

# Sistema endocannabinoide e inflamación intestinal



Lucía Márquez<sup>a</sup>, Sergio Abanades<sup>b</sup> y Montserrat Andreu<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servei d'Aparell Digestiu. <sup>b</sup>Unitat de Recerca de Farmacologia. Institut Municipal d'Investigació Mèdica. Hospital del Mar. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. España.

El sistema endocannabinoide es un sistema regulador de múltiples funciones del organismo de los vertebrados. Hay 2 receptores específicos, CB1 y CB2, a través de los cuales los cannabinoides ejercen su efecto. Los receptores CB1 se expresan principalmente en los plexos mientérico y submucoso del aparato digestivo, lo que hace pensar que participan en la inhibición del peristaltismo y en la contracción gastrointestinal. Los receptores CB2 se expresan en tejidos y células inmunitarias, como los linfocitos T y B, monocitos y neutrófilos polimorfonucleares, y ejercen un efecto inmunomodulador. No se conoce por completo el papel del sistema endocannabinoide, pero hay suficientes evidencias que confirman que tiene un papel preeminente en la disminución de la inflamación mediante la disminución de la liberación de citocinas proinflamatorias, ejerciendo un papel protector en muchos de los puntos donde se rompe la homeostasis en la enfermedad inflamatoria intestinal. La investigación sobre los mecanismos de acción y los efectos del sistema endocannabinoide en el tubo digestivo permitirá avanzar en el tratamiento de esta enfermedad.

**Palabras clave:** Endocannabinoides. Sistema endocannabinoide. Receptores endocannabinoides. Inflamación intestinal. Colitis ulcerosa.

## Endocannabinoid system and bowel inflammation

The endocannabinoid system is an important regulatory system of multiple functions of the body in all vertebrates. There are 2 specific receptors, CB1 and CB2, through which the cannabinoids exert their effect. CB1-receptors mainly express themselves in myenteric plexuses and submucosal epithelium of the gastrointestinal tract, suggesting their implication in the inhibition of the peristalsis and gastrointestinal contraction. CB2-receptors are expressed in the tissue and immune cells, such as T and B-lymphocytes, monocytes and polymorphonuclear neutrophils, exerting an immunomodulator effect. The role of the endocannabinoid system is not completely known, but there is enough evidence that confirms an important role in the decrease of inflammation through the reduction of the release of pro-inflammatory cytokines. Therefore, it may exert a protective role in many of the points where the homeostasis breaks in inflammatory bowel disease. Research about the mechanisms and effects of the endocannabinoid system in the gastrointestinal tract will allow advancing in the therapy of this illness.

**Key words:** Endocannabinoids. Endocannabinoid system. Endocannabinoid receptors. Bowel inflammation. Ulcerative colitis.

La planta del cáñamo, o *Cannabis sativa*, de la que se extrae la marihuana, el hachís y sus derivados, contiene más de 420 compuestos químicos, de los que 60 son hidrocarburos aromáticos exclusivos de esta especie vegetal y se denominan cannabinoides. Existen múltiples referencias sobre su utilización en la medicina popular desde hace más de

4.000 años, tanto por sus efectos psicoactivos como por su acción sobre la estimulación del apetito, inhibición de la emesis y disminución de la motilidad intestinal. Actualmente se conocen las bases moleculares de las acciones del *cannabis* en el organismo. Igualmente se ha identificado un sistema cannabinoide endógeno. En este artículo revisaremos el papel del sistema endocannabinoide y sus agonistas en la inflamación del tracto gastrointestinal.

## Sistema endocannabinoide

El sistema endocannabinoide es un sistema lipídico regulador de múltiples funciones del organismo de los vertebrados. Se han identificado 2 receptores transmembrana específicos que pertenecen a la familia de los receptores acoplados a la proteína G (*G protein-coupled*), los receptores CB1 y CB2, a través de los cuales los cannabinoides ejercen su efecto<sup>1</sup>. Algunos cannabinoides parecen mediar sus acciones por la interacción con receptores independientes de CB1 y CB2. En este contexto, se ha propuesto que el receptor huérfano acoplado a la proteína G, GPR55, podría ser un nuevo receptor cannabinoide<sup>2</sup>.

El receptor tipo I o CB1 fue identificado por primera vez en tejido cerebral de ratas por Matsuda et al<sup>3</sup> en 1990. Se expresa fundamentalmente en el sistema nervioso central y periférico, aunque también se ha identificado en otros tejidos como el hepático, cardíaco, adiposo y vascular. En el tubo digestivo se expresa principalmente en los plexos mientérico y submucoso, lo que indicaría su implicación en la inhibición del peristaltismo y en la contracción gastrointestinal<sup>3</sup>. Los receptores tipo II o CB2 fueron identificados en 1993 por Munro et al<sup>4</sup> predominantemente en tejidos inmunitarios como bazo, timo y órganos linfáticos, y en diferentes células inmunitarias, por lo que se cree que este sistema puede tener un papel inmunomodulador. Se expresan sobre todo en los linfocitos B y de forma moderada en monocitos y neutrófilos polimorfonucleares. También se expresan en linfocitos T, pero escasamente. En fechas recientes se han aislado receptores CB2 en células de la microglia que representan el sistema mononuclear fagocítico del sistema nervioso central<sup>5</sup>.

El sistema endocannabinoide incluye además los agonistas de dichos receptores, que son ligandos endógenos de éstos y que se denominan endocannabinoides. Son compuestos derivados del ácido araquidónico conjugado con etanolamida o glicerol. Los mejor caracterizados se conocen desde 1964 y son la etanolamida del ácido araquidónico o anandamida (AEA) y el 2-araquidonilglicerol<sup>6</sup>. Se encuentran en el cerebro, plasma y tejidos. La N-palmitoil-etanolamina se considera un subtipo particular de endocannabinoide, ya que se produce e inactiva en las células y ejerce acciones biológicas relacionadas con la inhibición de la inflamación, aunque no está claro a través de qué tipo de receptor cannabinoide actúa.

Correspondencia: Dra. M. Andreu. Sección de Gastroenterología. Servicio de Digestología. Hospital del Mar. Pg. Marítim, 35-39. 08003 Barcelona. España. Correo electrónico: mandreu@imas.imim.es

Recibido el 6-2-2008; aceptado para su publicación el 2-4-2008.

Entre los ligandos exógenos del sistema endocannabinoide se encuentran el  $\Delta$ -9-tetrahidrocannabinol ( $\Delta$ -9-THC), principal responsable de las propiedades psicoactivas de la planta; el cannabidiol, precursor del tetrahidrocannabinol, que se encuentra en mayor proporción en el hachís y no posee propiedades psicoactivas, pese a que se postula que potencia los efectos del  $\Delta$ -9-THC, y el cannabinol, que se forma espontáneamente desde el  $\Delta$ -9-THC<sup>7</sup>. Se han identificado además otros cannabinoides, entre ellos el  $\Delta$ -8-tetrahidrocannabinol ( $\Delta$ -8-THC), con propiedades similares al  $\Delta$ -9-THC, cannabigerol, cannabicrómeno, cannabiciolol, cannabielsoína, cannabinodiol o cannabitriol<sup>8</sup>.

A diferencia de los neurotransmisores clásicos, los endocannabinoides no se almacenan en forma de vesículas, sino que se sintetizan a demanda a partir de precursores fosfolípidos presentes en la membrana celular. Rápidamente son inactivados, primero por un transportador de membrana, y luego son hidrolizados por enzimas intracelulares específicas: la amidohidrolasa de ácidos grasos en el caso de la AEA, y la monoacilglicerol lipasa para el 2-araquidonilglicerol<sup>8</sup>. Además, se ha demostrado que la AEA puede ser un sustrato de la enzima ciclooxigenasa-2 y dar lugar a compuestos denominados prostamidas, que poseen acciones relacionadas con las prostaglandinas, aunque no se dispone de evidencias claras de sus mecanismos de acción<sup>9</sup>.

Tras el acoplamiento de los endocannabinoides a los receptores acoplados a la proteína G de membrana, las 3 subunidades del receptor se disocian en 2 grupos:  $\alpha$  y  $\beta\gamma$ . A través del dímero  $\beta\gamma$  se acopla a otros efectores como canales rectificadores de potasio y canales de potasio dependientes de voltaje tipo A, lo que facilita la salida de  $K^+$  de la célula. Además, su interacción con canales de  $Ca^{2+}$  sensibles al voltaje y canales de  $Ca^{2+}$  tipo N/PQ<sup>-</sup> disminuye la entrada de  $Ca^{2+}$  en la célula. Estas acciones modulan la liberación de transmisores en la neurona presináptica y disminuyen la excitabilidad celular<sup>10</sup>. La subunidad  $\alpha$  se acopla a la adenilciclase, que cataliza la conversión de adenosintrifosfato en adenosinmonofosfato cíclico (AMPc), o a la fosfolipasa C, que hidroliza el fosfatidil inositol, el cual se disocia en diacilglicerol e inositol fosfato<sup>11</sup>. En algunos tipos celulares los receptores cannabinoides pueden acoplarse al sistema efector a través de una proteína FAN que actúa activando la esfingomielinasa, la cual hidroliza esfingomielina para producir ceramidas<sup>12</sup>.

Todas estas modificaciones en los segundos mensajeros intracelulares (AMPc, inosítoles fosfato y calcio, ceramidas) activan nuevas enzimas y proteínas, lo que da inicio a mecanismos de transducción y amplificación de la señal. Las principales cascadas de transducción son:

- Proteincinasas activadas por mitógenos (MAPK): los endocannabinoides pueden activar tanto las activadas por señales extracelulares, que intervienen en el crecimiento y la diferenciación celulares, como aquellas desencadenadas por estrés, que guardan relación con la apoptosis, la transformación tumoral y la inflamación.
- Vía de las cinasas PI3K/PDK/PKBa, relacionadas con la regulación del metabolismo de la glucosa y con el crecimiento celular<sup>13</sup>.
- Óxido nítrico sintetasa: los endocannabinoides aumentan la producción de óxido nítrico a través de la activación de la óxido nítrico sintetasa constitutiva (cNOS), que está implicada en procesos vasodilatadores y en la inhibición de la liberación de neurotransmisores<sup>14</sup>.
- Fosfolipasas D y A2: los endocannabinoides, ya sea directamente o a través de la activación de mecanismos de transducción o de canales de calcio, activan las fosfolipasas

A2 y D estimulando la producción de ácido araquidónico, que a su vez puede metabolizarse y producir prostaciclina, tromboxanos e hidroperoxiácidos<sup>15</sup>.

Estos mecanismos de transducción desembocan en la producción de proteínas que son factores de transcripción que regulan la expresión de determinados genes de estimulación temprana o inmediata, como la familia de factores CREB/ATF (*cAMP-response element binding protein/activating transcription factor*)<sup>16</sup>.

Se ha demostrado que los endocannabinoides pueden interactuar con otros tipos de receptores, como los receptores vanilloides, opioides y serotoninérgicos. Los mejor caracterizados son los receptores vanilloides (TRPV1), también conocidos como VR1, activados por la AEA en las neuronas aferentes<sup>17</sup>, que también actúan en el receptor de capsaicina y que son receptores transitorios vanilloides. Existe una interacción entre los receptores CB1 y TRPV1 en presencia de un agonista CB. Los receptores CB y los TRPV1 están coexpresados en los ganglios dorsales e implicados en la integración de los estímulos nociceptivos y en la mediación de la respuesta inflamatoria neurogénica. En el tubo digestivo, los canales TRPV1 están implicados en la vasodilatación, hiperalgesia, hipersecreción y neuroinflamación<sup>18</sup>.

### Endocannabinoides, tubo digestivo e inflamación

El sistema endocannabinoide está presente en el sistema nervioso entérico y tiene un papel importante en la fisiología del tubo digestivo, aunque sus mecanismos de acción celular son todavía poco conocidos. Se sabe igualmente que interviene en la regulación de la motilidad intestinal, el retraso del vaciamiento gástrico, la inhibición de la secreción gástrica y la inmunomodulación. Se han identificado receptores CB1 en el tubo digestivo de diferentes mamíferos, tales como ratones, monos y humanos. Estos receptores se encuentran fundamentalmente en los plexos mientérico y submucoso, aunque estudios recientes han demostrado además su presencia en las células epiteliales absortivas y en las microvellosidades<sup>19</sup>. En el sistema nervioso entérico se expresan fundamentalmente en las neuronas presinápticas, donde modulan la liberación de otros neurotransmisores. Se ha demostrado que la presencia de estos receptores se asocia a neuronas colinérgicas. Esta asociación apoya la hipótesis de la disminución de la motilidad y de la secreción intestinal mediante la inhibición de la liberación de acetilcolina.

Recientemente se han publicado los resultados de un ensayo clínico en el que se describe la diarrea como uno de los efectos adversos del rimonabant, un antagonista selectivo de CB1 que se utiliza como tratamiento para la obesidad<sup>20</sup>.

Varios modelos de inducción de colitis ulcerosa en animales han evidenciado el aumento de la expresión de receptores CB1. Izzo et al<sup>21</sup> demostraron el aumento de receptores CB1 en el plexo mientérico yeyunal de ratones a los que se había inducido inflamación intestinal. A su vez, Massa et al<sup>22</sup> demostraron que, tras la inducción de colitis mediante ácido sulfónico dinitrobenzénico (DNBS) en ratones, se aumentaba la expresión de CB1. Además, los ratones con un déficit genético del receptor CB1 y los tratados con un antagonista del CB1 (SR141716) presentaban colitis más graves.

Los receptores CB2 se expresan intensamente en las células inmunitarias (macrófagos, células dendríticas y células B) y modifican tanto la producción como la liberación de citocinas. Los receptores CB2 están escasamente expresados en el epitelio intestinal normal, pero son muy evidentes en la membrana apical de los márgenes ulcerados en la enfermedad inflamatoria intestinal. En la lámina propia se expre-

san en las células plasmáticas y en los macrófagos activados. Esta expresión se ve incrementada en los casos de enfermedad inflamatoria intestinal, sin que esté claro su significado<sup>23</sup>. También se ha demostrado que la utilización de agonistas de receptores cannabinoides CB2 en determinadas líneas celulares epiteliales de colon inhibe la formación del factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), que a su vez disminuye la liberación de interleucina 8, lo que refuerza la hipótesis del efecto antiinflamatorio de CB2<sup>24</sup>.

Así pues, aunque todavía no se ha determinado con claridad cuál es el papel fisiológico del sistema endocannabinoide en la homeostasis autoinmunitaria, se dispone de suficientes evidencias que confirman que tiene un papel preeminente en la disminución de la inflamación mediante la disminución de la liberación de citocinas proinflamatorias<sup>25</sup>.

Según indica el estudio de Mathison et al<sup>26</sup>, también los receptores CB2 estarían implicados en la regulación de la motilidad intestinal. Tras la administración intraperitoneal de un lipopolisacárido, la utilización de un agonista selectivo CB2 (JWH-133) reducía el tiempo de tránsito intestinal, pero no era efectivo en el grupo control. Por el contrario, la utilización de un agonista selectivo CB1 (ACEA: araquidonil-2-cloroetilamida) disminuía el tiempo de tránsito intestinal en el grupo control, pero no en las ratas tratadas con lipopolisacárido<sup>26</sup>. Todo esto apoya la hipótesis de una activación de los receptores CB2 como mecanismo para restablecer el tránsito intestinal normal tras el estímulo inflamatorio.

Recientemente se han publicado 2 estudios que indican que los receptores cannabinoides, y en particular los receptores CB2, tienen un papel relevante en la regulación de la sensibilidad visceral en el tracto digestivo, con efecto antinociceptivo, y también en la disminución de la hipersensibilidad intestinal. Sanson et al<sup>27</sup> constataron una reducción de la hipersensibilidad inducida por la distensión colorrectal en ratones en condiciones basales y con colitis inducida por ácido sulfónico trinitrobenzeno (TNBS) a los que administraron agonistas de receptores CB1 y CB2 (WIN 55212-2 y JWH015), respectiva-

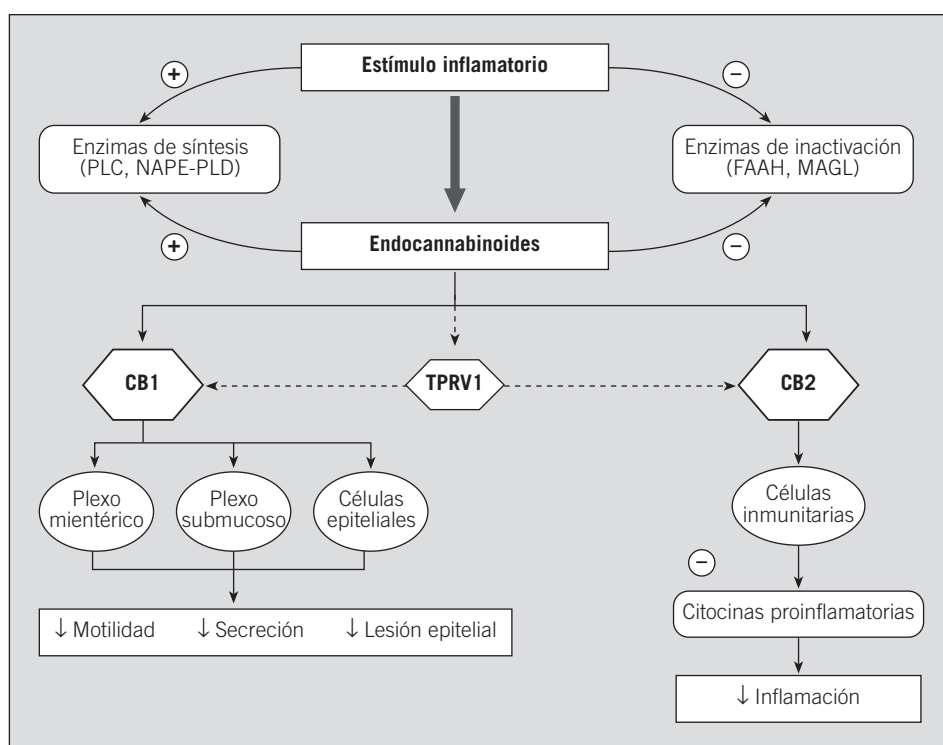
mente. Al mismo tiempo, Hillsey et al<sup>28</sup> demostraron una inhibición de la respuesta a la bradicinina en neuronas mesentéricas aferentes de ratones tratados con agonistas CB2 (AM1241), así como el bloqueo de esta inhibición tras la administración de antagonistas CB2 (AM630).

Hasta la fecha sólo se han publicado 2 estudios cuyo objetivo ha sido determinar los valores de endocannabinoides en el tejido colónico de pacientes con colitis ulcerosa. Darmani et al<sup>29</sup> observaron un aumento significativo de N-palmitoil-etanolamina en las biopsias de 8 pacientes con colitis ulcerosa en comparación con tejido colónico normal. En otro estudio, D'Argenio et al<sup>30</sup> demostraron que los valores de AEA en pacientes con colitis ulcerosa sin tratamiento eran significativamente más elevados que los de biopsias de pacientes con mucosa rectal normal.

Como se ha comentado previamente, son numerosos los modelos experimentales de enfermedad inflamatoria intestinal en animales que han demostrado un aumento de los valores de endocannabinoides, de la expresión de sus receptores o de ambos de forma simultánea. Además, los agonistas sintéticos de estos receptores o inhibidores de la amidohidrolasa de ácidos grasos disminuyen la motilidad y el daño epitelial causados por la inflamación.

En resumen, los endocannabinoides y sus receptores CB1 y CB2 estarían regulados al alza en la inflamación intestinal, es decir, habría un aumento del tono endocannabinoide como respuesta a la agresión inflamatoria. El aumento de la expresión de receptores CB1, localizados fundamentalmente en neuronas de los plexos mientérico y submucoso y en células epiteliales, conferiría protección contra el aumento de la motilidad y el daño epitelial presentes en la inflamación intestinal. El aumento de receptores CB2, expresados por las células inmunitarias, desempeñaría un papel importante en la inhibición de la liberación de TNF $\alpha$  y de citocinas proinflamatorias y, por lo tanto, en la disminución de la inflamación y en la recuperación de la homeostasis inmunitaria tras el estímulo inflamatorio (fig. 1).

Fig. 1. Actividad del sistema endocannabinoide en respuesta a la agresión inflamatoria. El estímulo inflamatorio induce la liberación de endocannabinoides mediante la estimulación de las enzimas de síntesis—proteína tirosinfosfatasa (PTPN-22), NAP-P y fosfatidil inositol fosfolipasa C específica (PLC)— y de la inhibición de las enzimas inactivadoras —amidohidrolasa de ácidos grasos (FAAH) y monoacilglicerol lipasa (MAGL)—. A través de receptores CB1, localizados fundamentalmente en los plexos mientérico y submucoso y en las células epiteliales, actúan disminuyendo la motilidad, la secreción y la lesión epitelial. A través de los receptores CB2, expresados fundamentalmente por células inmunitarias, disminuyen la producción de citocinas proinflamatorias y, por lo tanto, la inflamación. Enzimas de síntesis: NAPE-PLD (N-araquidonil-fosfatidiletanolamina fosfolipasa) y PLC. Enzimas de degradación: FAAH y MAGL.



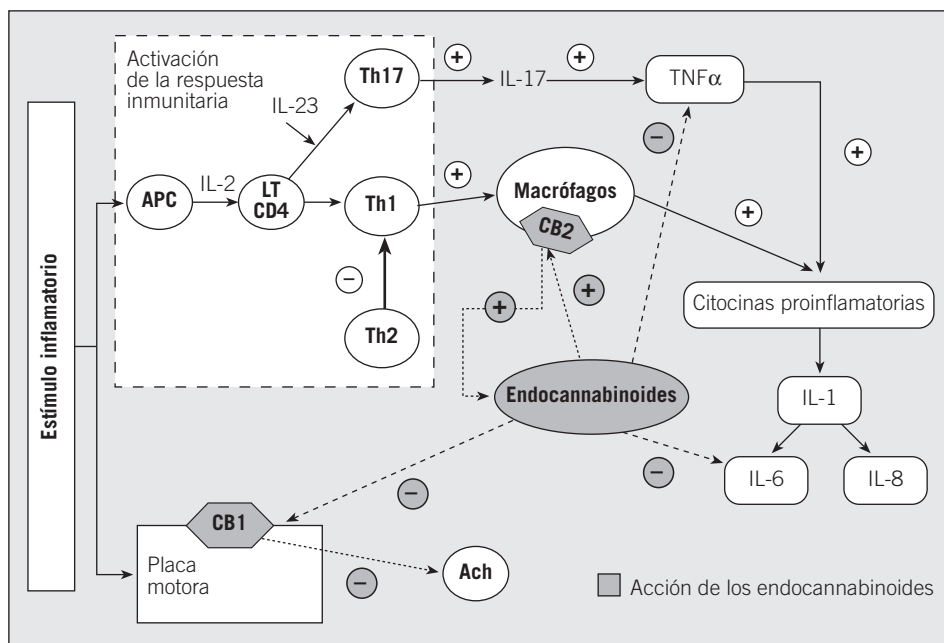


Fig. 2. Posible papel de los endocannabinoides en la fisiopatología de la enfermedad inflamatoria intestinal. Tras el estímulo inflamatorio se produce una activación de linfocitos CD4: linfocitos T helper (Th2, Th1 y Th17). Estos, a su vez, ya sea directamente o a través de la activación de macrófagos, estimulan la producción de factor de necrosis tumoral alfa (TNFα) y citocinas proinflamatorias. Los macrófagos activados producen endocannabinoides, que inhiben la producción tanto de TNFα como de interleucina (IL) 8 y, a través de receptores CB2, de manera autocrina estimulan la liberación de más endocannabinoides. Además, actúan sobre receptores CB1 situados en la placa motora disminuyendo la liberación de acetilcolina (ACh) y, por lo tanto, disminuyendo la motilidad intestinal. APC: células presentadoras de antígeno.

La patogenia de las 2 formas de enfermedad inflamatoria intestinal, esto es, la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, es compleja y no se conoce del todo, pero se acepta que intervienen factores ambientales, microbianos, genéticos e inmunitarios. El resultado final es una inflamación crónica del tejido intestinal y su lesión consecuente. Se produce una respuesta inapropiada a la presencia de las bacterias comensales y otros antígenos lumenales, lo cual induce el incremento de la permeabilidad epitelial y una disfunción neuronal entérica. Se producen también cambios de la inmunotolerancia, con la activación y proliferación de linfocitos T y B. Durante la actividad de la enfermedad, las células T activadas liberan citocinas proinflamatorias que estimulan a los macrófagos, los cuales, a su vez, producen nuevas citocinas, con lo que se activa la cascada inflamatoria que ocasiona el daño tisular.

En la inflamación crónica, mediada por la inmunidad innata y adquirida, existe una desregulación de las células inmunitarias (macrófagos, células dendríticas y linfocitos T y B). La colitis ulcerosa se caracteriza por una respuesta inmunitaria mediada por linfocitos T *helper* (Th) tipo 2, mientras que la enfermedad de Crohn tiene un perfil de respuesta mediada por linfocitos Th1. Los linfocitos Th1 y Th2 estimulan la producción de TNFα y citocinas proinflamatorias por parte de los macrófagos. Recientemente se han descrito nuevos mecanismos fisiopatológicos en las 2 enfermedades que apuntan a un complicado solapamiento entre ambas a través de la activación de linfocitos T CD4 (Th17). Estos linfocitos producen interleucina 17, que en presencia de interleucina 23 estimula la producción de TNFα (fig. 2).

## Conclusiones

El sistema endocannabinoide regula múltiples funciones del organismo de los vertebrados. En el tubo digestivo interviene en la regulación de la motilidad intestinal, el retraso del vaciamiento gástrico, la inhibición de la secreción gástrica y la inmunomodulación. Además, parece desempeñar un papel relevante en la fisiopatología de las enfermedades intestinales que cursan con inflamación, como la enfermedad inflamatoria intestinal. Ante un estímulo inflamatorio se pro-

duciría un aumento de la expresión de receptores CB1 y CB2, así como un aumento de las enzimas de síntesis y una disminución de las de degradación. Todo esto se traduciría en un aumento del tono endocannabinoide intestinal como respuesta a la agresión inflamatoria.

El aumento de la expresión de receptores CB1 conferiría protección frente al aumento de la motilidad y el daño epitelial presentes en la inflamación intestinal. El incremento de receptores CB2 desempeñaría un papel importante en la inhibición de la liberación de TNFα y de citocinas proinflamatorias y, por lo tanto, en la disminución de la inflamación y en la recuperación de la homeostasis inmunitaria tras el estímulo inflamatorio.

Por lo tanto, el sistema endocannabinoide parece tener un papel beneficioso en muchos de los puntos donde se rompe la homeostasis en la enfermedad inflamatoria intestinal. Un mejor conocimiento de la distribución, de los mecanismos de acción y de los efectos del sistema endocannabinoide en el tubo digestivo permitiría avanzar en el tratamiento de todas estas enfermedades.

## Agradecimiento

Deseamos agradecer a los Dres. Magí Farré y Rafael de la Torre, de la Unitat de Recerca de Farmacologia de l'Institut Municipal d'Investigació Mèdica (Hospital del Mar, Universidad Autónoma de Barcelona), su apoyo y ayuda en la elaboración de este manuscrito.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Duncan M, Davison JS, Sharkey KA. Review article: endocannabinoids and their receptors in the enteric nervous system. *Aliment Pharmacol Ther.* 2005;22:667-83.
- Baker D, Pryce G, Davies WL, Hiley CR. In silico patent searching reveals a new cannabinoid receptor. *Trends Pharmacol Sci.* 2006;27:1-4.
- Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature.* 1990;346:561-4.
- Munro S, Thomas KL, Bu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature.* 1993;365:61-5.
- Cabral GA, Marciano-Cabral F. Cannabinoid receptors in microglia of the central nervous system: immune functional relevance. *J Leukoc Biol.* 2005;78:1192-7.

6. Gaoni Y, Mechoulam R. The isolation and structure of delta-1-tetrahydrocannabinol and other neutral cannabinoids from hashish. *J Am Chem Soc.* 1971;93:217-24.
7. Hayakawa K, Mishima K, Hazekawa M, Sano K, Irie K, Orito K, et al. Cannabidiol potentiates pharmacological effects of delta(9)-tetrahydrocannabinol via CB(1) receptor-dependent mechanism. *Brain Res.* 2008; 1188:157-64.
8. Rodríguez de Fonseca F, Del Arco I, Bermúdez-Silva FJ, Bilbao A, Cippitelli A, Navarro M. The endocannabinoid system: physiology and pharmacology. *Alcohol Alcohol.* 2005;40:2-14.
9. Ross RA, Craib SJ, Stevenson LA, Pertwee RG, Henderson A, Toole J, et al. Pharmacological characterization of the anandamide cyclooxygenase metabolite: prostaglandin E2 ethanolamide. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002; 301:900-7.
10. Fowler CJ, Holt S, Nilsson O, Jonsson KO, Tiger G, Jacobsson SO. The endocannabinoid signaling system: pharmacological and therapeutic aspects. *Pharmacol Biochem Behav.* 2005;81:248-62.
11. Bouaboula M, Poinot-Chazel C, Bourrie B, Canat X, Calandra B, Rinaldi-Carmona M, et al. Activation of mitogen-activated protein kinases by stimulation of the central cannabinoid receptor CB1. *Biochem J.* 1995; 312:637-41.
12. Sánchez C, Rueda D, Seguí B, Galve-Roperh I, Levade T, Guzmán M. The CB(1) cannabinoid receptor of astrocytes is coupled to sphingomyelin hydrolysis through the adaptor protein FAN. *Mol Pharmacol.* 2001; 59:955-9.
13. Klein TW, Newton C, Larsen K, Lu L, Perkins I, Nong L, et al. The cannabinoid system and immune modulation. *J Leukoc Biol.* 2003;74:486-96.
14. Fimiani C, Liberty T, Aquirre AJ, Amin I, Ali N, Stefano GB. Opiate, cannabinoid, and eicosanoid signaling converges on common intracellular pathways nitric oxide coupling. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 1999; 57:23-34.
15. Burstein S, Budrow J, Debatis M, Hunter SA, Subramanian A. Phospholipase participation in cannabinoid-induced release of free arachidonic acid. *Biochem Pharmacol.* 1994;48:1253-64.
16. Herring AC, Faubert Kaplan BL, Kaminski NE. Modulation of CREB and NF-kappaB signal transduction by cannabinol in activated thymocytes. *Cell Signal.* 2001;13:241-50.
17. Zygmunt PM, Petersson J, Andersson DA, Chuang H, Sorgard M, Di Marzo V, et al. Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature.* 1999;400:452-7.
18. Holzer P. Vanilloid receptor TRPV1: hot on the tongue and inflaming the colon. *Neurogastroenterol Motil.* 2004;16:697-9.
19. Wright K, Rooney N, Feeney M, Tate J, Robertson D, Welham M, et al. Differential expression of cannabinoid receptors in the human colon: cannabinoids promote epithelial wound healing. *Gastroenterology.* 2005; 129:437-53.
20. Hirschel B. Effect of rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk. *Lancet.* 2005;366:369-70.
21. Izzo AA, Capasso F, Costagliola A, Bisogno T, Marsicano G, Ligresti A, et al. An endogenous cannabinoid tone attenuates cholera toxin-induced fluid accumulation in mice. *Gastroenterology.* 2003;125:765-74.
22. Massa F, Marsicano G, Hermann H, Cannich A, Monory K, Cravatt BF, et al. The endogenous cannabinoid system protects against colonic inflammation. *J Clin Invest.* 2004;113:1202-9.
23. Wright KL, Duncan M, Sharkey KA. Cannabinoid CB(2) receptors in the gastrointestinal tract: a regulatory system in states of inflammation. *Br J Pharmacol.* 2008;153:263-70.
24. Ihenetu K, Molleman A, Parsons ME, Whelan CJ. Inhibition of interleukin-8 release in the human colonic epithelial cell line HT-29 by cannabinoids. *Eur J Pharmacol.* 2003;458:207-15.
25. Lunn CA, Reich EP, Bober L. Targeting the CB2 receptor for immune modulation. *Expert Opin Ther Targets.* 2006;10:653-63.
26. Mathison R, Ho W, Pittman QJ, Davison JS, Sharkey KA. Effects of cannabinoid receptor-2 activation on accelerated gastrointestinal transit in lipopolysaccharide-treated rats. *Br J Pharmacol.* 2004;142:1247-54.
27. Sanson M, Bueno L, Fioramonti J. Involvement of cannabinoid receptors in inflammatory hypersensitivity to colonic distension in rats. *Neurogastroenterol Motil.* 2006;18:949-56.
28. Hillsley K, McCaul C, Aerssens J, Peeters PJ, Gijssen H, Moechars D, et al. Activation of the cannabinoid 2 (CB2) receptor inhibits murine mesenteric afferent nerve activity. *Neurogastroenterol Motil.* 2007;19:769-77.
29. Darmani NA, Izzo AA, Degenhardt B, Valenti M, Scaglione G, Capasso R, et al. Involvement of the cannabinimetic compound, N-palmitoyl-ethanolamine, in inflammatory and neuropathic conditions: review of the available pre-clinical data, and first human studies. *Neuropharmacology.* 2005;48:1154-63.
30. D'Argenio G, Valenti M, Scaglione G, Cosenza V, Sorrentini I, Di Marzo V. Up-regulation of anandamide levels as an endogenous mechanism and a pharmacological strategy to limit colon inflammation. *FASEB J.* 2006; 20:568-70.