



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



“EL ACEITE DE *CANNABIS* COMO ALIMENTO FUNCIONAL PARA CONTROLAR NIVELES DE COLESTEROL, TRIGLICÉRIDOS Y MEJORAR LA PRESIÓN ARTERIAL, EN UN MODELO MURINO”

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS

PRESENTA:

SAUCEDA LARA MARIANA GUADALUPE

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P.

JULIO 2022

El programa de Maestría en ciencias farmacobiológicas de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, registro 003383, en el Nivel: En desarrollo.

Número de registro de la beca otorgada por CONACyT, CV: 1079208



“El aceite de cannabis como alimento funcional para controlar niveles de colesterol, triglicéridos y mejorar la presión arterial, en un modelo murino” by Mariana Guadalupe Saucedo Lara is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional Licens

INTEGRANTES DEL JURADO

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. LUZ EUGENIA ALCÁNTARA QUINTANA

CO-DIRECTOR DE TESIS

DR. JOSE PÉREZ URIZAR

ASESOR DE TESIS 1

DR. SERGIO ZARAZÚA GUZMÁN

ASESOR DE TESIS 1

M EN C. GUILLERMO CASTRO CASTILLO

INTEGRANTES DEL SUBCOMITÉ DE TESIS.

DIRECTOR DE TESIS:

DRA. LUZ EUGENIA ALCÁNTARA QUINTANA

CO-DIRECTOR DE TESIS

DR. JOSE PÉREZ URIZAR

ASESOR DE TESIS 1

DR. SERGIO ZARAZÚA GUZMÁN

ASESOR DE TESIS 1

M EN C. GUILLERMO CASTRO CASTILLO

DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS

Quiero dedicar mi trabajo a mis padres José Luis Saucedá y Alberta Lara, quienes con su grande amor y sabiduría me han guiado por un buen camino y han sido mi mayor fortaleza a lo largo de mi vida, ellos que con mucho esfuerzo y sacrificio nos han formado, nos han sacado adelante y nos han dado siempre lo mejor. A mis hermanos, José Luis, Miguel y Mari Jo, porque han estado conmigo siempre, me han apoyado cada uno a su manera, por sus consejos, por tantos buenos momentos y muestras de cariño, quiero que se sientan orgullosos de mí y también ser un buen ejemplo para ellos. A mi novio Miguel, sus muestras de cariño y palabras de aliento me hacen dar lo mejor de mí, me conforta saber que siempre hay alguien dispuesto a escuchar lo que tengo que decir. Gracias por la paciencia, comprensión, motivación, apoyo, lealtad y cariño de cada día. A mis familiares que ya no están y a los que aún siguen conmigo, por ser parte de mi vida, gracias por sus buenos deseos, consejos y el cariño que me han demostrado en cada momento, en especial a mi abuelito Celestino que en paz descansa, porque sus oraciones me han cuidado y bendecido siempre, porque sé que me acompaña en mi día a día y eso me conforta mucho. Agradecimiento especial para mi equipo de trabajo de Ciacyt, a la Dra Luz, por ser siempre tan paciente con sus estudiantes, por ayudarnos a resolver nuestros problemas y motivarnos a dar siempre lo mejor de nosotros, a mis compañeros de Ciacyt, Jared, Carlos, Esme y Lulú, porque aprendí mucho de ellos, me compartieron muchos conocimientos, habilidades, consejos y experiencias, me llevo grandes recuerdos de cada uno y les agradezco el hacer más ameno mi estancia en el posgrado. Pero principalmente gracias a Dios porque su voluntad me ha permitido culminar este logro y alcanzar una meta más en mi vida, gracias a Dios por la fuerza para enfrentar los problemas y adversidades con optimismo, fe y tranquilidad, por haberme puesto en este camino que no siempre fue fácil, pero puedo decir que cada momento valió la pena, pues me llevo grandes experiencias, aprendizajes, conocimientos y amistades. Gracias a Dios por esta puerta que se me abrió, por esta oportunidad y por estar justo donde ahora estoy.

RESUMEN

Se evaluó el efecto del aceite de cannabis sobre niveles de presión arterial y perfil lipídico en SHR. Se diseñó un alimento con dicho aceite para el biomodelo, 16 ratas divididas en cuatro grupos, se les administró alimento sin aceite, con aceite a diferentes dosis y enalapril durante 28 días, se tomó presión arterial, peso y muestra sanguínea, se analizó inhibición de renina y ECA, se determinaron niveles de colesterol y triglicéridos. El aceite (ambas dosis), redujo significativamente la tensión arterial, no atribuido a inhibición de renina y ECA, sino por acción de receptores cannabinoides, además se controló el perfil lipídico. El aceite de cannabis podría ser ingrediente activo para formular alimentos funcionales que mejoren el pronóstico de hipertensión arterial.

PALABRAS CLAVE:

Cannabis, alimento funcional, hipertensión arterial, ECA, renina, triglicéridos, colesterol, ratas hipertensas, SHR.

ABSTRACT

The effect of cannabis oil on blood pressure levels and lipid profile in SHR was evaluated. A food with said oil was designed for the biomodel, 16 rats divided into four groups, they were given food without oil, with oil at different doses and enalapril for 28 days, blood pressure, weight and blood sample were taken, inhibition of renin and ACE, cholesterol and triglyceride levels were determined. The oil (both doses) significantly reduced blood pressure, not attributed to renin and ACE inhibition, but was the action of cannabinoid receptors, in addition, the lipid profile was controlled. Cannabis oil could be an active ingredient to formulate functional foods that improve the prognosis of arterial hypertension.

KEYWORDS:

Cannabis, functional food, arterial hypertension, ACE, renin, triglycerides, cholesterol, hypertensive rats, SHR.

INDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
- ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES	3
- Hipertensión Arterial.....	3
- Dislipidemias.	5
- Tratamiento y Nutrición.	6
- <i>CANNABIS SATIVA L</i>	6
- ANÁLISIS EN UPLC DEL ACEITE DE <i>CANNABIS</i>	10
SISTEMA ENDOCANNABINOIDE.	12
RECEPTOR CANNABINOIDE TIPO 1 (CB1).....	18
RECEPTOR CANNABINOIDE TIPO 2 (CB2).....	20
- EFECTO SEQUITO DE <i>CANNABIS</i>	22
- DISEÑO DE UN ALIMENTO FUNCIONAL	27
II. ANTECEDENTES	28
- EFECTOS DE CANNABINOIDES EN LA SALUD	28
Cannabinoides en dislipidemias.....	30
Cannabinoides en hipertensión arterial	32
- EFECTOS TERAPEUTICOS DE <i>CANNABIS</i> EN MODELOS MURINOS	34
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	44
IV. HIPÓTESIS	46
V. OBJETIVOS	47
- GENERAL.....	47
- ESPECÍFICOS.....	47
- SECUNDARIO.....	47
VI. METODOLOGÍA	48
- TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.	48
- DEFINICIÓN DE LA POBLACIÓN Y MUESTRA.	48
- DEFINICIÓN DE VARIABLES.....	49
- DISEÑO DEL ALIMENTO FUNCIONAL.....	50
- ANÁLISIS POR HPLC DEL ACEITE DE <i>CANNABIS</i> Y DE LOS PELLETS CON EL EXTRACTO ADMINISTRADOS AL MODELO MURINO.....	52
- ADMINISTRACIÓN DE ALIMENTO FUNCIONAL.....	57

- ANÁLISIS EXPERIMENTALES.....	59
• Ensayo de inhibición de la renina.....	59
• Procesamiento de la muestra. Obtención del Plasma.	62
• Ensayo de inhibición de la Enzima Convertidora de Angiotensina.	63
• Determinación de colesterol total en sangre.....	65
• Determinación de triglicéridos en sangre.	67
• Evaluación de la presión arterial.....	68
• Análisis de la expresión génica de receptores cannabinoides del modelo murino.	69
- ANÁLISIS ESTADÍSTICO	71
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	72
CAMBIOS EN EL PESO CORPORAL DEL MODELO MURINO: SHR.....	72
CAMBIOS EN LA PRESIÓN ARTERIAL DEL MODELO MURINO: SHR.....	76
INHIBICIÓN DE LA ENZIMA RENINA.....	82
Efecto del aceite de cáñamo sobre la actividad enzimática de la enzima renina.	82
INHIBICIÓN DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA	90
CONCENTRACIÓN DE COLESTEROL TOTAL EN PLASMA.....	94
CONCENTRACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS EN PLASMA.....	101
EXPRESIÓN GÉNICA DE RECEPTORES CANNABINOIDES EN TEJIDO DE CORAZÓN, HÍGADO Y RIÑÓN DEL MODELO MURINO.....	111
• Corazón.....	111
• Riñón	113
• Hígado	116
VIII. CONCLUSIONES.....	118
IX. REFERENCIAS	119
X. ANEXOS.....	133
- LISTA DE MATERIALES Y REACTIVOS.....	133
- ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD	134
- NORMAS NACIONALES	136
- BENEFICIOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	136
- DECLARACIÓN DE NO CONFLICTO DE INTERESES.....	137

- COTIZACIÓN DE BIOMODELOS ANIMALES Y RENTA DE SALA DE INVESTIGACIÓN	138
- CARTA DE APROBACIÓN POR LA COMISIÓN FEDERAL PARA LA PROTECCIÓN CONTRA RIESGOS SANITARIO	140
- CARTA DE APROBACIÓN POR EL INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO	141
- ANÁLISIS VIROLÓGICO, MICROBIOLÓGICO Y PARASITOLÓGICO DEL MODELO MURINO SHR	142
- CRONOGRAMA	144
- EVIDENCIA DE DEL DISEÑO DEL ALIMENTO TIPO PELLETS.	145
- EVIDENCIA DEL CUIDADO DEL MODELO MURINO: SHR.....	146
- RESULTADOS DEL ANÁLISIS POR HPLC DEL ACEITE DE <i>CANNABIS</i> Y DE LOS PELLETS CON EL EXTRACTO ADMINISTRADOS.	147
- DISEÑO DEL ETIQUETADO NUTRICIONAL DEL ALIMENTO TIPO PELLET	157
- PUBLICACIÓN ARTÍCULO DE REVISIÓN.....	158

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares tienden a deteriorar la calidad de vida de la población e incrementa la morbilidad y mortalidad, en los últimos años la prevalencia ha aumentado y la Organización Mundial de la Salud reporta dichas enfermedades como la primera causa de muerte en el mundo (Coronado et al., 2019, OMS., 2018, Girgih A et al., 2014). La hipertensión arterial se considera en la actualidad un gran problema de salud pública, al representar entre el 45 y 51% del total de muertes en el mundo (Malomo S et al., 2015, Girgih A et al., 2014). La presión arterial es un factor de riesgo que permite presentar otras complicaciones cardiovasculares y deteriorar la calidad de vida (Jimsheena VK et al., 2010). Las alteraciones en perfil lipídico en la sangre son también un trastorno cardiovascular, se ha reportado una prevalencia del 57% para hipercolesterolemia y del 48% para hipertrigliceridemia (Kaushal N et al., 2020). Las alteraciones en el metabolismo de los lípidos, incrementan el riesgo de estrés oxidativo por radicales libres, causando daños en el sistema cardiovascular (Coronado et al., 2019).

La planta de *Cannabis Sativa* L, se caracteriza por poseer gran variedad de compuestos, entre ellos los cannabinoides, principales componentes activos, como es el THC (Tetrahidrocannabinol) y el CBD (Cannabidiol) en comparación con el THC, el CBD tiene efectos no psicoactivos (Klumpers L et al., 2019, Gertsch J et al., 2008, Kis B et al., 2019).

Se han demostrado diferentes efectos benéficos en la salud, atribuidos principalmente al compuesto cannabidiol (CBD). Se ha reportado su uso en el tratamiento de diferentes tipos de enfermedad entre ellas trastornos cardiovasculares (Klumpers L et al., 2019, Di Marzo et al., 2011, Costa B et al., 2007). Extractos de *cannabis* contienen compuestos nutricionales y otros bioactivos que podrían contribuir a prevenir o tratar el desarrollo de enfermedades cardiovasculares como son dislipidemias e hipertensión arterial. Por lo que se ha sugerido usar compuestos derivados de *cannabis* como ingredientes activos para formular alimentos funcionales y/o nutraceuticos en la industria alimentaria (Polia et al., 2018, Girgih A et al., 2014, Karimi I et al., 2006). La

salud de los seres humanos tiene una gran relación con la calidad nutricional de la alimentación, así mismo el consumo de alimentos funcionales o nutraceuticos podría ayudar a prevenir el desarrollo de diferentes enfermedades entre ellas la de tipo cardiovascular. Dicho lo anterior en esta investigación se pretende evaluar el impacto que tienen extractos de *cannabis* como ingredientes activos de un alimento funcional para disminuir los niveles de presión arterial y mejorar el perfil lipídico en valores de colesterol y triglicéridos, en ratas con hipertensión previamente inducida.

- ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES

Las enfermedades cardiovasculares constituyen un grave problema de salud pública y tienden a deteriorar la calidad de vida de la población, representan un aproximado del 31% de mortalidad a nivel mundial y 60% de las tasas de mortalidad ocasionadas por ese tipo de enfermedades, 80% ocurre en países en desarrollo (OMS., 2018, Téllez M., 2014, Girgih A et al., 2014). En los últimos años la prevalencia ha aumentado y la Organización Mundial de la Salud (OMS), reporta dichas enfermedades como la primera causa de muerte en el mundo, mientras que en México se reporta que por cada 100 000 habitantes 163 mueren por causas cardiovasculares (Coronado et al., 2019, OMS., 2018.).

Es importante resaltar que el desarrollo de dichas enfermedades en el mundo es promovido por diversos factores de riesgo, algunos de los cuales son modificables con base en medidas preventivas como es la modificación en el estilo de vida, principalmente en hábitos de actividad física y sobre todo de la alimentación (Téllez M., 2014, Girgih A et al., 2014, Ross A., 2014).

- Hipertensión Arterial.

La hipertensión es el factor de riesgo cardiovascular más común que contribuye a una morbilidad y mortalidad generalizadas en todo el mundo (Biernacki M, et al 2018). La hipertensión arterial se considera en la actualidad un gran problema de salud pública, al representar entre el 45 y 51% del total de muertes en el mundo. Alrededor de 26.6% de la población de 20 a 69 años padece hipertensión, y cerca del 60% de los individuos afectados desconoce su enfermedad (Malomo S et al., 2015, Girgih A et al., 2014, Téllez M., 2014). La hipertensión arterial es una enfermedad crónica, que consiste en la elevación continua de las cifras de la presión sanguínea en las arterias $\geq 140/90$ ml/Hg. No es una patología aislada, sino un síndrome con múltiples causas y se ha encontrado ser de etiología desconocida en 88% de los pacientes (Berenguer G., 2016; Jimsheena VK et al., 2010). Si bien no hay causa definida, se han reportado factores de riesgo genéticos y adquiridos que predisponen al desarrollo de dicha enfermedad, entre ellos está, la alta ingesta de sodio, dietas elevadas en grasas

saturadas, tabaquismo, consumo de bebidas alcohólicas, estilo de vida sedentario, la presencia de enfermedades crónicas como obesidad, dislipidemias y diabetes, entre otros (Téllez M., 2014; Trindade C., 2014). La hipertensión arterial constituye el principal factor de riesgo para desarrollar otras complicaciones de tipo cardiovasculares, razón por la cual, si no se trata a tiempo y adecuadamente puede desencadenar otros problemas de salud como son Infarto agudo de miocardio, dolor o malestar en el pecho, dificultad para respirar, enfermedades cerebro vasculares, parálisis, adormecimiento de la cara, brazos o piernas, insuficiencia renal, vasculopatías periféricas, dolor, calambres, entre otros (Berenguer G., 2016; Soca P., 2012).

Regulación de la presión arterial. Sistema Renina Angiotensina Aldosterona.

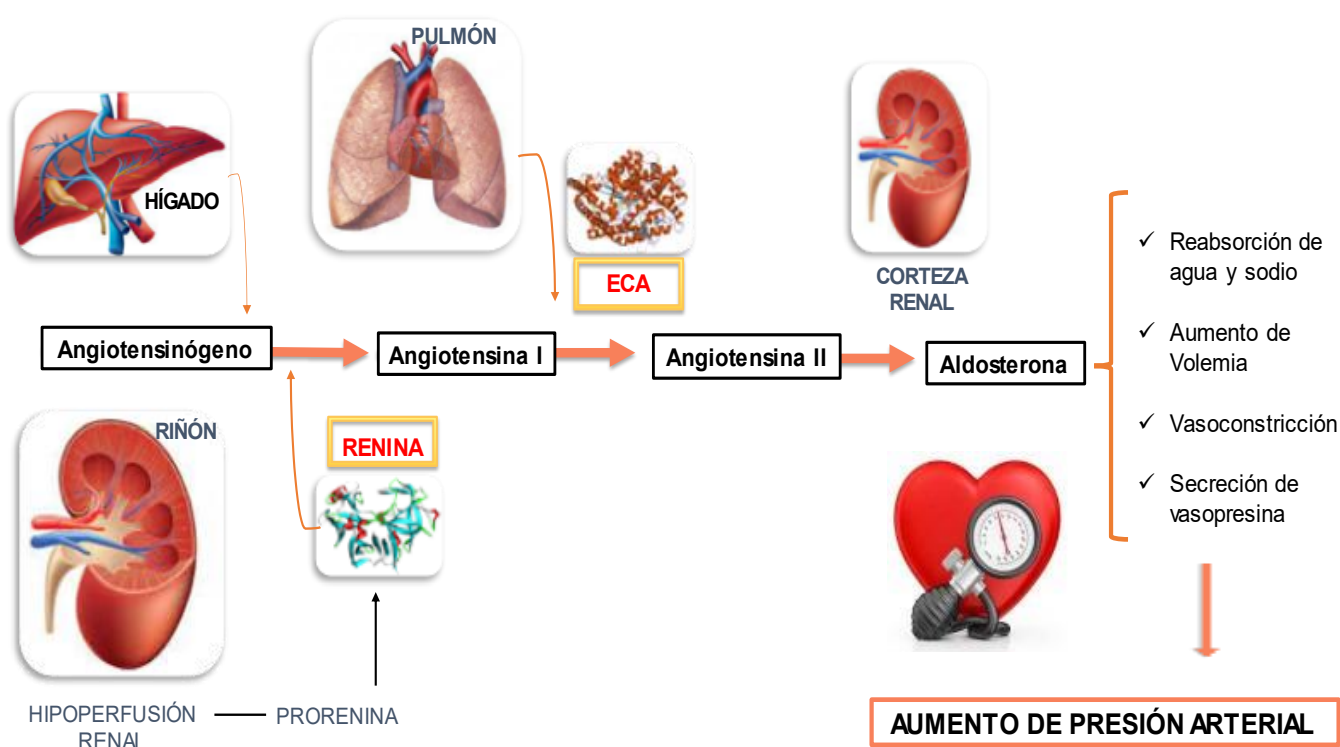


Figura 1. Diagrama de la fisiología del Sistema Renina Angiotensina Aldosterona.

El Sistema Renina Angiotensina Aldosterona que se muestra en la figura 1, regula la presión arterial. Se activa como reacción a una disminución de la presión y desencadena una serie de respuestas que tratan de restablecer la presión a cifras normales. Todo comienza con una disminución de la presión arterial que lleva a una menor presión de riego sanguíneo renal y provoca que la prorenina se convierta en la enzima renina enzima. La renina, en el plasma cataliza la conversión de angiotensinógeno en angiotensina I. Este es el paso limitante que regula la actividad del sistema. En los pulmones y riñones la angiotensina I se convierte en angiotensina II catalizada por la enzima conversora de la angiotensina, esta enzima también causa la degradación de la bradicinina, un potente vasodilatador que aumenta la permeabilidad vascular. La angiotensina II actúa sobre la corteza suprarrenal para estimular la producción de aldosterona, la cual actúa sobre el riñón para incrementar la resorción de sodio y, por tanto, el volumen del líquido extracelular y el volumen sanguíneo, también actúa directamente sobre arteriolas para producir vasoconstricción y en consecuencia incrementa las resistencias periféricas y la presión arterial (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios., 2011; KIT de ensayo de detección de inhibidores de renina; KIT de ensayo fluorométrico de actividad).

- Dislipidemias.

Las dislipidemias consisten en un conjunto de patologías caracterizadas por alteraciones del perfil lipídico en la sangre. Se identifican padecimientos clínicos con concentraciones anormales de colesterol total, colesterol de alta densidad, colesterol de baja densidad y triglicéridos (Kaushal N et al., 2020; Coronado et al., 2019; OMS., 2018). Son consideradas también un trastorno cardiovascular y se ha reportado una prevalencia del 57% para hipercolesterolemia y del 48% para hipertrigliceridemia (Kaushal N et al., 2020). Se han asociado causas modificables a este padecimiento como es una mala alimentación específicamente una dieta rica en grasas saturadas y el sedentarismo, lo que conllevan al incremento de los lípidos en la sangre, propiciando la acumulación de placas de ateromas sobre el endotelio vascular, las cuales son la

antesala de consecuencias orgánicas como la enfermedad cardiovascular y cerebrovascular (Téllez M., 2014; Kathleen M., 2013) Las alteraciones en el metabolismo de los lípidos, incrementan el riesgo de estrés oxidativo por radicales libres, causando daños en el sistema cardiovascular Las dislipidemias entonces, son de los principales factores modificables para riesgo cardiovascular por lo que son consideradas un riesgo para la salud, que este sujeto a cambio con las medidas preventivas correctas (Coronado et al., 2019, Girgih A et al., 2014).

- Tratamiento y Nutrición.

El tratamiento nutricio es indispensable tanto para la prevención como el tratamiento en cualquier etapa de la enfermedad cardiovascular, exista o no tratamiento farmacológico. Actualmente es bien conocido que la adopción de un estilo de vida saludable con adecuados hábitos de alimentación y actividad física tienen un gran impacto en el tratamiento de la hipertensión arterial y las dislipidemias. En relación a esto malos hábitos de alimentación como es un aumento en el consumo de ácidos grasos saturados colesterol, la inactividad física y consigo un inadecuado control en la composición corporal son las principales causas de la morbimortalidad cardiovascular. Cualquier tratamiento nutricional para enfermedades cardiovasculares como son la hipertensión arterial y las dislipidemias, se fundamenta en la adopción de un estilo de vida saludable, independientemente del uso o no de fármacos, a fin de reducir el riesgo son el punto a seguir como primera instancia para cualquiera de estas dos patologías (Téllez M., 2014; Ross A., 2014; Kathleen M 2013).

- *CANNABIS SATIVA L.*

Cannabis sativa L., es una planta medicinal que ha sido utilizada desde hace miles de años, caracterizada por su uso recreativo y el intento de explorar su potencial terapéutico (Cerino P, et al. 2021, Cunha P et al., 2011). Debido a que contiene propiedades medicinales y psicoactivas, le confiere estos fines recreativos y médicos (Klumpers L et al., 2019, Kis B et al., 2019, Gertsch J et al., 2008, Karimi I et al., 2006). La planta ya ha sido utilizada como agente analgésico, anticonvulsivo, antiasmático, antipalúdico o antirreumático (Kicman et al., 2020). Con el paso del tiempo la

perspectiva del *cannabis* ha evolucionado, con la creciente legalización del uso médico y recreativo.

Debido a las propiedades analgésicas, calmantes, estimulantes del apetito y supuestamente inofensivas de la marihuana, un número creciente de estados y países legalizaron su consumo médico y/o recreativo (Pulh SL, et al., 2020). Específicamente en México se elaboró un proyecto de ley para legalización del *cannabis* revisado en 2020 y para el presente año se legalizo (Page R et al., 2020), “DOF: 12/01/2021. REGLAMENTO de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario para la Producción, Investigación y Uso Medicinal de la Cannabis y sus Derivados Farmacológicos”.

En la planta de *cannabis* además de grasa, fibra y proteínas, se han encontrado gran variedad de compuestos y metabolitos secundarios que incluyen principalmente cannabinoides y terpenos (Martínez V et al., 2020, Gertsch J et al., 2008). Los cannabinoides son los principales componentes activos biológicos del *cannabis*. Se han identificado más de 100 fitocannabinoides (Cerino P, et al. 2021, Page R et al., 2020, Jadoon K et al., 2017). Destacan el THC Tetrahidrocannabinol y el CBD Cannabidiol en comparación con el THC, el CBD tiene efectos no psicoactivos por lo que ha resultado de gran interés para su estudio (Klumpers L et al., 2019, Kis B et al., 2019, Jadoon K et al., 2017). El CBD al no ser un producto nocivo para la salud es tolerado y los posibles beneficios que han sido estudiados, lo convierten en una opción terapéutica para una gama de enfermedades, incluidos los trastornos cardiovasculares (Kicman et al., 2020).

El aceite de *cannabis*, contienen entre un 75 y 80% de ácidos grasos poliinsaturados. Además, mantiene la proporción adecuada 3:1, de ácidos grasos esenciales de omega 6 (linoleico) con respecto al omega 3 (alfa linolénica) según lo recomendado para la ingesta humana (Salas J et al., 2019, Kis B et a., 2019, Karimi I et al., 2006). Así mismo en la Figura 2, se observa la composición un poco más detallada de nutrientes y cannabinoides presentes en las diferentes partes anatómicas de la planta (Sauceda M & Alcántara L. 2022; Martínez V et al., 2020).

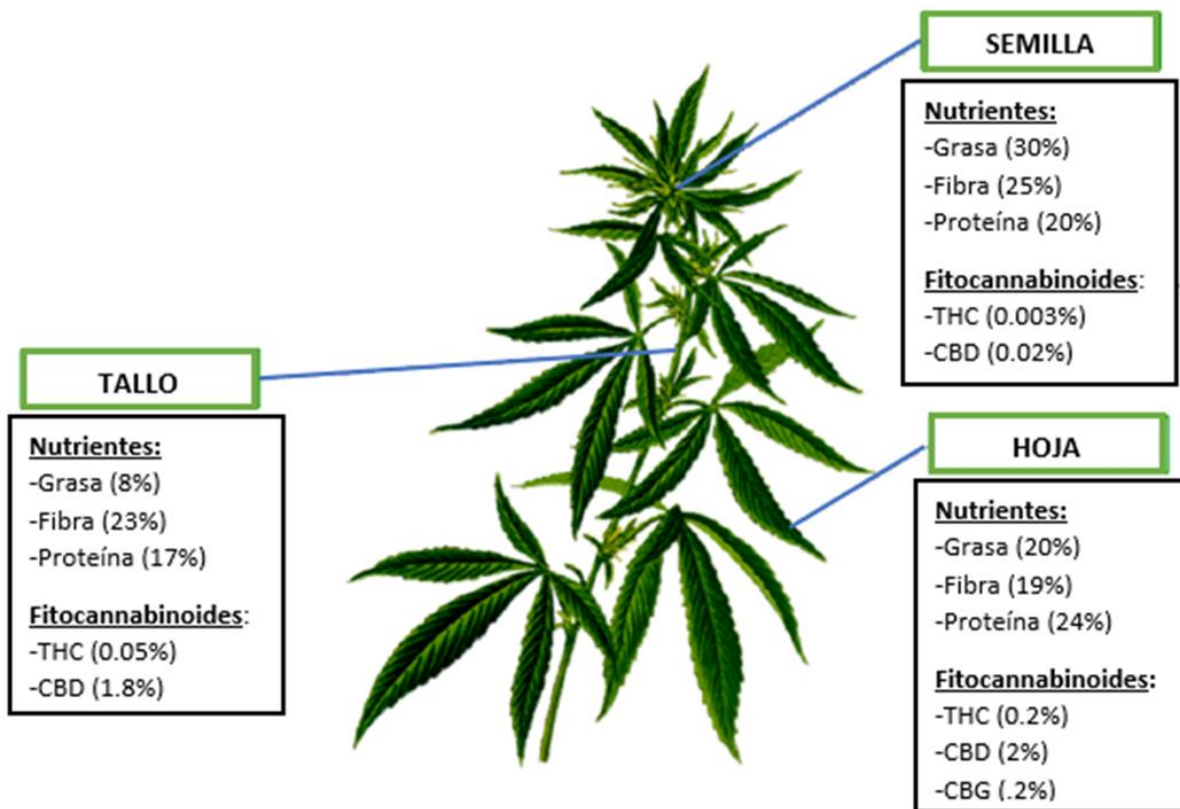


Figura 2. Composición nutricional y cannabinoides presentes en las diferentes partes anatómicas de la planta de *cannabis*. Tomada de Saucedo M & Alcántara L. 2022.

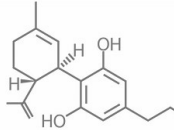
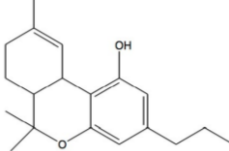
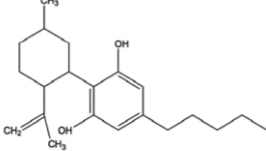
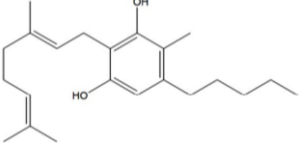
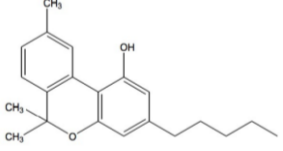
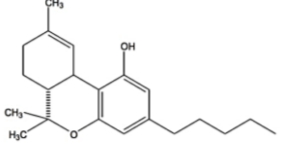
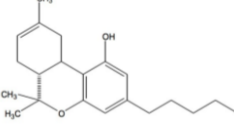
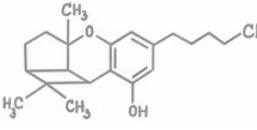
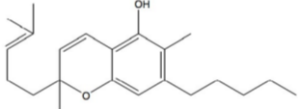
CANNABINOIDES	ESTRUCTURA QUÍMICA
CBDV	
THCV	
CBD	
CBG	
CBN	
D9THC	
D8THC	
CBL	
CBC	

Figura 3. Estructura química de los principales cannabinoides encontrados en el aceite.

- ANÁLISIS EN UPLC DEL ACEITE DE *CANNABIS*.

Se tiene información previa sobre el análisis de la composición del aceite de *cannabis*, lo cual fue posible por medio de Cromatografía de líquidos de ultra alta resolución (UPLC). Se muestran a continuación los principales compuestos bioactivos presentes en dicho aceite, en la figura 4 y se muestran también las concentraciones de los compuestos bioactivos del aceite, principalmente los que son activados por el proceso de descarboxilación que sufre el compuesto en la figura 5. En la figura 3 se muestra la estructura química de los principales cannabinoides encontrados en el aceite.

NOMBRE	TIEMPO DE RETENCIÓN (MIN)	RESOLUCIÓN
CBDV	1.50	-
CDBV-A	1.72	5.3
THCV	2.37	13.4
CBD	2.73	6.0
CBD-A	3.04	4.5
CBG	3.23	2.5
THCV-A	3.71	5.8
CBN	4.05	3.8
CBG-A	4.51	4.6
(-)Δ^9-THC	4.73	2.1
(-)Δ^8-THC	5.04	2.7
CBL	5.79	6.2
CBC	6.69	6.3
THC-A	7.48	4.8
CBL-A	9.12	8.6
CBC-A	9.88	3.5

Figura 4. Compuestos cannabinoides presentes en el aceite de cannabis, obtenidos mediante UPLC.

COMPOSICIÓN DEL ACEITE DE *CANNABIS*

NOMBRE	CONCENTRACIÓN mg/ml
CBDV	.03613
THCV	4.8414
CBD	2.1678
CBG	.9032
CBN	1.3729
D9THC	.7587
D8THC	.9755
CBL	2.2400
CBC	1.9148

Figura 5. Concentración de compuestos cannabinoides presentes en el aceite de *cannabis*, después de un proceso de descarboxilación obtenidos mediante UPLC.

SISTEMA ENDOCANNABINOIDE.

En los últimos años se ha mantenido un interés constante por estudiar el sistema endocannabinoide, que consta básicamente de receptores cannabinoides CB1 y CB2 distribuidos ampliamente por todo el organismo, cannabinoides endógenos que se unen con alta afinidad a dichos receptores, también conocidos como endocannabinoides y enzimas que degradan, sintetizan o transportan dichos cannabinoides (Klumpers L et al., 2019; Biernacki M., et al 2018; Kaschina, E., 2016; O'Sullivan S.E., et al 2015).

Estos cannabinoides endógenos fueron identificados como N-araquidonil etanolamina o anandamida (AEA), primer ligando endógeno identificado en 1992, seguido del 2-araquidonil glicerol (2-AG) (Lara D, 2019; Howlett A., et al, 2017), es posible que otros ligandos, estén actuando en el sistema endocannabinoide, pero hasta ahora solo tienen datos concretos de AEA y 2-AG (Martínez V et al., 2020). La anandamida (AEA) se ha identificado en varias regiones del cerebro, hígado, riñones, bazo, pulmones, en la circulación y el corazón. La AEA se sintetiza por la hidrólisis de N-acil-fosfatidiletanolamina, sin embargo, también existe la posibilidad de generarlo a partir de ácido araquidónico libre y etanolamina por acción de la amida hidrolasa de ácidos grasos, FAAH (Biernacki M., et al 2018; Kaschina, E., 2016; Hillard, C. J, 2015). Por el otro lado el 2-araquidonilglicerol (2-AG), identificado en 1995, se ha encontrado en grandes cantidades en el sistema nervioso central, en tejidos como hígado, riñón, bazo, pulmones y corazón. El 2-AG se genera por la hidrólisis de lipídico diacilglicerol mediada por la lipasa diacilglicerol (Lara D, 2019; Pertwee, 2015; Hillard, C. J, 2015).

Con respecto a la afinidad mostrada por los receptores de CB1 y CB2, ambos ligandos endógenos tienen una actividad estimulante sobre dichos receptores, sin embargo, se ha evidenciado, una mayor sensibilidad y afinidad del receptor CB1 por AEA (agonista parcial), mientras que para CB2 sería 2-AG (agonista completo) (Klumpers L et al., 2019; Hillard, C. J, 2015).

Los cannabinoides y endocannabinoides, ejercen su efecto en el organismo al unirse a los receptores CB1 y CB2. Los endocannabinoides se liberan de la célula

postsináptica y actúan sobre la célula presináptica, donde los receptores diana (CB1 y CB2) están densamente concentrados (Cunha P et al., 2011)

Los endocannabinoides son generados por ciertas condiciones, es decir “bajo demanda” de las células, dependientes de calcio, por hábitos alimenticios, específicamente la ingesta de precursores de lípidos eCB, en diferentes condiciones fisiológicas y patológicas. La vida útil de los cannabinoides endógenos está limitada por enzimas degradantes y sintéticas antes mencionadas (Puhl SL., et al. 2020, Hillard, C. J, 2015; Pertwee et al., 2010). En la figura 6, se muestra con mayor claridad como actúa el sistema endocannabinoide para ejercer una respuesta en el organismo.

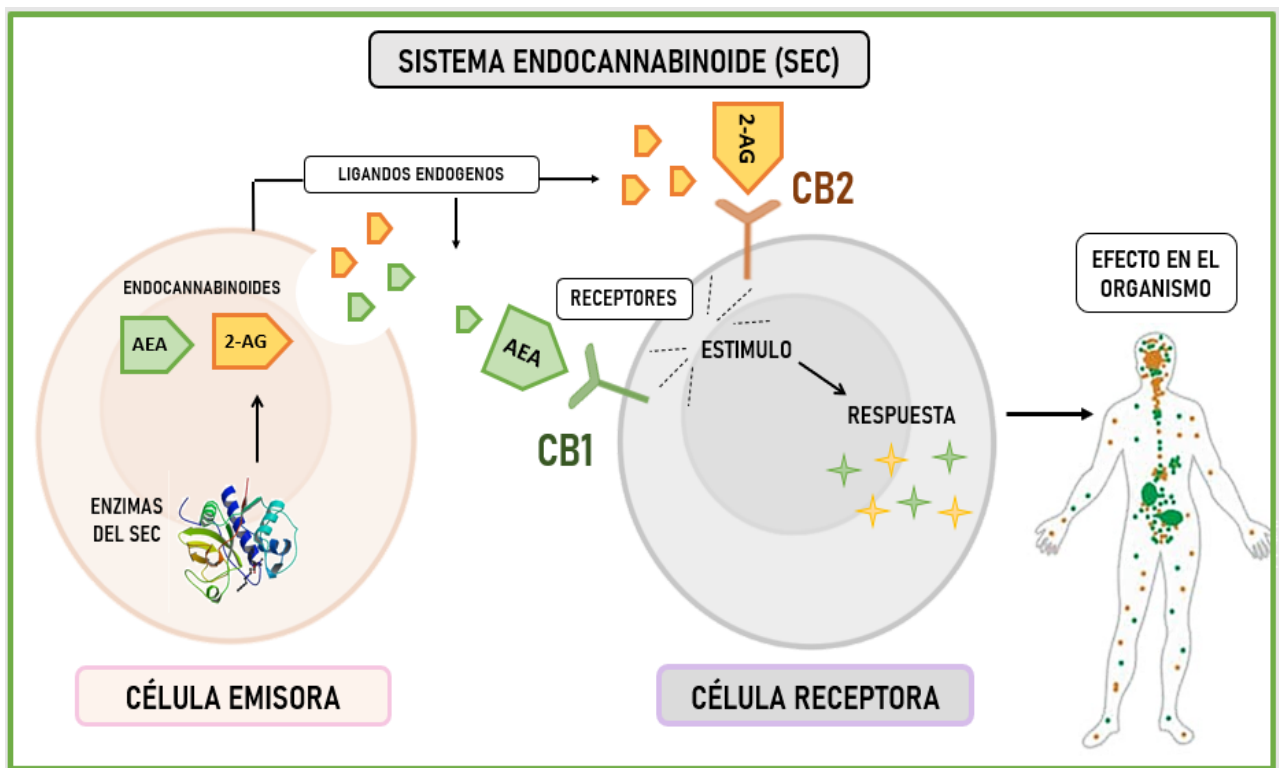


Figura 6. Mecanismo de acción del sistema endocannabinoide.

Derivado de los conocimientos previos que se tenían sobre el sistema endocannabinoide, surge el sistema cannabinoide, donde se ven implicado el uso extractos de *cannabis* con fines terapéuticos que actúen sobre dicho sistema. Diferentes efectos benéficos a la salud se han atribuido principalmente los cannabinoides (sustancias químicas, provenientes de la planta de *cannabis* que se enlazan con proteínas receptoras específicas CB1 y CB2 principalmente), los cuales mediante la interacción con receptores mantiene la homeostasis del organismo interviniendo en ciertas funciones fisiológicas del mismo (Page R et al., 2020, Martínez V et al., 2020, Klumpers L et al., 2019). Es entonces que *cannabis* ejerce sus efectos farmacológicos interactuando con los receptores CB1 y CB2, acoplados a proteínas G (Lena S. 2020, Kicman et al., 2020, Cunha P et al., 2011). Los receptores afines a los compuestos activos de *cannabis* se manifiestan, localizan y expresan en diferentes regiones del organismo. La presencia de ambos receptores en el organismo y su expresión puede cambiar en condiciones patológicas específicas y se ha documentado que la distribución del receptor CB1 y CB2 está estrechamente ligada a los efectos farmacológicos que producen los cannabinoides. (Kicman et al., 2020). Tanto el receptor CB1 como el receptor CB2, pertenecen a la superfamilia de siete receptores transmembrana acoplados a proteína G y ambos están acoplados a vías de señalización dependientes de Gi/o (Wing S.V & Kelly M 2017; Dhopeswarkar, A.; 2014).

El receptor cannabinoide tipo 1 (CB1), identificado en 1990, se encuentra en las neuronas del sistema nervioso central, lo que refleja su prevalencia como el GPCR (acoplado a proteína G) más abundante en el cerebro, específicamente en las terminales presinápticas, también el sistema nervioso periférico y los tejidos periféricos, específicamente en terminales nerviosas simpáticas, en neuronas sensoriales primarias influyendo en la nocicepción de fibras nerviosas aferentes y modulando la liberación de neurotransmisores, también presente en el sistema nervioso autónomo, los receptores CB1 se encuentran en niveles significativamente más altos en las neuronas GABAérgicas que en las glutamatérgicas en varias regiones del cerebro (Page R et al., 2020, Martínez V et al., 2020, Kicman et al., 2020, Cunha P et al., 2011), interfiriendo en las acciones motoras, cognitivas,

emocionales y sensoriales, afectando la percepción del dolor, la actividad hormonal y la termorregulación. Se ha detectado también en la periferia, en tejidos involucrados en el metabolismo y el gasto de energía, como el tejido adiposo, el hígado, el tracto gastrointestinal, el músculo esquelético y el páncreas, así como en el sistema reproductivo, en células inmunitarias de sangre periférica y en la fisiología respiratoria y cardiovascular (Lena S. 2020, Page R et al., 2020, Pesce, M et al., 2018). En el sistema cardiovascular, CB1 se expresa en regiones específicas dentro de los miocitos cardíacos, células endoteliales arteriales y capilares, donde parece estar involucrado en la fisiología cardiovascular (Puhl SL, et al., 2020; Howlett A., et al, 2017; epicier P, et al., 2007) , CB1 en el sistema cardiovascular se originan en la activación del sistema nervioso simpático y la inhibición simultánea del SNA parasimpático, la activación de los receptores CB1 conduce a la disminución de la contractilidad cardíaca, vasodilatación y la hipotensión, por lo que existe evidencia de la reducción de presión arterial en pacientes hipertensos. (Page R et al., 2020, Martínez V et al., 2020, Klumpers L et al., 2019, Kis B et al 2019, Cunha P et al., 2011). En la Figura 7 se muestra con mayor claridad las acciones que el receptor CB1 ejerce sobre el organismo.

Mientras que la activación del receptor CB2 es cardioprotectora, con efectos antiinflamatorios y de antifibrosis. Ambos receptores con posibles efectos benéficos sobre patologías cardiovasculares como la hipertensión, cardiopatías, enfermedades cerebrovasculares y aterosclerosis (Page R et al., 2020, O'Sullivan, S 2015, Kaschina, E 2016). El receptor CB2 se expresa principalmente en el sistema inmunitario, células hematopoyéticas, osteoblastos, osteoclastos, mediando las respuestas inmunes, inflamación, dolor neuropático y remodelación ósea, con una menor actividad en el sistema nervioso central (Lena S. 2020Cnha P et al., 2011), en los órganos periféricos con función inmunitaria, incluidos los macrófagos, el bazo, las amígdalas, el timo y los leucocitos (Howlett A., et al, 2017). Cannabinoides que actúan sobre los receptores CB2 se han propuesto como terapias para el tratamiento de dolor agudo, dolor inflamatorio crónico y dolor neuropático para tratar enfermedades neuroinflamatorias o neurodegenerativas, en general como terapéuticos en trastornos que involucran inflamación. (Kicman et al., 2020,

Dhopeshwarkar, A et al, 2014). CB2 es un receptor altamente inducible, aumentando unas 100 veces después de una lesión tisular o durante un proceso inflamatorio (Zhang H., et al 2016). Se han localizado también dichos receptores en varios tejidos periféricos, como el tracto gastrointestinal, el sistema cardiovascular, el tejido adiposo, el hígado, los huesos y el sistema reproductivo, aunque esto es menor cantidad que los receptores CB1 (Martínez V et al., 2020, Veilleux A et al., 2019 Gertsch J et al 2008). En el sistema cardiovascular, el CB2 está presente en varios tipos de células, como los cardiomiocitos, los fibroblastos, las células del músculo liso vascular y las células endoteliales de las arterias más grandes (Puhl SL, et al., 2020). Estudios previos han demostrado una mayor expresión del receptor CB2 en células enfermas, que, en células sanas, pues el receptor CB2 aumenta en respuesta a la activación e inflamación de las células inmunitarias (Howlett A., et al. 2017; Stella, 2010). En la Figura 8 se muestra con mayor claridad las acciones que el receptor CB2 ejerce sobre el organismo. Con respecto a lo anterior sería posible que fitocannabinoides presentes en la planta de cáñamo interactúan con receptores CB1 Y CB2 para mantener la homeostasis del organismo ante patologías como hipertensión arterial o dislipidemia.




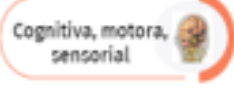


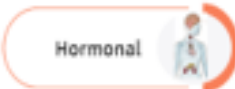



RECEPTOR	LOCALIZACIÓN	ACCIÓN
	 SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	<div style="display: flex; flex-wrap: wrap;"> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> </div>

Figura 7. Acciones de los receptores CB1 sobre el organismo. Tomado de Saucedo M & Alcántara L. 2022.





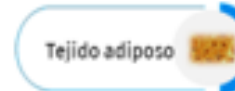

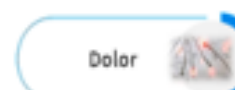

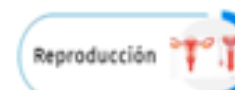

RECEPTOR	LOCALIZACIÓN	ACCIÓN
	 SISTEMA INMUNOLOGICO Y ÓSEO	<div style="display: flex; flex-wrap: wrap;"> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> <div style="width: 50%;">  </div> </div>

Figura 8. Acciones de los receptores CB2 sobre el organismo. Tomado de Saucedo M & Alcántara L. 2022.

RECEPTOR CANNABINOIDE TIPO 1 (CB1).

Se ha demostrado que el receptor de CB1, en patologías cardiovasculares juega un papel importante, en particular ha demostrado tener un efecto terapéutico sobre la tensión arterial, conduciendo a la disminución de la contractilidad cardíaca, la resistencia vascular, mediando la vasodilatación y finalmente conduciendo un efecto de hipotensión. (Pacher P et al., 2018, Steffens S et al., 2015, Stanley C et al., 2014). El efecto terapéutico de cannabinoides sobre el receptor CB1, para desencadenar un descenso en la presión arterial, está dado por su acción en ciertas células, tejidos y órganos.

En los cardiomiocitos, por ejemplo, produce una disminución de la contractibilidad cardíaca, la contracción del corazón estaría regulando directamente el gasto cardíaco y este a su vez en conjunto con la resistencia vascular, se relacionan directamente con la presión arterial, es decir una disminución de la contractibilidad cardíaca, disminuye el gasto cardíaco, con esto se reduce también la tensión arterial. Si bien, está clara la presencia de CB1 en cardiomiocitos, la evidencia ha reportado que el efecto en la contractibilidad cardíaca, no se da por una acción directa en los cardiomiocitos, sino más bien sobre el sistema nervioso, por la presencia de receptores CB1 en terminaciones nerviosas que inervan los vasos sanguíneos y el corazón, el CB1R suprime la liberación de neurotransmisores (como son dopamina, noradrenalina, glutamato, serotonina y otras sustancias neuroactivas) de terminaciones nerviosas simpáticas presinápticas, por lo que esto produce una disminución en la respuesta del sistema nervioso simpático al reducir la activación de los receptores adrenérgicos postsinápticos, y a su vez, disminuir efectos como, frecuencia cardíaca y contracción del corazón, entre otros cambios implicados también en la tensión arterial, vasoconstricción y el flujo sanguíneo (Kis B, et al., 2019; Pacher P et al., 2018; Wing S.V & Kelly M 2017).

Por otro lado, en el endotelio vascular tendría como consecuencia una relajación del endotelio en vasos sanguíneos, en las células endoteliales, la activación de CB1 estimula canales de potasio, inhiben los canales de Ca, estimulando de esta manera la liberación de óxido nítrico dependiente de calcio y liberación de sustancias

vasoactivas, produciendo un efecto vasodilatador (Jones, 2002; Kis B, et al., 2019; Hinojosa, M. 2017; O'Sullivan, 2015; Gertsch J., et al. 2008).

Mientras que en el musculo liso vascular, tiene una influencia en la tensión arterial, al interferir en la proliferación y regulación del musculo liso vascular, esto es porque receptores de CB1, como se mencionó previamente actúan directamente sobre los canales de calcio tipo L de la musculatura vascular, para disminuir la entrada de calcio, lo que dará lugar a una vasodilatación, si se ven inhibidos los canales de calcio en el músculo, este permanece en estado de relajación (Cerino P., et al. 2021; Kis B, et al., 2019; Howlett A., et al, 2017).

A pesar de que el receptor para CB1 ha demostrado tener un impacto positivo en la regulación de la tensión arterial, existe también evidencia de un posible efecto negativo en la fisiología cardiovascular, en un estudio reportaron, que un efecto antagonista del receptor CB1 resulta ser cardioprotector contra isquemia miocárdica, insuficiencia cardíaca y miocardiopatías (Dhopeshwarkar, A.; 2014).

Además, se ha mencionado que el receptor CB1 agrava la respuesta inflamatoria, muy común en la patología cardiovascular, por el daño asociado a la enfermedad y un incremento en el estrés oxidativo (Puhl SL, et al., 2020). La respuesta inflamatoria podría estar relacionada a una mayor predisposición de desencadenar otras complicaciones cardiovasculares como son las dislipidemias o aterosclerosis, además otra evidencia menciona que la activación de CB1 está relacionada con el metabolismo alterado del perfil lipídico (Pacher P et al., 2018, Steffens S et al.,2015, Stanley C et a., 2014).

RECEPTOR CANNABINOIDE TIPO 2 (CB2).

A pesar de que CB2 tiene un 44% de homología de aminoácidos con CB1 sus acciones son quizá en cierto punto complementarias al buscar generar un efecto cardioprotector, pero finalmente resultan ser diferentes y en algunos casos un tanto opuestos (Puhl SL, et al., 2020; Howlett A., et al, 2017).

El receptor CB2 ha sido expresado en sistema cardiovascular, incluido el miocardio, los cardiomiocitos, el endotelio de la arteria coronaria y las células del músculo liso vascular, incrementando su expresión cuando se presenta algún tipo de lesión o daño, se cree que esto sucede como una manera de proteger al organismo al limitar la inflamación y la progresión lenta de las enfermedades (Puhl SL, et al., 2020; Wing S.V & Kelly M 2017). Con forme a lo antes mencionado, el receptor de CB2 también se ha encontrado en células inmunitarias, con el fin de disminuir estrés oxidativo, inflamación apoptosis y fibrosis (Puhl SL, et al., 2020; Dhopeswarkar, A.; 2014). Es entonces que CB2 atenúa procesos inflamatorios que podrían desencadenar complicaciones esto es mediante una reducción en la atracción de células inmunitarias, polarización de macrófagos y linfocitos (Puhl SL, et al., 2020; Wing S.V & Kelly M 2017; Dhopeswarkar, A.; 2014). Se cree que CB2 también contrarresta efectos psicotrópicos adversos asociados en ocasiones a terapias basadas en receptores CB1 (Puhl SL, et al., 2020; Wing S.V & Kelly M 2017). Algunos otros estudios también han reportado que el receptor CB2, promueve la movilización de calcio al exterior de la célula, lo que traería como consecuencia relajación de la pared arteria, como ya mencionó previamente (Pacher P et al., 2018, Steffens S et al.,2015, Stanley C et a., 2014, Malfitano AM, et al., 2014). En la figura 9, se muestran los efectos del receptor CB1 y CB2 en el sistema cardiovascular.

Los efectos cardioprotectores asociados a Cannabis, que fueron antes explicados, se desencadenan por una acción a nivel neuronal de manera retrograda, disminuyendo o inhibiendo una actividad como tipo retroalimentación negativa o incluso activando otras. CB1 y CB2, son receptores transmembrana (que atraviesan la membrana 7 veces), acoplados a proteínas G (GPCR) y por lo tanto a vías de señalización dependientes de Gi/o, entonces los cannabinoides señalan en las células a través de una disminución mediada por el receptor en la adenilil ciclasa, lo

que significa que al activarse van a liberar una subunidad alfa, esto va a inhibir a adenilato ciclasa, que a su vez no va a llevar a cabo la conversión de ATP a AMPc, el cual, es uno de los principales marcadores de actividad celular. Esto también impide la entrada de calcio como mensajero celular e inhibe ciertas neurona o célula inmunes y abre canales de potasio, lo que ocasiona una célula hiperpolarizada que no puede reaccionar ni tener excitabilidad eléctrica. Posteriormente esto, se crean los endocannabinoides (generados de manera dependientes de calcio, bajo demanda), siendo 2AG un agonista completo en ambos receptores cannabinoides que después actúa para inhibir, disminuir o incluso activar ciertas actividades (Wing S.V & Kelly M 2017).

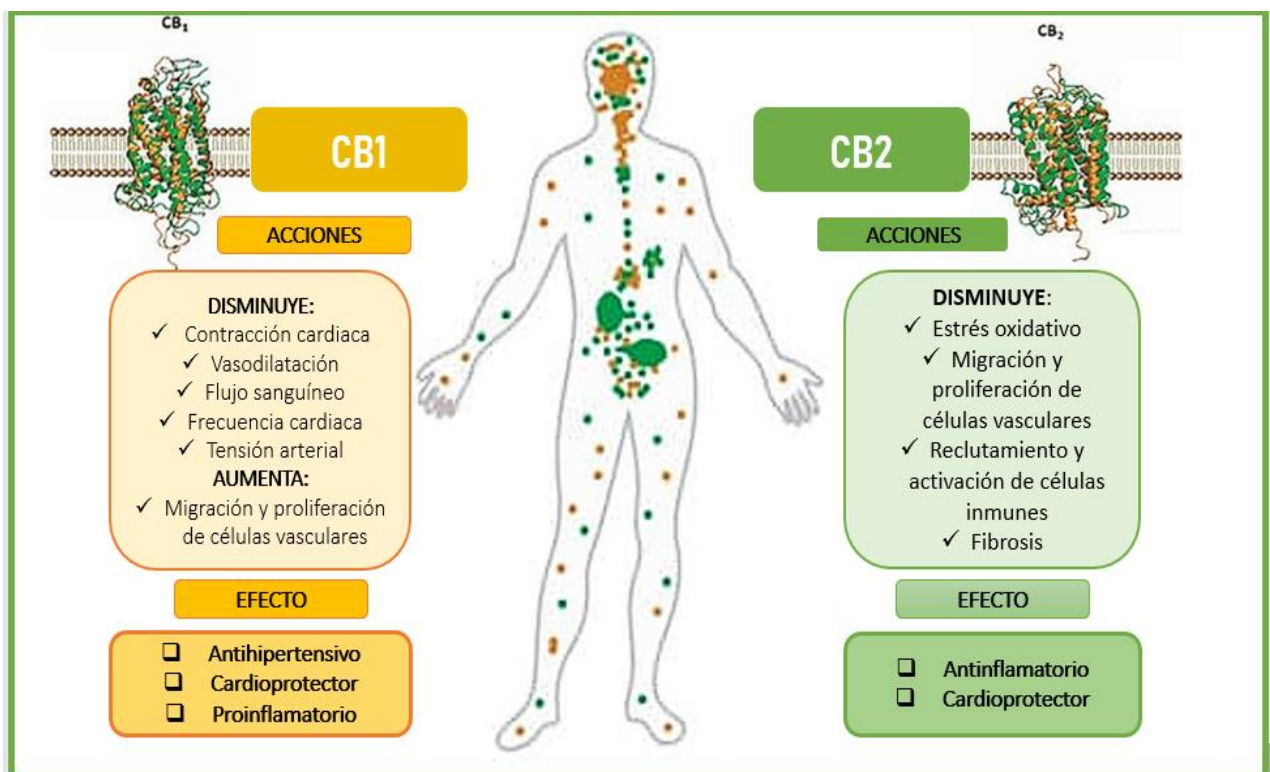


Figura 9. Efectos del receptor CB1 y CB2 en el sistema cardiovascular.

- EFECTO SEQUITO DE *CANNABIS*.

Como se ha mencionado con anterioridad cannabinoides, presentes en la planta de *Cannabis Sativa*, así como terpenos y flavonoides han demostrado tener propiedades terapéuticas para usarse en diferentes patologías (Espinosa JC., 202; ElSohly et al., 2014).

En la actualidad se mantiene el interés por conocer el efecto, la eficacia y tolerancia de los cannabinoides aislados, en comparación con la relación de todos los fitoquímicos (cannabinoides, terpenos y flavonoides) juntos presentes en la planta de forma herbal.

Estudios e investigaciones previas argumentan que los efectos terapéuticos asociados a los compuestos de la planta de *Cannabis* son más efectivos al interactuar entre sí, potenciando un efecto final, mejorando su eficacia y tolerabilidad en comparación con lo observado a los compuestos aislados, pues actúan en sinergia “el efecto de dos compuestos en combinación es mayor que la suma de los efectos individuales (Espinosa JC., 2020; Ligresti y cols., 2016; Russo E., 2011; Ben Shabat, et al., 1998).

Cannabinoides al ser administrados en conjunto con otras sustancias fitoquímicas presentes en la misma planta (terpenos, flavonoides, esteroides, etc.) provocan un efecto conjunto sobre los sistemas biológicos, fenómeno designado como “efecto séquito” también conocido “entourage” (Suppa JM., 2019; Kratz J & García M., 2018; Rodríguez M., 2017; Russo et al., 2011). Concepto inducido por primera vez en 1998 por Ben Shabat y colaboradores para describir la interacción que existe entre diferentes compuestos presentes en la planta de *Cannabis*, y cómo el efecto final de la misma es el resultado de esa interacción (Russo y Taming, 2011; Ben Shabat, et al., 1998). En la figura 10, se muestran los fitoquímicos y compuestos bioactivos involucrados en el efecto séquito.

El “efecto séquito” de *Cannabis*, ejercer un efecto más potente que el que puedan generar las moléculas por separado, pues las diferentes sustancias que se encuentran en la planta, interactúan entre sí en sinergia (Andronolo D., 2021; Hinojosa & Gutierrez., 2017; Coile, D 2016).

Con respecto a lo anterior está claro que los efectos del THC o del CBD administrados de manera aislada no son iguales a una administración simultánea, o cuando se consume la planta de manera directa, donde actúan todos los componentes de la misma, es decir tanto los cannabinoides como los terpenos y otros fitoquímicos. De esta manera se fortalecen y mejoran las condiciones terapéuticas de los extractos de *cannabis* (Kratz J & García M., 2018, Russo, 2011).

La planta de *cannabis* brinda una herramienta terapéutica muy compleja, los efectos clínicos del *cannabis* son secundarios a interacciones complejas entre los diferentes cannabinoides y no son consecuencia de la acción de un compuesto químico aislado. Estudios recientes proponen un esquema terapéutico, donde es necesario que para cada paciente se realice un ajuste en la variedad y dosis de la planta de *Cannabis* para su patología (Andronolo D., 2021; Espinosa JC. 2020; Englund A., et al 2013; Russo., 2011).

En otros estudios con fines de utilizar *cannabis* en la terapia clínica y farmacéutica han manejado diferentes concentraciones de CBD y THC, en diferentes proporciones, por ejemplo, CBD: THC de 20:1, para terapia en epilepsia, CBD: THC en proporciones de 2:1, 5:1 y 20:1, en Israel cumple con los requisitos legales y sanitarios, además se ha visto que CBD: THC en proporción 1:1 produce un efecto antitumoral (Espinosa JC. 2020; Brodie MJ., et al 2018; Rodríguez M., 2017).

Extractos de *cannabis* tienen 3 clasificaciones: espectro completo, contiene fitocannabinoides, terpenos y flavonoides; amplio espectro, a diferencia del espectro completo, no contiene THC; y CBD aislado, que contiene CBD puro, los 3 tipos con evidencia clínica y terapéutica (Cather & Cather., 2020).

El énfasis de utilizar cannabinoides CBD Y THC en conjunto, se debe principalmente a que previos estudios han demostrado que CBD mejora el efecto de THC, con respecto a eficacia terapéutica y disminuyendo los efectos adversos (Espinosa JC. 2020; Englund A., et al 2013).

El CBD podría potenciar los efectos terapéuticos del THC, estudios resaltan que el CBD por ser hidrofóbico, penetra en las membranas celulares aumentando así la

capacidad del THC de penetrar en los tejidos, a través de los receptores aquí presentes CB1 y CB2. El CBD también inhibe isoformas de citocromo p450, encargado del metabolismo de THC. Es entonces que CBD influye aumentando la vida media, distribución y biodisponibilidad del THC (Suppa JM., 2019; Kratz J & García M., 2018).

Aunado a esto la administración CDB podría disminuir los efectos adversos del THC cuando estos son administrados de manera conjunta, es porque la actividad ansiolítica y antipsicótica propia del CBD, además de que inhibe el metabolismo del THC a 11-hidroxi-THC, al que se le atribuyen propiedades psicoactivas mayores que las del THC (Leimow y Birnbaum, 2019; Suppa JM., 2019; Kratz J & García M., 2018; McPartland y cols., 2014). Se propone una preparación de *cannabis* en proporciones adecuadas de CBD: THC, podría considerarse como una “versión terapéutica mejorada del THC” (Guzmán Pastor, et al 2019; Russo y Santiago et al. 2019; Kratz J & García M., 2018; Maa E y Figi., 2014).

Además de la sinergia con la que trabajan compuestos cannabinoides (CBD y THC) en el efecto séquito, también se ha demostrado una mejor respuesta farmacológica, atribuida a la adición de otros fitoquímicos como son los terpenos y flavonoides, compuestos volátiles responsables de las propiedades organolépticas como es el sabor y aroma del *cannabis*. Dichos compuestos, son encontrados en gran variedad de alimentos y son considerados seguros para el consumo humano, aprobados por la FDA, tiene propiedades antioxidante, ansiolítico, antiinflamatorio, antibacteriano, antineoplásico, analgésico, entre otros (Guzmán Pastor, et al 2019; Suppa JM., 2019; McPartland y cols., 2014).

Destacan los siguientes tipos de terpenos, el β -mirceno compuesto analgésico, antiinflamatorio antibacteriano y antidepresivo, le confiere propiedades sedativas al *cannabis*, el limoneno compuesto inmunoestimulante, el α -pineno es antiinflamatorio, broncodilatador, antibiótico e inhibe a la acetilcolinesterasa, que contrarrestar los déficits en la memoria a corto plazo inducidos por el THC, finalmente el β -cariofileno compuesto analgésico, protector gástrico, antiinflamatorio

y con la capacidad de activar el sistema endocannabinoide, al ser un agonista del receptor CB2 (Santiago et al. 2019; Russo y Taming, 2011).

El efecto séquito en la planta *Cannabis* representa una aproximación terapéutica diferente, al tener múltiples dianas y mejorar la actividad terapéutica de sus componentes principales (CBD y THC). Dicho efecto se aproxima más a la realidad clínica de los pacientes, en los que las patologías con causas y efectos multifactoriales, se tratan con combinaciones de fármacos. Actualmente los estudios tanto clínicos como preclínicos sobre el efecto séquito de la planta *Cannabis* son todavía muy pocos. Está claro que la planta de *Cannabis Sativa* es una herramienta terapéutica compleja y es fundamental realizar más estudios, para validar el efecto séquito como uso farmacéutico en diversas patologías (Kratz J & García M., 2018; Rodríguez M., 2017; Ligresti y cols., 2016; Russo y Taming, 2011).

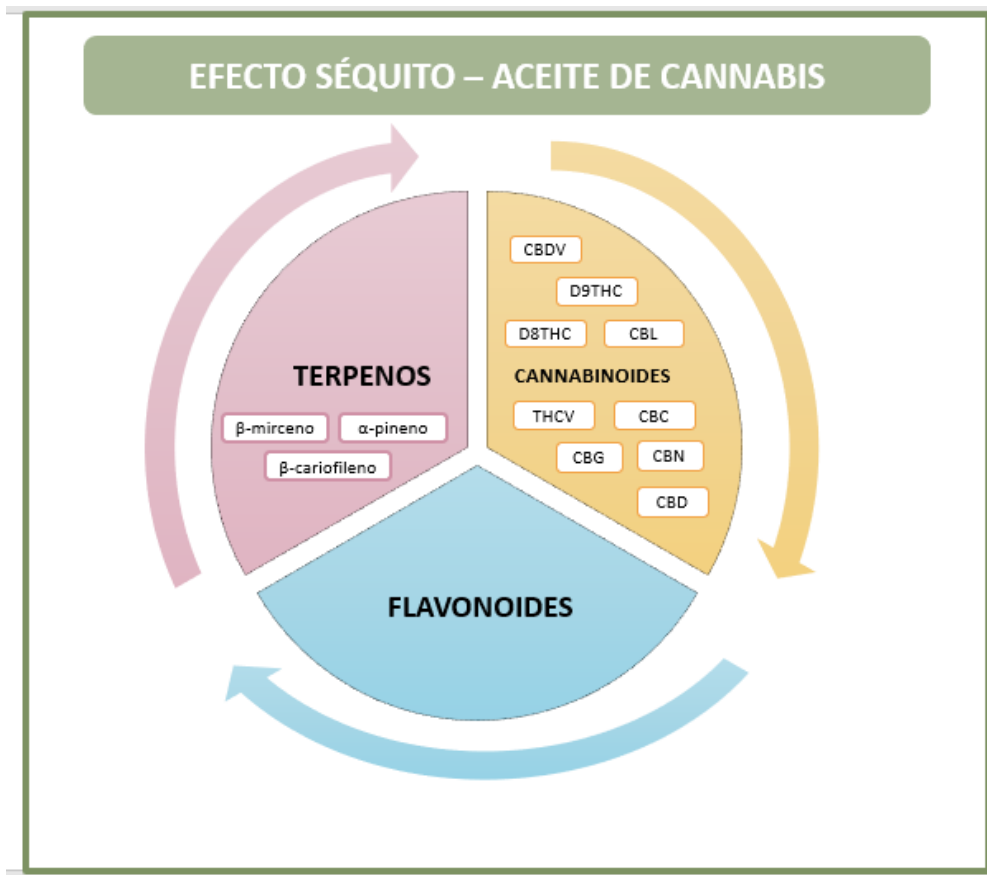
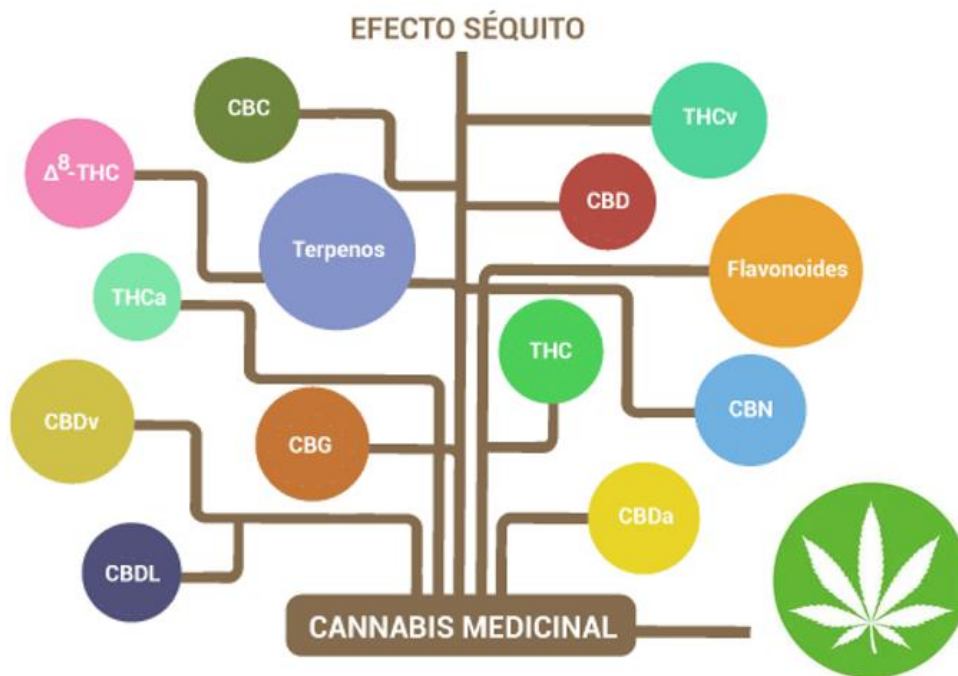


Figura 10. Compuestos bioactivos y fitoquímicos que participan en el efecto séquito.

- DISEÑO DE UN ALIMENTO FUNCIONAL

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) un “Alimento Funcional” es cualquier alimento o ingrediente que demuestre acción benéfica para la salud, que incremente el bienestar del individuo o disminuya los riesgos de enfermedades, más allá de su función nutritiva.

Es aquel con una o varias sustancias, naturales o procesadas, que interaccionen con el organismo de forma beneficiosa y significativa independientemente de nivel de aporte de nutrientes. Estos alimentos ayudan al organismo en el mantenimiento de un estado óptimo de salud (López C, et al. 2020).

Dicho lo anterior, está claro que extractos de *cannabis* contienen compuestos nutricionales y otros bioactivos que podrían contribuir a prevenir o tratar el desarrollo de enfermedades cardiovasculares de gran interés actual como son dislipidemias e hipertensión arterial. Por lo que se ha sugerido usar compuestos de *cannabis* como ingredientes activos para formular alimentos funcionales y/o nutracéuticos en la industria alimentaria. Dado que un alimento funcional se caracteriza por poseer compuestos con propiedades específicas que les permiten manifestar un efecto benéfico en la salud. *Cannabis* y sus extractos resultan de gran interés para la nutrición humana (Martínez V et al., 2020, Polia et al., 2018, Girgih A et al., 2014, Karimi I et al., 2006).

En la actualidad sabemos que la salud de los seres humanos tiene una gran relación con la calidad nutricional de la alimentación, así mismo el consumo de alimentos funcionales o nutracéuticos ayuda a prevenir el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes, cáncer, síndrome metabólico, entre otras. La explotación de *cannabis* en la nutrición humana podría ser una línea de investigación con gran relevancia, importancia e innovación en el mundo.

II. ANTECEDENTES.

- EFECTOS DE CANNABINOIDES EN LA SALUD

Se han demostrado diferentes efectos benéficos en la salud, atribuidos principalmente al compuesto cannabidiol (CBD). Diferentes estudios documentan su potencial efecto analgésico, anticancerígeno, neuroprotector, antiemético, anticonvulsivante, antiinflamatorio, antiespasmódico. Con eficaz tratamiento sobre epilepsia, obesidad náuseas, vómitos, pérdida de apetito, inflamación, dolor, Alzheimer, Parkinson, trastorno de estrés postraumático, ansiedad, enfermedad pulmonar, hígado graso, diabetes, dislipidemias, síndrome metabólico y trastornos cardiovasculares (Klumpers L et al., 2019, Di Marzo et al., 2011, Costa B et al., 2007, Moore T et al., 2007).

El sistema cannabinoide por su capacidad de interferir en la fisiología del organismo, ha despertado interés como una nueva terapia con beneficio en gran variedad de patologías. En particular en sistema cardiovascular parece tener un impacto positivo en el desarrollo y pronóstico de enfermedades cardiovasculares (Jadoon K. 2017, Stanley CP, et al., 2013, Cunha P et al., 2011, Mechoulam R, et al., 2002).

- EFECTOS DE CANNABINOIDES EN LA SALUD CARDIOVASCULAR

Este potencial efecto protector del sistema cannabinoide en problemas cardiovasculares, se ha asociado a el efecto que generan compuestos cannabinoides presentes en el cáñamo, entre estos compuestos destacan el THC y CBD por su interacción en la fisiología cardiovascular ante diferentes enfermedades, condiciones y circunstancias (Lena S. 2020, Veilleux A et al., 2019, Stanley CP, et al., 2015, Walsh SK, et al., 2010).

Sin embargo, otros compuestos presentes en el cáñamo, como son **terpenos**, **antioxidantes** y **ácidos grasos poliinsaturados**, influyen también en mejorar la salud cardiovascular ante ciertas condiciones que deterioran dicho sistema, como es la hipertensión arterial y las dislipidemias (Jurgoński A 2020, Kaushal N 2020).

Compuestos cannabinoides han demostrado intervenir en la regulación de la función cardiovascular, con una mayor actividad en procesos patológicos de dicho sistema (Puhl SL, et al., 2020). Esto posiblemente asociado al prometedor enfoque terapéutico para contrarrestar la progresión de enfermedades cardiovasculares (Puhl SL, et al., 2020; O'Sullivan, 2015).

Este enfoque terapéutico esta dado por una gran sensibilidad de cannabinoides a receptores CB1 y CB2, con efecto de agonismo y antagonismo, además resulta ser un proceso complejo pues los cannabinoides pueden activan receptores periféricos, en los cardiomiocitos y las células endoteliales o una combinación de los mismos, así como involucrar al sistema nervioso central y en ciertas condiciones, las células inmunitarias (Wing S.V & Kelly M 2017; Pacher & Steffens, 2009). El papel que juegan los receptores de CB1 y CB2 en condiciones cardiovasculares como la hipertensión y dislipidemias, es descrita a continuación. En la figura 11, se muestra con mayor claridad como actúa el sistema endocannabinoide para ejercer una respuesta en el organismo.

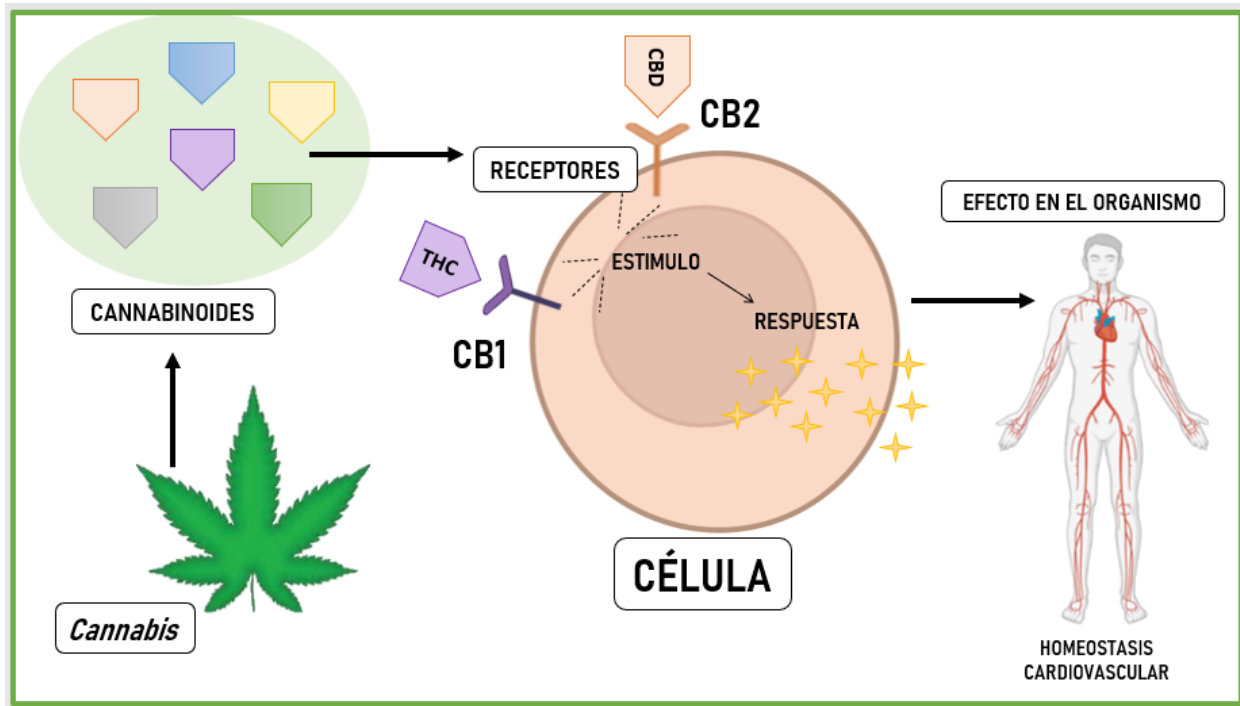


Figura 11. Mecanismo de acción del sistema endocannabinoide.

Cannabinoides en dislipidemias.

Los cannabinoides tienen efectos positivos y negativos sobre la progresión de problemas de dislipidemias, por ejemplo, se ha mencionado que el receptor CB1 incrementa perfil lipídico mientras que el CB2 lo disminuye, pero esto se discute con claridad a continuación.

Se cree que CB1 tiende a incrementar valores del perfil lipídico desfavorablemente, afectando principalmente la vasculatura endotelial y teniendo como consecuencia la progresión de padecimientos como es la aterosclerosis, en estas condiciones se ha reportado que en endotelio, músculo liso vascular y macrófagos, la estimulación de cannabinoides sobre el receptor de CB1 puede inducir migración celular, proliferación y liberación de radicales libres y citoquinas todo esto con acciones proinflamatorias (Wing S.V & Kelly M 2017).

Sin embargo, la bibliografía nos manifiesta cierta controversia, pues estudios reportan también el potencial efecto del sistema cannabinoide para contrarrestar daños y progresión de problemas cardiovasculares en especial de dislipidemias.

El receptor CB2 puede disminuir el perfil lipídico, en especial, reducir triglicéridos, colesterol, lipoproteínas de baja densidad y mejorar otras condiciones metabólicas como insulina y glucosa. (Wing S.V & Kelly M 2017). Se cree además que la señalización de receptores a cannabinoides en hígado está relacionado a mantener la homeostasis metabólica. (Howlett A., et al, 2017).

En el caso de dislipidemias, sabemos que en dicho proceso patológico es común la generación futura de especies reactivas de oxígeno y el desarrollo de procesos inflamatorios, para contrarrestar este daño, tenemos que la activación de CB2 por parte de cannabinoides, tiene efectos antiinflamatorios (O'Sullivan, 2015; Steffens & Pacher, 2015). Este efecto asociado a una disminución en la proliferación de células de músculo liso vascular y reducción de la producción de citocinas proinflamatorias, radicales libres y quimiotaxis de neutrófilos, suceso por el cual cannabinoides al actuar sobre CB2 podría ser utilizados como un eficaz tratamiento terapéutico para tratar daños ocasionados por un desorden en el perfil lipídico como es la inflamación (Wing S.V & Kelly M 2017; (O'Sullivan, S.E. 2015).

Un estudio, por ejemplo, para el tratamiento de dislipidemias, demostró que el tratamiento oral con dosis bajas de THC podría inhibir el desarrollo de placa aterosclerótica (Braunersreuther V, et al., 2006). Además, una suplementación dietética con una pequeña dosis de semillas de *cannabis*, puede contrarrestar daños inducidos por una alimentación alta en grasa en ratas (Lara D., et al 2019). Las semillas de *cannabis* pueden mejorar el estado antioxidante y el metabolismo de los lípidos en las ratas (Cunha P et al., 2011). Aunado a esto la presencia de otros compuestos del *cannabis* pueden tener consigo grandes beneficios, como es el aceite de semilla de *cannabis* que tiene un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados y la proporción de omega 6 a omega 3 es óptima (3: 1), lo cual contribuye a una mejora en la salud cardiovascular (Kaul et al., 2008). Esto es porque dichos ácidos grasos poliinsaturados pueden mejorar el metabolismo de los lípidos debido a su capacidad para inducir la oxidación de ácidos grasos en el hígado y los músculos esqueléticos y la supresión simultánea de la síntesis de lípidos hepáticos (Jurgoński A 2020).

Cannabinoides en hipertensión arterial

Por otro lado, el sistema cannabinoide, también ha sido estudiado como tratamiento de la hipertensión arterial, otro problema cardiovascular de gran magnitud (Cunha P et al., 2011). Se ha encontrado que dicho sistema regula a diferentes niveles la presión arterial (Biernacki M, et al 2018, Grotenhermen, 2006). Como se mencionó con anterioridad esta regulación está dada principalmente por la unión de los cannabinoides al receptor CB1 (Lena S. 2020, Malinowska1 B et al., 2019, O'Sullivan, 2014). Al actuar sobre este receptor, se ha identificado que los cannabinoides, pueden actuar de diferentes maneras, disminuyendo la frecuencia y contractibilidad cardiaca, disminuyendo también la constricción coronaria, así como incrementando la vasodilatación. (Robert L. Page II, 2020, O'Sullivan, 2015, Malinowska et al., 2012, Cunha P et al., 2011). Incluso se ha visto que, en personas hipertensas, la cantidad y sensibilidad de receptores CB1 aumentan notablemente en células y tejidos del sistema cardiovascular, mismo suceso observado para el receptor CB2. Además, estos compuestos cannabinoides pueden actuar en la fisiología del sistema renina-angiotensina y aumentando la sensibilidad de los barorreceptores (Malinowska B et al., 2019, Biernacki M 2018). Todos esto provocando una acción antihipertensiva, que tendrá como futuros usos, un fin terapéutico.

El *cannabis* inhalado provocó una disminución de la presión sanguínea duradera en sujetos con una presión arterial alterada (Grotenhermen, et al., 2006). La administración de cannabinoides a distintos animales ocasionó un efecto hipotensor y vasodilatador (Jones, R, et al., 2002). Se ha encontrado que el CBD exhibe propiedades vasodilatadoras y antioxidantes en la hipertensión, esta acción hipotensora del CBD se identificó principalmente en condiciones de estrés (Kieman A et al., 2021). Los cannabinoides disminuyeron la presión arterial en roedores hipertensos principalmente debido a la disminución de la contractilidad cardíaca (Pacher P, et al., 2005). La administración aguda y prolongada de THC a roedores hipertensos, provocó una disminución de la presión arterial y la frecuencia cardíaca a largo plazo, (múltiples sitios objetivo, inhibición de los canales de calcio, activación de los canales de potasio, producción de NO y liberación de sustancias

vasoactivas (O'Sullivan, 2015; Cunha P et al., 2011; Jones, 2002). En ratas hipertensas, se encontró que existe una acción hipotensora mediada por el receptor CB1 mucho más fuerte en comparación con ratas normotensas (Toczek M, et al., 2018). En un estudio cuando se administró como tratamiento únicamente el cannabinoide CBD no psicoactivo disminuyó la presión arterial en reposo y la presión arterial inducida por el estrés (Jadoon et al., 2017). El tratamiento con CBD vía oral redujo la presión arterial sistólica en reposo, en un estudio con humanos sanos (Jadoon K et al., 2017). Los cannabinoides también modularon el estrés oxidativo y la inflamación en la hipertensión, condiciones que provocan un mal pronóstico en de la fisiopatología de esta enfermedad. (Kicman et al., 2020). En un estudio de Sadowska O y colaboradores, donde administraron CBD a una dosis de 10 mg/kg/día durante tres semanas en ratas con hipertensión pulmonar, se observó una disminución en la vasoconstricción ventrículo derecho, reduciendo la presión sistólica del mismo, por lo que el CBD puede ser un tratamiento terapéutico único o adyuvante seguro para la hipertensión arterial pulmonar humana (Sadowska O, et al. 2020). En otros estudios el CBD provocó la relajación de las arterias mesentéricas humanas, la aorta de rata y las arterias femorales y mesentéricas en condiciones de normo e hipertensión (Wheal, AJ., et al. 2017; Stanley, CP., et al 2015; O'Sullivan, SE., et al 2009). En otros experimentos realizados in vivo, una inyección aguda de CBD redujo la presión arterial diastólica pero no la sistólica en ratas con hipertensión arterial (Remiszewski et al., 2020). El CBD y otras cannabinoides entonces, se caracterizan por sus propiedades vasorrelajantes, antiproliferativas y antiinflamatorias, sin embargo la evidencia todavía es escasa para promover su uso terapéutico seguro, por lo que es importante continuar y promover esta línea de investigación.

La evidencia respalda el uso del sistema cannabinoide como terapia que pudieran prevenir o disminuir la progresión de patologías cardiovasculares, como son de nuestro interés la hipertensión arterial y las dislipidemias, dado que estudios clínicos y preclínicos han demostrado que cannabinoides pueden modular la frecuencia cardiaca, el tono vascular y la presión arterial en humanos y modelos animales.

Nuevos estudios experimentales y clínicos son necesarios para aclarar el papel de los cannabinoides en la fisiopatología de enfermedades cardiovasculares, debido a que la investigación con respecto al uso de *cannabis* como tratamiento en dichas patologías no es aún suficiente. Esto es fundamental para la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas, para conocer los efectos de *cannabis* en alteraciones cardiovasculares y la creciente legalización de su consumo con fines medicinales.

- EFECTOS TERAPEUTICOS DE *CANNABIS* EN MODELOS MURINOS

Estudios previos han evidenciado el potencial efecto terapéutico de extractos de cáñamo en problemas de tipo cardiovascular en modelos murinos. En la Tabla 1, se describe con mayor detalle lo que reportan dichos estudios, incluyen problemas de presión arterial y de metabolismo lipídico.

Con respecto al efecto terapéutico de cáñamo en alteraciones de presión arterial, Malomo S y colaboradores en 2015, evaluaron el efecto de hidrolizados de proteína de cáñamo sobre la reducción de presión arterial en un modelo murino de ratas espontáneamente hipertensas, en efecto, observaron una reducción significativa en las enzimas ECA y renina, lo que posteriormente se correlaciono con una reducción de presión arterial, por lo que hidrolizados de proteínas de cáñamo podrían ser usados como ingredientes o compuestos activos para la reducción de la presión arterial en problemas de hipertensión.

En otro estudio, Girgih A y colaboradores en el 2014 evaluaron de igual manera el efecto de la alimentación de hidrolizados de proteína de cáñamo como tratamiento y prevención de hipertensión arterial, en un modelo murino de ratas espontáneamente hipertensas y ratas Wistar normotensas, ellos encontraron que la dieta con hidrolizados de proteína de cáñamo contribuyó a mantener niveles de presión arterial en rangos normales en ratas espontáneamente hipertensas y esto fue atribuido a una reducción significativa en los niveles plasmáticos de enzimas ECA y renina. Sin embargo, dichos extractos de cáñamo no modificaron la presión arterial de ratas normotensas. Péptidos de cáñamo podrían ser utilizados en el tratamiento de la presión arterial.

Si bien estos estudios, basan el potencial efecto hipotensor del cáñamo en la proteína del mismo, otros estudios en ratas afirman el impacto que tiene los fitocannabinoides de actuar sobre sus receptores específicos para producir una reducción en la presión arterial. Los cannabinoides pueden actuar como ligandos del receptor CB1, el cual ha mostrado producir un efecto vasodilatador y por ende disminuyen la vasoconstricción, también producen una reducción en la contractilidad cardíaca por un aumento de la sensibilidad de los barorreceptores esto podría desempeñar un papel protector en la hipertensión (Malinowska1 B et al., 2019, Biernacki m. 2018) Son los receptores CB1, los que se han identificado según estudios previos, con un mayor efecto hipotensor con los ligandos de cannabinoides. Estos han disminuido la presión arterial en roedores hipertensos por los mecanismos previamente dichos (Cunha P et al., 2011. Lena S. 2020). Se ha encontrado en roedores que el CBD exhibe propiedades vasodilatadoras, antioxidantes y antiinflamatorias en la hipertensión, importante de considerar también por las posibles complicaciones de esta enfermedad (Kicman et al., 2020, Jadoon K et al., 2017).

Estudios también han evaluado el efecto de *cannabis* como intervención para atenuar problemas en el metabolismo lipídico. Kaushl N y colaboradores en el 2020 evaluaron entre otros parámetros, el efecto de proteínas y lípidos de cáñamo sobre el perfil lipídico de un modelo de ratas Wistar con hipercolesterolemia inducida, en sus resultados reportan un mejoramiento del perfil lipídico en triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL y LDL, únicamente para aquellas ratas que fueron alimentadas con los extractos de *cannabis*. Es importante considerar los efectos antihipercolesterolemicos de *cannabis*, para un posible uso terapéutico del mismo.

En otro estudio Karimi I & Hayatghaibi H en 2006, observaron el efecto de *cannabis* sobre el perfil lipídico de ratas Wistar. En efecto *cannabis* disminuyó significativamente niveles de LDL séricos en ayunas e incremento los valores de HDL séricos en ayunas. Sin embargo, no se observaron cambios significativos para colesterol total y triglicéridos. Por lo que sugieren sería adecuado el uso de *cannabis* para un mejor control en el perfil lipídico.

Kaushal N y colaboradores en 2020 evaluaron cambios en el perfil lipídico de ratas Wistar alimentadas con diferentes patrones de dieta altas en grasa y/o con *cannabis*. Los investigadores observaron que una dieta alta en grasa incremento significativamente parámetros de perfil lipídico. Sin embargo, en los grupos de ratas alimentadas con *cannabis* (sea en ausencia de grasas, al mismo tiempo que la dieta alta en grasas o bien posterior a la dieta alta en grasas) se mostró una disminución considerable en los niveles de colesterol total y LDL, triglicéridos, así como aumento de colesterol HDL.

En otra investigación de Jurgonski A y colaboradores en 2020 analizaron el metabolismo lipídico de ratas Wistar macho obesas inducidas por una dieta alta en grasa, tras la ausencia o adición de semillas de cáñamo nativas o desgrasadas, en efecto la alimentación de una dieta rica en grasa con semillas nativas disminuyó la concentración de colesterol total, mientras que la semilla de cáñamo desgrasada disminuyó acumulación de triglicéridos en hígado, pero incrementó el acumulo de colesterol en dicho órgano.

En el campo cardiovascular, receptores de cannabinoides CB1 y CB2 impactan de manera crucial en enfermedades caracterizadas por procesos inflamatorios, como la son aterosclerosis o dislipidemias. Por lo que los cannabinoides inducen cambios en el sistema cardiovascular de animales y se vuelve una posibilidad de aplicar el CBD para el tratamiento de trastornos cardiovasculares como son las alteraciones en el metabolismo lipídico (Lena S. 2020, Cunha P et al., 2011).

Las investigaciones previas que hasta el momento se tienen sobre el potencial efecto terapéutico de extractos de cáñamo o *cannabis* sobre problemas de hipertensión y dislipidemias, son la pauta para promover la identificación de cannabinoides provenientes de *cannabis* como un futuro potencial terapéutico para dichas patologías.

Tabla 1. EFECTO TERAPÉUTICO DE EXTRACTOS DE CÁÑAMO EN PROBLEMAS DE HIPERTENSIÓN ARTERIAL Y DISLIPIDEMIAS. Tomado de Saucedo M & Alcántara L. 2022.

ESTUDIO	¿QUÉ EVALUÓ?	MODELO	EXTRACTO DE CÁÑAMO	DISEÑO EXPERIMENTAL	RESULTADOS	CONCLUSIÓN
Kaushal N, et al 2020.	Efecto de extractos de cáñamo sobre perfil lipídico, daño oxidativo e inflamación de ratas con hipercolesterolemia.	Ratas Wistar con hipercolesterolemia inducida.	Proteínas y lípidos del cáñamo o <i>cannabis</i>	Se tenían 5 grupos: Grupo 1: Con una dieta normal y agua libre. Grupo 2: Con una dieta alta en grasa. Grupo 3: Dieta que contiene extractos de cáñamo. Grupo 4: Dieta alta en grasa suplementada con 10% de cáñamo. Grupo 5: Dieta alta en grasa por un mes, seguido de una dieta	Mejoramiento del perfil lipídico (triglicéridos, colesterol total, HDL, LDL) para ratas alimentadas con extractos de cáñamo. Cambios anormales en las ondas del electrocardiograma de ratas con hipercolesterolemia. Menor daño oxidativo e inflamación para ratas con hipercolesterolemia alimentadas con cáñamo	El cáñamo tiene efectos antihipercolesterolémicos, los cuales están mediados por modulación de vías inflamatorias y actividad antioxidante. Es importante considerar estas propiedades de <i>cannabis</i> .

				con cáñamo por otro mes.		
Malomo S, et al 2015.	Efecto de extractos de cáñamo para inhibir <i>in vitro</i> actividades de la renina y la ECA, en relación con los efectos reductores de la presión arterial.	Ratas espontánea mente hipertensas.	Hidrolizados de proteínas de cáñamo	Se tenían 3 grupos conformados por 4 ratas cada uno. Grupo 1: Se proporciono los hidrolizados de proteínas de cáñamo. Grupo 2: (Control positivo) Se ofreció el fármaco captopril diluido en PBS. Grupo 3: (Control negativo) Se administro únicamente PBS	La inhibición de renina se logró con 4% del hidrolizado con pepsina, mientras que la ECA, se inhibió con el 2% de pepsina. La proteína hidrolizada con alcalasa al 1% fue el agente reductor de presión arterial más eficaz ($p < 0,05$) (-32.5 ± 0.7 mmHg después de 4 h), los de pepsina al 2% y 4% produjeron efectos más duraderos (-23.0 ± 1.4 mmHg después de 24 h).	Se observo inhibición de la ECA y la renina de las digestiones enzimáticas del aislado de proteínas de cáñamo, así como reducción de la presión arterial teniendo una relación en ambos parámetros. Hidrolizados de proteínas de cáñamo pueden usarse como ingredientes activos para formular alimentos funcionales

<p>Girgih A, et al 2014.</p>	<p>La capacidad de hidrolizados de semilla de cáñamo para atenuar la hipertensión y ver el efecto como prevención y tratamiento de la enfermedad</p>	<p>Ratas espontánea mente hipertensas y ratas normotensas Wistar-Kyoto</p>	<p>Hidrolizados de proteínas de cáñamo</p>	<p>Los hidrolizados de semilla de cáñamo se sustituyó por caseína a niveles de 0,5 y 1,0% y se administró a ratas jóvenes en crecimiento durante 8 semanas (fase preventiva) o ratas adultas durante 4 semanas (fase de tratamiento) Las ratas se aclimataron alimentándolas con una dieta de pienso regular y agua del grifo durante 2 semanas.</p>	<p>Hidrolizados de semilla de cáñamo por 8 semanas dio como resultado la atenuación de los aumentos de presión arterial sistólica 120 mmHg en comparación con el grupo de ratas control (solo caseína) 158 mmHg (p=0.05). La alimentación de ratas adultas con semilla de cáñamo por 4 semanas condujo a una reducción (p = 0.05) en la presión arterial a 119 mmHg en comparación con 150 mmHg para las ratas de control. La actividad de ECA en plasma se suprimió (p = 0.05) (0.047-0.059 U/mL) en ratas alimentadas con semilla de cáñamo en comparación con</p>	<p>La dieta con hidrolizados de proteína de cáñamo, pudo mantener a ratas espontáneamente hipertensas a una presión arterial normal. Los productos bioactivos no cambiaron la presión arterial de ratas normotensas. Las reducciones de presión arterial se relacionaron con los niveles plasmáticos de ECA y renina. Hidrolizados del cáñamo podrían ser un ingrediente útil para formular alimentos</p>
-------------------------------------	--	--	--	--	--	---

					las ratas de control (0.123U/mL) y el nivel de renina plasmática también disminuyó para este grupo de ratas (0.040–0.054 Ig / mL) en comparación con las ratas de control (0.151 Ig / mL).	funcionales y nutracéuticos para la prevención y el tratamiento de la hipertensión.
Karimi I & Hayatghai bi H 2006.	Efecto de la semilla de cáñamo en los perfiles de lípidos y proteínas de Ratas Wistar.	Ratas Wistar.	Semillas del cáñamo.	Los animales se alojaron en condiciones estándar de laboratorio y tuvieron libre acceso a alimento (dieta normal), semillas de cáñamo y agua limpia. Durante los 20 días que duró el experimento. Se estabilizaron durante dos semanas	La semilla de cáñamo disminuyó significativamente ($p = 0.004$) el nivel medio de LDL sérico en ayunas y también aumentó significativamente el nivel medio de HDL sérico en ayunas y los niveles de proteína total ($p = 0.01$). Los niveles medios de triglicéridos en ayunas, colesterol total y albúmina no	La alimentación con semillas de cáñamo mejoró el perfil de lípidos y proteínas en sangre. Se recomienda que las personas que tengan niveles altos de colesterol y LDL o que estén afectados por enfermedades de las arterias coronarias (EAC) puedan utilizar la variedad de semillas

				antes del comienzo del experimento.	cambiaron significativamente.	de cáñamo en su preparación de alimentos.
Kaushal N et al., 2020.	Cambios en el perfil lipídico y marcadores de estrés oxidativo e inflamación.	Ratas Wistar hembras	Semillas de cáñamo orgánico producidas en India.	Grupo 1: Con una dieta normal y agua libre. Grupo 2: Con una dieta alta en grasa (2% de colesterol, 1% de ácido cólico, 10% de aceite de cacahuete, 40% de sacarosa, 47% de dieta en gránulos por dos meses). Grupo 3: Dieta con semillas de cáñamo. Grupo 4: Dieta alta en grasa suplementada con 10% de semilla	Se muestran que los niveles séricos de colesterol, triglicéridos y la relación LDL / HDL aumentaron significativamente en ratas alimentadas con dieta alta en grasa en comparación con otros grupos. Los grupos 3, 4 y 5 demostraron una disminución considerable en los niveles de colesterol, LDL y triglicéridos y un aumento concordante en HDL en comparación con el grupo de dieta alta en grasas. Por lo tanto, el	La fracción lipídica de las semillas de cáñamo es una gran fuente de ácidos grasos esenciales, fitoesteroles y de antioxidantes eficaces. Por esta razón se sugiere el posible papel antioxidante y antiinflamatorio de cáñamo en el alivio de condiciones fisiopatológicas, donde el estrés oxidativo y la inflamación son mediadores clave.

				<p>de cáñamo + 90% gránulos.</p> <p>Grupo 5: Dieta alta en grasa por un mes, seguido de una dieta con semilla de cáñamo por otro mes.</p> <p>Cambios en el peso se controlaron por semana. Se aisló suero y se utilizó para analizar perfil de lípidos.</p>	<p>aumento de HDL inducido por cáñamo, puede mejorar la eliminación del colesterol.</p>	
<p>Jurgonski A., et al. 2020</p>	<p>Metabolism o lipídico</p>	<p>Ratas Wistar macho obesas inducidas por la dieta</p>	<p>Semilla nativa de cáñamo y semilla de cáñamo desgrasada</p>	<p>La alimentación duró 8 semanas. Se tenían 4 grupos de 7 animales.</p> <p>- El grupo C fue alimentado con una dieta de control (7% de aceite de colza)</p>	<p>Las concentraciones plasmáticas de colesterol total, colesterol no HDL y colesterol LDL aumentaron, mientras que el porcentaje de colesterol HDL en el colesterol total disminuyó con la alimentación con dieta</p>	<p>La suplementación dietética con un consumo bajo y regular de ambas formas (desgrasada y nativa) de semillas de cáñamo puede atenuar trastornos inducidos</p>

				<p>mientras que</p> <ul style="list-style-type: none"> - El grupo HF fue alimentado con 18% de aceite de palma y un 0.5% de colesterol. - Los otros dos grupos fueron alimentados con la dieta HF complementada con un 1% de semillas de cáñamo nativas o desgrasadas (grupos HF + HS y HF + DHS respectivamente). <p>Las dietas estuvieron a disposición durante el experimento.</p>	<p>rica en grasa en comparación con las observadas con la dieta de control. La suplementación de la dieta rica en grasa con semillas nativas disminuyó ligeramente la concentración de colesterol total; sin embargo, la disminución de la concentración de colesterol fue comparable a la del grupo C. El consumo dietético de semillas desgrasadas disminuyó la acumulación de triglicéridos en el hígado y aumentó el contenido de colesterol en el hígado.</p>	<p>por la alimentación rica en grasas en ratas. Ambas formas de semillas de cáñamo pueden mejorar el metabolismo de los lípidos, pero su efecto sobre el metabolismo de los lípidos es desfavorable cuando se tienen en cuenta las semillas de cáñamo desgrasadas.</p>
--	--	--	--	---	--	--

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Como se mencionó anteriormente, las enfermedades cardiovasculares son un conjunto de trastornos que afectan a corazón y vasos sanguíneos, tienden a deteriorar la calidad de vida de la población e incrementa la morbilidad y mortalidad, en los últimos años la prevalencia ha aumentado y la Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta dichas enfermedades como la primera causa de muerte en el mundo (Coronado et al., 2019, OMS., 2018, Girgih A et al., 2014). Se sabe que en la actualidad existe una gran variedad de tratamientos farmacológicos que están dirigidos a tratar enfermedades de tipo cardiovascular como las que serán investigadas en este estudio (hipertensión arterial y dislipidemias), sin embargo, algunos estudios reportan que las terapias farmacéuticas no son siempre toleradas por toda la población, esto es porque tienden a presentar efectos secundarios. Por ejemplo, en el caso de hipercolesterolemias comúnmente se utilizan estatinas y medicamentos antiinflamatorios no esteroideos, su uso se ha asociado con un mayor riesgo de aterotrombosis, erupciones cutáneas, hemorragias, dolores de cabeza, problemas gastrointestinales y riesgo de infartos debido a trombosis (Kaushal N et al., 2020). Por otro lado, para el tratamiento de la presión arterial, la industria farmacéutica ha aprovechado históricamente la inhibición de la ECA o renina para producir fármacos antihipertensivos comerciales como captopril, enalapril y aliskiren respectivamente, sin embargo, sería importante evitar los efectos secundarios negativos de estos fármacos como son náuseas, vómitos, tos seca, entre otros (Malomo S et al., 2015). Razón por la cual se justifica la necesidad de desarrollar agentes terapéuticos más seguros y eficaces para la población, resaltando que estudios recientes busca el desarrollo de terapias de origen más natural, considerando también, la importancia que tiene la alimentación para el tratamiento y prevención de diversas enfermedades. Extractos de *cannabis* como el aceite proveniente de dicha planta, contienen compuestos nutricionales y otros bioactivos que podrían contribuir con estos problemas cardiovasculares. Resultaría factible el usar estos compuestos como un ingrediente activo para la formulación de alimentos funcionales y/o nutracéuticos (Polia et al., 2018, Girgih A et al., 2014, Karimi I et al., 2006).

Se espera que, con el uso de aceite de *cannabis* como alimento funcional administrado en un modelo murino con hipertensión inducida, se logre tener un efecto reductor sobre los niveles altos de presión arterial, así como mejorar el perfil lipídico de colesterol y triglicéridos en sangre. Con este protocolo de investigación se espera también generar nuevos conocimientos en el área de la salud, sobre efectos de nuevas terapias sustitutivas o complementarias en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. La explotación del *cannabis* y sus derivados en la nutrición humana podría ser una línea de investigación con gran relevancia, importancia e innovación en el mundo. Esta investigación podría resultar de gran beneficio para la industria alimentaria con el desarrollo y promoción de nuevos productos alimenticios, que además de ser de calidad nutricional, contengan compuestos bioactivos que brinden beneficios adicionales la salud.

IV. HIPÓTESIS

- Ho: El aceite de cannabis como alimento funcional no controla niveles de colesterol y triglicéridos en plasma, no mejora la presión arterial, en un modelo murino.
- Ha: El aceite de cannabis como alimento funcional controla niveles de colesterol y triglicéridos en plasma, así como mejora la presión arterial, en un modelo murino.

V. OBJETIVOS

- GENERAL

Evaluar el efecto que tienen el aceite de cannabis como un alimento funcional para controlar valores de perfil lipídico y mejorar presión arterial en un modelo murino.

- ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar el efecto que tienen el aceite de *cannabis* para inhibir la enzima convertidora de angiotensina en un modelo murino, por medio del kit de ensayo fluorométrico de actividad.
- ✓ Determinar el efecto que tienen el aceite de *cannabis* para inhibir la enzima renina en un modelo murino, por medio del kit de ensayo de detección de inhibidores de renina.
- ✓ Determinar la capacidad del aceite de *cannabis* para controlar valores de colesterol total, mediante el KIT ensayo fluorométrico de colesterol.
- ✓ Determinar la capacidad del aceite de *cannabis* para controlar valores de triglicéridos en sangre, en un modelo murino por medio del KIT ensayo colorimétrico de triglicéridos.
- ✓ Determinar la capacidad del aceite de *cannabis* para disminuir valores de presión arterial en un modelo murino, por medio de un pletismógrafo de cola

- SECUNDARIO.

- ✓ Determinar la expresión génica que tiene el aceite de *cannabis* sobre los receptores cannabinoides CB1 y CB2 en el modelo SHR.

VI. METODOLOGÍA

- TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.

Este estudio es de tipo cuantitativo, experimental.

- DEFINICIÓN DE LA POBLACIÓN Y MUESTRA.

Se utilizó un modelo animal de Ratas Espontáneamente Hipertensas (SHR).

Esta cepa genética de ratas hipertensas se obtuvo en Japón al cruzar ratas con presión arterial elevada, con lo cual se logró una línea genéticamente hipertensa. Es el modelo control la rata WKY. Estos animales adquieren su HTA a los 7-10 días de vida, y llegan a tener valores de 200-210 mm Hg en la adultez. Se piensa que el mecanismo por el cual estas ratas desarrollan HTA tiene que ver con la actividad del sistema renina-angiotensina central. El SHR es un "modelo de renina normal" y su presión arterial es relativamente sodio independiente. En la actualidad, ha habido un intenso debate sobre la aplicabilidad de este modelo y su relación con HTA esencial humana. Parte de este debate gira en torno al control normotenso apropiado para la cepa SHR, dado que esta cepa fue originalmente derivada de colonias WKY. En este modelo de hipertensión se ha encontrado un aumento del estrés oxidativo y la peroxidación lipídica, así como concentraciones elevadas de colesterol y triglicéridos.

La selección de la muestra fue por criterio no probabilístico. Se contó con 16 ratas espontáneamente hipertensas, las cuales fueron divididas en 4 grupos para la administración de aceite de *cannabis*, lo cual será descrito a continuación.

Para el cálculo de muestra, se utilizó la siguiente fórmula.

$$X = N / (A/100) * (B/100). \text{ (Rojo 2014).}$$

$$X = 4 / (90/100) * (90/100) = 4 \text{ ratas. Por los 4 grupos} = 16 \text{ ratas.}$$

Y se complementó con la siguiente fórmula:

$$N = (10/K) + 1. \text{ (Serdan C., 2021).}$$

$$N = (10/4) + 1 = 3.5 = 4 \text{ ratas por grupo} = 16 \text{ ratas en total.}$$

Todo procesamiento y análisis mencionado en dicho protocolo se realizó en la Coordinación para la Innovación y aplicación de la Ciencia y la Tecnología (CIACYT) en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. El manejo y cuidado de las ratas se realizó en Bioterio del Centro de Biociencias de la UASLP.

- DEFINICIÓN DE VARIABLES.

Tabla 2. Definición de las variables a analizar en el estudio.

Variable	Operacionalización	Tipo de Variable	Medición
Niveles de presión arterial	Expresado como mmHg	Dependiente Cuantitativa	Se determinará por el análisis en el pletismógrafo de cola.
Niveles de colesterol	Expresado como mg/dL	Dependiente Cuantitativa	Se determinará por un KIT de ensayo colorimétrico.
Niveles de triglicéridos	Expresado como mg/dL	Dependiente Cuantitativa	Se determinará por un KIT de ensayo fluorométrico.
Inhibición de la ECA	Expresado como mg/ml	Independiente Cuantitativa	Se determinará por el KIT de ensayo fluorométrico de actividad
Inhibición de la renina	Expresado como mg/ml	Independiente Cuantitativa	Se determinará por el KIT de ensayo de detección de inhibidores de renina
Dosis administrada del alimento con cáñamo	Expresado como mg/día	Independiente Cuantitativa	Se tomará el peso de pellets administrados y se realizará una resta sobre la ingesta final de los mismos, para contabilizar la ingesta final de dicho compuesto.

- DISEÑO DEL ALIMENTO FUNCIONAL

Se diseñó el alimento con el cual se alimentó a las ratas espontáneamente hipertensa (SHR). Se adecuó un alimento de pellets que no causara daños nocivos, que fuera tolerado y aceptado por el modelo murino, para promover el consumo de dicho alimento. Se propuso la mezcla de estos pellets con aceite de *cannabis*, adecuando la dosis de este ingrediente para garantizar efectos benéficos a la salud y asegurar una consistencia adecuada.

ALIMENTO TIPO PELLETS

Tabla 3. Cálculo de concentraciones y cantidades para el diseño de alimento tipo pellets.

MODELO (# RATAS)	CONSUMO DE PELLET PROMEDIO / DÍA	CONSUMO DE ACEITE SUGERIDO
1	15 – 30g / día → 30 g	18 mg/kg = 6 mg. 36mg/kg = 12mg
4	120 g	20 mg

DÍAS	PELLETS	ACEITE DE <i>Cannabis</i>
1	120 g	24 mg
	120g	48 mg
28	3360 g = 3.36 kg	672 mg. (Si 15mg hay en 1ml aceite) → 44.8 ml de aceite. 1344 mg. (Si 15mg hay en 1ml aceite) → 89.6 ml de aceite
	3360 g = 3.36 kg	

Se preparan 3.36 kg de pienso + 44.8 ml de aceite. Para un consumo diario, durante 28 días para las 4 ratas.

Se preparan 3.36 kg de pienso + 89.6 ml de aceite. Para un consumo diario, durante 28 días para las 4 ratas.

RECETA

NOTA: Es muy importante cuidar la consistencia de la alimentación del modelo, dado que puede no ser bien tolerada y por lo tanto no consumida. Además, es necesario cuidar la composición nutrimental para garantizar su correcta nutrición.

Esta debe ser:

Proteína 13-14%

Grasa 3-4%

Calcio 0,5%

Para garantizar una adecuada tolerancia y aceptación por el alimento, se podría tomar como base el pellet con el que ya ha sido alimentado el modelo murino hasta su crecimiento. Es muy importante identificar que el modelo murino, tiene una adecuada tolerancia al alimento, en cuanto a consistencia y sabor, para asegurar que el consumo al alimento sea adecuado y consistente.

PROCEDIMIENTO

1. Se trituran los kg de pellets, preferente en un molino, o bien en otro utensilio donde la consistencia quede a un tamaño de 1 mm o bien triturado hasta obtener una harina.
2. Se hidrata la harina de pellets. Para este punto se agregan los ml del aceite y agua a considerar.
3. Se homogeniza la muestra y se deja pasar por un molino de carne, para obtener una especie de fideos.
4. De aquí se obtienen los pellets con la forma y consistencia adecuada.
5. Deshidratar los pellets fortificados por 50 minutos a 110°C. Asegurando que bajo estas condiciones no se daña el compuesto activo.
6. Dejar reposar y almacenar hasta su uso.

El procedimiento para realizar los pellets fue tomado como base de previas publicaciones como lo son tesis maestría y artículos científicos (Castillo E., 2015; Cruz A I. 2019). En ANEXOS, se evidencia dicho proceso.

- ANÁLISIS POR HPLC DEL ACEITE DE *CANNABIS* Y DE LOS PELLETS CON EL EXTRACTO ADMINISTRADOS AL MODELO MURINO.

Metodología de extracción y cuantificación de CBD y THC en extractos oleosos y alimento (pellets enriquecidos con CDB y THC).

- ACEITE DE *CANNABIS*.

50 μ L del extracto fueron colocados con 950 μ L de acetonitrilo, vortexeados durante 2 minutos y centrifugados a 14000 rpm durante 7 minutos, 10 μ L de sobrenadante fueron colocados en 990 μ L de fase de reconstitución*, se inyectaron en el equipo cromatográfico para la determinación de CBD. (Factor de dilución = $20 \cdot 100 = 2\ 000$). Puesto que la concentración de THC en este punto salía fuera de la cuantificación de la curva de calibración, se continuó diluyendo, tomando 10 μ L de la dilución anterior y se colocaron en 490 μ L de fase de reconstitución, se inyectaron en el equipo cromatográfico para la determinación de THC. (Factor de dilución = $20 \cdot 100 \cdot 50 = 100\ 000$).

- PELLETS.

Se pesaron 100.85 mg de alimento pulverizado, se colocaron en 25 mL de hexanos, vortexeados durante 2 minutos, sonicados durante 1 hora y se resguardaron a temperatura ambiente durante 24 horas. Pasado este tiempo se separó 1 mL de sobrenadante y llevado a sequedad con atmosfera de nitrógeno, se reconstituyó con 200 μ L de fase de reconstitución, se toman 50 μ L y se inyectan en el equipo cromatográfico para la determinación de CBD. (Factor de dilución = $25/5 = 5\ \text{mL}^{-1}$).

Puesto que la concentración de THC en este punto salía fuera de la cuantificación de la curva de calibración, se continuó diluyendo, tomando 10 μ L de la dilución anterior y se colocaron en 490 μ L de fase de reconstitución, se inyectaron en el equipo cromatográfico para la determinación de THC. (Factor de dilución = $25 \cdot 50/5 = 250\ \text{mL}^{-1}$).

Para la cuantificación se utilizó la curva de calibración de 0.5 a 100 ng/mL para CBD y THC, la cual resulta lineal con una $r^2=0.9971$ y 0.9947 para CBD y THC respectivamente (En anexos, se adjuntan los resultados del análisis). Cada muestra se analizó por triplicado, se calculó el promedio de la concentración y multiplicada por el factor correspondiente.

- CUANTIFICACIÓN DE CBD

CBD	Concentración calculada (ng/mL)	Concentración promedio sin factor de dilución (ng/mL)	Concentración promedio por factor de dilución
Aceite_1	1.09	1.09	2172 ng/mL
Aceite_2	1.127		
Aceite_3	1.041		
Alimento_1	5.711	5.28	26.40ng
Alimento_1	5.098		
Alimento_1	5.03		

Se cuantificaron 26.40 ng de CBD en 100.85 mg de alimento, es decir, 0.2617 mg de CBD por cada Kg de alimento.

- CUANTIFICACIÓN DE THC

THC	Concentración calculada (ng/mL)	Concentración promedio sin factor de dilución (ng/mL)	Concentración promedio por factor de dilución
Aceite_1	10.277	10.25	1025066.67ng/ml
Aceite_2	10.171		
Aceite_3	10.304		
Alimento_1	64.152	63.19	15797.58ng/ml
Alimento_1	64.281		
Alimento_1	61.138		

15797.58 ng de THC en 100.85 mg de alimento, es decir, 0.1566 g de THC por cada Kg de alimento *Formiato de amonio 10 mM con ácido fórmico 0.1 % en metanol: agua (90:10 v/v).

Se realizó una comparación de los datos obtenidos de las concentraciones de los cannabinoides presentes en el aceite de *cannabis* con el análisis previo de UPLC y un análisis de HPLC tanto en el extracto como en los pellets ya preparados.

Para el análisis de HPLC, se cuantificaron únicamente los cannabinoides D9THC y CBD, sin embargo, dada la gran concentración encontrada de D9THC, la cual supera las concentraciones encontradas en el UPLC, se concluye que otras variantes de THC fueron identificadas también como D8THC Y THCV, dada su gran similitud estructural, son consideradas análogos del mismo, sin embargo, las funciones son completamente diferentes y no son compuestos psicoactivos (Abioye, A, et al. 2020).

Cantidad presente de compuestos cannabinoides en 1ml de aceite, según análisis de UPLC, realizado al momento de adquirir el extracto.

Cannabinoides	Concentración
CBD y similares	2.20 mg
THC y similares	6.57 mg

Cantidad presente de compuestos cannabinoides en 1ml de aceite, según análisis de HPLC, realizado después de preparar los pellets del extracto.

Cannabinoides	Concentración
CBD y similares	.00217 mg
THC y similares	1.02 mg

La concentración aproximada de D8-THC y sus homólogos como es el THCV Y D9THC encontrados en el posterior análisis de HPLC fue menor con la que se tenía antes del estudio por análisis de UPLC, en una proporción de 6:1. Es decir una concentración 6 veces mayor analizada en UPLC que en HPLC.

La concentración aproximada de CBD y sus homólogos como es el CBDV encontrados en el posterior análisis de HPLC fue menor con la que se tenía antes

del estudio por análisis de UPLC, en una proporción de 1000:1. Es decir una concentración 1000 veces mayor analizada en UPLC que en HPLC.

La planta de *cannabis* ha demostrado mantener una mayor estabilidad en su formulación como extracto oleoso, por lo que en el aceite de *cannabis* esperaríamos preservar en mejores condiciones las concentraciones de los cannabinoides, como lo demostraron Pacifici, R y colaboradores en 2017, donde encontraron que, a temperatura ambiente y refrigeración, entre el 80% y el 85% de las concentraciones de cannabinoides se mantuvieron por 14 días a diferencia de otras formulaciones donde hay un porcentaje significativamente menor de los mismos (Pacifici, R., et al. 2017).

Además, se ha demostrado que la estabilidad del aceite de *cannabis* se mantiene entre 1 y 2 años, esto si se conserva bien a temperatura ambiente y en condiciones de obscuridad. Se ha demostrado que la exposición a la luz (no a la luz solar directa) es el mayor factor individual en la pérdida de cannabinoides y que el efecto de la temperatura (20°), no provoca pérdida o degradación de los cannabinoides, sin embargo, la oxidación del aire conduce a pérdidas significativas de los mismos (Fairbairn JW., et al. 2011). En medida de lo posible se procuró cuidar la estabilidad del aceite de *cannabis*, sin embargo, este había sido adquirido 1-2 años atrás de su utilización, por lo que no se descarta una posible pérdida y degradación en cierto porcentaje de los compuestos cannabinoides, aunado a esto, los compuestos que sé que se utilizaron para el análisis del aceite y pellets en HPLC (acetonitrilo, ácido fórmico y metanol) podrían estar interactuando con los cannabinoides y afectar sus concentraciones finales. Todo esto, sin embargo, no pareció afectar la concentración final en los pellets ya preparados, por lo que se demostró que estos contenían los cannabinoides, así como posiblemente otros no analizados e incluso terpenos. Esto es porque se cuidaron las condiciones previamente estudiadas al preparar los pellets, para evitar en medida de lo posible su degradación y que se preservaran durante el consumo del alimento.

Esto similar a lo sucedido en otro estudio donde los cannabinoides THC y CBD no se degradaron hasta dentro de por lo menos 3 meses, en un producto preparado

para consumo humano, donde se cuidaron las condiciones de preparación, principalmente temperaturas y la no adición de otros compuestos o ingredientes que afectaran la estabilidad (Wolf C et al., 2017).

En otro estudio mencionan las condiciones que alteran la estabilidad de cannabinoides, con el fin de considerar sus propiedades para la creación y el uso futuro en formulaciones de productos alimenticios o suplementos con el fin de mantener sus compuestos activos, así como sus actividades. Se evaluaron cinco condiciones de estrés: degradación ácida, degradación alcalina, oxidación, degradación térmica y fotodegradación. Los cannabinoides analizados, entre ellos THC Y CBD, se mantuvieron estables durante la exposición a dichas condiciones por 24 horas, sin embargo, eran inestables cuando se sometían a condiciones ácidas y alcalinas (50% menos concentración para ambas condiciones).

Con lo antes mencionado se concluye que la estabilidad de cannabinoides no se pierde con la preparación de pellets, si no por la propia estabilidad del aceite, que con el paso del tiempo se pierde en ciertas proporciones (Yangsud, J., 2021).

Concentración de cannabinoides presentes en los pellets ya preparados, analizados por HPLC.

Cannabinoides	En 1 kg	En 30-35g (porción diaria)	Dosis diaria aproximada	
CBD y similares	.2617 mg	.0091 mg	.036 mg/kg	15.53mg/kg
THC y similares	156.6 mg	4.7 mg	15.5 mg/kg	

El análisis de HPLC identifica la presencia de compuestos cannabinoides en los pellets preparados con aceite de *cannabis*, con una concentración final de 15.53 mg/kg para la dosis de pellets consumidos por día, únicamente considerando estas variedades, pues no todos los cannabinoides fueron contabilizados por esta metodología.

- ADMINISTRACIÓN DE ALIMENTO FUNCIONAL

Se administró aceite de *cannabis* mediante el diseño de un alimento tipo pellets, el cual fue fortificado de dicho compuesto bioactivo. Se contó con 16 ratas macho, las cuales fueron divididas en 4 grupos conformados por 4 ratas cada uno, al grupo uno y dos se le administró diariamente alimento funcional con aceite de *cannabis* a dosis de 18 mg/kg y 36 mg/kg, al grupo tres se le dio únicamente el alimento, sin el aceite de *cannabis*, finalmente al grupo 3 como control se proporcionó 20 mg/kg de enalapril y alimento sin aceite. Las ratas hipertensas, se mantuvieron en cajas comunitarias con dos ratas por caja, estaban a temperatura ambiente (22°C) con iluminación 12:12, administración de agua *ad libitum*, alimento de 30 g al día. Estas condiciones se mantuvieron durante 4 semanas en constante monitoreo. Durante los días de monitoreo, se vigiló al modelo murino. Se llevó un registro diario del consumo de pellets con y sin cáñamo, por medio del pesaje del mismo cada 24 horas, de esta manera se aseguró la dosis exacta de consumo del extracto. Durante los mismos días de monitoreo, se tomaron los días 0, 7, 14 y 21, muestra de sangre para motorizar niveles de colesterol y triglicéridos en plasma y la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina, así como la presión arterial y el peso corporal.

PARAMETROS NORMALES DE MEDICIÓN

PARÁMETRO	CONDICIONES NORMALES	RATA HIPERTENSA	ESPONTÁNEAMENTE
Presión arterial.	Sistólica: 113 mmHg Diastólica: 91 mmHg.	Sistólica: 151.67 +/- 11.85 mmHg Diastólica: 118.64 +/- 11.30 mmHg EN ADULTEZ Sistólica 200 mmHg Diastólica 210 mmHg	

En la figura 12, se muestra el siguiente calendario, donde se tiene una mejor visualización del monitoreo que se dará al modelo murino, durante las 4 semanas, incluyendo los parámetros de medición a tomar.

CALENDARIO						
<u>Adaptación</u>	<u>Adaptación</u>	<u>Adaptación</u>	<u>Adaptación</u>	0 Evaluación de: - Presión arterial - Peso corporal Toma de muestras anguínea.	1 Calcular la cantidad de pellet consumida	2 Calcular la cantidad de pellet consumida
3 Calcular la cantidad de pellet consumida	4 Calcular la cantidad de pellet consumida	5 Calcular la cantidad de pellet consumida	6 Calcular la cantidad de pellet consumida	7 Evaluación de: - Presión arterial - Peso corporal Toma de muestra.	8 Calcular la cantidad de pellet consumida	9 Calcular la cantidad de pellet consumida
10 Calcular la cantidad de pellet consumida	11 Calcular la cantidad de pellet consumida	12 Calcular la cantidad de pellet consumida	13 Calcular la cantidad de pellet consumida	14 Evaluación de: - Presión arterial - Peso corporal Toma de muestra.	15 Calcular la cantidad de pellet consumida	16 Calcular la cantidad de pellet consumida
17 Calcular la cantidad de pellet consumida	18 Calcular la cantidad de pellet consumida	19 Calcular la cantidad de pellet consumida	20 Calcular la cantidad de pellet consumida	21 Evaluación de: - Presión arterial - Peso corporal Toma de muestra	22	23
24	25	26 <u>Se duerme al modelo murino.</u>				

Figura 13. Calendario de monitoreo y cuidados del modelo murino: Ratas Espontáneamente Hipertensas, por 30 d

- ANÁLISIS EXPERIMENTALES

- **Ensayo de inhibición de la renina.**

ANTECEDENTES

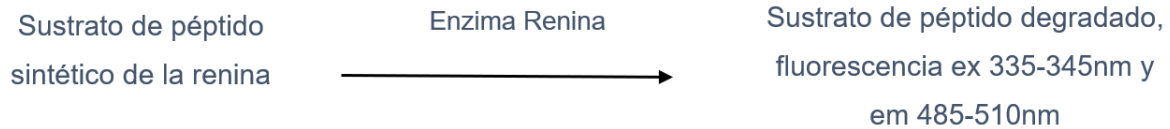
La renina es una aspartil proteasa, se libera en forma activa de las células yuxtaglomerulares renales en respuesta a factores fisiológicos, incluida la depleción de sodio, la disminución del volumen sanguíneo, de la presión arterial y la β -estimulación adrenérgica. La renina convierte el angiotensinógeno en angiotensina I. La Enzima convertidora de angiotensina (ECA), luego convierte esta prohormona en angiotensina II, esta, inhibe la secreción de renina actuando directamente sobre las células yuxtaglomerulares. La angiotensina II tiene una serie de efectos fisiológicos, el más importante como un potente vasoconstrictor, aumentando la presión arterial al alterar la resistencia vascular periférica. Dado que el angiotensinógeno es el único sustrato conocido para la renina y la escisión del angiotensinógeno por la renina es el paso determinante de la velocidad en la vía RAS, existe un consenso general de que la inhibición de la renina sería una estrategia atractiva para el control de la hipertensión. Además, los inhibidores de la renina evitarían la formación de angiotensina I y angiotensina II y, por lo tanto, pueden actuar de manera diferente a los bloqueadores del receptor de angiotensina y los inhibidores de la ECA, que aumentan los niveles de angiotensina I pero no bloquean la producción de angiotensina II independiente de la ECA (KIT de ensayo de detección de inhibidores de renina).

FUNDAMENTO

La inhibición *in vitro* de la actividad de la renina recombinante humana se realizó utilizando el KIT de ensayo de detección de inhibidores de renina. Cayman chemical. No catalogo: 10006270.

El ensayo utilizó un sustrato de péptido sintético. El péptido, que es el sustrato normal de la renina, se ha unido a un fluoróforo (EDANS) en un extremo y a un cromóforo no fluorescente (Dabcyl) en el otro. Después de la escisión por renina, el producto (péptido-EDANS) es muy fluorescente y se analizó en el lector de placas

de fluorescencia Synergy H1 Lector multi - modal, con longitudes de onda de excitación de 335-345 nm y de emisión de 485-510 nm.



Se cuidaron las temperaturas en la reacción, la temperatura fue de 37°C, se precalentó el buffer a 37°C (la actividad de la renina disminuye 80% si se realiza el ensayo a 22°C y no a 37°C).

ENSAYO

Para la realización del ensayo se identificaron 3 reacciones en los pozos de la placa.

-Pozos blancos: 20 µl del sustrato fluorogenico + 160 µl del buffer de ensayo + 10 µl de solvente.

-Pozos de 100% de actividad inicial: 20 µl de sustrato + 150 µl del buffer de ensayo + 10 µl de disolvente + 10ul de la enzima renina.

-Pozos inhibidores: 20 µl de sustrato + 150 µl de tampón de ensayo + 10 µl de inhibidor + 10 µl de renina.

Se agregó la enzima renina hasta el final.

Se agitó con cuidado la placa de 96 pocillos durante 10 segundos para mezclar, se cubrió con la tapa de la placa.

Se incubó durante 15 minutos a 37 ° C.

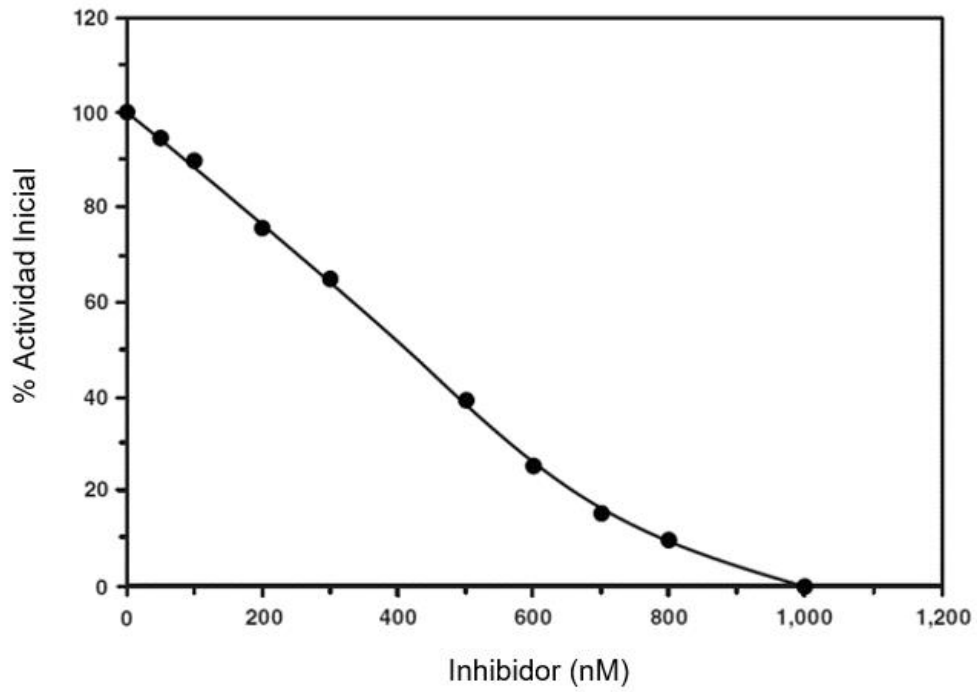
Se leyó la fluorescencia utilizando longitudes de onda de excitación de 335-345 nm y de emisión de 485-510 nm.

CÁLCULOS PARA EL ANÁLISIS.

Para calcular el porcentaje de inhibición de la enzima renina se realizó el siguiente calculo.

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Actividad inicial} - \text{Actividad del inhibidor}}{100\% \text{ Actividad inicial}} \times 100$$

Posteriormente se graficó el porcentaje de actividad inicial o bien el porcentaje de inhibición antes calculado, de la enzima con respecto a la concentración del inhibidor.



- **Procesamiento de la muestra. Obtención del Plasma.**

La extracción de muestra sanguínea se realizó los días 0, 7, 14 y 21 para el análisis de colesterol, triglicéridos y la inhibición de la ECA. Es importante considerar que en 1mL de sangre se recuperan de 200 a 300uL de plasma. Las muestras de plasma deben ser diluidas para ser utilizadas en los kits, para el análisis de colesterol y triglicéridos diluir la muestra de plasma a 1:200, mientras que para el kit de inhibidor de enzima convertidora de angiotensina considerar la dilución sugerida. Considerando el volumen aproximado de muestra ya diluida por cada kit se tomaron aproximadamente 50uL de sangre por cada rata, los días de análisis, se utilizaron 10ul de heparina con un volumen final de 10ul de plasma que al diluirse en 1:200, se obtiene un volumen final de 2ml para analizar en los kits.

EXTRACCIÓN DE LA MUESTRA.

Colocar la rata en un soporte plástico de retención y lavar la cola con agua tibia (20 - 30 °C) para eliminar la suciedad visible o las heces. Mientras un asistente sostiene la cola en una posición extendida, limpiar la cola con etanol al 70% y limpiar con una gasa para aclarar la vena. Insertar la punta de la aguja de 22 G de una jeringa en una posición aproximadamente 2 - 3 cm de la punta de la cola en ángulo de aproximadamente 20°. Después de la recolección de sangre, retirar la aguja y suavemente aplicar presión en el sitio de punción con una gasa por 15 - 30 segundos detener el flujo de sangre. Retomar la rata a su jaula de la rata.

CENTRIFUGACIÓN PARA OBTENER EL PLASMA.

Recolectar la sangre con anticoagulante (Heparina). Dejar que coagule durante 30 minutos a 26 °C. Centrifugar la sangre a 2000 xg durante 15 min a 4°C. Eliminar con pipeta la capa superior de plasma amarillo sin alterar la capa leucocitaria blanca.

ALMACENAMIENTO.

Almacenar a -80°C, las muestras son estables durante un mes, para el análisis de la enzima convertidora de angiotensina, colesterol y triglicéridos.

- **Ensayo de inhibición de la Enzima Convertidora de Angiotensina.**

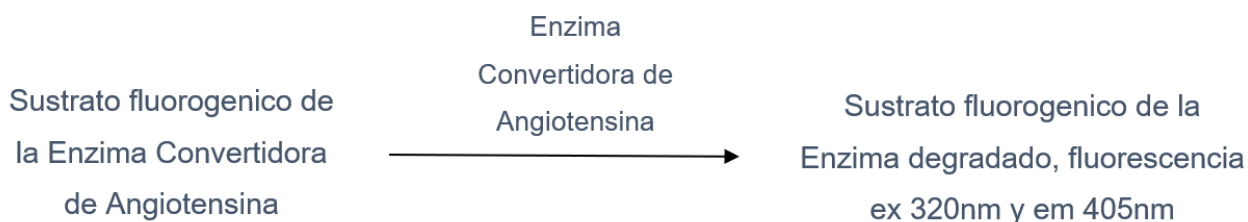
ANTECEDENTES

La enzima convertidora de angiotensina (ECA) es un componente clave en el sistema renina-angiotensina (RAS), que es bien conocido por su papel en la regulación de la presión arterial, el equilibrio electrolítico y vascular. remodelación. La ECA se localiza principalmente en los capilares de los pulmones, pero también se puede encontrar en las células epiteliales endoteliales y renales. Este sistema hormonal también regula el volumen de fluidos corporales. La renina produce angiotensina I al escindir varios aminoácidos del angiotensinógeno. A continuación, la ECA hidroliza la angiotensina I para producir angiotensina II activa. La angiotensina II también estimula la corteza suprarrenal para que secrete aldosterona, que también provoca un aumento de la presión arterial al estimular la reabsorción de sodio por el riñón. Dado que la ECA exhibe funciones críticas que regulan el RAS, la inhibición de la ECA se ha convertido en un enfoque prometedor para la focalización de fármacos en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares como hipertensión (KIT de ensayo fluorométrico de actividad).

FUNDAMENTO

Se determinó la capacidad del aceite de cannabis para inhibir la actividad de la ECA por el KIT de ensayo fluorométrico de actividad, Cayman chemical. No catalogo: CS0002.

El ensayo se basa en la escisión de un péptido fluorogénico sintético. La fluorescencia medida es directamente proporcional a la actividad ACE presente.



Los compuestos a utilizar estaban almacenados a -20°C y protegidos de la luz. Para comenzar con la metodología fue importante descongelar todos los componentes y equilibrar a temperatura ambiente antes de usar, posteriormente se centrifugaron

brevemente los viales antes de abrirlos y se prepararon las diluciones necesarias inmediatamente antes de realizar el ensayo.

Las muestras de plasma se diluyeron utilizando el buffer del ensayo. Se analizaron las muestras cuando estaban recién preparadas.

ENSAYO.

-Control: 50ul del control positivo de la ECA + 50ul del sustrato fluorogenico.

-Blanco: Únicamente 100ul del buffer de ensayo, listo para usarse.

-Estándar: 100ul de las concentraciones 0, .1, .2, .3, .4, .5, .6, .8 nmol.

-Muestra: 50ul de la muestra (plasma) + 50ul del sustrato fluorogenico.

La adición del sustrato fue rápida e inmediata.

Se estableció el lector de placas de fluorescencia en excitación a 320 nm y emisión a 405 nm, esto se realizó en el lector de placas de fluorescencia Synergy H1 Lector multi – modal.

Se llevó la placa de 96 pocillos y todos los reactivos a 37 ° C durante 5 minutos.

Se leyó inmediatamente la fluorescencia en modo cinético en 5 ciclos durante 5 minutos.

CÁLCULOS PARA EL ANÁLISIS.

Se construyó una curva estándar. Se graficó la fluorescencia de cada estándar con respecto a la cantidad del estándar (nmol) y se determinó la ecuación de regresión lineal.

Se construyó una muestra de curva cinética. Trazando la fluorescencia para cada muestra con respecto el tiempo y se determinó la ecuación de regresión lineal para cada muestra

Se Calculó la actividad enzimática, mediante la siguiente formula.

$$\text{Actividad enzimática (nmol/min)} = \frac{\text{Pendiente de muestra}}{\text{Pendiente estándar}} \times \text{DF (dilución)}$$

- **Determinación de colesterol total en sangre**

Se determinaron las concentraciones de colesterol, por medio del Kit ensayo fluorimétrico de colesterol. Cayman. 10007640-96. Este kit funcionó según lo especificado y se almacenará a -20 °C. El ensayo se basó en una reacción acoplada a enzima que detecta tanto el colesterol libre como los ésteres de colesterol. El volumen final del ensayo fue de 100 µl en todos los pocillos. Las muestras se diluyeron 1: 200-400 con tampón de ensayo.

Es importante la previa preparación de la muestra, donde se extrajo plasma a partir de muestra sanguínea del modelo murino, para su análisis. El plasma se diluyó a 1:200-400 con tampón de ensayo. Todos los reactivos menos las muestras, se llevaron a temperatura ambiente antes del ensayo. Se preparan previamente las concentraciones del estándar las cuales son 0, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20 µM.

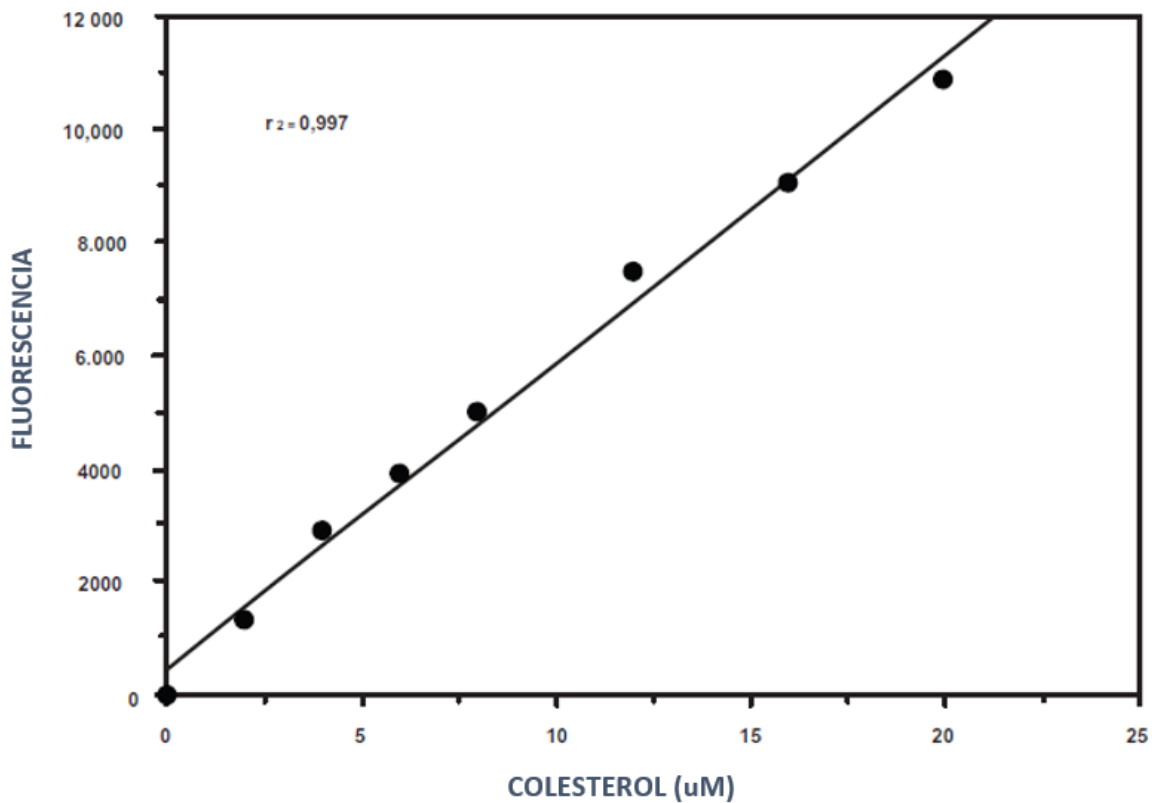
ENSAYO.

Se preparó el cóctel de ensayo mezclando los siguientes reactivos en un tubo de ensayo: tampón de ensayo (4,745 ml), detector de colesterol (150 µl), HRP (50 µl) y colesterol oxidasa (50 µl). Volumen suficiente para ejecutar 96 pocillos.
-Pozos estándar de colesterol: Añadir 50 µl de estándar de colesterol por pocillo
-Pozos de muestra: Agregar 50 µl de muestra.

Se cubrió la placa con la cubierta de placa proporcionada. Transcurridos 10 minutos, se retiró la tapa de la placa e inició las reacciones agregando 50 µl de cóctel de ensayo recién preparado a todos los pocillos utilizados. Se cubrió la placa e incubó durante 30 minutos a 37 ° C protegido de la luz. Se retiró la cubierta de la placa y se leyó la fluorescencia utilizando longitudes de onda de excitación entre 530-540 nm y longitudes de onda de emisión entre 585-595 nm. Esto se analizó en el lector de placas de fluorescencia Synergy H1 Lector multi – modal.

CÁLCULOS PARA EL ANÁLISIS.

Se calculó la fluorescencia promedio de cada estándar y muestra. Se restó la fluorescencia promedio del estándar A de sí mismo y de todos los demás estándares y muestras, esto es igual a la fluorescencia ajustada. Se trazó la fluorescencia ajustada de los estándares en función de la concentración final de colesterol.



Finalmente se calculó la concentración de colesterol de las muestras utilizando la ecuación obtenida de la regresión lineal de la curva estándar sustituyendo los valores de fluorescencia ajustados para cada muestra.

$$\text{COLESTEROL (mM)} = \frac{\text{Fluorescencia ajustada de muestra} - \text{Fluorescencia de intersección con eje Y}}{\text{Pendiente (Fluorescencia / mM)}} \times \text{Dilución en .001 mM/uM}$$

- **Determinación de triglicéridos en sangre.**

Se determinaron las concentraciones de triglicéridos por medio del Kit de ensayo colorimétrico de triglicéridos de Cayman, 10010303-96. El ensayo colorimétrico de triglicéridos utiliza la hidrólisis enzimática de los triglicéridos por la lipasa para producir glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol liberado se mide posteriormente mediante un sistema de reacción enzimática acoplado. El volumen final del ensayo es de 160µl. Todos los reactivos, a temperatura ambiente. La absorbancia debe ser medida a 530 - 550 nm. Es importante la previa preparación de la muestra, donde se extrajo plasma a partir de muestra sanguínea del modelo murino, para su análisis. Si no se analiza el mismo día, congelar a -80°C, la muestra es estable hasta dentro de un mes. Preparar previamente el estándar con las concentraciones de 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 0 mg/dl.

ENSAYO.

- Pozos estándar de triglicéridos: Añadir 10 µl de estándar a los pocillos.
- Pozos de muestra: Agregar 10 µl de muestra a dos o tres pocillos.

Se inició la reacción agregando 150 µl de solución de mezcla enzimática diluida a cada pocillo. Se cubrió con la tapa del plato y se agitó con cuidado el plato durante unos segundos para mezclar. Se incubó la placa por 15 minutos a temperatura ambiente. Se midió la absorbancia a 530-550 nm usando el lector de placas SkanIt™.

CÁLCULOS.

Se calculó la absorbancia promedio de cada estándar y muestra. Se restó el valor de absorbancia del estándar H (0 mg / dl) de sí mismo y de todos los demás valores (tanto estándares como muestras). Esta es la absorbancia corregida. Se graficaron los valores de absorbancia corregidos de cada estándar en función de la concentración final de triglicéridos (mg / dl). Se calcularon los valores de las muestras de triglicéridos utilizando la ecuación obtenida de la regresión lineal de la curva estándar sustituyendo los valores de absorbancia corregidos para cada

muestra en la ecuación.

$$\text{Triglicéridos (mg/dl)} = \frac{\text{Absorbancia corregida} - \text{Intercepción con eje Y}}{\text{Pendiente}}$$

- **Evaluación de la presión arterial**

Mediante el uso de pletismógrafo de cola. El cual consiste en un medidor de presión arterial no invasiva que posee software de monitoreo y almacenamiento de datos. Es importante considerar que para una adecuada lectura de los datos el animal deberá quedar inmovilizado o anestesiado. La medición se realizó en los cuatro grupos del modelo de estudio, aquellas alimentadas con aceite de *cannabis* a diferentes dosis, alimentadas sin aceite de *cannabis*, así como las que consumen el fármaco antihipertensivo. Se tomó medida de presión arterial los días 0, 4, 8 y 12 días, por lo estuvieron en constante monitoreo. Se tuvo especial cuidado al momento de evaluar este parámetro, fue lo primero que se midió en los respectivos días, cuidando que la medición fuera a la misma hora y bajo las mismas condiciones, pues como es conocido, la presión arterial, es una medición sensible, que tiende a ser alterada con facilidad.

- **Análisis de la expresión génica de receptores cannabinoides del modelo murino.**

Se analizó la expresión de receptores CB1 y CB2 en tejidos de corazón, hígado y riñón del modelo murino SHR. Después de que se mantuvo al modelo con los diferentes tratamientos antes descritos, se aislaron dichos tejidos y se preservaron con formaldehído hasta su análisis.

Extracción de RNA

De cada uno de los tejidos del modelo murino por medio del “kit SV Total RNA Isolation System del fabricante Promega®” se obtuvo el RNA.

Se realizó entonces lo siguiente, para el lisado del tejido, se cortó un trozo de tejido y se colocó sobre aluminio, en una balanza analítica se pesaron 0.030 g del tejido, se transfirió el tejido previamente pesado a un tubo de microcentrífuga estéril y se trituró el tejido, se añadieron 175 µL de tampón de lisis de ARN y se mezcló por inversión, se agregaron 350 µL de tampón de dilución de ARN a los 175 µL de lisado y se mezclaron invirtiendo de 3 a 4 veces, se colocó en baño maría a 70°C durante 3 minutos, se centrifugó durante 10 minutos a 12 000 – 14 000 g.

Para la purificación de ARN por centrifugación, se transfirió la solución de lisado limpia a un tubo de microcentrífuga nuevo mediante pipeteo, se agregaron 200 µL de etanol al 95 % al lisado aclarado y se mezclaron pipeteando 3 a 4 veces, se transfirió esta mezcla al montaje de columna giratoria, se centrifugó durante 1 minuto a 12 000 – 14 000 g, se tomó la cesta de centrifugado del ensamblaje de la columna de centrifugado y se colocó en un nuevo tubo de recolección, se agregaron 600 µL de solución de lavado de ARN al ensamblaje de la columna giratoria, se centrifugó durante 1 minuto a 12 000 – 14 000 g, se tomó la cesta de centrifugado del ensamblaje de la columna de centrifugado y se colocó en un nuevo tubo de recolección, para cada aislamiento se preparó la mezcla de incubación de DNasa combinando (40 µL de tampón de núcleo amarillo, 5 µL de MnCl₂ 0,09 M y 5 µL de enzima DNasa I), en un tubo estéril, se mezcló por pipeteo suave, se agregaron 50 µL de esta mezcla de incubación de DNasa recién preparada directamente a la membrana dentro de la cesta giratoria, se incubó durante 15 minutos a 20–25 °C,

se agregaron 200 µL de solución STOP DNasa a la cesta giratoria y se centrifugo a 12 000 –14 000 g por un minuto, se agregaron 600 µL de solución de lavado de ARN y se centrifugó durante 1 minuto a 12 000 – 14 000 g, se tomó la cesta de centrifugado del ensamblaje de la columna de centrifugado y se colocó en un nuevo tubo de recolección, se agregaron 250 µL de solución de lavado de ARN y se centrifugó durante 2 minutos a 12 000 – 14 000 g, se transfirió la canasta giratoria del tubo de recolección al tubo de elución y se agregó 100 µL de agua libre de nucleasas a la membrana, se colocaron los ensamblajes de la cesta giratoria en la centrifuga, se centrifugó a 12 000 - 14 000 g durante 1 minuto y se retira la cesta giratoria. Se cuantificó por triplicado la cantidad de RNA por medio del Nanodrop™ y se almaceno a -70 °C para su preservación.

Transcripción reversa

Posteriormente se pasó a la conversión de ARN a cDNA, por medio del kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad de Applied Biosystem®

Para este paso, son agregados 10uL de RNA + 10uL de mezcla (2uL de 10X RT Buffer + .8uL de 25X dNTP mix (100nM) + 2uL 10X RT Random Primers + 1uL MultiScribe™ Reverse Transcriptase + 1uL Inhibidor de RNasa + 3.2uL Agua libre de nucleasas).

En el termociclador se manejaron las siguientes condiciones del ciclo para la transcripción del ARNm: 10 minutos a 25°C, 120 minutos a 35°C, 5 minutos a 85°C y una temperatura de mantenimiento a 4°C. La cuantificación tanto de ARNm como del ADNc se realizó con el Nanodrop™ One utilizando como blanco agua libre de nucleasas. Las muestras de ADNc se congelaron para su preservación

RT-qPCR

Finalmente, se realizó una PCR en tiempo real para cada uno de los tejidos del modelo murino, con el fin de identificar la expresión tanto del receptor CB1 como del CB2. Se realizó en el termociclador en QuantStudio™ 3 de Applied Biosystems® con el software Design & Analysis Software 2.6.0. utilizando SYBR® Green JumpStart™ Taq ReadyMix™ without MgCl₂.

Se utilizaron 100 ng de ADNc como molde para la síntesis de la primera cadena. CB1 se amplificó utilizando los iniciadores: 59-CGT GGG CAG CCT GTT CCT CA-39 y 59-CAT GCG GGC TTG GTC TGG-39, que arrojan un producto de 403 pb. CB2 se amplificó utilizando: 59-CCG GAA AAG AGG ATG GCA ATG AAT-39 y 5-CTG CTG AGC GCC CTG GAG AAC-39, que dan un producto de 479 pb.

Los parámetros de ciclo empleados fueron los siguientes: Para la RT-qPCR, cada reacción tenía lo siguiente: 1 μ L de primer sense 10 μ M + 1 μ L de primer antisense 10 μ M + 10 μ L cDNA + 5 μ L de Sybr Green 1x + 3 μ L agua libre de RNAasas. Con un volumen total de 20 μ L. Se agregaron dos controles negativos, en uno se pusieron los 20 μ L de agua estéril y en el otro se metieron 15 μ L de agua estéril y 5 de SYBR® Green 3:1

En el termociclador, se ajustaron las siguientes condiciones para la RT-qPCR: desnaturalización a 94 °C durante 2 minutos, seguido de 35 ciclos (94 °C durante 30 segundos, 58 °C durante 30 segundos y 68 °C durante 1 minuto), seguido de 68 °C durante 2 minutos, siendo un tiempo total del procedimiento de amplificación de 1 hora con 40 minutos.

- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinación de la presión arterial se realizaron cuatro mediciones y los resultados se expresaron como la media \pm la desviación estándar. Se realizaron pruebas de Anova unidireccional con una prueba Post Hoc de Bonferroni, lo mismo que para analizar los datos de la expresión génica de los receptores cannabinoides en los tejidos. Mientras que, para la determinación de la actividad enzimática de la renina y la enzima convertidora de angiotensina, así como las concentraciones de colesterol y triglicéridos, se analizaron con una prueba no paramétrica ($n < 20$) de Kruskal Wallis con un Post Hoc de Dunn's. Para ambas pruebas se consideró una significancia de $p < 0.05$ y se utilizó el programa GraphPad Prism 8.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados muestran el análisis de los parámetros cardiovasculares antes mencionados, cifras de presión arterial y de inhibición de la enzima ECA y Renina, así como valores de colesterol y triglicéridos en plasma del modelo murino, antes, durante y después de someter al mismo a un consumo durante 4 semanas con aceite de *cannabis*.

CAMBIOS EN EL PESO CORPORAL DEL MODELO MURINO: SHR.

Se muestran las cifras de los cambios en el peso corporal del modelo murino y se compara en la gráfica de percentiles de los pesos de ratas conforme van creciendo en semanas.

El modelo murino de ratas espontáneamente hipertensas presento a la llegada al Bioterio de Biociencias un peso promedio de entre 209 – 211 gramos, presentando un incremento constante por semana y alcanzando un peso final entre los 229 – 233 gramos, siendo el peso menor para el grupo tratado con enalapril (229 gramos) y el mayor para el grupo de aceite con 18 mg/kg (233 gramos), tabla 4.

En la figura 14, se muestran los percentiles del peso corporal de ratas wistar (tomando como referencia este modelo) en gramos por semana, se observa en la figura que el modelo murino mantuvo un incremento de peso corporal proporcional y creciente, sin embargo, se mantenía siempre entre el percentil 3 y 10, cuando lo idea era que se mantuviera entre el percentil 25 y 75. En la gráfica 1, se muestra de manera más visual como fue el incremento del peso corporal en gramos por semana, aunque en la semana 3 pareciera una variabilidad en el peso, en la semana 4 se mantienen casi en el mismo gramaje.

Si bien evidencia previa ha demostrado que compuestos cannabinoides presentes en la planta de cannabis y en este caso en el aceite puede producir un efecto directo en el apetito ya sea incrementando el mismo como es el THC o bien induciendo saciedad como se ha mencionado con el THCV (Abioye, A., et al. 2020; Society for the Study of Ingestive Behavior, 2018), en este caso no sucedió esto o no es posible medir de cierta manera si sucedió o no, porque la alimentación fue controlada y diariamente se les administro la cantidad de pellets que debían consumir, de esta

manera se asegura el consumo equitativo de pellets, con ello de extracto de cannabis y finalmente dicho suceso se puede comprobar al no existir cambios drásticos en el peso corporal.

Tabla 4. Cambios en el peso corporal de Ratas Espontáneamente Hipertensas, por semana, a lo largo del tratamiento (3 semanas).

GRUPO	EVALUACIÓN 1 (INICIAL)	EVALUACIÓN 2	EVALUACIÓN 3	EVALUACIÓN 4 (FINAL)
SHR	211 +/- 7	222 +/- 9	230 +/- 3	230 +/- 1
ENALAPRIL	211 +/- 8	218 +/- 12	235 +/- 10	229 +/- 12
ACEITE (36 mg/kg)	209 +/- 7	221 +/- 12	228 +/- 11	232 +/- 8
ACEITE (18 mg/kg)	211 +/- 6	221 +/- 15	233 +/- 5	233 +/- 10

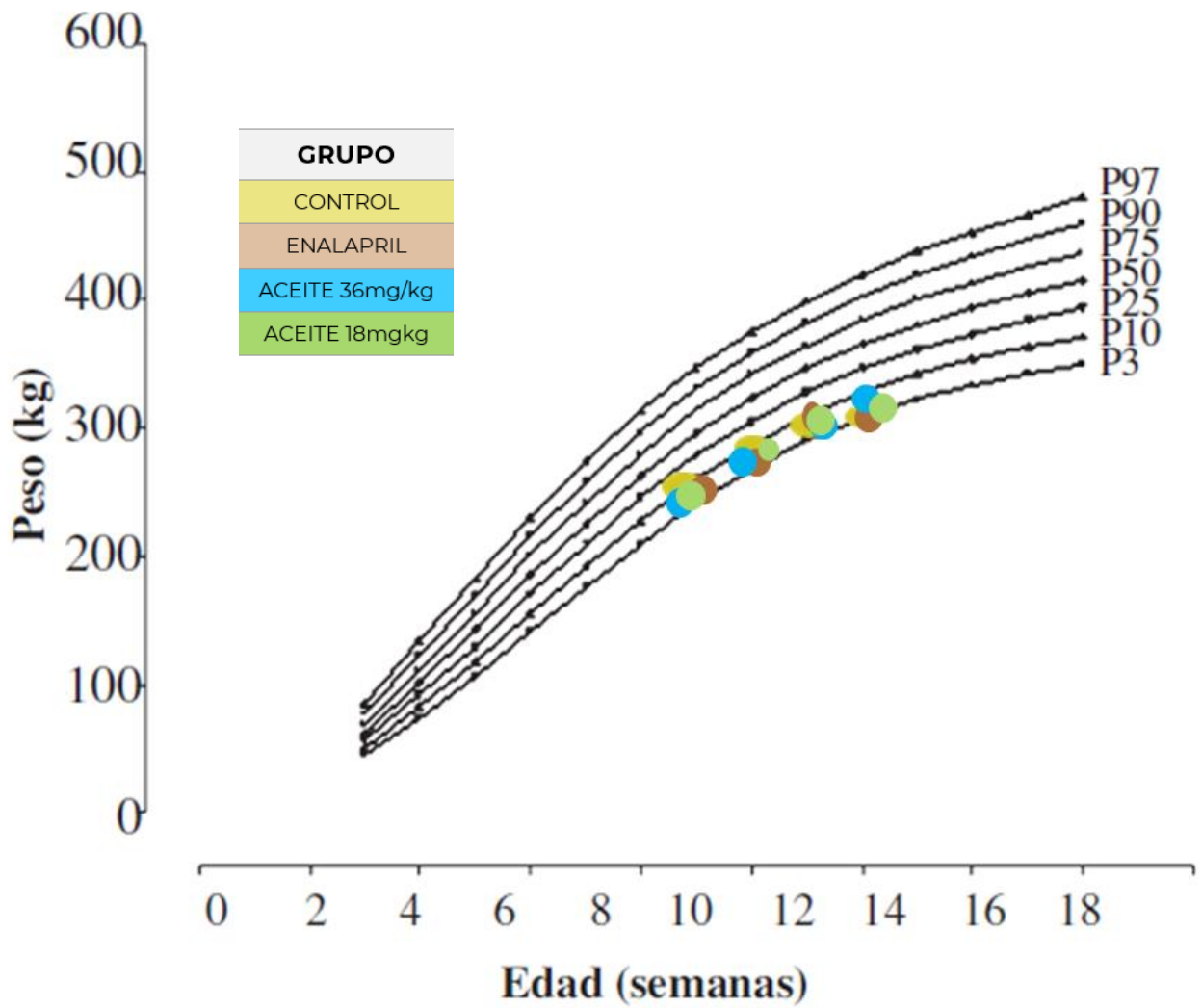
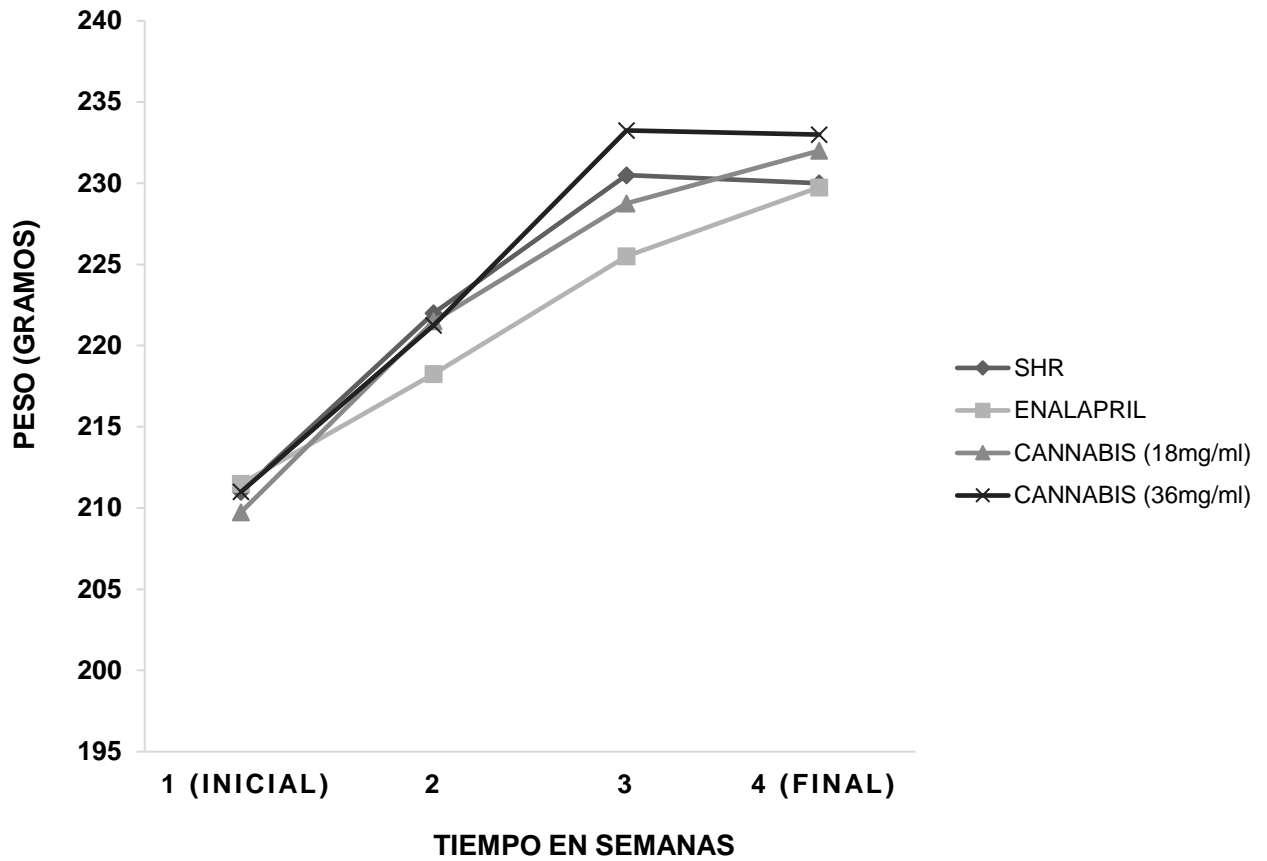


Figura 14. Cambios en el peso corporal en gramos del modelo murino por semana y su comparación con percentiles de referencia.

CAMBIOS EN EL PESO CORPORAL



Gráfica 1. Cambios en el peso corporal del modelo murino en gramos, con respecto al tiempo en semanas, con cada uno de los tratamientos utilizados.

CAMBIOS EN LA PRESIÓN ARTERIAL DEL MODELO MURINO: SHR.

Se muestran las cifras y de manera visual los cambios por semana de la presión arterial sistólica del modelo murino, así el análisis como estadístico que compara la presión arterial inicial con respecto a la final con cada uno de los tratamientos.

Como resultado del consumo de tres tratamientos diferentes (enalapril, *cannabis* a 18 mg/dL y 36 mg/dL) administrados por grupo del modelo murino, se obtuvieron los siguientes resultados con respecto a las cifras de tensión arterial sistólica.

En la gráfica 4, se observa como el grupo control SHR, no manifiesta una reducción estadísticamente significativa en la tensión arterial durante los 12 días de monitoreo, mientras que, en los tres grupos a los que se les administró un tratamiento, si hay reducciones estadísticamente significativas en la tensión arterial sistólica. Al pasar los 12 días de intervención, se observa una reducción de 24 mmHg atribuidos al fármaco enalapril, 31 mmHg al aceite de *cannabis* 18 mg/dL y 40 mmHg al mismo aceite con dosis de 36 mg/dL.

Con los resultados antes mencionados, esta claro que existe un efecto hipotensor atribuido tanto al fármaco clínicamente ya utilizado enalapril y al aceite de *cannabis* en las dos diferentes concentraciones probadas.

Con respecto a los resultados del fármaco enalapril, se sabe que es un fármaco altamente estudiado y utilizado en la terapia clínica como tratamiento de hipertensión arterial, dado que interviene en el sistema renina angiotensina aldosterona, después de ser hidrolizado a enalaprilato, tras su ingesta oral y metabolismo del mismo, inhibe la enzima convertidora de angiotensina "ECA", el enalaprilato entonces en su forma ya activa, es el verdadero inhibidor de la ECA. Las concentraciones máximas de enalaprilato se alcanzan unas 4 horas después de una dosis oral de enalapril (Kushiro T, et al., 2016). Dicho fármaco al ser un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina, impide la conversión de angiotensina I en angiotensina II, de manera secundaria, disminuye los niveles de aldosterona, de esta manera se evitan los efectos fisiológicos que traen consigo una vasoconstricción (Sainz A & Heeroma J, 2020).

Esta evidenciado el uso de inhibidores de la ECA como un control antihipertensivo positivo, en estudios que evalúan el efeto hipotensor de diferentes compuestos, esto en modelos murinos, tal es el caso del captopril o bien el enalapril utilizado en este estudio (Silva G, et al., 2021; Zarate D, et al., 2020; Rojas J et al., 2016; Malomo S et al., 2015; Meza D et al., 2014; Potenza M, et al., 2007).

Por otro lado, para discutir los resultados de la reducción en la tensión arterial sistólica atribuida al aceite de *cannabis*, es importante que este efecto no podría ser asociado a las variables que nosotros planteamos en este estudio, es decir la inhibición de enzimas involucradas en el sistema renina angiotensina aldosterona, la renina y la ECA. Esto es porque por ejemplo para el caso de renina, si se pudo observar una reducción de la enzima renina para las cuatro concentraciones del aceite probadas, sin embargo, fue significativa, únicamente la concentración más baja, por lo que no es posible inducir un efecto similar al farmacéutico ya probado como el aliskiren (para el caso de inhibidor de renina) dado que no se observó un efecto dosis-respuesta con las concentraciones del aceite de *cannabis*, con respecto al porcentaje de inhibición (Kushiro T, et al., 2006). Es decir, el efecto inhibidor no se potencio al incrementar la dosis del aceite como era de esperarse, la dosis respuesta es fundamental para estudiar la actividad farmacológica de un compuesto, con el fin de identificar la medida del efecto o la actividad de una sustancia en investigación a ciertas dosis determinadas. Mientras que, para el caso de la inhibición de la ECA, se observó una tendencia a disminuir dicha actividad enzimática, pero los resultados no fueron estadísticamente significativos para ninguno de los tratamientos. Aunque la evidencia resalta la importancia del estudio de compuestos y extractos de *cannabis* a nivel de sistema renina angiotensina aldosterona, nosotros no encontramos una asociación directa a este nivel. Sin embargo, otros estudios han reportado un potencial efecto antihipertensivo, a nivel del sistema renina angiotensina aldosterona por inhibición de las enzimas renina y la ECA, de otros compuestos derivados de *cannabis*, pero no asociado directamente a los cannabinoides presentes en el aceite, ni tampoco a las interacciones entre estos con sus terpenos por un posible efecto séquito.

Es entonces que según lo reportado en la literatura y con respecto a lo que se encontró, sobre la expresión de receptores cannabinoides en corazón, hígado y riñón (AENEXOS), se discute lo siguiente.

En estas gráficas de ANEXOS, en la sección del CORAZÓN se muestra que con la dosis más grande del aceite de *cannabis* (36 mg/dL) y con el fármaco enalapril (20 mg/kg) se incrementó la expresión del receptor CB1 en dicho órgano y con ello, el efecto que se producirá a este nivel sobre la presión arterial. En el sistema cardiovascular, CB1 se expresa en regiones específicas dentro de los miocitos cardíacos, células endoteliales arteriales y capilares, donde parece estar involucrado en la fisiología cardiovascular (Puhl SL, et al., 2020; Howlett A., et al, 2017; epicier P, et al., 2007). El efecto terapéutico de cannabinoides sobre el receptor CB1, para desencadenar un descenso en la presión arterial, está dado por su acción en ciertas células, tejidos y órganos. En los cardiomiocitos, por ejemplo, produce una disminución de la contractibilidad cardíaca, la contracción del corazón estaría regulando directamente el gasto cardíaco y este a su vez en conjunto con la resistencia vascular, se relacionan directamente con la presión arterial, es decir una disminución de la contractibilidad cardíaca, disminuye el gasto cardíaco, con esto se reduce también la tensión arterial. Si bien, está clara la presencia de CB1 en cardiomiocitos, la evidencia ha reportado que el efecto en la contractibilidad cardíaca, se da también sobre el sistema nervioso, por la presencia de receptores CB1 en terminaciones nerviosas que inervan los vasos sanguíneos y el corazón, el CB1 suprime la liberación de neurotransmisores de terminaciones nerviosas simpáticas presinápticas, por lo que esto produce una disminución en la respuesta del sistema nervioso simpático, y a su vez, disminuir efectos como, frecuencia cardíaca y contracción del corazón (Kis B, et al., 2019; Pacher P et al., 2018; Wing S.V & Kelly M 2017).

Aunque no se analizó la expresión de CB1 en esto tejidos, la evidencia respalda que a nivel del endotelio vascular tiene como consecuencia una relajación del endotelio en vasos sanguíneos, en las células endoteliales, la activación de CB1 estimula canales de potasio, inhiben los canales de Ca, estimulando de esta manera

la liberación de óxido nítrico dependiente de calcio y liberación de sustancias vasoactivas, produciendo un efecto vasodilatador (Jones, 2002; Kis B, et al., 2019; Hinojosa, M. 2017; O'Sullivan, 2015; Gertsch J., et al. 2008).

Mientras que en el musculo liso vascular, tiene una influencia en la tensión arterial, al interferir en la proliferación y regulación del musculo liso vascular, esto es porque receptores de CB1, como se mencionó previamente actúan directamente sobre los canales de calcio tipo L de la musculatura vascular, para disminuir la entrada de calcio, lo que dará lugar a una vasodilatación, si se ven inhibidos los canales de calcio en el músculo, este permanece en estado de relajación (Cerino P., et al. 2021; Kis B, et al., 2019; Howlett A., et al, 2017).

Otro de los mecanismos de la activación del receptor CB1 en tejido vascular con consecuente efecto hipotensor, es que la activación de CB1 reduce los efectos vasoconstrictores e hipertensivos inducidos por la angiotensina II, aunado a esto, demás, también podrían actuar a nivel de la expresión de ECA-2 (modulando su actividad de manera ascendente o descendente), que tiene efectos contrarios a los de la ECA y en consecuencia tendría como resultado un efecto vasodilatador (Ramírez A, et al., 2020; Sainz A, et al., 2020; Choi M, et al., 2020).

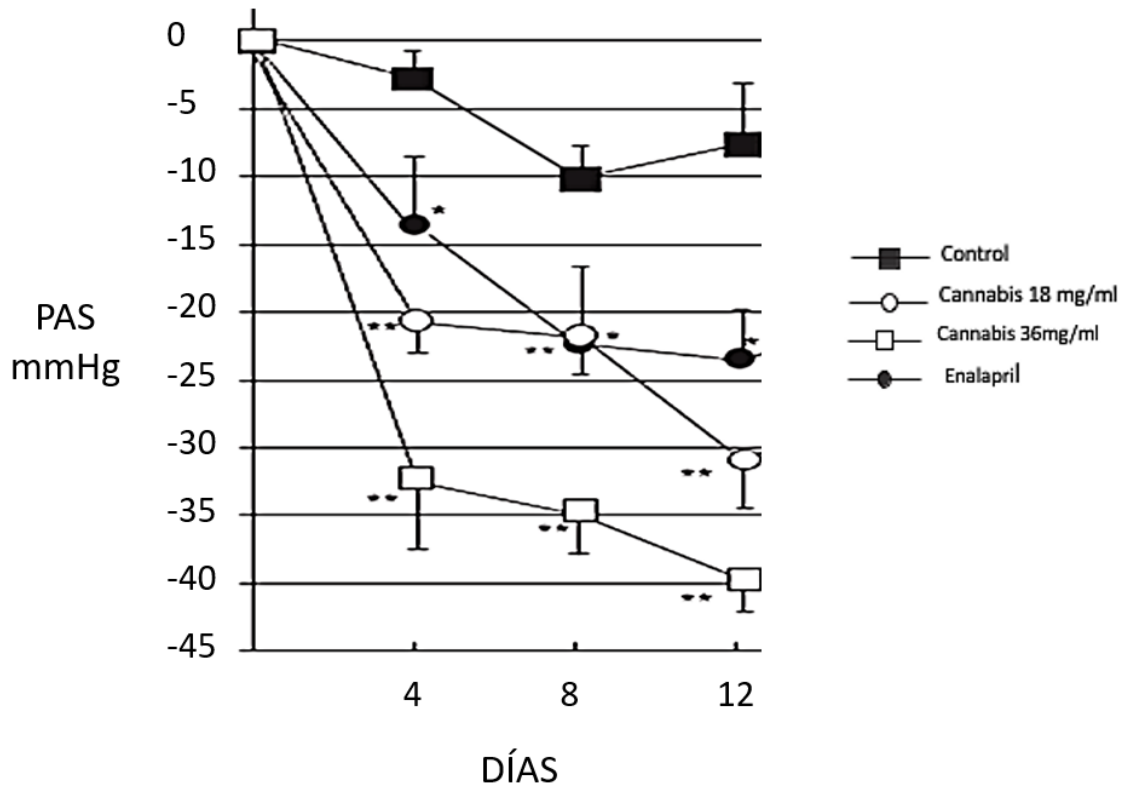
El sistema cannabinoide entonces, regula la tensión arterial principalmente por la unión de los cannabinoides al receptor CB1 (Lena S. 2020, Malinowska1 B et al., 2019, O'Sullivan, 2014). Al actuar sobre este receptor, se ha identificado que los cannabinoides, pueden actuar de diferentes maneras, disminuyendo la frecuencia y contractibilidad cardiaca, disminuyendo también la constricción coronaria, así como incrementando la vasodilatación. (Robert L. Page II, 2020, O'Sullivan, 2015, Malinowska et al., 2012, Cunha P et al., 2011). Incluso se ha visto que, en personas hipertensas, la cantidad y sensibilidad de receptores CB1 aumentan notablemente en células y tejidos del sistema cardiovascular.

Nuevos estudios experimentales y clínicos son necesarios para aclarar el papel de los cannabinoides en la fisiopatología de enfermedades cardiovasculares, debido a que la investigación con respecto al uso de *cannabis* como tratamiento en dichas patologías no es aún suficiente. Esto es fundamental para la búsqueda de nuevas

estrategias terapéuticas, para conocer los efectos de *cannabis* en alteraciones cardiovasculares así como garantizar que su consumo se seguro y eficaz, enfatizar en el desarrollo de nuevas investigaciones que también se enfoquen a garantizar su uso como ingredientes activos de alimentos funciones que no generen ningún efecto nocivo a la salud, que sean de gran beneficio a la sociedad y con ello se mantenga la creciente legalización de su consumo con fines medicinales.

Tabla 5. Cambios en la presión arterial sistólica de Ratas Espontáneamente Hipertensas, por semana, a lo largo del tratamiento (12 días).

GRUPO	EVALUACIÓN 1 (INICIAL)	EVALUACIÓN 2	EVALUACIÓN 3	EVALUACIÓN 4 (FINAL)
SHR	143 +/- 7	140 +/- 6	133 +/- 6	136 +/- 4
ENALAPRIL	152 +/- 14	138 +/- 6	130 +/- 15	129 +/- 15
CANNABIS (18 mg/ml)	150 +/- 8	130 +/- 5	129 +/- 3	120 +/- 6
CANNABIS (36 mg/ml)	153 +/- 11	120 +/- 2	118 +/- 13	113 +/- 7



Gráfica 2. Reducción en la presión arterial sistólica del modelo murino en mmHg, con respecto al tiempo en días, con respecto a diferentes tratamientos (Control, Enalapril, *Cannabis* con dosis de 18 mg/kg y de 36 mg/kg). Los datos representan la media +/- la desviación estándar y aquellos que se muestran con un asterisco son significativamente diferentes ($p < 0.05$). Estos datos fueron tomados con el pletismógrafo de cola.

INHIBICIÓN DE LA ENZIMA RENINA

Efecto del aceite de cáñamo sobre la actividad enzimática de la enzima renina.

En la gráfica 3, se observa una gráfica de cajas y bigotes que representa el porcentaje de actividad enzimática de la enzima renina con respecto a las concentraciones añadidas del aceite de *cannabis*, donde 0 mg/ml de aceite representa la ausencia del mismo y sería el control que nos indicaría el 100% de la actividad enzimática, mientras que las concentraciones probadas del aceite que impactan en la función de la enzima representan las concentraciones de .45 mg/ml, .3 mg/ml, .2 mg/ml y .05 mg/ml. Dichas concentraciones fueron probadas para inhibir la enzima renina, dado que ya habían sido utilizadas anteriormente las mismas concentraciones para inhibir el crecimiento de células cancerígenas teniendo un efecto significativo con las mismas.

Se observó que, de cada una de las concentraciones probadas del aceite de *cannabis*, logró tener un efecto significativo en la reducción de la actividad enzimática de la renina, la dosis de .05 mg/ml ($P < 0.05$). El porcentaje de actividad de la renina sin aceite es del 100%, sin embargo, al adicionar el aceite en diferentes dosis, se observa una disminución de la actividad que va desde un 18 hasta el 28% de inhibición. Sin embargo, no se observaron cambios estadísticamente significativos ($P > 0.05$) con respecto a las diferentes concentraciones probadas del aceite de *cannabis*, aunque en efecto se tuvo un cambio sobre la actividad de la enzima renina, quizá porque la N resulta ser pequeña, es que no son significativos los cambios. Se mantiene la actividad enzimática de la renina tras añadir el extracto en porcentajes de entre el 72 y 82%. El mayor porcentaje de actividad se observa en ausencia de la adición del aceite de *cannabis* (100%), mientras que la mínima actividad se observa con la concentración probada de .05 mg/ml (72%).

Estos resultados nos indican que en efecto extractos de *cannabis*, como es el aceite derivado de la planta, posiblemente asociado al efecto sequito del aceite o tal vez a los cannabinoides que interactúan con sus receptores el sistema cannabinoide pudieran actuar inhibiendo a la enzima renina, sin embargo, todavía no hay estudios con resultados similares, que justifiquen o expliquen esta situación. El aceite de

cannabis tiene la capacidad de actuar sobre enzimas implicadas en la regulación de la presión arterial, por el sistema renina angiotensina aldosterona, específicamente en este caso sobre la enzima renina, para inhibir su actividad y con ello disminuir las cifras de presión arterial. La inhibición de la renina se plantea como la posibilidad más eficaz para bloquear el sistema renina angiotensina aldosterona, ya que al actuar sobre el paso limitante de la síntesis disminuye la formación de angiotensina I y II. El angiotensinógeno es el único sustrato conocido para la renina y la escisión del angiotensinógeno por la renina es el paso determinante de la velocidad en la vía del sistema renina angiotensina aldosterona, existe un consenso general de que la inhibición de la renina sería una estrategia atractiva para el control de la hipertensión (KIT de ensayo de detección de inhibidores de renina). Se sugieren que la presencia de compuestos cannabinoides, flavonoides, terpenos y otros nutrientes interactúan fuertemente con la enzima renina, provocando una disminución en su actividad enzimática.

Como ya se ha ido mencionando compuestos cannabinoides presentes en la planta de *cannabis*, han demostrado tener un efecto hipotensor al actuar específicamente sobre ciertos receptores, sin embargo, además de estos, hay otros compuestos presentes en el aceite de *cannabis* a los que se les podría atribuir estos efectos hipotensores, se cree que estos están mediados por la acción sobre el sistema renina angiotensina aldosterona (Sainz A.& Heeroma H., 2020).

Inhibidores de la enzima renina bloquean el primer paso del sistema renina-angiotensina aldosterona, el fármaco Aliskiren, por ejemplo, es un inhibidor competitivo de la renina que se une al sitio activo de la enzima.

Se pudo observar una reducción de la enzima renina para las cuatro concentraciones del aceite probadas, siendo significativa, únicamente la concentración más baja. Algo importante de rescatar que es que no es posible inducir un efecto similar al farmacéutico ya probado como el aliskiren, dado que no se observó un efecto dosis-respuesta con las concentraciones del aceite de *cannabis*, con respecto al porcentaje de inhibición (Kushiro T, et al., 2006).

Es decir, el efecto inhibitor no se potencio al incrementar la dosis del aceite como era de esperarse, la dosis respuesta es fundamental para estudiar la actividad farmacológica de un compuesto, con el fin de identificar la medida del efecto o la actividad de una sustancia en investigación a ciertas dosis determinadas

Otro dato importante de reportar es que estudios previos han identificado que ensayos de la actividad de la renina, como es el que se utilizó esta ocasión, en nuestro estudio, para identificar inhibición de la enzima, pueden sobrestimar la inhibición de la renina porque el desplazamiento del inhibidor de las proteínas plasmáticas durante el ensayo y provocar una mayor inhibición de la actividad de la enzima renina in vitro que la presente in vivo (Campbell D, et al 2009), por lo que dicho suceso aunado la diferencia no significativa presentada, se podría concluir que no se manifiesta un efecto inhibitor como tal por parte del aceite de *cannabis* sobre la inhibición de renina.

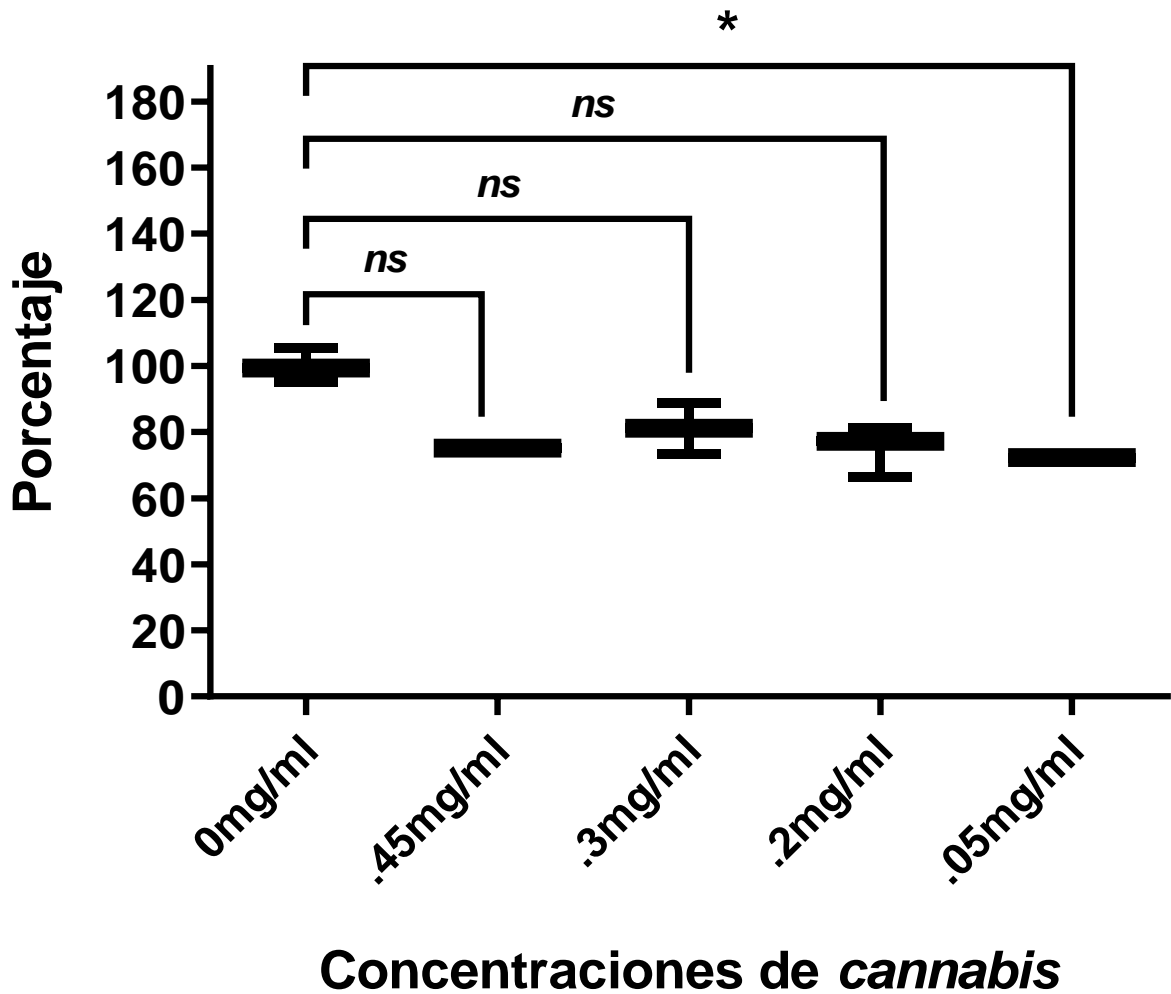
Sin embargo, en comparación con otros estudios, se cree que, si pudiera existir una inhibición de la enzima renina y posiblemente de ECA, y que esta estaría asociada a otros compuestos no cannabinoides presentes en el aceite, como es el caso por ejemplo de los antioxidantes, polifenoles y flavonoides.

Ismail W y colaboradores en el 2020 estudiaron la actividad antihipertensiva de la planta *Cuphea ignea*, en hojas, tallos y flores utilizando ensayos in vitro de enzima convertidora de angiotensina e inhibición de renina. La actividad de inhibición de la renina mostró que el extracto con hojas presentó el un porcentaje de inhibición de 94,82%, mientras que con los tallos un 98,14 %. La actividad de inhibición de la renina mostró una correlación positiva significativa con los contenidos de fenoles y flavonoides con valores de r (0,777 y 0,629, respectivamente), esto medido mediante el coeficiente de correlación de Pearson (Ismail WM, et al., 2020). Entonces se cree que componentes fenólicos podrían ser responsables de efectos inhibidores de enzimas como la renina. En otro estudio, se investigaron ácidos grasos de cadena larga como los posibles presentes también en el aceite de *cannabis*, en la actividad enzimática del sistema renina angiotensina aldosterona, los ésteres linoleico y α -linolénico fueron los más potentes inhibidores de la enzima

renina in vitro, IC50 69,9–70,8 μM , (Khushwant B et al., 2013). Otros compuestos fenólicos como el ácido cafeico también han demostrado inhibidor a la enzima renina (IC50=5704 μM) (Khushwant S et al., 2014). Otros estudios analizan el efecto de compuestos polifenoles en diferentes plantas medicinales en actividades de inhibición in vitro del sistema renina angiotensina aldosterona, pero solo reportan dato de la enzima convertidora de angiotensina y no de renina (Santos M, et al., 2021).

Malomo S y colaboradores en el 2015, identificaron inhibición de la enzima renina in vivo, en ratas espontáneamente hipertensas con diferentes proteínas presentes en las semillas de la planta de *cannabis*, lo que posterior mente se correlaciono positivamente con una reducción significativa de la presión arterial (Malomo S, et al 2015), suceso muy similar a lo reportado con anterioridad por Girgih A y colaboradores en el 2014. Nuestro estudio entonces no pudo evidenciar si en efecto esa inhibición de la enzima renina se debía a un potencial efecto de otros compuestos presentes en el aceite o al propio efecto séquito de interacción, sin embargo, futuras investigaciones podrían centrarse en dicha línea de investigación.

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA



Gráfica 3. Porcentajes de actividad de la enzima renina tras la adición de diferentes concentraciones del aceite de *cannabis* 0 mg/ml (control), .45 mg/ml, .3 mg/ml, .2 mg/ml y .05 mg/ml. Los datos se representan con los rangos intercuartílicos. Mostrándose con un asterisco los datos diferentes estadísticamente significativos ($p < 0.05$).

Efecto del fármaco enalapril sobre la actividad enzimática de la enzima renina.

En la gráfica 4, se observa una gráfica de cajas y bigotes que representa el porcentaje de actividad enzimática de la enzima renina con respecto a las concentraciones añadidas del fármaco enalapril utilizado en el estudio como control, donde 0 mg/ml del fármaco representa la ausencia del mismo, que nos indicaría el 100% de la actividad enzimática, mientras que las concentraciones probadas del fármaco que impactarían en la función de la enzima, representan las concentraciones de .45 mg/ml, .3 mg/ml, .2 mg/ml y .05 mg/ml.

Se pudo analizar que cada una de las concentraciones probadas del fármaco enalapril, no lograron tener un efecto en la reducción de la actividad enzimática de la renina, contrario a esto se observó un incremento significativo en dicha actividad ($P < 0.05$), esto sucedió únicamente con las concentraciones de .05 mg/ml. El porcentaje de actividad de la renina sin el fármaco enalapril es del 100%, sin embargo, al adicionar el fármaco en diferentes dosis, se observa un incremento en la actividad de entre un 3 y 10%. El mayor porcentaje de actividad se observa con la dosis de .2 mg/ml y .05 mg/ml (109%), mientras que la mínima actividad se observa con la ausencia del fármaco enalapril (100%).

En relación a lo anterior se podría concluir que el fármaco antihipertensivo utilizado (enalapril) incremento la actividad enzimática de la enzima renina, lo que posiblemente era de esperarse, debido a que este fármaco es un inhibidor de la enzima ECA, no de renina.

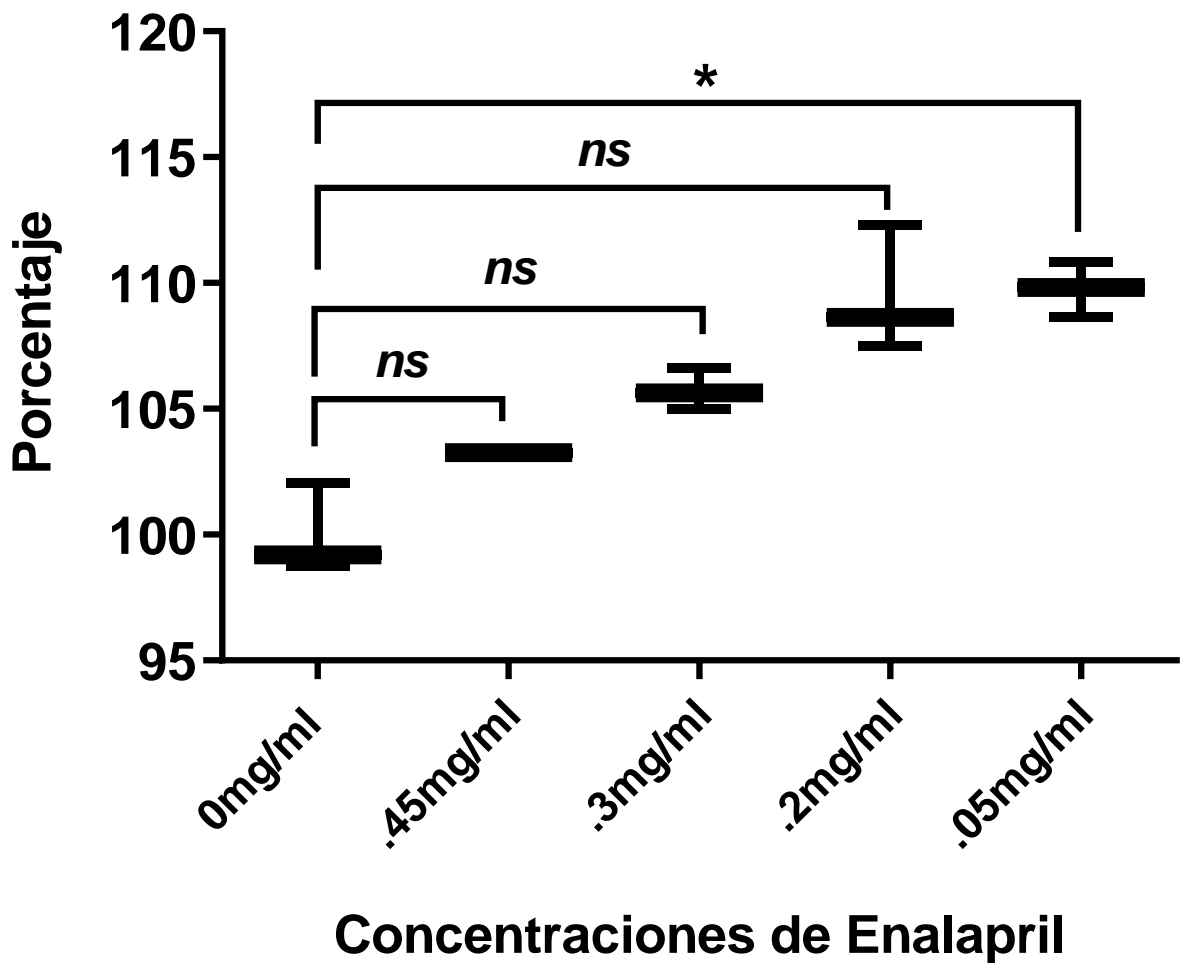
Se ha reportado que inhibidores de la ECA disminuyen los niveles plasmáticos de angiotensina II produciendo una disminución de la respuesta vasopresora y de la secreción de aldosterona. La supresión de la angiotensina II produce, por un efecto de retroalimentación negativa, un aumento de los niveles de renina, por lo que podríamos concluir que el enalapril de cierta manera incremento las concentraciones o bien potencio el efecto de la renina. Sin embargo, esto no es posible dado que dicho fármaco necesita ser metabolizado a enalaprilato, para que este metabolito actúe, es decir este compuesto es en sí, el que produce una reacción sobre la ECA y posteriormente sobre la renina. Es entonces que el

enalapril, después de ser hidrolizado a enalaprilato, tras su ingesta oral y metabolismo del mismo, inhibe la enzima ECA, el enalaprilato, es el verdadero inhibidor de la ECA. Las concentraciones máximas de enalaprilato se alcanzan unas 4 horas después de una dosis oral de enalapril (Kushiro T, et al., 2016).

Con respecto a los resultados anteriores, es claro que no existió un efecto sobre la actividad enzima de renina, tras adicionar el fármaco enalapril y esto fue principalmente porque este no es un inhibidor de la renina si no, un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina, lo cual impide la conversión de angiotensina I en angiotensina II, de manera secundaria, disminuye los niveles de aldosterona y bloquea la degradación de bradicinina un potente vasodilatador. Si bien es un fármaco antihipertensivo que actúa sobre el sistema renina angiotensina aldosterona, que además fue administrado al modelo murino, como un control positivo, su mecanismo de acción no actúa sobre la renina (Micromedex 2012).

En este estudio, consideramos que hubiera sido mejor, la utilización de un fármaco que actuara directamente sobre la renina, para tener de cierta manera un control positivo. Por lo que se consideraría adecuado para futuras investigaciones utilizar como control, el fármaco aliskiren el cual es un inhibidor directo y selectivo de la renina, de naturaleza no peptídica y activo por vía oral, no necesita ser metabolizado para actuar (como en el caso del enalapril) logrando una inhibición en un 50 y 80%. Dicho fármaco al inhibir la enzima renina, aliskiren inhibe el sistema renina angiotensina aldosterona en el punto de activación, bloqueando la conversión de angiotensinógeno a angiotensina I, y disminuyendo, por consiguiente, los niveles de angiotensina I y angiotensina II (Kushiro T, et al., 2016).

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA



Gráfica 4. Porcentajes de actividad de la enzima renina tras la adición de diferentes concentraciones de enalapril 0 mg/ml (control), .45 mg/ml, .3 mg/ml, .2 mg/ml y .05 mg/ml. Los datos se representan con los rangos intercuartílicos. Mostrándose con un asterisco los datos diferentes estadísticamente significativos ($p < 0.05$).

INHIBICIÓN DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA

La gráfica 5 de cajas y bigotes, representa el porcentaje de actividad enzimática de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) después de una cinética enzimática representando dicha actividad como nmol/min, para cada uno de los grupos del modelo murino analizados en este estudio, es decir control o SHR, enalapril, *cannabis* 18 mg/dL y 36 mg/dL, según lo que se le administro a cada grupo del biomodelo.

Se pudo analizar que, en cada uno de los grupos, no se logró tener un efecto significativo en la reducción de la actividad enzimática de la ECA ($P > 0.05$),

La mayor actividad de la enzima convertidora de angiotensina se observó en el grupo control, es decir en el biomodelo SHR al cual no se le administró ningún tratamiento con una actividad de $000.94 \pm .00033$ nmol/min, en la gráfica 5 si se observa una tendencia de disminución en la actividad de ECA para los tres tratamientos antihipertensivos, siendo de $.0005386 \pm .000358$ nmol/min para enalapril, $.00088 \pm .00030$ nmol/min para *cannabis* 18 mg/dL y de $.00054 \pm .00051$ nmon/min para *cannabis* 36 mg/dL, a pesar de esa disminución los datos no son significativos. Esto podría estar asociado a la gran desviación estándar entre los grupos analizados, o bien quizá a la N de cada grupo, que resulto ser relativamente pequeña, dada la poca cantidad de muestra que se tenía y la necesidad de realizar un pool de estas para poder realizar dicha determinación. Se ha reportado que en ocasiones las diferencias clínica o biológicamente relevantes no se detectan como estadísticamente significativas, eso se asocia como consecuencia de trabajar con tamaños muestrales insuficientes o pequeños.

Como bien se mencionó con anterioridad a pesar de que los datos no son significativos, el fármaco enalapril es un fármaco altamente estudiado y utilizado en la terapia clínica como tratamiento de hipertensión arterial. El enalapril, es un fármaco que interviene en el sistema renina angiotensina aldosterona, después de ser hidrolizado a enalaprilato, tras su ingesta oral y metabolismo del mismo, inhibe la enzima ECA, el enalaprilato en su forma ya activa, es el verdadero inhibidor de la ECA. Las concentraciones máximas de enalaprilato se alcanzan unas 4 horas

después de una dosis oral de enalapril (Kushiro T, et al., 2016). Dicho fármaco al ser un inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina, impide la conversión de angiotensina I en angiotensina II, de manera secundaria, disminuye los niveles de aldosterona, de esta manera se evitan los efectos fisiológicos que traen consigo una vasoconstricción (Sainz A & Heeroma J, 2020).

Esta evidenciado el uso de inhibidores de la ECA como un control antihipertensivo positivo, en estudios que evalúan el efeto hipotensor de diferentes compuestos, esto en modelos murinos, tal es el caso del captopril o bien el enalapril utilizado en este estudio (Rojas J et al., 2016; Malomo S et al., 2015; Meza D et al., 2014; Fernández S et al., 2011). Por lo que el fármaco enalapril en otros estudios, si ha demostrado tener una inhibición de la enzima convertidora de angiotensina, de manera significativa y con ellos de la tensión arterial en modelos murino hipertensos (Silva G, et al., 2021; Zarate D, et al., 2020; Potenza M, et al., 2007).

Con respecto a la nula o poca inhibición de la ECA, asociada a la administración del aceite de *cannabis* a diferentes dosis, podría deberse a la limitada evidencia que existe sobre el efecto de compuestos cannabinoides presentes en este caso en el aceite sobre el sistema renina angiotensina aldosterona, aunque la evidencia resalta la importancia del estudio de este mecanismo, nosotros no encontramos una asociación directa a este nivel. Sin embargo, otros estudios han reportado un potencial efecto antihipertensivo, a nivel del sistema renina angiotensina aldosterona por inhibición de las enzimas renina y la ECA, extractos de *cannabis* y derivados del mismo, pero no asociado directamente a los cannabinoides, tampoco a interacciones entre estos por un efecto sequito.

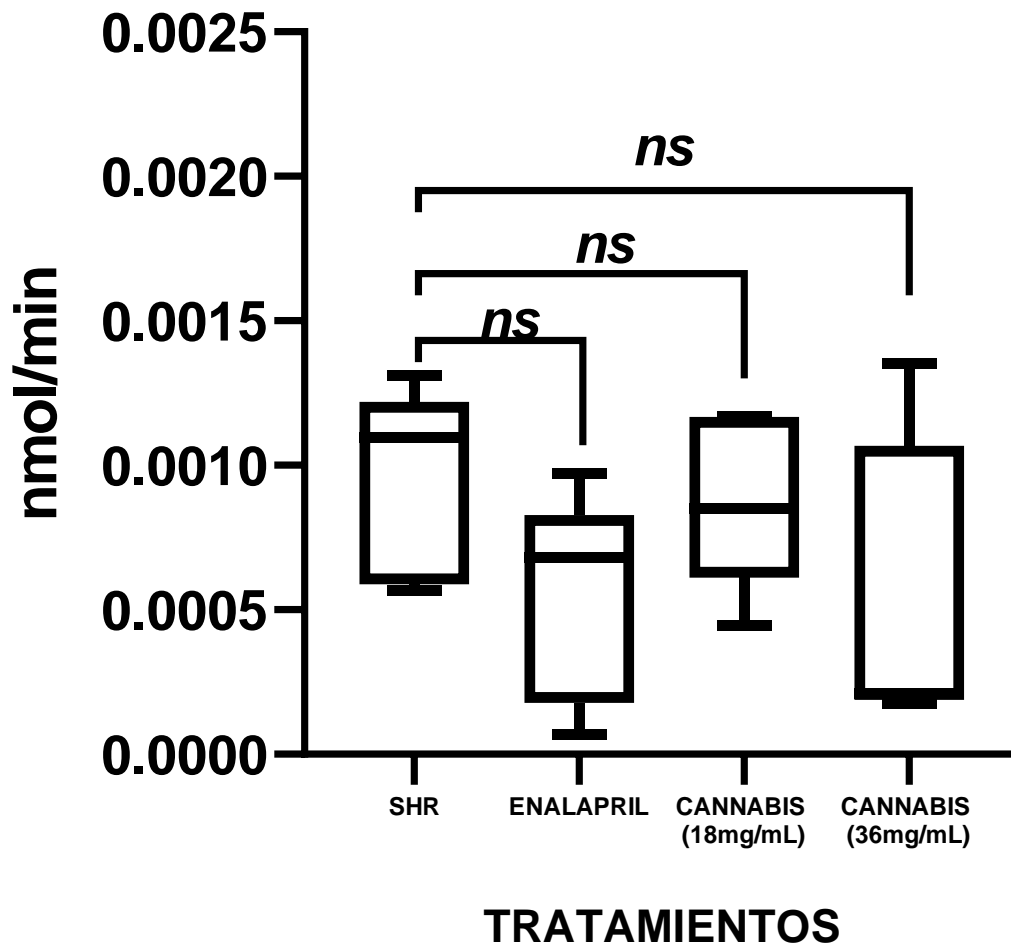
Por ejemplo, Malomo S y colaboradores en el 2015, evaluaron el efecto de extractos de cáñamo (proteínas) para inhibir *in vitro* actividades de la renina y ECA, en relación con los efectos reductores de la presión arterial, en ratas espontáneamente hipertensas, observaron una inhibición significativa de la enzima renina y la ECA, así como reducción de la tensión arterial ($P < 0.05$), por lo que concluyen que dichas pueden usarse como ingredientes activos para formular alimentos funcionales (Malomo S, et al 2015).

En otro estudio Girgih A y colaboradores en el 2014, realizaron investigaciones similares al estudio anterior, encontrando una disminución significativa de la actividad de ECA en plasma (0.047-0.059 U/mL) en ratas alimentadas con semilla de cáñamo en comparación con las ratas de control (0.123 U/mL) y también en el nivel de renina plasmática donde disminuyó para este grupo de ratas (0.040–0.054 lg/mL) en comparación con las ratas de control (0.151 lg/mL), lo que en consecuencia disminuyó la tensión arterial en ratas hipertensas pero esto no sucedió en normotensas (Girgih A, et al 2014).

No solo los cannabinoides derivados de plantas se han relacionado con la hipotensión, sino que también extractos de la semilla de cáñamo muestran efectos hipotensores. Curiosamente, estos efectos hipotensores si están mediados por la inhibición de la ECA (Girgih et al. 2014; Orio et al. 2017).

Con respecto a estos resultados, está claro que el efecto hipotensor del aceite de *cannabis*, no se le puede atribuir a una inhibición directa o proporcional de las enzimas involucradas en el sistema renina angiotensina aldosterona, pero es probable que el efecto hipotensor del aceite de *cannabis*, este encaminado a otros mecanismos de acción, como sería por ejemplo, un efecto atribuido a los receptores cannabinoides, que por lo que se ha mencionado en la literatura y en relación también a lo encontrado en los niveles de expresión de dichos receptores (ANEXOS), sería asociado principalmente al receptor CB1, con acciones sobre en la contracción cardíaca, el endotelio vascular y el musculo liso vascular, o bien actuar de cierta manera, sobre el SRAA. Posibles efectos del receptor CB1 a nivel del SRAA, son mejor explicados en la discusión de resultados de la disminución de la tensión arterial.

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA ECA



Gráfica 5. Actividad de la enzima convertidora de angiotensina, en plasma de un modelo murino en unidades de nmol / min (representa la cantidad de sustrato liberado por minuto), con respecto a diferentes tratamientos (Enalapril, *Cannabis* con dosis de 18 mg/kg y de 36 mg/kg). Los datos representan los rangos intercuartílicos y se realiza una prueba estadística de Kruskal Wallis, con post hoc de Dunn's, se comparan los diferentes valores de los tratamientos vs el control (SHR). Los rangos que se muestran con un asterisco son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

CONCENTRACIÓN DE COLESTEROL TOTAL EN PLASMA.

Se muestran las cifras y de manera visual los cambios por semana de la concentración de colesterol total en plasma del modelo murino, así como el análisis estadístico que compara las diferentes concentraciones en cada uno de los tratamientos al inicio y final del monitoreo.

En la gráfica 6 se observa de manera general, el comportamiento de las concentraciones de colesterol total del modelo murino, con cada uno de los tratamientos a lo largo del estudio. Para aquellos grupos que estaban bajo un tratamiento, es decir, con enalapril y *cannabis* a diferentes dosis, las concentraciones de manera general tenían una tendencia a disminuir, manteniéndose al final del estudio en una concentración menor que la inicial, enalapril (120 +/- 16 vs 104 +/- 14 mg/dL), *cannabis* de 18 mg/ml (134 +/- 18 vs 111 +/- 20 mg/dL), *cannabis* 36 mg/ml (137 +/- 14 vs 103 +/- 18 mg/dL).

Se hizo un análisis estadístico de Kruskal Wallis, con post hoc de Dunn's y se comparan las diferentes concentraciones de colesterol total en la evaluación inicial y final, de los tratamientos vs el control, en la gráfica 7 se muestran estos resultados.

En la evaluación inicial, donde se muestran los valores de las concentraciones de colesterol total que mantiene el modelo murino, antes de comenzar con el estudio, podemos observar que estas se mantienen con valores muy similares, que van desde 120 +/- 14 – 137 +/- 14 mg/dL, sin diferencias significativas entre ellos y con respecto al control ($P > 0.05$).

Tomando como referencia, los cambios que más nos importaría evaluar, que son los de la evaluación final, podemos concluir, que si bien las concentraciones de colesterol del modelo murino sin ningún tratamiento antihipertensivo (SHR = Control) tienen valores más altos de colesterol total que aquellos tratados con antihipertensivo y *cannabis* a diferentes dosis (172 +/- 8 mg/dL vs 104 +/- 14, 111 +/- 20 y 103 +/- 18 mg/dL respectivamente) estas diferentes concentraciones no son significativas con respecto a dicho grupo control o SHR ($P > 0.05$).

Sabemos que no se manifestaron cambios significativos en las concentraciones de colesterol total al inicio y final del estudio, esto puede explicarse debido a que el efecto principal que esperaríamos de un adecuado tratamiento antihipertensivo, es que atenuara cualquier daño o efecto fisiopatológico sobre la salud cardiovascular, con esto, secundario a esta enfermedad se disminuyera el pronóstico de desarrolla algún problema del perfil lipídico, para explicar este fenómeno, se utilizó el biomodelo de ratas espontáneamente hipertensas.

Dicho modelo, es el mejor y más popular modelo de hipertensión espontánea y enfermedad cardiovascular, dado que se desarrolla de forma muy similar a lo que se observa en los humanos, se ha reportado que este biomodelo, puede ser utilizado para identificar otros problemas cardiovasculares que son comúnmente desarrollados por la hipertensión arterial, como son diabetes, aterosclerosis, síndrome metabólico y dislipidemias.

La evidencia reporta que en personas que presentan hipertensión arterial es común el desarrollo de otras alteraciones cardiovasculares, entre las más comunes alteraciones metabólicas, llegan a manifestar altos niveles de colesterol, obesidad, frecuencia cardíaca alta, hipertrigliceridemia y diabetes mellitus (Olufisayo Gabriel et al., 2020).

Se cree que alrededor del 40% de individuos que presentan hipertensión arterial con recién diagnóstico, tiene uno o más problemas en el perfil lipídico (Dalal, J. et al., 2012), así mismo se ha reportado también que en general, alrededor del 50 al 80% de personas con hipertensión tienen algún tipo de dislipidemia, con valores relativamente altos de colesterol total, triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad – LDL (Olufisayo Gabriel et al., 2020). Incluso se ha creído que los medicamentos antihipertensivos tienen un cierto impacto en los niveles de lípidos, estos cambios en los niveles de lípidos son importantes, dada la alta prevalencia de personas con hipertensión recién diagnosticados que tienen al menos una anomalía lipídica (Dalal, J. et al., 2012).

La predisposición a desarrolla un problema de dislipidemia secundario a hipertensión arterial, puede estar asociado a diversos factores explicados a

continuación. Como se ha ido mencionando a lo largo del estudio, la tensión arterial se encuentra principalmente regulada por el sistema renina angiotensina, dicho sistema juega un papel protagónico, ya que participa en la progresión de la enfermedad vascular. La angiotensina II por ejemplo, estimula el depósito en la pared arterial de LDL oxidadas, esto posteriormente aumenta la activación de los monocitos circulantes, moléculas de adhesión y citocinas. Entonces el sistema renina angiotensina podría estar asociado con el desarrollo de aterosclerosis (Dalal, J. et al., 2012; Rader DJ. 2008).

Otras consecuencias de la hipertensión arterial es que esta se asocia a un aumento del estrés oxidativo, resistencia a la insulina, inflamación vascular y disfunción endotelial (Olufisayo Gabriel et al., 2020). El estrés oxidativo, ocasiona daño a nivel endotelial afectan, lo que conduce también a la activación y unión de monocitos, la proliferación y migración de las células del músculo liso vascular y la oxidación de las LDL, como se mencionó anteriormente (Dalal, J. et al., 2012; Rader DJ. 2008).

La hipertensión arterial entonces, puede también causar resistencia a la insulina, esto podría estar asociado a una activación del sistema nervioso simpático, que da como resultado una alteración en la vasodilatación del músculo esquelético y el origen de cambios estructurales vasculares, con ello una mayor vasoconstricción, con todo esto aumenta el número de fibras musculares tipo 2 es decir, de contracción rápida, lo que puede contribuir al desarrollo de resistencia a la insulina, al alterar el suministro de insulina y glucosa a las células del músculo esquelético (Ormazabal V, et al., 2018; Salvetti A, et al. 1993).

La resistencia a la insulina altera el metabolismo de glucosa, que provoca estrés oxidativo y una respuesta inflamatoria, a su vez puede alterar el metabolismo de los lípidos y desarrollar dislipidemia con niveles altos de triglicéridos y colesterol en plasma, niveles bajos de lipoproteínas de alta densidad y altos niveles de lipoproteínas de baja densidad (Ormazabal, V., et al., 2018).

Diferentes estudios evidencian la correlación entre el perfil lipídico y la hipertensión arterial, como es que mutuamente están asociadas por sus mecanismos fisiopatológicos implicados en la génesis de cada enfermedad y representan una

complicación para otras complicaciones cardiovasculares (J. et al., 2012; Rader DJ. 2008). Como ya se ha demostrado, compuestos cannabinoides presentes en el aceite de *cannabis*, así como sus terpenos, actúan por medio de un efecto séquito para potenciar su acción y reducir la presión arterial, esto, estaría interfiriendo directamente en la fisiopatología de la enfermedad, por ende, disminuiría los riesgos de desarrollar problemas del perfil lipídico, es por esta razón que se observan un control en el perfil lipídico del modelo murino al terminar el estudio.

Otros estudios reportan que aceites con óptimas concentraciones de omega 6 y 3, es decir 3:1 han sido utilizados en la prevención de enfermedades inflamatorias y cardiovasculares, el aceite proveniente por ejemplo de *Cannabis sativa*, por dicha razón podría tener grandes beneficios a la salud cardiovascular (Puente et al., 2020).

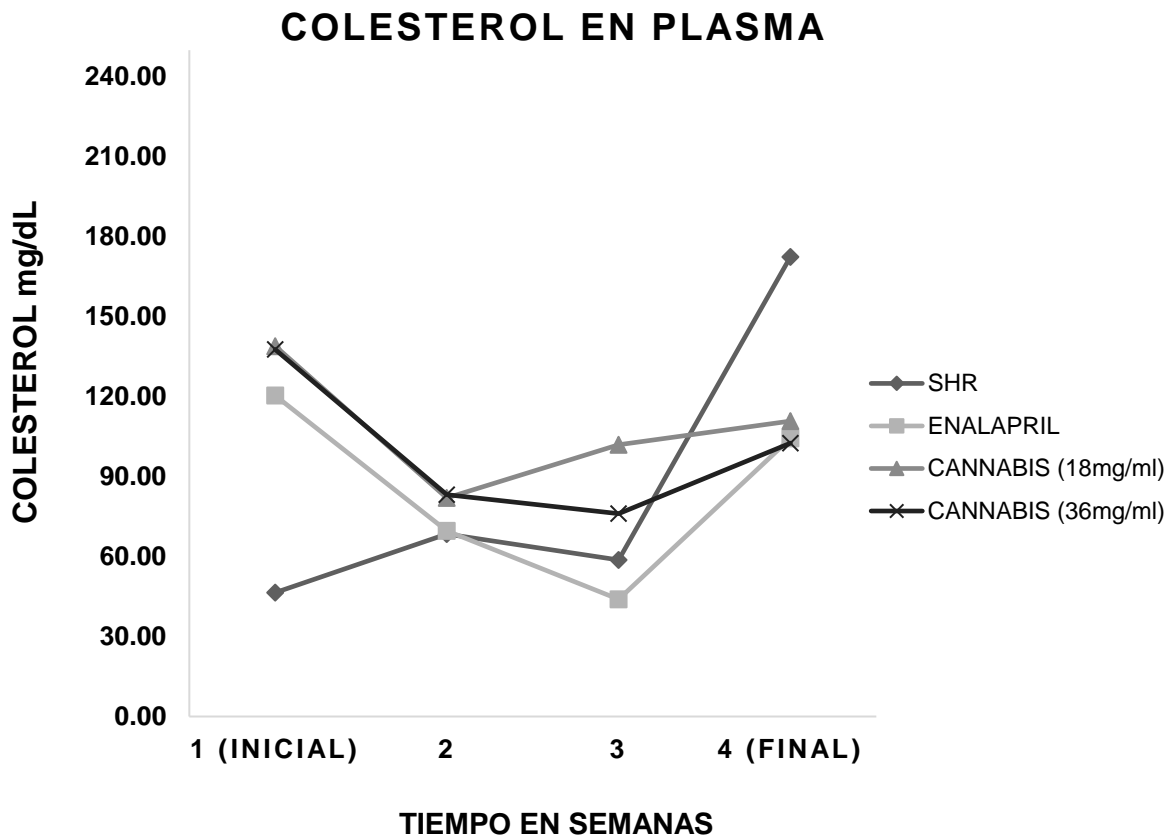
Por otro lado, Kaushal N y colaboradores en el 2020, evaluaron el efecto de extractos de *cannabis* (ácidos grasos poliinsaturados, omega 3 y 6) sobre perfil lipídico de ratas con hipercolesterolemia, observando un mejor control en parámetros de colesterol total, triglicéridos, HDL y LDL, reportando que dichos efectos están mediados por modulación de vías inflamatorias y actividad antioxidante de los compuestos del extracto (Kaushal N, et al 2020).

Karimi I & Hayatghaibi H, en el 2006, evaluaron el efecto de la semilla de una variedad de la planta *cannabis* en los perfiles de lípidos en Ratas Wistar sanas. La semilla significativamente disminuyó niveles de LDL y aumentó HDL sérico en ayunas. Mientras que los niveles de triglicéridos y colesterol total se mantuvieron, esto en ratas sanas Wistar. Los autores sugieren que en personas con alteraciones del perfil lipídico podrían utilizar la variedad de estas semillas en la preparación de sus alimentos (Karimi I & Hayatghaibi H 2006).

Jurgonski A y colaboradores en 2020, demostraron que ácidos grasos poliinsaturados de una variedad de la planta *cannabis* (cáñamo) mejoró el metabolismo lipídico inducido por obesidad en ratas Wistar, al disminuir la concentración de colesterol, por lo que podría atenuar trastornos inducidos por la alimentación rica en grasas en ratas (Jurgonski A., et al. 2020).

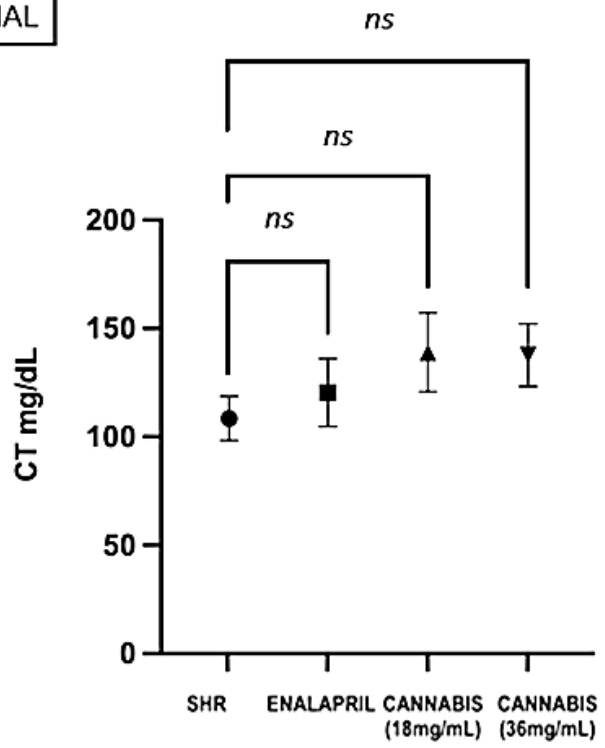
Tabla 6. Cambios en las concentraciones de colesterol total en plasma de Ratas Espontáneamente Hipertensas, por semana, a lo largo del tratamiento (30 días).

GRUPOS	EVALUACIÓN 1	EVALUACIÓN 2	EVALUACIÓN 3	EVALUACIÓN 4
SHR	46 +/- 10	68 +/- 11	59 +/- 18	172 +/- 8
ENALAPRIL	120 +/- 16	70 +/- 1	44 +/- 6	104 +/- 14
CANNABIS (18 mg/ml)	134 +/- 18	82 +/- 11	102 +/- 3	111 +/- 20
CANNABIS (36 mg/ml)	137 +/- 14	83 +/- 14	76 +/- 6	103 +/- 18

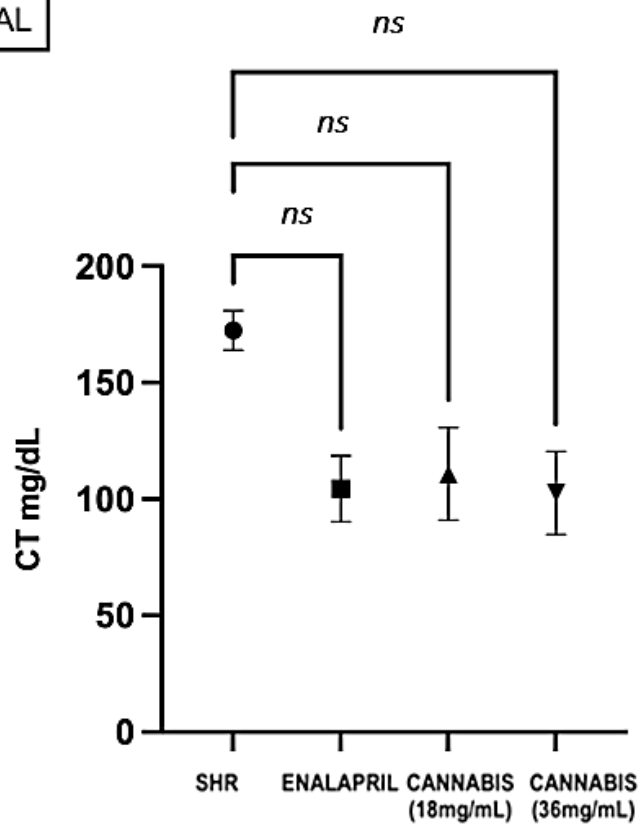


Gráfica 6. Cambios en las concentraciones de colesterol total en plasma del modelo murino en mg/dL, con respecto al tiempo en semanas, con cada uno de los tratamientos utilizados.

INICIAL



FINAL



Grafica 7. Valores iniciales y finales de las concentraciones de colesterol total en plasma de un modelo murino en mg/dL, con respecto a diferentes tratamientos (Control, Enalapril, *Cannabis* con dosis de 18 mg/kg y de 36 mg/kg). Los datos representan los rangos intercuartílicos de tres mediciones. Se realiza una prueba estadística de Kruskal Wallis, con post hoc de Dunn´s y se comparan las diferentes concentraciones de colesterol total en la evaluación inicial y final, de los tratamientos vs el control. Los rangos que se muestran con un asterisco son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

CONCENTRACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS EN PLASMA

Se muestran las cifras y de manera visual los cambios por semana de la concentración de triglicéridos en plasma del modelo murino, así como el análisis estadístico que compara las diferentes concentraciones en cada uno de los tratamientos al inicio y final del monitoreo.

En la gráfica 8 y tabla 6, se observa de manera general, el comportamiento de las concentraciones de triglicéridos del modelo murino, con cada uno de los tratamientos a lo largo del estudio. Para aquellos grupos que estaban bajo un tratamiento antihipertensivo ya probado, es decir, con enalapril las concentraciones de manera general tenían una tendencia a disminuir, manteniéndose al final del estudio en una concentración menor que la inicial, enalapril (41 +/- 6 vs 26 +/- 2), mientras que las concentraciones medidas para las diferentes dosis de *cannabis*, en general permanecieron con altas y bajas concentraciones a lo largo del estudio, manteniéndose con valores muy similares al inicio y final del tratamiento *Cannabis* 18 mg/ml (24 +/- 6 vs 32 +/-7), *cannabis* 36 mg/ml (17 +/- 10 vs 20 +/- 4), finalmente para el modelo murino SHR control al cual no se le administró un tratamiento como tal, se observó un ligero incremento en las concentraciones de triglicéridos (19 +/- 9 vs 39 +/- 4).

Se hizo un análisis estadístico de Kruskal Wallis, con post hoc de Dunn's y se comparan las diferentes concentraciones de triglicéridos en la evaluación inicial y final, de los tratamientos vs el control, en la gráfica 9 se muestran estos resultados.

En la evaluación inicial, donde se muestran los valores de las concentraciones de triglicéridos que mantiene el modelo murino, antes de comenzar con el estudio, podemos observar que estas se mantienen con valores diferentes que van desde 17 +/- 10 – 41 +/- 6 mg/dL, sin embargo, no se observan diferencias significativas entre ellos con respecto al control ($P > 0.05$).

Tomando como referencia, los cambios que más nos importaría evaluar, que son los de la evaluación final, podemos concluir, que las concentraciones de triglicéridos del modelo murino sin ningún tratamiento antihipertensivo (SHR = Control) tienen valores más altos de triglicéridos que aquellos tratados con antihipertensivo y

cannabis a dosis de 18 mg/ml y 36 mg/ml (39 +/- 4 vs 26 +/- 2, 32 +/- 7 y 20 +/- 4 mg/dL respectivamente), estas diferentes concentraciones son significativas únicamente para el grupo de *cannabis* con una dosis de 36 mg/ml, esto con respecto al grupo control o SHR (P < 0.05). Estos cambios significativos en las concentraciones de triglicéridos, asociados a la adición de *cannabis* a dosis de 36 mg/ml, se explican más adelante.

El efecto principal que esperaríamos de un adecuado tratamiento antihipertensivo, es que atenuara el daño al endotelio, secundario a esta enfermedad y disminuyera el pronóstico de desarrollar algún problema del perfil lipídico.

Como ya se mencionó anteriormente en la discusión de colesterol total, el biomodelo utilizado para este estudio de ratas SHR es el mejor y más popular modelo de hipertensión espontánea y enfermedad cardiovascular, dado que se desarrolla de forma muy similar a lo que se observa en los humanos, se ha reportado que este biomodelo, puede ser utilizado para identificar otros problemas cardiovasculares que son comúnmente desarrollados por la hipertensión arterial, como son diabetes, aterosclerosis, síndrome metabólico y dislipidemias.

La evidencia reporta que en personas que presentan hipertensión arterial es común el desarrollo de otras alteraciones cardiovasculares, entre las más comunes alteraciones metabólicas, llegan a manifestar altos niveles de colesterol, obesidad, frecuencia cardíaca alta, hipertrigliceridemia y diabetes mellitus (Olufisayo Gabriel et al., 2020).

Se cree que alrededor del 40% de individuos que presentan hipertensión arterial con recién diagnóstico, tiene uno o más problemas en el perfil lipídico (Dalal, J. et al., 2012), así mismo se ha reportado también que en general, alrededor del 50 al 80% de personas con hipertensión tienen algún tipo de dislipidemia, con valores relativamente altos de colesterol total, triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad – LDL (Olufisayo Gabriel et al., 2020). Incluso se ha creído que los medicamentos antihipertensivos tienen un cierto impacto en los niveles de lípidos, estos cambios en los niveles de lípidos son importantes, dada la alta prevalencia de personas con

hipertensión recién diagnosticados que tienen al menos una anomalía lipídica (Dalal, J. et al., 2012).

La predisposición a desarrollar un problema de dislipidemia secundario a hipertensión arterial, puede estar asociado a diversos factores explicados a continuación. Como se ha ido mencionando a lo largo del estudio, la tensión arterial se encuentra principalmente regulada por el sistema renina angiotensina, dicho sistema juega un papel protagónico, ya que participa en la progresión de la enfermedad vascular. La angiotensina II por ejemplo, estimula el depósito en la pared arterial de LDL oxidadas, esto posteriormente aumenta la activación de los monocitos circulantes, moléculas de adhesión y citocinas. Entonces el sistema renina angiotensina podría estar asociado con el desarrollo de aterosclerosis (Dalal, J. et al., 2012; Rader DJ. 2008).

Otras consecuencias de la hipertensión arterial es que esta se asocia a un aumento del estrés oxidativo, resistencia a la insulina, inflamación vascular y disfunción endotelial (Olufisayo Gabriel et al., 2020). El estrés oxidativo, ocasiona daño a nivel endotelial afectan, lo que conduce también a la activación y unión de monocitos, la proliferación y migración de las células del músculo liso vascular y la oxidación de las LDL, como se mencionó anteriormente (Dalal, J. et al., 2012; Rader DJ. 2008).

La hipertensión arterial entonces, puede también causar resistencia a la insulina, esto podría estar asociado a una activación del sistema nervioso simpático, que da como resultado una alteración en la vasodilatación del músculo esquelético y el origen de cambios estructurales vasculares, con ello una mayor vasoconstricción, con todo esto aumenta el número de fibras musculares tipo 2 es decir, de contracción rápida, lo que puede contribuir al desarrollo de resistencia a la insulina, al alterar el suministro de insulina y glucosa a las células del músculo esquelético (Ormazabal V, et al., 2018; Salvetti A, et al. 1993).

La resistencia a la insulina altera el metabolismo de glucosa, que provoca estrés oxidativo y una respuesta inflamatoria, a su vez puede alterar el metabolismo de los lípidos y desarrollar dislipidemia con niveles altos de triglicéridos y colesterol en

plasma, niveles bajos de lipoproteínas de alta densidad y altos niveles de lipoproteínas de baja densidad (Ormazabal, V., et al., 2018).

Diferentes estudios evidencian la correlación entre el perfil lipídico y la hipertensión arterial, como es que mutuamente están asociadas por sus mecanismos fisiopatológicos implicados en la génesis de cada enfermedad y representan una complicación para otras complicaciones cardiovasculares (J. et al., 2012; Rader DJ. 2008).

Como ya se ha demostrado, compuestos cannabinoides presentes en el aceite de cannabis, así como sus terpenos, actúan por medio de un efecto séquito para potenciar su acción y reducir la presión arterial, esto, estaría interfiriendo directamente en la fisiopatología de la enfermedad, por ende disminuiría los riesgos de desarrollar problemas del perfil lipídico, es por esta razón que se observan un control en el perfil lipídico del modelo murino al terminar el estudio, el aceite de *cannabis* a dosis de 18 mg/dL y el fármaco enalapril como tal no redujeron los valores de triglicéridos y esto era de esperarse, sin embargo, la dosis de 36 mg/dL si provocó una disminución significativa en las concentraciones de triglicéridos, al finalizar el estudio, esto podría asociarse a un efecto directo del aceite de *cannabis* sobre las concentraciones de triglicéridos en plasma.

Wing S y colaboradores mencionan que cannabinoides presentes en la planta de *cannabis* actúan específicamente a través del receptor CB2 y es sobre este que desencadenan efectos, que tienen como consecuencia disminución del perfil lipídico, es decir reducción de triglicéridos plasmáticos, colesterol y lipoproteínas de baja densidad (Wing S.V & Kelly M 2017; O'Sullivan, S.E. 2015). La acción sobre el perfil lipídico por parte de los cannabinoides, podría estar a nivel hepático, según lo reportado previamente por la literatura, pues se cree que $\Delta 9$ -THC tiene una función hepatoprotectora (Tam et al., 2011), además de esto la señalización de los receptores CB1 y CB2 en el hígado, podría estar basada en mantener la homeostasis metabólica a este nivel (Howlett A., et al, 2017).

Esta información reportada por la literatura podría estar asociada a la disminución de las concentraciones de triglicéridos en plasma, además que como se muestra en

ANEXOS, en la sección de la expresión de receptores cannabinoides del modelo murino, se observa que, a la mayor concentración, es decir a la dosis de 36 mg/dL, hay un incremento en la expresión del receptor CB2 específicamente en el hígado del modelo murino, lo que podría estar relacionado a lo anteriormente explicado. Otros estudios reportan que derivados de *cannabis* pueden mejorar el estado antioxidante y el metabolismo de los lípidos en las ratas (Cunha P et al., 2011), incluso contrarrestar daños inducidos por una alimentación alta en grasa en ratas (Lara D., et al 2019).

Otro estudio, por ejemplo, para el tratamiento de dislipidemias, demostró que el tratamiento oral con dosis bajas de THC podría inhibir el desarrollo de placa aterosclerótica (Braunersreuther V, et al., 2006). Mientras que otras investigaciones reportan que la activación del receptor CB2 parece contribuir con efectos antiinflamatorios y con ello mejorar la estabilidad de la placa aterosclerótica (Wing S.V & Kelly M 2017; O'Sullivan, S.E. 2015).

Otros estudios reportan un efecto atribuido al receptor CB1, mencionan que, al ser activado, mantiene una homeostasis metabólica en hígado y cardiomiocitos, puede entonces reducir niveles plasmáticos de colesterol, triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (Howlett A., et al, 2017).

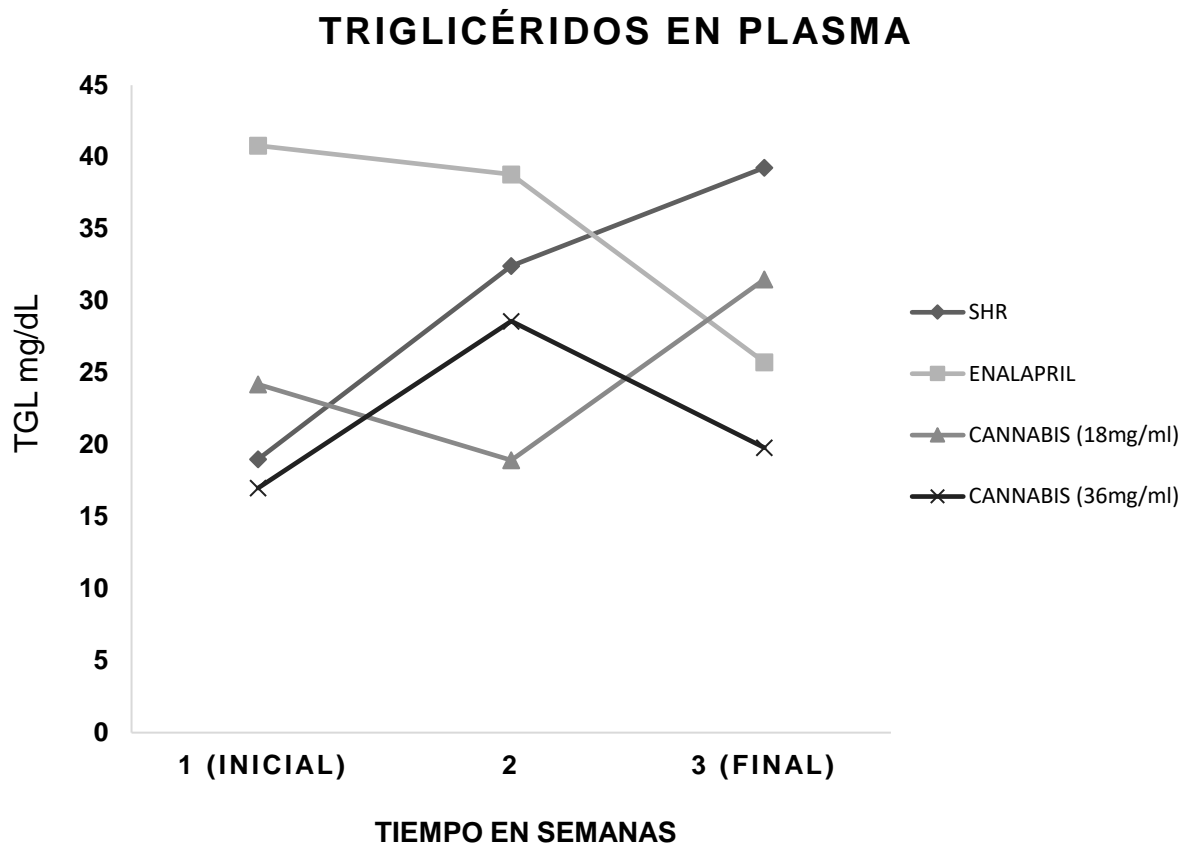
Tanto el receptor CB1 como el CB2, están acoplados a proteínas G, las cuales, una vez que dichos receptores son estimulados por cannabinoides, estas proteínas activan nuevas vías de señalización, que desencadenan la disminución, estimulación o inhibición completa de una actividad específica en el organismo, en una de estas vías se ve implicado la conversión de ATP a AMPc. Dicho lo anterior es importante resaltar que el metabolismo lipídico a nivel hepático, principalmente la lipogénesis y la lipólisis, son reguladas por AMPc, por un lado, la inhibición de la lipólisis (degradación de ácidos grasos) se produce a través de la reducción de los niveles de AMPc, por el otro, la lipogénesis (síntesis de ácidos grasos para su almacenamiento) se estimula cuando hay un exceso de los mismos, o bien se inhibe cuando se necesitan lípidos para obtener energía. La lipogénesis puede promoverse por un aumento en la señalización del receptor CB1 a través de la

inhibición de Gi/o y cAMP. Un antagonismo del receptor CB1 puede intervenir para reducir lipogénesis o bien como se observó en este estudio, la estimulación del receptor CB2, esto podría ser razonable, dado los diversos efectos fisiológicos que manifiesta cada receptor, que en efecto no siempre son los mismo. (Howlett A., et al, 2017; Tedesco et al., 2008). Razón por la cual se podría justificar la reducción significativa de triglicéridos con la dosis mayor del aceite de *cannabis* (36 mg/dL) con respecto al control.

Aunado a esto, la presencia de otros compuestos del *cannabis* puede tener consigo grandes beneficios, el aceite de *cannabis* tiene un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados y la proporción de omega 6 a omega 3 es óptima (3: 1), lo cual contribuye a una mejora en la salud cardiovascular (Kaul et al., 2008). Esto es porque dichos ácidos grasos poliinsaturados pueden mejorar el metabolismo de los lípidos debido a su capacidad para inducir la oxidación de ácidos grasos en el hígado y los músculos esqueléticos y la supresión simultánea de la síntesis de lípidos hepáticos (Jurgoński A 2020). Entre otros compuestos presentes en el aceite de *cannabis*, se tienen también a los terpenos, los cuales se han sugerido para actuar como tratamiento adyuvante o alternativo para mejorar las enfermedades cardiometabólicas, como son la hipertensión arterial y las dislipidemias contribuyendo a reducir los efectos secundarios de los fármacos convencionales (Oliveira J, et al., 2021). Como se ha ido mencionando a lo largo de esta investigación los cannabinoides al ser administrados en conjunto con otras sustancias fitoquímicas presentes en la misma planta (terpenos, flavonoides, esteroides, etc.) o bien en el aceite (ácidos grasos poliinsaturados) provocan el efecto conjunto sobre un sistema o tejido del organismo, con un como “efecto séquito” (Suppa JM., 2019; Kratz J & García M., 2018; Rodríguez M., 2017; Russo et al., 2011). El “efecto séquito” de en este caso el aceite de *Cannabis*, ejercer un efecto más potente que el que puedan generar las moléculas por separado, pues las diferentes sustancias que se encuentran en este caso en el aceite, interactúan entre sí en sinergia (Andronolo D., 2021; Hinojosa & Gutierrez., 2017; Coile, D 2016).

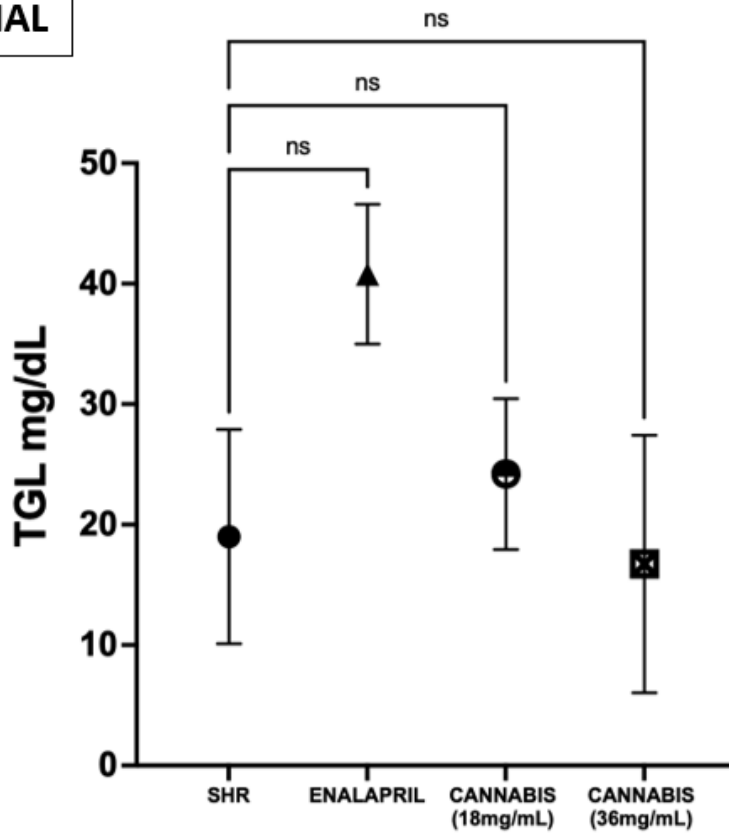
Tabla 6. Cambios en las concentraciones de triglicéridos en plasma de Ratas Espontáneamente Hipertensas, por semana, a lo largo del tratamiento (30 días).

GRUPOS	EVALUACIÓN 1 (INICIAL)	EVALUACIÓN 2	EVALUACIÓN 3 (FINAL)
SHR	19 +/- 9	32 +/- 6	39 +/- 4
ENALAPRIL	41 +/- 6	39 +/- 10	26 +/- 2
CANNABIS (18 mg/ml)	24 +/- 6	19 +/- 3	32 +/- 7
CANNABIS (36 mg/ml)	17 +/- 10	29 +/- 6	20 +/- 4

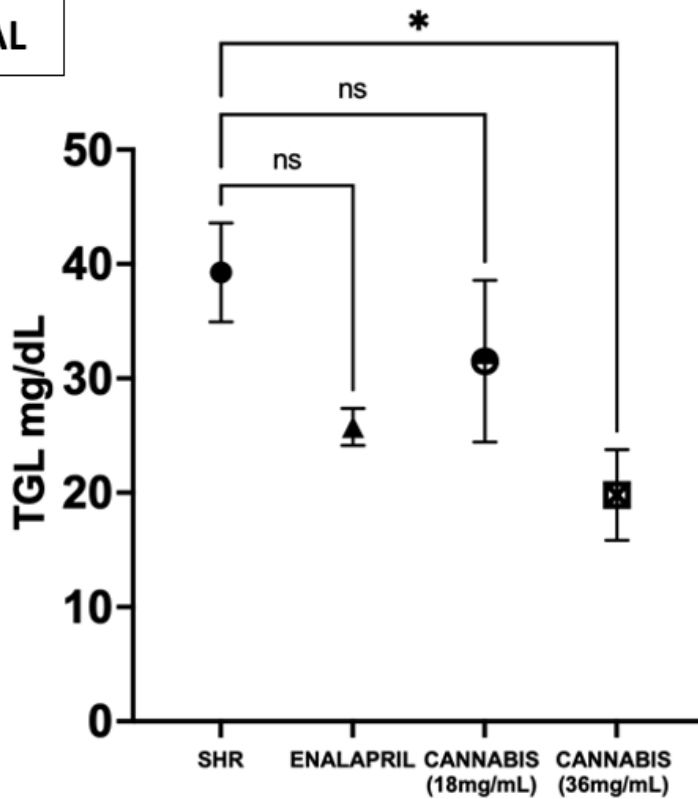


Gráfica 8. Cambios en las concentraciones de triglicéridos del modelo murino en mg/d, con respecto al tiempo en semanas, con cada uno de los tratamientos utilizados.

INICIAL



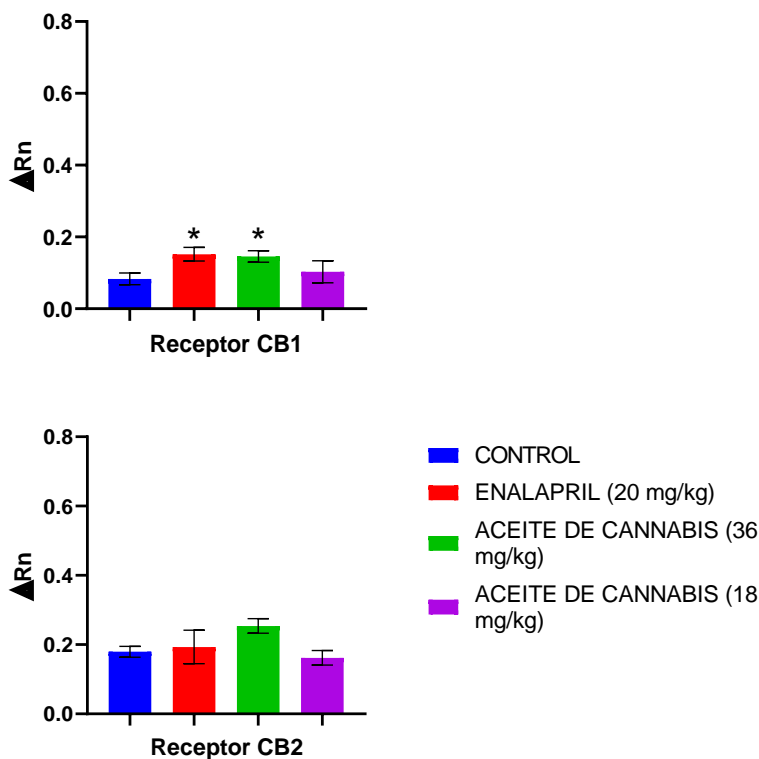
FINAL



Gráfica 9. Valores iniciales y finales de las concentraciones de triglicéridos en plasma de un modelo murino en mg/dL, con respecto a diferentes tratamientos (Control, Enalapril, *Cannabis* con dosis de 18 mg/kg y de 36 mg/kg). Los datos representan los rangos intercuartílicos de tres mediciones. Se realiza una prueba estadística de Kruskal Wallis, con post hoc de Dunn´s y se comparan las diferentes concentraciones de triglicéridos en la evaluación inicial y final, de los tratamientos vs el control. Los rangos que se muestran con un asterisco son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

EXPRESIÓN GÉNICA DE RECEPTORES CANNABINOIDES EN TEJIDO DE CORAZÓN, HÍGADO Y RIÑÓN DEL MODELO MURINO.

• Corazón

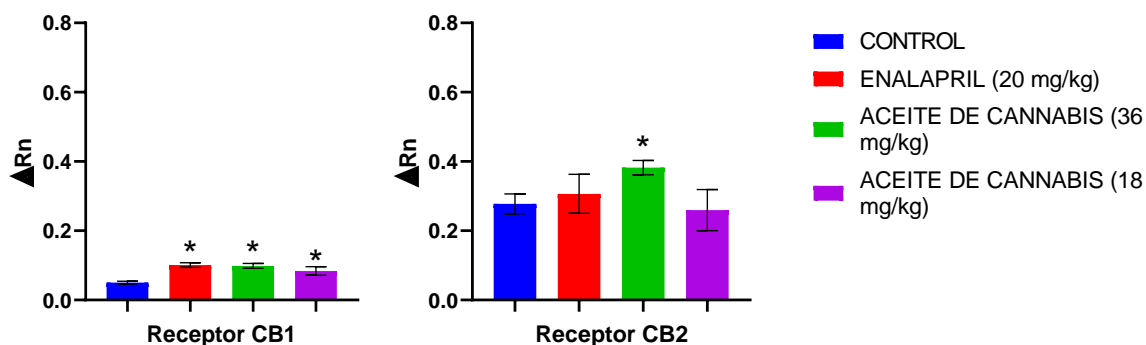


Gráfica 10. Nivel de expresión génica de receptores cannabinoides CB1 y CB2 en corazón con respecto a diferentes tratamientos (Control, Enalapril, Cannabis con dosis de 18 mg/kg y de 36 mg/kg). Se realiza una prueba estadística de ANOVA unidireccional, con post hoc de Bonferroni y se comparan los diferentes niveles de expresión con los tratamientos vs el control. Los rangos que se muestran con un asterisco son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

En estas gráficas se muestra que con la dosis más grande del aceite de cannabis (36 mg/dL) y con el fármaco enalapril (20 mg/kg) se incrementó la expresión del receptor CB1 significativamente en corazón y con ello, el efecto que se producirá a este nivel sobre la presión arterial. En el sistema cardiovascular, CB1 se expresa en regiones específicas dentro de los miocitos cardíacos, células endoteliales arteriales y capilares, donde parece estar involucrado en la fisiología cardiovascular (Puhl SL,

et al., 2020; Howlett A., et al, 2017; epicier P, et al., 2007). El efecto terapéutico de cannabinoides sobre el receptor CB1, para desencadenar un descenso en la presión arterial, está dado por su acción en ciertas células, tejidos y órganos. En los cardiomiocitos, por ejemplo, produce una disminución de la contractibilidad cardiaca, la contracción del corazón estaría regulando directamente el gasto cardiaco y este a su vez en conjunto con la resistencia vascular, se relacionan directamente con la presión arterial, es decir una disminución de la contractibilidad cardiaca, disminuye el gasto cardiaco, con esto se reduce también la tensión arterial. Si bien, está clara la presencia de CB1 en cardiomiocitos, la evidencia ha reportado que el efecto en la contractibilidad cardiaca, se da también sobre el sistema nervioso, por la presencia de receptores CB1 en terminaciones nerviosas que inervan los vasos sanguíneos y el corazón, el CB1 suprime la liberación de neurotransmisores de terminaciones nerviosas simpáticas presinápticas, por lo que esto produce una disminución en la respuesta del sistema nervioso simpático, y a su vez, disminuir efectos como, frecuencia cardiaca y contracción del corazón (Kis B, et al., 2019; Pacher P et al., 2018; Wing S.V & Kelly M 2017).

- Riñón



Gráfica 11. Nivel de expresión génica de receptores cannabinoides CB1 y CB2 en riñón con respecto a diferentes tratamientos (Control, Enalapril, Cannabis con dosis de 18 mg/kg y de 36 mg/kg). Se realiza una prueba estadística de ANOVA unidireccional, con post hoc de Bonferroni y se comparan los diferentes niveles de expresión con los tratamientos vs el control. Los rangos que se muestran con un asterisco son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

En el riñón se identificó una expresión de receptores CB1 significativamente mayor para los grupos que recibieron un tratamiento contra el control. Mientras que para el receptor CB2 se observó una mayor expresión del mismo cuando se administró la dosis mayor de aceite de cannabis.

A nivel renal con respecto a la fisiopatología de la tensión arterial, se lleva a cabo la conversión de pro-renina a renina, primer paso del SRAA, además de que en el último paso de dicho sistema, la angiotensina II actúa sobre la corteza suprarrenal para estimular la producción de aldosterona, la cual actúa sobre el riñón para incrementar la resorción de sodio y, por tanto, el volumen del líquido extracelular y el volumen sanguíneo, también actúa directamente sobre arteriolas para producir vasoconstricción y en consecuencia incrementa las resistencias periféricas y la presión arterial.

Estudios previos han demostrado una mayor expresión del receptor CB2 en células enfermas, que, en células sanas, pues el receptor CB2 aumenta en respuesta a la

activación e inflamación de las células inmunitarias (Howlett A., et al. 2017; Stella, 2010)

Se observa una mayor expresión del receptor CB1 Y CB2 con la mayor concentración del aceite de cannabis 36 mg/dL y de receptor CB1 con la adición del fármaco enalapril.

Receptores CB1 y CB2 que son activados por compuestos de la planta cannabis se encuentran en numerosos tejidos, incluidos los riñones (Park F, et al., 2017). Se han identificado efectos terapéuticos en problemas de tipo renal, con una mayor expresión de receptores CB1 y CB2 en dicho tejido cuando existe alguna fisiopatología en el mismo, por lo que pueden representar una nueva diana terapéutica en enfermedades de tipo renal o incluso aquellas donde dicho órgano se vea implicado, como es el caso de la hipertensión arterial (Francois H, & Lecru L 2018).

Como ya se ha encontrado, los cannabinoides reducen la hipertensión, algunos estudios han relacionado el sistema endocannabinoide (SEC) con el sistema de renina angiotensina (SRA), sugieren una modulación cruzada entre los niveles del receptor cannabinoide 1 CB1 y la angiotensina II (resultado del SRA), la cual se ha visto que actúa a nivel renal. Los mecanismos subyacentes a los efectos hipotensores de los cannabinoides son complejos, además de lo antes mencionado, se reporta una posible modulación de agonistas vasoactivos como la angiotensina II (Stanley y O'Sullivan 2014).

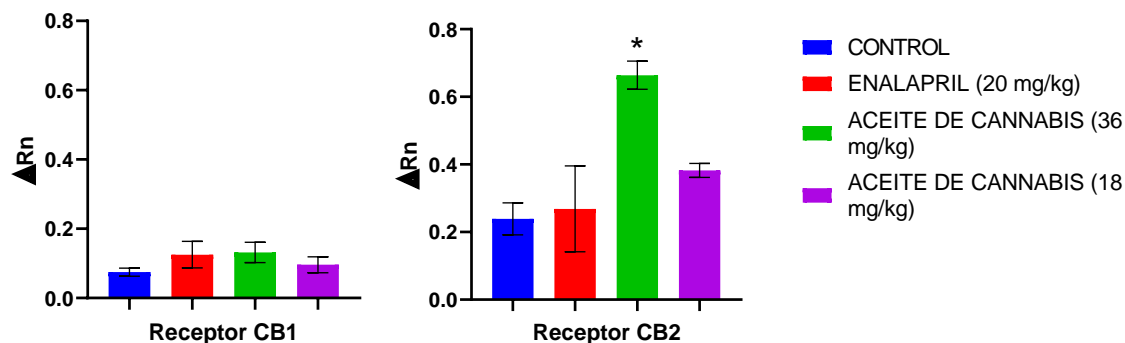
Por lo antes mencionado, está claro que el riñón juega un papel fundamental en la fisiopatología de la tensión arterial y aunque no se encontraron estudios clínicos de la regulación de la tensión arterial a nivel renal modulada por cannabinoides, el incremento en la expresión de receptores cannabinoides en este tejido con el fármaco antihipertensivo y las dosis del aceite de cannabis, podría estar regulando la tensión arterial a nivel de sistema renina angiotensina en riñón.

Aunado a lo antes mencionado, se identificó que el fármaco enalapril utilizado como control positivo en el estudio, en el caso de los tejidos de corazón y riñón incremento la expresión del receptor CB1.

Diferentes factores han sido identificados que pueden incrementar la expresión y con ello, potenciar la función en el organismo de los receptores de cannabinoides CB1 y CB2, como es la alimentación, la ingesta cannabinoides sintéticos e incluso la presencia de alguna patología específica, existen también fármacos específicos que pueden llegar a ser agonistas o antagonistas de dichos receptores, sin embargo no se ha encontrado todavía que algún medicamento ya utilizado modifique la expresión de los mismos, como lo sucedido en este estudio.

El enalapril es un inhibidor de la ECA, ampliamente utilizado en la terapia cardiovascular, que da lugar a concentraciones reducidas de angiotensina II, que conduce a disminución de la actividad vasopresora y secreción reducida de aldosterona. Se cree que el sistema cannabinoide podría estar vinculado con el SRA, con algunas acciones sobre el receptor de la ECA. Se ha mostrado que CB1 y el receptor de angiotensina II forman heterómeros receptores con interacciones funcionales, estudios sugieren que los estados hipertensivos están relacionados con una menor expresión de CB1 y niveles más altos de angiotensina II (Sainz A & Heeroma J, 2020). Sabemos que el fármaco enalapril, actúa directamente sobre la ECA, pero, existe la posibilidad de que actúe también de cierta manera sobre los receptores de cannabis para potenciar un efecto hipotensor, sin embargo, son necesarias más investigaciones al respecto

- Hígado



Gráfica 12. Nivel de expresión génica de receptores cannabinoides CB1 y CB2 en hígado con respecto a diferentes tratamientos (Control, Enalapril, Cannabis con dosis de 18 mg/kg y de 36 mg/kg). Se realiza una prueba estadística de ANOVA unidireccional, con post hoc de Bonferroni y se comparan los diferentes niveles de expresión con los tratamientos vs el control. Los rangos que se muestran con un asterisco son significativamente diferentes ($p < 0.05$).

No se observaron cambios significativos en la expresión de receptores CB1, mientras que para el receptor CB2, se observa una mayor expresión del mismo con la dosis mayor del aceite de cannabis.

Wing S y colaboradores mencionan que cannabinoides presentes en la planta de *cannabis* actúan específicamente a través del receptor CB2 y es sobre este que desencadenan efectos, que tienen como consecuencia disminución del perfil lipídico, es decir reducción de triglicéridos plasmáticos, colesterol y lipoproteínas de baja densidad (Wing S.V & Kelly M 2017). La acción sobre el perfil lipídico por parte de los cannabinoides, podría estar a nivel hepático, según lo reportado previamente por la literatura, pues se cree que $\Delta 9$ -THC tiene una función hepatoprotectora (O'Sullivan, S.E. 2015; Tam et al., 2011), además de esto la señalización de los receptores CB1 y CB2 en el hígado, podría estar basada en mantener la homeostasis metabólica a este nivel (Howlett A., et al, 2017).

Esta información reportada por la literatura podría estar asociada a la disminución de las concentraciones de triglicéridos en plasma, además que como se muestra en

la gráfica del análisis de la expresión de receptores CB1 y CB2 a nivel hepático, hay un incremento en la expresión del receptor CB2 específicamente en el hígado del modelo murino (con la dosis mayor de 36 mg/dL), lo que podría estar relacionado a lo anteriormente explicado. Otros estudios reportan que derivados de *cannabis* pueden mejorar el estado antioxidante y el metabolismo de los lípidos en las ratas (Cunha P et al., 2011), incluso contrarrestar daños inducidos por una alimentación alta en grasa en ratas (Lara D., et al 2019).

VIII. CONCLUSIONES

El aceite de *cannabis* demostró tener un efecto estadísticamente significativo ($P < 0.05$) en la reducción de la tensión arterial sistólica a lo largo de los 12 días de monitoreo, se observa una reducción de 31 mmHg al aceite de cannabis a dosis de 18 mg/dL y 40 mmHg al mismo aceite con dosis de 36 mg/dL, teniendo un efecto incluso mayor que el fármaco antihipertensivo enalapril con una reducción de 24 mmHg. Esta reducción en las cifras de tensión arterial sistólica, no fueron atribuidas por inhibición de las enzimas implicadas en el sistema renina angiotensina aldosterona, dado que hubo cambios significativos en la inhibición de ECA y no se observó un efecto dosis respuesta para la inhibición de renina. El efecto hipotensor del aceite de *cannabis* ha sido atribuido principalmente a los cannabinoides que actúan a nivel de receptores CB1 y CB2, para los cambios en tensión arterial de este estudio, específicamente sobre CB1, que como ya se ha visto, promueve un efecto vasodilatador, una disminución de la contractibilidad y frecuencia cardíaca. Ahora bien, al tener un buen control de la tensión arterial, en condiciones de hipertensión, se limita el desarrollo de otras complicaciones cardiovasculares, como es común, el desarrollo de dislipidemias, se controlaron entonces niveles del perfil lipídico y se mostraron significativamente menores concentraciones de triglicéridos, para el grupo que consumió 36 mg/dL del aceite con respecto al control (39 ± 4 vs 20 ± 4 mg/dL), en la evaluación final. Esto asociado a un incremento en la expresión del receptor CB2 en el hígado del modelo murino, el cual podría mejorar el metabolismo de los lípidos en las ratas.

Por lo que, el aceite de *cannabis* podría ser utilizado como ingrediente activo para la formulación de alimentos funcionales en la industria alimentaria, que contribuya a mejorar el pronóstico de personas con algún problema cardiovascular, específicamente hipertensión arterial. Sin embargo, son necesarios más estudios para garantizar su uso terapéutico seguro, eficaz y que no cause efectos nocivos o adversos a la salud.

IX. REFERENCIAS

- 1) Abioye, A., Ayodele, O., Marinkovic, A. Δ 9-Tetrahydrocannabivarin (THCV): un comentario sobre el beneficio terapéutico potencial para el manejo de la obesidad y la diabetes. *J Cannabis Res et al* 2020;2(6):
- 2) Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Categoría: medicamentos de uso humano. (Rasilez®, Riprazo®, Rasilez HTC®): Revaluación del balance beneficio-riesgo, MUH (FV). 2011.
- 3) Andronolo D . Cannabis Medicinal en Argentina. Control de calidad de fitopreparados y obtención de fitopreparados y cannabinoides aislados destinados a la investigación básica y clínica. Proyecto de Investigación Cannabis y Salud CIM (UNLP-CONICET). 2021;1(14):
- 4) Atakan Z. Cannabis, a complex plant: different compounds and different effects on individuals. *Ther Adv Psychopharmacol*. 2012;2(6):241–254.
- 5) Balaszczuk A, Fellet A. Modelos experimentales en el estudio de la hipertensión arterial. 216- 218.
- 6) Baños G, Pérez T, Hafidi M. Revisión de los modelos murinos de hipertensión experimental. *SIIC*. 2019;
- 7) Ben-Shabat S, Fride E, Sheskin T, Tamiri T, y cols An entourage effect: inactive endogenous fatty acid glycerol esters enhance 2arachidonoyl-glycerol cannabinoid activity. *Eur J Pharmacol*. 1998;353(1):23-31.
- 8) Berenguer G, Some considerations on hypertension. *MEDISAN*. 2016;20(11).
- 9) Biernackia M, Malinowskab B, Timoszuka M, Toczekb M, Jastrząba A, Remiszewskib P. Hypertension and chronic inhibition of endocannabinoid degradation modify the endocannabinoid system and redox balance in rat heart and plasma. *Prostaglandins and Other Lipid Mediators*. 2018;13(8):54–63.
- 10) Boletín terapéutico de la seguridad social. 2009;33(1):54-63
- 11) Braunersreuther V, Mach F. Leukocyte recruitment in atherosclerosis: ¿potential targets for therapeutic approaches? *Cell Mol Life Sci*. 2006;63(1):2079-88.
- 12) Brodie MJ, Ben-Menachem E. Cannabinoids for epilepsy: What do we know and where do we go? *Epilepsia*. 2018;59(15);291—6.
- 13) Campbell D. Inhibidores de renina - mecanismos de acción. (2009)

- 14) Carl E. Wolf, Justin L. Poklis, Alphonse Poklis. Stability of Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol in Prepared Quality Control Medible Brownies, *Journal of Analytical Toxicology*. 2017;41(2):153–157.
- 15) Castillo E., Betancur D., Segura C., Proteínas de *Mucuna pruriens* con potencial de inhibir el sistema Renina-Angiotensina. *Revista Latinoamericana de Hipertensión*. 2015;10(1):163-172.
- 16) Cather, J. C., & Cather, J. C. Cannabidiol primer for healthcare professionals. *Baylor University Medical Center Proceedings*. 2020;33(3):376–379.
- 17) Cerino P, Buonerba C, Cannazza G, D'Auria J, Ottoni E, Fulgione A, et al A Review of Hemp As Food and Nutritional Supplement. *Cannabis and Cannabinoid Research*. 2021;6(1).
- 18) Choi, M., Aiello, E. A., Ennis, I. L., & Villa-Abrille, M. C. El SRAA y el SARS-CoV-2: el acertijo a resolver. *Hipertensión y riesgo vascular*. 2020;37(4):169-175.
- 19) Coile, D. *Cannabis and CBD science for dogs: natural supplements to support healthy living and graceful aging*. Assisi Bio Press. (2016)
- 20) Cossio M, Gómez R, Vargas R, Rosalvo T. Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar. *Nutr Hosp*. 2013;28(6):2151-2156.
- 21) Cossio-Bolaños, Marco, Gómez Campos, Rossana, Vargas Vitoria, Rodrigo, Hochmuller Fogaça, Rosalvo Tadeu, & Arruda, Miguel de. Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar. *Nutrición Hospitalaria*, 2013;28(6):2151-2156.
- 22) Coronado M, Vega S Gutiérrez L, Vázquez M, Radilla C Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Rev Chil Nutr*. 2015;42(2):206 – 212.
- 23) Costa, B., Trovato, A., Comellii, F., Giagnoni, G. y Colleoni, M. El cannabidiol, constituyente no psicoactivo del cannabis, es un agente terapéutico eficaz por vía oral en el dolor inflamatorio y neuropático crónico en ratas. *Eur J Pharmacol* 2007;556(1):75–83.
- 24) Cruz A I. Efecto de la torta proteica de *Jatropha curcas*, sobre el perfil lipídico en ratas obesas [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma del Estado de Morelos: Facultad de Nutrición]. Archivo digital. (2019)

- 25) Cunha P, Romao A, Mascarenhas F, Teixeira H, Reis F. Endocannabinoid system in cardiovascular disorders - new pharmacotherapeutic opportunities. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 2011;3(3):350 – 360.
- 26) Daien, V.; Duny, Y.; Ribstein, J.; Du, C.G.; Mimran, A.; Villain, M.; Daures, J.P.; Fesler, P. Treatment of hypertension with renin-angiotensin system inhibitors and renal dysfunction: A systematic review and meta-analysis. *Am. J. Hypertens*. CrossRef. PubMed. 2012;25(1):126–132.
- 27) Dalal, J. J., Padmanabhan, T. N., Jain, P., Patil, S., Vasnawala, H., & Gulati, A. LIPITENSION: Interacción entre dislipidemia e hipertensión. *Revista india de endocrinología y metabolismo*. 2012;16(2):240–245.
- 28) Diagnóstico y Tratamiento de la Hipertensión Arterial en el Primer Nivel de Atención México: Instituto Mexicano del Seguro Social. 2014.
- 29) Díaz, A. V., Borges, R. R., Llerena, T. B., Duarte, R. F., & Iannacone, J. Biomodelo De Hipertensión Arterial En Ratas Wistar Administradas Con Solución Salina Al 10%. *Biotempo*. 2018;15(1):75-82.
- 30) Di V, Piscitelli F. y Mechoulam, R. Cannabinoides y endocannabinoides en trastornos metabólicos con enfoque en diabetes. *Mano Exp Pharmacol*. 2011; 203(1):75-104.
- 31) Dhopeswarkar, A.; Mackie, K. CB 2 Cannabinoid Receptors as a Therapeutic Target—What Does the Future Hold? *Mol. Pharmacol*. 2014;86(1):430–437.
- 32) ElSohly, M., Gul, W. In *Handbook of Cannabis*; Pertwee, R., Ed; Oxford University Press: Oxford. 2014;1(1):3-22.
- 33) Englund A, Morrison PD, Nottage J, Hague D, Kane F, Bonaccorso S. Cannabidiol inhibits THC elicited paranoid symptoms and hippocampal-dependent memory impairment. *J Psychopharmacol*. 2013;27(1):19-27.
- 34) Espinosa JC Cannabinoides en epilepsia: eficacia clínica y aspectos farmacológicos. *Neurología*. 2020;13(7):80-90.
- 35) Fernández S, Quiñones Mar, López N, Flanagan J. Efecto antihipertensivo de un nuevo extracto obtenido de la corteza de granada en ratas espontáneamente hipertensas. (2011)

- 36) Fichas técnicas del Centro de Información Online de Medicamentos de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (CIMA). En: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS). Madrid, España
- 37) Francois, H., & Lecru, L. The role of cannabinoid receptors in renal diseases. *Current Medicinal Chemistry*, 2018;25(7):793-801.
- 38) Gallelli, S. Calcagnini, A. Romano, J.B. Koczwara, M. de Ceglia, D. Dante, R. Villani, A.M. Giudetti, T. Cassano, S. Gaetani, Modulation of the oxidative stress and lipid peroxidation by endocannabinoids and their lipid analogues, *Antioxidants (Basel)* 2018;18(7).
- 39) Gertsch J, Leonti M, Raduner S, Racz I, Zhong J, Qun X, Heinz K, et al. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. *PNAS*. 2008;105(26):9099–9104.
- 40) Girgih A, Alashi A, Malomo S Aluko E. Preventive and treatment effects of a hemp seed (*Cannabis sativa* L.) meal protein hydrolysate against high blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Nutr*. 2014;53(1):1237–1246.
- 41) Girgih A, Udenigwe C, Li H, Adebisi A & Aluko R. Kinetics of Enzyme Inhibition and Antihypertensive Effects of Hemp Seed (*Cannabis sativa* L.) Protein Hydrolysates. *J Am Oil Chem Soc*. 2011;88:1767–1774.
- 42) Grotenhermen, F. Clinical pharmacodynamics of cannabinoids. In Russo (Eds) *Handbook of Cannabis Therapeutics*. Binghampton, New York: Haworth Press. (2006)
- 43) Guía de práctica clínica diagnóstico y tratamiento de las dislipidemias. *REV MED INST SOC*. 2016.
- 44) Guías de la Buena Práctica Clínica de la Conferencia Internacional de Armonización y en la Resolución 008430. La investigación biomédica con animales. 1993.
- 45) Guzmán Pastor, Usos medicinales del cannabis ¿Qué sabemos de sus propiedades curativas?, Catarata, Madrid. 2019;1:133-146.
- 46) Gyombolaia P, Papb D, Turua G, Cattc K, Bagdyb G & Hunyady LI Regulation of endocannabinoid release by G proteins: A paracrine mechanism of G protein-coupled receptor action. *Mol Cell Endocrinol*. 2012;353(0):29–36.

- 47)Hinojosa, M y Gutiérrez, I. El descubrimiento del cannabidiol, el principal componente del cannabis. Cannabis Magazine. 2017;157:99-105.
- 48)Hillard, C. J. The endocannabinoid signaling system in the CNS: A primer. International Review of Neurobiology. 2015;125(1):1–47.
- 49)Howlett A, Abood M CB1 and CB2 Receptor Pharmacology. Advances in Pharmacology. 2017;80:1054-3589.
- 50)Inserra F, González L, Stella I, Terragno N, Ferder L & Basso N Efecto de la inhibición crónica del sistema renina angiotensina sobre el daño cardiovascular propio de la edad en la rata normal. Revista Argentina de Cardiología. 2000;68 (5):99-105.
- 51)Ismail WM, Ezzat SM, Michel HE, El Deeb KS, El-Fishawy AM Enzima convertidora de angiotensina y actividades de inhibición de renina, propiedades antioxidantes, contenido fenólico y flavonoide de Cuphea ignea A. DC. J Rep Pharma Sci. 2020;9(1):92-6.
- 52)Jadoon K, Garry D. & O'Sullivan S single dose of cannabidiol reduces blood pressure in healthy volunteers in a randomized crossover study. Clinical Medicine. 2017;2(12):105-113.
- 53)Jimsheena VK, Gowda LR Arachin derived peptides as selective angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitors: structure-activity relationship Peptides. 2010;31(1):1165–1176
- 54)Jones, R. Cardiovascular system effects of marijuana. Journal of Clinical Pharmacology. 2002;42(1):58-63.
- 55)Jurgoński A, Opyd P & Fotschki B. Effects of native or partially defatted hemp seeds on hindgut function, antioxidant status and lipid metabolism in diet-induced obese rats. Journal of Functional Foods. 2020;71(1):104-07.
- 56)J W Fairbairn, J A Liebmann, M G Rowan. The stability of cannabis and its preparations on storage, Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2011;28(1):1–7
- 57)Kaschina, E. Cannabinoid CB1/CB2. Receptors in the Heart: Expression, Regulation, and Function. In Cannabinoids in Health and Disease; InTech: London, UK. 2016;1:0-13.

- 58) Karimi I, Hayatghaibi H. Effect of Cannabis sativa L. seed (Hempseed) on serum lipid and protein profiles of rat. *Pak J Nutr.* 2006;5(6):585-8.
- 59) Kathleen M, Escott-Stump S., Raymond J. Krause *Dietoterapia.* 13^a ed. España, S.L: ELSEVIER;2013.
- 60) Kaushal N, Dhadwal S, & Kaur P. Ameliorative effects of hempseed (*Cannabis sativa*) against hypercholesterolemia associated cardiovascular changes. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.* 2020;30(1):330-338.
- 61) Kaushal N, Gupta M, Kulshreshtha E. Hempseed (*Cannabis sativa*) lipid fractions alleviate high-fat diet-induced fatty liver disease through regulation of inflammation and oxidative stress. *Heliyon.* 202;6(1):44-52
- 62) Kicman A and Toczek M . The Effects of Cannabidiol, a Non-Intoxicating Compound of Cannabis, on the Cardiovascular System in Health and Disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;21(1):1 – 49
- 63) Kis B, Chen F, Buda V, Avram S, Zinuca I, Antal D. . Cannabidiol—from Plant to Human Body: A Promising Bioactive Molecule with Multi-Target Effects in Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(1):1 – 24.
- 64) KIT de ensayo de detección de inhibidores de renina. Cayman chemical. 10006270.
- 65) KIT de ensayo fluorométrico de actividad, Cayman chemical. CS0002
- 66) KIT ensayo fluorimétrico de colesterol. Cayman. 10007640-96
- 67) KIT ensayo colorimétrico de triglicéridos. Cayman Chemical. 10010303
- 68) Khushwant B, Ullah Z, Vasantha R. Antihypertensive activity of long chain fatty acid derivatives of flavonoids via inhibition of renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS), *Artery Research.* 2013;7(3-4):140–140.
- 69) Khushwant S, Bhullara G, Mohamed C, Touaibiab H, Rupasinghea V Antihypertensive effect of caffeic acid and its analogs through dual renin–angiotensin–aldosterone system inhibition. *European Journal of Pharmacology.* 2014;730(5):125-132
- 70) Kushiro T, Itakura H, Abo Y, Gotou H, Terao S, Keefe DL. Aliskiren, a novel oral renin inhibitor, provides dose-dependent efficacy and placebo-like tolerability in Japanese patients with hypertension. *Hypertens Res.* 2016;29:997-1005.

- 71) Klumpers L & Thacker D. A Brief Background on Cannabis: From Plant to Medical Indications. *Journal of AOAC International*. 2019;102(2).
- 72) Kratz J & García M. Manual sobre cannabis medicinal. Formación en el uso profesional y responsable de cannabinoides y terpenos. Kalapa Clinic. 1ra Ed. España: 2018.
- 73) Leimow L, Birnbaum J. CBD. El cannabis medicinal: Guía para el paciente. 1ª ed. Málaga: sirio; 2019.
- 74) Lepicier P, Lagneux M.G, Sirois, D. Lamontagne Endothelial CB1-receptors limit infarct size through NO formation in rat isolated hearts, *Life Sci*. 2017;8(1):1373–1380.
- 75) Ligresti A, De Petrocellis L, Di Marzo V From Phytocannabinoids to Cannabinoid Receptors and Endocannabinoids: Pleiotropic Physiological and Pathological Roles Through Complex Pharmacology. *Physiol Rev*. 2016;96(4):1593-659.
- 76) Lena S Cannabinoid-sensitive receptors in cardiac physiology and ischaemia. *BBA - Molecular Cell Research*. 2020;11(8):46-52.
- 77) Li J, Kaminski N, Wang D Anandamide-Induced Depressor Effect in Spontaneously Hypertensive Rats. *Hypertension*. 2003;41(2):757-762.
- 78) López C, Remacha A, Luna C & Layunta M Functional foods: health benefits and disease prevention bibliographic review. 2020;3(8):126.
- 79) Maa E. y Figi P. The case for medical marijuana in epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2014;55(6):783-786.
- 80) Malfitano AM, S. Basu, K. Maresz, M. Bifulco, B.N. Dittel What we know and do not know about the cannabinoid receptor 2 (CB2), *Semin. Immunol*. 2014;26(1): 369–379.
- 81) Malinowska¹ B, Toczek¹ M, Pędzińska A & Schlicker E. Cannabinoids in arterial, pulmonary and portal hypertension – mechanisms of action and potential therapeutic significance. *British Journal of Pharmacology*. 2019;17(6):1395–1411.
- 82) Malomo S, Onuh O, Girgih A, Aluko R.. Structural and Antihypertensive Properties of Enzymatic Hemp Seed Protein Hydrolysates. *Nutrients*. 2015;7(1): 7616 – 7632

- 83) Malomo S, He R, and Aluko R. Structural and Functional Properties of Hemp Seed Protein Products. *Journal of Food Science*. 2014;79(8):1512 – 1521
- 84) Martínez V, Iriando A, Borrelli F, Capasso R, Dolores M, Abalo R. Cannabidiol and Other Non-Psychoactive Cannabinoids for Prevention and Treatment of Gastrointestinal Disorders: Useful Nutraceuticals. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;3067(21):1 – 35.
- 85) Mechoulam R, Parker LA, Gallily R. Cannabidiol: an overview of some pharmacological aspects. *J Clin Pharmacol*. 2002;42(11):11–19.
- 86) Meza D, Rojas J, Gasco M & Gonzales David Efecto hipotensor del extracto de ajo (*allium sativum*) macerado por 18 semanas en un modelo experimental in vivo. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2014;31(3).
- 87) Micromedex Healthcare® Series. Greenwood Village, Colorado: Thomson Micromedex DRUGDEX® System; 1974-2012
- 88) McPartland JM, Russo EB Non-Phytocannabinoid Constituents of Cannabis and Herbal Synergy. In: Pertwee RG, editor. *Handbook of Cannabis*. Oxford, United Kingdom: Oxford University Press. 2014;1(1):280-95.
- 89) Montezano, M. Dulak-Lis, S. Tsiropoulou, A. Harvey, A.M. Briones, R.M. Oxidative stress and human hypertension: vascular mechanisms, biomarkers, and novel therapies, *Can. J. Cardiol*. 2015;31(1).
- 90) Moore, T., Zammit, S., Lingford-Hughes, A., Barnes, T., Jones, P., Burke, M. et al. El consumo de cannabis y el riesgo de resultados psicóticos o de salud mental afectivos: una revisión sistemática. *Lanceta*. 2007;370(1):319–328.
- 91) Nazarali A, Gutkind J, Correa F & Saavedra M. Enalapril decreases angiotensin II receptors in subfornical organ of SHR. (1989)
- 92) Nevalainen T, A.J. Irving GPR55, a lysophosphatidylinositol receptor with can_nabinoid sensitivity? *Curr. Top. Med. Chem*. 2010;10(1):799–813.
- 93) NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- 94) NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-030-SSA2-2009, Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica.

- 95) NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-037-SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias. Diario Oficial de la Federación. 2012.
- 96) Oh BH, Mitchell J, Herron JR, Chung J, Khan M, Keefe DL. Aliskiren, an oral renin inhibitor, provides dose-dependent efficacy and sustained 24-hour blood pressure control in patients with hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2007;49(1):1157-1163.
- 97) Oliveira, J. R., Ribeiro, G. H., Rezende, L. F., & Fraga-Silva, R. A. Plant terpenes on treating cardiovascular and metabolic disease: a review. *Protein and Peptide Letters*. 2021;28(7):750-760.
- 98) Olufisayo Gabriel. Ayoadea Idongesit Umohb Collins Amadia. Dyslipidemia and Associated Risk Factors among Nigerians with Hypertension. *Dubai Med*. 2020;3(1):155–161.
- 99) OMS. Prevención y control de las enfermedades cardiovasculares. Organización Mundial de la Salud. 2018.
- 100) Ormazabal, V., Nair, S., Elfeky, O., Aguayo, C., Salomon, C., & Zuñiga, F. A. Association between insulin resistance and the development of cardiovascular disease. *Cardiovascular diabetology*. 2018;17(1),0-122.
- 101) O’Sullivan, S.E. Endocannabinoids and the Cardiovascular System in Health and Disease. In *Endocannabinoids*; Springer: Cham, Switzerland. 2015:393–422.
- 102) O’Sullivan, S.E.; Sun, Y.; Bennett, A.J.; Randall, M.D.; Kendall, D.A Time-dependent vascular actions of cannabidiol in the rat aorta. *Eur. J. Pharmacol*. 2009;6(12):61–68.
- 103) Pacher P, Bátkai S, Kunos G. Blood pressure regulation by endocannabinoids and their receptors. *Neuropharmacology*. 2005;48(1):1130-8.
- 104) Pacher P, S. Steffens The emerging role of the endocannabinoid system in cardiovascular disease, *Semin. Immunopathol*. 2009;31(1):63–77.
- 105) Pacher P, S. Steffens, G. Hasko, T.H. Schindler, G. Kunos Cardiovascular effects of marijuana and synthetic cannabinoids: the good, the bad, and the ugly, *Nat. Rev. Cardiol*. 2018;15(1):151–166.

- 106) Pacifici, R., Marchei, E., Salvatore, F., Guandalini, L., Busardò, F. & Pichini, S. Evaluation of cannabinoids concentration and stability in standardized preparations of cannabis tea and cannabis oil by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2017;55(10):1555-1563.
- 107) Page R, Larry Ch, Allen MD, Kloner R, Carriker C, Martel C, Medical Marijuana, Recreational Cannabis and Cardiovascular Health. *Circulation*. 2020; 142(1):131–152.
- 108) Park F, Potukuchi PK, Moradi H & Kovesdy CP Cannabinoids and the kidney: effects in health and disease. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2017;1(1):313-5).
- 109) Puente Cobacho, B.d.l. Empleo en nutrición y fitoterapia de aceites de semillas ricos en ácidos grasos esenciales omega-3. Evidencias científicas. Universidad de Sevilla, Sevilla. 2020.
- 110) Puhl SL Cannabinoid-sensitive receptors in cardiac physiology and ischaemia. *BBA - Molecular Cell Research*. 2020;186(7):1184-92.
- 111) Pesce, M.; D'Alessandro, A.; Borrelli, O.; Gigli, S.; Seguela, L.; Cuomo, R.; Esposito, G.; Sarnelli, G. Endocannabinoid-related compounds in gastrointestinal diseases. *J. Cell. Mol. Med*. 2018;22(1):706–715.
- 112) Polia A, Barbagallo C, Ciceroc A, Corsinid A, Manzatoe E, et al. Trimarco Nutraceuticals and functional foods for the control of plasma cholesterol levels. An intersociety position paper. *Pharmacological Research*. 2018;13(4):51–60.
- 113) Potenza, M. A., Marasciulo, F. L., Tarquinio, M., Tiravanti, E., Colantuono, G., Federici, A & Montagnani, M. EGCG, a green tea polyphenol, improves endothelial function and insulin sensitivity, reduces blood pressure, and protects against myocardial I/R injury in SHR. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2007;292(5):1378-1387.
- 114) Puhl SL Cannabinoid-sensitive receptors in cardiac physiology and ischaemia. *BBA - Molecular Cell Research* 2020;186(7):1184-92.
- 115) Rader DJ. Dyslipidemia in insulin resistance: clinical challenges and adipocentric therapeutic frontiers. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2008;6(7):1007-22.

- 116) Ramírez-Sagredo, A., Ramírez-Reyes, A., Ocaranza, M. P., Chiong, M., Riquelme, J. A., Jalil, J. E., & Lavandero, S. Antihipertensivos en pacientes con COVID-19. *Revista chilena de cardiología*. 2020;39(1):66-74.
- 117) Remiszewski, P.; Jarocka-Karpowicz, I.; Biernacki, M.; Jastrz ́ab, A.; Schlicker, E.; Toczek, M.; Harasim-Symbor, E.; P ́edzi ́nska-Betiuk, A.; Malinowska, B. Chronic cannabidiol administration fails to diminish blood pressure in rats with primary and secondary hypertension despite its effects on cardiac and plasma endocannabinoid system, oxidative stress and lipid metabolism. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;2(1):129-35.
- 118) Rodríguez, M & Moreno, P Efectos terapéuticos de los cannabinoides. Madrid: Instituto universitario de Investigación en Neuroquímica de la Universidad. 2017;2(1):32-44.
- 119) Rojas, J., Ronceros, S., Palomino, R., Tomás, G., & Chenguayen, J. September. Efecto antihipertensivo y dosis letal 50 del jugo del fruto y del extracto etanólico de las hojas de *Passiflora edulis* (maracuyá), en ratas. In *Anales de la Facultad de Medicina*. 2006;67(3):206-213.
- 120) Rojo A. Cálculo del tamaño de muestra en procedimientos de experimentación con animales. *Valoración de las incidencias*. 2014;62(1):31-33.
- 121) Ross A., Caballero B., Cousins R.J., Tucker K.L & Ziegler T.R. *Nutrición en la salud y la enfermedad*. 11ª edición. Wolters Kluwer Health. Barcelona, España. 2014.
- 122) Russo EB & Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol*. 2011;163(7):1344-64.
- 123) Sadowska O, Baranowska M, Gromotowicz A, Biernacki M, Aleksandra A, Malinowska B, et al Cannabidiol Ameliorates Monocrotaline-Induced Pulmonary Hypertension in Rats *Int. J. Mol.* 2020;21(1):70-77
- 124) Sainz A., Heeroma H. The interaction between the endocannabinoid system and the renin-angiotensin system and its potential implication for COVID-19 infection. *J Cannabis Res*. 2020;2(23).
- 125) Salas J, Bonada A, Trallero R, Saló M, Burgos R *Nutrición y dietética clínica*. 4ta Ed. Elsevier. 2019. 756.

- 126) Salvetti A, Brogi G, Di Legge V, Bernini GP La interrelación entre la resistencia a la insulina y la hipertensión, drogas suplemento. 1993;46(2):149-59.
- 127) Santos M, KD Soares, BM Beltrame, NSB Toson, M. do Carmo B. Pimentel, SAL Bordignon, MA Apel, ASL Méndez, AT Henriques Composición polifenólica y efectos antihipertensivos y antiinflamatorios in vitro de *Cuphea lindmaniana* y *Cuphea urbaniana*. Chem. Biodiversidad. 2021;18(1).
- 128) Santiago M., Sachdev S., Arnold JC., McGregor IS. y Connor M Absence of entourage Terpenoids commonly found in cannabis sativa do not modulate the functional activity of Δ^9 -THC at human CB1 and CB2 receptors. Cannabis Cannabinoid Res. 2019;4(3):165-176.
- 129) Saucedo Lara, M. G., & Alcántara-Quintana, L. E Efecto terapéutico del cáñamo en problemas de hipertensión arterial y dislipidemia en modelos murinos. Revista Fesahanccal. 2022;8(1),5-14.
- 130) Serdan C., Murat Cihan., Doğan Yücel., Muhittin A Sample size, power and effect size revisited: simplified and practical approaches in pre-clinical, clinical and laboratory studies. Biochem Med (Zagreb). 2021;31(1):10-50.
- 131) Schaich C, Shaltout H, Brosnihan B, Howlett A & Diz D. Acute and chronic systemic CB1 cannabinoid receptor blockade improves blood pressure regulation and metabolic profile in hypertensive (mRen2)27 rats. Physiological Reports published by Wiley Periodicals. 2014;2(8):1 -13.
- 132) Silva, G. D. C. Impacto do tratamento com Enalapril associado ao treinamento físico sobre adaptações musculares em modelo experimental de hipertensão e menopausa. (2021).
- 133) Stanley, C.P.; Hind, W.H.; Tufarelli, C.; O'Sullivan, S.E. Cannabidiol causes endothelium-dependent vasorelaxation of human mesenteric arteries via CB1 activation. Cardiovasc. Res. 2015;10(7):568–578.
- 134) Steinberg B, Cannon C. Cannabinoid-1 Receptor Blockade in Cardiometabolic Risk Reduction; Safety, Tolerability, and Therapeutic Potential. Am J Cardiol. 2007;100(1):27-32.

- 135) Soca P & Sarmiento Y. Hipertensión arterial, un enemigo peligroso. ACIMED. 2012;20(3):90-95
- 136) Society for the Study of Ingestive Behavior "How cannabis affects appetite: Brain changes. ScienceDaily. 2018.
- 137) Stanley CP, Hind WH, O'Sullivan SE. Is the cardiovascular system a therapeutic target for cannabidiol? Br J Clin Pharmacol. 2013;75(2):313–322.
- 138) Stanley CP, Hind WH, Tufarelli C, O'Sullivan SE. Cannabidiol causes endothelium-dependent vasorelaxation of human mesenteric arteries via CB1 activation. Cardiovasc Res. 2015;107(4):568–578.
- 139) Stanley C, S.E. O'Sullivan Vascular targets for cannabinoids: animal and human studies, Br. J. Pharmacol. 2014;171(1):1361–1378.
- 140) Steffens S, P. Pacher The activated endocannabinoid system in atherosclerosis: driving force or protective mechanism? Curr. Drug Targets. 2015;16(1):334–341
- 141) Suppa JM. Cannabis medicinal: una cuestión de derechos. 1a ed. Buenos Aires: 2019.
- 142) Téllez M. Nutrición clínica. 2da Ed. México: El manual moderno S.A de C.V. 2014
- 143) Trindade C, Afonso L, Barros M & Marcon S. Hipertensión arterial y otros factores de riesgo asociados a las enfermedades cardiovasculares en adultos. Rev. Latino-Am.Enfermagem. 2014;22(4):548-52.
- 144) Toczek, M, B. Malinowska. Enhanced endocannabinoid tone as a potential target of pharmacotherapy, Life Sci. 2018;20(4):04-05.
- 145) Veilleux A, Vincenzo D, Silvestri C. The Expanded Endocannabinoid System/Endocannabinoidome as a Potential Target for Treating Diabetes Mellitus. Curr Diab Rep. 2019;19(1):1-12.
- 146) Vergara D, Gaudino R, Blank T, Keegan B Modeling cannabinoids from a large-scale sample of Cannabis sativa chemotypes. 2020;15(9).
- 147) Vincenzo D, Silvestri C. Lifestyle and Metabolic Syndrome: Contribution of the Endocannabinoidome. Nutrients. 2019;1956(11):1–24.

- 148) Walsh SK, Hepburn CY, Kane KA, Wainwright CL. Acute administration of cannabidiol in vivo suppresses ischaemia-induced cardiac arrhythmias and reduces infarct size when given at reperfusion. *Br J Pharmacol.* 2010;160(5):1234–1242.
- 149) Wang B, Kovalchuk A, Dongping Li, Rodriguez R, Ilnytskyy Y, Kovalchuk I, et al In search of preventive strategies: novel high-CBD Cannabis sativa extracts modulate ACE2 expression in COVID-19 gateway tissues. *AGING.* 2020;12(22).
- 150) Wanga T, Zhangd L, Zhanga Y & Li Q. Overactivation of cannabinoid receptor type1 in rostral ventrolateral medulla promotes cardiovascular responses in spontaneously hypertensive rats. 2016;34(1):1-8.
- 151) Wagner G Fisiopatología de la hipertensión arterial: nuevos conceptos. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia.* 2018;64(2):175-184.
- 152) Wheal, A.J.; Jadoon, K.; Randall, M.D.; O’Sullivan, S.E In vivo cannabidiol treatment improves endothelium-dependent vasorelaxation in mesenteric arteries of Zucker diabetic fatty rats. *Front. Pharmacol.* 2017;8-248.
- 153) Wing S.V, Kelly M Cannabinoids in the Cardiovascular System. *Advances in Pharmacology.* 2017;105(4):35-39.
- 154) Yang D, Zhidan Luo, Shuangtao M, Wong W, Zhong J, He H Activation of TRPV1 by Dietary Capsaicin Improves Endothelium-Dependent Vasorelaxation and Prevents Hypertension. *Cell Metabolism.* 2010;12(1):130–04.
- 155) Yangsud, J., Santasanasuwan, S., Ahkkarachinoreh, P Stability of cannabidiol, Δ^9 -tetrahydrocannabinol, and cannabinol under stress conditions. *ADV TRADIT MED (ADTM).* 2021;21(1):475–484.
- 156) Zarate Campos, D. S. Efecto hipotensor de la harina de *Linum usitatissimum* comparado con enalapril en *Rattus rattus* var. *albinus*. 2020.
- 157) Zhang HY, Gao M, Shen H, Bi GH y cols. Expression of functional cannabinoid CB2 receptor in VTA dopamine neurons in rats. *Addict Biol* [Epub ahead of print]. 2016.

X. ANEXOS

- LISTA DE MATERIALES Y REACTIVOS

PROCEDIMIENTO	MATERIAL / EQUIPO	¿DÓNDE SE ENCUENTRA?
DISEÑO DEL ALIMENTO FUNCIONAL	Pellets	Cubículo de Ciacyt.
	Extracto de Cáñamo	En el cuarto de cultivo, hielera azul.
	Alimento ya preparado	Se tienen posibles recetas
CUIDADO Y ADAPTACIÓN DEL MODELO MURINO	Modelo murino	Universidad Nacional Autónoma de México
	Bioterio	Facultad de Agronomía
	Bascula	Bioterio de la Facultad.
MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL	Pletismografo de cola	UNAM
MEDICIÓN DE INHIBICIÓN DE ENZIMA RENINA	KIT de ensayo de detección de inhibidores de renina. Cayman chemical. 10006270.	En Ciacyt. Laboratorio de salud total. Refrigerador de -20°C
	Fluorómetro con capacidad para medir la fluorescencia utilizando longitudes de onda de excitación de 335-345 nm y de emisión de 485-510 nm	En Ciacyt. Laboratorio de salud total. Cuarto de cultivo.
MEDICIÓN DE ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA	KIT de ensayo fluorométrico de actividad, Cayman chemical. CS0002	En Ciacyt. Laboratorio de salud total. Refrigerador de -20°C
	Lector de placas de fluorescencia para medir la fluorescencia utilizando longitudes de onda de excitación de 320nm y de emisión 405nm.	En Ciacyt. Laboratorio de salud total. Cuarto de cultivo.
MEDICIÓN DE COLESTEROL	KIT ensayo fluorimetrico de colesterol. Cayman. 10007640-96	En Ciacyt. Laboratorio de salud total. Refrigerador de -20°C
	Lector de placas fluorométrico capaz de medir la fluorescencia a una longitud de onda de excitación entre 530-540 nm y de emisión entre 585-595 nm	En Ciacyt. Laboratorio de salud total. Cuarto de cultivo.
DETERMINACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS	KIT ensayo colorimétrico de triglicéridos. Cayman Chemical. 10010303	En Ciacyt. Laboratorio de salud total. Refrigerador de -20°C
	Lector de placas fluorométrico capaz de medir la absorbancia a una longitud de onda 530 – 550nm	En Ciacyt. Laboratorio de salud total. Cuarto de cultivo

- ASPECTOS ÉTICOS Y DE BIOSEGURIDAD
-NORMAS INTERNACIONALES

De acuerdo con los principios establecidos en las Guías de la Buena Práctica Clínica de la Conferencia Internacional de Armonización y en la Resolución 008430 de octubre 4 de 1993. En el título V. *La investigación biomédica con animales*. Se considera los siguientes artículos.

Artículo 87. En toda investigación en la que los animales sean sujeto de estudio deberán tenerse en cuenta, además de las disposiciones determinadas en la Ley 84 de 1989, las siguientes:

A) Siempre que sean apropiados, deben usarse métodos tales como modelos matemáticos, simulación en computador y sistemas biológicos in vitro.

B) La experimentación en animales solamente se debe realizar después de estudiar su importancia para la salud humana o animal y para el avance del conocimiento biológico.

C) Los animales seleccionados para la experimentación deben ser de una especie y calidad apropiada, y utilizar el mínimo número requerido para obtener resultados científicamente válidos.

D) Solamente se emplearán animales adquiridos legalmente y se mantendrán en condiciones adecuadas y que cumplan con las reglamentaciones sanitarias vigentes.

E) Los investigadores y demás personal nunca deben dejar de tratar a los animales como seres sensibles y deben considerar como un imperativo ético el cuidado y uso apropiado y evitar o minimizar el discomfort, la angustia y el dolor.

F) Los investigadores deben presumir, qué procedimientos que causarían dolor en seres humanos también causen dolor en otras especies vertebradas.

G) Todo procedimiento, que pueda causar en los animales más que un dolor o una angustia momentánea o mínima, debe ser realizado con sedación, analgesia o anestesia apropiada y conforme con la práctica veterinaria aceptada. No se deben realizar procedimientos quirúrgicos o dolorosos en animales no anestesiados, paralizados por agentes químicos. La eutanasia de los animales se efectuará con anestésicos apropiados, aprobados por la asociación veterinaria.

- H) Cuando se requiera apartarse de lo establecido en el inciso anterior, la decisión no debe ser tomada solamente por el investigador directamente involucrado, sino que debe ser tomada por el Comité de Ética, establecido por la ley 84 de 1989.
- I) Al final del experimento, o cuando sea apropiado durante el mismo, los animales que puedan sufrir dolor crónico o severo, angustia, disconfort o invalidez que no pueda ser mitigada, deben ser sacrificados sin dolor.
- J) Los animales mantenidos con propósitos biomédicos deben tenerse en las mejores condiciones de vida, bajo la supervisión de veterinarios con experiencia en animales de laboratorio.
- K) El director del instituto, departamento o unidad donde se usen animales es el responsable de asegurar que los investigadores y demás personal tengan calificación apropiada o experiencia para realizar procedimientos en animales. Debe proporcionar oportunidades adecuadas de entrenamiento en servicio que incluya la preocupación por un trato humano y apropiado para con los animales que están bajo su cuidado.

ARTICULO 88. El uso de animales en la investigación, enseñanza y ensayos es aceptado solamente cuando promete contribuir a la comprensión y avance del conocimiento de los principios fundamentales biológicos o al desarrollo de mejores medios para la protección de la salud y el bienestar tanto del hombre como del animal.

ARTICULO 89. Los animales deben ser utilizados, en caso que el investigador haya descartado otras alternativas, para tal fin se sigue el principio de Russell Burch "3R", remplazo, reducción y refinamiento.

ARTICULO 90. Los bioterios deberán estar de acuerdo con la especie, conformación corporal, hábitos, preferencias posturales y características locomotoras de los animales, para proporcionarles comodidad, excepto cuando las variables experimentales justifiquen otras situaciones.

ARTICULO 91. Los bioterios de producción o mantenimiento crónico serán supervisados por el personal profesional calificado y competente en la materia y deberán permitir el crecimiento, maduración, reproducción y comportamiento

normal de los animales, de conformidad con las normas que la propia institución emita.

ARTICULO 92. El director de la institución donde se realice investigación en animales, deberá establecer y vigilar el cumplimiento de las medidas de seguridad para el cuidado y manejo de los animales, así como las medidas de profilaxis y vacunación necesarias para la protección del personal ocupacionalmente expuesto.

- NORMAS NACIONALES

- NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - salud ambiental - residuos peligrosos biológico – infecciosos - clasificación y especificaciones de manejo.
- REGLAMENTO de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario para la Producción, Investigación y Uso Medicinal de *Cannabis* y sus Derivados Farmacológicos.

- BENEFICIOS DE LA INVESTIGACIÓN

La realización de este protocolo permitirá la generación de nuevos conocimientos sobre el efecto que podría tener el aceite de cáñamo en dosis adecuadas de consumo diario para disminuir niveles de triglicéridos, colesterol y actuar sobre la enzima convertidora de angiotensina con una posterior disminución de la presión arterial, en un modelo murino de ratas con presión arterial inducida. Dicho lo anterior se pretende generar información concreta para la aplicación clínica o bien promover la investigación sobre el potencial efecto de dicho compuesto para beneficios a la salud de la población en general.

- DECLARACIÓN DE NO CONFLICTO DE INTERESES

San Luis Potosí, S.L.P. JULIO del 2022

Comité de Ética en Investigación del

Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la UASLP.

PRESENTE.

Por medio de la presente la estudiante responsable LN Mariana Guadalupe Saucedo Lara, declara ante el presente Comité de Ética del Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la UASLP, que para la ejecución del Protocolo de Investigación titulado: "EL ACEITE DE CANNABIS COMO ALIMENTO FUNCIONAL PARA CONTROLAR NIVELES DE COLESTEROL, TRIGLICÉRIDOS Y MEJORAR LA PRESIÓN ARTERIAL, EN UN MODELO MURINO" no existen potenciales conflictos de interés financieros, personales o de auditorías. Se declara que este protocolo de investigación es inédito y no se ha presentado a otro comité para su respectiva evaluación. La Dra. Luz Eugenia Alcántara Quintana desempeñará la función de Dirección Tesis de la estudiante de maestría, conseguirá los fondos económicos necesarios para la compra de materiales e insumos para el desarrollo de la investigación. El Dr. José Pérez Urizar participará como co-director del protocolo de investigación y asesorará al estudiante en la ejecución de la investigación tanto escrita como experimental. El Dr. Sergio Zarazúa Guzmán y el MC. Guillermo Castro Castillo, como asesores del protocolo, apoyaran a la estudiante en el proceso de desarrollo de su investigación. La LN Mariana Guadalupe Saucedo Lara, será la tesista responsable de la realización del trabajo experimental y de la escritura del protocolo, siguiendo las indicaciones de su director, co-director y asesores de tesis responsables.

Se firma de conformidad con lo declarado en este documento.

LN. Mariana Guadalupe Saucedo Lara

- COTIZACIÓN DE BIOMODELOS ANIMALES Y RENTA DE SALA DE INVESTIGACIÓN



San Luis Potosí, S.L.P. a 02 de octubre del 2021

No. Folio: CBU-COT-092

AT'N: Dra. Luz Alcántara
CIACYT

I) **Asunto:** Cotización de biomodelos animales y renta de sala de investigación

Cant.	Descripción	Precio/Unitario	Importe	Fecha de entrega
3	Balb/C machos de 14 semanas	\$122.50	\$367.50	18 de octubre del 2021
1	Renta de sala por mes: -Material de cama esterilizada -Agua purificada -Cajas estériles con rejilla y bebederos -Alimento importado: esterilizado Lab. Diet.	\$ 2,500.00	\$2,500.00	18 de octubre del 2021
			Subtotal	\$2,867.50
			I.V.A	N/A
			Total	\$2,867.50

*El usuario es totalmente responsable de la limpieza y alimentación de los biomodelos

II) Los biomodelos están clínicamente sanos y aptos para ser utilizados en protocolos de investigación, se garantiza que el ejemplar está limpio y no ha sido utilizado en otras pruebas.

Después de salir de las instalaciones del Centro de Biotecnología (Bioterio) no nos hacemos responsables del uso y manejo de biomodelos.

III) **Términos y condiciones de venta:**

- * Pago: Solicitamos a la brevedad la orden de trabajo o el comprobante de pago escaneado junto con sus datos fiscales en caso de requerir factura a centrodebiociencias@uaslp.mx
- * Los precios son en pesos mexicanos.
- * Tiempo de entrega: **programada en la solicitud**
- * Vigencia de la presente es por 30 días.
- * Precios sujetos a cambio sin previo aviso.

IV) **Datos Bancarios:**

UNIV.AUT. DE SAN LUIS POTOSI
BANAMEX Suc. 870 Cta.3366-0
CLABE: 002 180 0870 0033 660 2
REF: 822

UNIDAD ACADÉMICA BIOTERIO

Cotización No. **IFCUAB21-24**
Ciudad de México a 1 de junio del 2021.

A la atención de	Dra. Luz E. Alcántara Quintana
Institución	CIACyT, UASLP
email	luz.alcantara@uaslp.mx

Concepto	Cantidad	Precio Unitario	Importe
Rata SHR macho de 10 semanas de edad	18	\$ 600.00	\$ 9,600.00
La entrega de animales está sujeta a existencias			
		Sub Total	\$ 9,600.00
		IVA 18%	-no aplica-
		Total	\$ 9,600.00

F o r m a s d e p a g o

Usuarios externos a la UNAM	Dependencias de la UNAM
<p>a) Cheque nominativo a nombre de: Universidad Nacional Autónoma de México.</p> <p>b) Depósito en efectivo.</p> <p>c) Transferencia bancaria.</p> <p>Antes de efectuar cualquier forma de pago debe ponerse en contacto con el Lic. Pablo Montiel González 56 22 56 78 ó pmontiel@ifc.unam.mx Solicitando datos para realizar el pago (Convenio, referencia y concepto)</p> <p>Notas: El número de referencia es único para cada depósito. No utilizar el número de referencia más de una vez.</p> <p>Una vez efectuado el pago, enviarlo por correo a pmontiel@ifc.unam.mx y crivera@ifc.unam.mx junto con los datos de facturación con objeto de proporcionarle el servicio solicitado y a la vez enviarle la factura correspondiente.</p>	<p>Tramitar oficio ante la Contaduría General de la UNAM, precisando el servicio proporcionado anotando el número de cotización.</p> <p>Para el pago indicar una de las siguientes cuentas contables de acuerdo al origen de recursos:</p> <p>206.326.010 DGAPA (PAPIIT, PAPIME) F.M. C/R y Oficio 209.326.010 Ingresos Extraordinarios Oficio Presupuesto UNAM. Comunicarse con CP Ángel Cedillo al 56225600 Una vez realizado el trámite enviar copia de los documentos correspondientes por correo a: pmontiel@ifc.unam.mx y crivera@ifc.unam.mx con objeto de proporcionarle el servicio solicitado.</p> <p>Pagos con recursos del CONACyT Tramitar oficio ante el Departamento de Ingresos de la UNAM, solicitando Certificado de Depósito con abono a la cuenta 209.326.010 y anotando el número de cotización.</p> <p>Una vez obtenido el Certificado de Depósito, enviar copia por correo a: pmontiel@ifc.unam.mx y crivera@ifc.unam.mx con objeto de proporcionarle el servicio solicitado.</p>

LOS DEPOSITOS DEBEN SER EXACTOS, EN CASO CONTRARIO NO RESPONDEMOS POR ESTOS.
LA VIGENCIA DE ESTA COTIZACIÓN ES DE 15 DÍAS NATURALES.

Atentamente,

MVZ Claudia Verónica Rivera Cerecedo
crivera@ifc.unam.mx,

- CARTA DE APROBACIÓN POR LA COMISIÓN FEDERAL PARA LA PROTECCIÓN CONTRA RIESGOS SANITARIO



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



COFEPRIS
COMISIÓN FEDERAL PARA LA PROTECCIÓN
CONTRA RIESGOS SANITARIOS

Ciudad de México, 1º de junio de 2021

Dra. Luz Eugenia Alcántara Quintana

CIACYT, UASLP

Investigador Principal

Unidad de Innovación y Diagnóstico en Biología celular y Molecular

PRESENTE:

Con base a su solicitud con fecha de Julio del año 2020, y después de aprobarse el REGLAMENTO DE LA LEY GENERAL DE SALUD EN MATERIA DE CONTROL SANITARIO PARA LA PRODUCCIÓN, INVESTIGACIÓN Y USO MEDICINAL DE LA CANNABIS Y SUS DERIVADOS FARMACOLÓGICOS, en el año 2021, se le informa que después de evaluar su protocolo "Análisis de productos y metabolitos de Cannabis como producto natural para su uso en enfermedades crónico degenerativas". Este último se encuentra aprobado. Con el número de registro T89-21-07-UID y su duración es TRIANUAL.

Sírvase, reportar a esta unidad, el avance de el proyecto y se anexa las obligaciones y compromisos que debe cumplir anualmente.

Sin más por el momento, le enviamos un cordial saludo

COMISION DE AUTORIZACION SANITARIA
ENCARGADO DEL DESPACHO
Lic. José Luis Berúmen Jimenez

- CARTA DE APROBACIÓN POR EL INSTITUTO DE FISIOLÓGIA CELULAR DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.



Respuesta solicitud de aprobación uso animales de laboratorio
IFCUAB21-24
 Ciudad de México a 1 de junio del 2021.

A la atención de	Dra. Luz E. Alcántara Quintana
Institución	CIACyT, UASLP
email	luz.alcantara@uaslp.mx

Por medio de la presente le informamos la **aprobación IFCUAB21-24 CICUAL**, para el uso de 16 ratas SHR machos de 10 semanas de gestación para la realización de la tesis de maestría de la alumna Mariana Saucedo Lara, inscrita en el posgrado de Ciencias Farmacobiologicas de la UASLP.

El CICUAL actualmente integrado por nueve miembros de la comunidad académica, de la UNAM. Da su visto bueno para que los animales sean trasladados al Centro de Biociencias de la UASLP, en donde se llevara a cabo el protocolo de la alumna.

El CICUAL esta involucrado con el cuidado y uso de los animales de laboratorio, y también incluye dos miembros externos de la comunidad UNAM. Utilizamos como base para su evaluación las Normas Oficiales Mexicanas que aplican para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (NOM-062-ZOO-1999, NOM-087-ZOO-1999), la edición en español más reciente de la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (NOM/GCUAL), así como otros documentos pertinentes para el bienestar animal, como por ejemplo, las guías del Canadian Council on Animal Care.

Sin más por el momento le solicitamos informe al comité CICUAL, el avance de el protocolo titulado "EL CÁÑAMO COMO ALIMENTO FUNCIONAL PARA CONTROLAR NIVELES DE COLESTEROL, TRIGLICÉRIDOS Y MEJORAR LA PRESIÓN ARTERIAL, EN UN MODELO MURINO", y el destino final o tipo de eutanasia para los animales sollicitados.

Sin más por el momento mis mas distinguidas consideraciones

Atentamente,

MVZ Claudia Verónica Rivera Cerecedo
crivera@ifc.unam.mx

- ANÁLISIS VIROLÓGICO, MICROBIOLÓGICO Y PARASITOLÓGICO DEL
MODELO MURINO SHR

Rat Report

Mexico

Location UNAM		Health Status VAF		Most Recent		Past 18 Months
Summary Item	Method	Primary Lab	Test Date	Positive / Tested	Positive / Tested	
Virology						
SEND aa	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 328	
PVM aa	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 328	
SDAV ad	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 328	
KRV ad	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 328	
H1 ad	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 328	
RPV ad	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 328	
RMV ad	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 328	
REO aa	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 328	
RTV ad	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 328	
LCMV aa	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 128	
HANT aa	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 152	
MAV aa	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 152	
Microbiology						
<i>B. bronchiseptica</i> ba	Culture	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 56	
CAR Bacillus (<i>F. rodentium</i>) aa	MFIA/PCR	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 152	
<i>C. kutscheri</i> aa	Culture	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 56	
<i>H. bits</i> aa	PCR	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 72	
<i>H. hepaticus</i> aa	PCR	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 72	
<i>Helicobacter</i> sp. aa	PCR	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 72	
<i>K. oxytoca</i> ca	Culture	RADS US	08-Feb-2022	4 / 12	4 / 56	
<i>K. pneumoniae</i> ca	Culture	RADS US	08-Feb-2022	8 / 12	22 / 56	
<i>M. pulmonis</i> ad	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 328	
<i>P. multocida</i> ba	Culture	RADS US	08-Feb-2022	0 / 8	0 / 48	
<i>R. heylii</i> ba	Culture/PCR	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 56	
<i>R. pneumotropicus</i> ba	Culture/PCR	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 56	
<i>P. aeruginosa</i> ca	Culture	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 56	
<i>Salmonella</i> spp. aa	Culture	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 56	
<i>Staph. aureus</i> ca	Culture	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	8 / 56	
<i>S. moniliformis</i> af	PCR	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 24	
<i>Strep. pneumoniae</i> ba	Culture	RADS US	08-Feb-2022	12 / 12	20 / 56	
Beta Strep. sp. - Grp B ca	Culture	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 56	
Beta Strep. sp. - Grp G ca	Culture	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 56	
Beta Strep. sp. ca	Culture	RADS US	08-Feb-2022	0 / 8	0 / 48	
<i>Pneumocystis</i> spp. bd	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 328	
Tyzzler's Disease ag	Exam	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 72	
Pathology						
Gross Exam ai	Exam, Histopathol	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 72	

Rat Report

Mexico

Location UNAM		Health Status VAF			
Summary Item	Method	Primary Lab	Most Recent		Past 18 Months
			Test Date	Positive / Tested	Positive / Tested
Parasitology					
<i>Ectoparasites</i> ae	Exam	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 56
<i>Helminths</i> ae	Exam	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 56
<i>Giardia sp.</i> ae	Exam	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 56
<i>Spiroplasma sp.</i> ae	Exam	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 56
<i>Other Protozoa</i> ce	Exam	RADS US	08-Feb-2022	0 / 12	0 / 56
<i>E. cuniculi</i> ae	MFIA	RADS US	31-Mar-2022	0 / 16	0 / 128

* dashes indicate not tested during specified period.

HOUSED STRAINS

Inbred	Hybrid
CDF	ZSF1LEAN
SHHF-+/?	ZSF10B
SHHF-K	
SHR	
ZDF FA/+	
ZDF FA/FA	

COLONY POLICY FOR POSITIVE RESULT: a = immediate termination; b = planned future recycle of the colony; c = no action.

TESTING SCHEDULE: d = screened every four weeks; e = screened quarterly; f = screened annually; g = screened quarterly by necropsy examination; i = results do not include incidental or strain related findings; significant findings would result in immediate termination of the colony.

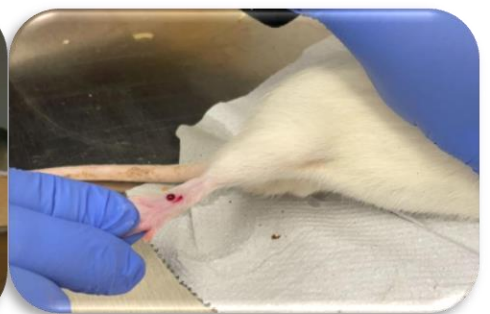
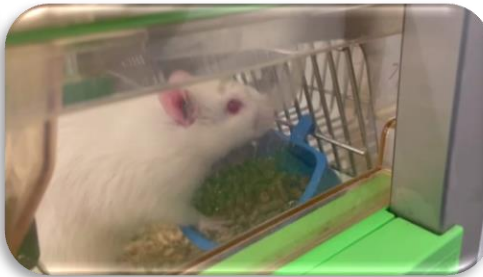
- CRONOGRAMA

ACTIVIDAD	TIEMPO DE DURACIÓN						
	ENERO JULIO	AGOSTO SEPTIEMBRE	OCTUBRE NOVIEMBRE	DICIEMBRE ENERO	FEBRERO MARZO	ABRIL MAYO	JUNIO JULIO
Diseño del protocolo de investigación							
Ensayo de inhibición de RENINA							
Diseño del alimento funcional							
Cuidados y adaptación del animal							
Administración de alimento funcional							
Evaluación de presión arterial y peso corporal							
Análisis de colesterol							
Análisis de triglicéridos							
Ensayo de inhibición de ECA							
Análisis de datos							
Publicación de resultados							

- EVIDENCIA DE DEL DISEÑO DEL ALIMENTO TIPO PELLETS.



- EVIDENCIA DEL CUIDADO DEL MODELO MURINO: SHR.



- RESULTADOS DEL ANÁLISIS POR HPLC DEL ACEITE DE CANNABIS Y DE LOS PELLETS CON EL EXTRACTO ADMINISTRADOS.



Created with: SCIEX OS 2.1.6
Printed:4/28/2022 5:14:02 PM

Analyte Name: CBD-1
Internal Standard: N/A

Data File	28ABR2022.wiff	Result Table	ALIMENTO Y ACEITE_28ABR2022
Processing Method	CBD-THC_03DIC2021.qmethod	Algorithm Used	AutoPeak
Acquisition Date	4/28/2022 2:19:46 PM	Project	Default
Acquisition Method	CBD-THC_24NOV2021.dam	Instrument Name	QTRAP 6500+ Low Mass

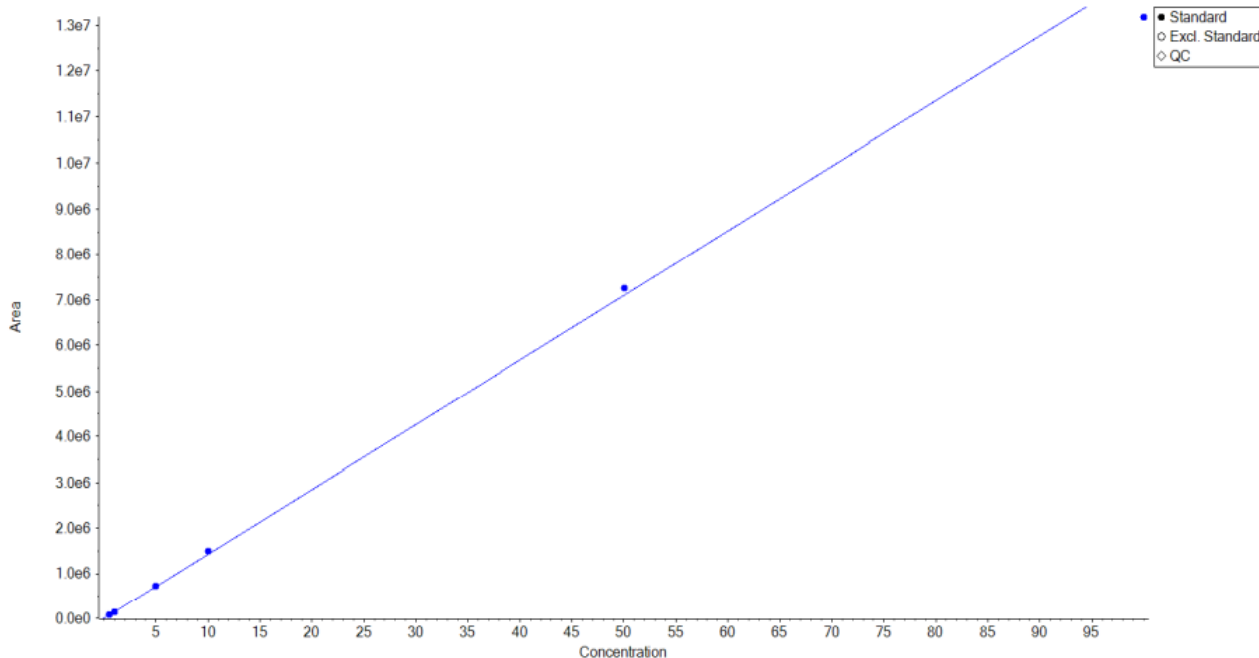
Summary

Index	Sample Name	Sample Type	Actual Concentration	Tr	Area	Tr I.S.	I.S. Area	Area Ratio	Calculated concentration	N° Vial	Acquisition Date	Accuracy	S/N
1	BCO	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1	4/28/2022 2:19:46 PM	N/A	N/A
2	CC1	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2	4/28/2022 2:23:44 PM	N/A	N/A
3	CC2	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	3	4/28/2022 2:27:48 PM	N/A	N/A
4	CC3	Standard	0.500	2.13	77146.9102	N/A	N/A	N/A	0.508	4	4/28/2022 2:31:50 PM	101.67	93.54
5	CC4	Standard	1.000	2.13	140786.9166	N/A	N/A	N/A	0.957	5	4/28/2022 2:35:51 PM	95.69	156.91
6	CC5	Standard	5.000	2.13	733111.1077	N/A	N/A	N/A	5.132	6	4/28/2022 2:39:55 PM	102.63	467.80
7	CC6	Standard	10.000	2.12	1491529.6886	N/A	N/A	N/A	10.477	7	4/28/2022 2:43:59 PM	104.77	646.66
8	CC7	Standard	50.000	2.13	7267093.1836	N/A	N/A	N/A	51.184	8	4/28/2022 2:48:01 PM	102.37	1311.63
9	CC8	Standard	100.000	2.13	13181698.0395	N/A	N/A	N/A	92.872	9	4/28/2022 2:52:04 PM	92.87	1845.29
10	ACEITE-CBD_1	Unknown	N/A	2.12	159600.0354	N/A	N/A	N/A	1.090	12	4/28/2022 3:42:23 PM	N/A	12.40
11	ACEITE-CBD_2	Unknown	N/A	2.12	164986.6446	N/A	N/A	N/A	1.127	12	4/28/2022 3:46:24 PM	N/A	10.92
12	ACEITE-CBD_3	Unknown	N/A	2.12	152661.3758	N/A	N/A	N/A	1.041	12	4/28/2022 3:50:24 PM	N/A	10.06
13	ALIMENTO_CBD_1	Unknown	N/A	2.13	815285.7553	N/A	N/A	N/A	5.711	10	4/28/2022 3:54:22 PM	N/A	28.91
14	ALIMENTO_CBD_2	Unknown	N/A	2.13	728312.6808	N/A	N/A	N/A	5.098	10	4/28/2022 3:58:25 PM	N/A	23.35
15	ALIMENTO_CBD_3	Unknown	N/A	2.16	718700.6086	N/A	N/A	N/A	5.030	10	4/28/2022 4:02:26 PM	N/A	20.20
16	ACEITE_TH C_1	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	13	4/28/2022 4:06:28 PM	N/A	N/A
17	ACEITE_TH C_2	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	13	4/28/2022 4:10:28 PM	N/A	N/A
18	ACEITE_TH C_3	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	13	4/28/2022 4:14:29 PM	N/A	N/A
19	ALIMENTO_THC_1	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	14	4/28/2022 4:18:30 PM	N/A	N/A
20	ALIMENTO_THC_2	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	14	4/28/2022 4:22:31 PM	N/A	N/A
21	ALIMENTO_THC_3	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	14	4/28/2022 4:26:31 PM	N/A	N/A

Compound Name:
Regression Equation:
Correlation Coefficient: R2 =

Regression Equation: $y = 1.41880e5 x + 5024.78104$ ($r = 0.99859$, $r^2 = 0.99718$) (weighting: $1 / x^2$)

Expected Concentration	Number of Values	Mean Calculated Concentration (ng/mL)	Average Accuracy across Replicates	Std. Deviation	%CV
0.500	1 of 1	0.5083	101.7	N/A	N/A
1.000	1 of 1	0.9569	95.7	N/A	N/A
5.000	1 of 1	5.1317	102.6	N/A	N/A
10.000	1 of 1	10.4772	104.8	N/A	N/A
50.000	1 of 1	51.1844	102.4	N/A	N/A
100.000	1 of 1	92.8717	92.9	N/A	N/A



Calibration curve for CBD-1
Regression Equation: $y = 1.41880e5 x + 5024.78104$ ($r = 0.99859$, $r^2 = 0.99718$) (weighting: $1 / x^2$)

Analyte Name: THC-1
Internal Standard: N/A

Data File	28ABR2022.wiff	Result Table	ALIMENTO Y ACEITE_28ABR2022
Processing Method	CBD-THC_03DIC2021.qmethod	Algorithm Used	AutoPeak
Acquisition Date	4/28/2022 2:19:46 PM	Project	Default
Acquisition Method	CBD-THC_24NOV2021.dam	Instrument Name	QTRAP 6500+ Low Mass

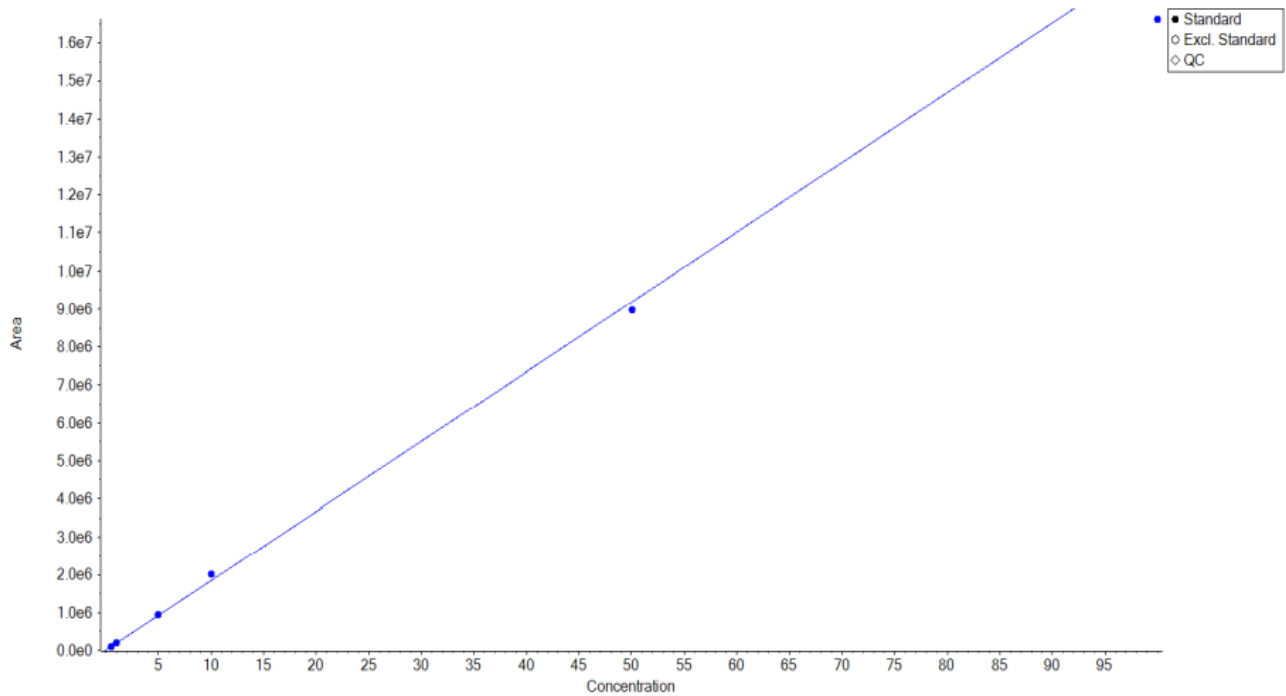
Summary

Index	Sample Name	Sample Type	Actual Concentration	Tr	Area	Tr I.S.	I.S. Area	Area Ratio	Calculated concentration	N° Vial	Acquisition Date	Accuracy	S/N
1	BCO	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1	4/28/2022 2:19:46 PM	N/A	N/A
2	CC1	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2	4/28/2022 2:23:44 PM	N/A	N/A
3	CC2	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	3	4/28/2022 2:27:48 PM	N/A	N/A
4	CC3	Standard	0.500	2.81	99639.7846	N/A	N/A	N/A	0.495	4	4/28/2022 2:31:50 PM	98.94	103.15
5	CC4	Standard	1.000	2.82	193892.4829	N/A	N/A	N/A	1.008	5	4/28/2022 2:35:51 PM	100.83	191.94
6	CC5	Standard	5.000	2.81	946574.3330	N/A	N/A	N/A	5.110	6	4/28/2022 2:39:55 PM	102.19	526.02
7	CC6	Standard	10.000	2.81	2025653.5929	N/A	N/A	N/A	10.990	7	4/28/2022 2:43:59 PM	109.89	643.65
8	CC7	Standard	50.000	2.81	8967912.1406	N/A	N/A	N/A	48.817	8	4/28/2022 2:48:01 PM	97.63	1297.79
9	CC8	Standard	100.000	2.81	16618816.0309	N/A	N/A	N/A	90.507	9	4/28/2022 2:52:04 PM	90.51	1913.17
10	ACEITE-CBD_1	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	12	4/28/2022 3:42:23 PM	N/A	N/A
11	ACEITE-CBD_2	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	12	4/28/2022 3:46:24 PM	N/A	N/A
12	ACEITE-CBD_3	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	12	4/28/2022 3:50:24 PM	N/A	N/A
13	ALIMENTO_CBD_1	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	10	4/28/2022 3:54:22 PM	N/A	N/A
14	ALIMENTO_CBD_2	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	10	4/28/2022 3:58:25 PM	N/A	N/A
15	ALIMENTO_CBD_3	Unknown	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	10	4/28/2022 4:02:26 PM	N/A	N/A
16	ACEITE_TH C_1	Unknown	N/A	2.83	1894807.0499	N/A	N/A	N/A	10.277	13	4/28/2022 4:06:28 PM	N/A	453.45
17	ACEITE_TH C_2	Unknown	N/A	2.82	1875397.4747	N/A	N/A	N/A	10.171	13	4/28/2022 4:10:28 PM	N/A	619.97
18	ACEITE_TH C_3	Unknown	N/A	2.81	1899773.1935	N/A	N/A	N/A	10.304	13	4/28/2022 4:14:29 PM	N/A	740.44
19	ALIMENTO_THC_1	Unknown	N/A	2.81	11782214.9633	N/A	N/A	N/A	64.152	14	4/28/2022 4:18:30 PM	N/A	2208.82
20	ALIMENTO_THC_2	Unknown	N/A	2.81	11805858.0225	N/A	N/A	N/A	64.281	14	4/28/2022 4:22:31 PM	N/A	2450.74
21	ALIMENTO_THC_3	Unknown	N/A	2.82	11228917.2200	N/A	N/A	N/A	61.138	14	4/28/2022 4:26:31 PM	N/A	2414.04

Compound Name:
Regression Equation:
Correlation Coefficient: R2 =

Regression Equation: $y = 1.83522e5 x + 8849.09800$ ($r = 0.99738$, $r^2 = 0.99476$) (weighting: $1 / x^2$)

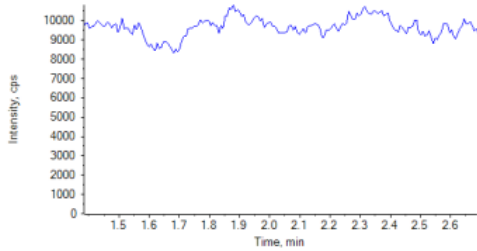
Expected Concentration	Number of Values	Mean Calculated Concentration (ng/mL)	Average Accuracy across Replicates	Std. Deviation	%CV
0.500	1 of 1	0.4947	98.9	N/A	N/A
1.000	1 of 1	1.0083	100.8	N/A	N/A
5.000	1 of 1	5.1096	102.2	N/A	N/A
10.000	1 of 1	10.9895	109.9	N/A	N/A
50.000	1 of 1	48.8174	97.6	N/A	N/A
100.000	1 of 1	90.5067	90.5	N/A	N/A



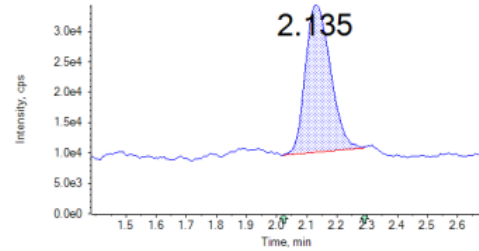
Calibration curve for THC-1
Regression Equation: $y = 1.83522e5 x + 8849.09800$ ($r = 0.99738$, $r^2 = 0.99476$) (weighting: $1 / x^2$)

ANALYTE: CBD

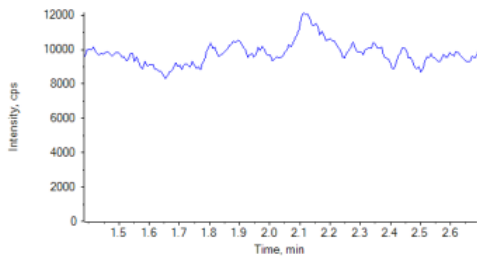
BCO



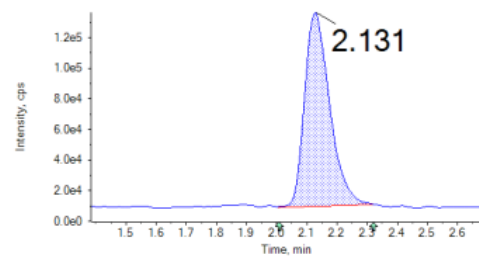
CC4



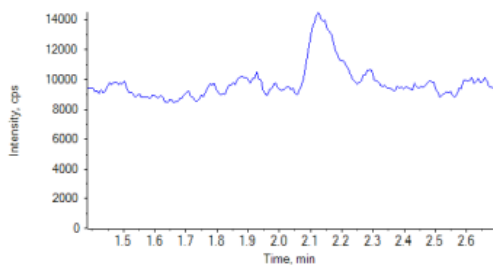
CC1



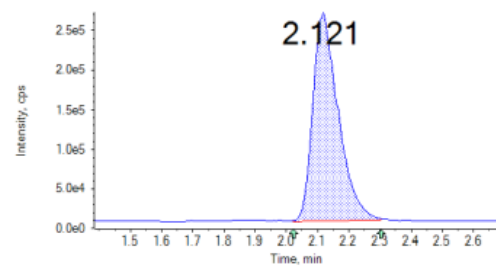
CC5



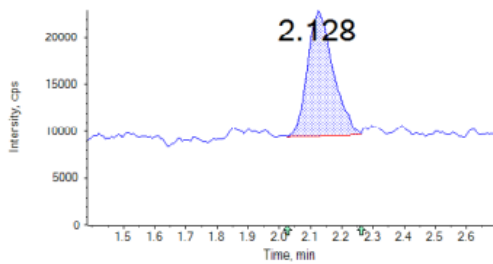
CC2



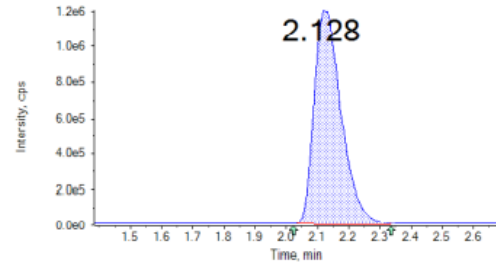
CC6



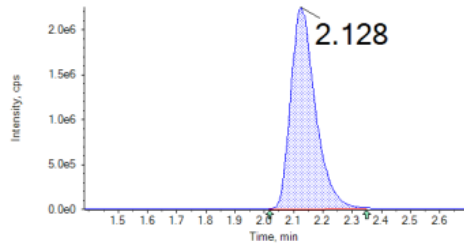
CC3



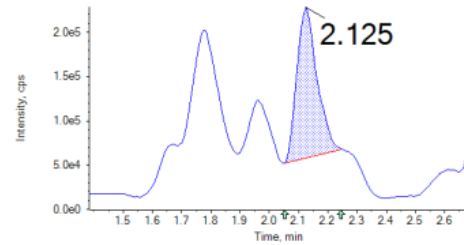
CC7



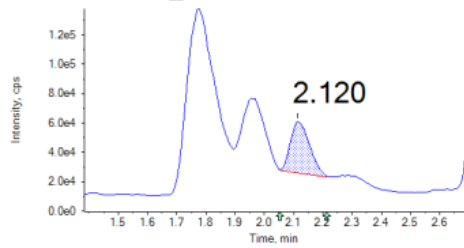
CC8



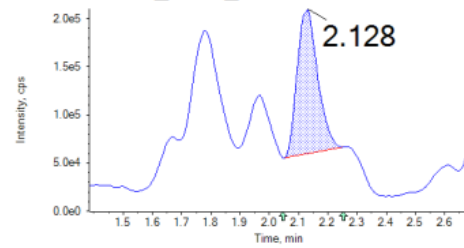
ALIMENTO_CBD_1



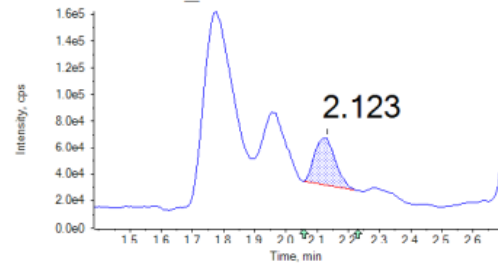
ACEITE-CBD_1



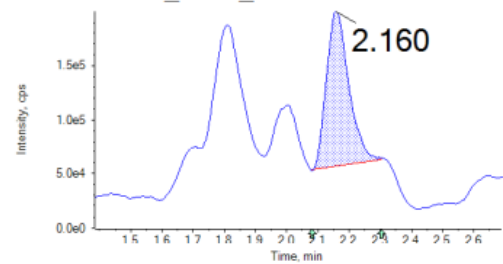
ALIMENTO_CBD_2



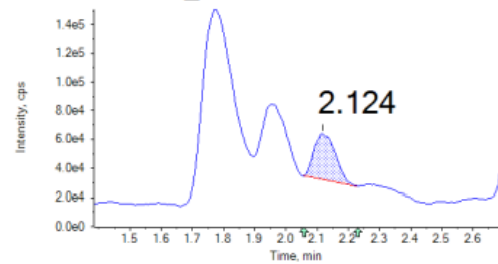
ACEITE-CBD_2



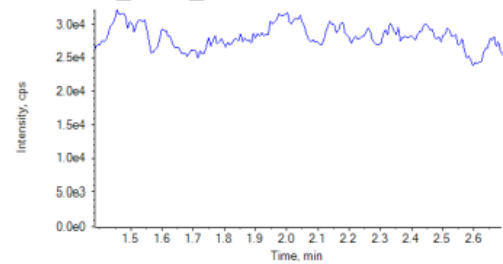
ALIMENTO_CBD_3



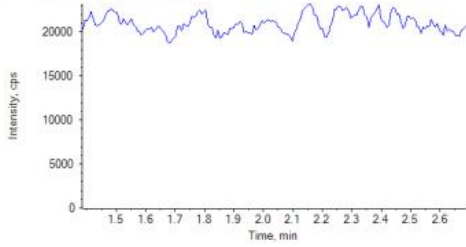
ACEITE-CBD_3



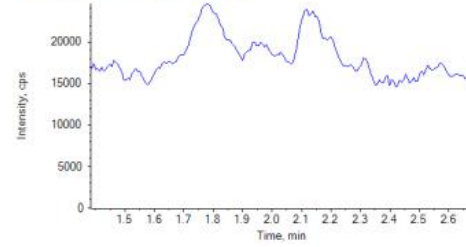
ACEITE_THC_1



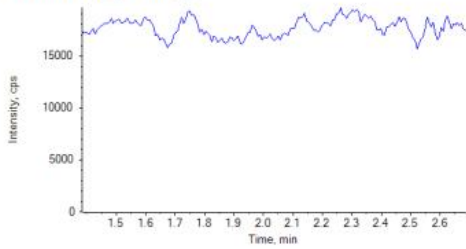
ACEITE_THC_2



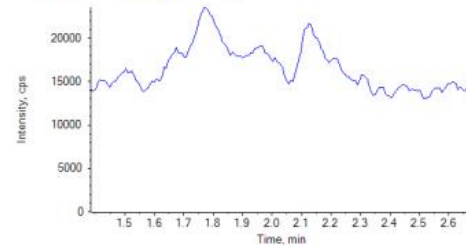
ALIMENTO_THC_1



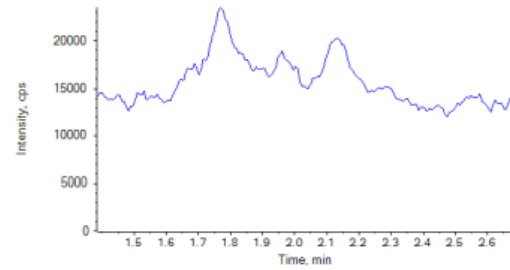
ACEITE_THC_3



ALIMENTO_THC_2

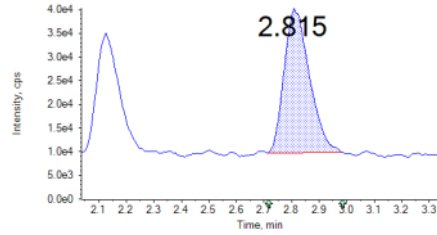
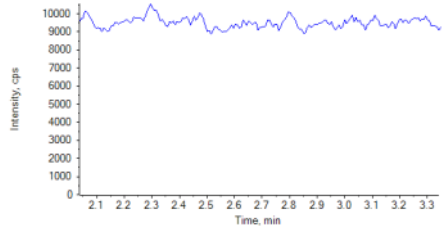


ALIMENTO_THC_3

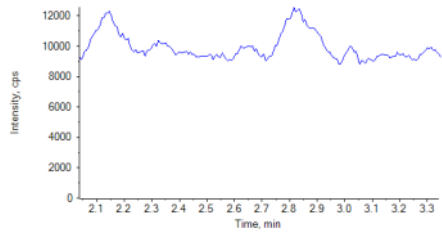


ANALYTE: THC

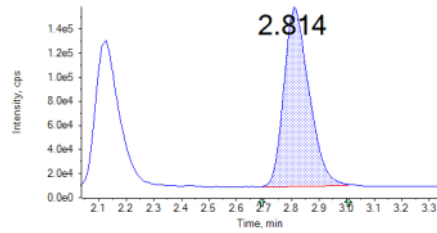
BCO



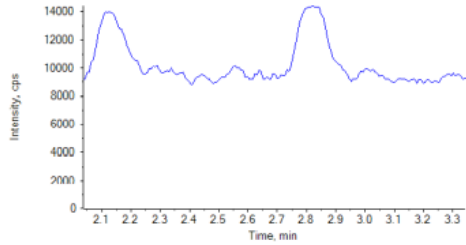
CC1



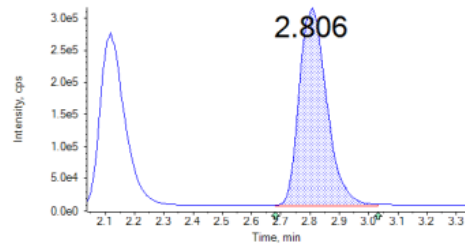
CC5



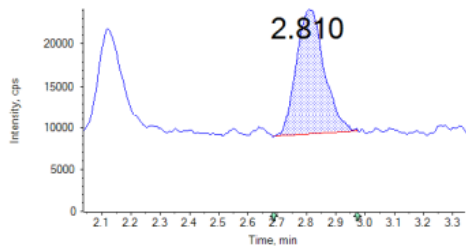
CC2



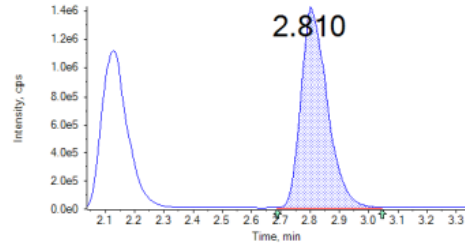
CC6



CC3

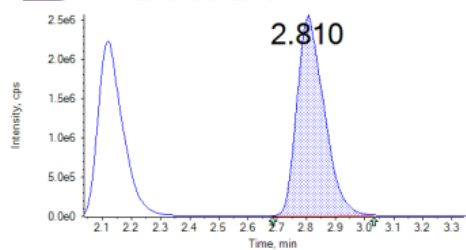


CC7

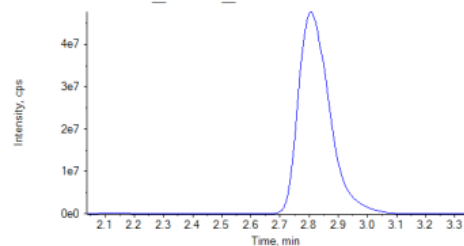


CC4

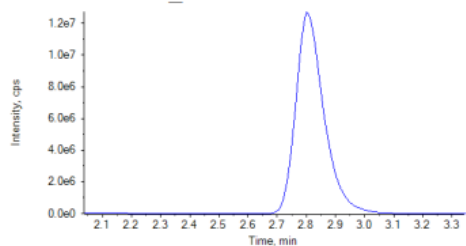
CC8



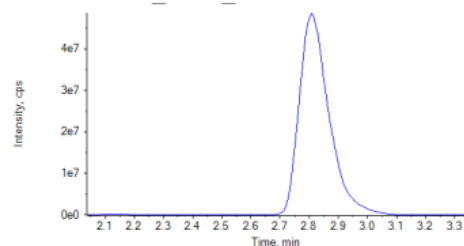
ALIMENTO_CBD_1



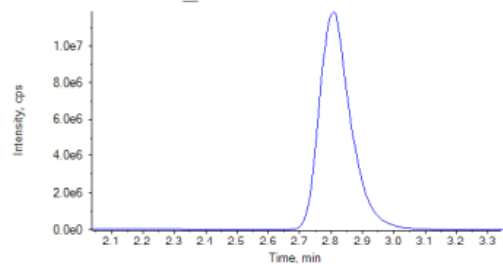
ACEITE-CBD_1



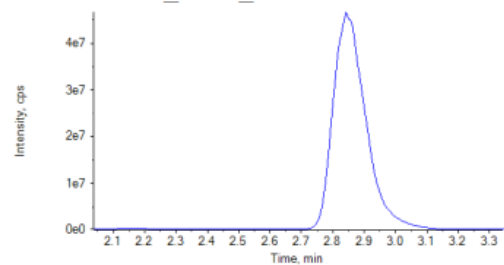
ALIMENTO_CBD_2



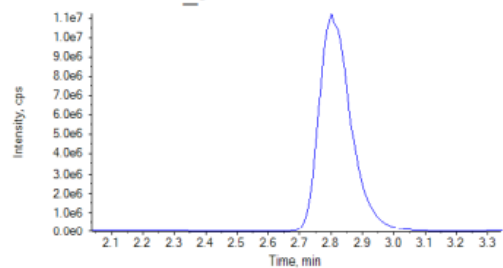
ACEITE-CBD_2



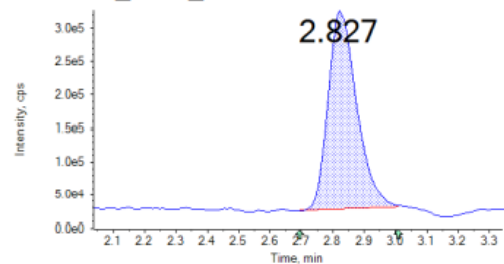
ALIMENTO_CBD_3



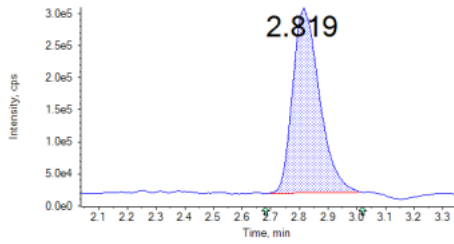
ACEITE-CBD_3



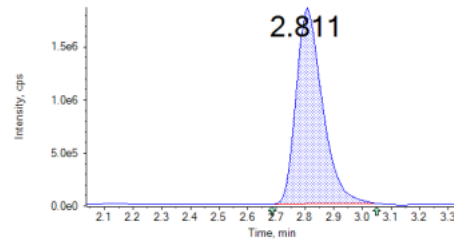
ACEITE_THC_1



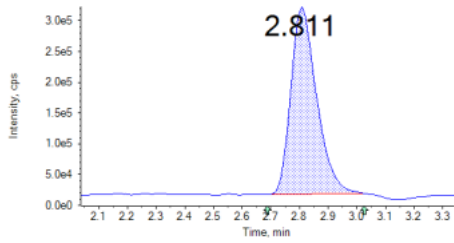
ACEITE_THC_2



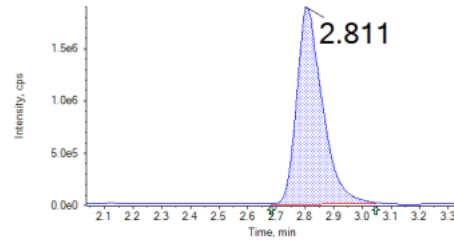
ALIMENTO_THC_1



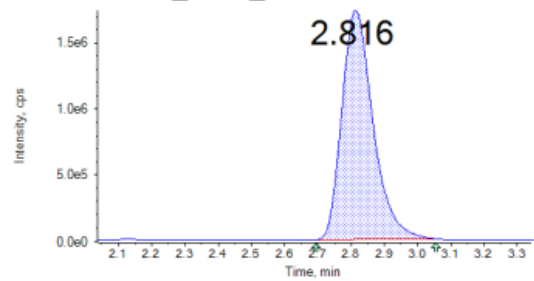
ACEITE_THC_3



ALIMENTO_THC_2



ALIMENTO_THC_3



- DISEÑO DEL ETIQUETADO NUTRICIONAL DEL ALIMENTO TIPO PELLET

INFORMACIÓN NUTRIMENTAL	
NUTRIENTES	
COMPONENTES	PROPORCIÓN EN EL ALIMENTO
Proteína	13 – 14 %
Grasa	3 – 4 %
Calcio	0.5 %
Fibra	15 %
Humedad	14 %
RECOMENDACIÓN INGESTA DIARIA	
PESO PROMEDIO DEL ROEDOR	PORCIÓN DE PELLETS
300g	30g
INGREDIENTES	
<p>Ingredientes de los pellets: Alfalfa curada al sol, maíz molido, harina de soja descascarada, avena molida, trigos de trigo, fosfato dicálcico, melaza de caña seca, aceite de soja, sal, sulfonato de lignina, cloruro de potasio, óxido de magnesio, carbonato de calcio, L-ascorbil-2-polifosfato (Fuente de Vitamina C), DL-Metionina, Extracto de Yucca Schidigera, Suplemento de Vitamina A, Cloruro de Colina, Tocoferoles Mezclados (Preservativo), Sulfato Ferroso, Suplemento de Riboflavina, Óxido de Mangano, Óxido de Zinc, Suplemento de Vitamina B12, Suplemento de Vitamina E, Niacina, Sulfato de cobre, Menadione Sodium Bisulfite Complex (Fuente de actividad de la vitamina K), Extracto de romero, Ácido cítrico, Cholecalciferol (Fuente de vitamina D3), Pantotenato de calcio, Hidrocloruro de piridoxina, Mononitrato de tiamina, Ácido fólico, Iodato de calcio, Biotina, Carbonato de cobalto, Sodio Selenita. Adicionados con aceite de cannabis: 800uL.</p>	
COMPONENTES BIACTIVOS	
COMPOSICIÓN	
Aceite de cannabis	800uL por porción diaria
<p>Contiene una proporción de 15mg de cannabinoides por ml de aceite, además de la presencia de terpenos y flavonoides.</p>	
<p style="font-size: small;">Elaborados en Coordinación para la Innovación y la Aplicación de la Ciencia y la Tecnología de la UASLP y analizados por HPLC en Facultad de Ciencias Químicas</p>	

Efecto terapéutico del cáñamo en problemas de hipertensión arterial y dislipidemia en modelos murinos

Therapeutic effect of hemp on problems of arterial hypertension and dyslipidemia in hypertension and dyslipidemia in murine models

Mariana Guadalupe Saucedo Lara ^{1,2} ; Luz Eugenia Alcántara-Quintana ^{*3}

¹Unidad de Innovación en Diagnóstico Celular y Molecular, Coordinación para la Innovación y la Aplicación de la Ciencia y la Tecnología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.

²Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas, Facultad de Ciencias Químicas, San Luis Potosí, S.L.P., México.

³Cátedra CONACYT, Unidad de Innovación en Diagnóstico Celular y Molecular, Coordinación para la Innovación y la Aplicación de la Ciencia y la Tecnología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México

* luz.alcantara@uaslp.mx, lealcantara@conacyt.mx

Resumen

Enfermedades cardiovasculares deterioran la calidad de vida y son consideradas la primera causa de muerte en el mundo, entre ellas, destacan la hipertensión arterial y dislipidemias. En la actualidad, los efectos terapéuticos de productos naturales han sido estudiados para su uso como tratamiento demostrando una mejor tolerancia en los pacientes. *Cannabis sativa* L, es una planta medicinal utilizada hace miles de años por sus diferentes propiedades terapéuticas. El cáñamo, una de las especies de planta cannabis, se caracteriza por tener gran concentración de metabolitos secundarios como el cannabidiol, compuesto asociado con propiedades medicinales: mantiene la homeostasis del organismo e interviene en funciones fisiológicas. En este estudio se analizaron investigaciones previas realizadas en modelos murinos que estudian las propiedades de extractos y compuestos del cáñamo como potencial efecto terapéutico para contrarrestar problemas de hipertensión arterial y dislipidemias. Se identificó que el cáñamo tiene efectos antihipercolesterolemicos, mejora el perfil lipídico en sangre, inhibe enzimas implicadas en la hipertensión arterial, entre otros efectos. Se considera que dichos estudios en modelos murinos son la pauta para el uso futuro de cáñamo como compuesto funcional, activo o nutraceutico en el tratamiento de las patologías estudiadas en esta revisión.

Palabras clave: Cáñamo, ratas, hipertensión, dislipidemia, cannabinoide

Abstract

Cardiovascular diseases deteriorate the quality of life and are considered the first cause of death in the world, among them, arterial hypertension and dyslipidemias stand out. At present, therapeutic effects of natural products have been studied for use as a treatment, demonstrating better tolerance in patients. *Cannabis sativa* L, is a medicinal plant used for thousands of years for its different therapeutic properties. Hemp, one of the cannabis plant species, is characterized by having a high concentration of secondary metabolites such as cannabidiol, a compound associated with medicinal properties, maintaining the body's homeostasis and intervening in physiological functions. In this study, previous research carried out in murine models was analyzed, studying the properties of hemp extracts and compounds as a potential therapeutic effect to counteract problems of arterial hypertension and dyslipidemias. Indeed, it was identified that hemp has antihypercholesterolemic effects, improves the lipid profile in the blood, inhibits enzymes involved in arterial hypertension, among other effects. These studies in murine models are considered to be the guideline for the