

PAPEL DE LOS ENDOCANABINOIDES EN ATEROSCLEROSIS: RELACIÓN CON LA FUNCIÓN ENDOTELIAL

PATRICIO LÓPEZ-JARAMILLO^{1,2,*}, YALIL TOMÁS BRACHO¹ Y LINA PATRICIA PRADILLA¹

¹ INSTITUTO DE INVESTIGACIONES, FUNDACIÓN CARDIOVASCULAR DE COLOMBIA(FCV).

² FACULTAD DE MEDICINA, UNIVERSITARIA DE SANTANDER (UDES), BUCARAMANGA, COLOMBIA.

Resumen

Los recientes estudios acerca del metabolismo de los endocannabinoides han permitido establecer su papel fisiológico y fisiopatológico en el sistema cardiovascular y metabólico. Es así como través del receptor CB1, los endocannabinoides regulan la homeostasis energética, la acumulación de grasa y el mantenimiento del peso corporal y a través del receptor CB2, ejercen importantes efectos antiinflamatorios y reguladores del tono vascular. Estos efectos, diferenciados de acuerdo con el tipo de receptor con que actúa, permiten proponer que el bloqueo del receptor CB1 con Rimonabant, se muestra útil en el tratamiento de pacientes obesos con Síndrome Metabólico y tendría también efectos antiaterogénicos, al ejercer una regulación positiva sobre la unión de los endocannabinoides al receptor CB2, ocasionando efectos antiinflamatorios y de recuperación de la función endotelial. En el momento, esta propuesta se encuentra en estudio en nuestro instituto.

Palabras claves: endocannabinoides, función endotelial, riesgo cardiovascular, rimonabant, síndrome metabólico, óxido nítrico.

ENDOCANNABINOID ROLE IN ATHEROSCHLEROSIS: RELATIONSHIP WITH ENDOTHELIAL FUNCTION

Abstract

The recent advances in the knowledge of the endocannabinoid system, have allowed to establish their physiopathologic rol in the cardiovascular and metabolic system. Endocannabinoids, through the CB1 receptor, regulates the energy homeostasis, the accumulation of fat and the maintenance of the corporal weight, and through the CB2 receptor, endocannabinoids have an important anti-inflammatory effects and regulates the vascular tone. These different effects according to the type of receptor, allow to propose that the blockade of the CB1 receptor with Rimonabant, that has been shown useful in the treatment of obese patient with Metabolic Syndrome, would also have antiatherogenics effects for "up regulate" the union of the endocannabinoids to the CB2 receptor causing antiinflammatory effects and recovery of the endothelial function. This proposal could be tested in our laboratory.

Key words: endocannabinoids, endothelial function, cardiovascular risk, rimonabant, metabolic syndrome, nitric oxide.

* Dirección electrónica: Patricio López-Jaramillo, joselopez@fcv.org

Dirección postal: Instituto de Investigaciones, Fundación Cardiovascular de Colombia (FCV), Bucaramanga, Colombia.

Recibido: mayo 2 de 2005. Aceptado: mayo 25 de 2005.

El sistema endocanabinoide

La utilización de la marihuana con fines terapéuticos se remonta al año 2600 AC, mientras que su uso recreativo en los países occidentales, aparece solamente en el siglo XIX¹. Sin embargo, sólo hasta el año 1964 es que Gaoni y Mechoulam², identificaron su compuesto activo, el Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC). A partir de 1988, luego del descubrimiento de los receptores de cannabinoides en el cerebro de la rata, conocidos como receptores cannabinoides tipo 1 y tipo 2 (CB1R y CB2R), se inició el estudio de su fisiología y con ella, la descripción de diferentes sustancias con propiedades agonistas y antagonistas de los mismos³⁻⁶.

Los cannabinoides endógenos se identificaron como sustancias derivadas de ácidos grasos provenientes de la remodelación de la membrana celular, entre los que se destacan la anandamida o N-araquidoniletanolamina (AEA), identificada en extractos lipídicos cerebrales, y el 2-araquidonilglicerol (2-AG)¹ que es principalmente agonista del CB1R y que se encuentra en mayor concentración en cerebro. Este tiene una vida media corta debido a su rápida degradación por esterasas. La mayor expresión del CB2R se encuentra en células del sistema inmune incluyendo células B, T y monocitos^{1,7,8}.

La biosíntesis de la anandamida se inicia por acción de la enzima N-aciltransferasa (NAT), que produce N-acilfosfatidiletanolamida, la cual, por acción de la N-araquidonilfosfatidiletanolamina (NArPE) fosfolipasa D, genera una familia de compuestos conocidos como araquidonilgliceroletanolaminas (FAEs) que incluyen al 2-AG⁹⁻¹³ y a la anandamida. Otras sustancias que hacen parte de las FAEs son la palmitoiletanolamida (PEA), la oleilamida que es inductora de sueño y la oleiletanolamida (OEA) que actúa como anorexígena^{10,11} y que además tiene efectos importantes sobre los receptores activadores de los proliferadores del peroxisoma alfa (PPAR) (Figura 1). Las dos últimas sustancias no tienen actividad intrínseca sobre los receptores cannabinoides tipo 1 ó 2, por lo que no son consideradas endocannabinoides¹⁰.

La NAT es regulada por calcio y adenosin monofosfato cíclico (AMPC) y es estimulada selectivamente por despolarización celular, o por acción

del receptor metabotrópico para ácido glutámico, dopamina o acetilcolina^{1,10,12}.

La anandamida es degradada por acción de la ácido graso amido hidrolasa (FAAH), generando ácido graso y etanolamida, sustancias cuantificables en plasma. El 2-AG es degradado por la acción de monoacilglicerolipasa (MAGL) y de la FAAH y genera glicerol y ácido araquidónico^{1,10}.

Una de las características de los endocannabinoides es su incapacidad de ser almacenados en las terminales nerviosas, razón por la cual no son considerados como neurotransmisores propiamente dichos, sino como sustancias de comportamiento hormonal, dado que su producción y liberación ocurren a necesidad, encontrándose silente en estado de relajación y activo ante situaciones de estrés.

Existen evidencias que sugieren que la leptina es la hormona que regula la expresión del sistema endocanabinoide. La leptina, uno de los principales reguladores de la ingesta alimentaria dependiente de depósitos energéticos, actúa aumentando los neuropéptidos anorexígenos, como la hormona estimulante de melanocitos alfa (MSH) y reduciendo los orexígenos como el neuropéptido Y¹³. Estudios experimentales sugieren la existencia de una regulación negativa de la leptina sobre los endocannabinoides, efecto que parece ser específico para el área hipotalámica, ya que no se demostraron cambios a nivel cerebelar¹³.

Acción de los endocannabinoides en la función endotelial

Los efectos más conocidos a nivel vascular se manifiestan por vasodilatación, hipotensión y taquicardia. Estas acciones de los endocannabinoides dependen del tipo de lecho vascular y del mecanismo de acción a nivel endotelial¹⁴. Para explicar la asociación entre el sistema endocanabinoide y la función endotelial se han propuesto diversas hipótesis, una de ellas a través de una interacción con el óxido nítrico (NO), o con el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF).

Como indicamos anteriormente, los endocannabinoides inducen cambios en el tono vascular a través de acciones en el endotelio, células que tienen un

papel crucial en la regulación del tono vascular y la presión arterial¹⁵ a través de la síntesis y liberación de sustancias vasoactivas como el NO, la prostaciclina (PGI₂) y el EDHF. Una relación entre endocannabinoides y NO fue sugerido cuando se demostró que la vasodilatación inducida por el endocanabinoide anandamida era abolida por la administración de un inhibidor de la síntesis del NO¹⁶ y por el hecho de que este endocanabinoide incrementó la producción de NO en células endoteliales cultivadas. Además, la anandamida induce un aumento del flujo transmembranal de calcio en estas células¹⁷, evento crucial para la síntesis de NO¹⁸.

Sin embargo, aún no se define bien el papel del CB₁R en los efectos de los endocannabinoides sobre la síntesis del NO, llegándose a plantear, en una hipótesis que no está demostrada de manera consistente, la existencia de otro receptor, diferente al CB₁R, que explique el mencionado efecto¹⁷ y que además, incida más en la liberación del EDHF que de NO.

En su conjunto, estos datos sugieren que los efectos de la anandamida en las células endoteliales pueden no ser mediados necesariamente por el CB₁R, lo cual se soporta con la observación de que ratones “knock out” para el CB₁R mantienen el efecto vasodilatador del endocanabinoide. Sin embargo, en otros estudios se demuestra que la anandamida estimula los receptores vanilloides en los nervios sensoriales, lo que produce vasodilatación, vía liberación del neurotransmisor vasoactivo y denominado péptido relacionado con el gen de la calcitonina, efecto que pierde importancia en ausencia de NO¹⁹.

Es posible que las contradicciones observadas en estos modelos “*in vitro*” puedan deberse al tipo de preparación de los tejidos y las células, a diferencias en la región anatómica de donde se obtiene la arteria, lo cual se relaciona con la capacidad de sintetizar otros mediadores, como son los derivados del ácido araquidónico, e inclusive, a diferencias en las especies de los animales utilizados. Es interesante destacar que el único trabajo realizado en arterias miométriales humanas demostró que la anandamida no tiene un efecto vasodilatador en estas arterias “*ex vivo*”²⁰.

Si los datos en tejidos vascular “*ex vivo*” son confusos, los estudios “*in vivo*” son igualmente contradictorios y demuestran que los endocannabinoides producen efectos hipotensores o hipertensores. Es así como en 1996 se reportó que la anandamida causa una respuesta trifásica en ratas anestesiadas, con una bradicardia vagal e hipotensión secundaria inicial, seguida de un efecto presor transitorio y finalmente hipotensión mantenida por largo tiempo. Estos efectos fueron mediados por el CB₁R y dependientes del control simpático²¹. Estudios posteriores demostraron de manera consistente, que el estado basal del tono simpático afecta en forma importante la respuesta vascular a los endocannabinoides²²⁻²⁴.

En animales concientes, la anandamida causa bradicardia profunda que se acompaña de un efecto hipotensor transitorio, seguido de un efecto vasopresor de larga duración²⁵. Estos efectos fueron bloqueados con inhibidores de la cicloxigenasa y parecen depender también, del tono simpático²⁶. Estudios realizados con cannabinoides sintéticos han demostrado que los efectos vasculares son mediados por el CB₁R y por un aumento de la actividad simpática²⁷⁻²⁹. La contradicción en estos efectos puede obedecer a la acción de los endocannabinoides tanto a nivel central como periférico y se ha observado que la administración intracisternal de varios agonistas cannabinoides en conejos concientes, ocasionan tanto excitación simpática, como aumento del sistema vagal con bradicardia y efectos presores²³, hecho que sugiere que los efectos centrales de los cannabinoides, pueden oponerse a sus efectos periféricos.

Contrario a lo observado en animales, los estudios en humanos con administración de cannabinoides –inclusive por la vía recreativa de fumar– ocasionan hipertensión con taquicardia pronunciada, que se acompaña de un rápido aumento en la liberación y en las concentraciones circulantes de noradrenalina, efecto que parece ser mediado por CB₁R³⁰. Las razones para estas respuestas contradictorias entre los modelos animales y el hombre parecen relacionarse con las altas dosis que se utilizan en animales y también con las diferencias medio ambientales que rodean los experimentos en los voluntarios humanos y en los animales concientes o anestesiados³⁰.

La significación fisiológica de los efectos vasculares de los endocannabinoides está todavía por determinarse y hasta el momento no es clara; consecuentemente es difícil asignar al sistema endocanabinoide un papel bien definido en la regulación fisiológica de la función vascular, siendo tal vez más importante en situaciones fisiopatológicas. Varios trabajos^{31,32} han demostrado que en situaciones experimentales de choque endotóxico o hemorrágico, los macrófagos activados liberan anandamida y las plaquetas 2-AG, las cuales pueden contribuir a la hipotensión que caracteriza a estos modelos experimentales de choque. Además, en condiciones de hipoxia, las neuronas liberan anandamida, hecho que contribuye a una mejora del flujo sanguíneo y a protección contra la isquemia³³. Experimentos recientes refuerzan esta observación, al demostrar el papel protector de los endocannabinoides en el corazón de ratas sometidas a endotoxinas, efecto que estaría mediado por la activación del CB2R.

Sistema endocanabinoide y aterosclerosis

Es ampliamente reconocido el papel de la aterosclerosis en el desarrollo de enfermedad coronaria y cerebrovascular³⁴, las cuales se han convertido en las últimas décadas, en la primera causa de mortalidad en Colombia³⁵. El infarto agudo del miocardio, cuyos factores de riesgo han sido bien definidos por el estudio Interheart, demostró también que esos factores son similares en el primer y tercer mundo y que se presenta por primera vez, en los países desarrollados, a los 72 años de edad en promedio y en Colombia a los 58 años. Esta enorme diferencia significa años de vida útiles perdidos, lo que tiene enorme impacto en la economía y en el sistema de salud³⁵. Uno de los factores claves en el proceso etiofisiopatológico de la aterosclerosis es la inflamación^{8,34} la cual -en nuestro país- parece estar asociada a una mayor sensibilidad de la población a desarrollar inflamación de bajo grado a menores niveles de obesidad visceral y a una mayor exposición a infecciones subclínicas³⁶⁻³⁸.

En los últimos años ha quedado claro que la aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria crónica^{8,34}. En este contexto es muy interesante el hecho que los derivados de los cannabinoides como el THC modulan la función inmune³⁹⁻⁴¹ y han sido pro-

puestos como potenciales alternativas terapéuticas de enfermedades inflamatorias. Recientemente Steffens *et al*⁸ demostraron en un modelo murino de aterosclerosis con ratones "knock out" para apolipoproteína E, que el THC, el mayor componente de la marihuana, era capaz de reducir la lesión aterosclerótica a dosis menores que las necesarias para producir sus efectos psicotrópicos, tanto en animales como en humanos y que esa acción antiaterosclerótica era mediada por el CB2R. El efecto inhibitorio del THC en la progresión de la lesión aterosclerótica temprana fue completamente abolido en presencia de antagonistas del CB2R, e independiente de los efectos en los niveles séricos de colesterol y triglicéridos y en el peso corporal. Se observó además, una significativa disminución en el número de macrófagos infiltrados en la lesión en los animales tratados con THC, con respecto a los animales del grupo control.

Este resultado es de gran interés, puesto que en las lesiones iniciales del proceso aterosclerótico, uno de los elementos básicos es el reclutamiento de células blancas dentro de las lesiones, dado por un aumento en la adhesión y migración de los leucocitos hacia la lesión aterosclerótica. El THC produjo una significativa reducción de la adhesión leucocitaria a la pared vascular y este efecto se relacionó con un potente efecto antiinflamatorio del THC a través de la supresión de la respuesta tipo 1 de la célula T ayudadora (Th1). Las células Th1 representan la mayor población de células T activadas dentro de la lesión aterosclerótica e interesantemente, este efecto del THC resultó en una significativa reducción de la citoquina proinflamatoria interferón gamma (IFN- γ).

Es bien conocido que el desarrollo temprano de la aterosclerosis se asocia con disfunción endotelial, la que se presenta en respuesta a la presencia de factores de riesgos cardiovasculares clásicos^{42,44}. Esta alteración del endotelio dispara el reclutamiento de leucocitos en la pared vascular y la administración de THC produjo una marcada reducción de la expresión del receptor CCR2 de la proteína 1 quimioatrayente de los monocitos. Es por eso que el trabajo de Steffens *et al*, publicado recientemente en Nature, demuestra claramente que bajas dosis de THC, menores de las que producen efectos psicotrópicos, inhiben significativamente la progresión de la aterosclerosis en ratones. Este fenómeno

antiaterosclerótico es posiblemente mediado por el CB2R, el cual se expresa fuertemente en los macrófagos y linfocitos T que se encuentran dentro de las lesiones ateroscleróticas. Las propiedades antiateroscleróticas del THC están asociadas con una reducción de la respuesta Th1 y con inhibición de la migración de monocitos/macrófagos al sitio de la inflamación. Resulta interesante especular que los derivados canabinoides con actividad en el receptor CB2, pueden ser blancos clínicos para el tratamiento de la aterosclerosis.

En este sentido son muy llamativos los resultados obtenidos con el antagonista del CB1R, Rimobant, molécula que se muestra como un excelente fármaco para reducir múltiples factores de riesgo cardiovascular. La expresión del CB1R es amplia e incluye el cerebro, tejido adiposo, músculo, hígado y tracto gastrointestinal. Los endocannabinoides actúan centralmente en el hipotálamo, donde tienen efectos orexígenos y periféricamente aumentan la actividad de la lipasa lipoproteica en el tejido adiposo, aumentando la captación de glucosa en el músculo esquelético¹³.

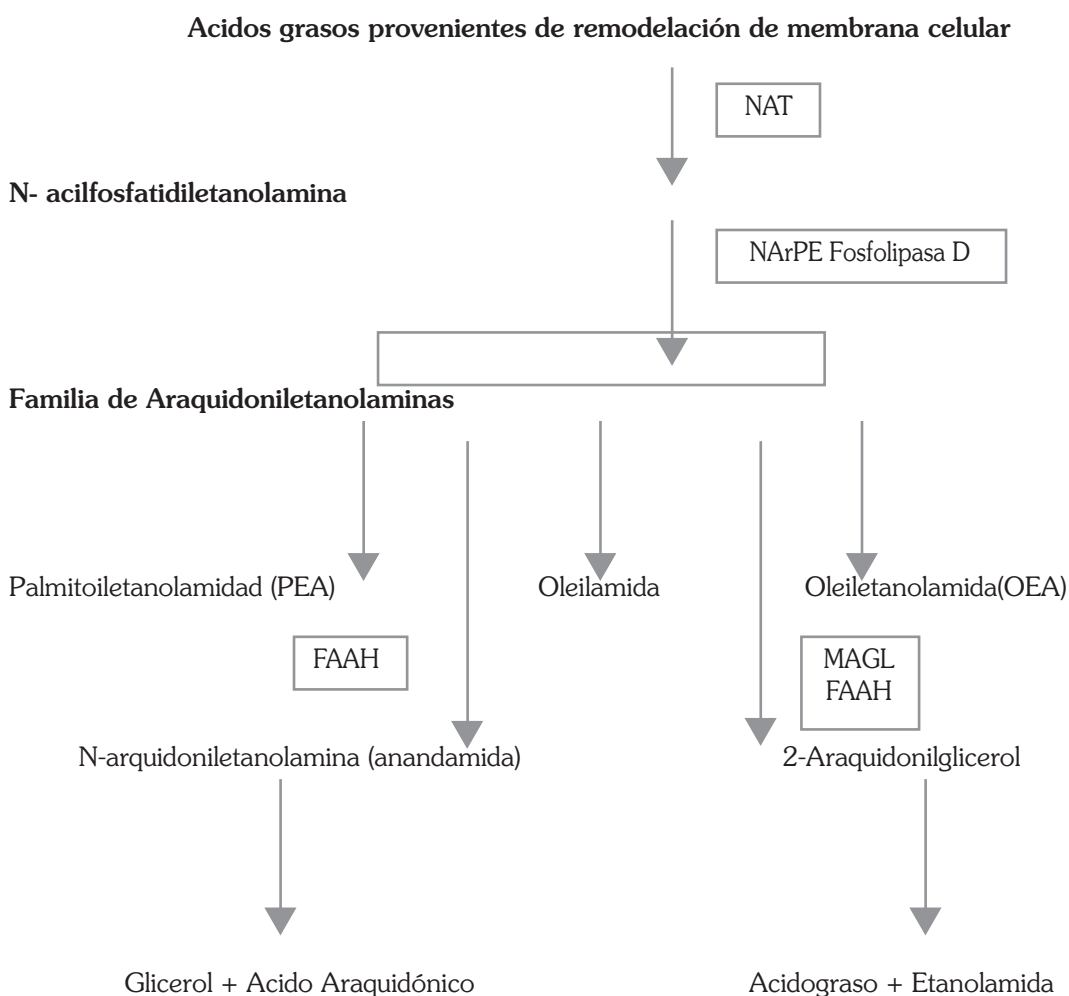


FIGURA 1. Metabolismo de los principales endocannabinoides.

Tras la remodelación de la membrana celular con la liberación de ácidos grasos, se genera anandamida por acción de la N-aciltransferasa (NAT), que produce N-acilfosfatidiletanolamina. Ésta por efecto de la N-araquidonilfosfatidiletanolamina (NArPE) miembro de la fosfolipasa D origina la familia de araquidonilgliceroliletanolaminas (FAE). La degradación de anandamida y 2-AG ocurre por la acido graso amido hidrolasa (FAAH) y la monoacilglicerolipasa (MAGL).

El efecto del bloqueo del CB1R con Rimonabant fue ampliamente estudiado en el programa RIO (Rimonabant in Obesity), que incluyó a más de 6.600 pacientes y que demostró que en pacientes obesos, el Rimonabant fue efectivo para inducir en forma consistente pérdida de peso y de la circunferencia abdominal, logró además una efectiva reducción de triglicéridos séricos con aumento de HDL-colesterol, mejoró la glicemia en ayunas, y a la sobrecarga a la glucosa, los niveles de la insulina en ayunas y la resistencia a la insulina⁴⁴. Interesantemente, se observó también una consistente mejoría en parámetros aterogénicos; el Rimonabant produjo un aumento de la adiponectina, la citoquina de adipositos, con efectos antiateroscleróticos y antidiabéticos⁴⁵ y disminución de la proteína C reactiva, molécula asociada con inflamación, aterosclerosis y obesidad^{44,46}. Muchos de estos efectos

fueron independientes de la reducción de peso, lo que sugiere que algún otro mecanismo, además de la pérdida de adiposidad visceral, puede estar involucrado en los efectos beneficiosos del Rimonabant.

Hipótesis

Con base en la anterior revisión, nosotros proponemos que el bloqueo del receptor CB1 con Rimonabant regula positivamente la unión de los endocannabinoides con el receptor CB2, ocasionando efectos antiinflamatorios que se manifiestan por disminución de PCR, mejoría de la función endotelial y consecuentemente la restauración de sus funciones antiateroscleróticas, antitrombóticas, vasodilatadoras y antidiabéticas (Figura 2).

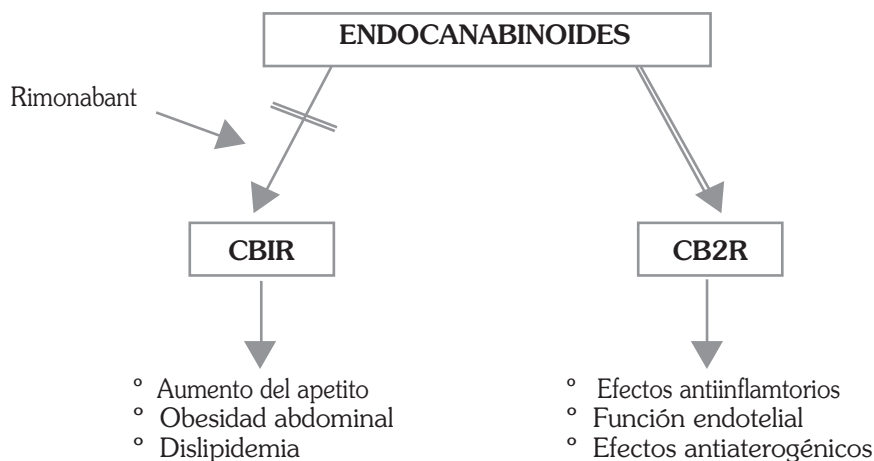


FIGURA 2. Regulación positiva de la unión de los endocannabinoides con el receptor CB2. El bloqueo del receptor CB1 con Rimonabant regula positivamente la unión de los endocannabinoides con el receptor CB2 ocasionando efectos antiinflamatorios y consecuentemente la restauración de las funciones antiateroscleróticas, antitrombóticas, vasodilatadoras y antidiabéticas del endotelio vascular.

Esta propuesta se puede probar con estudios clínicos que evalúen en pacientes con Síndrome Metabólico, el efecto de Rimonabant en la vasodilatación mediada por flujo (VMF) el cual es un método efectivo y validado en Colombia para evaluar la función endotelial^{43,46,47}, en las concentraciones de PCR y en el índice de resistencia a la insulina (HOMA-R). La administración simultánea de THC y Rimonabant, de frente a placebo del antagonista del CB1R y de placebo para THC, luce también como una interesante intervención a ser estudiada.

Conclusiones

Los endocannabinoides están claramente involucrados en la regulación periférica de la homeostasis de energía, en la acumulación de grasa y en el mantenimiento del peso corporal a través del receptor CB1R. A través del receptor CB2R, no están bien definidos sus efectos en la regulación del tono vascular, pero si hay consistencia en su efecto anti-inflamatorio. Manipulaciones farmacológicas demuestran un claro efecto antiaterosclerótico del THC a través

del CB2R en modelos animales de aterosclerosis, mientras que el bloqueo del receptor CB1 con Rimonabant en pacientes con Síndrome Metabólico, muestra también un claro efecto antiaterosclerótico, antiinflamatorio y de pérdida de peso. Nosotros proponemos que la administración de Rimonabant y su efecto beneficioso en los factores de riesgo cardiovascular, pueden estar asociados con una reversión de la disfunción endotelial al regular positivamente los efectos antiinflamatorios de los endocannabinoides a través del CB2R. Esta hipótesis puede probarse en nuestro laboratorio y clarificaría la relación del sistema endocanabinoide con la función endotelial y su potencial impacto como agente terapéutico anti Síndrome Metabólico y antiaterosclerótico.

Agradecimientos

A COLCIENCIAS por el apoyo financiero a los proyectos ABOCAD (cod 6566-04-12914) y FACED (cod 6566-04-16494).

Referencias

1. Di Marzo V, Bifulco M, De Petrocellis. The Endocannabinoid system and its Therapeutic Exploitation. *Nature Rev Drug Discov.* 2004;3:771-784.
2. Gaoni, Y. and Mechoulam, R. Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J Am Chem Soc.* 1964;86:1646-1647.
3. Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ et al. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature.* 1990; 346:561-564.
4. Gerard CM, Mollereau C, Vassart G et al. Molecular cloning of a human cannabinoid receptor which is also expressed in testis. *Biochem J.* 1991;279 (Pt 1):129-134.
5. Devane WA, Hanus L, Breuer A et al. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science.* 1992;258: 1946-1949.
6. Rinaldi-Carmona M, Barth F, Heaulme M et al. SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Lett.* 1994; 350:240-244.
7. Hillard CJ. Endocannabinoids and Vascular Function. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000;294:27-32.
8. Steffens S, Veillard NR, Arnaud C, Pelli G, Burger1 F, Staub C, et al. Low dose oral cannabinoid therapy reduces progression of atherosclerosis in mice. *Nature.* 2005; 434:782-786.
9. Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A et al. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;215:89-97.
10. Rodríguez F. The endocannabinoid system and food intake control. *Rev Med Univ Navarra.* 2004;48: 18-23.
11. Fu J, Gaetani S, Oveisi F et al. Oleyethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR-alpha. *Nature.* 2003;425:90-93.
12. Fegley D, Kathuria S, Mercier R et al. Anandamide transport is independent of fatty-acid amide hydrolase activity and is blocked by the hydrolysis-resistant inhibitor AM1172. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:8756-8761.
13. Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L et al. Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature.* 2001;410:822-825.
14. Hillard CJ. Endocannabinoids and vascular function. *JPET.* 2000; 294:27-32.
15. López-Jaramillo P, Casas JP. Endothelial dysfunction, angiotensin-converting enzyme inhibitors and calcium antagonists. *J Hum Hypertens.* 2002;16 Suppl 1:S34-7.
16. Deutsch D, Goligorsky MS, Schmid PC, Krebsbach RJ, Schmid HHO, Das SK, et al. Production and physiological actions of anandamide in the vasculature of the rat kidney. *J Clin Invest.* 1997;100: 1538-1546.
17. Varga K, Lake K, Martin BR and Kunos G. Novel antagonist implicates CB1 cannabinoid receptor in the hypotensive action of anandamide. *Eur J Pharmacol.* 1995;278:279-283.
18. López-Jaramillo P, Gonzalez MC, Palmer RM, Moncada S. The crucial role of physiological Ca²⁺ concentrations in the production of endothelial nitric oxide and the control of vascular tone. *Br J Pharmacol.* 1990;101(2):489-193.
19. Harris D, McCulloch AI, Kendall DA and Randall MD. Characterisation of vasorelaxant responses to anandamide in the rat mesenteric arterial bed. *J Physiol.* 2002;539: 893-902.
20. Kenny LC, Baker PN, Kendall DA, Randall MD and Dunn WR. The role of gap junctions in mediating endothelium-dependent responses to bradykinin in myometrial small arteries isolated from pregnant women. *Br J Pharmacol.* 2002;136:1085-1088.
21. Varga K, Lake KD, Huangfu D, Guyenet PG and Kunos G. Mechanism of the hypotensive action of anandamide in anaesthetised rats. *Hypertension.* 1996;28:682-686.
22. Ralevic V. Cannabinoid modulation of peripheral autonomic and sensory neurotransmission. *Eur J Pharmacol.* 2003;471:1-21.
23. Niederhoffer N and Szabo B. Effect of the cannabinoid receptor agonist WIN55212-2 on sympathetic cardiovascular regulation. *Br J Pharmacol.* 1999;126:45-466.
24. Niederhoffer N, Schmid K and Szabo B. The peripheral sympathetic nervous system is the major target of cannabinoids in eliciting cardiovascular depression. *Nauyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2003;367:434-443.
25. Stein EA, Fuller SA, Edgmond WS and Campbell WB. Physiological and behavioural effects of the endogenous cannabinoid, arachidonylethanolamine (anandamide), in the rat. *Br J Pharmacol.* 1996; 119:107-114.
26. Lake KD, Martin BR, Kunos G and Varga K. Cardiovascular effects of anandamide in anaesthetized and conscious normotensive rats. *Hypertension.* 1997;29: 1204-1210.

27. Gardiner SM, March JE, Kemp PA and Bennett T. Regional haemodynamic responses to the cannabinoid agonist, WIN 55212-2, in conscious, normotensive, and in hypertensive, transgenic rats. *Br J Pharmacol.* 2001; 133:445-453.
28. Gardiner SM, March JE, Kemp PA and Bennett T. Complex regional haemodynamic effects of anandamide in conscious rats. *Br J Pharmacol.* 2002;135:1889-1896.
29. Gardiner SM, March JE, Kemp PA and Bennett T. Influence of the CB1 receptor antagonist, AM 251, on the regional haemodynamic effects of WIN 55212-2 or HU 210 in conscious rats. *Br J Pharmacol.* 2002;136: 581-587.
30. Jones RT. Cardiovascular system effects of marijuana. *J Clin Pharmacol.* 2002; 42:58S-63S (Suppl.).
31. Wagner JA, Varga K, Ellis EF, Rzigalinski BA, Martin BR and Kunos G. Activation of peripheral CB1 cannabinoid receptors in haemorrhagic shock. *Nature.* 1997;390: 518-521.
32. Varga K, Wagner JA, Bridgen DT and Kunos G. Platelet- and macrophage-derived endogenous cannabinoids are involved in endotoxin-induced hypotension. *FASEB J.* 1998;12:1035-1044.
33. Gebremedhin D, Lange AR, Campbell WB, Hillard CJ and Harder DR. Cannabinoid CB1 receptor of cat cerebral arterial muscle functions to inhibit L-type Ca²⁺ channel current. *Am J Physiol.* 1999; 276:H2085-93.
34. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature.* 2002; 420:868-874.
35. López-Jaramillo P, Casas JP, Bautista L et al. An integrated proposal to explain the epidemic of cardiovascular disease in a developing country. From socioeconomic factors to free radicals. *Cardiology.* 2001;96:1-6.
36. Pérez M, Casas JP, Cubillos-Garzón LA et al. Using waist circumference as a screening tool to identify Colombian subjects at cardiovascular risk. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2003;10: 328-335.
37. García RG, Cifuentes AE, Caballero RS, Sánchez L, López-Jaramillo P. A proposal for an appropriate central obesity diagnosis in Latin American population. *Int J Cardiol*, in press. 2005.
38. López-Jaramillo P, García RG, López M. Preventing pregnancy-induced hypertension: are there regional differences for this global problem? *J Hypertens.* 2005; 23(6):1121-9.
39. Srivastava MD, Srivastava BI and Brouhard B. D9 tetrahydrocannabinol and cannabidiol alter cytokine production by human immune cells. *Immunopharmacology.* 1998;40:179-185.
40. Zhu LX. et al. D-9-tetrahydrocannabinol inhibits antitumor immunity by a CB2 receptor-mediated, cytokine-dependent pathway. *J Immunol.* 2000; 165:373-380.
41. Yuan M. et al. D9-Tetrahydrocannabinol regulates Th1/Th2 cytokine balance in activated human T cells. *J Neuroimmunol.* 2002;133:124-131.
42. López-Jaramillo P, Casas JP, Morillo C. C-Reactive Protein and Cardiovascular Diseases in Andean Population. *Circulation.* 2002;105:10.
43. Accini JL, Sotomayor A, Trujillo F, Barrera JG, Bautista L, Lopez-Jaramillo P. Colombian study to assess the use of noninvasive determination of endothelium-mediated vasodilatation (CANDEV). Normal values and factors associated. *Endothelium.* 2001;8(2):157-166.
44. Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rossner S, RIO-Europe Study Group. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet.* 2005;365:1389-1397.
45. Thornton-Jones ZD, Vickers SP, Kennett GA, Benwell KR, Revell DF, Misra A, Sellwood DM, Clifton PG. The cannabinoid CB1 receptor inverse agonist, rimonabant, modifies body weight and adiponectin mRNA by modulating food intake. *Behav Pharmacol.* 2005;16 Suppl 1:S22-3.
46. López-Jaramillo P, Díaz LA, Pardo A, Parra G, Jaimes H, Chaudhuri G. Estrogen therapy increases plasma concentrations of nitric oxide metabolites in postmenopausal women but increases flow mediated vasodilatation only in the younger women. *Fertil Steril.* 2004; 82:1550-1555.
47. Silva S, Villamizar N, Silva F, Luengas C, Casas JP, López-Jaramillo P. Colombian study to assess the use of noninvasive determination of endothelium-mediated vasodilatation (CANDEV). Does the location of the occlusion device affects diagnostic accuracy? *Endothelium.* 2005;12.