

Efecto de la administración aguda de Cannabis vaporizado sobre el sueño y la actividad eléctrica cortical en la rata

Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas

Opción Neurociencias

Pedeciba Biología

UdelaR

Dra. Alejandra Mondino Vero

Octubre, 2018

Orientador: Pablo Torterolo Minetti

Co-orientador: Atilio Falconi Guerra

Laboratorio de Neurobiología del Sueño, Departamento de Fisiología

Facultad de Medicina, UdelaR.

Resumen

En los últimos años, el uso del Cannabis con fines medicinales se está expandiendo rápidamente a consecuencia de modificaciones recientes en las políticas que regulan su mercado. Comúnmente es utilizado como auto-medicación para el tratamiento de insomnio. Sin embargo, el efecto del Cannabis sobre el sueño depende de múltiples factores tales como las diferentes variantes de Cannabis utilizado y su composición, dosis y vía de administración. La vaporización es una de las vías recomendadas para la administración de Cannabis con fines medicinales; sin embargo, hasta el momento no existen trabajos publicados sobre los efectos del Cannabis vaporizado sobre el sueño, ni en animales de laboratorio, ni en humanos. Algunos reportes previos sugieren que el THC aislado tendría efectos sedantes, por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue caracterizar en ratas, los efectos de la administración aguda de una variedad de Cannabis con 11,5 % de THC y cantidades indetectables de otros cannabinoides sobre el sueño y la actividad eléctrica cortical. Para esto, se realizaron registros polisomnográficos en ratas implantadas de forma crónica con electrodos corticales, durante 6 horas en las fases de luz (inactividad o reposo en ratas) y de oscuridad (actividad o alerta en ratas). Los animales fueron tratados con 0 mg ("sham"), 40, 80 y 200 mg de Cannabis inmediatamente antes de comenzar las sesiones de registro. Las concentraciones medidas en plasma de THC con estas dosis fueron bajas (hasta 6,7 ng/mL con 200 mg). Además, se analizó la potencia y coherencia un análisis cuantitativo del EEG mediante potencia y coherencia espectral para la dosis más alta. En comparación con el sham, la administración de 200 mg de Cannabis incrementó el tiempo de sueño NREM durante la primera hora de registro, pero únicamente en la fase de luz. No se observaron efectos cuando el Cannabis se administró a dosis más bajas o en la fase de oscuridad. Por otra parte, 200 mg de Cannabis produjeron reducción de la potencia de las bandas de frecuencia más altas principalmente durante la vigilia y el sueño REM, pero sólo cuando fueron administrados durante la fase de luz. Por el contrario, se evidenció una disminución de la coherencia intrahemisférica para la banda de frecuencia sigma (característica de los husos de sueño), durante el sueño NREM, únicamente durante la fase de oscuridad.

En conclusión, la vaporización de una variedad de Cannabis con 11,5 % de THC produjo un incremento del sueño NREM pero sólo durante la fase de luz. A su vez, el Cannabis produjo modificaciones de la potencia de las bandas altas de frecuencia durante la fase de luz y la coherencia de los husos de sueño durante la fase de oscuridad; estas bandas de frecuencia están asociadas al procesamiento cognitivo. Estos resultados refuerzan la importancia del estudio de las propiedades promotoras de sueño del Cannabis.

Agradecimientos

A mis tutores Pablo Torterolo y Atilio Falconi por todas sus enseñanzas, su confianza y su estímulo para el desarrollo de esta tesis.

A todo el laboratorio de Neurobiología del Sueño de la Facultad de Medicina UdelaR donde se desarrolló este trabajo. Todo el grupo siempre me ha apoyado y ha colaborado conmigo en todo lo que he necesitado. Son además de compañeros de trabajo, grandes amigos. En particular a Matías Cavelli, Joaquín González y Luciana Benedetto quienes me enseñaron las técnicas utilizadas en esta investigación.

Al Dr. Carlos García y a Santiago Fernández del laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Química, así como al Dr. Eleuterio Umpierrez y a María José Castro de la Unidad de Medio Ambiente Drogas y Doping del Polo tecnológico de Pando por su colaboración en las mediciones de cannabinoides tanto en las muestras vegetales como animales.

A la ANII por financiar mi beca de Maestría.

A mis padres y mi hermano que me apoyan incondicionalmente en todos los aspectos de mi vida.

Índice

Resumen.....	2
Abreviaturas	6
1 Introducción.....	8
1.1 Cannabis.....	8
1.2 Cannabis medicinal	10
1.3 Vías de administración	10
1.4 Cannabis y sueño	12
1.5 Ciclo sueño-vigilia	14
1.6 Ciclo sueño-vigilia en la rata	15
1.7 Análisis cuantitativo del EEG.....	18
1.8 Drogas psicoactivas y EEG.....	20
2 Hipótesis de trabajo.....	20
3 Objetivos generales y específicos	20
3.1 Objetivo general.....	20
3.2 Objetivos específicos	21
4 Materiales y métodos	21
4.1 Cannabis.....	21
4.2 Animales de experimentación	21
4.3 Procedimientos quirúrgicos	22
4.4 Sesiones experimentales	23
5.4.1 Administración de Cannabis	23
5.4.2 Registros de sueño.....	23
4.5 Análisis de los datos.....	26
4.6 Determinación de niveles de THC en plasma.....	28
5 Resultados.....	30
5.1 Determinación de los niveles de THC en plasma.	30
5.2 Efectos del Cannabis sobre el sueño.....	30
5.3 Efectos sobre la potencia espectral	38
5.4 Efectos sobre la Z'Coherencia	38
6 Discusión	40
6.1 Consideraciones técnicas	40
6.2 Efecto promotor del sueño NREM	41
6.3 La administración de Cannabis modificó la actividad eléctrica cortical.....	44
6.4 Variación de los efectos de acuerdo a la hora del día (fase de luz Vs. fase de oscuridad)	46
7 Conclusiones	47
8 Perspectivas.....	47
9 Referencias	49

Abreviaturas

2-AG: 2 araquidonilglicerol

AASM: Academia Americana de Medicina de Sueño, por sus siglas en inglés: American Academy of Sleep Medicine

AC: Antes de Cristo

AEA: Anandamida

ANOVA: Análisis de Varianza, por sus siglas en inglés ANalysis Of VAriance

BO: Bulbo olfatorio

CB1r: Receptor CB1

CB2r: Receptor CB2

CBD: Cannabidiol

CBG: Cannabigerol

Cer: Cerebelo

CHEA: Comisión Honoraria de Experimentación Animal

EC: Endocannabinoide

EEG: Electroencefalograma

EMG: Electromiograma

FDA: Administración de Medicamentos y Alimentos, por sus siglas en inglés: Food and Drug Administration

HFO: Oscilaciones de alta frecuencia por sus siglas en inglés: High Frequency Oscillations

HG: Gamma alto, por sus siglas en inglés: High Gamma

IRCCA: Instituto de Regulación y Control de Cannabis

LG: Gamma bajo, por sus siglas en inglés: Low Gamma

LS: Sueño ligero, por sus siglas en inglés: Light Sleep

LSD: Dietilamida de ácido lisérgico, por sus siglas en inglés: Lysergic Acid Diethylamide

M1: Corteza motora primaria

MCH: Hormona concentradora de melanina, por sus siglas en inglés: Melanin Concentrating Hormone

NREM: No REM

PPARs: Receptores activados por proliferadores peroxisomales, por sus siglas en inglés: Peroxisome Proliferator Activated Receptors

REM: Movimientos oculares rápidos, por sus siglas en inglés: Rapid Eye Movements

S1: Corteza somatosensitiva primaria

SEC: Sistema Endocannabinoide

SWS: Sueño de ondas lentas, por sus siglas en inglés: Slow Wave Sleep

THC: delta 9 Tetrahidrocannabinol

TRPV1: Receptor de potencial transitorio tipo vaniloide 1, por sus siglas en inglés: Transient Receptor Potential Vanilloid 1

UdelaR: Universidad de la República

URBE: Unidad de Reactivos para Biomodélos de experimentación

V2: Corteza visual secundaria

W: Vigilia por su sigla en inglés: Wakefulness

1 Introducción

1.1 Cannabis

El Cannabis es la droga ilícita de uso recreacional más consumida a nivel mundial. Según la Oficina de Naciones Unidas contra la Droga y el Delito en el 2016, un 3,8 % de la población adulta consumió esta droga al menos una vez (UNODC, 2017). El término “marihuana” es utilizado comúnmente para nombrar el material de la planta de Cannabis utilizado con fines recreativos, y es usualmente asociado con los efectos negativos y el impacto social de la misma (Hazekamp, 2007).

Cannabis sativa es una de las primeras plantas cultivadas por el hombre; hallazgos arqueológicos indican que 4000 años AC, ya se practicaba su cultivo para obtener fibras en China (Li, 1974). Así mismo, los antiguos habitantes de la China utilizaban el Cannabis con fines medicinales. Su uso con esta finalidad está reportado en la farmacopea más antigua del mundo, la “Pen-ts’ao ching”, basada en conocimientos del Emperador Shen-Nung quien vivió en el año 2700 AC. El uso medicinal del Cannabis fue introducido en la

medicina occidental en la década de 1830 (Russo, 2014).

Desde esa época, se reportaban efectos analgésicos, sedantes, antiinflamatorios, antiespasmódicos y anticonvulsivantes del Cannabis (Reekie y col., 2017). Sin embargo, en 1941 el Cannabis fue removido de la farmacopea de EE.UU., luego de haber sido prohibida la posesión o comercialización de marihuana con fines recreativos en 1937 (Christiansen, 2010; Mathre, 1997). En 1970, la Ley de Control de Sustancias de EE.UU. declaró el Cannabis como una droga nivel I (nivel de mayor peligrosidad), junto con la heroína y el LSD (Reekie y col., 2017).

Actualmente, el consumo de Cannabis ha sido legalizado en diferentes países y estados, tanto para su uso medicinal como recreativo (Hoz Schilling, 2015). Uruguay fue el primero en regular legalmente el mercado del Cannabis desde la producción hasta la venta en el año 2014, mediante la ley 19.172 (Ley 19172, 2014; Taylor, Blickman, y Jelsma, 2014), y en el año 2017 el gobierno autorizó la venta de marihuana en farmacias de nuestro país.

1.1.1 Componentes de Cannabis y sus efectos en mamíferos

La planta posee más de 538 compuestos químicos de diversas clases, siendo los fitocannabinoides, los terpenos y los compuestos fenólicos los más relevantes (Andre y col., 2016).

Los terpenos constituyen el grupo de fitoquímicos más grande, habiendo sido identificados alrededor de 140 sólo en la planta de Cannabis (Brenneisen, 2007). Son los responsables del aroma y del sabor de las diferentes variantes de cultivares de Cannabis; sin embargo, se han demostrado un alto número de acciones farmacológicas en mamíferos mediadas por estos compuestos (Andre y col., 2016; Clarke y Watson, 2007).

El grupo de los compuestos fenólicos están constituidos por más de diez mil estructuras diferentes, incluyendo ácidos fenólicos y flavonoides (Lin y col., 2016). Su función en las plantas es prevenir el estrés oxidativo. En humanos, se ha demostrado una correlación entre el consumo de estos compuestos en la dieta y la reducción de la incidencia de enfermedades crónicas tales como cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Halliwell y col., 2005).

Los fitocannabinoides se definen como un grupo de compuestos terpenofenólicos de 21 o 22 carbonos (en el caso de las formas carboxiladas) producidos por tricomas glandulares presentes en las flores de Cannabis (Andre y col., 2016). El primer fitocannabinoides purificado de plantas de Cannabis fue el Cannabigerol (CBG). Este compuesto no tiene efectos psicotrópicos pero puede modular la percepción de dolor, la inflamación y la sensibilización frente al calor (Marcu, 2016). Actualmente, se han identificado más de 100 fitocannabinoides. Los más estudiados son el Δ^9 -tetrahidrocannabinol (THC), que es el principal componente con actividad psicoactiva del Cannabis y el Cannabidiol (CBD) (Hložek y col., 2017). El CBD no posee efectos psicoactivos y es ampliamente utilizado con fines medicinales dado que posee importantes propiedades antiinflamatorias, anticonvulsivantes, sedantes, ansiolíticas y atenúa los algunos de los efectos psicoactivos causados por el THC (Fadda y col., 2004). El estudio de los fitocannabinoides llevó al descubrimiento, en los años 90 del sistema endocannabinoide (Ver

recuadro). Este sistema consiste en al menos 2 subtipos de receptores acoplados a proteína G (CB1r y CB2r); agonistas endógenos para esos receptores conocidos como “endocannabinoides”, [principalmente anandamida (AEA) y 2-araquidonil glicerol (2AG)] y en las enzimas responsables de la síntesis, captación celular y degradación de los mismos (Di Marzo y Piscitelli, 2015; Maccarrone y col., 2015; Pertwee, 2006).

1.2 Cannabis medicinal

El uso de Cannabis con fines terapéuticos ha tenido un importante incremento en los últimos años, luego de que la FDA aprobara su uso en pacientes con cáncer y/o SIDA (Ruchlemer y col. 2015). Se han documentado numerosos efectos benéficos del Cannabis y/o sus derivados, entre ellos disminución de náuseas y vómitos, estimulación del apetito en pacientes en tratamiento quimioterápico y enfermos de SIDA, disminución de la presión intraocular (mostrando ser eficaz para el tratamiento del glaucoma), mejora de enfermedades gastrointestinales, efecto analgésico y tratamiento de desórdenes del sueño (Babson y Bonn-

Miller, 2014; Babson y col., 2017; Belendiuk y col., 2015; Chait, 1990; Duda y col., 2009). Así mismo, se ha demostrado que los cannabinoides derivados de planta, sintéticos y/o endógenos producen neuroprotección *in vitro* e *in vivo* en casos de lesiones agudas (isquemia y trauma) y enfermedades neurodegenerativas crónicas como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica, Alzheimer, entre otras (Grundy, 2002; Mechoulam y col. 2002). Por lo tanto, el Cannabis tiene la potencialidad de volverse un medicamento muy útil; no obstante, su empleo se ha dificultado a causa de su clasificación como un narcótico peligroso (Hazekamp, 2007). Sin embargo, como ocurrió con la planta de opio (*Papaver somniferum*) y los opioides derivados de la misma (como morfina y codeína), la distinción entre una droga de abuso y una medicina puede darse gracias a la investigación exhaustiva en la materia (Hazekamp, 2007; Roca, 2014).

1.3 Vías de administración

Existen diversas vías de administración de Cannabis; oral, inhalatoria (fumado o vaporizado),

Recuadro

Sistema endocannabinoide

El sistema endocannabinoide (SEC) fue descubierto luego de que, habiendo sido identificados los principales fitocannabinoides (CBG, CBD y THC) y sintetizados análogos sintéticos al THC, se demostrara la existencia de receptores específicos para cannabinoides (Di Marzo y Piscitelli., 2015). En 1990 Matsuda y col. (1990) describieron un receptor acoplado a proteína G presente en el sistema nervioso central, el CB₁. Por otra parte, Munro y col. (1993), demostraron la existencia de un segundo receptor (CB₂) expresado principalmente en células del sistema inmune y hematopoyético. El hallazgo de dichos receptores permitió que rápidamente fueran identificados una familia de transmisores lipídicos que funcionaban como ligandos naturales del receptor CB₁: los endocannabinoides (EC), la araquidoniletanolamida (AEA) también conocida como andandamida y el 2-araquidonilglicerol (2AG) (De Fonseca y col., 2005). Los EC son sintetizados a demanda y no son almacenados en vesículas sinápticas a diferencia de la mayoría de los neurotransmisores (Di Marzo, 2004).

Actualmente, el SEC es definido como un sistema de señalización lipídica presente en todos los vertebrados, que cumple importantes funciones de regulación (De Fonseca y col., 2005). Ha sido involucrado en procesos fisiológicos y fisiopatológicos como desarrollo neural, función inmune, inflamación, apetito, metabolismo energético, plasticidad sináptica, reproducción, memoria, ciclo sueño-vigilia y regulación del estrés, entre otros (Grothenhermen, 2006; Health Canada, 2013; Ko y col., 2016). En los últimos años ha habido estudios que sugieren que existen receptores adicionales al CB₁ y CB₂ sobre los que actúan los EC y fitocannabinoides; por ejemplo, el receptor “orphan GPR55”, el de potencial transitorio vanilloide 1 (TRPV1), el “proliferator activated receptor” (PPARs), y el GPR119 (Ryberg y col. 2007; Maccarrone y col., 2015). La mayoría de los receptores de cannabinoides están localizados a nivel presináptico y se ha demostrado que los EC juegan un papel clave como mensajeros retrógrados modulando sinapsis excitatorias e inhibitorias (Kano y col. 2002).

intrarrectal e incluso percutánea mediante aceites, ungüentos o parches (Health Canada, 2013). La administración por vía pulmonar (inhalación) produce la mayor y más rápida disponibilidad de THC, con una elevación inmediata de los niveles sanguíneos. La absorción por vía oral es impredecible y errática, el inicio de la acción es más lento, y se produce un pico de concentración en sangre mucho menor debido a un efecto de primer paso en el hígado, donde es degradado por enzimas del sistema citocromo P450 (Lanz y col., 2016; Manwell y col., 2014; Shiplo y col., 2016). El consumo mediante fumado es el medio de consumo recreativo más popular; sin embargo, no es recomendable debido al alto número de sustancias indeseables como toxinas y carcinógenos que se producen durante la combustión (Gieringer y col., 2004). Dentro de ciertos rangos de temperatura los cannabinoides pueden ser vaporizados sin que exista combustión del material vegetal, y por ende evitando la formación de productos pirolíticos tóxicos (Pomahacova y col., 2009). Además, Pomahacova y col. (2009) demostraron que con este mecanismo se obtiene

una cantidad significativamente mayor de cannabinoides en comparación con la obtenida mediante combustión. Por lo tanto, la vaporización es una alternativa prometedora para la administración de Cannabis, tanto para su uso medicinal como para investigación.

Diversos estudios acerca de las propiedades de Cannabis que utilizan roedores como modelo animal, han fallado al momento de replicar o trasladar sus resultados a humanos. Al respecto, cabe destacar, que en roedores usualmente se administra la droga por vía parenteral (intravenosa o intraperitoneal), mientras que en humanos el consumo es comúnmente por inhalación. Entonces, es posible, que las discrepancias encontradas entre los resultados del efecto de Cannabis en roedores y humanos se deban a la distinta farmacocinética de estas vías de administración (Manwell y col., 2014).

1.4 Cannabis y sueño

Uno de los usos medicinales de Cannabis que se está expandiendo rápidamente es el tratamiento de disturbios del sueño (Belendiuk y col., 2015; Sateia, 2014). Existen algunos

trabajos que reportan el efecto del consumo de Cannabis sobre el sueño en humanos con ciertas discrepancias. Se ha reportado un efecto sedante del THC aportado por cigarrillos de marihuana (Chait, 1990b; Halikas y col., 1985) y por ingestión de THC oral (Cousens y DiMascio, 1973; Gorelick y col., 2015; Pivik y col., 1972). Sin embargo, altas dosis de THC parecen tener un efecto activador (Babson y Bonn-Miller, 2014; Tassinari y col. 1974). Para el caso del CBD, los resultados sobre su efecto en el ciclo sueño-vigilia también son discordantes. Murillo-Rodríguez y col., (2006) han demostrado un efecto activador de dicho cannabinoide en ratas tras la inyección intracerebroventricular. Sin embargo, la inyección intraperitoneal de CBD, mostró tener un efecto hipnótico (Chagas y col., 2013; Monti, 1977). Estos datos sugieren que los efectos de CBD varían de acuerdo con el modo de administración. Así mismo, Zuardi, (2008) plantea que el CBD tendría un efecto bifásico dependiendo de la dosis (estimulante a bajas dosis y sedante a altas dosis).

Parece ser entonces, que los efectos del Cannabis sobre el sueño son

dependientes de la dosis, la concentración de cada cannabinoide, el tiempo durante el cual se administra y la vía de administración (Babson y Bonn-Miller, 2014). A su vez, en su gran mayoría, los diseños experimentales de los trabajos en humanos, presentan un riesgo sustancial de sesgo ya que no controlan el consumo de otras sustancias de forma concomitante, la existencia de disturbios del sueño pre-existentes, la edad y/o el género de los participantes del estudio (Gates y col., 2014). Es importante destacar, que la mayoría de los reportes del efecto de Cannabis sobre el sueño se han enfocado en la administración de cannabinoides aislados o de forma pura, dejando de lado el “efecto séquito” que puede existir entre los distintos cannabinoides entre sí y entre cannabinoides y otras sustancias presentes en la planta, como por ejemplo los terpenos (Russo, 2011). El concepto de “efecto séquito” fue introducido en 1988 por Ben-Shabat y col. para describir la interacción que existe entre los compuestos presentes en la planta de Cannabis, y cómo el efecto final del consumo de la misma es el resultado de esa interacción. Muchas veces ocurre un sinergismo entre los

diferentes componentes que hacen que el efecto de extractos del material vegetal entero, sea mayor o diferente que el de los cannabinoides aislados *per se* (Russo, 2011).

1.5 Ciclo sueño-vigilia

El ciclo sueño-vigilia es el ritmo circadiano más evidente en los mamíferos y las aves. En el ser humano y en la mayoría de los mamíferos se pueden distinguir claramente tres estados comportamentales: la vigilia (W), el sueño de ondas lentas o sueño no-REM (NREM) y el sueño REM (REM) por sus siglas en inglés “Rapid Eyes Movement”. La polisomnografía es la herramienta básica para diagnosticar con certeza estos estados. Consiste en el registro simultáneo del electroencefalograma (EEG), que es el registro de la actividad eléctrica cerebral, el electromiograma o actividad eléctrica muscular (EMG) y los movimientos oculares (Tortero y Vanini, 2010).

Durante la W, ocurre una interacción óptima con el ambiente que nos permite desarrollar diversos comportamientos necesarios para la supervivencia. En el ser humano, la W se acompaña de consciencia,

caracterizada por la percepción de estímulos provenientes del medio que nos rodea y de algunos estímulos generados internamente (Cavelli, 2015). El registro del EEG de este estado comportamental se caracteriza por la presencia de oscilaciones de alta frecuencia y baja amplitud (activación cortical), así como una alta actividad muscular (Tortero y Vanini, 2010).

El sueño puede ser definido como un estado comportamental reversible donde existe un umbral sensorial elevado, marcada disminución de la interacción con el entorno, reducción de la actividad y tono muscular y la adopción de una postura típica para el adecuado descanso y que permita conservar el calor corporal (Carskadon y Dement, 2011). De la W se produce la transición y se ingresa al sueño NREM en el cual se reconocen en humanos, tres etapas (N1, N2 y N3) relacionadas con la profundidad del estado (Boostani y col., 2017). En NREM, el EEG se caracteriza por presentar ondas de baja frecuencia y alta amplitud, así como husos de sueño (oscilaciones con una frecuencia de 10 a 15 Hz y con morfología de rampa de ascenso y descenso) (Pace-Schott y Hobson, 2013). Tanto las ondas lentas como los

husos son generados por una actividad sincronizada de neuronas talámicas y corticales (Tortero y Vanini, 2010). Asimismo, el sueño NREM se acompaña de un incremento tónico de la actividad autonómica parasimpática que determina cambios característicos de la actividad visceral (disminución de la frecuencia cardíaca, de la presión arterial, etc.). En las etapas más profundas del NREM no existe o es mínima la actividad cognitiva (sueños o actividad onírica) (Hobson, 2009). En forma periódica, y siempre precedido de NREM, se ingresa en el estado de sueño REM. En esta etapa es donde ocurren principalmente los sueños. Además, se acompaña de atonía muscular y cambios fásicos en la actividad autonómica (principalmente descargas en salva de actividad simpática). El EEG es similar al obtenido en W, por ello, también se lo conoce como sueño paradójico. A nivel del EMG no se evidencia actividad, por la atonía muscular característica de esta etapa.

1.6 Ciclo sueño-vigilia en la rata

En las ratas, modelo animal utilizado en este trabajo, el ciclo sueño-vigilia se caracteriza por ser policíclico,

con ciclos ultradianos enmarcados en una periodicidad circadiana. Dado que esta es una especie de hábitos nocturnos, en la fase de oscuridad predomina la W (Clancy y col., 1978). En cuanto al EEG, durante la W se observa claramente, a nivel de las cortezas posteriores, la actividad theta (5 – 9 Hz) correspondiente a la actividad oscilatoria del hipocampo (Núñez-Molina, 2004). En el NREM se distinguen dos etapas. El sueño ligero (LS) o de transición entre la W y el sueño NREM, evidenciado a nivel EEG por ondas de alto voltaje interrumpidas por actividad rápida de menor voltaje y mayor frecuencia, y el SWS o sueño de ondas lentas caracterizado por ondas continuas de mayor amplitud y menor frecuencia, que van desde 0,5 - 4 Hz (banda delta). Estas, se intercalan con husos de sueño, caracterizados por una frecuencia de 10 – 15 Hz (banda sigma), y reducción en la amplitud del EMG. En la etapa de transición SWS/REM se observa un aumento en el número de husos de sueño. En el REM predominan las ondas de baja amplitud y alta frecuencia, así como actividad theta que también es generada a nivel del hipocampo.

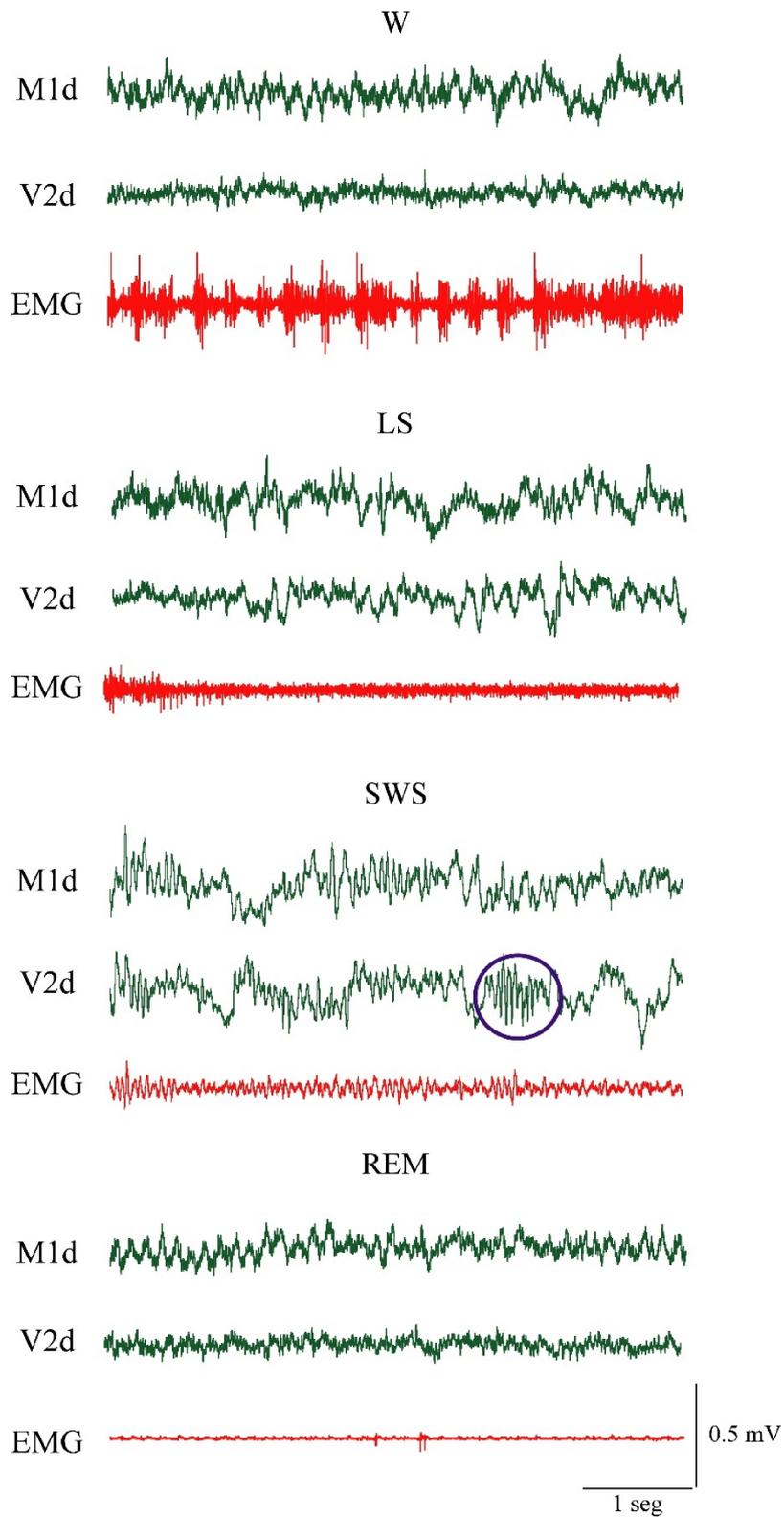


Figura 1. Registro polisomnográfico durante la W y el sueño en la rata. Se muestran ejemplos del registro de dos cortezas y el electromiograma para cada uno de los estados [vigilia, sueño ligero (LS), sueño de ondas lentas (SWS) y sueño REM]. Durante la W se observa un EEG activo (actividad de alta frecuencia y baja amplitud) con actividad theta (5-9 Hz) y un EMG con importante actividad muscular.

En el LS es posible observar ondas de alto voltaje interrumpidas por actividad rápida de menor voltaje y mayor frecuencia. En el tercer registro se muestra el SWS, en el cual se observa que el EEG presenta ondas de baja frecuencia y alta amplitud, así como husos de sueño (círculo violeta). El registro inferior, registro en REM, destaca un EEG similar a la W, con importante actividad theta principalmente en cortezas posteriores (V2), actividad de alta frecuencia, y atonía muscular. EEG: electroencefalograma; EMG: electromiograma; V2: corteza visual secundaria; M2: motora secundaria.

El EMG no presenta actividad (atonía muscular), a excepción de sacudidas musculares espontáneas esporádicas (Schwarzkopf, 2017). Registros polisomnográficos de la W y el sueño se muestran en la Figura 1.

1.7 Análisis cuantitativo del EEG

El electroencefalograma es una técnica que permite registrar la actividad eléctrica cerebral (voltaje) en función del tiempo. Esta actividad puede ser analizada cuantitativamente, y de esta forma, es posible evaluar los efectos de diferentes situaciones (fisiológicas, farmacológicas o patológicas) sobre la misma (Maloney y col., 1997a; Schwarzkopf, 2017). El análisis espectral es probablemente el análisis computarizado del EEG más utilizado a nivel mundial (Dressler y col., 2004; Walczak, 2009). Este está basado en el teorema de Fourier que establece que cualquier onda puede ser descompuesta en la suma de sus componentes sinusoidales de diferentes frecuencias, con diferentes amplitudes y diferentes relaciones de fase. Al sumar todas estas ondas, se puede reconstruir la onda original (Cooley y Tukey, 1965; Freeman y

Quiroga, 2013). De esta manera, la señal obtenida del EEG puede ser no sólo representada en el dominio del tiempo, sino también en el dominio de la frecuencia (Semmlow, 2012). Clásicamente, los componentes de frecuencia del EEG de la rata se clasifican en las siguientes bandas: delta δ (0,5 - 4 Hz), theta θ (5 - 9 Hz), sigma σ (10 - 15 Hz), beta β (15 - 30 Hz) y gamma γ (30 - 100 Hz) (Buzsáki, Logothetis, y Singer, 2013; Maloney, Cape, Gotman, y Jones, 1997). Recientemente diferentes autores han denominado al intervalo de frecuencias entre 110-160 Hz como "High Frequency Oscillation, HFO" (Cavelli y col., 2017b; Tort y col., 2013). Así mismo, a efectos prácticos y para evitar incluir en los análisis la corriente alterna de 50 Hz que podría haber contaminado el registro, la frecuencia gamma puede dividirse en gamma bajo, 30 – 48 Hz (LG; por sus siglas en inglés, low gamma) y gamma alto, 52 – 95 Hz (HG, por sus siglas en inglés, high gamma). En la Figura 2 se muestra una gráfica de potencia espectral durante la W y el sueño en la rata; se observa claramente como esta se modifica al pasar de la W al sueño.

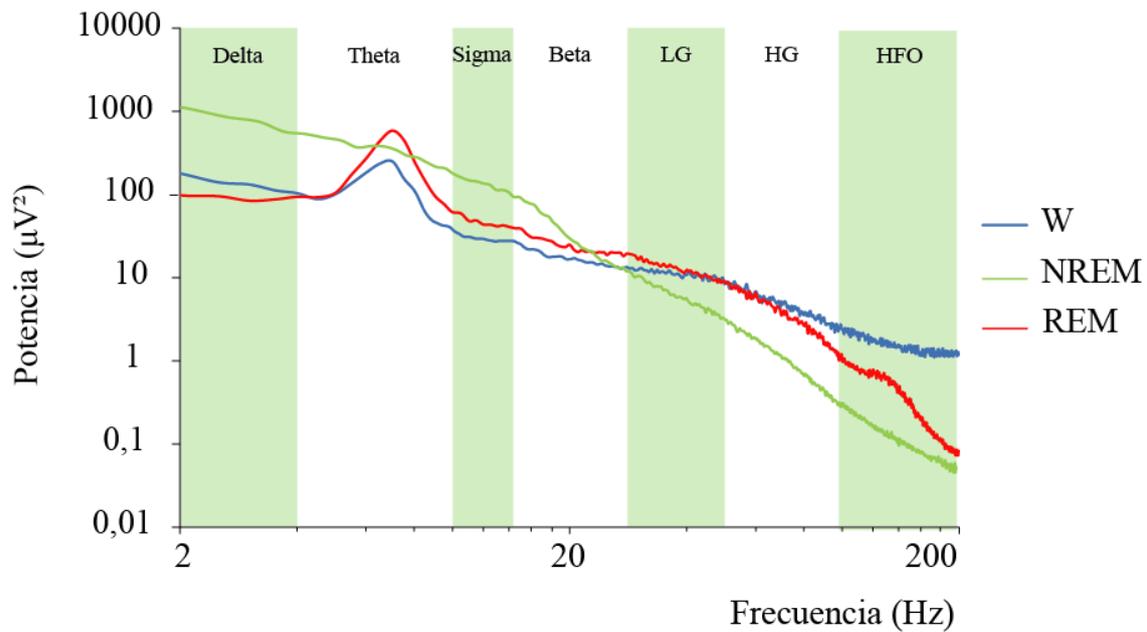


Figura 2. Gráfico de los promedios de la potencia espectral en función de la frecuencia (2-200Hz) de 6 ratas durante la W (azul), el NREM (verde) y el REM (rojo), con una resolución de frecuencia de 0,5 Hz. La potencia corresponde al registro de la corteza somatosensitiva primaria (S1) derecha. Alternando el color de fondos de la gráfica se delimitan las diferentes bandas de frecuencia. Delta (0,5-4 Hz); Theta (5-9 Hz); Sigma (10-15 Hz); Beta (15-30 Hz); Gamma bajo; LG (30 -48 Hz); Gamma alto; HG (52-95 Hz) y oscilaciones de alta frecuencia; HFO (100- 200 Hz).

Es posible cuantificar la potencia espectral de cada componente de frecuencia, siendo ésta el cuadrado de la amplitud. También se puede medir el grado de interacción funcional entre diferentes áreas cerebrales registradas a través de la coherencia espectral. La coherencia entre dos ondas es una medida de su similitud en contenido de frecuencias. Dos ondas son coherentes a determinada frecuencia cuando tienen una relación de fase y amplitudes a esa frecuencia que se mantiene constante (Bullock y col.,

2003; Castro Zaballa, 2012) Esto implica que dos áreas corticales que coordinan su actividad eléctrica van a presentar un aumento de la coherencia entre sus actividades eléctricas, aunque la latencia debido a la distancia y/o a múltiples sinapsis interpuestas determine un desfase temporal entre sus actividades eléctricas (Schoffelen y col., 2005). Por lo tanto, la coherencia entre distintas regiones corticales reflejaría la “fuerza” de las interconexiones funcionales mutuas, involucradas en la integración o

“binding” de eventos neuronales separados espacialmente (Castro et al., 2013; Rieder et al., 2011).

1.8 Drogas psicoactivas y EEG

Ha sido demostrado que diversas drogas psicoactivas pueden modificar la actividad del EEG (Blain-Moraes y col., 2014; Dafters y col., 1999; Knott, 2000; Schartner y col., 2017; Schwarzkopf, 2017). Además, dichas modificaciones se han podido correlacionar con reportes subjetivos luego de la experiencia con la droga (Koukkou y Lehmann, 1976; Stuckey y col., 2005). En cuanto al efecto del Cannabis sobre el EEG, se ha demostrado que la administración oral de extractos de THC o el consumo de cigarrillos de marihuana pueden modificar tanto la potencia como la coherencia de las bandas alfa, theta y beta (Böcker y col., 2010; Koukkou y Lehmann, 1976; Struve y col., 1999). Sin embargo, existen pocas investigaciones respecto del efecto sobre las frecuencias más altas como gamma y HFO (Cortes-Briones y col., 2015; Holderith y col., 2011; Skosnik y col., 2012). Estas oscilaciones (gamma y HFO) han sido asociadas con funciones cerebrales de alto orden como memoria de trabajo y percepción

(Gross y col., 2007; Jones y col., 2012). A su vez, la coherencia gamma entre diferentes áreas del cerebro ha sido vista como un correlato neural de la consciencia (Llinás y col., 1998); se ha demostrado que se pierde durante la narcosis (inconsciencia) inducida por los anestésicos generales como barbitúricos (Mashour, 2006), y se altera de forma considerable durante varios trastornos psiquiátricos que alteran la cognición como la esquizofrenia (Uhlhaas y Singer, 2010).

2 Hipótesis de trabajo

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

3 Objetivos generales y específicos

3.1 Objetivo general

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

3.2 Objetivos específicos

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

4 Materiales y métodos

4.1 Cannabis

Para este trabajo se utilizaron flores frescas de *Cannabis sativa* obtenidas del Instituto de Regulación y Control de Cannabis (IRCCA). Estas fueron molidas, homogeneizadas y preservadas a -18°C en una bolsa plástica hasta el momento de su uso. En colaboración con el Dr. Carlos García del laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Química UdelaR, se determinó mediante cromatografía de

gases el contenido de cannabinoides presentes en dichas flores (AHP, 2013). Las mismas contenían 11,5 % de THC y niveles indetectables (< 0,05 %) de CBD.

4.2 Animales de experimentación

Doce ratas macho, Wistar, adultas, de 270 a 300 gr de peso fueron utilizadas para cumplir con los objetivos de este trabajo. Así mismo, para determinar las concentraciones de THC en plasma de los animales luego de la vaporización de Cannabis, se utilizaron 12 ratas adicionales, del mismo sexo y peso. Los animales fueron obtenidos de la Unidad de Reactivos Biológicos (URBE) de Facultad de Medicina UdelaR. Fue comprobado por veterinarios que estuvieran en buen estado de salud. Los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con la guía para el uso y cuidado de animales de laboratorio (8va edición, National Academy Press, Washington, DC, 2010) y con la ley nacional de experimentación animal Nº 18.611. El protocolo experimental fue aprobado por la Comisión de Ética en el uso de animales (CEUA - Medicina), expediente (070153-001077-15). Los animales permanecieron en jaulas individuales, con temperatura

controlada y con un ciclo luz-oscuridad de 12 horas (encendido de luces a las 06:00 horas y apagado a las 18:00 horas). Se les suministró ración comercial y agua *ad libitum*. Se realizó el mayor esfuerzo para minimizar el número de animales empleados, y se adoptaron medidas para evitarles dolor, incomodidad o estrés.

4.3 Procedimientos quirúrgicos

Se utilizaron procedimientos quirúrgicos similares a los utilizados previamente por nuestro grupo de laboratorio (Benedetto y col., 2013; Cavelli y col., 2015; Cavelli, y col., 2017a). Los animales fueron implantados de forma crónica con electrodos intracorticales para el registro de la actividad eléctrica cerebral. Para esto, las ratas fueron anestesiadas con una asociación de ketamina – acepromacina – xilacina a una dosis de 90 mg/kg; 2 mg/kg; 5 mg/kg, respectivamente. Además, se administró ketoprofeno a la dosis de 1mg/Kg intramuscular. Una vez bajo plano anestésico, los animales fueron colocados en un marco estereotáctico y mediante incisión de la piel, el cráneo fue expuesto. Se implantaron siete tornillos de acero inoxidable de 1 mm

de diámetro como electrodos en el cráneo con la punta sobre la duramadre. Como se observa en la Figura 3, seis de esos electrodos fueron colocados sobre el neocórtex formando dos cuadrados consecutivos de 5 mm de lado. Dichos cuadrados estaban centrados con respecto a la línea media y el cuadrado frontal centrado con respecto a Bregma. Los electrodos fueron colocados de forma bilateral sobre la corteza motora primaria de acuerdo a Paxinos y Watson (2013), M1: $L \pm 2,5$ mm, AP +2,5 mm; corteza somatosensitiva primaria, S1: $L \pm 2,5$ mm, AP -2,5 mm; y la corteza visual secundaria, V2: $L \pm 2,5$ mm, AP -7,5 mm. El electrodo restante fue colocado sobre el bulbo olfatorio derecho, OB: $L +1,25$ mm, AP +7,5 mm. Por último, se colocó un electrodo de referencia sobre el cerebelo. Para el registro del EMG, se insertaron dos electrodos en el músculo clavotrapezio (nuca) (Cavelli y col., 2017a). Todos los electrodos fueron soldados a un conector que fue fijado al cráneo con acrílico dental. Los bordes de la herida fueron mantenidos limpios, se aplicó crema con antibiótico y corticoesteroides tópica de forma diaria hasta el momento de la recuperación de la herida. Una vez

finalizada la cirugía y los siguientes dos días se administró penicilina (50.000 UI) cada 24 horas por vía intraperitoneal y ketoprofeno (5 mg/kg) por vía intramuscular.

4.4 Sesiones experimentales

5.4.1 Administración de Cannabis

Una vez finalizada la cirugía los animales fueron adaptados durante una semana a las condiciones experimentales. Fueron alojados en cajas individuales transparentes, de 40 x 30 x 20 cm, conteniendo viruta de madera como cubierta del fondo de la caja. La temperatura del ambiente fue controlada entre 21 - 24°C, se les suministró alimento y agua *ad libitum*. Para determinar el efecto del Cannabis sobre el sueño y la actividad eléctrica cortical, se llevaron a cabo dos sesiones experimentales. En la primera, se utilizaron dosis bajas de Cannabis en 6 ratas. Previo al inicio del registro, cada rata fue colocada en una caja plástica donde se vaporizaron a 180°C durante 10 minutos 0 mg (C_{sham}), 40 mg (C₄₀) y 80 mg (C₈₀) de material vegetal (Figura 5). En la segunda serie experimental, se vaporizaron 0 mg (C_{sham}) y 200 mg de Cannabis (C₂₀₀) a seis ratas utilizando el mismo tiempo y temperatura de

vaporización definido para la serie previa. En ambos casos, para la vaporización fue utilizado el vaporizador (Herbalizer HA, Clovershield, Inc., CA, USA) conectado a la caja a través de un tubo plástico. (Figura 4). Una vez finalizados los diez minutos de vaporización, el aire de dentro de la caja fue extraído por aspiración con una bomba de aire y filtrado a través de una trampa de carbón activado con el fin de liberar aire limpio, libre de los vapores producidos. En los dos tipos de sesiones experimentales, las dosis fueron administradas en forma alternada en diferentes días y fases (fase de luz o de oscuridad) en orden contrabalanceado en los distintos animales. Siempre se dejó un día sin tratamiento entre cada dosis (Figura 5).

5.4.2 Registros de sueño

Inmediatamente luego de la administración de Cannabis, los animales fueron introducidos en el "set-up" de registro y se comenzaron los registros polisomnográficos.

Las sesiones experimentales fueron realizadas durante la fase de luz (desde las 9:00 AM a las 3:00 PM) y durante la fase de oscuridad (desde las 9:00 PM a las 3:00 AM del día siguiente). Los

registros fueron realizados en condiciones de libre movimiento, utilizando un conector giratorio dentro de una caja Faraday que también es atenuadora de sonidos. Las señales bioeléctricas fueron amplificadas

(x1000), filtradas (0,1 – 500 Hz), digitalizadas (1024 Hz, 2^{16} bits) y almacenadas en una PC utilizando el software Spike 2 (Cambridge Electronic Design).

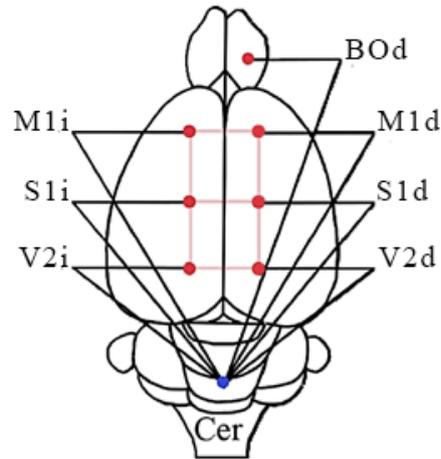


Figura 3. Posición de los electrodos de registro en la cabeza del animal (puntos rojos). Todos los electrodos fueron referenciados con un electrodo común a nivel del cerebelo (punto azul). En las líneas rojas se muestra cómo se forman dos cuadrados anteroposteriores equidistantes, centrados con la línea media. A su vez, el cuadrado frontal está centrado con respecto a Bregma. BO, Bulbo olfatorio; M1, Corteza motora primaria; S1, Corteza somatosensitiva primaria; V2, Corteza visual secundaria; d, derecho; i, izquierdo.

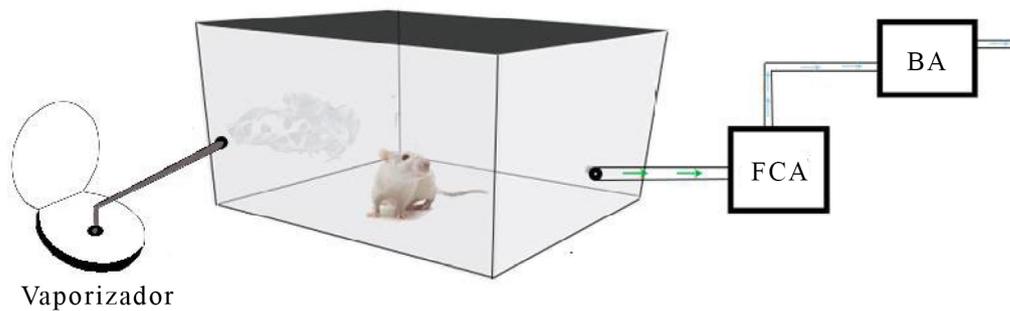


Figura 4. Representación esquemática de la cámara de vaporización. El vaporizador fue conectado a una caja plástica de 4,6 L de volumen donde los animales permanecieron durante 10 minutos. Luego de la vaporización se activó una bomba de aire (BA) que hizo pasar el aire con vapor de Cannabis por un filtro de carbón activado (FCA). Flechas verdes, Aire con vapor de Cannabis; flechas azules, Aire filtrado.

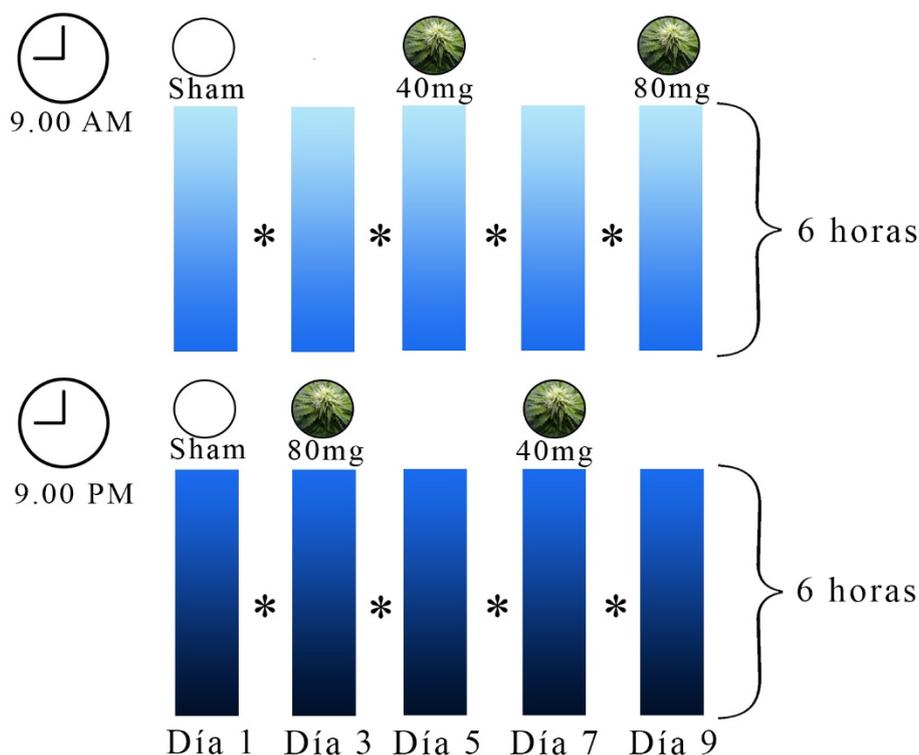


Figura 5: Ejemplo de un diseño experimental de la serie 1 (Administración de 40 y 80 mg de Cannabis). La vaporización en la fase de luz se realizó a las 9:00 horas de la mañana, mientras que la vaporización durante la fase de oscuridad se realizó a las 21:00 horas. Los registros polisomnográficos comenzaron inmediatamente después de retirados los animales de la cámara de vaporización. En los distintos animales, el orden de los tratamientos fue realizado de forma contrabalanceada. Se realizó el mismo diseño experimental en la segunda serie experimental, pero con 2 tratamientos (Sham y 200 mg). *, día libre entre tratamientos.

4.5 Análisis de los datos

Para el análisis del registro se tomaron épocas de 10 segundos y se identificaron los estados de W y sueño. La vigilia fue definida como un estado con presencia de ondas de rápida frecuencia y baja amplitud en la corteza frontal y ritmo theta (5 - 9 Hz) en las cortezas occipitales, así como una importante actividad muscular. El sueño ligero (LS) fue definido por un

EEG de ondas lentas corticales interrumpidas por actividad rápida. Por otra parte, el sueño de ondas lentas (SWS) fue establecido como el estado con ondas continuas de gran amplitud y frecuencia delta (1 - 4 Hz) en las cortezas frontal, parietal y occipital. Este estado se caracterizó, además, por la presencia de husos de sueño y una actividad eléctrica muscular disminuida en comparación con la W. Por último, el sueño REM fue definido como aquel

estado que presentó un EEG similar al de la W con ondas rápidas de bajo voltaje a nivel frontal, un ritmo theta regular en las cortezas parieto-occipitales, y un electromiograma silente, a excepción de mioclónias ocasionales.

Se determinó el tiempo total que los animales permanecieron en cada uno de los estados; W, LS, SWS, sueño NREM y REM, siendo definido el sueño NREM como la suma del LS y el SWS. También fue determinado la duración de cada episodio, así como el número de episodios de cada estado. Del mismo modo, se incluyó en el análisis la latencia a cada estado comportamental (desde el inicio del registro). A su vez, el tiempo permanecido en cada estado fue analizado en la primera hora de registro.

El análisis de potencia y coherencia del EEG fue realizado únicamente para C₂₀₀ y su control. Para calcular la potencia espectral (de cada canal) y la coherencia (entre dos pares de canales) utilizamos procedimientos similares a los utilizados previamente en el laboratorio (Cavelli y col., 2017a; Cavelli y col. 2017b). Se seleccionaron la mayor cantidad posible de períodos de 30 segundos no transicionales y libres

de artefacto durante las seis horas de registro. La potencia espectral fue determinada utilizando la función *pwelch* de Matlab. Se definieron los siguientes parámetros para el análisis: un tamaño de ventana de 5 segundos, una sobreposición (overlap) de 2,5 seg., una frecuencia de muestreo de 1024 Hz y una resolución de 0,5 Hz.

Por otra parte, se analizó la coherencia entre dos canales del EEG que hubieran sido registrados simultáneamente tomando períodos de 30 segundos de registro. Para realizar el análisis, se seleccionaron las cortezas que se encontraban equidistantes. La coherencia fue calculada mediante la función *mscohere* de Matlab con los siguientes parámetros: tamaño de ventana de 10 seg., overlap de 5 seg., frecuencia de muestreo de 1024 Hz y resolución de 0,5 Hz.

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

Arriba se detalla la función matemática utilizada para el cálculo de coherencia, donde “psd” es el espectro potencias, “a” y “b” son las ondas registradas simultáneamente, “csd” es la densidad espectral cruzada; en otras palabras, el análisis de Fourier de la

función de covarianza cruzada. Este algoritmo matemático fue descrito por Bullock y McClune (1989) y validado por varios autores (Achermann y Borbely, 1998; Bowyer, 2016; Bullock y McClune, 1989; Cantero y col., 2004). Los valores de coherencia varían de 0, para ondas totalmente incoherentes, a 1 para ondas totalmente coherentes. Una vez obtenidos los datos, fue necesario normalizarlos utilizando la transformada z de Fisher para obtener la Z' coherencia.

Todos los valores fueron presentados como media \pm error estándar de la media. Para el análisis estadístico de sueño en la serie experimental 1, se utilizó la prueba de ANOVA de una vía de medidas repetidas comparando los grupos (C_{sham} , C_{40} and C_{80}). Se utilizó el test de Bonferroni para las comparaciones *Post-hoc* cuando el ANOVA fue significativo. El criterio utilizado para descartar la hipótesis nula fue $p < 0,05$. Para evaluar el efecto de C_{200} se utilizó un test t de Student pareado de doble cola.

Por otra parte, se analizó el efecto de C_{200} sobre la potencia y Z' coherencia de las diferentes bandas

de frecuencia a través de una prueba t de Student pareada de dos colas. Las bandas analizadas fueron delta, 1-4 Hz; theta, 5-9 Hz; sigma, 10-15 Hz; beta, 15-30 Hz; gamma bajo (low gamma - LG), 30-48 Hz; gamma alto (high gamma -HG) 52-95 Hz; y oscilaciones de rápida frecuencia (High frequency oscillations - HFO), 105-148 Hz (Cavelli, y col., 2017^b). Se aplicó una corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples. Con esa corrección la significancia estadística fue definida cuando $p < 0,0071$. En todos los casos los análisis durante la fase de luz y la de oscuridad fueron realizados de forma independiente.

4.6 Determinación de niveles de THC en plasma

Con la finalidad de comprobar la eficacia del método de vaporización utilizado y conocer la cantidad de THC que estaban absorbiendo los animales, fueron determinados los niveles de THC en plasma de 12 ratas tras los 10 minutos de vaporización. 6 animales fueron tratados con 80 mg de Cannabis y los seis restantes con 200 mg utilizando el mismo procedimiento realizado en las sesiones experimentales previas. Una vez

realizada la vaporización las ratas fueron mantenidas en una caja plástica en un ambiente tranquilo durante 15 minutos y luego se procedió a la eutanasia mediante decapitación para extraer sangre. La sangre fue colectada en tubos fríos con el anticoagulante K2-EDTA. Antes de dos horas de haber sido colectada, la sangre fue centrifugada durante 15 minutos a 1200 g (Giuffrida y col., 2000; Takahashi y col., 2014). El plasma obtenido fue almacenado en criotubos a -80°C hasta el momento de su análisis.

La medición de THC en plasma fue realizada en colaboración con el Dr. Eleuterio Umpierrez, en la Unidad de Medio Ambiente, Drogas y Dopping del Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, UdelaR. Los niveles de THC se determinaron mediante ELISA de alta sensibilidad para Δ -9-THC y 11-OH-THC (el metabolito activo del THC) (Neogen Corporation, Lansing, USA).

El THC utilizado fue un Material de Referencia Certificado de Cerilliant; T-005-1 ML de (-)- Δ 9-THC diluído a la concentración de 1,0 mg/mL en metanol.

Cada muestra de plasma fue evaluada siguiendo las instrucciones del Kit. De cada muestra se tomó una

alícuota de 25 μL y se colocó en pocillos individuales en placas de ELISA junto con 25 μL de buffer de optimización. Se incubó la placa durante 60 minutos en oscuridad y agitación suave. Una vez finalizada esta incubación, se agregaron 50 μL de un conjugado enzima-droga a cada uno de los pocillos y se incubó nuevamente a temperatura ambiente durante 30 minutos, también en oscuridad y con agitación suave. Luego de la incubación, se vertió el líquido de los pocillos. Una vez lavados con buffer, se agregaron 100 μL de sustrato K-Blue[®] (TMB) a cada pocillo y se volvió a incubar en oscuridad, esta vez por 30 minutos. Una vez finalizados, se detuvo la reacción con 100 μL de H_2SO_4 (1N) y la placa fue leída a 450 nm. La intensidad del color desarrollado fue inversamente proporcional a la concentración de la droga en la muestra. Se realizó una curva de calibración con concentraciones de 1 ng/mL, 2 ng/mL y 5 ng/mL del THC de referencia en un plasma blanco. Se determinó la sensibilidad de la técnica corriendo un plasma negativo y analizando la presencia de pico a los 0,5 ng/mL Cada 8 muestras analizadas, se incluyó un plasma control con 2 ng/mL

de THC, al inicio y final de cada lote se corrió una muestra blanco.

5 Resultados

5.1 Determinación de los niveles de THC en plasma.

Una de las muestras de C₂₀₀ tuvo que ser descartada por presentar hemólisis. Con las muestras restantes se determinaron los niveles de THC en plasma de las ratas, a los 15 minutos luego de ser retiradas de la caja de vaporización. Las concentraciones de THC obtenidas fueron de 6,7 ng/mL ± 0,04 y de 4,6 ng/mL ± 0,6 para C₂₀₀ y C₈₀ respectivamente.

5.2 Efectos del Cannabis sobre el sueño

En la Figura 6 se muestra un registro crudo de EEG y EMG de un animal representativo luego de un Sham y de la administración de 200 mg de Cannabis. No se observaron diferencias en el registro crudo entre ambos tratamientos. Sin embargo, en la Figura 7 se puede observar un hipnograma y espectrograma típico del mismo animal luego de los mismos tratamientos (C_{sham} y C₂₀₀) durante la fase de luz. En este caso, en la primera hora de registro, se puede apreciar un

incremento del sueño tras la administración de C₂₀₀.

Cuando se analizaron todos los animales, en el tiempo total de registro, la administración de C₄₀, C₈₀ y C₂₀₀ durante la fase de oscuridad, no afectó ningún parámetro de la vigilia o del sueño (Tablas 1 y 2). Para el caso de los tratamientos durante la fase de luz, tampoco se observaron efectos con 40 u 80 mg (Tabla 3); sin embargo, existió una sutil reducción en el número de episodios de W tras la administración de 200 mg de Cannabis (C₂₀₀, 61,8 ± 4,9; C_{sham}, 79,5 ± 4,5; t(5) = -3,025, p=0,029) (Tabla 4). Cuando el análisis fue realizado en la primera hora, ni la dosis C₄₀ ni C₈₀ afectaron el tiempo de vigilia o de sueño (Figura 8A). Sin embargo, luego de la administración de 200 mg de Cannabis, en la primera hora de registro, ocurrió un incremento significativo del tiempo de sueño NREM (C₂₀₀: 185,8 ± 28,5; Sham: 115,0 ± 20,7; t (5) = -2,7 p = 0,04), pero únicamente durante la fase de luz (Figura 8B). Este efecto, no pudo ser explicado por el incremento del número de episodios (C₂₀₀: 15,2 ± 1,2; Sham: 13,5 ± 2,8; t (5) = 0,58 p = 0,63), ni por la duración de éstos (C₂₀₀: 1,9 ± 0,4; Sham: 1,6 ± 0,4; t(5) = 0,74 p = 0,49) por lo cual, parece

ser debido a una combinación de ambos factores.

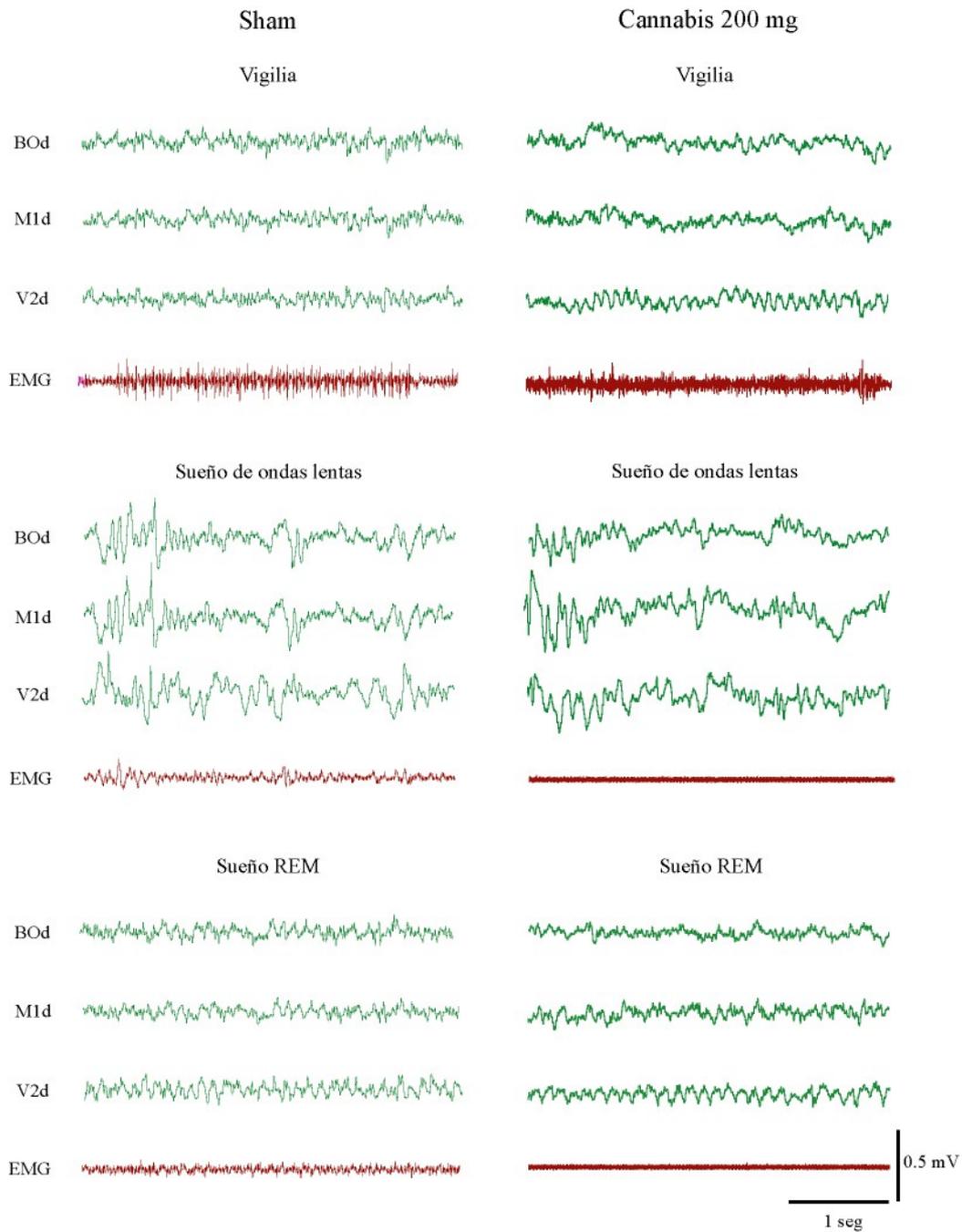


Figura 6. Registros crudos de EEG y EMG de un animal representativo luego de un Sham y de la administración de 200 mg de Cannabis durante la fase de luz. BOd, Bulbo Olfatorio derecho; M1d, Corteza motora primaria derecha; V2d, Corteza visual secundaria derecha.

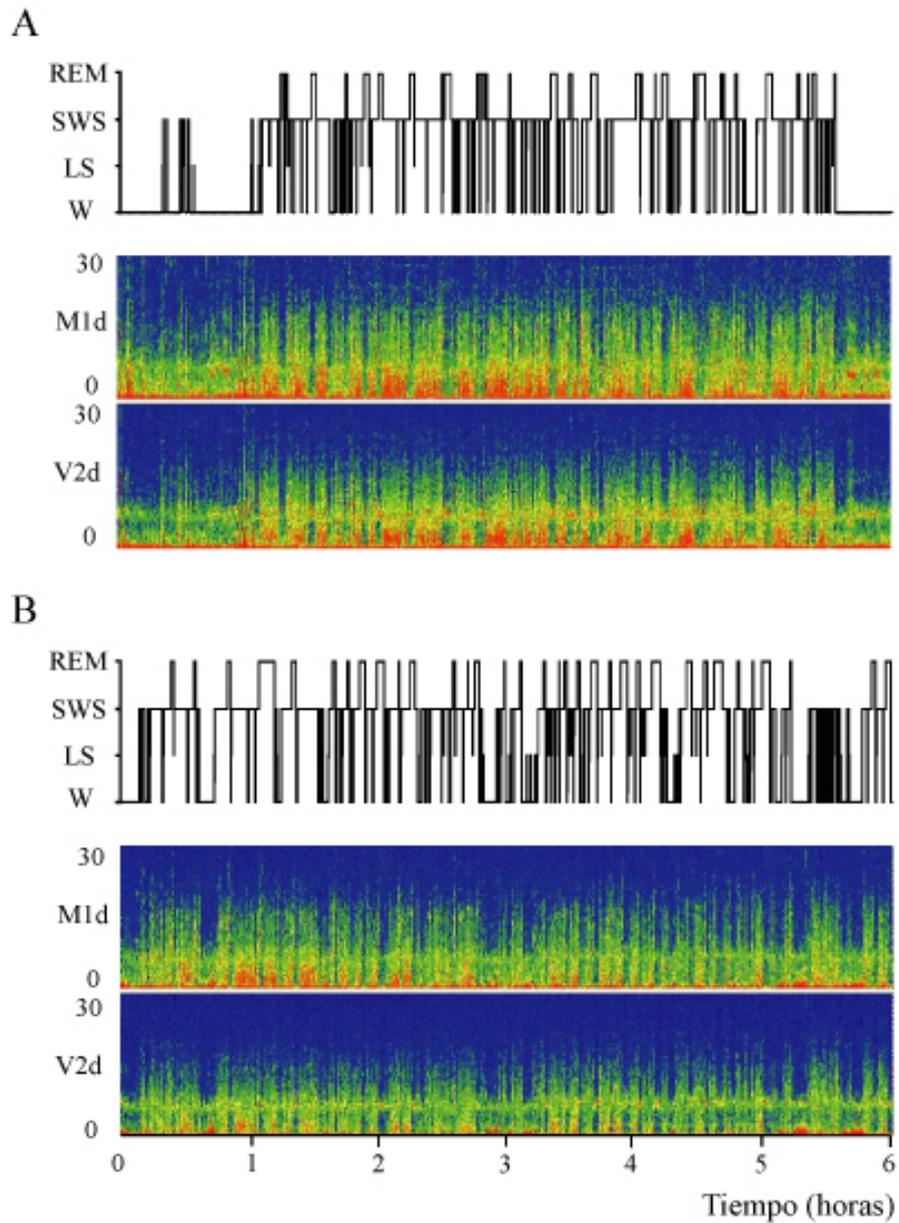


Figura 7. Hipnograma y espectrograma (0,1-30 Hz) de la corteza motora primaria derecha y visual secundaria de un animal representativo luego de la administración de Sham (A) y Cannabis 200 mg (B) durante la fase de luz. Es posible observar en la vigilia y el sueño REM la actividad theta (5 – 9 Hz). Durante el sueño de ondas lentas la actividad delta (1 – 4 Hz) es más prominente y se evidencian episodios intermitentes de actividad sigma (10 - 15 Hz), que corresponde a la presencia de husos de sueño. La calibración de color del espectrograma no se presenta en la figura (potencias más altas son representadas por el color rojo). Es posible apreciar que el tiempo de sueño incrementa en la primera hora de registro. LS, sueño ligero; SWS, sueño de ondas lentas.

Tabla 1. Efectos de la vaporización de 40 y 80 mg de Cannabis sobre el sueño y la vigilia durante la fase de oscuridad.

	Sham	Cannabis 40 mg	Cannabis 80mg
Vigilia (W)			
Duración total (min)	222,9 ± 17,3	226,1 ± 8,9	194,6 ± 22,7
Número de episodios	69,0 ± 10,3	55,4 ± 2,5	70,2 ± 10,3
Duración de los episodios (min)	3,5 ± 0,5	4,2 ± 0,3	3,1 ± 0,7
Sueño Ligero (LS)			
Duración total (min)	11,4 ± 2,5	10,6 ± 2,2	12,1 ± 5,0
Número de episodios	51,4 ± 9,6	44,6 ± 6,3	43,8 ± 16,1
Duración de los episodios (min)	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0
Sueño de ondas lentas (SWS)			
Duración total (min)	112,0 ± 14,7	108,2 ± 6,8	137,2 ± 18,1
Número de episodios	76,8 ± 12,9	65,2 ± 4,2	65,2 ± 4,2
Duración de los episodios (min)	1,5 ± 0,2	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1
Latencia	23,2 ± 8,0	15,4 ± 2,5	20,0 ± 6,8
Sueño NREM			
Duración total (min)	123,4 ± 15,3	118,8 ± 7,3	149,3 ± 18,9
Sueño REM			
Duración total (min)	12,6 ± 2,2	15,1 ± 2,7	16,1 ± 4,1
Número de episodios	10,0 ± 1,8	16,1 ± 5,1	11,2 ± 2,9
Duración de los episodios (min)	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,2	1,5 ± 0,2
Latencia	49,8 ± 11,3	61,4 ± 11,6	61,1 ± 12,1

El análisis fue realizado para el tiempo total de registro. Los datos están presentados como media ± error estándar de las seis ratas. No se observaron diferencias significativas entre los grupos (ANOVA de una vía para medidas repetidas).

Tabla 2. Efectos de la vaporización de 200 mg de Cannabis sobre el sueño y la vigilia durante la fase de oscuridad.

	Sham	Cannabis 200 mg
Vigilia (W)		
Duración total (min)	222,8 ± 18,5	207,8 ± 13,4
Número de episodios	67,7 ± 9,0	51,0 ± 7,0
Duración de los episodios (min)	3,6 ± 0,5	4,7 ± 1,0
Sueño Ligero (LS)		
Duración total (min)	6,4 ± 1,3	8,9 ± 3,7
Número de episodios	26,2 ± 5,4	19,0 ± 7,5
Duración de los episodios (min)	0,3 ± 0,0	0,7 ± 0,5
Sueño de ondas lentas (SWS)		
Duración total (min)	112,2 ± 11,9	124,3 ± 8,6
Número de episodios	74,8 ± 8,9	56,3 ± 7,2
Duración de los episodios (min)	1,6 ± 0,3	1,9 ± 0,6
Latencia	14,9 ± 3,7	19,7 ± 5,8
Sueño NREM		
Duración total (min)	118,6 ± 11,6	133,2 ± 8,6
Sueño REM		
Duración total (min)	18,7 ± 7,2	19,1 ± 6,7
Número de episodios	13,2 ± 4,5	13,2 ± 3,5
Duración de los episodios (min)	1,4 ± 0,2	1,2 ± 0,2
Latencia	25,7 ± 6,4	65,5 ± 17,0

El análisis fue realizado para el tiempo total de registro. Los datos están presentados como media ± error estándar de las seis ratas. No se observaron diferencias significativas entre los grupos (prueba t de Student de dos colas, pareada).

Tabla 3. Efectos de la vaporización de 40 y 80 mg de Cannabis sobre el sueño y la vigilia durante la fase de luz.

	Sham	Cannabis 40 mg	Cannabis 80mg
Vigilia (W)			
Duración total (min)	119,1 ± 6,5	125,5 ± 39,1	95,3 ± 5,3
Número de episodios	85,4 ± 9,7	83,0 ± 11,2	84,2 ± 7,8
Duración de los episodios (min)	1,5 ± 0,2	1,9 ± 0,9	1,2 ± 0,1
Sueño Ligero (LS)			
Duración total (min)	25,0 ± 9,0	12,9 ± 3,8	17,8 ± 2,1
Número de episodios	85,4 ± 9,7	65,2 ± 18,9	80,8 ± 9,5
Duración de los episodios (min)	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
Sueño de ondas lentas (SWS)			
Duración total (min)	179,9 ± 10,9	187,8 ± 32,0	203,6 ± 4,2
Número de episodios	110,6 ± 13,3	97,7 ± 18,7	101,3 ± 7,9
Duración de los episodios (min)	1,8 ± 0,3	1,9 ± 0,2	2,1 ± 0,2
Latencia	19,7 ± 3,2	26,4 ± 6,7	14,7 ± 2,5
Sueño NREM			
Duración total (min)	204,9 ± 4,1	200,6 ± 33,2	221,4 ± 2,9
Sueño REM			
Duración total (min)	35,3 ± 3,7	30,4 ± 6,1	37,5 ± 1,1
Número de episodios	22,4 ± 2,1	21,0 ± 4,9	21,5 ± 2,9
Duración de los episodios (min)	1,6 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,8 ± 0,2
Latencia	76,2 ± 9,1	76,4 ± 8,9	58,3 ± 8,5

El análisis fue realizado para el tiempo total de registro. Los datos están presentados como media ± error estándar de las seis ratas. No se observaron diferencias significativas entre los grupos (ANOVA de una vía para medidas repetidas).

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

	Sham	Cannabis 200 mg
Vigilia (W)		
Duración total (min)	113,3 ± 3,1	103,5 ± 7,0
Número de episodios	79,5 ± 4,5	61,8 ± 4,9*
Duración de los episodios (min)	1,5 ± 0,1	1,7 ± 0,2
Sueño Ligero (LS)		
Duración total (min)	19,5 ± 6,7	13,6 ± 4,6
Número de episodios	78,0 ± 22,4	53,5 ± 13,3
Duración de los episodios (min)	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0
Sueño de ondas lentas (SWS)		
Duración total (min)	180,0 ± 7,6	209,2 ± 10,9
Número de episodios	102,3 ± 12,8	82,0 ± 14,2
Duración de los episodios (min)	1,8 ± 0,2	2,4 ± 0,4
Latencia	15,3 ± 2,7	19,7 ± 5,8
Sueño NREM		
Duración total (min)	199,5 ± 8,4	222,8 ± 7,5
Sueño REM		
Duración total (min)	32,6 ± 5,0	33,6 ± 6,1
Número de episodios	22,5 ± 2,9	27,0 ± 8,8
Duración de los episodios (min)	1,5 ± 0,1	1,5 ± 0,3
Latencia	61,9 ± 10,2	78,9 ± 16,7

El análisis fue realizado para el tiempo total de registro. Los datos están presentados como media ± error estándar de las seis ratas. * indica diferencias significativas con el grupo Sham utilizando una prueba T de Student de dos colas, pareada ($p < 0,05$).

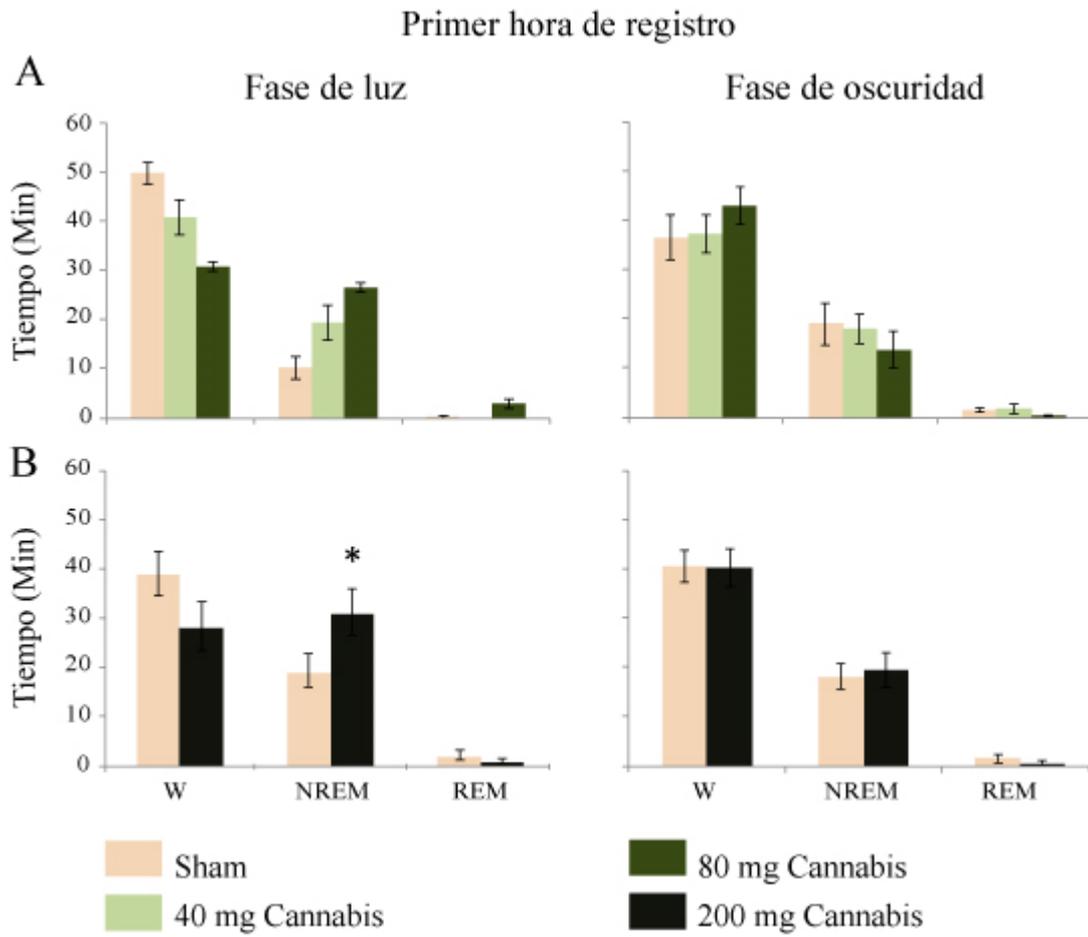


Figura 8. Efecto de la administración de Cannabis sobre la vigilia y el sueño durante la primera hora de registro. Las gráficas muestran la media \pm error estándar del tiempo permanecido en vigilia (W), sueño NREM y sueño REM. El efecto de las dosis bajas de Cannabis (40 y 80 mg) se muestran en los gráficos de arriba (A), mientras que el efecto de los 200 mg se muestra en los gráficos de abajo (B). Las diferencias entre los grupos Sham, C₄₀ y C₈₀ fue determinado por ANOVA de una vía de medidas repetidas, mientras que las diferencias entre Sham y C₂₀₀ fue determinada por prueba T de Student pareada de dos colas.

5.3 Efectos sobre la potencia espectral

Dado que el efecto sobre el sueño sólo fue observado con la dosis más alta de Cannabis, el análisis cuantitativo del EEG fue realizado únicamente para dicha dosis. Los efectos de C₂₀₀ se resumen en la Figura 9A. Durante la vigilia, en la fase de luz, la administración de 200 mg de Cannabis produjo una reducción en la potencia theta, sigma, beta y LG en el BO. La potencia de LG disminuyó también en la corteza motora izquierda y hubo una tendencia ($p < 0,05$, $> 0,0071$) a la disminución de esta en la corteza motora derecha. Por el contrario, durante la fase de oscuridad, no existió efecto sobre la potencia de las distintas bandas de frecuencia del EEG en la W. Durante el sueño NREM el Cannabis no afectó la potencia del EEG en ninguno de los dos momentos de administración. Sin embargo, en el sueño REM, durante las horas de luz, C₂₀₀ redujo la potencia HFO en las cortezas motoras y somatosensitivas izquierdas; además, se observó una tendencia a la disminución en la corteza motora derecha. Como ocurrió en la W, no se observaron efectos cuando la vaporización fue realizada durante la fase de oscuridad. En la

Figura 9B se muestra un ejemplo de gráfico de espectro de potencia a nivel del BO. En esta figura es posible apreciar las diferencias entre la fase activa (oscuridad) y la fase de reposo (luz). Los resultados de todos los análisis de potencia espectral realizados están mostrados en los anexos 1 y 2 para la fase de luz y oscuridad respectivamente.

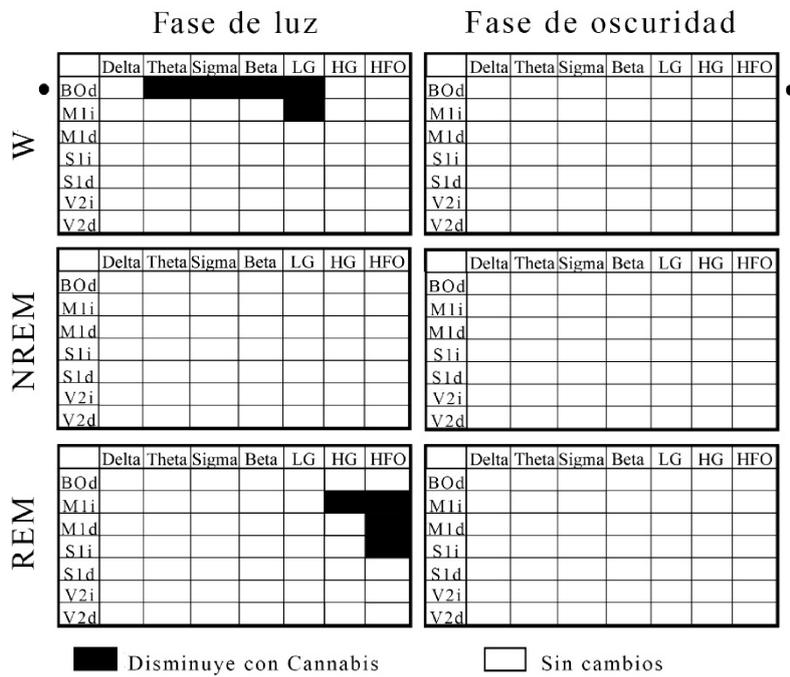
5.4 Efectos sobre la Z'Coherencia

Se analizaron los efectos de la administración de 200 mg de Cannabis sobre la Z'coherencia espectral. Se realizó un análisis intrahemisférico entre las cortezas derechos (BO-M1; M1-S1 y S1-V2), así como un análisis de la coherencia interhemisférica entre cortezas homologas (M1, S1 y V2 de ambos hemisferios). Este análisis fue realizado durante los diferentes estados de sueño y W, y también durante las fases de luz y de oscuridad.

A diferencia de lo que ocurrió en el análisis de la potencia espectral, en el análisis de coherencia no se observaron efectos ni durante la W ni durante el sueño durante la fase de luz (Figura 10). Por el contrario, el único efecto significativo de la administración de

Cannabis sobre la Z'coherencia fue registrado durante la fase oscura;

A



B

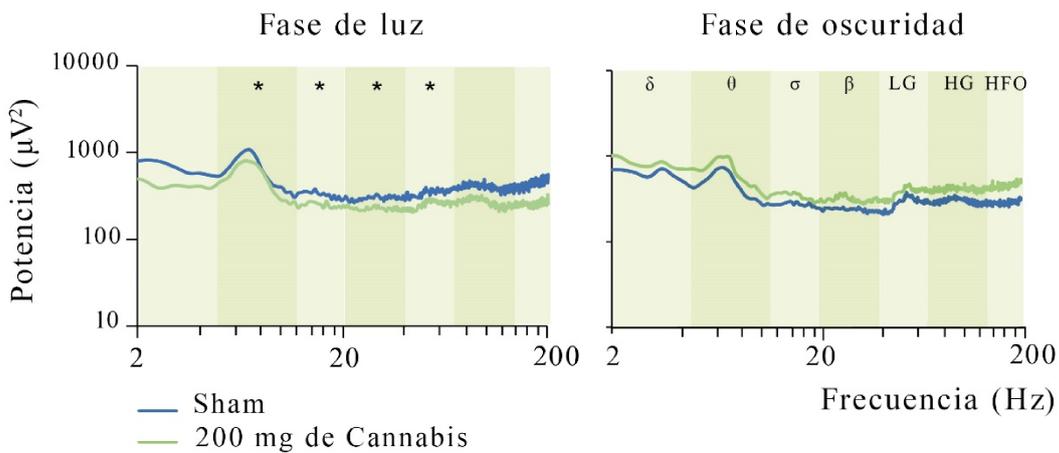


Figura 9. Efecto de la administración de 200 mg de Cannabis sobre la potencia del EEG. A. Resumen de los efectos de acuerdo a la corteza, bandas de frecuencia y fase de luz/oscuridad. En negro se indican las disminuciones de potencia significativas ($p < 0.0071$). B. Se muestra como ejemplo un gráfico del efecto de 200 mg de Cannabis sobre la potencia del BO durante la W (indicado con un círculo negro en A). La vaporización de Cannabis produjo una disminución significativa en theta, sigma, beta y LG (indicado con asteriscos) durante la fase de luz. En este gráfico se eliminó el “Pink noise” multiplicando los valores por sus frecuencias. Delta, 1-4Hz; theta, 5-9 Hz; sigma, 10-15 Hz; beta, 16-30 Hz; LG, 31-48 Hz; HG, 52-95 Hz; HFO, 105-148 Hz. BO, bulbo olfatorio; M1, corteza motora primaria; S1, corteza somatosensitiva ; V2, corteza visual secundaria; d, derecho; l, izquierdo; LG, gamma bajo; HG, Gamma alto; HFO, Oscilaciones de alta frecuencia; W, vigilia; NREM, sueño No-REM; REM, sueño REM.

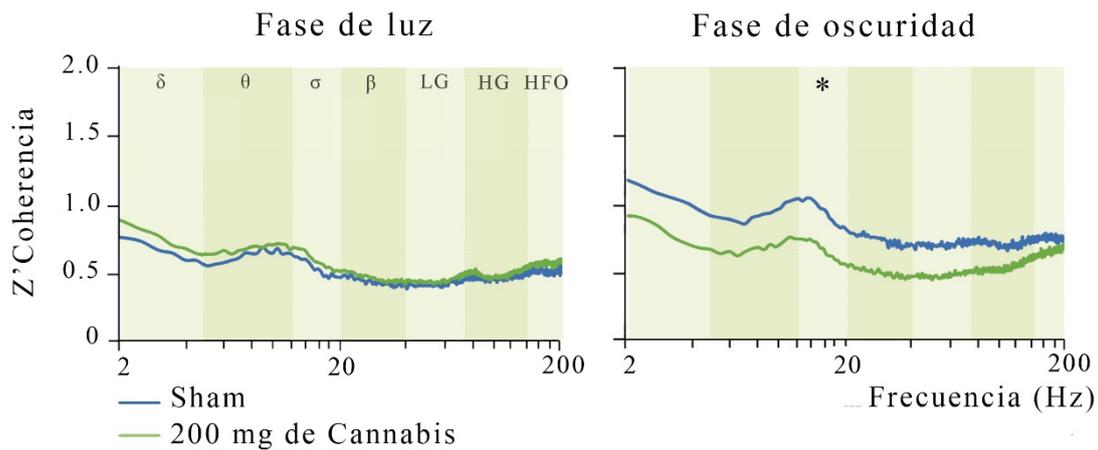


Figura 10. Efecto de la administración de 200 mg de Cannabis sobre la Z'coherencia. La figura muestra el efecto durante el sueño NREM entre las cortezas somatosensitiva primaria y visual secundaria del hemisferio derecho luego de la administración de Cannabis. La vaporización produjo una disminución estadísticamente significativa en la banda sigma durante el sueño NREM (indicado por asteriscos, $p < 0.0071$), pero únicamente durante la fase de oscuridad.

se observó una disminución de la coherencia intrahemisférica de la banda sigma (que corresponde a la frecuencia de los husos de sueño) entre las cortezas más posteriores (S1 y V2) del hemisferio derecho (Figura 10). En los anexos 3 y 4 se muestran los resultados de todos los análisis de coherencia realizados para la fase de luz y de oscuridad respectivamente.

6 Discusión

Este es el primer trabajo que describe los efectos de la vaporización de flores de Cannabis sobre el ciclo sueño-vigilia y la actividad eléctrica cortical en ratas. Hemos demostrado que el Cannabis administrado mediante esta vía provoca un incremento del

tiempo permanecido en sueño NREM durante la primera hora de registro, cuando es administrado en las horas de luz, que se corresponde a la fase de reposo de la rata. Cuando se administró en la fase de oscuridad, que es la fase de mayor actividad de estos animales, no se observó este efecto. Así mismo, se observaron modificaciones en la potencia y coherencia de las distintas bandas de frecuencia del EEG tanto durante la W como durante el sueño. Estos efectos del Cannabis también fueron altamente dependientes del momento de administración de la droga.

6.1 Consideraciones técnicas

Demostramos que nuestro sistema de vaporización fue efectivo a la hora de administrar cannabinoides a los animales. Nuestro objetivo consistía en evaluar el efecto del Cannabis sobre el ciclo sueño-vigilia, principalmente con perspectivas a un posible uso medicinal del mismo. Es por esto que consideramos interesante el estudio de dosis relativamente bajas. Nuestra concentración máxima obtenida en sangre con la dosis más alta utilizada (C₂₀₀) fue de 6,7 ng/mL. Esta concentración es considerada baja debido a que hay estudios en los que se obtuvieron niveles ampliamente más altos de THC en sangre utilizando procedimientos de vaporización similares (hasta 301 ng/mL/kg), pero utilizando mayores tiempos de exposición y mayor cantidad de material vegetal (Manwell y col., 2014; Nguyen y col., 2016). Sin embargo, niveles de 2 a 4 ng/mL producen efectos objetivos y subjetivos en humanos (R Brenneisen y col., 1996; Ohlsson y col., 1980). El efecto promotor de sueño obtenido con las dosis de THC utilizadas en este trabajo, (ampliamente menores a las utilizadas en otros experimentos) alientan el uso medicinal de Cannabis evitando efectos

adversos o no deseados que podrían aparecer con dosis más altas, como por ejemplo, síntomas de psicosis (Di Forti y col., 2009).

El análisis del EEG fue realizado para las seis horas de registro, con la finalidad de obtener el máximo número de períodos no transicionales y libres de artefactos para cada estado comportamental. Sin embargo, los efectos comportamentales fueron vistos únicamente en la primera hora de registro y se “diluyeron” cuando el análisis se realizó en el tiempo total de registro. De hecho, describimos algunos resultados que no fueron significativos, pero que si presentaron tendencia ($p < 0.05$, > 0.0071) en el análisis de potencia y coherencia. Creemos que esos resultados podrían haber alcanzado la significancia si el análisis de EEG se hubiese realizado únicamente para la primer hora de registro y/o incrementando el número de animales evaluados.

6.2 Efecto promotor del sueño NREM

El incremento en el sueño NREM que encontramos en este trabajo coincide con los hallazgos de algunos estudios clínicos que demostraron que el Cannabis administrado por otras vías

podría ser útil para el tratamiento de insomnio en adultos (Belendiuk y col., 2015; Bonn-Miller y col., 2014) y en adolescentes (Boys y col., 2001). Sin embargo, este efecto no está completamente claro. Gates y col., 2014, luego de analizar treinta y nueve publicaciones que evaluaban la acción de la administración de Cannabis sobre el sueño, concluyeron que no había evidencia suficiente para establecer que existe un efecto benéfico del mismo. Estos autores plantean que, en muchos casos, la causa de los desórdenes de sueño de los pacientes estudiados eran síntomas de otras patologías preexistentes como, por ejemplo, dolor. Las discrepancias en los resultados publicados por diferentes investigadores podrían ser debidas a las diferentes vías de administración, tiempo de consumo (agudo Vs. crónico) y al hecho de que muchos de los estudios clínicos realizados presentaban algunos factores de sesgo como, por ejemplo, no considerar la edad o género de los participantes, desórdenes del sueño previos y/o el consumo concomitante de otras sustancias.

En cuanto al efecto de los fitocannabinoides aislados, muchos

trabajos han concluido que el THC tiene propiedades sedantes mientras que el CBD, dependiendo de la dosis, puede actuar como un compuesto activador (Nicholson y col., 2004). El THC es un agonista parcial de los receptores CB1 (Paronis y col., 2012), y se cree que su efecto sobre el sueño podría deberse a la unión a esos receptores (Murillo-Rodríguez, 2008; Santucci y col., 1996). De hecho, el primer reporte del rol de los receptores CB1 sobre la modulación del sueño fue realizado en 1996 por Santucci y col. (1996). Estos autores inyectaron el antagonista CB1 "SR141716A" por vía intraperitoneal en ratas, obteniendo un incremento de la W dosis dependiente (Santucci y col., 1996). Existen hipótesis de cómo el THC ejercería su acción sobre el sueño. Ha sido ampliamente demostrado que el sistema endocannabinoide modula de forma recíproca otros sistemas de neurotransmisores como por ejemplo los sistemas hipocretinérgico y MCHérgicos. Las neuronas hipocretinérgicas son parte del sistema activador y esenciales para el mantenimiento de la vigilia (Tortero y Chase, 2014). Mientras que las neuronas MCHérgicas (productoras de hormona concentradora de melanina)

son promotoras tanto de sueño REM como NREM (Benedetto y col., 2013; Torterolo y col., 2011). Huang y col. (2007) demostraron en preparaciones in vitro que la activación de receptores cannabinoides provoca una hiperpolarización de las neuronas hipocretinérgicas y una despolarización de las neuronas MCHérgicas. Así mismo, la administración intra-hipotalámica de 2-AG incrementa el sueño REM y disminuye la expresión de c-fos en las neuronas hipocretinérgicas y la aumenta en las MCHérgicas (Flores y col., 2013; Pérez-Morales y col., 2013). Otra hipótesis al respecto de la acción de los agonistas CB1 sobre el ciclo sueño-vigilia es que el sistema endocannabinoide modularía los niveles de adenosina. La adenosina es un neurotransmisor endógeno promotor de sueño que va aumentando su concentración conforme aumenta la presión al sueño (Huang y col., 2011). Murillo-Rodriguez y col. (2003) demostraron que la inyección intraperitoneal de anandamida provocó un incremento del sueño NREM y un aumento de los niveles de adenosina a nivel del cerebro anterior.

El material vegetal utilizado en este trabajo tenía una alta concentración de THC y niveles indetectables de CBD. Pero, ¿fue únicamente el THC el responsable del incremento del sueño NREM?

Si bien la mayoría de los trabajos científicos se han enfocado en la administración de cannabinoides aislados, la planta está compuesta por más de 530 sustancias químicas y se ha demostrado que algunos de esos componentes pueden tener efecto sinérgico. De hecho, Carlini y col. (1974), basándose en trabajos en humanos y animales, determinaron que los extractos de planta de Cannabis producían efectos de “dos a cuatro veces mayores que los esperables por su contenido en THC” [Efecto séquito (Mechoulam y Ben-Shabat, 1999)]. A su vez, algunos de los terpenos que se encuentran en la planta de Cannabis han demostrado tener propiedades sedantes por sí solos (Booth y col., 2017; do Vale y col., 2002). Por ejemplo, los terpenos como el α Pineno (Yang y col., 2016), mirceno (do Vale y col., 2002) y fitol (Costa y col., 2014), ejercen su efecto al unirse al sitio de unión de las benzodiazepinas sobre el receptor GABA_A, mientras que otros

como el limoneno actuaría a través de los receptores A_{2A} de adenosina (Park y col., 2011); ambos sitios de acción han sido vinculados con la regulación del sueño. Por lo tanto, sería de gran interés realizar estudios que ponderen la importancia relativa del THC y los terpenos en este efecto promotor del sueño NREM que presenta el Cannabis.

6.3 La administración de Cannabis modificó la actividad eléctrica cortical

La dosis de 200 mg disminuyó, a nivel del BO, la potencia de las bandas de frecuencia que se encuentran en el rango entre theta y LG durante la W, pero únicamente cuando fue administrada en la fase de luz. Es interesante recalcar que han sido identificados un elevado número de receptores CB1 a nivel del BO (Moldrich y Wenger, 2000). Además, existe evidencia electrofisiológica de que el sistema endocannabinoide juega un rol en dicha región regulando la señalización y actividad de neuronas a nivel del glomérulo (Wang y col., 2012). Igualmente, agonistas y antagonistas de los receptores CB1 modulan la actividad de la región periglomerular y de las células en penacho externas a nivel del BO (Wang y col., 2012).

Adicionalmente, las fibras corticobulbares poseen receptores CB1 que podrían regular la excitación o inhibición de neuronas del BO (Pouille y Schoppa, 2018). Por lo tanto, el efecto de los 200 mg de Cannabis sobre la potencia del EEG a nivel del BO podría ser una evidencia adicional a la modulación del procesamiento sensorial en el BO por el sistema endocannabinoide.

La dosis más alta de Cannabis también redujo la potencia de LG a nivel de M1 durante la W. Este resultado concuerda con trabajos de otros autores donde se demostró que la administración de THC disminuyó la potencia de varias bandas de frecuencia del EEG, tanto en el hipocampo como en el neocórtex. Estos efectos han sido reportados sobre las bandas de frecuencia más bajas (rango de delta a beta) (Böcker y col., 2010; Bounamici y col., 1982; Struve y col., 1999; Willinsky y col., 1975), así como en gamma bajo (Cortes-Briones y col., 2015). Así mismo, Robbe et al., (2006) demostraron que tanto el THC como el agonista CB1 “CP55940” redujeron la potencia theta, gamma y HFO en el hipocampo. Por lo tanto, es probable que la caída de la potencia LG

registrada en este trabajo haya sido debida a una activación de los receptores CB1. En este sentido, Holderith y col. (2011) reportaron que la reducción en la excitación sináptica de las neuronas piramidales de CA3 podría ser la base de los mecanismos celulares que subyacen la reducción de la actividad sincrónica de las redes hipocampales dependientes de receptores CB1 (Holderith y col., 2011).

También se redujeron las potencias de HG y HFO en las cortezas motoras y somatosensitivas durante el sueño REM. Es en este estado comportamental cuando ocurren la mayoría de los sueños (actividad onírica). Los sueños son considerados un tipo especial de actividad cognitiva, también conocida como proto-consciencia (Hobson, 2009). Tanto la banda de frecuencia gamma como HFO se han relacionado a funciones cognitivas como, por ejemplo, el procesamiento de memoria (Bosman y col., 2014; Tort y col., 2013). Es conocido que el Cannabis induce alteraciones en las funciones cognitivas, como el deterioro de la memoria, tanto tras su administración aguda como crónica (Crean et al., 2011; Shrivastava et al., 2011). Por lo tanto,

creemos que la reducción de la potencia de estas bandas de frecuencia rápidas podría estar asociada a este tipo de efectos.

Los efectos de la vaporización de Cannabis sobre las oscilaciones del EEG durante el sueño REM sugieren también que el consumo de Cannabis podría afectar los sueños. Al respecto, Murillo-Rodriguez y col. 2017 propusieron la hipótesis de que el sistema endocannabinoide podría modular el contenido de los sueños (Murillo-Rodriguez y col., 2017). De hecho, pacientes con estrés postraumático que recibían Nabilona (un agonista sintético de los receptores CB1 y CB2) reportaron una desaparición o disminución significativa de la intensidad de las pesadillas (Cameron y col., 2014; Fraser, 2009).

Si bien el efecto del Cannabis sobre la coherencia del EEG no fue muy marcado, se verificó una reducción de la coherencia intrahemisférica para la banda sigma entre las cortezas S1 y V2. Curiosamente, este efecto sólo se constató durante la fase de oscuridad.

La frecuencia sigma está asociada a los husos de sueño. Estos, son eventos caracterizados por oscilaciones sincrónicas a una frecuencia de 10-15

Hz, generado por redes tálamo-corticales (Steriade y col., 1993). Los husos de sueño tienen un importante rol en la consolidación de la memoria declarativa (Fogel y Smith, 2011); es esencial para que esta consolidación ocurra durante el sueño que exista un acoplamiento de fase entre las ondas del hipocampo, los husos de sueño y las oscilaciones lentas (Latchoumane y col., 2017; Siapas y Wilson, 1998).

Además, los husos son el principal factor capaz de sincronizar las ondas hipocampales (“ripples”) encargadas de la consolidación de la memoria (Latchoumane y col., 2017). En patologías psiquiátricas como la esquizofrenia se observan reducciones dramáticas tanto de la coherencia de los husos de sueño como de la consolidación de la memoria dependiente de estos (Wamsley y col., 2012). Tal es así, que se ha planteado como hipótesis que una reducción en la actividad sincronizada de los husos podría afectar la consolidación de la memoria al interferir con los procesos normales de reactivación coordinada de la misma durante el sueño (Wamsley y col., 2012). En cuanto a esto, el consumo de Cannabis podría empeorar algunas de las anormalidades

talámicas presentes en los pacientes con esquizofrenia y en individuos que presentan riesgo de desarrollar psicosis. Según Vukadinovic y col. (2013) este efecto podría estar explicado por la acción de los fitocannabinoides sobre canales de calcio tipo T presentes en el tálamo.

A su vez, se ha demostrado que el consumo de Cannabis provoca perjuicios sobre la codificación, consolidación y recuperación de la memoria (Ranganathan y D’Souza, 2006; Schoeler y Bhattacharyya, 2013). Nuestros resultados sugieren este deterioro de memoria producido por el consumo de Cannabis podría estar debido, en parte, a la disminución de la coherencia sigma.

6.4 Variación de los efectos de acuerdo a la hora del día (fase de luz Vs. fase de oscuridad)

Las acciones del Cannabis sobre el sueño NREM y la potencia del EEG fueron observadas únicamente cuando la administración de Cannabis fue durante las horas de luz. Por el contrario, C₂₀₀ modificó la coherencia del EEG, pero exclusivamente en el período de mayor actividad de la rata (fase de oscuridad). Si bien estas diferencias no son sencillas de

interpretar, es importante resaltar que la mayor parte del efecto del Cannabis ocurrió en la fase de luz, momento en el cual los animales duermen más. Este resultado sugiere que el efecto sería más importante durante la noche en los humanos (dado que tenemos hábitos diurnos); esta singularidad podría tener importantes implicancias terapéuticas.

Pero, ¿cómo podríamos explicar estas diferencias entre las fases de luz y de oscuridad? Al respecto, ha sido demostrado que los componentes del sistema endocannabinoide sufren cambios circadianos dependientes del tejido en los que se encuentran. Las concentraciones de endocannabinoides en las diferentes regiones anatómicas, así como la densidad de los receptores CB1 y las enzimas que controlan la síntesis y degradación de los endocannabinoides, exhiben un ritmo circadiano (Martínez-Vargas y col., 2003; Rueda-Orozco y col., 2008; Valenti y col., 2004). Durante la fase de reposo de las ratas (fase de luz), la densidad de receptores CB1 es mayor mientras que la concentración de anandamida circulante disminuye (Martínez-Vargas y col., 2003; Valenti y col., 2004). Dado que el THC es un agonista parcial de los receptores CB1,

planteamos la hipótesis de que podría ejercer un efecto más acentuado durante las horas de luz, debido a que los niveles de receptores están incrementados y hay menos anandamida para competir por esos receptores.

Nuestros resultados sugieren que la administración de Cannabis medicinal durante la noche en humanos (fase de reposo) podría ser óptimo para el tratamiento de dificultades para conciliar el sueño. Se deberían realizar estudios clínicos con el fin de confirmar esta hipótesis.

7 Conclusiones

La vaporización de Cannabis con 11,5 % de THC durante 10 minutos promueve el sueño en ratas únicamente cuando es administrada en la fase de reposo.

Además, provoca una modificación de la actividad del EEG relacionada probablemente con funciones cognitivas.

8 Perspectivas

Consideramos interesante a futuro seguir investigando sobre los efectos de la vaporización de Cannabis sobre el

sueño a diferentes dosis, duración de tratamiento y variedades de Cannabis; por ejemplo, una variedad con altos niveles de CBD y bajo THC, así como una con niveles medios de ambos cannabinoides.

Otra perspectiva de este trabajo sería explorar aún más los mecanismos neurobiológicos que subyacen estos efectos; por ejemplo, realizando mediciones de adenosina, MCH e hipocretinas en el líquido cefalorraquídeo luego de la vaporización de Cannabis.

Por otro lado, consideramos de relevancia determinar el efecto de la vaporización de diferentes perfiles de terpenos aislados sobre el ciclo sueño-vigilia y del efecto séquito que podrían estar produciendo al vaporizar material vegetal.

Por último, consideramos que el resultado del presente trabajo puede servir de base para estudios sobre el uso de Cannabis como medicación preanestésica. Está demostrado que el sueño, principalmente el sueño NREM y la anestesia general comparten grandes similitudes comportamentales y electrofisiológicas. Además, la hipnosis provocada por fármacos anestésicos comparte muchos circuitos neurales

con el sueño (Vacas et al., 2013; Vanini et al., 2011). Por lo tanto, dado que la administración aguda de Cannabis provocó un aumento de sueño NREM consideramos que podría reducir las dosis de anestésicos generales necesarias para la pérdida de consciencia prequirúrgica.

9 Referencias

- Abramovici, H. (2013). Information for Health Care Professionals. Cannabis (marihuana, marijuana) and the cannabinoids. Ottawa: Office of Research and Surveillance, Controlled Substances and Tobacco
- Achermann, P. A., & Borbely, A. A. (1998). Coherence analysis of the human sleep electroencephalogram. *Neuroscience*, 85(4), 1195–1208.
- AHP. (2013). American Herbal Pharmacopoeia, Cannabis Inflorescence and Leaf. (R. Upton, L. Craker, M. ElSohly, A. Romm, E. Russo, & M. Sexton, Eds.). CA: Scott's Valley.
- American-Academy-of-Sleep-Medicine. (2014). International classification of sleep disorders-third edition: highlights and modifications. *Chest*, 146(5), 1387–1394.
- Andre, C. M., Hausman, J.-F., & Guerriero, G. (2016). Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Frontiers in Plant Science*, 7, 19.
- Babson, K. A., & Bonn-Miller, M. (2014). Sleep Disturbances: Implications for Cannabis Use, Cannabis Use Cessation, and Cannabis Use Treatment. *Current Addiction Reports*, 1(2), 109–114.
- Babson, K. A., Sottile, J., & Morabito, D. (2017). Cannabis, Cannabinoids, and Sleep: a Review of the Literature. *Current Psychiatry Reports*, 19(4).
- Belendiuk, K., Babson, K., Vandrey, R., & Bonn-Miller, M. (2015). Cannabis species and cannabinoid concentration preference among sleep-disturbed medicinal cannabis users. *Addictive Behaviors*, 50, 178–181.
- Ben-Shabat, S., Fride, E., Sheskin, T., Tamiri, T., Rhee, M. H., Vogel, Z., ... Mechoulam, R. (1998). An entourage effect: inactive endogenous fatty acid glycerol esters enhance 2-arachidonoyl-glycerol cannabinoid activity. *European Journal of Pharmacology*, 353(1), 23–31.
- Benedetto, L., Rodriguez-Servetti, Z., Lagos, P., D'Almeida, V., Monti, J. M., & Torterolo, P. (2013). Microinjection of melanin concentrating hormone into the lateral preoptic area promotes non-REM sleep in the rat. *Peptides*, 39, 11–15.
- Blain-Moraes, S., Lee, U., Ku, S., Noh, G., & Mashour, G. A. (2014). Electroencephalographic effects of ketamine on power, cross-frequency coupling, and connectivity in the alpha bandwidth. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 8(July).
- Böcker, K. B. E., Hunault, C. C., Gerritsen, J., Kruidenier, M., Mensinga, T. T., & Kenemans, J. L. (2010). Cannabinoid modulations of resting state EEG θ power and working memory are correlated in humans. *Journal of Cognitive Neuroscience*, 22(9), 1906–1916.
- Bonn-Miller, M. O., Boden, M. T., Bucossi, M. M., & Babson, K. A. (2014). Self-reported cannabis use characteristics, patterns and helpfulness among medical cannabis users. *American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, 40(1), 23–30.
- Boostani, R., Karimzadeh, F., & Nami, M. (2017). A comparative review on sleep stage classification methods in patients and healthy individuals. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 140, 77–91. <https://doi.org/10.1016/J.CMPB.2016.12.004>
- Booth, J. K., Page, J. E., & Bohlmann, J. (2017). Terpene synthases from Cannabis sativa. *Plos One*, 12(3), e0173911. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173911>

- Bowyer, S. M. (2016). Coherence a measure of the brain networks: past and present. *Neuropsychiatric Electrophysiology*, 2(1), 1.
- Boys, A., Mardsen, J., & Strang, J. (2001). Understanding reasons for drug use amongst young people: a functional perspective. *Health Education Research. Theory and Practice*, 16(4), 457–469.
- Brenneisen, R. (2007). Chemistry and analysis of phytocannabinoids and other cannabis constituents. In M. A. Elsohly (Ed.), *Marijuana and the Cannabinoids* (1st ed., pp. 17–49). Totowa, New Jersey: Humana Press.
- Brenneisen, R., Egli, A., Elsohly, M. A., Henn, V., & Spiess, Y. (1996). The effect of orally and rectally administered delta 9-tetrahydrocannabinol on spasticity: a pilot study with 2 patients. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 34(10), 446–452.
- Bullock, T. H., & McClune, M. C. (1989). Lateral coherence of the electrocorticogram: a new measure of brain synchrony. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 73(6), 479–498.
- Bullock, T. H., McClune, M. C., & Enright, J. T. (2003). Are the electroencephalograms mainly rhythmic? Assessment of periodicity in wide-band time series. *Neuroscience*, 121(1), 233–252.
- Buzsáki, G., Logothetis, N., & Singer, W. (2013). Scaling brain size, keeping timing: Evolutionary preservation of brain rhythms. *Neuron*, 80(3), 751–764.
- Cameron, C., Watson, D., & Robinson, J. (2014). Use of a synthetic cannabinoid in a correctional population for posttraumatic stress disorder-related insomnia and nightmares, chronic pain, harm reduction, and other indications: A retrospective evaluation. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 34(5), 559–564.
- Cantero, J. L., Atienza, M., Madsen, J. R., & Stickgold, R. (2004). Gamma EEG dynamics in neocortex and hippocampus during human wakefulness and sleep. *NeuroImage*, 22(3), 1271–1280.
- Carlini, E. A., Karniol, I. G., Renault, P. F., & Schuster, C. R. (1974). Effects of marijuana in laboratory animals and in man. *British Journal of Pharmacology*, 50(2), 299–309.
- Carskadon, M. a., & Dement, W. C. (2011). Normal Human Sleep: An Overview. In M. Kryger, T. Roth, & W. Dement (Eds.), *Principles and practice of sleep medicine* (5th ed., Vol. 5, pp. 16–26). St Louis: Elsevier Saunders.
- Castro, S., Falconi, A., Chase, M. H., & Torterolo, P. (2013). Coherent neocortical 40-Hz oscillations are not present during REM sleep. *The European Journal of Neuroscience*, 37(8), 1330–1339.
- Castro Zaballa, S. (2012). Estudio de la coherencia de la banda gamma de frecuencias (35-45 Hz) del EEG durante la vigilia y el sueño. Facultad de Medicina UdelaR.
- Cavelli, M. (2015). Potencia y coherencia de la banda gamma (30-100 Hz) de frecuencias del EEG durante el ciclo sueño y vigilia. Facultad de Medicina UdelaR.
- Cavelli, M., Castro-Zaballa, S., Mondino, A., Gonzalez, J., Falconi, A., & Torterolo, P. (2017). Translational Brain Rhythmicity Absence of EEG gamma coherence in a local activated cortical state: a conserved trait of REM sleep. *Transl Brain Rhythmicity*, 2(1), 1–13.
- Cavelli, M., Castro-Zaballa, S., Rojas-Líbano, D., Schwarzkopf, N., Gonzalez, J., Mondino, A., ... Torterolo, P. (2017). Power and coherence of neocortical high frequency oscillations (HFO) during wakefulness and sleep. *European Journal of Neuroscience*.

- Chagas, M. H. N., Crippa, J. A. S., Zuardi, A. W., Hallak, J. E. C., Machado-de-Sousa, J. P., Hirotsu, C., ... Andersen, M. L. (2013). Effects of acute systemic administration of cannabidiol on sleep-wake cycle in rats. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 27(3), 312–316.
- Chait, L. D. (1990). Subjective and behavioral effects of marijuana the morning after smoking. *Psychopharmacology*, 100(3), 328–333.
- Christiansen, M. A. (2010). A Great Schism : Social Norms and Marijuana Prohibition.
- Clancy, J. J., Caldwell, D. F., Villeneuve, M. J., & Sangiah, S. (1978). Daytime sleep-wake cycle in the rat. *Physiology & Behavior*, 21(3), 457–459.
- Clarke, R., & Watson, D. (2007). Cannabis and Natural Cannabis Medicines. In M. A. Elsohly (Ed.), *Marijuana and the Cannabinoids* (1st ed., pp. 1–17). New Jersey: Humana Press.
- Cooley, J. W., & Tukey, J. W. (1965). An Algorithm for the Machine Calculation of Complex Fourier Series. *Mathematics of Computation*, 19(90), 297.
- Cortes-Briones, J., Skosnik, P. D., Mathalon, D., Cahill, J., Pittman, B., Williams, A., ... D'Souza, D. C. (2015). Δ 9-THC Disrupts Gamma (γ)-Band Neural Oscillations in Humans. *Neuropsychopharmacology*, 40(9), 2124–2134.
- Costa, J. P., de Oliveira, G. A. L., de Almeida, A. A. C., Islam, M. T., de Sousa, D. P., & de Freitas, R. M. (2014). Anxiolytic-like effects of phytol: Possible involvement of GABAergic transmission. *Brain Research*, 1547, 34–42.
- Cousens, K., & DiMascio, A. (1973). (Δ 9) THC as an hypnotic - An experimental study of three dose levels. *Psychopharmacologia*, 33(4), 355–364.
- Crean, R. D., Crane, N. A., & Mason, B. J. (2011). An evidence based review of acute and long-term effects of cannabis use on executive cognitive functions. *Journal of Addiction Medicine*, 5(1), 1–8.
- Dafters, R. I., Duffy, F., O'Donnell, P. J., & Bouquet, C. (1999). Level of use of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA or Ecstasy) in humans correlates with EEG power and coherence. *Psychopharmacology*, 145(1), 82–90.
- de Fonseca, F. R., del Arco, I., Bermudez-Silva, F. J., Bilbao, A., Cippitelli, A., & Navarro, M. (2005). The endocannabinoid system: Physiology and pharmacology. *Alcohol and Alcoholism*, 40(1), 2–14.
- Di Forti, M., Morgan, C., Dazzan, P., Pariante, C., Mondelli, V., Marques, T. R., ... Murray, R. M. (2009). High-potency cannabis and the risk of psychosis. *British Journal of Psychiatry*, 195(6), 488–491.
- Di Marzo, V., & Piscitelli, F. (2015). The Endocannabinoid System and its Modulation by Phytocannabinoids. *Neurotherapeutics : The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 12(4), 692–698.
- Do Vale, T. G., Furtado, E. C., Santos, J. G., & Viana, G. S. B. (2002). Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. *Phytomedicine : International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 9(8), 709–714.
- Dressler, O., Schneider, G., Stockmanns, G., & Kochs, E. (2004). Awareness and the EEG power spectrum: analysis of frequencies. *British Journal of Anaesthesia*, 93(6), 806–809.
- Duda, M. M., Dan, A., & Moldovan, C. (2009). MEDICINAL AND THERAPEUTIC USES OF CANNABIS SATIVA L ., 87–89.

- Fadda, P., Robinson, L., Fratta, W., Pertwee, R. G., & Riedel, G. (2004). Differential effects of THC- or CBD-rich cannabis extracts on working memory in rats. *Neuropharmacology*, 47(8), 1170–1179.
- Flores, Á., Maldonado, R., & Berrendero, F. (2013). Cannabinoid-hypocretin cross-talk in the central nervous system: What we know so far. *Frontiers in Neuroscience*, 7(7 DEC), 1–17.
- Fraser, G. A. (2009). The use of a synthetic cannabinoid in the management of treatment-resistant nightmares in posttraumatic stress disorder (PTSD). *CNS Neuroscience and Therapeutics*, 15(1), 84–88.
- Freeman, W. J., & Quiroga, R. Q. (2013). Frequency Analysis. In *Imaging Brain Function With EEG* (pp. 21–36). New York, NY: Springer New York.
- Gates, P. J., Albertella, L., & Copeland, J. (2014). The effects of cannabinoid administration on sleep : a systematic review of human studies. *Sleep Medicine Reviews*, 18, 447–487.
- Gieringer, D., St. Laurent, J., & Goodrich, S. (2004). Cannabis Vaporizer Combines Efficient Delivery of THC with Effective Suppression of Pyrolytic Compounds. *Journal of Cannabis Therapeutics*, 4(1), 7–27.
- Giuffrida, A., Rodríguez De Fonseca, F., & Piomelli, D. (2000). Quantification of bioactive acylethanolamides in rat plasma by electrospray mass spectrometry. *Analytical Biochemistry*, 280(1), 87–93.
- Gorelick, D. A., Goodwin, R. S., Schwilke, E., Schroeder, J. R., Schwoppe, D. M., Kelly, D. L., ... Huestis, M. A. (2015). Around-the-Clock Oral THC Effects on Sleep in Male Chronic Daily Cannabis Smokers, 22(5), 510–514.
- Gross, J., Schnitzler, A., Timmermann, L., & Ploner, M. (2007). Gamma oscillations in human primary somatosensory cortex reflect pain perception. *PLoS Biology*, 5(5), 1168–1173.
- Grotenhermen, F. (2006). Cannabinoids and the Endocannabinoid System. *Cannabinoids 2006*, 1(1), 10–14.
- Grundy, R. I. (2002). The therapeutic potential of the cannabinoids in neuroprotection. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 11(10), 1365–1374.
- Halikas, J. A., Weller, R. A., Morse, C. L., & Hoffmann, R. G. (1985). A longitudinal study of marijuana effects. *Substance Use and Misuse*, 20(5), 701–711.
- Halliwel, B., Rafter, J., & Jenner, A. (2005). Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and otherphenols: directorindirecteffects? Antioxidant or not? *Am J Clin Nutr*, 81(1).
- Hazekamp, A. (2007). A general introduction to cannabis as medicine. Cannabis; extracting the medicine. Leiden University.
- Health Canada, C. S. and T. D. (2013). Information for health care professionals: cannabis (marihuana, marijuana) and the cannabinoids.
- Hložek, T., Uttl, L., Kadeřábek, L., Balíková, M., Lhotková, E., Horsley, R. R., ... Páleníček, T. (2017). Pharmacokinetic and behavioural profile of THC, CBD, and THC+CBD combination after pulmonary, oral, and subcutaneous administration in rats and confirmation of conversion in vivo of CBD to THC. *European Neuropsychopharmacology*, 27(12), 1223–1237.
- Hobson, J. A. (2009). REM sleep and dreaming: towards a theory of protoconsciousness. *Nature Reviews Neuroscience*, 10(11), 803–813.

- Holderith, N., Németh, B., Papp, O. I., Veres, J. M., Nagy, G. A. A., & Hájos, N. (2011). Cannabinoids attenuate hippocampal gamma oscillations by suppressing excitatory synaptic input onto CA3 pyramidal neurons and fast spiking basket cells. *Journal of Physiology*, 589(20), 4921–4934.
- Hoz Schilling, M. de la. (2015). *Latin America's New Discourse towards Drug Policies: The Role of Cannabis Legalization in Uruguay*. Leiden University.
- Huang, H., Acuna-Goycolea, C., Li, Y., Cheng, H. M., Obrietan, K., & van den Pol, A. N. (2007). Cannabinoids excite hypothalamic melanin-concentrating hormone but inhibit hypocretin/orexin neurons: implications for cannabinoid actions on food intake and cognitive arousal. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(18), 4870–4881.
- Huang, Z., Urade, Y., & Hayaishi, O. (2011). The role of adenosine in the regulation of sleep. *Curr Top Med Chem*, 11(8), 1047–1057.
- Jones, N. C., Reddy, M., Anderson, P., Salzberg, M. R., O'Brien, T. J., & Pinault, D. (2012). Acute administration of typical and atypical antipsychotics reduces EEG gamma power, but only the preclinical compound LY379268 reduces the ketamine-induced rise in gamma power. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 15(5), 657–668.
- Kano, M., Ohno-Shosaku, T., & Maejima, T. (2002). Retrograde signaling at central synapses via endogenous cannabinoids. *Molecular Psychiatry*, 7(3), 234–235.
- Knott, V. J. (2000). Quantitative EEG Methods and Measures in Human Psychopharmacological Research. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.*, 15, 479–498.
- Ko, G. D., Bober, S. L., Mindra, S., & Moreau, J. M. (2016). Medical cannabis-the Canadian perspective.
- Koukkou, M., & Lehmann, D. (1976). Human EEG spectra before and during cannabis hallucinations. *Biological Psychiatry*, 11(6), 663–677.
- Lanz, C., Mattsson, J., Soydaner, U., & Brenneisen, R. (2016). Medicinal Cannabis: In Vitro Validation of Vaporizers for the Smoke-Free Inhalation of Cannabis. *PLoS ONE*, 11(1).
- Ley 19172. (2014). *MARIHUANA Y SUS DERIVADOS*. Control y regulación del Estado de la importación, producción, adquisición, almacenamiento, comercialización y distribución. Uruguay.
- Li, H.-L. (1974). An Archaeological and Historical Account of Cannabis in China No Title. *Economic Botany*, 28, 437–448.
- Llinás, R., Ribary, U., Contreras, D., & Pedroarena, G. (1998). The neuronal basis for consciousness. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 353(1377), 1841–1849.
- Maccarrone, M., Bab, I., Bíró, T., Cabral, G. A., Dey, S. K., Di Marzo, V., ... Zimmer, A. (2015). Endocannabinoid signaling at the periphery: 50 years after THC. *Trends in Pharmacological Sciences*, 36(5), 277–296.
- Maloney, K. J., Cape, E. G., Gotman, J., & Jones, B. E. (1997a). High-frequency gamma electroencephalogram activity in association with sleep-wake states and spontaneous behaviors in the rat. *Neuroscience*, 76(2), 541–555.
- Maloney, K. J., Cape, E. G., Gotman, J., & Jones, B. E. (1997b). High-frequency gamma electroencephalogram activity in association with sleep-wake states and spontaneous behaviors in the rat. *Neuroscience*, 76(2), 541–555.

- Manwell, L. a., Ford, B., Matthews, B. a., Heipel, H., & Mallet, P. E. (2014). A vapourized δ 9-tetrahydrocannabinol (δ 9-THC) delivery system part II: Comparison of behavioural effects of pulmonary versus parenteral cannabinoid exposure in rodents. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 70(1), 112–119.
- Marcu, J. P. (2016). An Overview of Major and Minor Phytocannabinoids. *Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse* (Vol. 1). Elsevier Inc.
- Martínez-Vargas, M., Murillo-Rodríguez, E., González-Rivera, R., Landa, A., Méndez-Díaz, M., Prospéro-García, O., & Navarro, L. (2003). Sleep modulates cannabinoid receptor 1 expression in the pons of rats. *Neuroscience*, 117(1), 197–201.
- Mashour, G. A. (2006). Integrating the science of consciousness and anesthesia. *Anesthesia and Analgesia*, 103(4), 975–982.
- Mathre, M. L. (1997). Cannabis in medical practice: a legal, historical, and pharmacological overview of the therapeutic use of marijuana. McFarland & Co.
- Matsuda, L. a, Lolait, S. J., Brownstein, M. J., Young, a C., & Bonner, T. I. (1990). Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*, 346(6284), 561–564.
- Mechoulam, R., & Ben-Shabat, S. (1999). From gan-zi-gun-nu to anandamide and 2-arachidonoylglycerol: the ongoing story of cannabis. *Natural Product Reports*, 16(2), 131–143.
- Mechoulam, R., Panikashvili, D., & Shohami, E. (2002). Cannabinoids and brain injury: therapeutic implications. *Trends in Molecular Medicine*, 8(2), 58–61.
- Monti, J. M. (1977). Hypnoticlike effects of cannabidiol in the rat. *Psychopharmacology*, 55(3), 263–265.
- Munro, S., Thomas, K. L., & Abu-Shaar, M. (1993). Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*, 365(6441), 61–65.
- Murillo-Rodríguez, E. (2008). The role of the CB1 receptor in the regulation of sleep. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32(6), 1420–1427.
- Murillo-Rodríguez, E., Blanco-Centurion, C., Sanchez, C., Piomelli, D., & Shiromani, P. J. (2003). Anandamide enhances extracellular levels of adenosine and induces sleep: an in vivo microdialysis study. *Sleep*, 26(8), 943–947.
- Murillo-Rodríguez, E., Millán-Aldaco, D., Palomero-Rivero, M., Mechoulam, R., & Drucker-Colín, R. (2006). Cannabidiol, a constituent of *Cannabis sativa*, modulates sleep in rats. *FEBS Letters*, 580(18), 4337–4345.
- Murillo-Rodríguez, E., Pastrana-Trejo, J. C., Salas-Crisóstomo, M., & de-la-Cruz, M. (2017). The Endocannabinoid System Modulating Levels of Consciousness, Emotions and Likely Dream Contents. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 16(4), 370–379. <https://doi.org/10.2174/1871527316666170223161908>
- Nguyen, J. D., Aarde, S. M., Vandewater, S. A., Grant, Y., Stouffer, D. G., Parsons, L. H., ... Taffe, M. A. (2016). Inhaled delivery of Δ 9-tetrahydrocannabinol (THC) to rats by e-cigarette vapor technology. *Neuropharmacology*, 109, 112–120.
- Nicholson, A. N., Turner, C., Stone, B. M., & Robson, P. J. (2004). Effect of Delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on nocturnal sleep and early-morning behavior in young adults. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 24(3), 305–313.
- Ohlsson, a, Lindgren, J. E., Wahlen, A., Agurell, S., Hollister, L. E., & Gillespie, H. K. (1980). Plasma delta-9 tetrahydrocannabinol concentrations and clinical effects after oral and intravenous administration and smoking. *Clinical Pharmacology and*

- Therapeutics, 28(3), 409–416. Pace-Schott, E. F., & Hobson, J. A. (2013). The Neurobiology of Sleep and Dreaming. *Fundamental Neuroscience*, 847–869.
- Park, H. M., Lee, J. H., Yaoyao, J., Jun, H. J., & Lee, S. J. (2011). Limonene, a natural cyclic terpene, is an agonistic ligand for adenosine A2A receptors. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 404(1), 345–348.
- Paronis, C. A., Nikas, S. P., Shukla, V. G., & Makriyannis, A. (2012). Δ^9 -Tetrahydrocannabinol acts as a partial agonist/antagonist in mice. *Behavioural Pharmacology*, 23(8), 802–805.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2013). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates* : Hard Cover Edition. Elsevier Science.
- Pérez-Morales, M., De La Herrán-Arita, A. K., Méndez-Díaz, M., Ruiz-Contreras, A. E., Drucker-Colín, R., & Prospéro-García, O. (2013). 2-AG into the lateral hypothalamus increases REM sleep and cFos expression in melanin concentrating hormone neurons in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 108, 1–7.
- Pertwee, R. G. (2006). Cannabinoid pharmacology: the first 66 years. *British Journal of Pharmacology*, 147 Suppl, S163–S171.
- Pivik, R. T., Zarcone, V., Dement, W. C., & Hollister, L. E. (1972). Delta-9-tetrahydrocannabinol and synhexl: effects on human sleep patterns. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 13(3), 426–435.
- Pomahacova, B., Van der Kooy, F., & Verpoorte, R. (2009). Cannabis smoke condensate III: the cannabinoid content of vaporized Cannabis sativa. *Inhalation Toxicology*, 21(13), 1108–1112.
- Ranganathan, M., & D'Souza, D. C. (2006). The acute effects of cannabinoids on memory in humans: A review. *Psychopharmacology*, 188(4), 425–444.
- Reekie, T. A., Scott, M. P., & Kassiou, M. (2017). The evolving science of phytocannabinoids. *Nature Reviews Chemistry*, 2, 0101.
- Rieder, M. K., Rahm, B., Williams, J. D., & Kaiser, J. (2011). Human γ -band activity and behavior. *International Journal of Psychophysiology : Official Journal of the International Organization of Psychophysiology*, 79(1), 39–48.
- Robbe, D., Montgomery, S. M., Thome, A., Rueda-Orozco, P. E., McNaughton, B. L., & Buzsáki, G. (2006). Cannabinoids reveal importance of spike timing coordination in hippocampal function. *Nature Neuroscience*, 9(12), 1526–1533.
- Roca, A. J. (2014). Cannabis medicinal. *MEDICINA (Bogotá)*, 36(4107), 120–5498.
- Ruchlemer, R., Amit-Kohn, M., Raveh, D., & Hanuš, L. (2015). Inhaled medicinal cannabis and the immunocompromised patient. *Supportive Care in Cancer : Official Journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, 23(3), 819–822.
- Rueda-Orozco, P. E., Soria-Gomez, E., Montes-Rodriguez, C. J., Martínez-Vargas, M., Galicia, O., Navarro, L., & Prospero-García, O. (2008). A potential function of endocannabinoids in the selection of a navigation strategy by rats. *Psychopharmacology*, 198(4), 565–576.
- Russo, E. B. (2011). Taming THC: Potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology*, 163(7), 1344–1364.
- Russo, E. B. (2014). Constituents, History, International Control, Cultivation and Phenotypes of Cannabis. In R. G. Pertwee (Ed.), *Handbook of Cannabis* (1st ed., pp. 3–109). Oxford: Oxford University Press.

- Santucci, V., Storme, J., Soubrié, P., & Le Fur, G. (1996). Arousal-enhancing properties of the CB1 cannabinoid receptor antagonist SR 141716A in rats as assessed by electroencephalographic spectral and sleep-waking cycle analysis. *Life Sciences*, 58(6), 103–110.
- Schartner, M. M., Carhart-Harris, R. L., Barrett, A. B., Seth, A. K., & Muthukumaraswamy, S. D. (2017). Increased spontaneous MEG signal diversity for psychoactive doses of ketamine, LSD and psilocybin. *Scientific Reports*, 7(November 2016), 1–12.
- Schoeler, T., & Bhattacharyya, S. (2013). The effect of cannabis use on memory function: an update. *Substance Abuse and Rehabilitation*, 4, 11–27.
- Schwarzkopf, N. (2017). Efecto agudo de la Pasta Base de Cocaína sobre el sueño y la actividad electroencefalográfica: Rol de la cafeína. Facultad de Medicina UdelaR.
- Semmlow, J. (2012). The Fourier Transform and Power Spectrum. In J. Semmlow (Ed.), *Signals and Systems for Bioengineers: A MATLAB-Based Introduction* (Second, pp. 131–165). Academic Press.
- Shiplo, S., Asbridge, M., Leatherdale, S. T., & Hammond, D. (2016). Medical cannabis use in Canada: vapourization and modes of delivery. *Harm Reduction Journal*, 13(30).
- Shrivastava, A., Johnston, M., & Tsuang, M. (2011). Cannabis use and cognitive dysfunction. *Indian Journal of Psychiatry*, 53(3), 187–191.
- Skosnik, P. D., D'Souza, D. C., Steinmetz, A. B., Edwards, C. R., Vollmer, J. M., Hetrick, W. P., & O'Donnell, B. F. (2012). The effect of chronic cannabinoids on broadband eeg neural oscillations in humans. *Neuropsychopharmacology*, 37(10), 2184–2193.
- Struve, F. a., Straumanis, J. J., Patrick, G., Leavitt, J., Manno, J. E., & Manno, B. R. (1999). Topographic quantitative EEG sequelae of chronic marijuana use: A replication using medically and psychiatrically screened normal subjects. *Drug and Alcohol Dependence*, 56(3), 167–179.
- Stuckey, D. E., Lawson, R., & Luna, L. E. (2005). EEG Gamma coherence and other correlates of subjective reports during ayahuasca experiences. *Journal of Psychoactive Drugs*, 37(2), 163–178.
- Takahashi, M., Makino, S., Kikkawa, T., & Osumi, N. (2014). Preparation of Rat Serum Suitable for Mammalian Whole Embryo Culture. *Journal of Visualized Experiments*, (90), 1–5.
- Tassinari, C. A., Peraita-Adrados, M. R., Ambrosetto, G., & Gastaut, A. (1974). Effects of marijuana and $\Delta 9$ -THC at high doses in man. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*, 36(94).
- Taylor, B. ., Blickman, T., & Jelsma, M. (2014). Auge y caída de la prohibición del cannabis. *Global Drug Policy Observatory*, 1–80.
- Tort, A. B. L., Scheffer-Teixeira, R., Souza, B. C., Draguhn, A., & Brankač, J. (2013). Theta-associated high-frequency oscillations (110–160Hz) in the hippocampus and neocortex. *Progress in Neurobiology*, 100, 1–14.
- Tortorolo, P., & Chase, M. H. (2014). The hypocretins (orexins) mediate the “phasic” components of REM sleep: A new hypothesis. *Sleep Science*, 7(1), 9–29.
- Tortorolo, P., Lagos, P., & Monti, J. M. (2011). Melanin-concentrating hormone: A new sleep factor? *Frontiers in Neurology*, MAR(March), 1–12.
- Tortorolo, P., & Vanini, G. (2010). Nuevos conceptos sobre la generación y el mantenimiento de la vigilia. *Revista Neurologica*, 50(12), 747–758.

- Uhlhaas, P. J., & Singer, W. (2010). Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(2), 100–113.
- UNODC. (2017). *Global Overview of Drug Demand and Supply*. UNODC Research.
- Vacas, S., Kurien, P., & Maze, M. (2013). Sleep and anesthesia: Common mechanisms of action. *Sleep Medicine Clinics*, 8(1), 1–9.
- Valenti, M., Vigano, D., Casico, M. G., Rubino, T., Steardo, L., Parolaro, D., & Di Marzo, V. (2004). Differential diurnal variations of anandamide and 2-arachidonoyl-glycerol levels in rat brain. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)*, 61(7–8), 945–950.
- Vanini, G., Torterolo, P., Baghdoyan, H. A., & Lydic, R. (2011). The shared circuits of sleep and anesthesia. In G. A. Mashour & R. Lydic (Eds.), *Neuroscientific Foundations of Anesthesiology* (pp. 33–44). New York: Oxford University Press.
- Vukadinovic, Z., Herman, M. S., & Rosenzweig, I. (2013). Cannabis, psychosis and the thalamus: A theoretical review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(4), 658–667.
- Walczak, T. S. (2009). Electroencephalography, Electromyography, and Electro-Oculography: General Principles and Basic Technology. In S. Chokroverty (Ed.), *Sleep Disorders Medicine* (4th ed., pp. 157–181). New York: W.B. Saunders.
- Yang, H., Woo, J., Pae, A. N., Um, M. Y., Cho, N., Park, K. D., ... Cho, S. (2016). α -Pinene, a Major Constituent of Pine Tree Oils, Enhances Non-Rapid Eye Movement Sleep in Mice through GABA A -benzodiazepine Receptors. *Molecular Pharmacology*, 90, 530–539.
- Zuardi, A. W. (2008). Cannabidiol: from an inactive cannabinoid to a drug with wide spectrum of action. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 30(3), 271–280.

Anexo 1

Efecto de la administración de 200 mg de Cannabis sobre la potencia de las distintas bandas de frecuencia del EEG durante la fase de luz

BOD	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	p
DELTA	335,0 ± 69,7	193,4 ± 37,9	0,014#	876,7 ± 187,3	831,9 ± 240,8	0,713	124,1 ± 16,8	94,0 ± 14,6	0,054
THETA	110,7 ± 17,3	88,5 ± 15,1	0,001*	294,7 ± 69,5	266,3 ± 75,1	0,297	137,1 ± 43,5	135,9 ± 48,7	0,901
SIGMA	29,0 ± 2,7	20,8 ± 2,6	0,000*	138,4 ± 31,5	106,6 ± 31,8	0,140	45,0 ± 9,2	44,5 ± 9,5	0,911
BETA	14,0 ± 1,5	10,4 ± 1,7	0,000*	27,8 ± 6,3	21,4 ± 6,9	0,159	17,4 ± 3,7	15,0 ± 3,8	0,089
LG	8,1 ± 1,2	5,6 ± 1,2	0,002*	4,4 ± 0,8	3,3 ± 1,0	0,085	7,9 ± 1,8	6,0 ± 1,8	0,082
HG	5,5 ± 0,8	3,8 ± 0,7	0,030#	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,3	0,719	2,7 ± 0,6	2,0 ± 0,5	0,054
HFO	3,1 ± 0,7	1,9 ± 0,4	0,051	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,1	0,516	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,924

M1D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	P
DELTA	273,4 ± 31,6	213,6 ± 21,1	0,076	1635,5 ± 484,6	1446,9 ± 454,8	0,511	177,7 ± 40,4	137,5 ± 21,7	0,162
THETA	141,9 ± 20,0	123,4 ± 9,0	0,302	475,6 ± 115,9	453,4 ± 114,4	0,530	202,6 ± 59,1	211,1 ± 47,6	0,819
SIGMA	34,3 ± 4,1	28,3 ± 1,7	0,258	212,5 ± 52,9	177,4 ± 45,5	0,071	72,0 ± 25,5	80,4 ± 20,6	0,294
BETA	16,6 ± 1,9	13,7 ± 1,1	0,136	41,2 ± 8,5	34,6 ± 7,2	0,130	24,7 ± 3,9	25,2 ± 3,9	0,792
LG	10,6 ± 1,1	8,6 ± 1,1	0,046#	6,4 ± 0,7	5,1 ± 0,6	0,070	12,0 ± 1,2	10,3 ± 1,5	0,113
HG	5,2 ± 0,6	4,3 ± 0,6	0,371	1,5 ± 0,1	1,2 ± 0,1	0,026	3,7 ± 0,4	2,9 ± 0,4	0,046#
HFO	1,9 ± 0,5	1,3 ± 0,1	0,215	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,438	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,002*

M1I	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	189,8 ± 40,8	146,4 ± 18,4	0,172	1124, ± 291,8 1	1159,0 ± 311,5	0,884	115,1 ± 23,7	114,6 ± 16,8	0,968
THETA	89,8 ± 15,3	80,2 ± 13,3	0,221	324,7 ± 69,4	350,9 ± 85,0	0,176	122,9 ± 28,6	153,1 ± 30,8	0,147
SIGMA	25,7 ± 5,6	20,5 ± 3,6	0,078	149,5 ± 33,7	132,8 ± 32,8	0,012#	49,8 ± 13,3	65,8 ± 17,4	0,110
BETA	13,5 ± 2,5	11,0 ± 2,1	0,040#	29,3 ± 6,3	27,1 ± 6,2	0,110	20,1 ± 4,0	23,0 ± 4,9	0,050
LG	9,7 ± 1,7	8,1 ± 1,6	0,000*	5,4 ± 1,0	4,6 ± 1,0	0,031#	10,6 ± 2,1	9,9 ± 2,2	0,037#
HG	5,3 ± 1,2	4,5 ± 1,1	0,057	1,2 ± 0,2	1,0 ± 0,2	0,019#	3,3 ± 0,7	2,8 ± 0,7	0,001*
HFO	2,2 ± 0,7	1,5 ± 0,5	0,028#	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,111	0,4 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,003*

S1D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	177,2 ± 16,8	169,0 ± 28,3	0,433	1985,6 ± 401,1	2197,1 ± 558,9	0,369	132,4 ± 8,9	140,2 ± 19,0	0,731
THETA	152,7 ± 22,7	149,0 ± 12,9	0,800	466,4 ± 56,5	426,9 ± 55,8	0,864	298,9 ± 28,7	293,3 ± 24,5	0,982
SIGMA	35,5 ± 4,2	32,1 ± 4,6	0,187	189,4 ± 21,8	152,6 ± 19,1	0,116	62,1 ± 5,8	78,5 ± 10,4	0,212
BETA	18,0 ± 1,5	14,8 ± 1,7	0,036#	39,3 ± 4,1	32,1 ± 4,0	0,143	25,4 ± 1,4	26,3 ± 2,6	0,498
LG	11,3 ± 1,0	8,8 ± 1,1	0,057	7,9 ± 1,0	6,3 ± 0,8	0,078	12,6 ± 1,6	10,5 ± 1,5	0,080
HG	4,8 ± 0,8	3,7 ± 0,6	0,015#	1,6 ± 0,2	1,3 ± 0,2	0,063	3,6 ± 0,6	2,7 ± 0,4	0,096
HFO	1,8 ± 0,6	1,3 ± 0,4	0,363	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,080	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,049#

S1I	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	176,9 ± 58,5	246,2 ± 41,4	0,822	1635,7 ± 698,4	715,8 ± 342,6	0,596	97,1 ± 85,6	96,6 ± 35,3	0,638
THETA	120,9 ± 24,3	152,9 ± 33,7	0,833	431,6 ± 74,9	275,0 ± 67,3	0,226	207,3 ± 86,5	176,0 ± 55,8	0,372
SIGMA	33,3 ± 5,2	45,3 ± 7,2	0,684	144,4 ± 31,5	89,5 ± 27,9	0,115	50,1 ± 24,1	59,7 ± 16,0	0,945
BETA	16,4 ± 2,3	15,3 ± 2,5	0,172	35,3 ± 6,5	21,0 ± 5,8	0,096	28,5 ± 6,5	23,7 ± 6,2	0,814
LG	11,6 ± 1,2	7,0 ± 1,5	0,041	8,5 ± 1,3	5,5 ± 1,2	0,068	13,2 ± 2,3	8,4 ± 2,5	0,114
HG	6,0 ± 0,8	2,9 ± 0,6	0,152	2,1 ± 0,3	1,4 ± 0,3	0,071	3,5 ± 0,7	2,0 ± 0,6	0,020#
HFO	3,1 ± 0,4	1,5 ± 0,2	0,256	0,3 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,038	0,6 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,005*

V2D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	75,1 ± 8,8	81,3 ± 14,4	0,091	468,8 ± 137,3	187,7 ± 139,6	0,473	43,8 ± 10,4	33,0 ± 11,8	0,033#
THETA	64,9 ± 14,7	82,5 ± 17,6	0,928	191,0 ± 25,4	120,6 ± 35,3	0,475	172,1 ± 30,4	124,4 ± 30,4	0,665
SIGMA	13,3 ± 2,1	21,5 ± 2,8	0,544	62,5 ± 18,3	35,4 ± 14,8	0,047#	17,2 ± 4,2	15,4 ± 4,8	0,516
BETA	6,1 ± 1,3	5,7 ± 1,2	0,013#	11,6 ± 5,6	7,0 ± 3,4	0,181	6,3 ± 3,1	4,3 ± 2,8	0,265
LG	4,4 ± 1,1	2,3 ± 0,9	0,012#	2,7 ± 1,2	2,0 ± 0,7	0,153	4,0 ± 1,9	2,4 ± 1,4	0,149
HG	3,3 ± 0,5	1,3 ± 0,3	0,064	0,7 ± 0,2	0,6 ± 0,1	0,078	1,1 ± 0,6	0,8 ± 0,3	0,134
HFO	2,5 ± 0,4	0,8 ± 0,2	0,215	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,135	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,036#

V2I	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	83,4 ± 22,1	79,9 ± 15,5	0,848	1078,8 ± 376,0	1017,3 ± 410,4	0,363	54,5 ± 19,8	49,6 ± 12,4	0,736
THETA	77,3 ± 28,6	91,7 ± 19,4	0,505	252,9 ± 79,0	209,3 ± 71,2	0,018#	143,4 ± 48,5	189,6 ± 47,5	0,380
SIGMA	16,7 ± 5,4	16,6 ± 3,5	0,989	102,2 ± 34,4	69,1 ± 24,7	0,114	25,0 ± 9,9	28,6 ± 7,6	0,628
BETA	8,7 ± 2,9	7,8 ± 1,7	0,712	25,1 ± 9,5	14,4 ± 5,1	0,211	12,8 ± 5,5	11,1 ± 4,0	0,673
LG	6,5 ± 2,3	4,9 ± 1,1	0,398	5,6 ± 2,0	3,1 ± 0,9	0,190	7,1 ± 3,3	4,9 ± 1,4	0,428
HG	3,1 ± 1,0	2,4 ± 0,5	0,376	1,1 ± 0,3	0,7 ± 0,2	0,160	2,1 ± 1,0	1,3 ± 0,3	0,408
HFO	1,5 ± 0,5	1,2 ± 0,3	0,486	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,113	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,588

El análisis fue realizado para el tiempo total de registro. Los datos están presentados como media ± error estándar de la media. Para el análisis estadístico se realizó una prueba de t de Student de dos colas, pareada con corrección de Bonferroni. *indica diferencias significativas; p<0,0071. #indica tendencia; 0,05>p<0,0071.

Anexo 2

Efecto de la administración de 200 mg de Cannabis sobre la potencia de las distintas bandas de frecuencia del EEG durante la fase de oscuridad

BOD	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	p
DELTA	284,4 ± 54,4	340,1 ± 56,2	0,499	807,9 ± 259,9	958,5 ± 280,2	0,730	98,6 ± 14,2	134,4 ± 10,1	0,117
THETA	81,1 ± 14,7	115,8 ± 22,1	0,108	309,2 ± 99,1	373,7 ± 102,7	0,718	77,4 ± 29,0	103,4 ± 28,5	0,615
SIGMA	23,4 ± 4,5	33,4 ± 9,2	0,153	159,5 ± 47,6	174,1 ± 47,1	0,866	23,8 ± 7,3	47,0 ± 11,3	0,238
BETA	11,8 ± 2,1	14,8 ± 2,2	0,066	31,2 ± 9,1	35,6 ± 9,7	0,790	11,6 ± 3,0	14,9 ± 3,2	0,561
LG	6,1 ± 1,3	7,8 ± 1,4	0,084	4,6 ± 1,2	4,8 ± 1,1	0,884	5,8 ± 1,8	6,4 ± 1,5	0,847
HG	4,4 ± 1,0	5,8 ± 1,1	0,365	1,5 ± 0,3	1,4 ± 0,1	0,741	2,1 ± 0,5	2,2 ± 0,4	0,901
HFO	2,3 ± 0,5	3,3 ± 1,1	0,527	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,0	0,611	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,555

M1D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	P
DELTA	227,6 ± 12,7	281,8 ± 35,8	0,250	1040,7 ± 209,7	1841,2 ± 629,5	0,114	136,6 ± 11,1	173,6 ± 30,6	0,165
THETA	102,5 ± 9,9	127,1 ± 12,1	0,237	441,4 ± 26,2	684,9 ± 181,3	0,167	134,2 ± 24,6	188,2 ± 24,0	0,424
SIGMA	30,8 ± 2,2	33,4 ± 2,8	0,248	243,4 ± 17,5	308,6 ± 80,8	0,386	42,5 ± 5,2	95,9 ± 19,4	0,018
BETA	15,3 ± 1,1	16,9 ± 1,1	0,486	55,1 ± 5,3	64,2 ± 13,1	0,414	18,1 ± 1,5	27,6 ± 4,0	0,010
LG	8,8 ± 0,5	10,9 ± 1,1	0,173	7,4 ± 0,7	8,2 ± 1,1	0,535	10,6 ± 1,1	12,2 ± 1,7	0,240
HG	4,2 ± 0,7	6,3 ± 1,0	0,142	1,5 ± 0,2	1,7 ± 0,2	0,785	3,4 ± 0,6	3,8 ± 0,6	0,473
HFO	1,4 ± 0,3	2,1 ± 0,8	0,296	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,963	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,923

M1I	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	194,2 ± 25,0	183,2 ± 28,1	0,733	1182,0 ± 216,4	1327,1 ± 259,0	0,471	102,7 ± 9,8	120,4 ± 24,1	0,392
THETA	88,9 ± 12,1	94,0 ± 11,6	0,689	513,9 ± 75,9	541,7 ± 114,6	0,759	94,3 ± 6,0	136,9 ± 13,8	0,031#
SIGMA	27,7 ± 3,1	27,1 ± 3,4	0,885	254,8 ± 35,3	228,2 ± 49,9	0,504	40,5 ± 5,7	66,0 ± 16,1	0,130
BETA	14,8 ± 1,7	13,7 ± 1,9	0,631	53,0 ± 6,3	49,9 ± 10,3	0,735	20,1 ± 2,2	22,3 ± 3,8	0,603
LG	10,0 ± 1,0	9,8 ± 1,4	0,884	8,1 ± 1,0	7,6 ± 1,5	0,750	12,0 ± 1,4	11,3 ± 2,3	0,754
HG	5,5 ± 1,3	5,7 ± 1,1	0,907	1,6 ± 0,3	1,4 ± 0,3	0,622	4,0 ± 0,7	3,7 ± 1,0	0,806
HFO	1,9 ± 0,6	2,2 ± 0,6	0,740	0,3 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,650	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,909

S1D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	166,7 ± 43,6	193,4 ± 43,1	0,952	1904,5 ± 497,9	2591,3 ± 714,7	0,764	101,8 ± 33,9	155,5 ± 47,2	0,086
THETA	119,7 ± 24,2	141,7 ± 22,6	0,700	518,2 ± 122,3	617,4 ± 121,7	0,571	215,4 ± 42,5	276,8 ± 49,0	0,530
SIGMA	33,1 ± 6,6	37,4 ± 8,4	0,967	258,5 ± 52,8	248,1 ± 49,3	0,485	43,4 ± 9,6	77,6 ± 21,3	0,196
BETA	15,2 ± 3,3	17,1 ± 3,4	0,699	56,4 ± 13,2	57,8 ± 12,3	0,836	19,4 ± 4,7	28,0 ± 7,5	0,225
LG	8,8 ± 2,1	10,5 ± 1,9	0,544	9,2 ± 2,4	9,7 ± 2,1	0,937	11,2 ± 2,7	13,2 ± 3,1	0,595
HG	4,0 ± 1,2	5,0 ± 1,0	0,678	1,7 ± 0,4	1,8 ± 0,4	0,945	3,1 ± 0,8	3,5 ± 0,8	0,544
HFO	1,4 ± 0,5	1,9 ± 0,7	0,935	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,860	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,639

S1I	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	141,0 ± 26,8	145,6 ± 28,3	0,825	1095,8 ± 217,6	1599,6 ± 658,6	0,376	75,9 ± 25,0	125,0 ± 16,9	0,309
THETA	88,7 ± 16,3	163,6 ± 39,1	0,090	297,1 ± 64,4	555,2 ± 83,6	0,057	126,8 ± 38,4	335,6 ± 80,7	0,014#
SIGMA	25,5 ± 3,1	41,7 ± 11,3	0,169	169,0 ± 43,5	235,3 ± 46,9	0,236	28,7 ± 6,5	106,0 ± 38,6	0,097
BETA	11,7 ± 1,2	18,1 ± 4,1	0,137	38,4 ± 9,0	61,3 ± 14,9	0,138	12,5 ± 2,4	36,6 ± 12,3	0,089
LG	6,9 ± 0,8	11,0 ± 2,0	0,064	6,2 ± 1,1	10,0 ± 2,3	0,088	6,9 ± 1,5	13,6 ± 3,2	0,086
HG	2,6 ± 0,5	4,9 ± 1,0	0,079	1,2 ± 0,2	1,8 ± 0,4	0,037#	2,0 ± 0,5	3,3 ± 0,7	0,032#
HFO	0,9 ± 0,2	1,8 ± 0,7	0,224	0,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	0,075	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,671

V2D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	59,5 ± 21,3	98,8 ± 24,3	0,167	436,0 ± 58,5	631,8 ± 163,9	0,154	29,0 ± 11,5	64,5 ± 22,9	0,139
THETA	42,5 ± 12,0	78,9 ± 26,7	0,186	161,5 ± 45,6	307,4 ± 101,8	0,178	93,4 ± 38,8	167,8 ± 59,5	0,218
SIGMA	11,4 ± 3,6	18,5 ± 4,9	0,166	84,1 ± 32,8	114,8 ± 34,9	0,410	12,9 ± 4,5	30,5 ± 11,7	0,153
BETA	5,5 ± 1,9	8,6 ± 2,1	0,212	16,2 ± 6,0	25,1 ± 8,4	0,339	5,6 ± 2,2	11,4 ± 5,2	0,299
LG	3,1 ± 1,1	5,3 ± 1,3	0,188	3,0 ± 1,1	4,6 ± 1,4	0,337	3,3 ± 1,5	5,5 ± 1,9	0,350
HG	1,5 ± 0,4	2,6 ± 0,6	0,131	0,6 ± 0,2	0,9 ± 0,2	0,303	1,1 ± 0,4	1,6 ± 0,4	0,252
HFO	0,7 ± 0,3	1,3 ± 0,5	0,324	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,492	0,2 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,115

V2I	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	113,5 ± 41,1	120,8 ± 37,4	0,915	932,2 ± 567,0	1491,7 ± 840,1	0,568	51,8 ± 21,8	44,2 ± 10,8	0,520
THETA	85,2 ± 30,5	112,4 ± 31,7	0,634	267,5 ± 131,2	353,5 ± 161,2	0,667	177,3 ± 56,2	154,6 ± 40,5	0,410
SIGMA	21,6 ± 6,6	24,5 ± 5,0	0,781	123,6 ± 59,3	131,4 ± 56,5	0,918	27,1 ± 12,3	22,1 ± 6,4	0,601
BETA	9,7 ± 3,0	11,7 ± 2,4	0,679	25,1 ± 11,9	26,7 ± 10,8	0,913	11,7 ± 5,9	7,2 ± 2,1	0,376
LG	5,5 ± 1,8	7,2 ± 1,4	0,553	4,5 ± 2,0	4,8 ± 1,7	0,896	5,6 ± 2,4	4,2 ± 1,3	0,377
HG	2,7 ± 0,9	3,7 ± 0,7	0,468	0,9 ± 0,4	1,0 ± 0,3	0,792	1,6 ± 0,5	1,5 ± 0,5	0,619
HFO	1,3 ± 0,5	1,9 ± 0,7	0,480	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,838	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,436

El análisis fue realizado para el tiempo total de registro. Los datos están presentados como media ± error estándar de la media. Para el análisis estadístico se realizó una prueba de t de Student de dos colas, pareada con corrección de Bonferroni. *indica diferencias significativas; $p < 0,0071$. #indica tendencia; $0,05 > p < 0,0071$.

Anexo 3

Efecto de la administración de 200 mg de Cannabis sobre la Z'coherencia de las distintas bandas de frecuencia del EEG durante la fase de luz

BOD-M1D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	p
DELTA	0,80 ± 0,27	0,50 ± 0,16	0,475	1,33 ± 0,29	1,09 ± 0,34	0,606	0,57 ± 0,07	0,61 ± 0,18	0,267
THETA	1,24 ± 0,35	0,88 ± 0,22	0,516	1,49 ± 0,33	1,22 ± 0,18	0,536	1,14 ± 0,15	1,18 ± 0,17	0,418
SIGMA	1,17 ± 0,38	0,84 ± 0,15	0,501	1,51 ± 0,36	1,18 ± 0,14	0,455	0,97 ± 0,08	1,02 ± 0,10	0,189
BETA	1,08 ± 0,29	0,78 ± 0,13	0,453	1,21 ± 0,36	0,88 ± 0,13	0,459	0,78 ± 0,13	0,80 ± 0,12	0,427
LG	0,82 ± 0,20	0,66 ± 0,11	0,509	0,88 ± 0,25	0,67 ± 0,14	0,455	0,64 ± 0,14	0,66 ± 0,13	0,329
HG	0,70 ± 0,23	0,46 ± 0,14	0,450	0,70 ± 0,26	0,43 ± 0,11	0,418	0,43 ± 0,11	0,39 ± 0,09	0,991
HFO	0,78 ± 0,19	0,58 ± 0,12	0,345	0,70 ± 0,22	0,42 ± 0,10	0,364	0,40 ± 0,09	0,33 ± 0,08	0,693

M1D-S1D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	P
DELTA	0,60 ± 0,09	0,74 ± 0,12	0,191	0,69 ± 0,19	0,92 ± 0,16	0,215	0,58 ± 0,09	0,69 ± 0,07	0,437
THETA	0,72 ± 0,10	0,82 ± 0,06	0,398	0,66 ± 0,12	0,79 ± 0,05	0,381	0,78 ± 0,16	0,84 ± 0,14	0,133
SIGMA	0,65 ± 0,09	0,76 ± 0,03	0,342	0,64 ± 0,13	0,74 ± 0,08	0,437	0,67 ± 0,06	0,70 ± 0,06	0,592
BETA	0,63 ± 0,08	0,66 ± 0,06	0,593	0,54 ± 0,11	0,60 ± 0,08	0,460	0,60 ± 0,06	0,63 ± 0,03	0,917
LG	0,57 ± 0,05	0,56 ± 0,06	0,686	0,52 ± 0,08	0,54 ± 0,07	0,674	0,52 ± 0,07	0,51 ± 0,05	0,534
HG	0,61 ± 0,05	0,58 ± 0,02	0,479	0,49 ± 0,03	0,51 ± 0,03	0,609	0,43 ± 0,04	0,43 ± 0,04	0,343
HFO	0,81 ± 0,13	0,85 ± 0,05	0,683	0,52 ± 0,07	0,55 ± 0,04	0,607	0,45 ± 0,10	0,44 ± 0,08	0,914

S1D-V2D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	0,61 ± 0,06	0,67 ± 0,10	0,460	0,71 ± 0,21	0,83 ± 0,20	0,276	0,62 ± 0,10	0,59 ± 0,08	0,960
THETA	0,83 ± 0,15	0,91 ± 0,15	0,492	0,62 ± 0,14	0,67 ± 0,10	0,352	1,04 ± 0,16	0,99 ± 0,12	0,597
SIGMA	0,60 ± 0,12	0,68 ± 0,09	0,321	0,63 ± 0,13	0,68 ± 0,09	0,456	0,68 ± 0,11	0,63 ± 0,10	0,653
BETA	0,47 ± 0,10	0,50 ± 0,09	0,361	0,47 ± 0,11	0,52 ± 0,09	0,410	0,46 ± 0,11	0,44 ± 0,08	0,732
LG	0,43 ± 0,09	0,41 ± 0,08	0,222	0,42 ± 0,11	0,45 ± 0,09	0,453	0,41 ± 0,11	0,36 ± 0,09	0,334
HG	0,61 ± 0,06	0,57 ± 0,09	0,364	0,45 ± 0,09	0,48 ± 0,07	0,364	0,47 ± 0,10	0,41 ± 0,07	0,662
HFO	0,81 ± 0,11	0,82 ± 0,10	0,887	0,49 ± 0,05	0,52 ± 0,05	0,450	0,55 ± 0,05	0,49 ± 0,06	0,698

M1I-S1I	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	0,38 ± 0,08	0,56 ± 0,11	0,322	0,59 ± 0,16	0,76 ± 0,19	0,522	0,37 ± 0,13	0,42 ± 0,11	0,971
THETA	0,49 ± 0,12	0,62 ± 0,12	0,292	0,46 ± 0,17	0,63 ± 0,12	0,236	0,57 ± 0,22	0,60 ± 0,13	0,998
SIGMA	0,43 ± 0,12	0,57 ± 0,10	0,090	0,44 ± 0,17	0,56 ± 0,11	0,235	0,45 ± 0,16	0,51 ± 0,09	0,750
BETA	0,38 ± 0,10	0,45 ± 0,08	0,102	0,37 ± 0,12	0,41 ± 0,08	0,552	0,38 ± 0,11	0,42 ± 0,08	0,722
LG	0,32 ± 0,08	0,37 ± 0,07	0,343	0,33 ± 0,10	0,35 ± 0,07	0,770	0,30 ± 0,09	0,33 ± 0,08	0,921
HG	0,43 ± 0,09	0,45 ± 0,08	0,840	0,35 ± 0,09	0,38 ± 0,07	0,726	0,30 ± 0,09	0,32 ± 0,08	0,580
HFO	0,69 ± 0,14	0,74 ± 0,07	0,640	0,39 ± 0,10	0,45 ± 0,08	0,344	0,41 ± 0,15	0,42 ± 0,14	0,781

S1I-V2I	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	0,33 ± 0,12	0,34 ± 0,13	0,678	0,54 ± 0,09	0,72 ± 0,17	0,141	0,27 ± 0,11	0,30 ± 0,09	0,984
THETA	0,59 ± 0,17	0,61 ± 0,20	0,854	0,45 ± 0,09	0,49 ± 0,15	0,633	0,77 ± 0,18	0,76 ± 0,18	0,512
SIGMA	0,44 ± 0,12	0,44 ± 0,14	0,935	0,46 ± 0,11	0,46 ± 0,15	0,962	0,39 ± 0,12	0,41 ± 0,13	0,903
BETA	0,29 ± 0,08	0,28 ± 0,10	0,810	0,31 ± 0,08	0,28 ± 0,11	0,712	0,24 ± 0,07	0,27 ± 0,10	0,880
LG	0,25 ± 0,07	0,21 ± 0,07	0,558	0,26 ± 0,07	0,21 ± 0,08	0,410	0,18 ± 0,03	0,17 ± 0,06	0,788
HG	0,39 ± 0,13	0,33 ± 0,13	0,560	0,28 ± 0,09	0,23 ± 0,09	0,329	0,23 ± 0,05	0,21 ± 0,06	0,582
HFO	0,56 ± 0,20	0,56 ± 0,19	0,963	0,32 ± 0,10	0,29 ± 0,09	0,265	0,44 ± 0,09	0,39 ± 0,09	0,481

M1I-M1D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	1,01 ± 0,37	0,68 ± 0,23	0,361	1,36 ± 0,46	0,97 ± 0,36	0,307	0,61 ± 0,16	0,54 ± 0,18	0,428
THETA	1,12 ± 0,31	0,85 ± 0,18	0,329	1,21 ± 0,45	0,82 ± 0,21	0,330	0,71 ± 0,09	0,74 ± 0,11	0,713
SIGMA	0,94 ± 0,28	0,63 ± 0,11	0,264	1,12 ± 0,42	0,71 ± 0,14	0,302	0,57 ± 0,11	0,56 ± 0,11	0,614
BETA	0,72 ± 0,18	0,46 ± 0,05	0,179	0,76 ± 0,30	0,42 ± 0,06	0,278	0,40 ± 0,09	0,34 ± 0,05	0,368
LG	0,46 ± 0,09	0,32 ± 0,01	0,185	0,45 ± 0,10	0,32 ± 0,03	0,203	0,31 ± 0,07	0,25 ± 0,02	0,488
HG	0,49 ± 0,15	0,31 ± 0,08	0,199	0,46 ± 0,12	0,30 ± 0,03	0,218	0,27 ± 0,08	0,19 ± 0,01	0,422
HFO	0,77 ± 0,20	0,55 ± 0,10	0,179	0,55 ± 0,12	0,38 ± 0,05	0,160	0,35 ± 0,07	0,24 ± 0,04	0,376

S1I-S1D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	0,64 ± 0,20	0,77 ± 0,17	0,414	0,95 ± 0,24	1,13 ± 0,27	0,210	0,47 ± 0,15	0,68 ± 0,17	0,237
THETA	0,94 ± 0,23	0,96 ± 0,24	0,835	0,82 ± 0,22	0,89 ± 0,23	0,637	0,99 ± 0,20	1,05 ± 0,24	0,516
SIGMA	0,67 ± 0,17	0,78 ± 0,21	0,474	0,71 ± 0,18	0,78 ± 0,21	0,635	0,52 ± 0,15	0,72 ± 0,21	0,152
BETA	0,42 ± 0,12	0,55 ± 0,17	0,499	0,44 ± 0,13	0,53 ± 0,17	0,621	0,23 ± 0,07	0,48 ± 0,19	0,191
LG	0,27 ± 0,10	0,39 ± 0,16	0,565	0,33 ± 0,11	0,42 ± 0,16	0,627	0,13 ± 0,03	0,34 ± 0,15	0,207
HG	0,38 ± 0,12	0,47 ± 0,18	0,698	0,28 ± 0,08	0,41 ± 0,16	0,485	0,13 ± 0,03	0,32 ± 0,15	0,234
HFO	0,52 ± 0,13	0,68 ± 0,21	0,409	0,26 ± 0,06	0,43 ± 0,15	0,329	0,11 ± 0,07	0,28 ± 0,18	0,394

V2I-V2D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	0,42 ± 0,10	0,51 ± 0,16	0,468	0,77 ± 0,14	0,90 ± 0,13	0,049#	0,43 ± 0,12	0,50 ± 0,14	0,908
THETA	0,68 ± 0,17	0,82 ± 0,19	0,232	0,54 ± 0,14	0,62 ± 0,17	0,224	0,88 ± 0,25	1,09 ± 0,24	0,405
SIGMA	0,46 ± 0,12	0,46 ± 0,13	0,847	0,47 ± 0,13	0,52 ± 0,14	0,471	0,43 ± 0,14	0,53 ± 0,14	0,616
BETA	0,22 ± 0,06	0,23 ± 0,07	0,715	0,24 ± 0,07	0,27 ± 0,08	0,632	0,18 ± 0,05	0,21 ± 0,05	0,862
LG	0,14 ± 0,05	0,13 ± 0,05	0,605	0,16 ± 0,05	0,17 ± 0,06	0,889	0,08 ± 0,02	0,08 ± 0,03	0,396
HG	0,28 ± 0,10	0,25 ± 0,10	0,652	0,16 ± 0,05	0,14 ± 0,05	0,377	0,09 ± 0,03	0,08 ± 0,03	0,219
HFO	0,31 ± 0,12	0,34 ± 0,11	0,587	0,15 ± 0,05	0,11 ± 0,04	0,194	0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,308

El análisis fue realizado para el tiempo total de registro. Los datos están presentados como media ± error estándar de la media. Para el análisis estadístico se realizó una prueba de t de Student de dos colas, pareada con corrección de Bonferroni. *indica diferencias significativas; p<0,0071. #indica tendencia; 0,05>p<0,0071.

Anexo 4

Efecto de la administración de 200 mg de Cannabis sobre la Z'coherencia de las distintas bandas de frecuencia del EEG durante la fase de oscuridad

BOD-M1D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	p
DELTA	0,35 ± 0,13	0,52 ± 0,21	0,493	0,88 ± 0,38	0,66 ± 0,12	0,574	0,49 ± 0,22	0,44 ± 0,14	0,921
THETA	0,70 ± 0,17	0,78 ± 0,20	0,713	1,01 ± 0,22	0,79 ± 0,06	0,348	0,95 ± 0,20	0,73 ± 0,06	0,645
SIGMA	0,68 ± 0,14	0,76 ± 0,12	0,578	1,07 ± 0,15	0,81 ± 0,04	0,126	0,82 ± 0,11	0,71 ± 0,05	0,619
BETA	0,67 ± 0,12	0,73 ± 0,09	0,480	0,73 ± 0,11	0,66 ± 0,06	0,406	0,64 ± 0,09	0,57 ± 0,05	0,914
LG	0,51 ± 0,07	0,62 ± 0,11	0,083	0,48 ± 0,10	0,51 ± 0,09	0,459	0,49 ± 0,06	0,45 ± 0,06	0,676
HG	0,35 ± 0,06	0,42 ± 0,11	0,569	0,30 ± 0,11	0,34 ± 0,09	0,768	0,30 ± 0,06	0,26 ± 0,04	0,802
HFO	0,48 ± 0,09	0,62 ± 0,17	0,515	0,37 ± 0,10	0,39 ± 0,10	0,876	0,27 ± 0,08	0,26 ± 0,08	0,092

M1D-S1D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	p	Sham	Cannabis	P
DELTA	0,73 ± 0,12	0,68 ± 0,10	0,756	0,91 ± 0,14	0,65 ± 0,06	0,240	0,68 ± 0,12	0,50 ± 0,09	0,102
THETA	0,79 ± 0,07	0,78 ± 0,11	0,896	0,71 ± 0,08	0,58 ± 0,09	0,230	0,83 ± 0,10	0,60 ± 0,10	0,291
SIGMA	0,78 ± 0,05	0,72 ± 0,12	0,617	0,75 ± 0,09	0,56 ± 0,10	0,203	0,68 ± 0,05	0,55 ± 0,11	0,562
BETA	0,67 ± 0,06	0,61 ± 0,14	0,689	0,58 ± 0,08	0,47 ± 0,11	0,424	0,64 ± 0,04	0,47 ± 0,12	0,340
LG	0,51 ± 0,05	0,50 ± 0,12	0,911	0,51 ± 0,06	0,43 ± 0,10	0,547	0,52 ± 0,04	0,43 ± 0,12	0,674
HG	0,50 ± 0,03	0,51 ± 0,09	0,952	0,44 ± 0,03	0,40 ± 0,07	0,543	0,41 ± 0,03	0,36 ± 0,10	0,809
HFO	0,77 ± 0,04	0,82 ± 0,15	0,798	0,50 ± 0,03	0,44 ± 0,09	0,539	0,41 ± 0,06	0,37 ± 0,12	0,956

S1D-V2D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	0,83 ± 0,06	0,64 ± 0,08	0,101	1,01 ± 0,17	0,70 ± 0,12	0,162	0,78 ± 0,06	0,60 ± 0,07	0,105
THETA	1,04 ± 0,11	0,86 ± 0,09	0,165	0,81 ± 0,09	0,55 ± 0,07	0,018#	1,27 ± 0,15	0,88 ± 0,09	0,022#
SIGMA	0,85 ± 0,08	0,60 ± 0,07	0,012#	0,93 ± 0,09	0,61 ± 0,04	0,006*	0,86 ± 0,10	0,63 ± 0,05	0,013#
BETA	0,65 ± 0,07	0,43 ± 0,08	0,084	0,68 ± 0,07	0,41 ± 0,05	0,008#	0,63 ± 0,06	0,47 ± 0,03	0,132
LG	0,53 ± 0,07	0,33 ± 0,08	0,080	0,58 ± 0,08	0,34 ± 0,06	0,021#	0,49 ± 0,07	0,34 ± 0,09	0,357
HG	0,64 ± 0,09	0,51 ± 0,06	0,031#	0,60 ± 0,07	0,37 ± 0,05	0,024#	0,54 ± 0,08	0,38 ± 0,08	0,213
HFO	0,84 ± 0,08	0,83 ± 0,11	0,979	0,60 ± 0,08	0,45 ± 0,03	0,089	0,63 ± 0,10	0,48 ± 0,04	0,158

M1I-S1I	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	0,56 ± 0,03	0,66 ± 0,13	0,595	0,82 ± 0,09	0,73 ± 0,17	0,688	0,55 ± 0,03	0,40 ± 0,07	0,199
THETA	0,54 ± 0,09	0,73 ± 0,17	0,458	0,53 ± 0,08	0,62 ± 0,16	0,714	0,51 ± 0,07	0,48 ± 0,08	0,655
SIGMA	0,51 ± 0,07	0,62 ± 0,16	0,614	0,52 ± 0,07	0,60 ± 0,20	0,754	0,43 ± 0,07	0,39 ± 0,09	0,697
BETA	0,37 ± 0,05	0,51 ± 0,15	0,421	0,29 ± 0,04	0,46 ± 0,19	0,385	0,33 ± 0,04	0,32 ± 0,08	0,827
LG	0,24 ± 0,04	0,35 ± 0,09	0,209	0,23 ± 0,04	0,36 ± 0,13	0,288	0,20 ± 0,05	0,27 ± 0,08	0,316
HG	0,27 ± 0,04	0,43 ± 0,12	0,175	0,26 ± 0,04	0,38 ± 0,11	0,261	0,17 ± 0,05	0,25 ± 0,07	0,258
HFO	0,58 ± 0,05	0,75 ± 0,20	0,390	0,36 ± 0,07	0,44 ± 0,14	0,483	0,29 ± 0,14	0,31 ± 0,07	0,161

S11-V21	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	0,36 ± 0,24	0,46 ± 0,15	0,461	0,79 ± 0,22	0,72 ± 0,17	0,141	0,42 ± 0,20	0,30 ± 0,12	0,562
THETA	0,59 ± 0,22	0,41 ± 0,15	0,792	0,50 ± 0,17	0,49 ± 0,15	0,633	0,93 ± 0,16	0,87 ± 0,15	0,622
SIGMA	0,44 ± 0,16	0,49 ± 0,14	0,904	0,54 ± 0,18	0,46 ± 0,15	0,962	0,51 ± 0,14	0,51 ± 0,14	0,762
BETA	0,27 ± 0,10	0,34 ± 0,07	0,823	0,28 ± 0,12	0,28 ± 0,11	0,712	0,29 ± 0,10	0,33 ± 0,09	0,922
LG	0,17 ± 0,08	0,26 ± 0,04	0,720	0,21 ± 0,10	0,21 ± 0,08	0,410	0,15 ± 0,07	0,21 ± 0,05	0,682
HG	0,23 ± 0,13	0,23 ± 0,02	0,838	0,21 ± 0,10	0,23 ± 0,09	0,329	0,18 ± 0,08	0,21 ± 0,04	0,836
HFO	0,40 ± 0,18	0,28 ± 0,07	0,748	0,22 ± 0,10	0,29 ± 0,09	0,265	0,25 ± 0,12	0,31 ± 0,09	0,386

11-M1D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	0,73 ± 0,18	0,70 ± 0,17	0,933	1,08 ± 0,29	1,00 ± 0,31	0,870	0,63 ± 0,16	0,64 ± 0,15	0,668
THETA	0,87 ± 0,15	0,84 ± 0,16	0,914	0,85 ± 0,17	0,82 ± 0,20	0,921	0,75 ± 0,07	0,76 ± 0,09	0,869
SIGMA	0,72 ± 0,10	0,66 ± 0,11	0,722	0,78 ± 0,14	0,72 ± 0,15	0,788	0,57 ± 0,08	0,63 ± 0,10	0,969
BETA	0,53 ± 0,05	0,48 ± 0,08	0,655	0,42 ± 0,07	0,41 ± 0,06	0,939	0,38 ± 0,03	0,36 ± 0,03	0,676
LG	0,30 ± 0,02	0,29 ± 0,04	0,940	0,31 ± 0,03	0,29 ± 0,04	0,740	0,24 ± 0,03	0,25 ± 0,03	0,180
HG	0,23 ± 0,03	0,27 ± 0,06	0,575	0,29 ± 0,04	0,28 ± 0,04	0,844	0,18 ± 0,03	0,19 ± 0,02	0,206
HFO	0,50 ± 0,06	0,59 ± 0,13	0,611	0,39 ± 0,03	0,39 ± 0,05	0,989	0,25 ± 0,06	0,26 ± 0,06	0,394

S1I-S1D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	0,92 ± 0,28	0,78 ± 0,06	0,811	1,16 ± 0,32	0,82 ± 0,06	0,363	1,01 ± 0,26	0,52 ± 0,08	0,355
THETA	1,00 ± 0,34	1,07 ± 0,02	0,886	1,32 ± 0,38	0,72 ± 0,05	0,176	1,36 ± 0,28	0,95 ± 0,05	0,239
SIGMA	0,99 ± 0,32	0,82 ± 0,07	0,805	1,30 ± 0,36	0,65 ± 0,05	0,153	1,04 ± 0,28	0,60 ± 0,08	0,274
BETA	0,82 ± 0,28	0,48 ± 0,06	0,546	1,06 ± 0,31	0,36 ± 0,05	0,137	0,92 ± 0,26	0,32 ± 0,04	0,171
LG	0,60 ± 0,23	0,22 ± 0,04	0,415	0,77 ± 0,26	0,23 ± 0,04	0,201	0,76 ± 0,25	0,17 ± 0,00	0,144
HG	0,61 ± 0,21	0,28 ± 0,06	0,493	0,78 ± 0,23	0,19 ± 0,01	0,116	0,67 ± 0,20	0,13 ± 0,00	0,144
HFO	0,84 ± 0,22	0,60 ± 0,13	0,696	1,05 ± 0,24	0,23 ± 0,02	0,047	0,71 ± 0,21	0,05 ± 0,01	0,073

V2I-V2D	VIGILIA			NREM			REM		
	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P	Sham	Cannabis	P
DELTA	0,31 ± 0,17	0,57 ± 0,25	0,507	0,92 ± 0,28	0,84 ± 0,06	0,363	0,37 ± 0,14	0,51 ± 0,23	0,879
THETA	0,59 ± 0,20	0,88 ± 0,26	0,488	1,00 ± 0,34	0,74 ± 0,04	0,480	1,09 ± 0,21	1,06 ± 0,29	0,526
SIGMA	0,40 ± 0,15	0,57 ± 0,19	0,588	0,99 ± 0,32	0,67 ± 0,05	0,458	0,59 ± 0,15	0,59 ± 0,20	0,641
BETA	0,23 ± 0,10	0,31 ± 0,12	0,647	0,82 ± 0,28	0,38 ± 0,04	0,452	0,26 ± 0,10	0,28 ± 0,11	0,823
LG	0,11 ± 0,06	0,15 ± 0,06	0,747	0,60 ± 0,23	0,23 ± 0,03	0,444	0,13 ± 0,06	0,14 ± 0,06	0,903
HG	0,20 ± 0,10	0,28 ± 0,11	0,729	0,61 ± 0,21	0,21 ± 0,02	0,445	0,14 ± 0,06	0,13 ± 0,06	0,829
HFO	0,30 ± 0,11	0,36 ± 0,14	0,789	0,84 ± 0,22	0,28 ± 0,04	0,383	0,08 ± 0,02	0,09 ± 0,02	0,596

El análisis fue realizado para el tiempo total de registro. Los datos están presentados como media ± error estándar de la media. Para el análisis estadístico se realizó una prueba de t de Student de dos colas, pareada con corrección de Bonferroni. *indica diferencias significativas; p<0,0071. #indica tendencia; 0,05>p<0,0071.