

“Aspectos Neurobiológicos del Sueño”

(Introducción al sueño: neurofisiología, neuropsicología y neurofarmacología)

2019

Laboratorio de Neurobiología del Sueño Departamento de Fisiología-Facultad de Medicina

Centro de Investigación Básico en Psicología -Facultad de Psicología

Cannabis y sueño.

Núcleo Interdisciplinario de Estudios sobre *Cannabis*

Universidad de la República

Facultad de Medicina

Facultad de Química

Centro Universitario Noroeste



Espacio Interdisciplinario
Universidad de la República
Uruguay

Según la OMS:.... “una droga es *una sustancia (terapéutica o no) que, introducida en el organismo, es capaz de modificar una o más de sus funciones*”.

- Los efectos dependen de la sustancia, dosis, vía y forma en que se suministra o consume.

“También se considera “droga” a toda sustancia que, introducida en el organismo, produce cambios en la percepción, en las emociones, el juicio o el comportamiento y es susceptible de generar en el usuario una necesidad de seguir consumiéndola”.

- Las adicciones son un problema que acarrea serias consecuencias, económicas, sociales, éticas, psicológicas y biológicas.
- Estas sustancias alteran las condiciones normales de nuestro organismo, provocando efectos que, en ocasiones, pueden ser incluso mortales.

–Las legales o legalizadas.

–Las ilícitas o ilegales.

- Las drogas legales o legalizadas (ej: alcohol, tabaco), son aquellas que en algunas sociedades o el estado han establecido como de consumo habitual o naturalizado. Por lo tanto, no hay penalización de la producción, venta, distribución y consumo.
- Las drogas ilegales o ilícitas, en cambio, su producción, distribución, suministro y venta, están prohibidas y penalizadas por la ley. En nuestro país el consumo personal no está penalizado aunque hay países en los cuales el consumo esta castigado.
- Existen países que han modificado la leyes de manera que el uso de este tipo de drogas esta regulado de diferentes maneras y en diferentes etapas desde su producción a su distribución y venta.
- Mas allá la postura personal con respecto a estas diversas políticas debemos tener claro que todas las drogas (legales, ilícitas, terapéuticas, etc) utilizadas indebidamente perjudican nuestra salud.

UNA DE SUS CASIFICACIONES POR SUS EFECTOS EN TERMINOS GENERALES

DROGAS DEPRESORAS:

Opiáceos.

Cannabis.

Inhalantes.

Tranquilizantes y barbitúricos.

DROGAS ESTIMULANTES:

Cocaína, pasta base y crack.

Anfetaminas.

Éxtasis y drogas de diseño.

Anabolizantes.

PSICODISLEPTICOS:

L.S.D.

Otros

Cannabinoides

Sistema CB son mensajeros lipídicos
Interactúan con receptores de cannabinoides.

CB1, CB2.....

Pueden tener 3 orígenes:

-Naturales o Vegetales:

THC, cannabinoles, canabidiol.

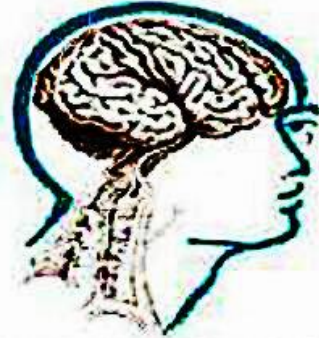
-Sintéticos:

dronabinol, nabilone, nabiximols.

-Endógenos:

anandamida.

Cómo trabajan los cannabinoides



Endocannabinoides
(derivados del cerebro)
Alimentos: Omega-3s y Omega-6s
Anandamida (AEA)

Fitocannabinoides
(Derivados de plantas)
Hojas, yemas, tinturas,
extractos
THC, CBD, CBN, etc.

Cannabinoides sintéticos
(Laboratorio farmacéutico)
Compuesto sintetizado
patentado
THC (Marinol)

Receptores endocannabinoides
(Receptores en el cerebro)

CB1, CB2, etc.

El **sistema endocannabinoide (SEC)** está involucrado en regular una variedad de procesos incluyendo el apetito, el dolor, la sensación de placer, el sistema inmune, humor y memoria

1990: Receptor **CB1**

1993: Receptor **CB2**

1994: Endógenos Anandamida y 2AG (2 araquidonoiglicerol)

CGPR 55 metabotrópico

CGPR 119

TRPV1 vanilloid receptor, capsaicin (catiónico)

La planta

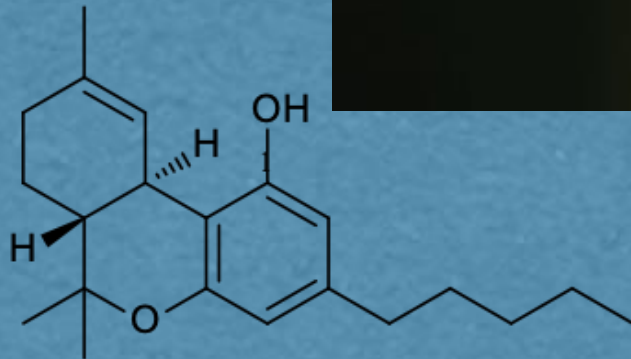


- *Cannabis sativa* L.
- Cannabinaceas
- Planta herbácea anual
- Origen centro-oeste asiático
- Cáñamo
- Distintas variedades y quimiotipos



No existe una única variedad de *Cannabis sativa*

Cannabinoides: compuestos exclusivos del género Cannabis



Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC)

- Principal cannabinoide
- Psicoactivo
- Varios efectos terapéuticos

Cannabis es mucho más que una “droga”



Tallos

Fibras

- Construcción
- Automóviles
- Textiles
- Papel



Semillas

Aceites

- Alimentos
- Cosméticos



Flores

Cannabinoides

Terpenos

- Medicinas

Canabinoides son metabolitos secundarios

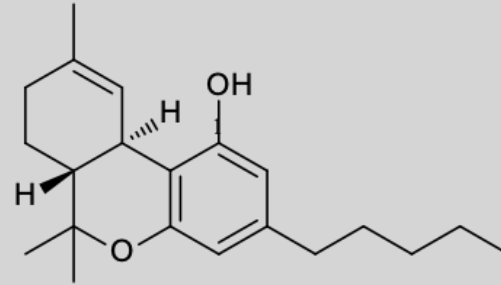
Su contenido (y por lo tanto sus efectos) varía con:

- *Quimiotipo o variedad*
- *Órgano vegetal*
- *Sexo*
- *Edad de la planta*
- *Condiciones de cultivo (temperatura, humedad, luz)*
- *Condiciones de cosecha y almacenamiento*

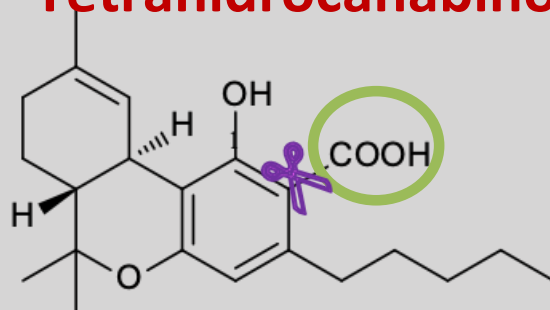
Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THC)

- Principal cannabinoide
- Psicoactivo
- Varios efectos terapéuticos
- Receptores: CB₁, CB₂
- Aislado 1942
- Elucidado 1964

(Mechoulam et al.)



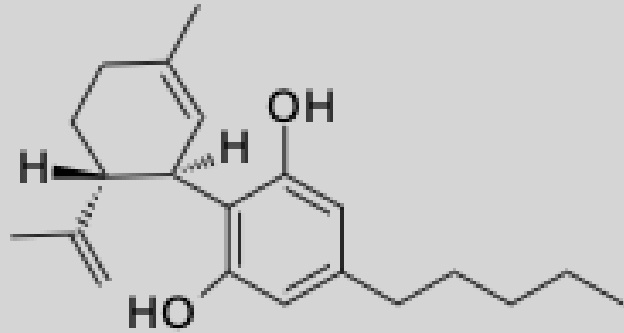
Ácido Δ^9 -Tetrahydrocannabinol (THCA)



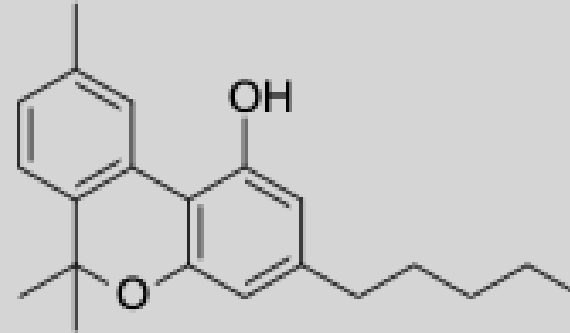
200 °C (fumar, vaporizar, GC)

- Precursor biogénico
- Planta fresca
- Varios efectos terapéuticos
- NO tiene psicoactividad

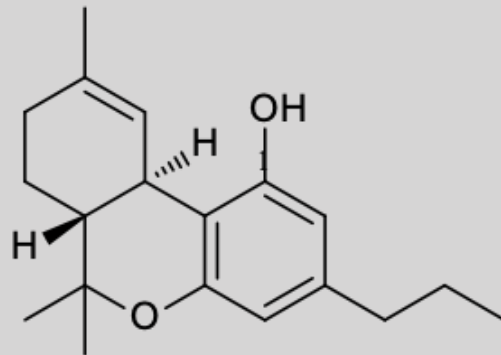
Canabidiol (CBD)



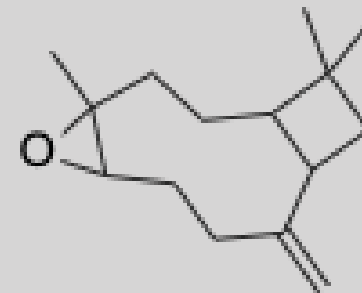
Canabinol (CBN)



Tetrahydrocannabivarin (THCV)



Oxido cariofileno



Usos históricos, aspectos etnofarmacológicos



Shen Nung

2726 AC



Papiro de Ebers

1500 AC



Tinturas y extractos fluidos

S XIX - XX

La *etnofarmacología* trata del uso tradicional y los efectos de las sustancias naturales dotadas de actividad biológica .

HISTORIA



Cultivo



- Como fibra de Cáñamo.
- Por sus propiedades psicoactivas.
- Por su utilidad terapéutica.

Referencia mas antigua: China (2737 a.c) uso en medicina en tto de Reumatismo, Malaria, Beri-Beri, **Insomnio**, Trastornos oculares.



1500 AC: papiro de *Ebers* (Egipto) Medicina tradicional india.

Persas, árabes.

En Europa llama la atención luego de expediciones Napoleónicas en Egipto

India (agilizar la mente, longevidad, aumentar la libido, **convulsiones**)

Europa cultivo del cáñamo (400 d.c.) sus efectos embriagantes eran desconocidos por casi todo el mundo hasta el S XVII o XIX

Se utilizó en rituales como aquelarres (Inglaterra) o para adivinar (Ucrania)

Años 60 (movimiento Hippie) su uso se extiende por USA y Europa Convirtiéndose en la sustancia ilegal de mayor aceptación social.

Cannabis figuró en varias farmacopeas

- Reino Unido hasta 1932
- Estados Unidos hasta 1942
- India hasta 1966



Here's a *Prize Winning* SMOKE FOR ASTHMATICS

An innovation to sufferers of **ASTHMA and BRONCHITIS** Impregnated with medicants designed to give quick relief — 'GRIMAULT' Indian Cigarettes are your best bet for enjoyment plus relief from these annoying complaints.

'Grimault'
INDIAN CIGARETTES
Distributors:
GRACE KENNEDY & CO., LTD. — 64 Harbour St.

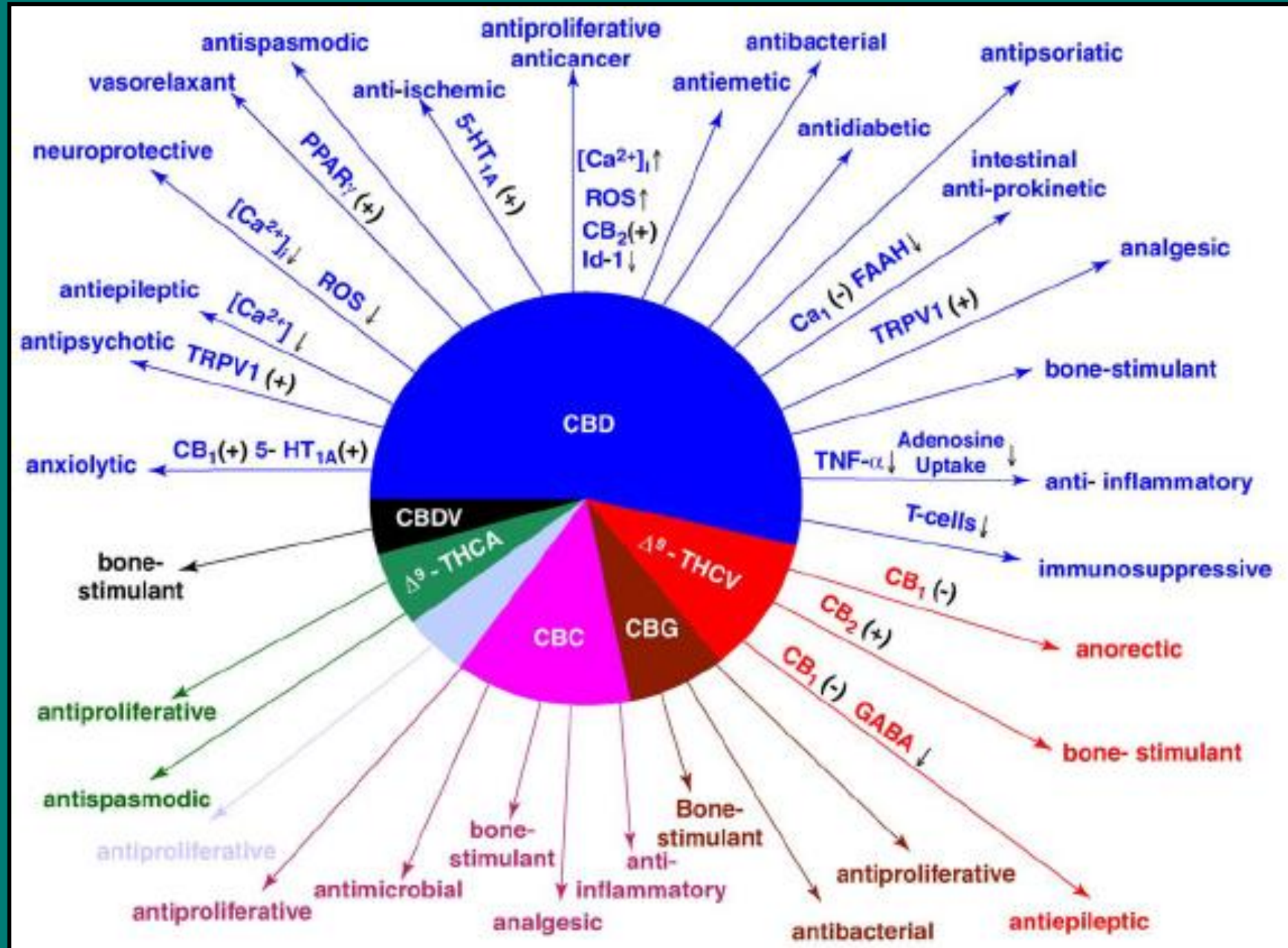
Primera mitad S XX: la droga comienza a ser ilícita

- Náuseas y vómitos por quimioterapia
- Enfermedades neurodegenerativas con trastornos motores
- Analgésico
- Antiespasmódico
- Estimulante del apetito
- **Inductor de sueño**



- Quimioterapia del cáncer**
- Glaucoma**
- Epilepsia**
- Esclerosis múltiple**
- Paraplejía y cuadraplejía**
- Sida**
- Dolor crónico**
- Migraña**
- Prurito**
- Dolores del parto**

Cannabinoides no psicoactivos y sus (potenciales) efectos



Cuadro 2. Endocannabinoides y compuestos relacionados

N-araquidonoil-etanolamina	Anandamida	Agonista parcial del CB1, débil agonista del CB2
2-araquidonoil-glycerol	2- AG	Potente agonista del CB1 y CB2
Cis-9,10 octadecenamida	Oleamida	Débil agonista del CB1 y del CB2
N-palmitoil etanolamina	PEA	Agonista del PPAR- α Inhibe la expresión de la FAAH
N-oleoil etanolamina	OEA	Agonista del TRPV1 y del PPAR α
2-araquidonoil-gliceril-eter	Noladin eter	Agonista del CB1
O-araquidonoiletanolamina	Virodhamine	Agonista parcial del CB2 y antagonista del CB1
N-araquidonoil-dopamine	NADA	Agonista del CB1 y potente agonista del TRPV1

1990 Receptor **CB1**

1993 Receptor **CB2**

1995 Endógenos: Anandamida y 2AG (sn 2 araquidonoiglicerol)

CGPR 55 metabotrópico

CGPR 119

TRPV1 vanilloid receptor, capsaicin (catiónico)



CB1 presente:

1. Cerebro
2. Pulmones
3. Sistema vascular
4. Músculos
5. Tracto gastrointestinal
6. Órganos reproductivos



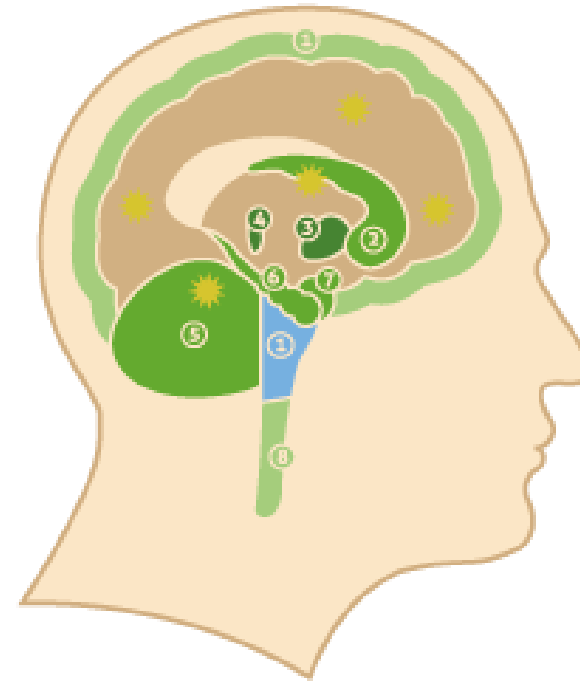
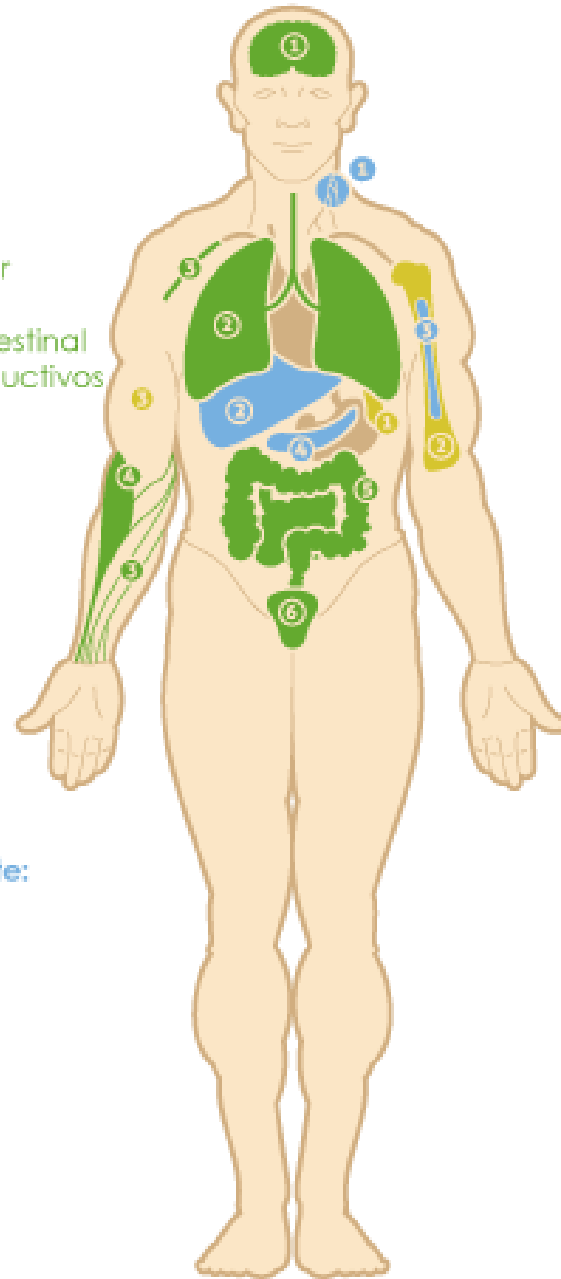
CB2 presente:

1. Bazo
2. Huesos
3. Piel



CB1 + CB2 presente:

1. Sistema inmune
2. Hígado
3. Médula ósea
4. Páncreas



CB1 presente:

1. Córtex
2. Núcleo caudado y putamen (nucleus acumbens)
3. Ganglios basales
4. Hipotálamo
5. Cerebelo
6. Hipocampo
7. Amígdala
8. Médula espinal



CB2 presente:

Células gliales



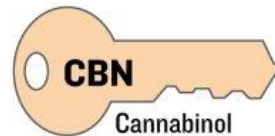
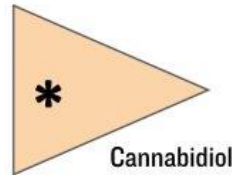
CB1 + CB2 presente:

1. Tronco encefálico

Why does Cannabis do so many things to the human body and brain?

Because chemical compounds in Cannabis fit like keys into receptors on cells all over the body, these areas are called the Endocannabinoid System. These Receptors control processes ranging from pain and thought to inflammation, immune system and cell control (cancer* cell pathways, key to halting disease, spread). These receptors are there because they also serve as "keyholes" to other chemicals produced within the human body.

Compounds found in Cannabis that fit into chemical receptors (CB 1-2) in the human body



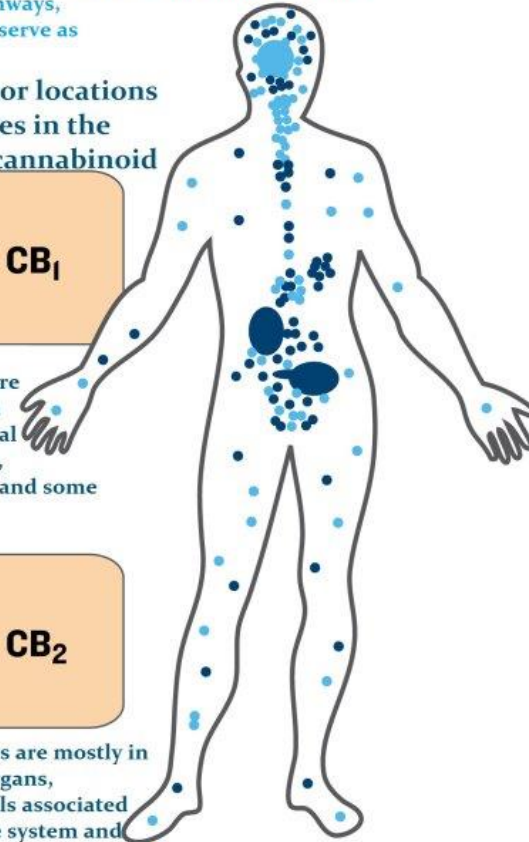
Cannabinoid receptor locations found on cell surfaces in the human body (Endocannabinoid Systems)



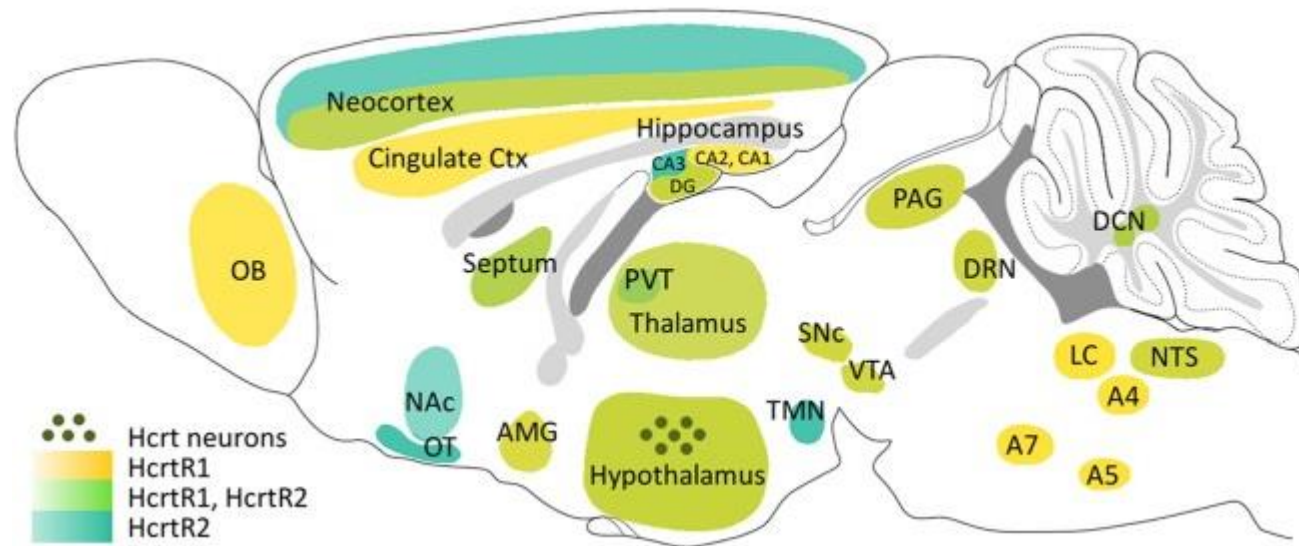
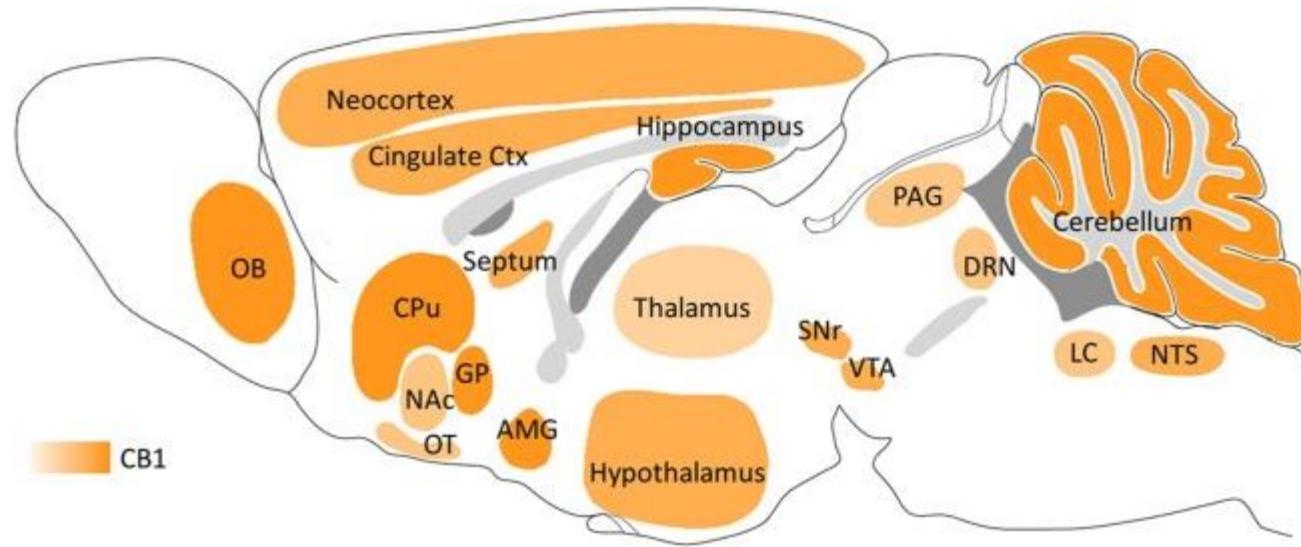
CB 1 receptors are concentrated in the brain, central nervous system, but also nerves and some other organs



CB 2 receptors are mostly in peripheral organs, especially cells associated with immune system and cell formation



*** CBD does not "bind" or directly "fit" into the "keyholes" in the CB 1 or 2 receptors,. Instead it "influences" or "enhances" the effects of Cannabinoids that do "fit" the "keyholes" such as THC or CBN. CBD is still being studied to this day.**



Sistema neuromodulador suprime en forma transitoria o sostenida liberación de NT tanto excitatorios como inhibitorios CB1 suprime liberación de GABA Glutamato

Receptores acoplados proteína G

Sueño aparentemente CBD (efectos secundarios ttmnto epilepsia)

Reportes THC/CBD/CBN bajan gamma y theta? Desconexión theta

Merkenhap 1991, Matsuda 1993, Tsou 1998, Cota 2003

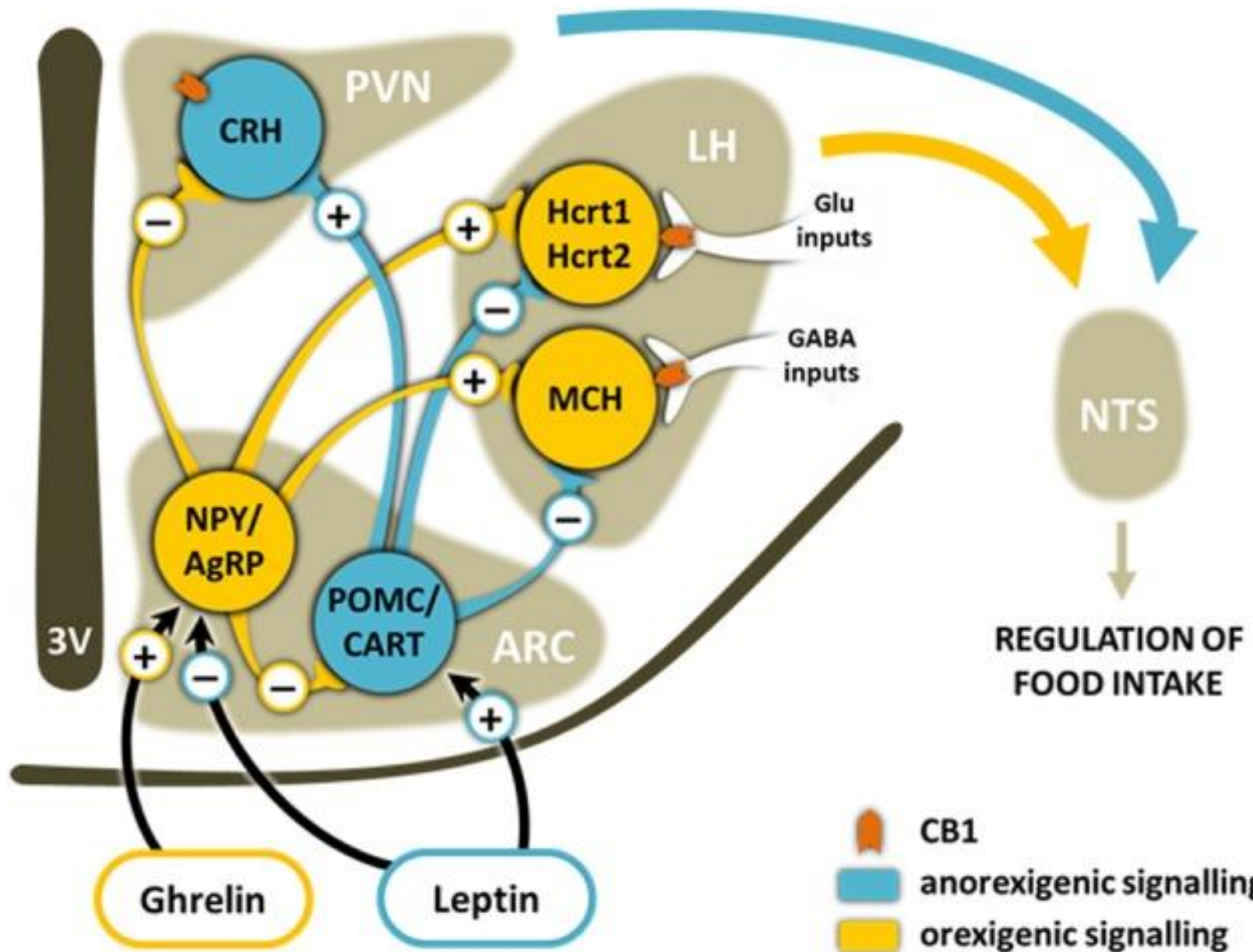
Neuronas c/ Hcrt y MCH tiene mRNA de CB1

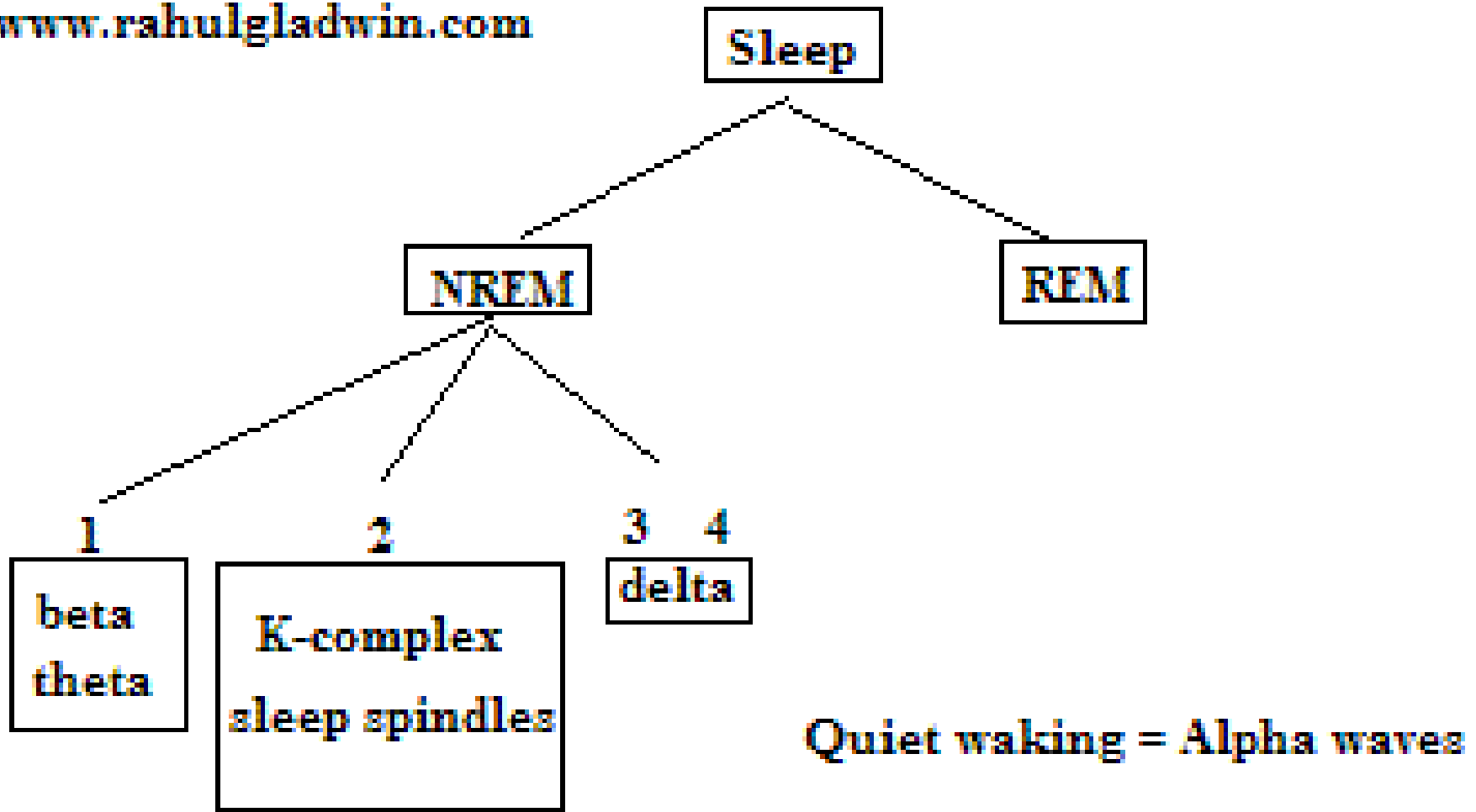
CB aumenta MCH disminuye Hcrt

CB1 inhibe GAP, pre y post sináptico.

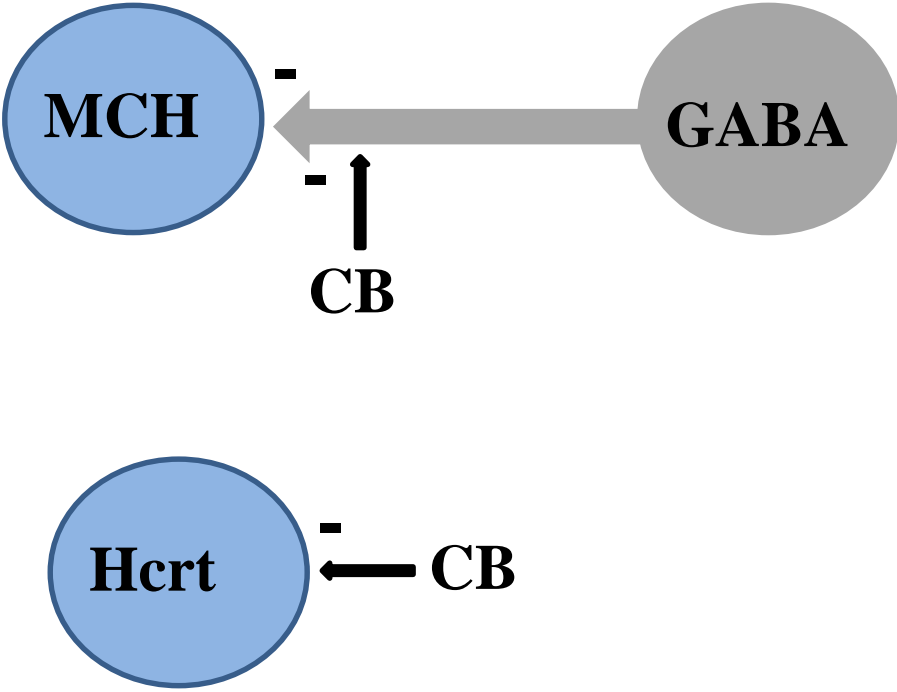
Anandamida CB endógeno: anti-nociceptivo hipotermia, hipomovilidad/cataplejía

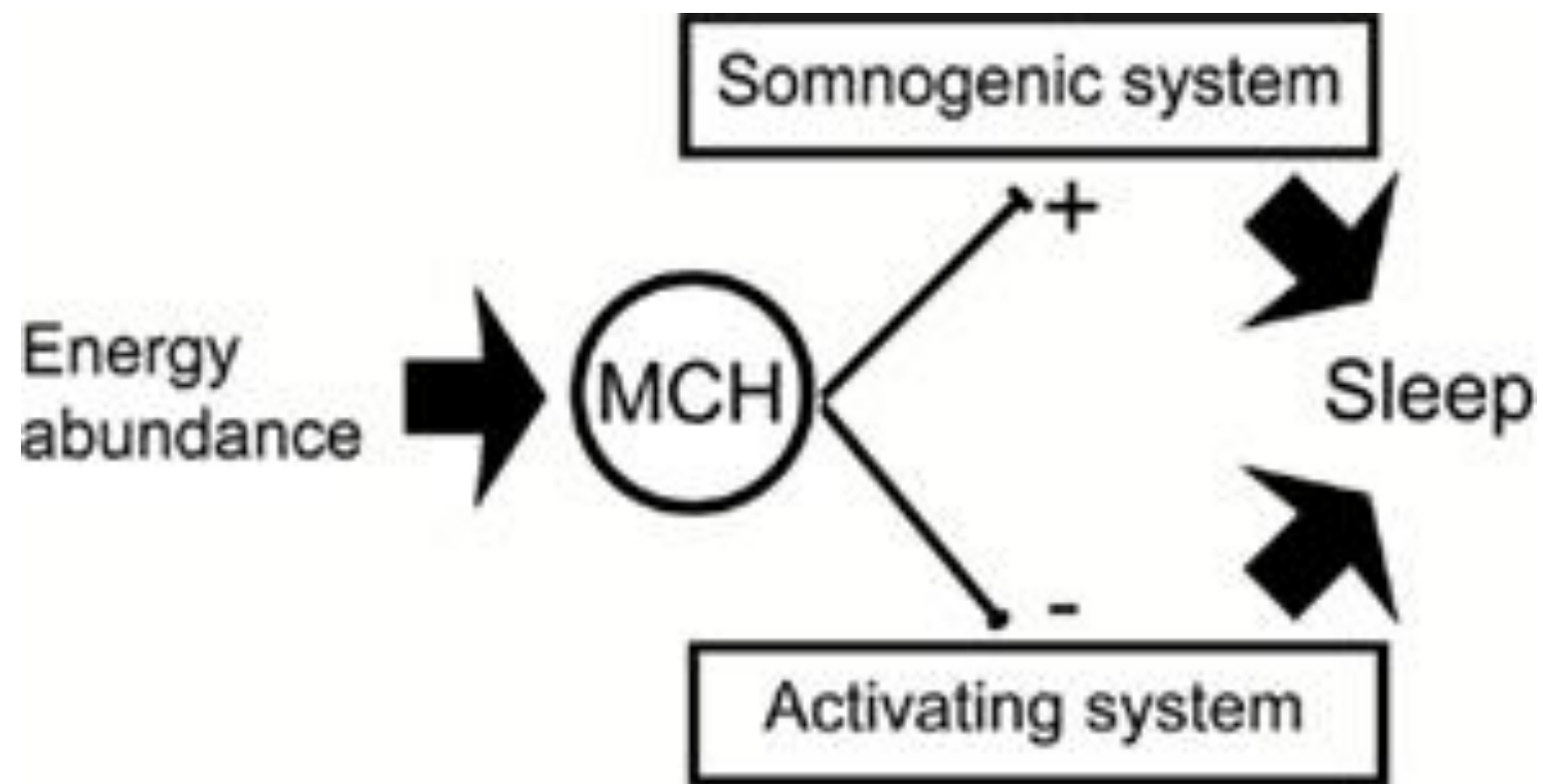
Hiperfagia.

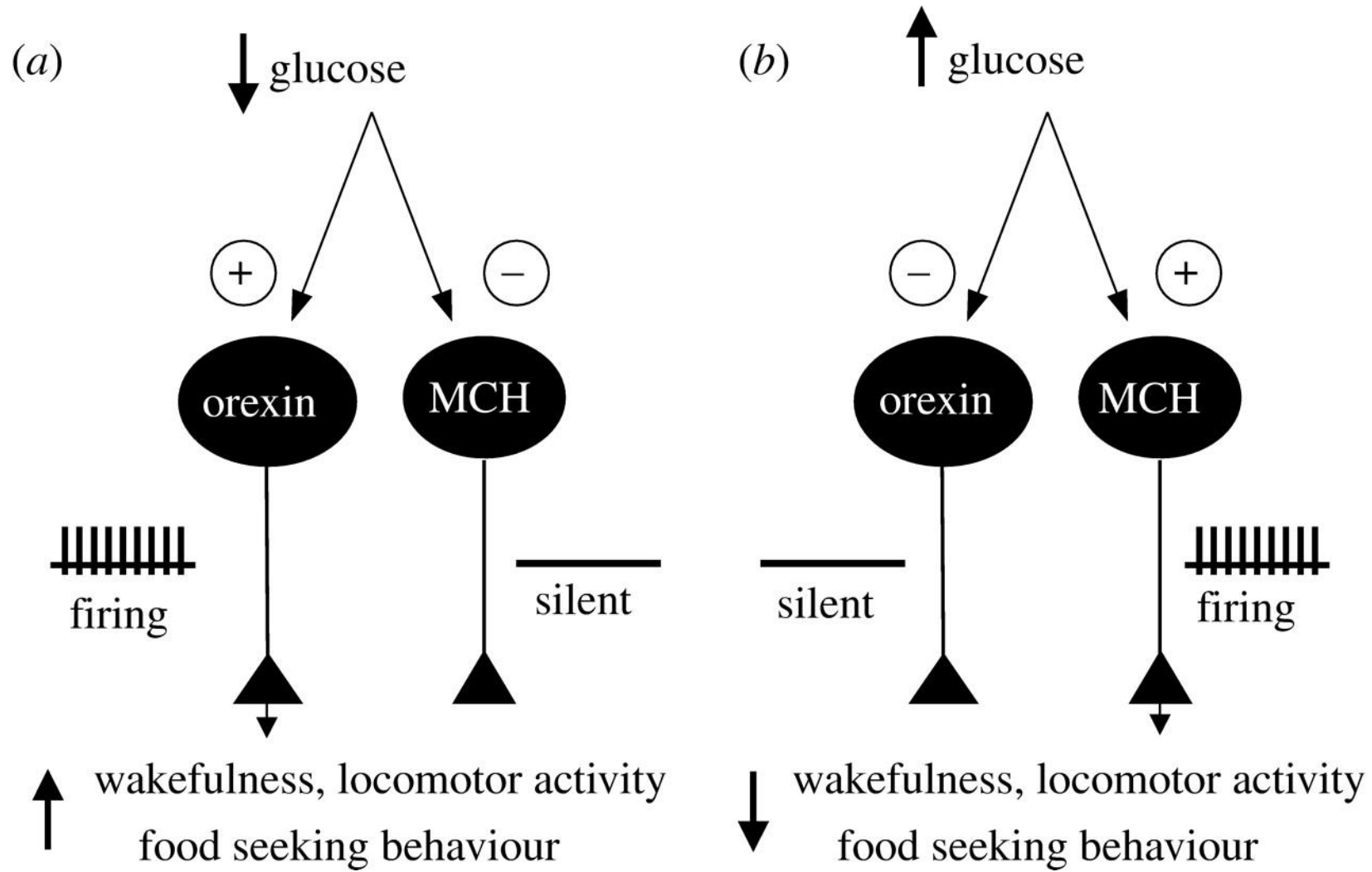




Neuronas c/ Hcrt y MCH tiene mRNA de CB1
CB aumenta MCH disminuye Hcrt







CB1 median efectos inhibitorios de CB sobre liberación de Ach, Glu, GABA, NA, Dopamina y serotonina.

De la planta al medicamento



el camino que va de la planta al medicamento requiere la interacción de diversas disciplinas



Investigación básica

Investigación aplicada

Trabajo interdisciplinario

Cátedra Farmacognosia y Productos Naturales – Fac. de Química

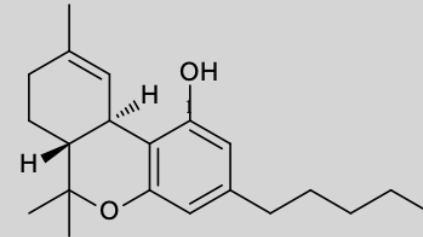
Dpto. de Química del Litoral - CENUR Noroeste

- Caracterización fitoquímica
- Determinación perfiles metabólicos
- Preparación extractos

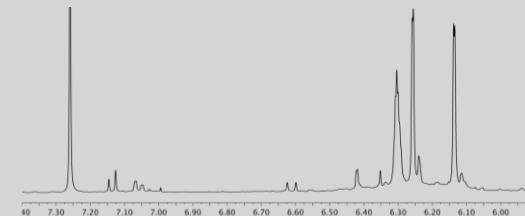


➔ Cromatografía

- ▶ Cannabinoides
- ▶ Quimiotipo
- ▶ Otros metabolitos



➔ RMN ➔ Perfiles metabólicos

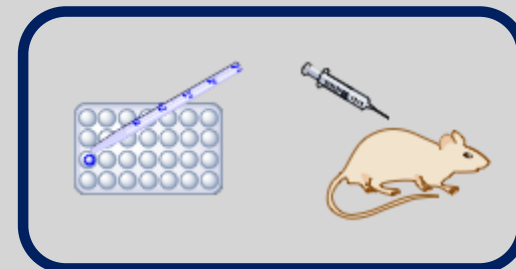


Extracción

Separación

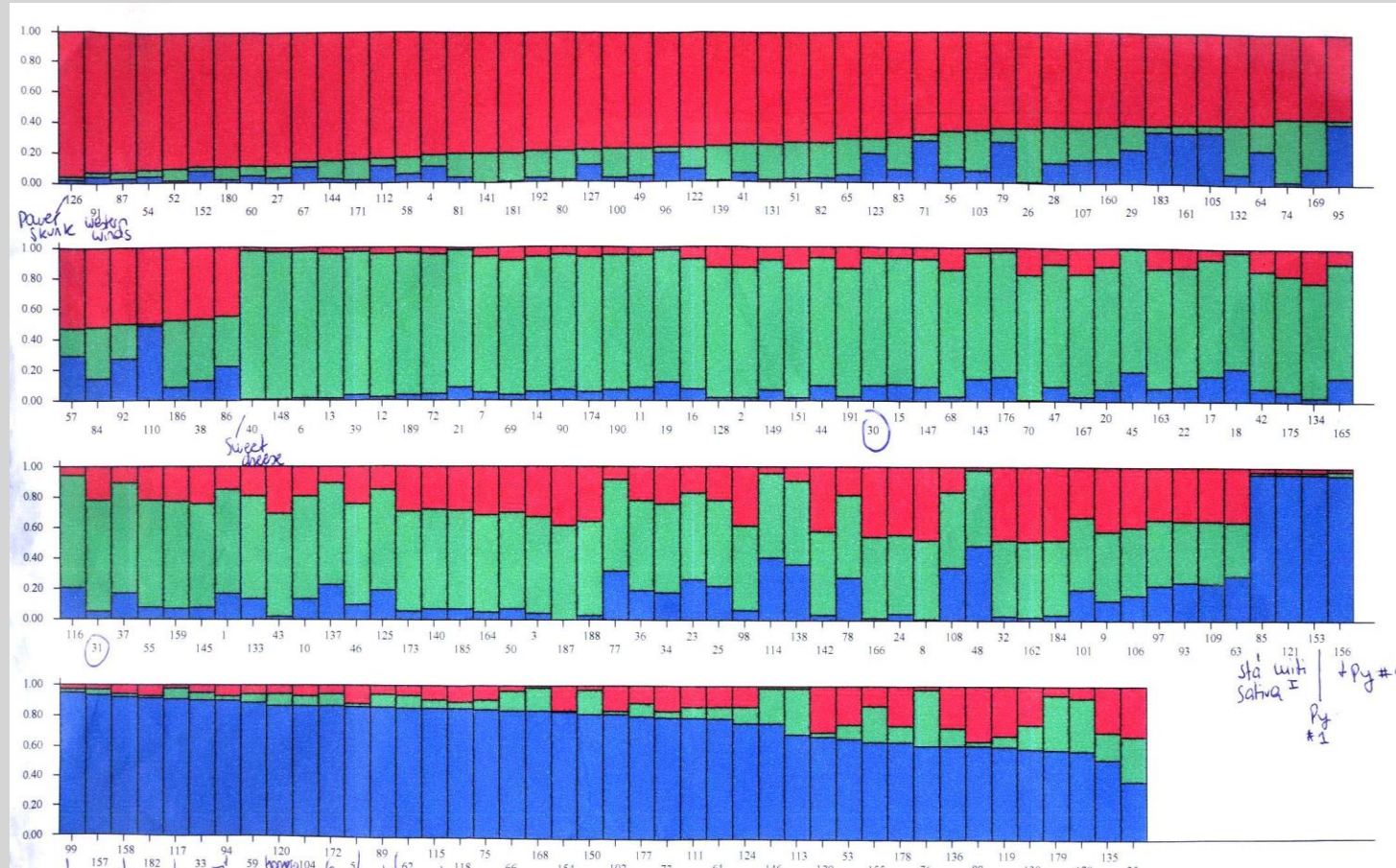
Dosificación

Vehículo



Identificación genética de 200 muestras mediante STRs

Sugiere una subestructuración que podría correlacionarse con la variedad a la que pertenece



Composición del Cannabis

Más de 538 compuestos químicos

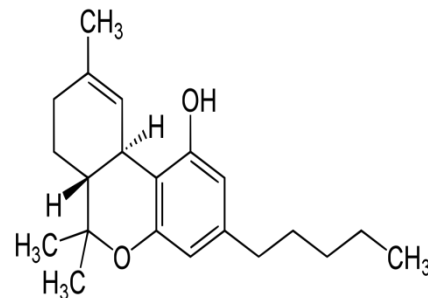
Compuestos fenólicos

Acidos fenólicos

Flavonoides

Previenen estrés oxidativo
Reducen incidencia de enf. crónicas

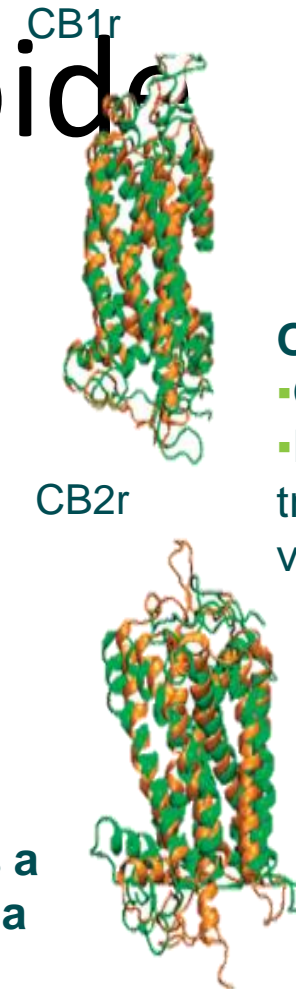
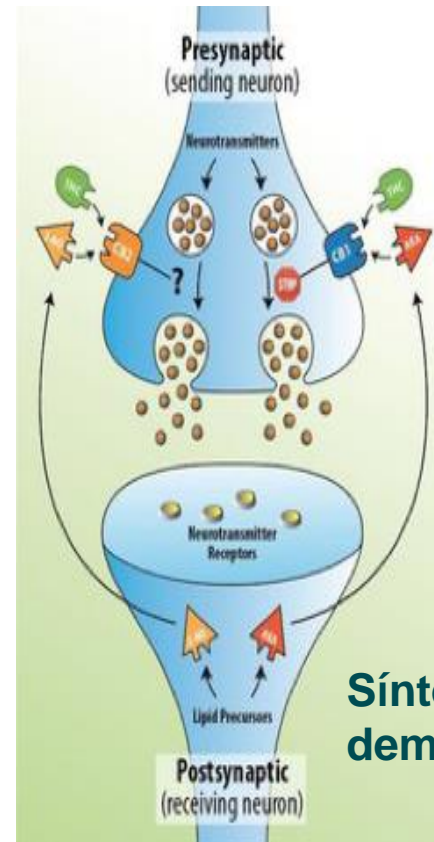
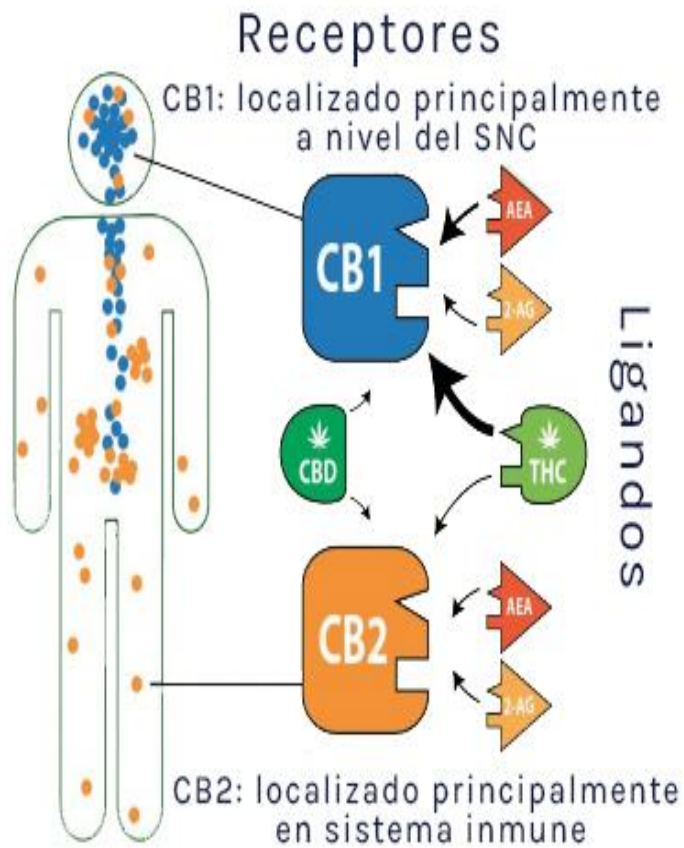
Fitocannabinoides



Terpenos

Aroma y sabor
Acciones farmacológicas

Sistema cannabinoide



Otros:

- GPR55
- Potencial transitorio vaniloide

Cannabis

- ◆ Importante incremento del uso medicinal en los últimos años
- ◆ Efectos benéficos:
 - ◆ Antiemético.
 - ◆ Orexígeno (Quimioterapia, SIDA).
 - ◆ Disminución de la presión intraocular.
 - ◆ Analgésico.
 - ◆ Neuroprotección.
 - ◆ Tratamiento de desórdenes de sueño (Insomnio).

Vías de administración



Fumado

Vaporizado

Oral

Cremas/ungüentos

La **vía inhalatoria** es más rápida y mayor viabilidad de cannabinoides. Elevación inmediata de niveles séricos.

Vía oral: Absorción errática, inicio de acción más lento.
Efecto 1er paso en hígado.

Fumado vs Vaporizado



Medio de consumo más popular
Combustión ($>230^{\circ}\text{C}$).
Se forman productos pirolíticos tóxicos y
carcinogénicos.

Temperaturas hasta 200°C .
Vaporización de cannabinoides sin
combustión del material vegetal.
Se obtienen mayores cantidades de
Cannabinoides.



Study (1 st Author and date)	Experimental subjects	Route of administration	Timing	Dose	Sleep measure	Effects on sleep
Barrat (1974)	12 experienced marihuana users	Smoking cigarettes	Drug administered for 10 nights	2m/kg of THC	PSG	SWS increased during the 1 st 4 days.
Pivik (1972)	4 adults who had not used drugs for the preceding 2 months	Oral ethanolic crude Cannabis extract	Administered before going to sleep	61 to 258 µ.g/kg	PSG	Reduction in REM amount during second half of the night for higher doses.
Feinberg (1976)	4 experienced marihuana users	Oral ethanolic crude Cannabis extract	Acute and long term (1 month) administration, 6 doses during the day	70 mg and 210 mg/day of THC	PSG	Increased stage 4 of sleep and decreased REM sleep
Chait (1990)	12 regular smokers	Smoking cigarettes	One weekend. Five separated smoking periods in afternoon/evening	40 puffs of 2.1% THC in marihuana cigarretes	Questionnaires	Greater ease in getting to sleep than usual
Pranikoff (1973)	10 regular smokers	Smoking cigarettes	2 nights, smoking before bed	Until reach a subjective "high"	PSG	Decrease stage 4 of sleep
Karacan (1976)	32 chronic marihuana users (using for at least 10 years)	Smoking cigarettes	Eight nights. Allow to regular consumption	No data	PSG	Increase in REM sleep.
Tringale (2011)	Data from 166 subjects from two cannabic clinics	Oral/smoked/vaporized	Retrospective study of marihuana users	No data	Self-questionnaire	Decrease sleep latency, increase quality of sleep
Belendiuk (2015)	163 adultus purchasing medical cannabis	Smoked	Retrospective study of marihuana users	No data	Self-questionnaire	Use of Cannabis to manage insomnia and decrease nightmares

THC vs CBD

THC Efecto sedante (vía inhalatoria y oral)
Altas dosis: efecto activador

CBD Efecto dependiente de la vía de administración
(I/P vs ICV)
Efecto bifásico (estimulante a bajas dosis y
sedante a altas dosis)

Resultados contradictorios!:

El efecto parece depender de la dosis, la concentración de cada cannabinoide, el tiempo durante el cual se administra y la vía de administración.

Efecto “séquito”

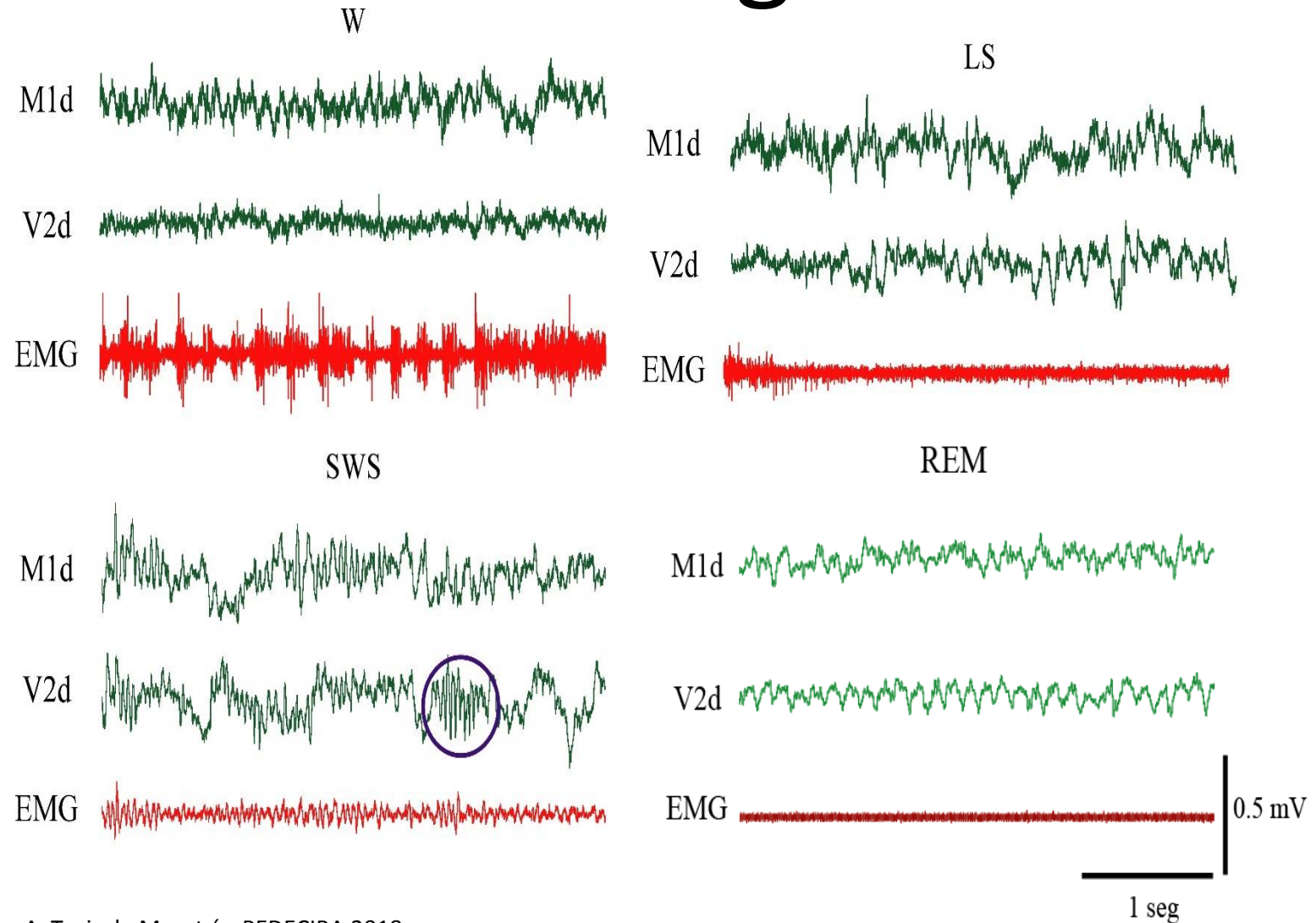
Es igual el efecto del material vegetal crudo que el de los cannabinoides aislados?

◆ Mayor volumen de investigación con cannabinoides aislados

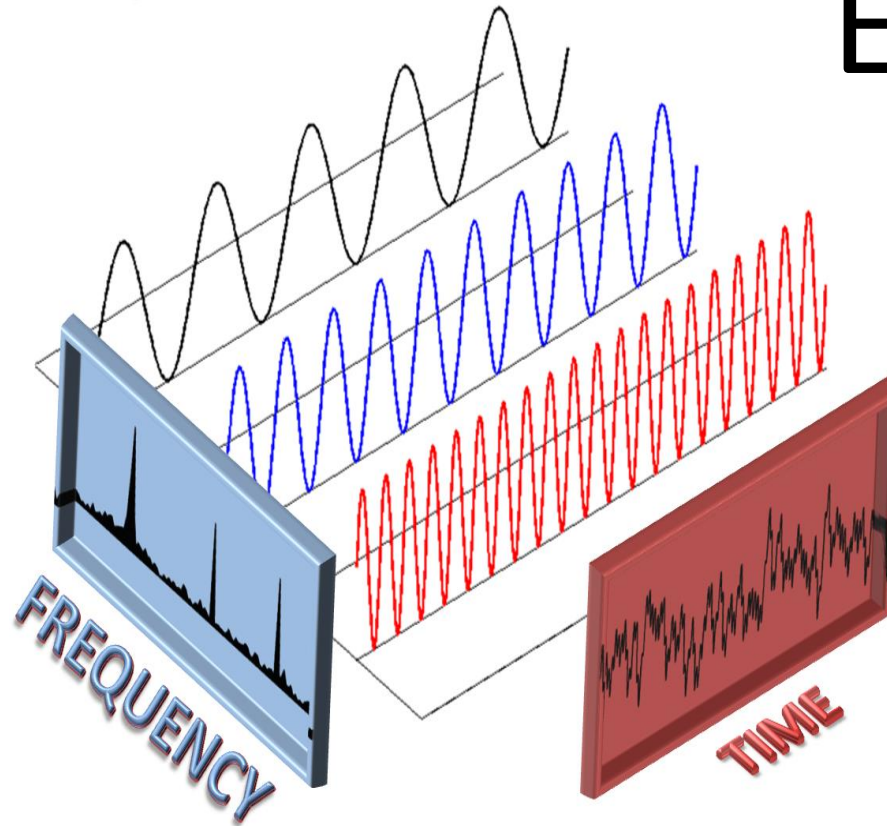
◆ Interacción entre compuestos; efecto del material vegetal mayor o diferente que el de los cannabinoides

per se Ben-Shabat (1988)

Ciclo sueño – vigilia en la



Análisis cuantitativo del EEG



<https://psychology.stackexchange.com>

EEG

δ : 0,5 - 4 Hz

θ : 5 - 9 Hz

σ : 10 - 15 Hz

β : 15 - 30 Hz

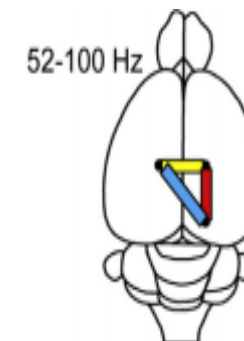
LG: 30 - 48 Hz

HG: 52 - 95 Hz

HFO: 105 - 145 Hz

Potencia: Grado de sincronización local.

Coherencia: Sincronización entre diferentes cortezas



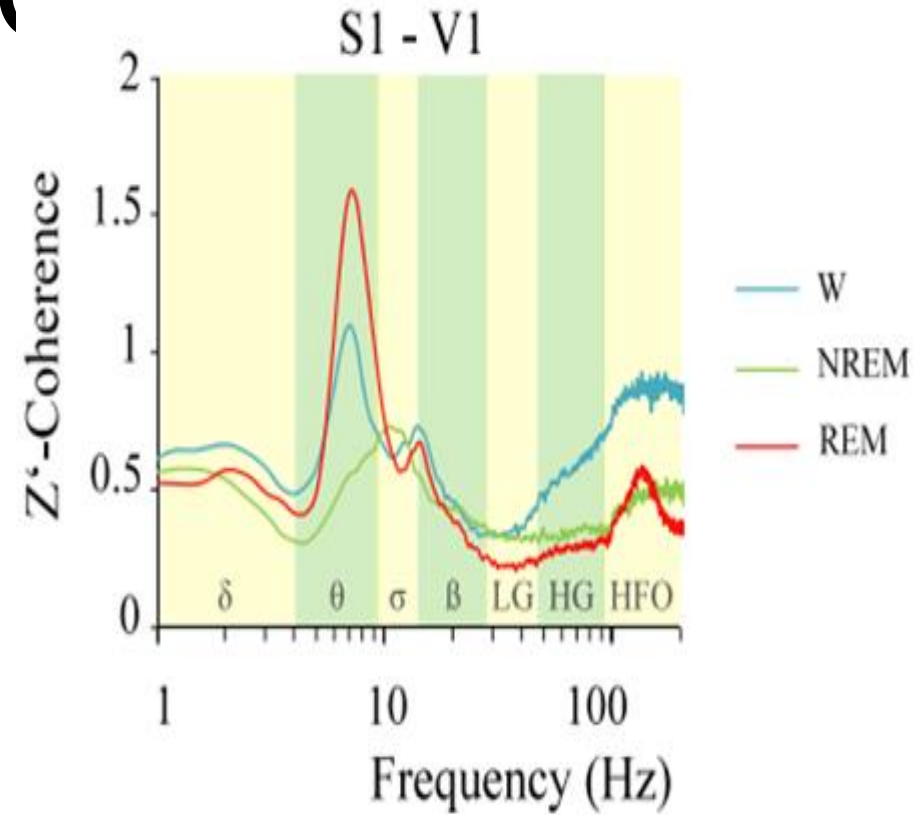
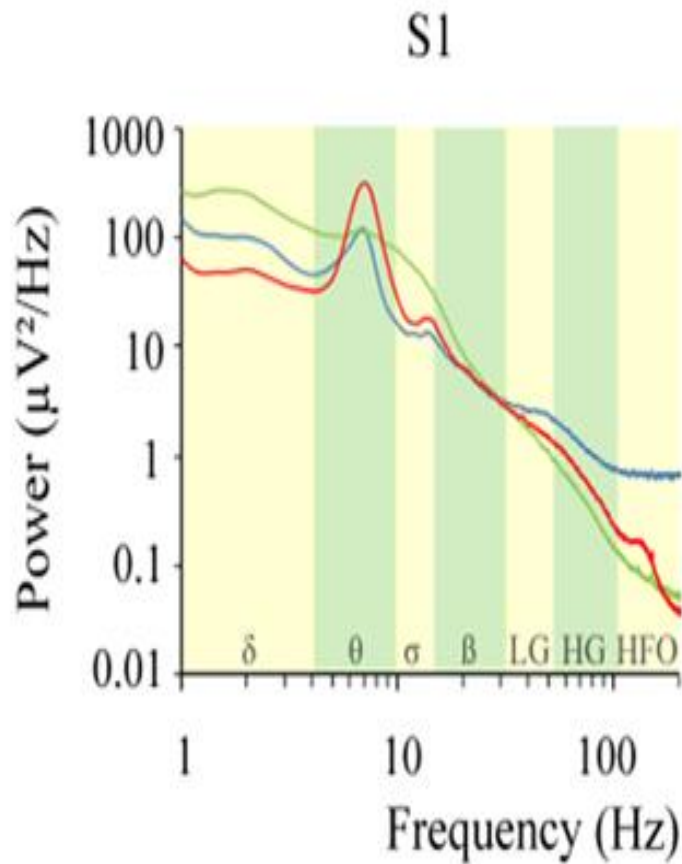
Cavelli et al (2015)

Análisis cuantitativo del

Potencia

Coherencia

EEG



Drogas psicoactivas y EEG

Diversas sustancias psicoactivas modifican la actividad del EEG (relacionado con experiencia)



Modificaciones de potencias Alfa, Theta y Beta y Gamma (40 Hz)

Qué pasa con gamma alto y HFO?
Relacionadas con procesos cognitivos como memoria de trabajo y percepción
Coherencia gamma: Correlato neural de consciencia

Hipótesis

- 1) La administración aguda de Cannabis mediante vaporización modifica el sueño.
- 2) La administración aguda de Cannabis mediante vaporización modifica la actividad eléctrica cortical.
- 3) Estas modificaciones dependen del momento del día en el que se administra.

Objetivo general

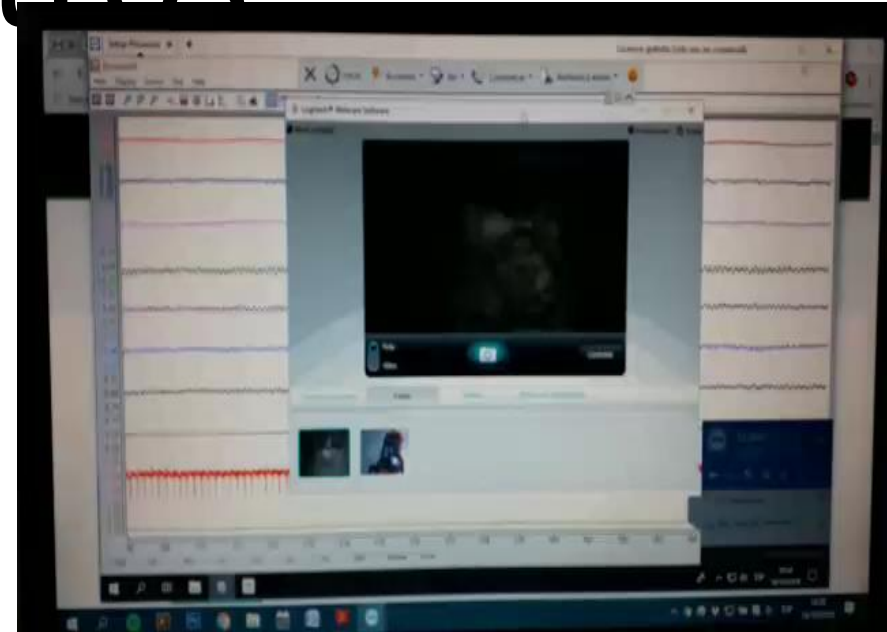
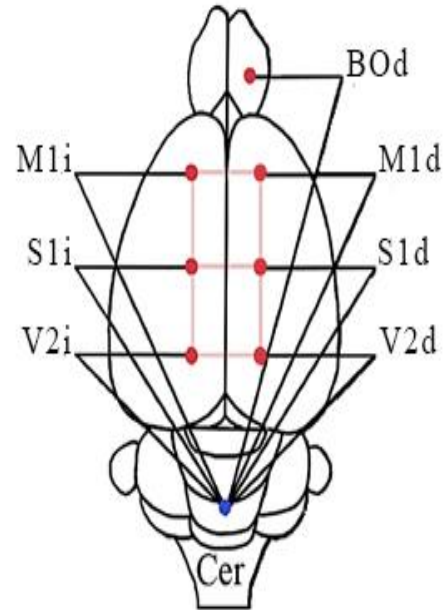
Caracterizar el efecto de la administración de Cannabis sobre el sueño y la actividad eléctrica cortical en ratas.

Objetivos específicos

- Determinar en la rata, el efecto de la administración aguda de Cannabis* mediante vaporización sobre el sueño y la vigilia, tanto al ser administrado en la fase de luz (fase de inactividad o reposo) como en la fase de oscuridad (fase de activación)
- Estudiar el efecto de la administración aguda de Cannabis mediante vaporización sobre la potencia y coherencia de las diferentes bandas de frecuencia del EEG

* Decidimos comenzar la investigación con un cultivar con niveles altos de THC e indetectables de CBD

Registros



Amplificación x1000
Filtros 0,1 – 500 Hz
Digitalización 1024 Hz, 2^{16} bits
Software Spike 2

Materiales



n = 24

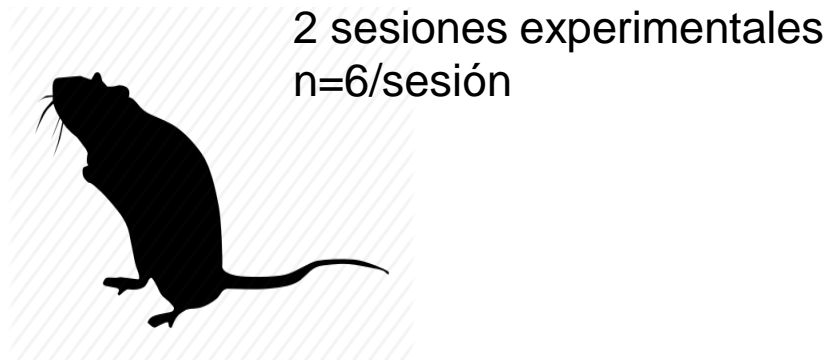
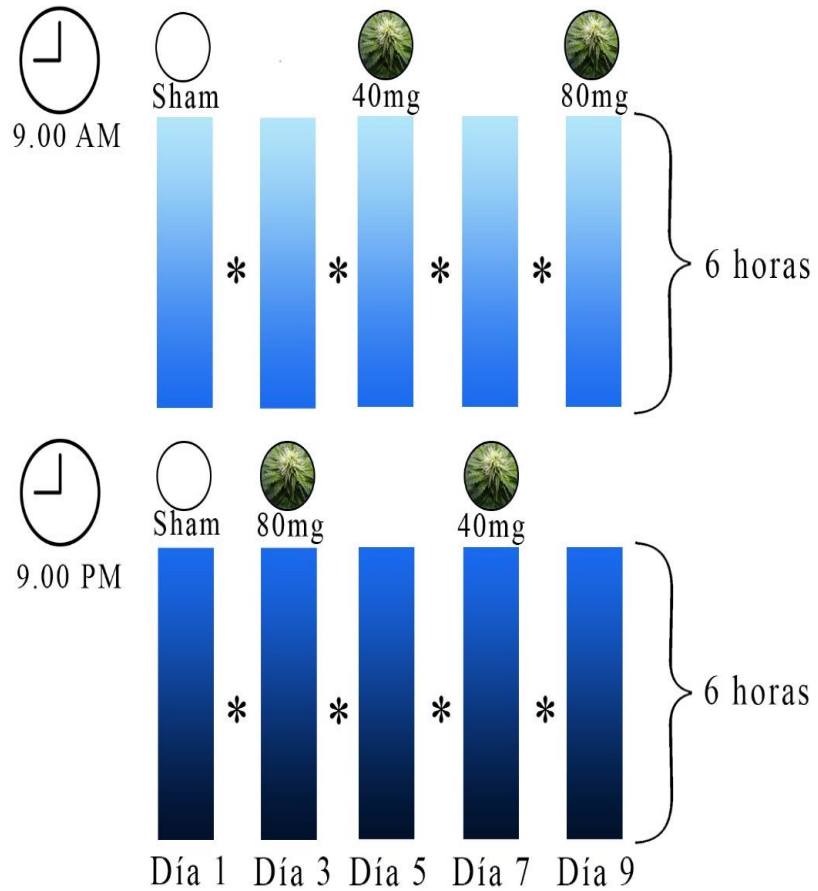


Cepa: Wistar
Sexo: Machos
Peso: 270 – 300 gr

Ciclo luz oscuridad: 12 horas
Encendido de luz: 6:00 AM

Protocolo CEUA: 070153-001077-15

Sesiones experimentales



Análisis de los datos

- ◆ Se estadificó el registro en épocas de 10 segundos: W, LS, SWS, REM
- ◆ Se determinó:
 - ◇ Tiempo permanecido en cada estado (6 horas y 1era hora) NREM = LS+SWS
 - ◇ Duración y número de episodios
 - ◇ Latencia al NREM y REM

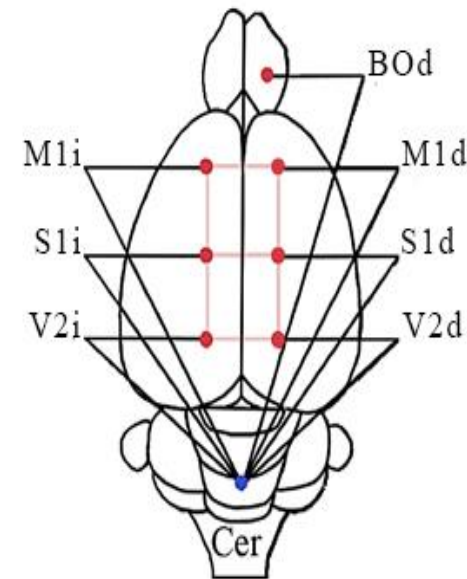
Análisis de EEG

◆ Sólo para C_{200} y sus sl

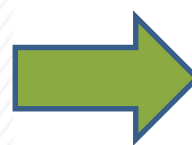
Potencia: Amplitud^2

Coherencia $\text{coh}(f) = \frac{|\sum \text{csd}_{ab}(f)|^2}{\sum \text{psd}_a(f) \sum \text{psd}_b(f)}$

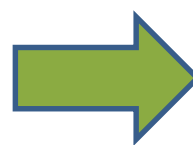
Varía de 0 a 1



Determinación de THC en sangre



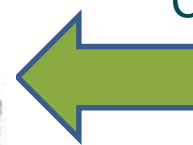
15 minutos en ambiente tranquilo



Decapitación para colecta de sangre



Centrifugado 1200 g 15 minutos
Obtención de plasma



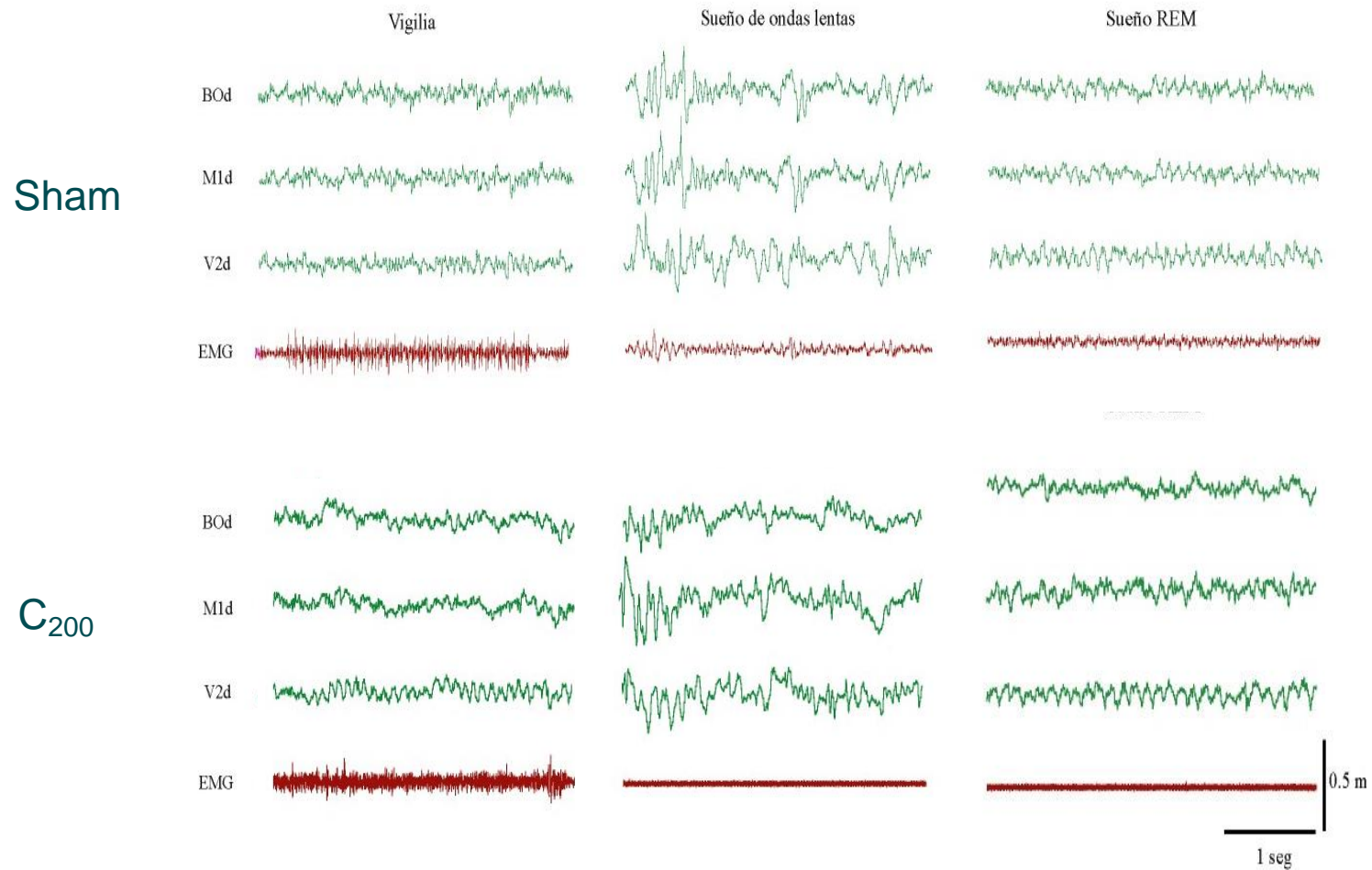
Δ -9-THC y 11-OH-THC

6 animales fueron tratados con C_{80} y C_2

Resultados:
 C_{200} : $6,7 \pm 0,04$ ng/mL
 C_{80} : $4,6 \pm 0,6$ ng/mL

Resultados

Efecto del Cannabis sobre el

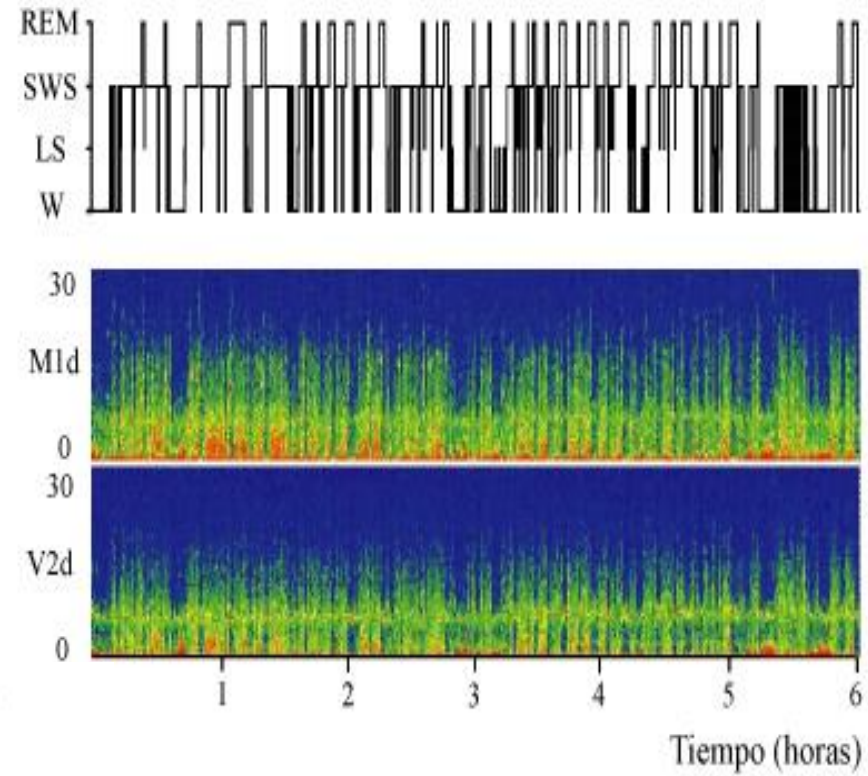
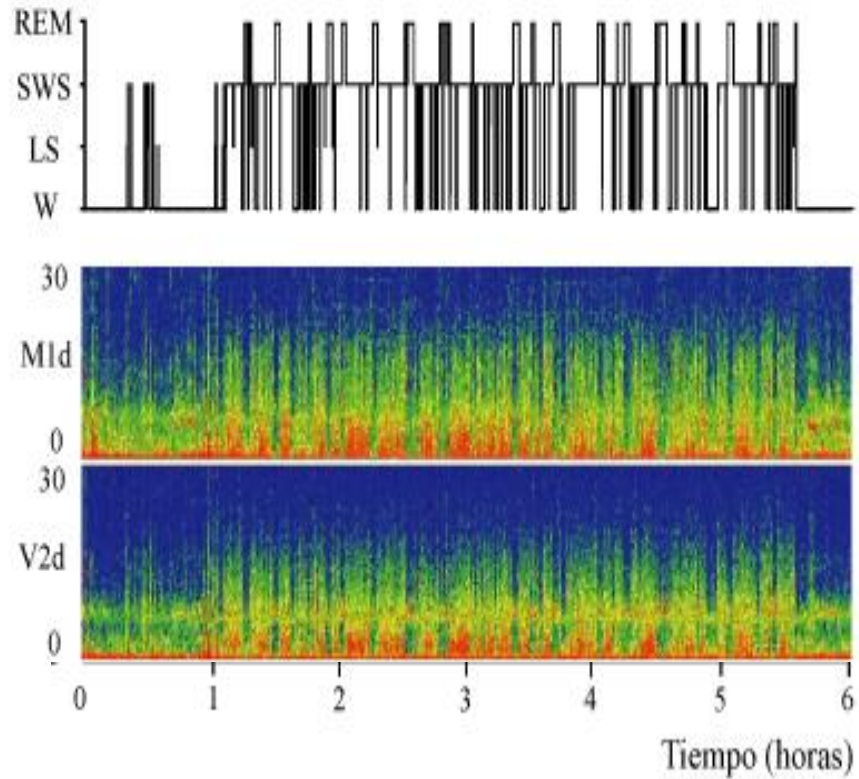


Efecto del Cannabis sobre el

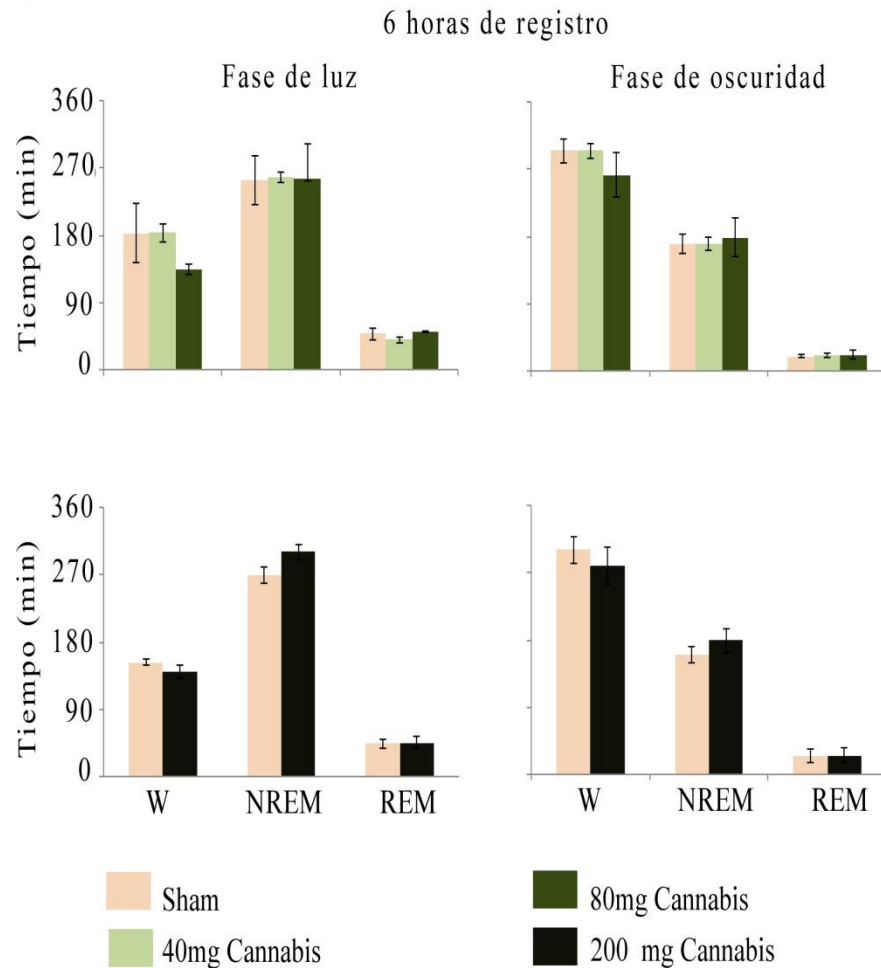
Sham

C₂₀₀

sueño



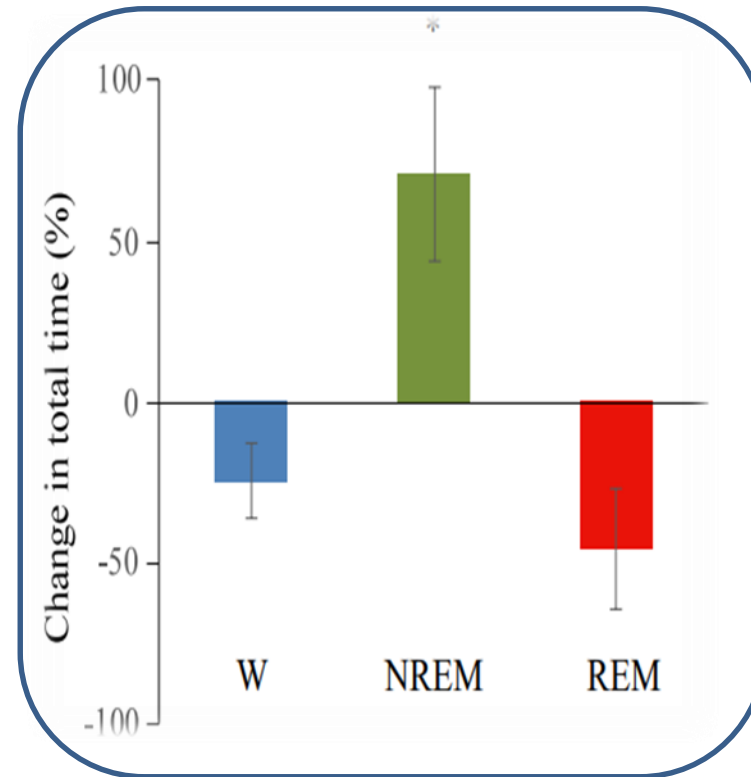
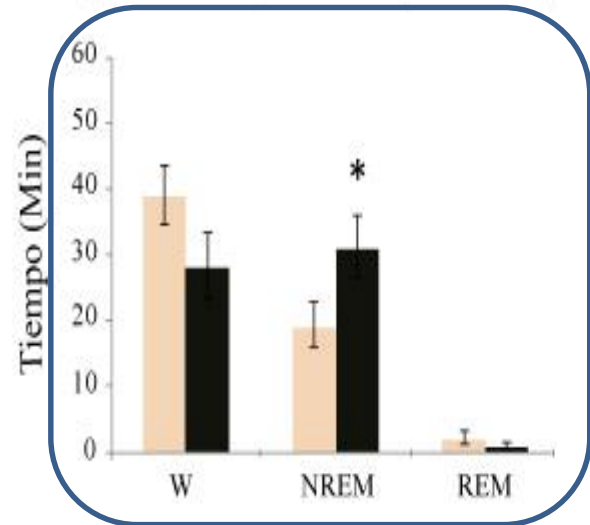
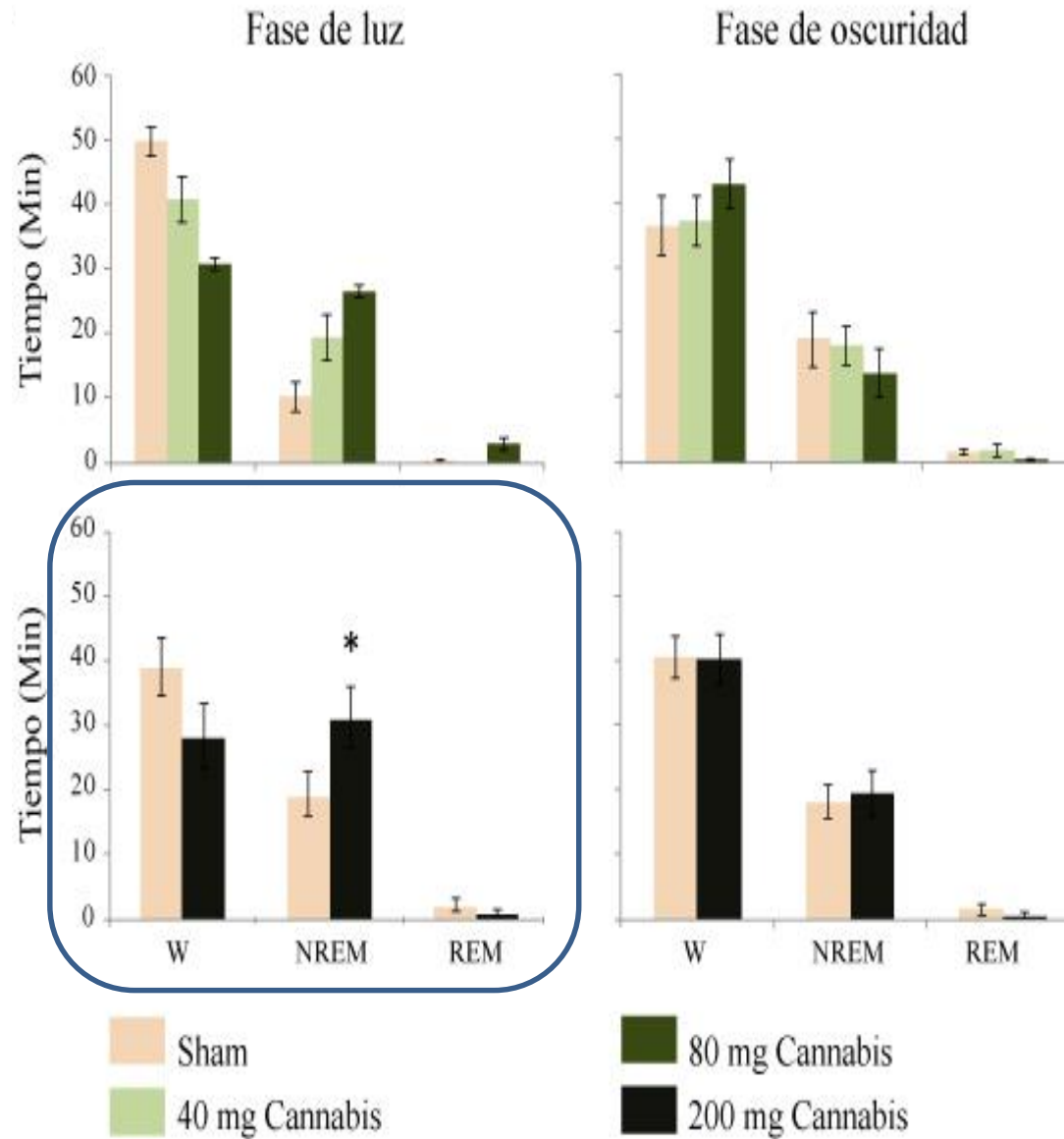
Efecto del Cannabis sobre el sueño



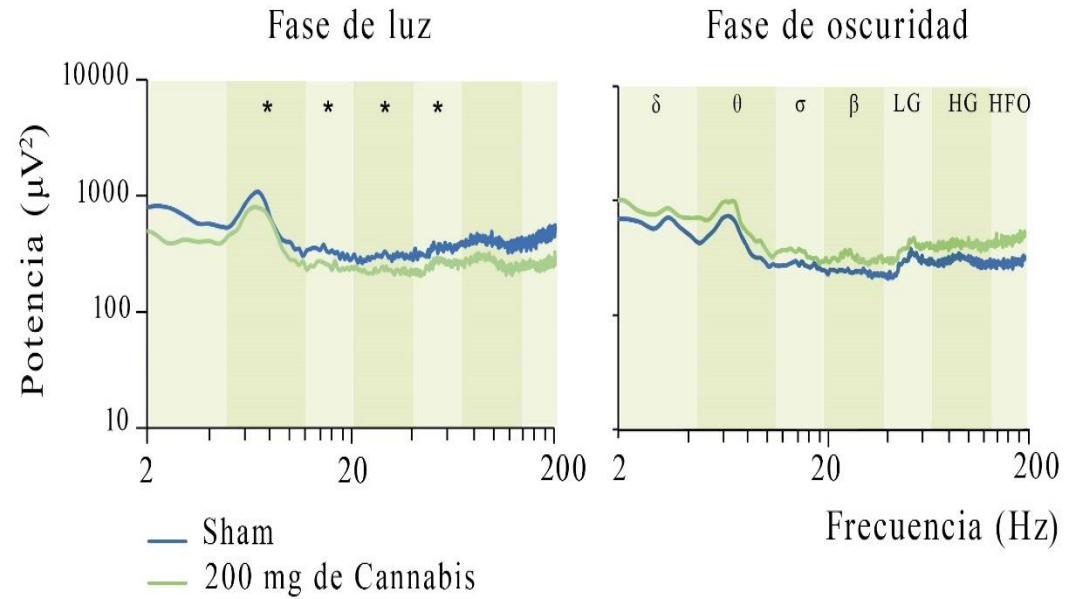
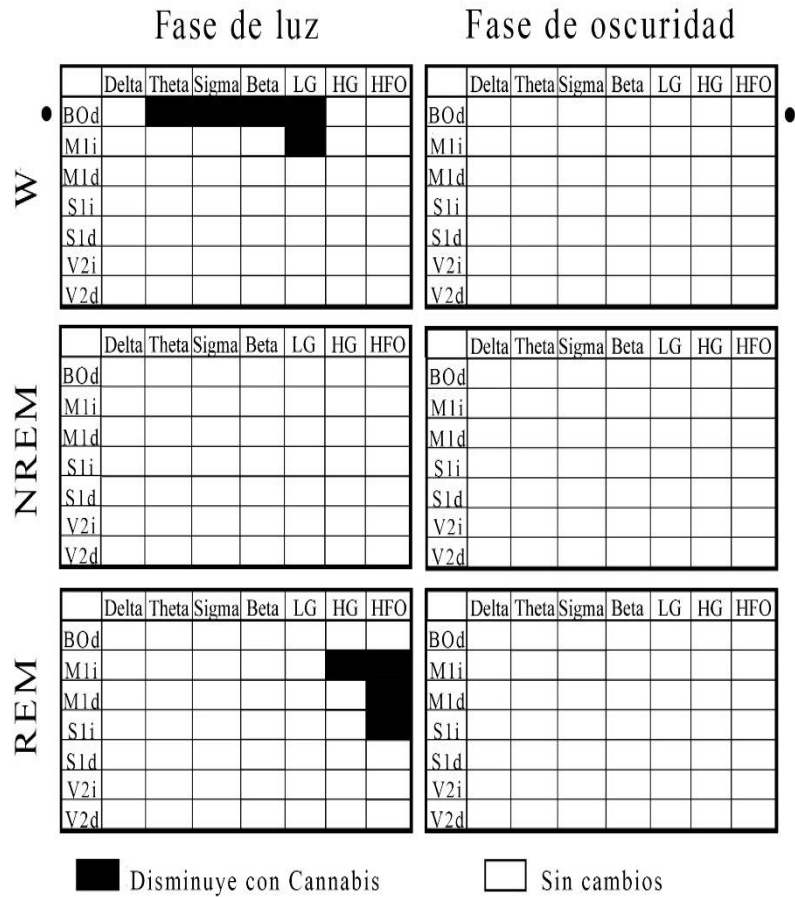
Efectos de la vaporización de 200 mg de Cannabis sobre el sueño y la vigilia durante la fase de luz.

	Sham	Cannabis 200 mg
Vigilia (W)		
Duración total (min)	113,3 ± 3,1	103,5 ± 7,0
Número de episodios	79,5 ± 4,5	61,8 ± 4,9*
Duración de los episodios (min)	1,5 ± 0,1	1,7 ± 0,2

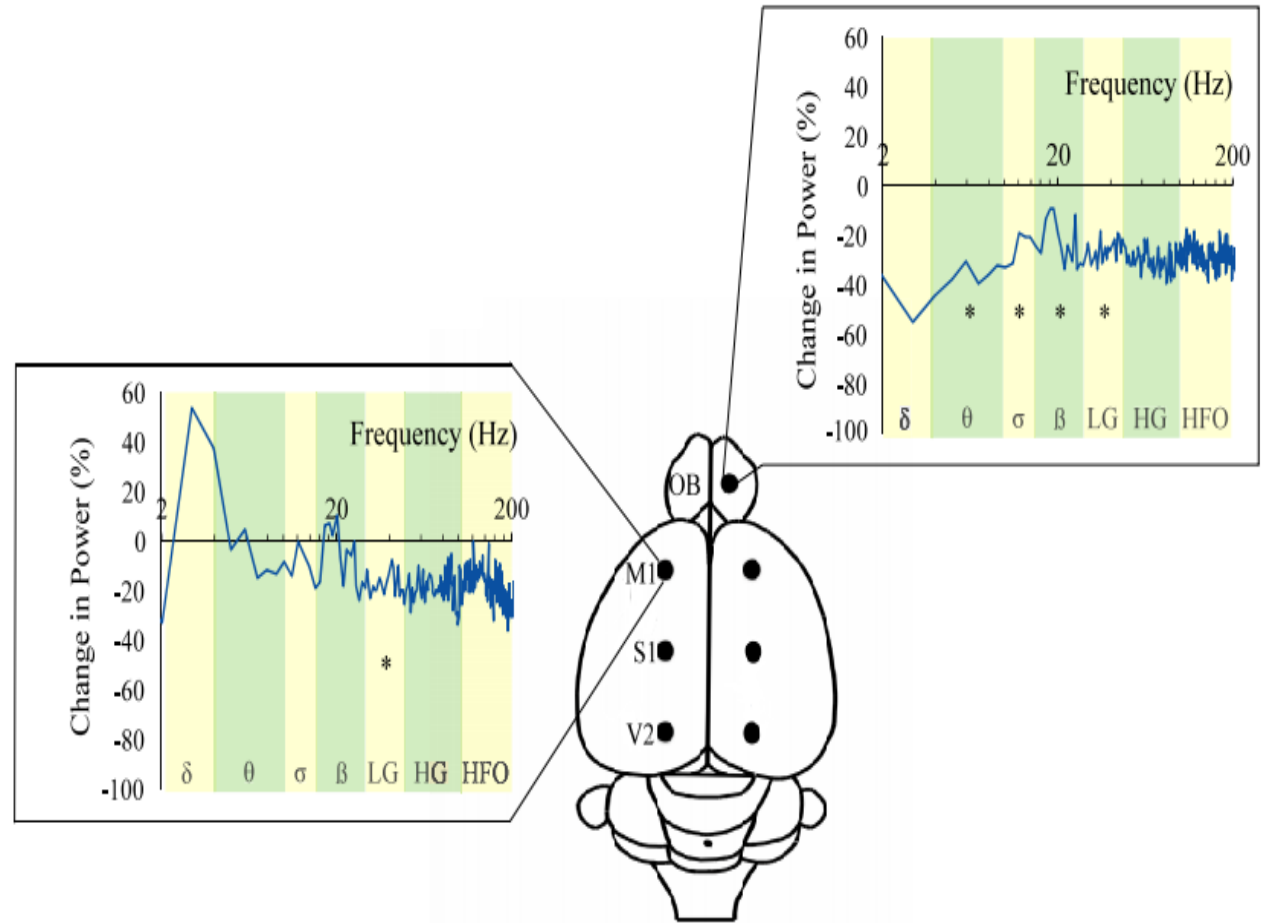
Primer hora de registro



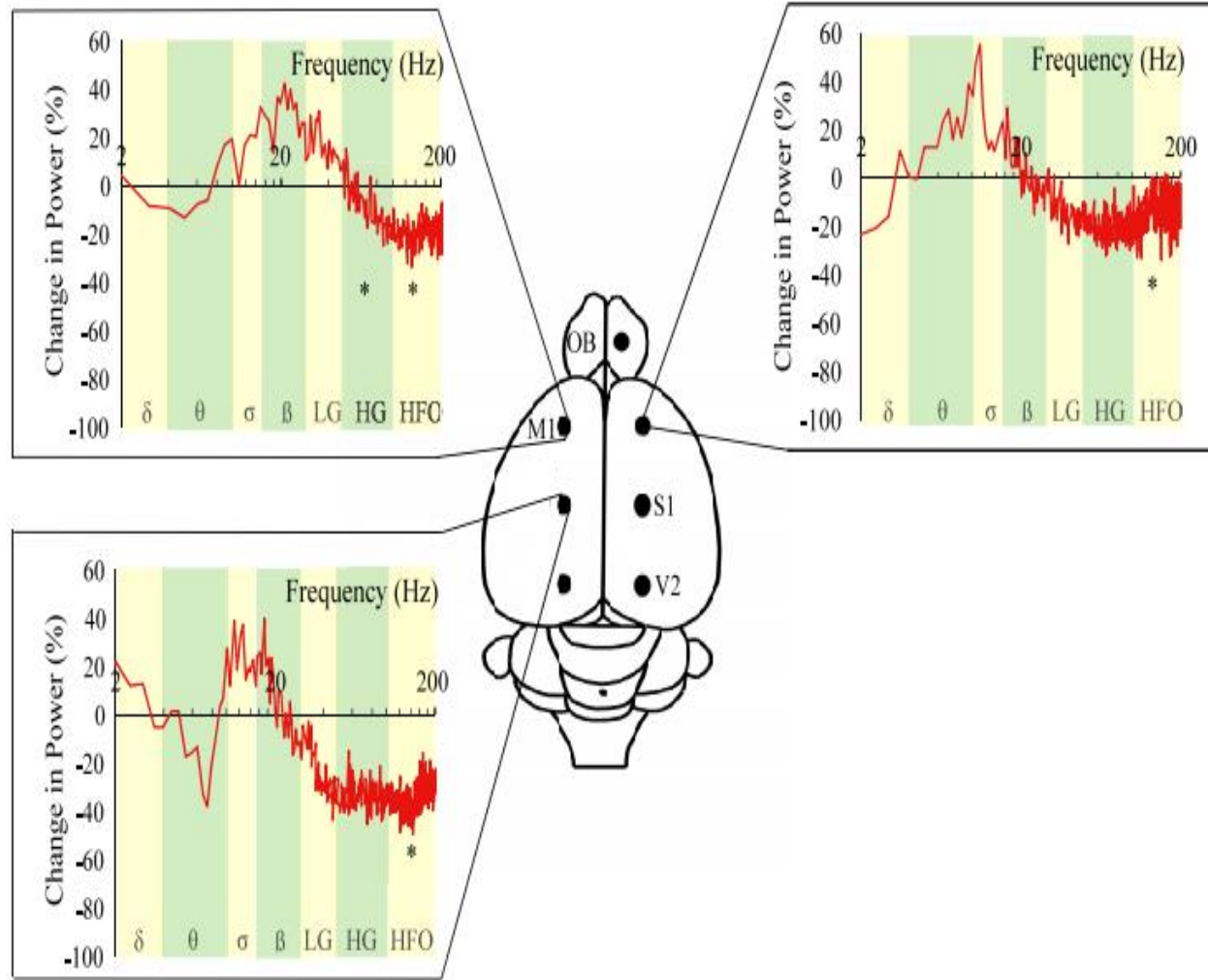
Efecto sobre la potencia



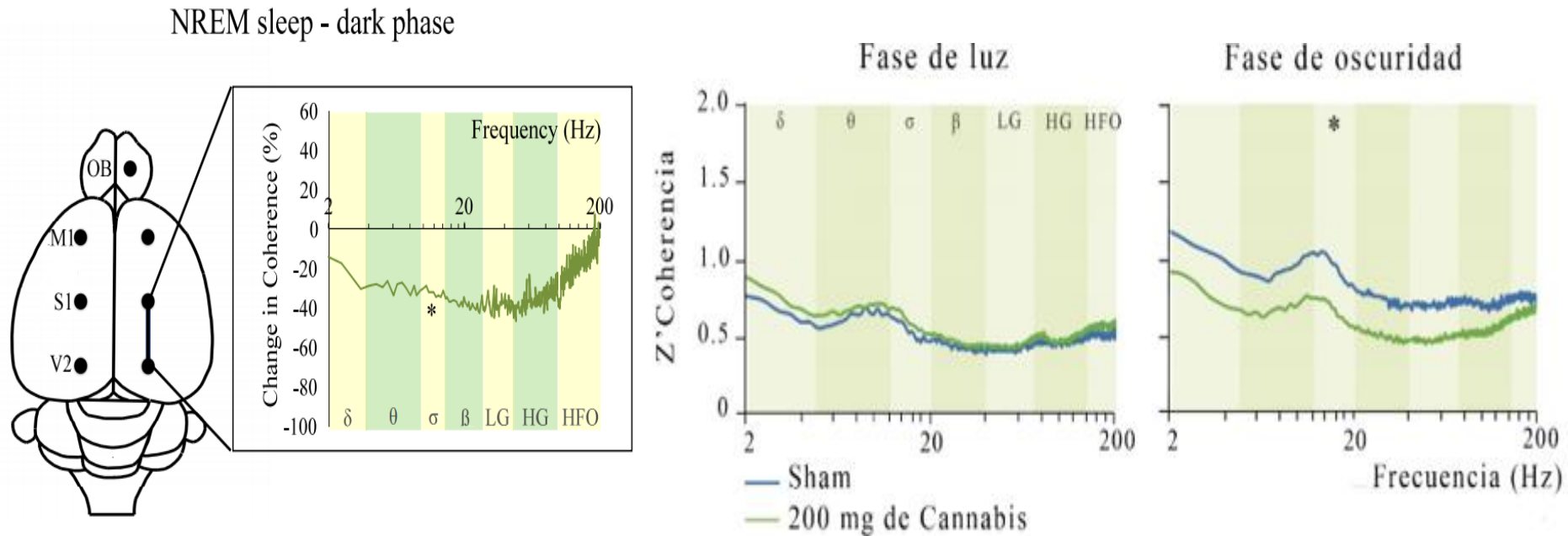
Variación de potencia en



Variación de Potencia en



Efecto del Cannabis sobre la Coherencia



Discusión y conclusiones

Primer trabajo que describe el efecto de la vaporización de Cannabis sobre el sueño y la actividad eléctrica cortical en ratas



NREM Primera hora (fase de luz)

Modificaciones en la potencia
y coherencia del EEG

Efectos dependientes del
momento de administración

Conclusiones

- ◆ La vaporización de Cannabis promueve el sueño únicamente cuando es administrada en la fase de reposo.
- ◆ Además, provoca una modificación de la actividad del EEG relacionada probablemente con funciones cognitivas

Núcleo Interdisciplinario de Estudios sobre Cannabis

Neurobiología del sueño

M. Cavelli



A. Mondino



A. Falconi

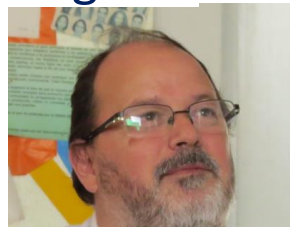
P.

Lorrerolo

Radiobiología



B. Mechoso



N. Bracesco

Farmacognosia y Productos Naturales



C. García

S. Fernández

Fisicoquímica y Espectroscopía



G. Moyna

