

SISTEMUL CANNABINOID ENDOGEN. FUNCȚII FIZIOLOGICE, IMPLICAȚII PATOLOGICE ȘI PERSPECTIVE FARMACOLOGICE (I)

Aurelia Nicoleta Cristea¹, B. S. Velescu²

¹Profesor universitar, doctor în științe farmaceutice, Facultatea de Farmacie, UMF Carol Davila București

²Preparator universitar, doctorand, Facultatea de Farmacie, UMF Carol Davila București

Cuvinte cheie

sistemul cannabinoid endogen (SCBE), receptorii cannabinoizi, endocannabinoide, sistemul cannabinoid independent, SCBE fiziologie, SCBE reglare.

Lucrarea constituie un referat de sinteză asupra cunoștințelor actuale privind sistemul semnalizator cannabinoid endogen (SCBE), cu referire la: istoric, receptorii cannabinoizi, endocannabinoide, sistemul endocannabinoid independent, sisteme enzimatic catalizatoare ale biosintezei și metabolizării, reglare și corelații cu alte sisteme semnalizatoare, funcții fiziologice, implicații patologice și perspective farmacologice. Într-o lucrare viitoare vor fi prezentate noile medicamente.

Keywords

endogenous cannabinoid system (SCBE), cannabinoid receptors, endocannabinoids, independent cannabinoid system, SCBE physiology, SCBE correlations.

Endogenous cannabinoid system

Endogenous cannabinoid system (SCBE), classified as a lipidergic system, is relative recently discovered. Only in 1990, the first cannabinoid receptor CB1 has been cloned from cerebral tissue. The first endocannabinoid was identified from the porcine brain in 1992 (Devane et al.) as arachidonoyl ethanolamide (AEA) and named anandamida (from Sanskrit: ananda=joy, happiness, bliss, sensual pleasure). The effects of anandamide are mimed by delta 9-tetrahydrocannabinol (THC), identified in 1964 as the active phytocannabinoid responsible for the psychoactive effects of cannabis, resulting from the stimulation of the CB1 receptor type.

This paper represents a review of the up-to-date knowledge about endogenous cannabinoid system (SCBE): history, receptors, mediators, catalyzing enzymatic systems of biosynthesis and metabolize, regulation and correlations with another signaling systems, physiological functions and pathological implications, as well as pharmacological perspectives. In a future paper the new drugs will be presented.

1. Introducere

Sistemul semnalizator cannabinoid endogen (SCBE) este un sistem semnalizator descoperit relativ recent (1990). În raport cu structura biochimică a mediatorilor chimici, este clasificat ca sistem lipidergic, ca și sistemul eicosanoidergic. Mediatorii chimici ai acestor două sisteme au ca precursor comun, acidul arahidonic.

Primul receptor cannabinoid denumit *CB1* a fost

clonat din țesutul cerebral, abia în anul 1990^[32]. Al doilea receptor *CB2* a fost clonat din splină, trei ani mai târziu, în anul 1993^[35]. Primul endocannabinoid a fost identificat de Devane și colab., din creierul de porcine, în 1992^[8], ca fiind *arachidonoyl ethanolamide (AEA)* și a fost denumit *anandamida* (etimologia din sanscrită: ananda = bucurie, fericire, plăcere sensuală).

THC (delta 9- tetrahydrocannabinol) fitocannabinoidul activ din cannabis, responsabil de efectele psihoactive, mimează efectele anandamidei. THC a fost identificat în anul 1964, dar mecanismul de acțiune a rămas necunoscut, până la descoperirea receptorului cannabinoid *CB1*.

Sistemul endocannabinoid a fost evidențiat nu numai la vertebrate, ci și la nevertebrate, dar nu

Adresa de corespondență

Prof. Dr. Aurelia Nicoleta Cristea

Disciplina de Farmacologie și Farmacie clinică, Facultatea de

Farmacie, UMF „Carol Davila”, București, Str. Traian Vuia
6, tel. 4021- 3180754,

e-mail: farmacol_farmbuc@yahoo.com

la toate, iar receptorii și funcțiile fiziologice ale acestora prezintă diferențe. Sistemul cannabinoid endogen (sau o parte dintre componentele sale) pare să fie conservat la aproape toate speciile animale, de la Hydra sp. la Homo sapiens^[19]. Endocannabinoidele au fost identificate în cantități mici și în cocoa (semințe fermentate de Theobroma cacao) și în ciocolată.

Funcția principală a SCBE este de sistem neuro-modulator inhibitor în creierul mamiferelor.^[23,36]

Endocannabinoidele au efecte neuroprotectoare interesante pentru terapeutică^[15], dar și efecte adverse psihotrope^[20], dificil de separat, deoarece ambele tipuri de efecte rezultă din stimularea aceluiași tip de receptori CB1.

Din punctul de vedere al efectelor psihoactive, SCBE este cel puțin tot atât de interesant, incitant și dezbătut ca și sistemul opioidergic endogen, la vremea descoperirii acestuia. Prin comparație, SCBE pare să aibă o sferă mult mai largă de efecte fiziologice, la nivel cerebral și periferic, precum și de implicații patologice.

SCBE oferă ținte noi farmacologice pentru dezvoltarea medicației. La ora actuală există însă o largă dezbateră în lumea științifică, referitoare la următoarea dilemă: prezintă sau nu siguranță pentru pacient, introducerea în terapeutică a cannabinoidelor (de sinteză sau semisinteză) sau/și a unor compuși ce pot crește nivelurile de cannabinoid endogene? Pericolul principal este reprezentat de potențialul de abuz și riscul bolilor psihiatrice, cunoscute a fi induse la utilizarea pe termen lung a fitocannabinoidelor din cannabis (produsele rezultate din Cannabis sativa - cânepa indiană -, cunoscute sub numele generic de cannabis, sunt: marihuana = frunzele și inflorescența și hașiș = rezina)^[20, 21]. Acest potențial de efecte adverse psihotrope este declanșat prin activarea receptorilor cannabinoidi CB1.

Studiul SCBE continuă totuși, locul rezervat receptorilor cannabinoidi în cercetarea farmacologică fiind în continuă creștere. Cunoașterea SCBE a deschis o nouă perspectivă pentru tratamentul unor tulburări nervoase (depresie, boli neurodegenerative ca bolile Parkinson și Alzheimer) și imune (ca scleroza multiplă, boala Crohn), boli cardiovasculare (infarct de miocard, HTA), durere, inflamație și cancer^[15,23].

Se află în studiu avansat noi medicamente cu mecanisme la nivelul SCBE. Au fost deja introduse în terapeutică, unele medicamente, ca de ex.: *rimonabant* (antagonist sintetic al receptorilor CB1)

indicat în dependența de nicotină și ca anorexigen în obezitate; dronabinol (agonist, izomerul levogir al trans-delta-9-THC) indicat ca antiemetic; nabilona (agonist) indicat ca antiemetic.

Cu toate că SCBE este un sistem semnalizator tânăr (în raport cu anul descoperirii), literatura consacrată este foarte bogată. În această lucrare de sinteză, vom aborda cele mai interesante aspecte de fiziologie și patologice, vizând și perspectiva farmacologică. Într-o lucrare viitoare, ne vom referi la aspectele de farmacologie în perspectiva farmacoterapeutică, prezentând și medicamentele noi, cu mecanisme la nivelul SCBE.

2. Receptorii cannabinoidi și efectele activării

Receptorii cannabinoidi CB1 și CB2 au fost identificați prin clonare moleculară, respectiv din creier în 1990^[32] și din splină în 1993^[35]. Se încadrează în familia receptorilor cuplați cu proteinele G (Gi/0, Gs). Prezintă șapte lanțuri transmembranare (Figura 1).

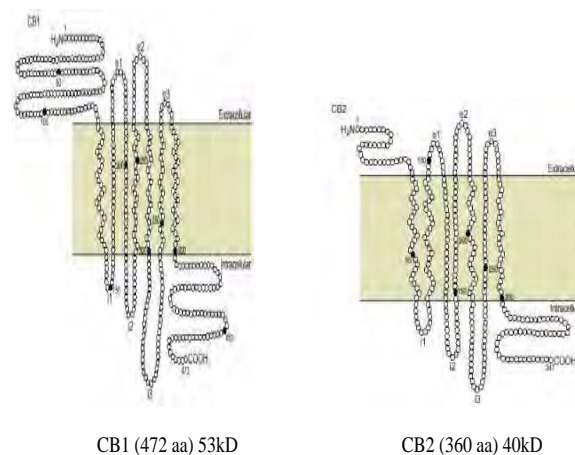


Figura 1. Receptorii CB1 și CB2

Receptorii CB1^[13,30]

Sunt cuplați cu proteinele Gi/0 și reglează activitatea unor canale ionice, ciclaze și kinaze, după cum urmează: blochează canalele de calciu de tip N- și P/Q descrescând conductanța pentru Ca²⁺, cresc conductanța pentru K⁺, inhibă adenilat ciclaza și formarea de AMPc, stimulează protein-kinaza mitogen-activată.

Receptorii CB1 sunt localizați în: SNC (cortex, hippocampus, ganglionii bazali, cerebelum, amigdala, talamus, nucleus accumbens, hipotala-

DENUMIRE	CB1	CB2
CARACTERISTICI STRUCTURALE	472 aa (human) 53kD	360 aa (human) 40kD
AGONIȘTI ENDOGENI	N-Arachidonylethanolamine (AEA), 2-Arachidonoyl-glycerol (2-AG), 2-Arachidonoyl-glycerylether, N-Arachidonoyl-dopamine, O-Arachidonoyl-ethanolamine	N-Arachidonylethanolamine(AEA), 2-Arachidonoyl-glycerol (2-AG), 2-Arachidonoyl-glycerylether, N-Arachidonoyl- dopamine, O-Arachidonoyl-ethanolamine
AGONIȘTI NATURALI	Δ^9 -THC,	Δ^9 -THC, Canabinol (CB), Canabidiol (CBD)
AGONIȘTI SINTETICI	Dronabinol, Nabilone, Levonantradol, Methanandamide, CP-55,940, HU 210, ACEA, O-1812	Nabilone, Levonantradol, Methanandamide, CP-55,940, R(+)-WIN 55,212-2, HU 210, JWH-015, JWH-133
ANTAGONIȘTI	Rimonabant, SR 141716A, LY-320135, AM251, AM281	SR 144528, AM630
AGONIȘTI (scala afinității pentru receptori)	Δ^9 THC > anandamida > canabinol > canabidiol	Δ^9 THC > canabinol > canabidiol > anandamida
MECANISMUL	Gi (modularea AMPc) Scăderea sensibilității canalelor de Ca ²⁺ voltaj dependente (tipul N-, Q-), Cresterea permeabilității canalelor de K ⁺	Gi (modularea AMPc)
EXPRESIA TISULARĂ	Creier (cortex, ganglionii bazali, cerebel)	Celulele imune periferice și centrale
FUNCȚIA FIZIOLOGICĂ	Activarea heteroreceptorilor presinaptici, cu funcție inhibitoare retrogradă	Modularea sistemului imun
IMPLICAȚII FIZIOPATOLOGICE ȘI PREMIZE FARMACOLOGICE	Modularea apetitului (orexie-anorexie), emeză, anxietate, depresie, convulsii, durere	Imunosupresie

Agoniști și antagoniști pentru receptorii CB1 și CB2
(după Sigma-Aldrich Catalogue; www.sigma-aldrich.com/ehandbook)

mus), glanda pituitară (hipofiză), nervii periferici, unele organe, celule imune.

În SNC, receptorii CB1 se află în concentrații înalte, fiind situați: predominant presinaptic, pe soma neuronilor, dendrite, astrocite și celulele stem neuronale.

Sunt abundenți în ariile SNC implicate în controlul următoarelor funcții:

- memorie și învățare (cortex, hipocampus);
- activitate motorie (ganglioni bazali, cerebelum);
- emoții (amigdala);
- percepții senzoriale (talamus);
- apetitul și preluarea de hrană (nucleus accumbens);
- diverse funcții vegetative și endocrine (hipo-

talamus, hipofiză, medulara).

Sunt prezenți și în periferie, în terminațiile nervoase ce inervează: sistemul imunitar; tractul digestiv, sistemul cardiocirculator și aparatul respirator; endoteliul vascular; testiculul; pielea.

Receptorii CB1 neuronali presinaptici sunt cuplați inhibitor la canalele de calciu de tip N și controlează retrograd inhibitor transmisia sinaptică cannabinoidă^[1]. La nivel de cotransmisii cu alte sisteme semnalizatoare, receptorii CB1 modulează inhibitor eliberarea mediatorilor chimici în sinapse (Glutamat, GABA, 5-HT, DA, NA) [39]. Excitotoxicitatea neuronală poate fi cotracarată via receptorilor CB1^[31].

Receptorii CB1 situați pe soma neuronală induc factorul neurotrofic derivat de creier (BDNF). Receptorii CB1 controlează: starea celulelor stem neuronale, creșterea neuritelor, formarea sinapselor funcționale, remodelarea rețelelor neuronale^[15,26]. Pe calea receptorilor CB1 periferici este redusă dezvoltarea inflamației și hiperalgeziei^[38]

Activarea receptorilor CB1 este corelată cu următoarele funcții^[13,30]:

- răspunsul la stres, prin influența asupra axei hipotalamo-hipofizo-suprarenale adrenalinice;
- modularea tuturor axelor endocrine hipotalamo-periferice;
- controlul reproducerii (prin modificarea eliberării de gonadotropină), al fertilității și comportamentului sexual;
- controlul hipotalamic al apetitului alimentar și consumului de hrană;
- modularea la nivel specific mesolimbic a proprietăților de recompensă ale alimentelor;
- inhibarea motilității gastrointestinale și golirii stomacului;
- hipotensiune arterială;
- controlul balanței energetice;
- controlul funcțiilor metabolice, prin acțiuni pe țesuturile periferice (adipocite, hepatocite, tract gastrointestinal, mușchi scheletici).

RECEPTORII CB2 ^[3,13,30]

Sunt cuplați cu proteinele Gi/o și reglează activitatea unor ciclaze și kinaze, după cum urmează: inhibă adenilat ciclaza și formarea de AMPc, stimulează protein-kinaza mitogen-activată.

Receptorii CB2 au o distribuție mai restrânsă, fiind localizați în:

sistemul imunitar (limfocitele B și T, macrofage, ganglioni), mastocite, splină și celulele hematopo-

ietice, celule stem neuronale, celule microgliale activate (de ex. în modele de scleroză multiplă sau boală Alzheimer la șoarece) și celule microgliale de cultură (considerate activate cronic).

Sunt situați predominant în splină și celulele hematopoietice, fiind responsabili de efectul imunosupresiv indus de cannabis. În sistemul imunitar precum și în mastocite, receptorii CB2 se află în concentrații înalte, sugerând că SCBE are un rol important în reglarea răspunsurilor imunitare și inflamatorii ale organismului. S-a demonstrat că imunomodularea prin cannabinoid este absentă la șoarecii fără receptori cannabinoidi CB2⁽³⁾.

Nivelurile de receptori CB2 scad în sistemul imunitar, în ordinea: celule B > natural killer (NK) >> monocite-macrofage > neutrofile > celule CD8 + T > celule CD4 + T.

Receptorii CB2, ca și CB1, prezintă niveluri înalte în celulele B mature și niveluri joase în celulele T tinere. Receptorii CB2 se regăsesc pe leucocite, în condiții patologice.

Activarea receptorilor CB2 este corelată cu următoarele funcții ^[3,13,30]:

- modularea răspunsurilor imune (creșterea ratei de proliferare a celulelor imune, activarea celulelor T helper induse de macrofag, scăderea eliberării citotoxinelor de către celulele imune);
- reducerea inflamației, fapt ce poate fi consecința creșterii proliferării celulelor imune;
- reglarea emezei.

Nivelurile ridicate induc apoptoza celulelor imune, fenomen ce este corelat cu efectul imunosupresiv al drogurilor din categoria cannabis, la consumatorii cronici^[33].

3. Endocannabinoidele și efectele induse

Sistemul semnalizator cannabinoid endogen (SCBE) este clasificat ca sistem lipidergic, în raport cu structura biochimică a mediatorilor chimici. Mediatorii chimici, denumiți endocannabinoid, au fost sintetizați din lipidele membranelor celulare, ca și eicosanoidele, cu care au similitudine de structură chimică, derivând de la acidul arahidonic.

Endocannabinoidele ^[9,16,23,30,34,36,40]

Sunt cunoscute următoarele endocannabinoid (Figura 2):

- arahidonoyletanolamida (AEA) denumită anandamidă;
- 2- arahidonoylglicerol (2-AG);
- 2- arachidonoylglicerol eter (noladin eter).

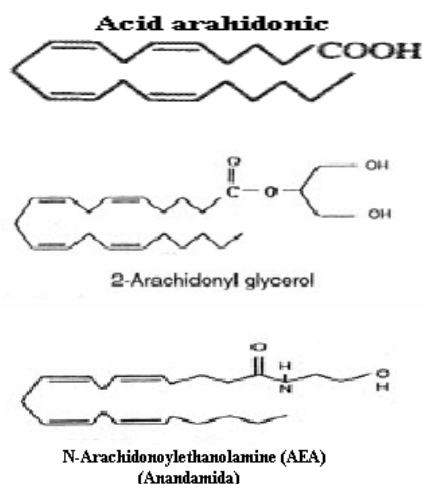


Figura 2. Endocannabinoid. Structuri chimice derivate de la acidul arahidonic.

2- AG și noladin eter sunt derivați de acizi grași polinesaturați (PUFA).

2 – AG este endocannabinoidul cel mai abundent în creier, având o concentrație de 170 de ori mai mare, comparativ cu anandamida. N-acil etanolamidele (cum sunt anandamida = AEA, precum și palmitoyletanolamida = PEA) prezintă niveluri bazale joase, dar biosinteza este crescută ca răspuns la: activitatea neuronală, stresul celular sau degenerarea celulară.

Oleoyletanolamida (OEA) este un analog natural al anandamidei, dar care nu acționează pe receptorii cannabinoizi. OEA este biosintetizată în intestin, ca răspuns la hrănire. Sinteza este inhibată de inaniție. Administrarea de OEA reduce consumul de hrană și greutatea corporală atât la animalele ce sunt hrănite, cât și la cele înfometate. OEA crește anorexia indusă de *rimonabant* (medicament de sinteză, antagonist al receptorilor cannabinoizi). OEA poate media efectele sale prin mecanism agonist pe receptorii PPAR – alfa și prin mecanisme legate de adiponectin^[18].

Biosinteza endocannabinoidelor^[7,10]

Are la bază fosfolipidele membranare, precursorul fiind acidul arahidonic, ca și în cazul eicosanoidelor.

Stocarea endocannabinoidelor

Se deosebește de cea a altor neuromediatorii prin faptul că nu are loc în vezicule sinaptice, ci în fosfolipidele membranei celulare.

Eliberarea endocannabinoidelor

Eliberarea din neuroni se face prin mecanismul de difuziune prin membrana plasmatică și este indusă de depolarizarea membranei și de influxul de Ca^{2+} în celule.

Semiviața endocannabinoidelor

Semiviața endocannabinoidelor este sub 5 minute și efectele sunt de durată relativ scurtă, deoarece sunt supuse următoarelor mecanisme de inactivare:

- recaptarea activă, cu transportori specifici;
- degradarea catalizată de enzime intracelulare; de ex. anandamid hidrolaza.

Biotransformarea (degradarea) endocannabinoidelor^[7,10]

Degradarea în neuroni are loc prin hidroliză enzimatică catalizată de:

- hidrolaza amidelor acizilor grași (FAAH), pentru AEA (anandamidă);
- monoacilglicerol lipaza (MAGL), pentru 2- AG.

Activitatea FAAH (pentru hidroliza AEA) este maximă la pH= 9 și este redusă cu 70% la pH= 5. FAAH este bine reprezentată în: mitocondrii și reticulul endoplasmic neted. Substraturi pentru FAAH sunt: AEA și alte N- aciletanolamide ca PEA (palmitoyletanolamida).

AEA și 2- AG, prin hidroliză catalizată, dau naștere la lipide bioactive și anume: acid arahidonic și eicosanoide. Date recente arată că, atât AEA cât și 2- AG pot fi biotransformate și de ciclooxigenaza-subtipul 2 (COX-2), enzimă ce intervine în biosinteza prostaglandinelor proinflamatorii. Acest proces poate fi de o deosebită importanță fiziologică, dar și de perspectivă farmacologică. Medicamentele antiinflamatoare inhibitoare specifice de COX-2, cum sunt coxibele, pot crește astfel, nivelurile de cannabinoide. Este posibil ca, unele dintre RA descoperite postmarketing pentru coxibe să se datoreze acestui fenomen, exacerbat printr-o farmacoterapie agresivă. În plus, a fost demonstrat faptul că antiinflamatoarele nesteroidiene (AINS) inhibitoare neselective sau selective de COX-2, inhibă și FAAH, la concentrațiile relevante farmacologic. La pH- ul acid din țesuturile inflamate, AINS-urile cu structură de acizi carboxilici au potență sporită.

Această interferență, a celor două sisteme semnalizatoare lipidergice - SCBE și sistemul eicosanoidergic – la nivelul metabolismului mediatorilor, poate ridica multe probleme farmacologice cu răsunet clinic și va trebui studiată în detaliu.

Inhibitorii enzimelor ce catalizează degradarea endocannabinoidelor

Inhibitorii enzimelor ce catalizează degradarea endocannabinoidelor (enzimele FAAH, MAGL și chiar COX- 2) ar putea avea utilitate terapeutică, ca urmare a creșterii concentrației și efectelor N- aci-

letanolaminelor (AEA, etc) în țesuturile în suferință (stres celular sau degenerare celulară), posibil fără efecte în alte țesuturi.

Atenție trebuie acordată unor posibile contraindicații ale acestor inhibitori ai enzimelor ce degradează endocannabinoidele. Astfel, de exemplu, s-a observat că nivelurile joase de anandamid-hidrolază par a contribui la avortul spontan. Acest fenomen poate fi un efect secundar al anandamidei, care pe calea receptorilor CB1 poate induce, la concentrații ridicate, moartea celulară și sistarea implantării blastocitelor. Anandamid hidrolaza acționează ca un punct de control la intersecția dintre hormonii și citokinele ce controlează sarcina. Progesteronul crește nivelurile de anandamid hidrolază și astfel reduce concentrația de anandamidă.

Efectele endocannabinoidelor ^[19,23,30]

Prin activarea receptorilor specifici CB1 și CB2, endocannabinoidele sunt responsabile de următoarele efecte centrale și periferice:

- inhibă memoria de scurtă durată și suprimă amintirile neplăcute;
- au efect anxiolitic și susțin tonusul timic, cu rol antidepressiv^[25];
- controlează durerea, modulează percepția durerii și reduce hiperalgezia^[5,38];
- controlează excitabilitatea neuronală și convulsiile epileptiforme [29]; contracarează excitotoxicitatea^[31];
- controlează neurogeneza^[25,26]; au efect neuroprotector, în tulburări hipoxice și traumatice;
- controlează stresul (prin modularea axei hipotalamo- hipofizo- suprarenale);
- modulează toate axele endocrine hipotalamo- hipofizo- glande endocrine periferice (via CB1, localizați în hipotalamus și hipofiză);
- inhibă secreția de prolactină și hormon de creștere; crește secreția de ACTH;
- modulează apetitul și preluarea de hrană (la nivel hipotalamic) [12,17,24];
- antrenează consumul de alimente bune la gust și bogate în energie (acționând în ariile specifice mesolimbice, respectiv în nucleus accumbens) [27] ;
- controlează balanța energetică, prin efectul orexigen central și stimularea lipogenezei periferice^[4];
- controlează funcțiile metabolice, acționând pe țesuturile periferice (adipocite, hepatocite,

tract gastrointestinal și posibil mușchi striat); stimulează lipogeneza, în țesutul adipos, pe calea receptorilor CB1;

- controlează sistemele cardiovascular și respirator; scad frecvența cardiacă și debitul cardiac, cu vasodilatație; induc bronhodiatație;
- reduc presiunea intraoculară;
- controlează reproducerea (prin modificarea eliberării de gonadotropine), fertilitatea și comportamentul sexual; inhibă secreția de testosteron;
- modulează sistemul imunitar^[28], procesele inflamatorii și dezvoltarea tumorilor;

Activitatea endocannabinoidă este deprimată de stresul cronic.

Blocada specifică genetică și farmacologică a receptorilor CB1 induce o stare fenotipică analoagă cu depresia melancolică, sugerând implicarea hipofuncției endocannabinoidă în etiologia depresiei melancolice. Activitatea endocannabinoidă este crescută prin antidepressive. Aceste date sugerează posibilitatea lansării unei noi linii de medicamente, cu mecanism la nivelul SCBE, pentru tratamentul depresiei melancolice rezistente la farmacoterapia existentă [25]. Dar atenție la antagoniștii (blocații) receptorilor CB1 care ar putea genera efect secundar depresiv.

Efectul neuroprotector este rezultatul activării receptorilor CB1 neuronal, manifestat prin scăderea eliberării de glutamat din presinapsele glutamatergice și în consecință prin diminuarea activării receptorilor NMDA și a influxului de Ca²⁺ [31].

Endocannabinoidele, atât anandamida cât și 2-Ag, administrate la șobolan, stimulează consumul de hrană^[24,27].

AEA (anandamida) este implicată în implantarea embrionului în uter, în stadiul incipient de blastocit.

AEA (Anandamida)

A fost identificată din creierul de porcine, în anul 1992, de către Devane și colab.^[8]. Denumirea de *anandamidă* derivă de la *ananda*, care în sanskrită înseamnă: bucurie, fericire, liniște, plăcere sensuală.

Este o N-acil etanolamidă și anume: arahidonoyletanolamida. Denumirea chimică este: (5'' Z'', 8'' Z'', 11'' Z'', 14'' Z'')- N''- (2- hidroxietil)- icoza- 5,8,11, 14- tetraenamida. Formula chimică: C₂ H₃₇ NO₂. Masa moleculară: 347.53g / mol. (wikipedia/ <http://anandamide.search.ipupdater.com/>)

AEA a fost localizată în: creier (în concentrații

înalte fiind în cortex, hippocampus, talamus, cerebel), precum și în țesutul intestinal (unde nivelurile cresc după 24 ore de post). AEA modulează unele canale de Ca^{2+} și K^+ .

AEA prezintă afinitate mai mare pentru receptorii CB1 și mai mică pentru CB2. Pentru receptorii CB1, AEA are afinitate înaltă, dar activitate intrinsecă redusă.

Față de receptorii CB2, AEA se comportă ca un agonist parțial – antagonist.

Biosinteza pentru AEA este dependentă de concentrația intracelulară a ionului Ca^{2+} și este mediată de două enzime și anume: aciltransferaza și NAPE- fosfolipaza D.

Aciltransferaza este enzima ce generează precursorul lipidic pentru AEA și anume N- arahidonil-fosfatidil etanolamida (NAPE). Precursorul NAPE este clavat de NAPE- fosfolipaza D.

Degradarea AEA este catalizată de hidrolaza pentru amida acizilor grași (FAAH), precum și de alte enzime ca ciclooxigenaza.

Un analog al AEA este methanandamida.

2- arachidonoylglycerol (2- AG)

A fost raportată simultan în anul 1995, de către Mechoulam Raphael și Waku Keizo^[34]. 2- AG este agonist selectiv pentru receptorii CB2 și are afinitate minimală pentru CB1.

Biosinteza pentru 2- AG este mediată de două enzime și anume: fosfolipaza C (PLC) și diacylglycerol lipaza (DGL). DGL prezintă două subtipuri, corespunzătoare pentru PLC- beta1 și PLC- beta 4, cu localizări în neuronii piramidali și respectiv Purkinje.

Degradarea 2- AG este catalizată de monoacylglycerol lipaza (MGL), precum și de FAAH și ciclooxigenaza.

4. SCBE “independent” adițional. Receptori cannabinoizi non-CB1/CB2 ^[30]

Rezultatele ultimilor cercetări aduc evidențe privind existența mai multor receptori cannabinoizi: cei doi receptori specifici clonați, CB1 și CB2, precum și 3 receptori cannabinoizi non- CB1 / CB2. Fiecare dintre acești receptori mediază efecte distincte ale cannabinoidelor.

Receptorii non- CB1 / CB2 sunt localizați în:

- neuroni, reglând transmisia sinaptică;
- celulele endoteliale vasculare, inducând vasodilatație și hipotensiune arterială, prin eliberare de oxid de azot (NO) și deschiderea canalelor de K^+ în mușchiul neted

vascular;

- celulele imune.

Palmitoyletanolamida (PEA)

Se manifestă ca un endocannabinoid independent, modulator antiinflamator, pe calea unui receptor distinct non- CB1 / CB2. Acest receptor pare a fi GPR 55.

Biosinteza și inactivarea pentru PEA se desfășoară pe căi enzimatiche diferite de cele pentru endocannabinoidele AEA și 2- AG. În mod particular, biosinteza de PEA, AEA și 2-AG se desfășoară concomitent, în neuronii corticali ai rozătoarelor.

Enzima ce biotransformă PEA este *N- aciletanolamina- acid amidaza (NAAA)*.

NAAA este bine reprezentată în: timus, splină, macrofagele din plămân și intestinul subțire și slab reprezentată în creier. Această localizare evidențiază rolul acestei enzime în reglarea semnalizării de către PEA, în cadrul sistemului imunitar.

Activitatea NAAA este maximă la pH =5 și este redusă la 10%, la pH= 7 (pH- ul citosolic). NAAA este activă exclusiv în lisosomi. Invers, activitatea FAAH (pentru hidroliza AEA) este maximă la pH- ul = 9 și scade cu 70% la un pH =5.

Hidroliza PEA conduce la doi produși relativ inactivi și anume: acid palmitic și etanolamina.

Inhibitorul de NAAA, N- ciclohexancarboxilpentadecilamina, cu IC₅₀ = 5 micromoli (realizat de Didier Lambert) este inactiv pe enzima FAAH ce biotransformă AEA.

Inhibitorii de FAAH, cu IC₅₀ nanomolari sunt: URB597 și MAFP (metilarahidonoyl fluorofosfonat). URB597 și MAFP sunt inactivi pe NAAA, la o concentrație de 1 micromol.

Nivelurile în cortexul cerebral ischemic, în caz de ischemie cerebrală focală, cresc diferit pentru PEA și AEA (respectiv de 25 de ori și 3 ori) și rămân neschimbate pentru 2- AG. PEA scade durerea asociată cu răspunsul inflamator

Receptorul GPR 55

A fost identificat în creier, ca receptor cuplat cu proteina G orfană (GPCR). Sinteza rezultatelor studiilor efectuate pentru localizarea receptorului GPR 55, utilizând analiza Northern blot a țesuturilor umane și de șobolan, evidențiază faptul că acest receptor este reprezentat în țesuturile cunoscute că reacționează la cannabinoidelor. Literatura înregistrată (patent) indică următoarea distribuție relativă pentru receptorul GPR 55: adipocite > testicule > miometru > amigdală > splina > ileon > creier = stomac.

Un patent recent argumentează că, GPR 55 poate

fi un subtip de receptor cannabinoid adițional. GPR 55 nu este cuplat prin intermediul proteinelor Gi, Go sau Gs, ca receptorii cannabinoizi CB1 și CB2. GPR 55 prezintă numai 13, 5% și respectiv 14,4% homologie cu receptorii CB1 și CB2.

6. Factori de reglare a SCBE și corelații cu alte sisteme semnalizatoare

Factori de reglare a SCBE

- Deprivarea acută de hrană la șoarece antrenează creșterea nivelurilor endocannabinoidelor anandamidă și 2-AG, în creier (în special în sistemul limbic anterior)^[27];
- Deprivarea cronică de hrană la șoarece antrenează o reducere paradoxală a nivelurilor hipotalamice de 2-AG^[27];
- Șobolanii obezi (obese zucker) prezintă niveluri hipotalamice ridicate de 2-AG [11];
- În ischemie cerebrală focală (comparativ cu animalele simulat operate), cresc nivelurile de endocannabinoide, în cortexul cerebral ischemic: de 25 de ori pentru PEA și de 3 ori, pentru AEA (anandamidă).

Rolul SCBE de modulator inhibitor retrograd

Funcția fiziologică principală a SCBE este de neuromodulare inhibitoare retrogradă, în creierul mamiferelor. Endocannabinoidele acționează în creier, ca neuromediatori retrograzi, inhibând eliberarea sinaptică a altor mediatorii (glutamat, GABA, dopamină, noradrenalină, serotonină), prin activarea receptorilor cannabinoizi CB1 situați presinaptic în diverse sinapse. Receptorii CB1 presinaptici controlează retrograd eliberarea neurotransmițătorilor^[1,39].

Astfel, de exemplu în sinapsele glutamatergică, GABA-ergică, dopaminergică și colinergică, când crește concentrația de ion calciu în citoplasma neuronilor postsinaptici, din precursorii endocannabinoidelor biosintetizați în membrana plasmatică, se eliberează în fanta sinaptică endocannabinoide active. Endocannabinoidele eliberate acționează ca mesageri chimici retrograzi, asupra receptorilor cannabinoizi presinaptici CB1, inhibând influxul ionilor de calciu prin canalele de calciu sensibile la potențial și facilitând influxul ionilor de potasiu în celulă. Se împiedică astfel depolarizarea presinaptică, exocitoza și eliberarea în fantele sinaptice a neuromediatorilor, respectiv glutamat în cortexul cerebral, dopamină în ganglionii bazali, iar GABA și acetilcolină în hipocampus, ceea ce

afectează procese ca învățarea, mișcarea și respectiv memoria^[19] (Figura 3).

Controlul excitabilității nervoase ca rezultat al echilibrului modulării inhibitoare retrograde cannabinoide, via receptorilor presinaptici CB1, asupra sinapselor glutamatergice și GABA-ergice.

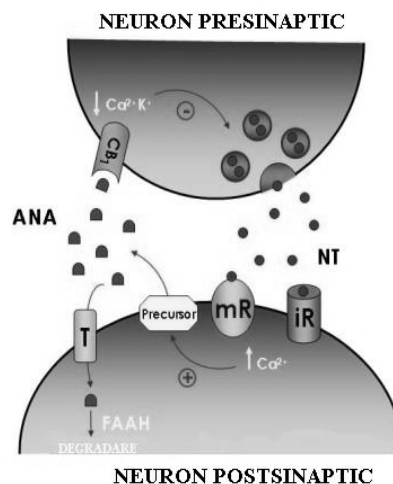


Figura 3. Rolul de modulator inhibitor retrograd al SCBE (dupa Guzman M., 2006)

Cannabis a fost utilizat în medicina tradițională, inclusiv pentru tratamentul epilepsiei.

Efectul bisens, anti- și pro-convulsivant, cunoscut al Cannabisului, este rezultatul predominanței acțiunii inhibitoare retrograde, funcție de dozele administrate, respectiv asupra eliberării glutamatului sau a GABA. Evidența acestui mecanism este susținută de cercetările realizate pe un model experimental de convulsii epileptiforme, induse la șoareci lipsiți de receptori CB1 în creierul frontal (CB1 knock-out mice)^(14,29).

Corelația SCBE cu semnalul opioid endogen

Cannabinoidele par a interacționa cu sistemul opioid endogen, pentru a modula motivația pentru ingestia de alimente și în consecință pentru a imprima natura adictivă a comportamentului de hrănire. Dovadă este antagonizarea de către naloxon (antagonist total al receptorilor opioizi) a efectului agonistilor receptorilor cannabinoizi CB1, de stimulare a preluării alimentelor gustoase (de ex. soluție de sucroză)⁽²⁾.

În plus, asocierea de naloxon (antagonist opioid) și rimonabant (antagonist al receptorilor CB1) potențează semnificativ supresia preluării de hrană.

Corelația cu semnalele glutamatergic, co-

linergic, dopaminergic, serotoninergic și noradrenergic ^[39]

Activarea receptorilor glutamatergici NMDA crește biosinteza de endocannabinoid 2-AG.

Biosinteza endocannabinoidelor AEA și PEA necesită co-activarea receptorilor colinergici, respectiv a receptorilor nicotiniци pentru AEA și a receptorilor muscarinici pentru PEA.

Hipotalamusul conține cantități ridicate de endocannabinoid și receptori CB1.

Dieta restrictivă reduce nivelurile de dopamină, serotonină și noradrenalină, în hipotalamus și hippocampus. Anandamida redresează nivelurile de dopamină și serotonină, dar nu și de noradrenalină.

Corelația cu semnalul anorexigen leptină

Leptina este una dintre adipocitokinele secretate de adipocite. Acționează la nivel hipotalamic, pentru reglarea aportului alimentar, statusului metabolic și homeostaziei energetice a organismului. Nivelul leptinei este ridicat în starea de sațietate și de sătul. Leptina crește pragul de stimulare a hipotalamusului lateral, necesar pentru antrenarea alimentării, scăzând astfel stimularea hrănirii. Leptina, scade consumul de hrană, la obezi.

Leptina scade nivelurile de cannabinoidi hipotalamici. Mecanismul este indirect, reglând negativ sinteza de anandamidă și 2-AG, în hipotalamus, la șobolani normali. La șobolani genetic obezi hiperfagici, ce prezintă semnalul leptin deficient (șobolani ob/ob și fa/fa), nivelele hipotalamice de anandamidă și 2-AG sunt înalte și descresc ca răspuns la leptină^[11,37].

Corelația cu semnalul orexină

Activarea receptorilor endocannabinoidi CB1 crește semnalul orexină, sugerând existența unei corelații între receptorii cannabinoidi și receptorii orexin (OX1r) ^[22].

Receptorii CB1 se află în co-transmisie cu semnalul orexină, în hipotalamus, la șoarece.

Medicamentul rimonabant, care este blocant al receptorilor cannabinoidi, inhibă alimentarea indusă de orexin-A.

7. Concluzii

Putem spune că, sistemul cannabinoid endogen (SCBE) este un sistem semnalizator lipidergic, identificat relativ recent și încă incomplet studiat, dar care se dovedește a fi teribil de interesant atât pentru implicațiile lui fiziopatologice, cât și pentru potențialul farmacologic.

Studiul proprietăților fiziopatologice ale cannabinoidelor (fito- și endocannabinoid) a generat până în prezent, numeroase dezbateri cu o conotație științifică, socială și clinică, raportată la potențiala utilizare în terapeutică. Reiese clar, că utilizarea în farmacoterapeutică a agoniștilor, antagoniștilor sau a modulatorilor enzimatici ai SCBE trebuie să depindă de o cunoaștere completă și profundă a acestui sistem semnalizator atât de complex și contradictoriu, din punct de vedere al implicațiilor fiziologice și patologice.

Atenția acordată studiului SCBE continuă, locul rezervat receptorilor cannabinoidi în cercetarea farmacologică fiind în continuă creștere. În ultimii 15 ani, au fost realizate progrese remarcabile în cunoașterea și înțelegerea SCBE, a implicațiilor fiziopatologice și potențialului farmacoterapeutic. Cu toate acestea, numeroase aspecte mai sunt de elucidat în viitor. Desigur, cercetările vor continua și în viitor vom cunoaște mult mai multe aspecte despre acest sistem care poate fi considerat ca fiind „dăruit de zei”.

BIBLIOGRAFIE

1. **Alger BE.** Retrograde signaling in the regulation of synaptic transmission: focus on endocannabinoids. *Prog Neurobiol.* 2002;68:247-286
2. **Allen KV, McGregor IS, Hunt GE, Singh ME, Mallet PE.** Regional differences in naloxone modulation of Delta(9)-THC induced Fos expression in rat brain. *Neuropharmacology.* 2003;44 (2):264-74
3. **Buckley NE, McCoy KL, Mezey E, et al.** Immunomodulation by cannabinoids is absent in mice deficient for the cannabinoid CB(2) receptor. *Eur J Pharmacol.* 2000;396:141-149
4. **Cota D, Marsicano G, Tschop M, Grubler Y, Flachskamm C, Schubert M, Auer D, Yassouridis A, Thone-Reineke C, Ortman S, Tomassoni F, Cervino C, Nisoli E, Linthorst AC, Pasquali R, Lutz B, Stalla GK, Pagotto U.** The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J Clin Invest.* 2003 Aug;112(3):423-31
5. **Cravatt BE, Lichtman AH.** The endogenous cannabinoid system and its role in nociceptive behavior. *J Neurobiol.* 2004; 61:149-160
6. **De Petrocellis L, Melck D, Bisogno T, Milone A, Di Marzo V.** Finding of the endocannabinoid signalling system in Hydra, a very primitive organism: possible role in the feeding response. *Neuroscience.* 1999;92(1):377-87
7. **Deutsch DG, ChinSA.** Enzymatic synthesis and degradation of anandamide, a cannabinoid receptor agonist, *Biochem Pharmacol.* 1993;46:791-796
8. **Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R.** Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science.*

1992;258(5090):1946-1949

9. **Di Marzo V** Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. *Trends Neurosci* 1998;21:521-28
10. **Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, et al.** Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature*. 1994;372:686-691.
11. **Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L, Liu J, Batkai S, Jarai Z, Fezza F, Miura GI, Palmiter RD, Sugiura T, Kunos G.** Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature*. 2001;410(6830):822-5
12. **Di Marzo V, Matias I.** Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat Neurosci*. 2005;8:585-89
13. **Felder CC, Joyce KE, Briley EM, et al.** Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol Pharmacol*. 1995;48:443-450.
14. **Fortin DA, Levine ES.** Differential effects of endocannabinoids on glutamatergic and GABAergic inputs to layer 5 pyramidal neurons. *Cereb. Cortex* 2007;17 (1): 163-74
15. **Fowler CJ.** Plant-derived, synthetic and endogenous cannabinoids as neuroprotective agents. Non-psychoactive cannabinoids, 'entourage' compounds and inhibitors of N-acyl ethanolamine breakdown as therapeutic strategies to avoid psychotropic effects. *Brain Res Rev*. 2003;41(1):26-43
16. **Freund TE, Katona I, Piomelli D.** Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev*. 2003;83:1017-1066.
17. **Fride E, Bregman T, Kirkham TC.** Endocannabinoids and Food Intake: Newborn Suckling and Appetite Regulation in Adulthood. *Experim Biology and Medicine*. 2005; 230:225-234
18. **Fu J, Gaetani S, Oveisi F, Lo Verme J, Serrano A, Rodríguez De Fonseca F, Rosengarth A, Luecke H, Di Giacomo B, Tarzia G, Piomelli D.** Oleylethanolamide regulates feeding and body weight through activation of the nuclear receptor PPAR-alpha. *Nature*. 2003;425(6953):90-3
19. **Guzmán M.,** Cannabinoides: del laboratorio a la clínica. *Biojournal.net*, 2006;4
20. **Hall W, Solowij N.** Adverse effects of cannabis. *Lancet*. 1998;352:1611-1616.
21. **Hickman M, Vickerman P, Macleod J, Kirkbride J, Jones BP.** Cannabis and schizophrenia: model projections of the impact of the rise in cannabis use on historical and future trends in schizophrenia in England and Wales. *Addiction J*. 2007;102 (4), 597-606.
22. **Hilairt S, Bouaboula M, Carrière D, Le Fur G, Casellas P.** Hypersensitization of the Orexin 1 receptor by the CB1 receptor: evidence for cross-talk blocked by the specific CB1 antagonist, SR141716. *J Biol Chem*. 2003;278(26):23731-7
23. **Howlett AC, Breivogel CS, Childers SR, Deadwyler SA, Hampson RE, Porrino LJ.** Cannabinoids physiology and pharmacology: 30 years of progress. *Neuropharmacology* 2004;47 Suppl 1:345-358
24. **Jamshidi N, Taylor DA.** Anandamide administration into the ventromedial hypothalamus stimulates appetite in rats. *Br J Pharmacol*. 2001;134(6):1151-4
25. **Jiang W, Zhang Y, Xiao L.** Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects. *J. Clin. Invest*. 2005 ;115 (11): 3104-16.
26. **Jin K, Xie L, Kim SH.** Defective adult neurogenesis in CB1 cannabinoid receptor knockout mice. *Mol Pharmacol*. 2004;66:204-208.
27. **Kirkham TC, Williams CM, Fezza F, Di Marzo V.** Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *Br J Pharmacol*. 2002;136(4):550-7
28. **Klein T.W, Newton C., Larsen K., Lu L, Perkins I., Nong L., Friedman H.** The cannabinoid system and immune modulation. *J. Leukoc Biol*. 2003; 74(4):488-496
29. **Lutz B.** On-demand activation of the endocannabinoid system in the control of neuronal excitability and epileptiform seizures. *Biochem pharmacol*. 2004;68 (9):1691-1698
30. **Mackie K and Nephi S.** Cannabinoid receptors and endocannabinoids: Evidence for new players. *AAPS (American Assoc of Pharm Scientists) Journal* 2006;8 (2):298-306
31. **Marsicano G, Goodenough S, Monory K, et al.** CB1 cannabinoid receptors and on-demand defense against excitotoxicity. *Science*. 2003;302:84-88
32. **Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young CA, Bonner TL.** Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990;346(6284):561-564
33. **McKallip RJ, Lombard C, Martin BR, Nagarkatti M, Nagarkatti PS.** Delta(9)-tetrahydrocannabinol-induced apoptosis in the thymus and spleen as a mechanism of immunosuppression in vitro and in vivo. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002;302:451-465
34. **Mechoulam R, Fride E, Di Marzo V.** Endocannabinoids. *Eur J Pharmacol*. 1998;359:1-18
35. **Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M.** Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 1993;365(6441):61-65
36. **Piomelli D.** The molecular logic of endocannabinoid signaling. *Nat Rev Neurosci*. 2003;4(11):873-884
37. **Ravinet Trillou C, Delgorge C, Menet C, Arnone M, Soubrie P.** CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28(4):640-8
38. **Richardson JD, Kilo S, Hargreaves KM.** Cannabinoids reduce hyperalgesia and inflammation via interaction with peripheral CB1 receptors. *Pain*. 1998;75:111-119
39. **Schlicker E, Kathmann M.** Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends Pharmacol Sci*. 2001 Nov;22(11):565-72
40. **Wilson RI, Nicholl RA.** Endocannabinoid signaling in the brain. *Science* 2002;296:678-82.