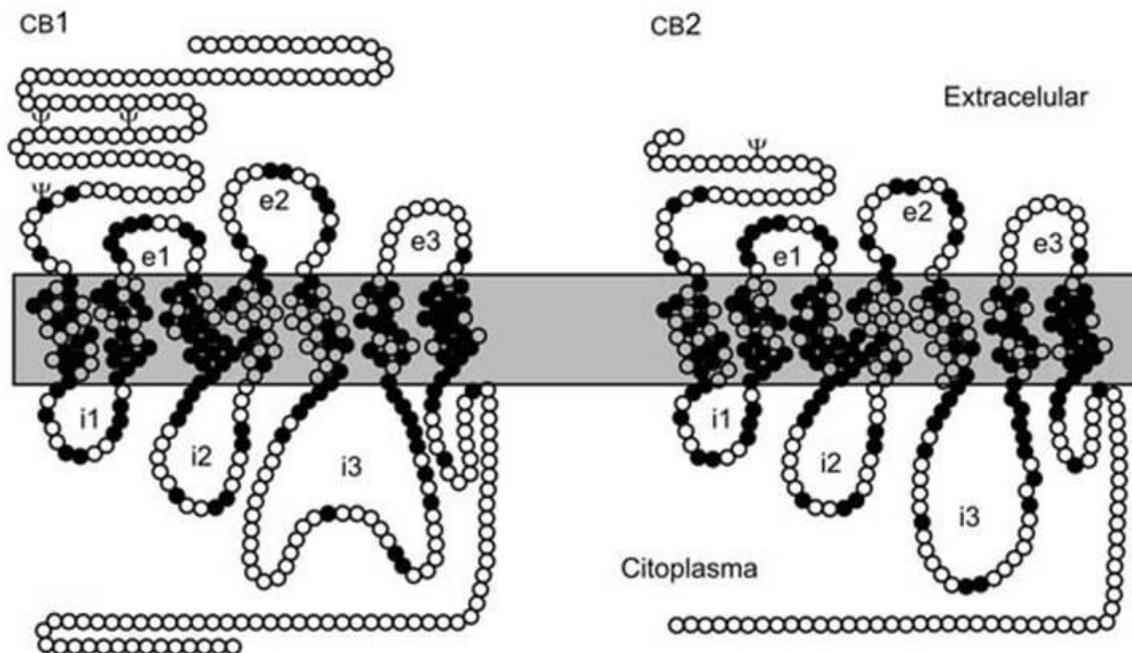


ILUSTRACIÓN 8: ESTRUCTURA Y ORGANIZACIÓN DE LOS DOMINIOS INTRA Y EXTRA CELULARES DE LOS RECEPTORES DE CANNABINOIDES CB1 Y CB2.

Los receptores TRPV1 son canales iónicos no selectivos ubicados en las neuronas sensoriales los cuales se estimulan ante estímulos dolorosos, alta temperatura o bajo pH. Son activados por endocannabinoides como la anandamida, aunque en altas concentraciones.

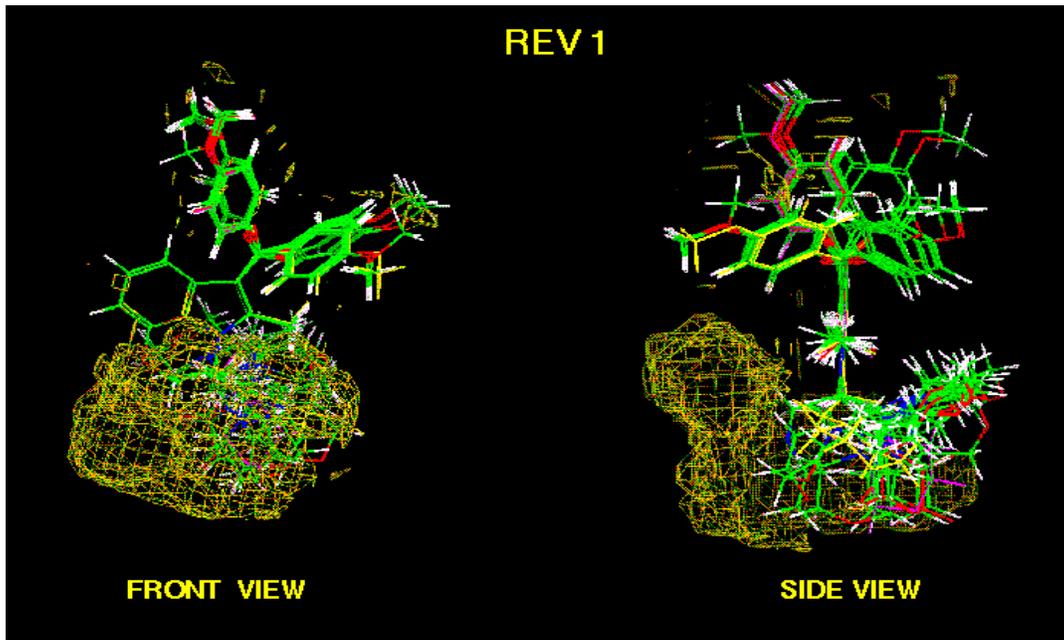


ILUSTRACIÓN 9: ESTRUCTURA CONFORMACIONAL MACROMOLECULAR DE LOS RECEPTORES DE CANNABINOIDES CB1 Y CB2 Y SU MODELIZACIÓN DEL ACOPLAMIENTO CON AGONISTAS.

CLASIFICACIÓN DE LOS CANNABINOIDES:

De los casi 70 cannabinoides naturales descritos en la planta de cannabis, el THC fue el primero en ser aislado y posteriormente sintetizado. A partir de entonces, se han sintetizado centenares de derivados.

Si clasificamos los cannabinoides por su actividad y estructura química, los agonistas se dividen en cuatro grupos:

- **Cannabinoides clásicos (dibenzopiranos):** Presentan la estructura tricíclica característica de los cannabinoides (análoga a la del THC). Los más investigados han sido el THC, el delta 8-THC, el HU-210 y su enantiómero HU-211 (dexanabinol) y el levonantradol. El HU-210 es un agonista para los receptores CB1 y CB2, con una potencia



entre 60 y 100 veces mayor que el THC. Constituye el cannabinoide sintético más potente descrito.

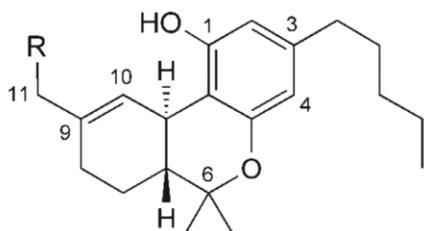
- **Cannabinoides no clásicos:** Son análogos bicíclicos o tricíclicos de los cannabinoides clásicos. Incluyen el CP55- 940 (potente agonista no selectivo), el CP 47497 y sus homólogos. El CP 47497 es un agonista con una afinidad 20 veces mayor para el receptor CB1 que el THC. También ha demostrado mayor potencia que THC como analgésico.

- **Aminoalkilindoles:** Tienen una estructura química totalmente diferente a los anteriores, pero con actividad cannabinomimética demostrada. Su representante es el WIN 55212-2. Destacan además el JWH-015 y su homólogo el JWH-018 y el JWH-073.
El JWH 018, es un agonista con mayor afinidad para los receptores CB1 y CB2 que el THC.
El JWH-073 tiene mayor afinidad para el receptor CB1, pero afinidad similar a la del THC para el receptor CB2.

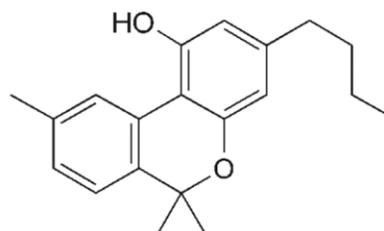
- **Endocannabinoides (eicosanoides):** Son productos endógenos que se sintetizan a partir de precursores fosfolipídicos de las membranas celulares. La mayoría son derivados del ácido araquidónico que se unen con mayor o menor afinidad a los receptores cannabinoides. Los más estudiados han sido la araquidoniletanolamida o anandamida, el 2-araquidonilglicerol y la noladina éter.
La anandamida es el prototipo de la clase y se muestra como un agonista parcial para los receptores CB1 y CB2, con una potencia parecida a la del THC.

El 2-araquidonilglicerol es un agonista para los receptores CB1 y CB2, y tiene una mayor afinidad que la de anandamida para los receptores CB1.

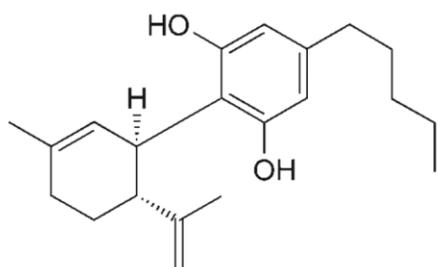
La oleamida, que es una amida de ácido oléico, tiene efectos similares a la anandamida sobre los receptores CB1.



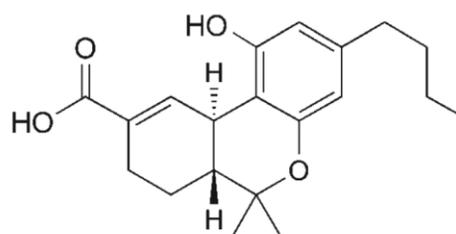
R = H Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC)
R = OH 11-Hydroxy variant (11-OH-THC)



Cannabinol (CBN)



Cannabidiol (CBD)



'11-Nor-9-carboxy- Δ^9 -Tetrahydrocannabinol' (THC-COOH)

ILUSTRACIÓN 10: ESTRUCTURA QUÍMICA DESARROLLADA DE DISTINTOS TIPOS DE AGONISTAS DE RECEPTORES DE CANNABINOIDES

De todos los cannabinoides sintéticos agonistas existentes pocos han llegado a comercializarse. La nabilona (Cesamet®) que es un derivado del THC y el Dronabinol (Marinol®) que es THC sintético, están indicados en algunos países

para el tratamiento de las náuseas y vómitos secundarios a la quimioterapia antineoplásica. El dronabinol también tiene como indicación el síndrome de anorexia-caquexia en el contexto de cáncer terminal o del SIDA. Cabe destacar que algunos de los agonistas sintéticos (CT-3, el dexamabinol o el WIN 55212-2, entre otros), se han evaluado o están siendo evaluados en humanos para patologías diversas, fundamentalmente neurológicas y en el dolor.

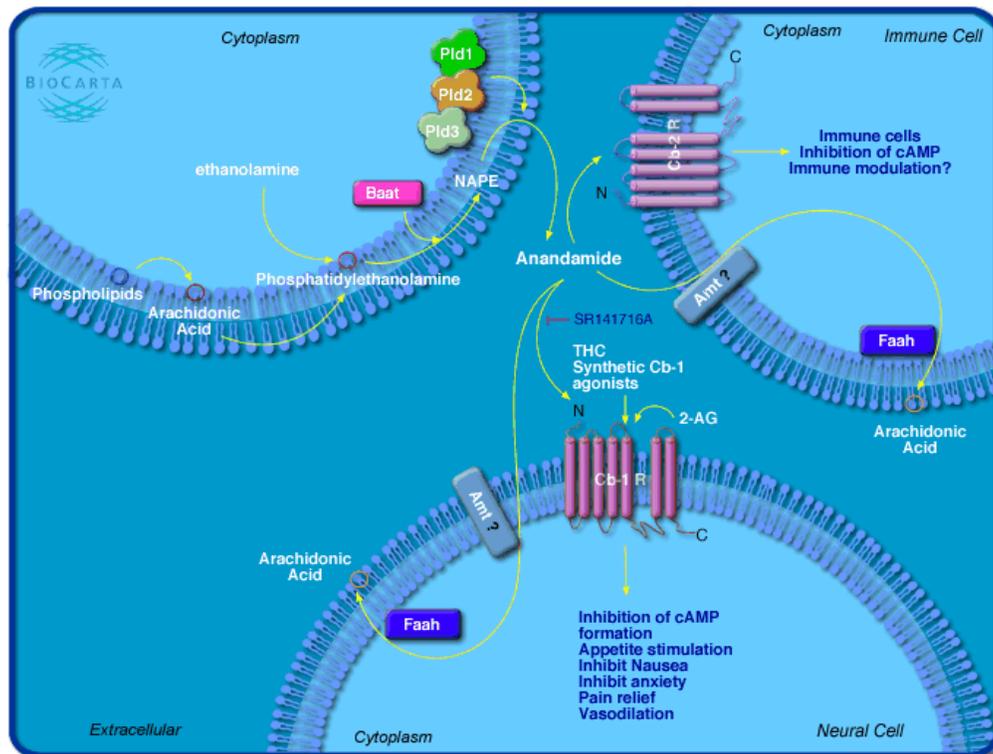


ILUSTRACIÓN 11: MECANISMO Y VÍAS DE TRASDUCCIÓN INTRACELULAR VINCULADAS A LOS CANNABINOIDES

En el caso de los antagonistas cannabinoides, el grupo más estudiado es el de los *diarilpirazoles*. El pionero del grupo, el SR141716 (rimonabant), exhibe una elevada selectividad por el receptor CB1. El rimonabant es el cannabinoide antagonista que más lejos ha llegado en el desarrollo farmacéutico, ya que estuvo aprobado en la Unión Europea para el tratamiento de la obesidad antes de ser retirado del mercado en 2008 por haber producido alteraciones psiquiátricas. El SR144528, fue el primer antagonista selectivo para el receptor CB2.



FARMACOCINETICA DE LOS CANNABINOIDES:

ABSORCION:

La misma se encuentra determinada por la forma de administración.

El fumado constituye la principal vía de administración, constituyendo un rápido y eficiente método de distribución de la droga hacia los pulmones y el cerebro. La biodisponibilidad es del 2-56%, esta variación depende de la variabilidad intra e interindividual en el modo del fumado. El número, la duración, y el espaciamiento de los soplos, el mantenimiento en el tiempo, y el volumen de inhalación, o la topografía de fumar, ejercen una gran influencia en el grado de exposición a la droga.

La formación de 11-OHTHC y THC-COOH es más lenta y con un pico de concentración menor cuando el cannabis es fumado. El THC se detecta en plasma inmediatamente después del fumado, las concentraciones plasmáticas aumentan rápidamente, el pico plasmático ocurre a los 9 minutos.

La forma fumada es preferida por los usuarios de cannabis debido a que permite un rápido inicio de los efectos debido a su rápida distribución.

Por vía oral el THC se absorbe rápidamente debido a que presenta un coeficiente de partición octanol/agua elevado. Las formulaciones de THC sintético con fines terapéuticos, como ser el dronabinol, se pueden administrar por vía oral y rectal.

La absorción por vía oral es lenta, con un pico plasmático de THC más retrasado.

La dosis, ruta de administración, vehículo, factores fisiológicos como la absorción, metabolismo y excreción modifican la concentración de la droga en la circulación.

La biodisponibilidad oral del THC es del 10-20%.

El THC sintético presenta dos picos plasmáticos debido a la circulación enterohepática.



El pico de concentración es bajo y la duración del efecto generalmente es extendido con un retraso en la vuelta a la línea de base cuando el THC es administrado por vía oral, en comparación a la administración fumada.

Luego de la administración vía oral se observan concentraciones de THC-COOH mas elevadas que de THC, en contraste con lo que se observa luego de ser fumada. Las concentraciones de 11-OH-THC son mucho mayores que las de THC, con una ventana de detección amplia.

Debido a la baja biodisponibilidad oral de las formulaciones de THC existen distintas vías de administración alternativas, como ser: oromucosa, sublingual, vaporización e inhalación y rectal.

Con respecto a la vía rectal, existen distintas formulaciones de supositorios evaluadas con la finalidad de maximizar la biodisponibilidad y reducir el metabolismo del primer pasaje. El THC-hemisuccinato presenta alta biodisponibilidad, de alrededor del 13,5%. La biodisponibilidad de la vía rectal es aproximadamente el doble debido a su alta absorción y escaso metabolismo por primer paso.

Otra vía de administración en la cual se suprime el metabolismo primer paso y promueve una adecuada biodisponibilidad es la via tópica. Los cannabinoides son altamente hidrofóbicos, haciendo el transporte a través de la membrana acuosa el paso limitante para el proceso de difusión.

Luego de la aplicación de un parche dérmico, el estado estacionario de la concentración plasmática de $\Delta 8$ -THC se obtiene a las 1,4 hs y se mantiene durante 48 hs. La permeabilidad del CBD y CBN es 10 veces superior a la del $\Delta 8$ -THC.

El THC administrado por vía endovenosa produce un cuadro simil-esquizofrenia con sintomas positivos y negativos, euforia y trastornos cognitivos.



DISTRIBUCION:

La concentración plasmática de THC decae rápidamente luego de finalizar el fumado debido a la rápida distribución hacia los tejidos y su metabolismo hepático. El THC es altamente lipofílico e inicialmente es tomado por los tejidos con alta perfusión como el pulmón, corazón, cerebro y el hígado.

Con el uso prolongado en el tiempo, el THC se concentra en el tejido adiposo, reteniéndose en el organismo por largos períodos de tiempo.

La tolerancia se desarrolla durante la administración oral de 30 mg de THC cada 4 horas, durante 10-12 días. Pequeños cambios farmacocinéticos se observan durante la administración crónica, como ser el promedio total del clearance metabólico y el volumen aparente de distribución que se incrementa de 605 ml/min a 977ml/min y de 2,6 a 6,4 l/Kg respectivamente.

No existe correlación entre las concentraciones plasmáticas y cerebrales, siendo los niveles cerebrales de THC siempre mayores a los plasmáticos.

La barrera hematoencefálica y hematotesticular actúa limitando el depósito de THC en cerebro y testículos durante la exposición aguda, sin embargo durante la exposición crónica los mecanismos farmacocinéticos son insuficientes para prevenir la acumulación de THC en los tejidos con la consiguiente desregulación de los procesos celulares incluyendo la apoptosis de las células espermatogénicas.

La acumulación de THC en los pulmones ocurre debido a la alta exposición del tejido en los fumadores, la extensa perfusión tisular, y la alta captación de compuestos básicos por el pulmón.

El volumen de distribución del THC es amplio, 10 l/Kg; presentando un 95-99% de unión a las proteínas plasmáticas.

El THC rápidamente atraviesa la placenta. Los metabolitos 11-OH-THC y THC-COOH atraviesan la placenta con menor eficiencia. Se ha reportado que los niveles de THC en el cordón umbilical son 3-6 veces menores que en la sangre



materna, lo cual demuestra la escasa transferencia de THC y su metabolito THC-COOH a través de la placenta. El THC alcanza altas concentraciones en la leche materna debido a su liposolubilidad. La concentración de THC en la leche materna es 8,4 veces mayor que las concentraciones plasmáticas maternas.

METABOLISMO:

Metabolismo hepático:

Las reacciones de fase I del THC incluyen la hidroxilación alifática, oxidación de alcoholes a cetonas y ácidos, β -oxidación y degradación del sitio pentil.

En lo referente a las reacciones de fase II la principal es la conjugación con ácido glucurónico.

La hidroxilación del THC en el carbono 9 por acción del sistema enzimático CYP 450 lleva a la producción de un metabolito equipotente que es el 11-OH-THC.

El CYP 450 2C9, 2C19 y 3A4 son los involucrados en la oxidación del THC.

Más de 100 metabolitos del THC, incluyendo compuestos di y tridroxi, cetonas, aldehídos y ácidos carboxílicos fueron identificados.

El pico de 11-OH-THC ocurre a los 13 minutos de iniciarse el fumado.

El CYP 450 2C9 es el principal responsable de la formación de 11-OH-THC, mientras que el CYP 450 3A4 cataliza la formación de 8β -OH-THC, epoxihexahidrocannabinol y otros metabolitos.

La oxidación del 11-OH-THC produce un metabolito inactivo, el THC-COOH. El THC-COOH y su conjugado glucurónido constituyen los mayores productos de la biotransformación del THC.

Las reacciones de fase II del metabolismo del THC-COOH involucran la adición de ácido glucurónico y en menor frecuencia, sulfato, glutatión, aminoácidos y ácidos grasos en la vía del grupo 11-COOH. La adición de un grupo glucurónico favorece la solubilidad en el agua, facilitando su excreción, pero el clearance renal de este metabolito polar es bajo debido a su amplia unión a proteínas.



Luego de la fase de distribución inicial el paso limitante del metabolismo del THC es la redistribución desde los depósitos hacia la sangre.

Metabolismo extrahepático:

Otros tejidos incluyendo el cerebro, intestino y pulmones pueden contribuir al metabolismo del THC a través de una vía alternativa de la hidroxilación.

En el cerebro y cerebelo se halló una alta concentración de CYP 450.

Las enzimas hidrolizantes, esterasas, β -glucuronidasas y sulfatasas se encuentran presentes en el tracto gastrointestinal.

Metabolismo del Cannabidiol (CBD):

Es similar al metabolismo del THC, presentando una oxidación primaria en el C9 para el alcohol y el ácido carboxílico, así como también la oxidación de los sitios secundarios en la cadena. Así como el THC, el CBD está sujeto a un importante efecto de primer pasaje hepático y una gran proporción es eliminada sin cambios en las heces.

Se ha observado que el CBD actúa como inhibidor de las enzimas microsomales hepáticas e inhibe la formación de metabolitos del THC.

La co-administración de CBD no afecta significativamente el clearance total, volumen de distribución y vida media de eliminación de los metabolitos del THC.

El CBD parcialmente inhibe la hidroxilación del THC a 11-OH-THC catalizada por la CYP 2C.

ELIMINACION:

En un lapso de 5 días el 80-90% del THC es eliminado, mayormente en forma de metabolitos hidroxilados y carboxilados. Más del 65% es excretado por las heces y el 20% por la orina. El THC-COOH es eliminado por la orina mientras que el 11-OH-THC es eliminado principalmente por las heces.



La lenta liberación del THC desde los reservorios lipídicos y su significativa circulación enterohepática contribuyen a su prolongada vida media, siendo esta de 4,1 días en usuarios crónicos de cannabis.

CANNABINOIDES Y GLICOPROTEÍNA P:

En lo referente a la interacción de los cannabinoides derivados de la planta *Cannabis sativa* con el transportador multidrogas glicoproteína P, se encontró que tanto el canabidiol (CBD) como el THC reducen la expresión de esta proteína.

Existen dos reportes relacionados en el efecto modulador de los cannabinoides sobre la glicoproteína P:

- El primero de ellos, muestra que el CBD, pero no el THC, inhibe el flujo mediado por la glicoproteína P en concentraciones mayores a los 10 mM.
- El segundo estudio demostró que los endocannabinoides como la anandamida y otros cannabinoides sintéticos inhiben la función de la glicoproteína P.

El canabinol (CBN), canabidiol (CBD) y el tetra-hidrocanabinol (THC) incrementan la acumulación intracelular del sustrato de ABCG2 mitoxantrona (antineoplásico con acción inmunomoduladora) en las líneas celulares que sobreexpresan Abcg2 con el metabolito 11-nor-9-carboxi-D9-THC demostrando actividad más débil.

Los cannabinoides derivados de la planta, interactúan directamente con el transportador ATPasa ABCG2, e inhiben la activación inducida por sustratos. Los cannabinoides son inhibidores de Abcg2/ABCG2.

El ABCG2 se expresa en el hígado, sincitiotrofoblasto placentario y en la superficie apical de las células del intestino delgado, colon y riñón, limitando la



biodisponibilidad de xenobióticos. También se ha encontrado en células hematopoyéticas y en células endoteliales de los vasos sanguíneos cerebrales.

El CBD y el THC reducen la expresión de la glicoproteína P en la línea linfoblástica T.

La sobreexpresión de Abcg2 no confiere resistencia al efecto citotóxico de los cannabinoides CBN, CBD o THC.

La acción antiproliferativa de los cannabinoides puede ser atribuida a la activación de receptores como CB1, CB2 o TRPV.

De los cannabinoides derivados de la planta el THC-A tiene efecto no selectivo y es significativamente menos lipofílico que el compuesto padre THC y que otros derivados de la planta como el CBN y CBD.

La débil modulación del Abcg2 por el THC-A implica la relativa hidrofobicidad la cual podría ser un requerimiento para la interacción con Abcg2, esto provee evidencia sobre el hecho que el Abcg2 podría actuar de manera similar a la glicoproteína P en el reconocimiento de sustratos luego de la compartimentación en la pared interna de la membrana.

La acción moduladora de los cannabinoides sobre la actividad de Abcg2 parece ser debida a su interacción directa con el transportador.

Los efectos inhibitorios de CBN, CBD y THC sobre la actividad de la ATPasa de ABCG2 es concentración dependiente y mas potente que el efecto inhibitor del CBD sobre la glicoproteína P.

El CBD es un potente inhibidor de la glicoproteína P, influenciando la absorción y distribución de drogas que actúan como sustratos de la glicoproteína P.

Se ha observado que el pretratamiento de ratones con CBD incrementa los niveles cerebrales de THC, cocaína, PCP en 3,2 y 4 veces respectivamente. El incremento mediado por el CBD en las concentraciones cerebrales de las diferentes drogas esta correlacionado con la respuesta farmacológica. Esto determina que el CBD es un potente inhibidor de la glicoproteína P que influencia el transporte de sustratos en el intestino y a través de la BHE.



El aumento de los niveles cerebrales de THC luego del pretratamiento con CBD podrían ser debidos a los efectos sobre la BHE y la glicoproteína P.

El CBD es el mayor constituyente no psicoactivo de la marihuana. Presenta propiedades farmacológicas como posible anticonvulsivante, ansiolítico, antipsicótico, anti-nauseoso y antiinflamatorio.

No se conoce con exactitud el mecanismo por el cual el CBD inhibe la glicoproteína P, pero se postula que el CBD se une a un sitio específico de la glicoproteína para inhibir la activación de la ATPasa estimulada por diferentes sustratos y posteriormente disminuir los requerimientos de energía para el transporte de sustratos mediado por la glicoproteína P, resultando en la inhibición de su función.

El pretratamiento con THC incrementa dos veces los niveles plasmáticos de cocaína en voluntarios que reciben dicha droga por vía intranasal. La duración y el número de los efectos eufóricos positivos se incrementa luego del pretratamiento con THC, mientras que la duración de los efectos disfóricos desciende.

Es posible que múltiples mecanismos estén involucrados en los efectos que ejercen los cannabinoides sobre las concentraciones de otras drogas en el cerebro. La farmacocinética podría ser modificada por: efectos en el metabolismo de las drogas, modulación de los transportes cerebrales que transportan las drogas dentro o fuera del compartimiento cerebral o alteraciones en la interacción de las drogas con su unión a las proteínas plasmáticas.

EFFECTOS EN EL METABOLISMO DE LAS DROGAS:

Se conoce que el CBD es un inactivador del citocromo P-450.

El pretratamiento con CBD antes de la administración de THC no solo fracasa en disminuir los niveles sanguíneos de metabolitos de THC sino, que en efecto incrementa marcadamente los niveles cerebrales de los metabolitos.



No hay evidencias en la reducción del metabolismo de la cocaína luego del pretratamiento con CBD, los niveles de norcocaína en sangre y cerebro se han encontrado bastante elevados.

El pretratamiento con THC, el cual no inactiva al citocromo P 450, similarmente incrementa no sólo el CBD sino también los niveles cerebrales de cocaína y PCP, indicando que la inactivación del citocromo P 450 no es requerida para el incremento de los niveles cerebrales de otras drogas.

A pesar de la inhibición ejercida por el CBD a nivel del citocromo P 450, los efectos del pretratamiento con CBD no son consistentes con la inhibición del metabolismo del THC o de la cocaína.

MODULACIÓN DE LOS TRANSPORTADORES CEREBRALES:

El CBD o un metabolito podría actuar incrementando el transporte activo de otras drogas dentro del cerebro o inhibiendo el transportador que bombea a las drogas fuera del cerebro.

ALTERACIONES EN LA UNIÓN A PROTEÍNAS PLASMÁTICAS:

Los niveles cerebrales de drogas son un reflejo no sólo de la concentración sanguínea total, sino también de la fracción libre en la sangre.

Para drogas como los cannabinoides que presentan alta unión a proteínas plasmáticas, la relación existente entre la droga unida-droga libre podría ser importante.

El CBD o un metabolito podrían ejercer influencia en los niveles cerebrales de las drogas al alterar la fracción no unida a las proteínas a través de la interacción con las proteínas plasmáticas, llevando a un aumento de la droga libre la cual pasa a través de la barrera hemato-encefálica.



Dado que la co-administración de cannabinoides no incrementa los niveles cerebrales de THC, podemos concluir que, o bien el CDB o un metabolito es necesario o que el proceso no implica la unión competitiva a las proteínas plasmáticas.

En los últimos tiempos resurgió el interés de las aplicaciones terapéuticas de los cannabinoides en el tratamiento del dolor crónico, esclerosis múltiple y cáncer.

En lo referente al tratamiento del cáncer, las cualidades analgésicas, antieméticas y de aumento del humor han justificado su uso en el tratamiento paliativo de dicha enfermedad.

La glicoproteína P actúa de manera dependiente de energía en la extrusión de diversas sustancias, como los antineoplásicos. Dicho eflujo previene la acumulación intracelular de los mismos.

De los cannabinoides derivados de la planta *Cannabis Sativa*, el CBN y el CBD actúan inhibiendo la actividad de la glicoproteína P.

En un estudio se observó que la exposición prolongada, durante 72 hs, al THC y CBD disminuyen la expresión de la glicoproteína P. Además de inducir alteraciones en el tráfico intracelular de la glicoproteína P hacia la membrana celular.

El descenso en la expresión de la glicoproteína P resulta en una regulación transcripcional en menos del MDR1 o en una disrupción en la traslación de proteínas.

Los cannabinoides no inhiben en forma directa la función de la glicoproteína P. La exposición prolongada a los cannabinoides provenientes de la planta parece disminuir modestamente la expresión de la glicoproteína P, con un concomitante incremento en la sensibilidad de las células MDR a los sustratos de la glicoproteína P, como los agentes antineoplásicos.

Estos resultados sugieren que los cannabinoides podrían administrarse en forma segura en los pacientes con cáncer que desarrollan resistencia a los agentes quimioterápicos inducido por la glicoproteína P.



BIBLIOGRAFIA:

- 1- Aller SG, Yu J, Ward A, Weng Y, Chittaboina S, Zhuo R, Harrell PM, Trinh YT, Zhang Q, Urbatsch IL, Chang G. Structure of P-Glycoprotein reveals a molecular basis for poly-specific drug binding. *Science*. 2009; 323(5922):1718-22.
- 2- Becker JP, Depret G, Van Bambeke F, Tulkens PM, Prévost M. Molecular models of human P-glycoprotein in two different catalytic states. *BMC Struct Biol* 2009; 9:3.
- 3- Chang C, Bahadduri PM, Polli JE, Swaan PW, Ekins S. Rapid identification of P-glycoprotein substrates and inhibitors. *Drug Metab Dispos* 2006; 34(12):1976-84.
- 4- Fernández-Águila J, Crombert-Ramos O, Villares-Álvarez I, Pons Vásquez R. Resistencia a drogas mediada por la glicoproteína P. *Rev Cubana Oncol* 1998; 14(2): 111-20.
- 5- Giacomini KM, Sugiyama Y. Transportadores de membrana y respuesta a los fármacos. Capítulo 2, Páginas 41 a 69. En: Brunton LL, Lazo JS, Parker KL. Goodman & Gillman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. McGraw-Hill Editions, 11th Edition, 2007.
- 6- Grotenhermen F. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cannabinoids. *Clin Pharmacokinet* 2003;42(4):327-60.
- 7- Guzmán M. Cannabinoids: potential anticancer agents. *Nat Rev Cancer* 2003; 3(10):745-55.



- 8- Holland ML, Allen JD, Arnold JC. Interaction of plant cannabinoids with the multidrug transporter ABCC1 (MRP1). *Eur J Pharmacol* 2008; 591(1-3):128-31.
- 9- Holland ML, Lau DT, Allen JD, Arnold JC. The multidrug transporter ABCG2(BCRP) is inhibited by plant-derived cannabinoids. *Br J Pharmacol* 2007; 152(5):815-24.
- 10- Holland ML, Panetta JA, Hoskins JM, Bebawy M, Roufogalis BD, Allen JD, Arnold JC. The effects of cannabinoids on P-glycoprotein transport and expression in multidrug resistant cells. *Biochem Pharmacol* 2006;71(8):1146-54.
- 11- Huestis MA. Human cannabinoid pharmacokinetics. *Chem Biodivers* 2007; 4(8):1770-804.
- 12- Mechoulam R, Hanus L. Cannabidiol: an overview of some chemical and pharmacological aspects. Part I: chemical aspects. *Chem Phys Lipids* 2002; 121(1-2):35-43.
- 13- Mustata C, Torrens M, Pardo R, Perez C, The Psychonaut web Mapping Group, Ferré M. Spice drugs: cannabinoids as a new designer drugs. *Adicciones* 2009; 21(3):181-186.
- 14- Nieri P, Romiti N, Adinolfi B, Chicca A, Massarelli I, Chieli E. Modulation of P-glycoprotein activity by cannabinoid molecules in HK-2 renal cells. *Br J Pharmacol* 2006; 148(5):682-7.
- 15- Preusch PC. Equilibrative and Concentrative transport mechanism. 14th Chapter, Page 197-220. En: Atkinson A et Al. *Principles of clinical pharmacology*. Elsevier, Second Edition, 2007.



- 16- Rakhshan F, Day TA, Blakely RD, Barker EL. Carrier-mediated uptake of the endogenous cannabinoid anandamide in RBL-2H3 cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 292(3):960-7.
- 17- Reid MJ, Bornheim LM. Cannabinoid-induced alterations in brain disposition of drugs of abuse. *Biochem Pharmacol* 2001;61(11):1357-67.
- 18- Robertson S, Penzak S. Drug Interactions. 15th Chapter, Page 229-243. En: Atkinson A et Al. *Principles of clinical pharmacology*. Elsevier, Second Edition, 2007.
- 19- Rubio MC, Implicancias de la Glicoproteína P en la farmacocinética. Disponible en <http://www.ffyb.uba.ar/academia/art3.htm>.
- 20- Ruiz Gómez MJ, Souvion Rodríguez A, Martínez Morillo M. La glicoproteína-P una bomba de membrana que representa una barrera a la quimioterapia de los pacientes con cáncer. *An Med Interna (Madrid)* 2002; 19(9):477-485.
- 21- Sagar DR, Gaw AG, Okine BN, Woodhams SG, Wong A, Kendall DA, Chapman V. Dynamic regulation of the endocannabinoid system: implications for analgesia. *Mol Pain* 2009; 5:59.
- 22- Schinkel AH, Wagenaar E, Mol CA, van Deemter L. P-glycoprotein in the blood-brain barrier of mice influences the brain penetration and pharmacological activity of many drugs. *J Clin Invest* 1996; 97(11):2517-24.
- 23- Zhu HJ, Wang JS, Markowitz JS, Donovan JL, Gibson BB, Gefroh HA, Devane CL. Characterization of P-glycoprotein inhibition by major cannabinoids from marijuana. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 317(2):850-7.