

Received: 2005.02.22
Accepted: 2005.04.25
Published: 2005.05.19

Wpływ anandamidu, endogennego agonisty receptorów kannabinoidowych na układ krążenia

Influence of anandamide, the endogenous agonist of cannabinoid receptors on the circulatory system

Grzegorz Kwolek, Agnieszka Zakrzaska, Hanna Kozłowska, Barbara Malinowska

Zakład Fizjologii Doświadczalnej Akademii Medycznej w Białymstoku

Streszczenie

Kannabinoidy – substancje pochodzące z konopii indyjskich są używane przez człowieka jako środki halucynogenne i lecznicze od tysięcy lat. Związki te działają za pośrednictwem receptorów kannabinoidowych CB₁ i CB₂. Wykrycie w ostatniej dekadzie ub.w. endogennych kannabinoidów u człowieka i różnych gatunków zwierząt oraz to, że odgrywają one istotną rolę w patomechanizmie hipotensji związanej z szokiem krwotocznym, septycznym, zawałem mięśnia sercowego oraz marskością wątroby dowodzi, że związki te wykazują daleko szersze właściwości niż do tej pory przypuszczano. Anandamid jest pierwszym endogennym agonistą receptorów kannabinoidowych. U zwierząt doświadczalnych jego dożylna iniekcja prowadzi do charakterystycznej trójfazowej odpowiedzi ze strony układu krążenia. Faza I – krótkotrwała bradykardia i hipotensja zależy od aktywacji receptorów waniloidowych TRPV1. Faza II – wzrost ciśnienia krwi, ma charakter złożony i składa się z komponenty ośrodkowej (umiejscowionej prawdopodobnie w obszarze brzuszno-bocznym rdzenia przedłużonego) oraz z zależnej od jonów wapnia, komponenty naczyniowej. Faza III – przedłużona hipotensja i niekiedy bradykardia jest związana z pobudzeniem receptorów kannabinoidowych CB₁ i waniloidowych TRPV1.

W pracy – w oparciu o trójfazowy mechanizm działania anandamidu – szczegółowo opisano udział tego endogennego ligandu w fizjologii i patologii układu krążenia oraz przedstawiono perspektywy wykorzystania kannabinoidów jako nowej grupy leków w terapii niektórych chorób.

Słowa kluczowe:

anandamid • endokannabinoidy • receptor kannabinoidowy CB₁ • receptor waniloidowy VR1/TRPV1 • odruch Bezolda-Jarisha

Summary

Cannabinoids, the active ingredients of *Cannabis sativa*, have been used by humans as hallucinogens and therapeutic agents for thousands of years. These agents are now known to act through the cannabinoid CB₁ and CB₂ receptors. The recent discovery of endogenous cannabinoids and the fact that they are involved in the pathology of hypotension associated with hemorrhage, sepsis, cirrhosis, and myocardial infarction indicate that cannabinoids play a greater role in human and animal pathophysiology than initially anticipated. Anandamide is the first of the endogenous cannabinoid ligands discovered. Its intravenous administration produces a characteristic three-phase response in the circulatory systems of experimental animals: In phase 1 – a short-lasting decrease in heart rate and systemic blood pressure is related to activation of vanilloid TRPV1 receptors. In phase 2 an increase in blood pressure involves multiple mechanisms, both central (probably through the rostral ventrolateral medulla) and peripheral (vascular, Ca²⁺-dependent). In phase 3 there is a prolonged decrease in blood pressure and sometimes bradycardia, related

to the activation of cannabinoid CB₁ and vanilloid TRPV1 receptors. On the basis of this three-phase mechanism, the present paper intends to describe the participation of anandamide in the circulatory system under physiological and pathophysiological conditions. It also discusses the possibility of applying cannabinoid ligands as new therapeutic agents for the treatment of some pathologies.

Key words: anandamide • endocannabinoids • cannabinoid CB₁ receptor • vanilloid VR1/TRPV1 receptor • Bezold-Jarisch reflex

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_59/7476.pdf

Word count: 4855

Tables: –

Figures: 4

References: 93

Adres autora/ autorki: dr n. farm. Grzegorz Kwolek, Zakład Fizjologii Doświadczalnej AM, ul. Mickiewicza, 15-089 Białystok;
e-mail: gkwolek@amb.edu.pl

Wykaz skrótów: **2-AG** – 2-arachidonylglicerol; **Δ⁹-THC** – Δ⁹-tetrahydrokannabinol; **CGRP** – peptyd pochodny genu kalcytoninowego; **EDHF** – śródbłonkowy czynnik hiperpolaryzujący; **FAAH** – hydrolaza amidowa kwasów tłuszczowych; **L-NAME** – ester metylowy N^ω-nitro-L-argininy; **LPS** – lipopolisacharyd błon komórkowych *Escherichia coli*; **NMDA** – N-metylo-D-asparaginy; **o.u.n.** – ośrodkowy układ nerwowy; **RVLm** – brzuszno-boczny obszar rdzenia przedłużonego

WSTĘP

Dla współczesnego człowieka kannabinoidy są synonimem marihuany i haszyszu, produktów tak bardzo pożądanym przez niektóre grupy subkulturowe ze względu na swe narkotyczne właściwości. Mało kto jednak zdaje sobie sprawę, że związki te od tysiącleci stosowane były w medycynie jako dość skuteczny środek w leczeniu malarii, jaskry, zaparc, nadciśnienia, astmy oskrzelowej, a także bólów reumatycznych i porodowych. Za te właściwości odpowiedzialny jest główny składnik konopi, Δ⁹-tetrahydrokannabinol (Δ⁹-THC; rycina 1), chociaż oprócz niego występuje tam ponad sześćdziesiąt innych słabiej działających fitokannabinoidów [25].

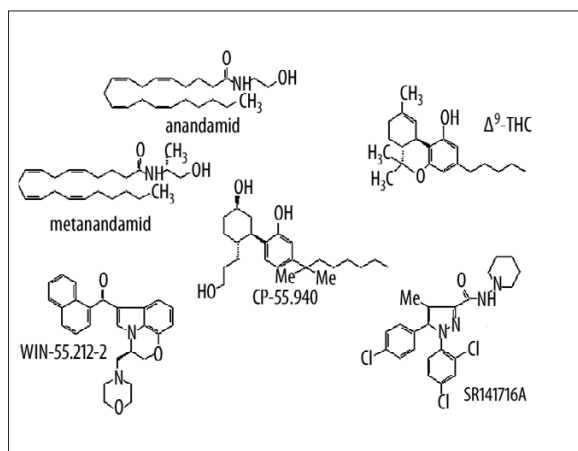
Kannabinoidy oddziałują na organizm za pośrednictwem sprzężonych ujemnie z białkiem Gi/o dwóch, sklonowanych ponad 10 lat temu, typów receptorów kannabinoidowych CB₁ [51] i CB₂ [54]. Receptory kannabinoidowe CB₁ są umiejscowione głównie presynaptycznie na powierzchni neuronów ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego, a ich pobudzenie prowadzi do zahamowania uwalniania wielu neuroprzekazników, tj. acetylocholiny, noradrenaliny, dopaminy, serotoniny, glutaminianu, kwasu γ-aminomasłowego [75]. Ich dużą gęstość wykazano w układzie limbicznym, hipokampie i korze mózgowej, strukturach odpowiedzialnych za funkcje poznawcze, co tłumaczy właściwości narkotyczne kannabinoidów. Receptory kannabinoidowe CB₂ występują głównie na powierzchni komórek układu odpornościowego, w szczególności limfocytów typu B, makrofagów i monocytów. Ich aktywacja prowadzi do zahamowania uwalniania prozapalnych i zwiększenia uwalniania przeciwzapalnych cytokin [3].

Niespełna dwanaście lat temu okazało się, że kannabinoidy nie są unikatową cechą świata roślinnego, ale występują

również w organizmach zwierzęcych. Spośród pięciu do tej pory zidentyfikowanych endokannabinoidów (ich dokładny opis można znaleźć w pracy poglądowej [25]), najlepiej poznano wyizolowany po raz pierwszy z mózgu świni anandamid (rycina 1; [11]). Jego nazwa pochodzi od staroindyjskiego słowa „ananda” oznaczającego błogość. Z czasem udowodniono, że związek ten jest wytwarzany nie tylko przez neurony ośrodkowego układu nerwowego, ale również przez tkanki obwodowe różnych gatunków zwierząt. U człowieka jego obecność wykazano m.in. w mózgu, śledzionie, sercu, osoczu, płynie mózgowo-rdzeniowym [14] oraz monocytach i płytkach krwi [85]. Zainteresowanie endogennymi kannabinoidami znacznie wzrosło w ostatnich latach, kiedy okazało się, że stężenie anandamidu w osoczu krwi gwałtownie wzrasta w niektórych stanach patologicznych, tj. w szoku septycznym, krwotocznym, zawałe mięśnia sercowego oraz marskości wątroby (dokładne omówienie w końcowych rozdziałach).

WPŁYW KANNABINOIDÓW NA UKŁAD KRAŻENIA

Kannabinoidy oprócz powszechnie znanych właściwości psychodysleptycznych, wywołują istotne zmiany w funkcjonowaniu układu krążenia. U człowieka, zarówno jednorazowe zapalenie skrzeta z marihuany, jak i dożylnie podanie czystego Δ⁹-THC, powoduje znaczną tachykardię oraz umiarkowany wzrost ciśnienia krwi u osób pozostających w pozycji stojącej. Czasami dochodzi również do hipotensji ortostatycznej [35]. Z kolei wielokrotna ekspozycja na kannabinoidy prowadzi do obniżenia częstości akcji serca i ciśnienia krwi oraz zaniku hipotensji ortostatycznej. Jest to związane z zahamowaniem ośrodkowych nerwów współczulnych i wzrostem aktywności układu parasympatycznego [31]. Z czasem rozwija się tolerancja charakteryzująca się całkowitą niewrażliwością układu krążenia na kannabinoidy.

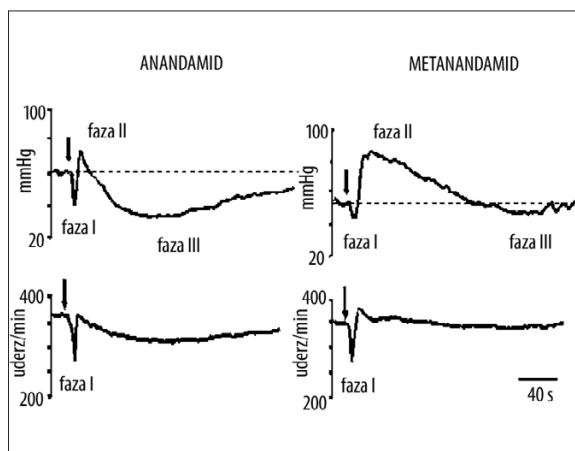


Ryc. 1. Wzory strukturalne najczęściej stosowanych ligandów receptorów kannabinoidowych

Wpływ anandamidu na układ krążenia jest najczęściej badany u szczurów uśpionych za pomocą uretanu [38,39,40,49,79,80]. Jak przedstawiono na rycinie 2, dożylnie podanie tego związku prowadzi do nagłego, trwającego kilka sekund obniżenia częstości akcji serca, któremu towarzyszy również gwałtowny spadek ciśnienia krwi (faza I). Następnie częstość akcji serca wraca do wartości wyjściowych, a ciśnienie krwi istotnie wzrasta (faza II). Na końcu obserwuje się długotrwałą hipotensję (faza III) i niekiedy bradykardię. W fazie tej stwierdzono także spadek całkowitego oporu obwodowego oraz spadek oporu w tętnicy krezkowej, a także kompensacyjny wzrost pojemności minutowej serca i wzrost ciśnienia i przepływu krwi w żyłę wrotną [17].

Anandamid jest związkiem nietrwałym, ulegającym degradacji pod wpływem hydrolazy amidowej kwasów tłuszczowych (FAAH) do kwasu arachidonowego [64]. Dlatego też w wielu pracach sugeruje się, że to nie anandamid, lecz jego metabolity wywierają tak różnorodny wpływ na układ krążenia. Chociaż nie można całkowicie wykluczyć takiej możliwości pewnym jest, że obserwowana trójfazowa odpowiedź układu krążenia jest związana z działaniem samego anandamidu a nie jego metabolitów, bowiem jak można porównać na rycinie 2, podobne zmiany ciśnienia krwi i częstości akcji serca obserwowane były po dożylniej iniekcji metanandamidu, odpornego na działanie enzymów hydrolitycznych analogu anandamidu [49].

W przeciwieństwie do anandamidu wpływ innych kannabinoidów na układ krążenia nie jest tak złożony. U szczurów uśpionych uretanem dożylna iniekcja Δ⁹-THC prowadzi do powstania fazy II i III, a syntetycznych, przedstawionych na ryc. 2 kannabinoidów (WIN-55.212-2, CP-55.940) jedynie do długotrwałej hipotensji i bradykardii (faza III; [39]). Wpływ kannabinoidów na ciśnienie krwi zależy w dużej mierze od ich podania (porównanie ich podania ośrodkowego i obwodowego przedstawiono w dalszej części pracy), rodzaju anestezji oraz stężenia samej substancji czynnej. Okazało się bowiem, że u szczurów uśpionych pentobarbitem anandamid powodował jedynie odpowiedź hipotensyjną [61]. Z kolei dawki WIN-55.212-2 wywołujące spadek ciśnienia krwi u szczurów uśpionych uretanem [39] istotnie podnosiły ciśnienie krwi u szczurów [19] i króli-



Ryc. 2. Oryginalne zapisy przedstawiające zmiany ciśnienia krwi (dwie górne ryciny) i częstości akcji serca (dwie dolne ryciny) wywołane dożylnym podaniem anandamidu w dawce 1 mg/kg m.c. oraz metanandamidu w dawce 0,2 mg/kg m.c. u szczurów uśpionych uretanem. Strzałki wskazują moment podania substancji. uderz – uderzenia

ków [58] czuwających. Co ciekawe, dożylna iniekcja małych dawek anandamidu (75-1250 µg/kg m.c.) wywoływała wzrost, a dużych dawek (2,5 mg/kg m.c.) spadek ciśnienia krwi u szczurów czuwających [18].

MECHANIZM FAZY I

Nagły spadek częstości akcji serca i ciśnienia krwi zachodzący pod wpływem dożylniej iniekcji anandamidu i metanandamidu (faza I) nie zależy od układu kannabinergicznego. Po pierwsze, nie dochodziło do niego po dożylnym podaniu innych, zarówno naturalnych (np. Δ⁹-THC), jak i syntetycznych (np. WIN-55.212-2, CP-55.940) kannabinoidów [39]. Po drugie, powyższy efekt nie był modyfikowany przez najczęściej stosowanego i przedstawionego na ryc. 2 antagonistę receptora kannabinoidowego CB₁, SR 141716A [49,80]. Faza ta ma niewątpliwie charakter odruchowy bowiem przecięcie nerwów błędnych lub podanie metyloatropiny całkowicie ją hamowało [38,80]. Ponadto zanikała ona u szczurów, u których wykonano uprzednio zabieg odnerwienia baroreceptorów [79].

W 1999 r. ukazała się praca, w której wykazano, że anandamid rozszerzał izolowane tętnice krezkową i wątrobową szczura oraz główną świnki morskiej za pośrednictwem receptorów waniloidowych VR1 [93] (nazywanymi wg najnowszej nomenklatury receptorami TRPV1 [22]). Działanie to było hamowane przez kapsazepinę, czerwień rutenową (odpowiednio swoistego i nieswoistego antagonistę tych receptorów), wcześniejszą inkubację w obecności kapsaicyny (odczulanie) oraz przez antagonistę receptora peptydu pochodnego genu kalcytoninowego (CGRP), 8-37CGRP, a nie przez SR 141716A. To pionierskie spostrzeżenie wskazujące, że anandamid jest endogennym agonistą receptorów waniloidowych TRPV1 zostało potwierdzone w latach późniejszych w doświadczeniach przeprowadzonych na izolowanych narządach krwionośnych, w tym także z zastosowaniem metanandamidu [24,68]. Brak działania relaksującego endogennego kannabinoidu nie stwierdzono natomiast w tętnicach krezkowych izolo-

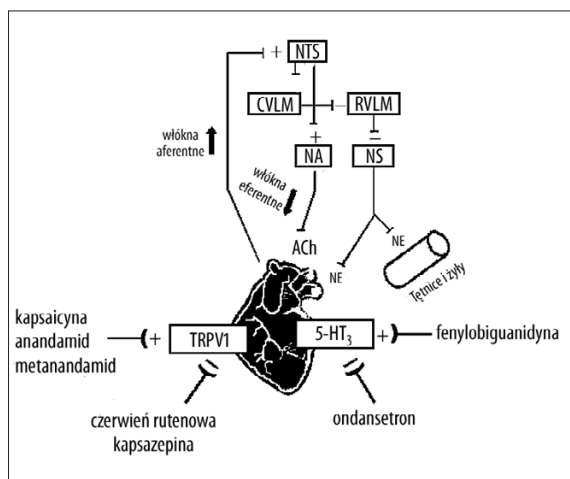
wanych od myszy transgenicznych pozbawionych receptorów TRPV1 [27], jednoznacznie potwierdził udział receptorów waniloidowych. Nadal pozostało jednak pytanie czy anandamid jest zdolny do pobudzenia tych receptorów w warunkach *in vivo*? Dożylnie podanie szczurom uspiornym uretanem egzogenne go agonisty receptorów waniloidowych TRPV1 kapsaicyny prowadziło do podobnego do anadamidu odruchowego nagłego spadku częstości akcji serca i ciśnienia krwi, znanego jako odruch Bezolda-Jarisha [48]. Istniało więc prawdopodobieństwo, że mechanizm fazy I jest związany z aktywacją receptorów waniloidowych TRPV1. Jak przedstawiono na rycinie 3, do odruchu Bezolda-Jarisha może dojść w wyniku aktywacji umiejscowionych w sercu na dośrodkowych włóknach czuciowych nerwu błędnego receptorów:

- (1) waniloidowych TRPV1 pobudzanych przez kapsaicynę a blokowanych przez antagonistów tych receptorów swoistego kapsazepinę i nieswoistego czerwien rutenową oraz
- (2) serotoninowych 5-HT₃ pobudzanych np. przez serotoninę lub fenylbiguanidynę, a blokowanych np. przez ondansetron. Antagoniści receptorów 5-HT₃ nie modyfikują przy tym odpowiedzi zachodzącej za pośrednictwem receptorów TRPV1 (literatura w [49]). Można więc przyjąć, że stymulowany kapsaicyną odruch Bezolda-Jarisch'a jest dogodnym modelem do badania obwodowych receptorów waniloidowych TRPV1.

W doświadczeniach przeprowadzonych na szczurach uśpionych uretanem wykazano, że odruchowa bradykardia i hipotensja wywołana podaniem kapsaicyny i anandamidu były hamowane w sposób zależny od dawki przez kapsazepinę i czerwienń rutenową [49]. Uzyskane wyniki wykazały więc jednoznacznie, że:

- zachodząca pod wpływem anandamidu faza I rzeczywistości zachodzi w wyniku pobudzenia receptorów waniloidowych TRPV1;
- endogenne kannabinoidy mogą wpływać poprzez pobudzenie receptorów waniloidowych także w warunkach *in vivo*.

Powyższe pionierskie wyniki zostały potwierdzone przez inne grupy badawcze. W warunkach *in vitro* wykazano, że zarówno kapsaicyna jak i anandamid wywoływały zależną od kapsazepiny, a nie od antagonistów receptorów kannabinoidowych CB₁ i CB₂ (odpowiednio SR 141716A i SR 144528), aktywację izolowanego nerwu błędnego świnki morskiej i trójdzielonego myszy [32,73]. W doświadczeniach *in vivo* udowodniono z kolei, że dożylna iniekcja obu związków bezpośrednio w okolicę prawego przedsiönka szczurom uśpionym uretanem powodowała odruchowy bezdech połączony ze spadkiem częstości akcji serca, ciśnienia krwi oraz wzrostem wyładowań elektrycznych w czuciowych włóknach typu C obszaru płucnego. Wymienione wyżej reakcje były hamowane przez kapsazepinę, a nie przez antagonistę receptorów CB₁ AM 281 [44]. Ponadto wcześniejsza iniekcja dużych dawek kapsaicyny, rutynowo stosowanej do niszczenia lub blokowania przewodnictwa we włóknach czuciowych (tzw. odczulenie) hamowała fazę I wywołaną przez oba związki [77]. Tak więc wyniki te jednoznacznie wskazują na zaangażowanie receptorów waniloidowych TRPV1 w mechanizm odruchowej bradykardii i hipotensji indukowanej anandamidem.



Ryc. 3. Schemat odruchu Bezolda-Jarisha i jego modyfikacje przez ligandy receptorów waniloidowych TRPV1 i serotoninowych 5-HT₃; NTS – jądro pasma samotnego, CVLM – doogonowy brzuszno-boczny obszar rdzenia przedłużonego, RVLM – dogłówny brzuszno-boczny obszar rdzenia przedłużonego, NS – włókna współczulne, NA – jądro dwuznaczne. NE – noradrenalina, Ach – acetylcholina

midem. Ostatecznego dowodu, potwierdzającego powyższy wniosek dostarczyły doświadczenia wykonane na myszach transgenicznych pozbawionych receptorów TRPV1, u których nie stwierdzono odruchowej bradykardii i hipotensji po podaniu anandamidu [61].

Na uwagę zasługuje to, że odruchowy, wrażliwy na atropinę, spadek częstości akcji serca i ciśnienia krwi pod wpływem dożylniej iniekcji anandamidu, zaobserwowano także u szczurów czuwających. Choć nie zostało to jednoznacznie udowodnione, to i w tym przypadku należy brać pod uwagę potencjalny udział receptorów waniłoidowych TRPV1, gdyż odpowiedź ta nie była modyfikowana przez antagonistów receptorów kannabinoidowych CB₁ i serotonininowych 5-HT, odpowiednio AM 251 i azasetron [18].

MECHANIZM FAZY II

Dotąd najwięcej trudności sprawia wyjaśnienie mechanizmów odpowiedzialnych za indukowany anandamidem wzrost ciśnienia krwi. Bez wątpienia w odpowiedzi presyjnej wywołanej dożylnym podaniem anandamidu można wykluczyć udział układu kannabinergicznego, ponieważ faza II nie była modulowana przez antagonistę receptorów kannabinoidowych SR 141716A [49,80]. Nie stwierdzono także jej występowania po podaniu syntetycznych agonistów receptorów kannabinoidowych (np. WIN-55,212-2 czy CP-55,940; [39]). Odpowiedź presyjna nie ma również charakteru odruchowego, gdyż obustronna wagotomia, podanie metylofetyny [38,80] czy odnervienie baroreceptorów [79] nie wpływały na jej przebieg.

Wszystkie pozostałe spostrzeżenia dotyczące mechanizmu(-ów) odpowiedzialnych za powstawanie fazy II nie spotkały się z tak jednoznaczną akceptacją. Wynika to z dwóch powodów: po pierwsze, jak wykazały najnowsze badania, faza ta zależna jest od dwóch mechanizmów – ośrodkowego i obwodowego [38]; po drugie, dożylna iniekcja anand-

midu prowadzi do złożonej trójfazowej odpowiedzi układu krążenia. Te współistniejące ze sobą fazy o przeciwnych kierunkach (I i III – spadek, II – wzrost ciśnienia krwi), wzajemnie na siebie oddziałują. Jak zaobserwowaliśmy w naszych badaniach (dokładny opis w dalszej części pracy; [38]), zmiana amplitudy jednej z faz przyczynia się automatycznie do przeciwstawnej zmiany w wielkości fazy skierowanej w drugą stronę (np. wzrost lub spadek fazy III powodują odpowiednio spadek lub wzrost fazy II).

Niewątpliwie bardzo trudna do wyjaśnienia wydaje się np. rola układu współczulnego w mechanizmie odpowiedzialnym za powstawanie fazy II. Z jednej strony bowiem odpowiedź presyjna nie ulegała zmianie u szczurów odrdzienionych [38] lub po przecięciu rdzenia kręgowego na wysokości kręgów szyjnych [80]. Nie była ona także modyfikowana pod wpływem związku sympatolitycznego guanetydyny [38] lub nieswoistego antagonisty receptorów α_1 -/ α_2 -adrenergicznych fentolaminy [80] – substancji, które hamowały zależną od układu współczulnego fazę III. Powyższe doświadczenia wskazują jednoznacznie na obwodowo umiejscowiony punkt uchwytu działania anandamidu. Jednak z drugiej strony wykazano, że wzrostowi ciśnienia krwi wywołanemu podaniem tego związku towarzyszyło przejściowe nasilenie aktywności neuronów w obszarze brzuszno-bocznym rdzenia przedłużonego (RVLM), strukturze odpowiedzialnej za toniczną aktywność układu współczulnego oraz wzrost aktywności włókien współczulnych nerwu trzewnego [79]. Okazało się także, że nieswoisty antagonist receptorów β_1 - β_2 -adrenergicznych propranolol oraz antagonist receptorów NMDA związek MK-801 hamowały – za pośrednictwem niezidentyfikowanych do chwili obecnej ośrodkowych mechanizmów – indukowany anandamidem wzrost ciśnienia krwi. Do zahamowania fazy II przez obydwie związki dochodziło bowiem jedynie u szczurów z zachowanym rdzeniem kręgowym, a nie stwierdzano takiego efektu u zwierząt odrdzienionych [38]. Biorąc pod uwagę, że dożylnie podanie propranololu prowadziło do osłabienia uwalniania glutamianu w RVLM szczurów uśpionych uretanem [60], a anandamid aktywował receptory NMDA w o.u.n. [23], można przyjąć, że istnieje duże prawdopodobieństwo oddziaływania anandamidu za pośrednictwem RVLM.

Rozważając omówione wyżej ośrodkowe działanie anandamidu, powstaje pytanie dlaczego faza presyjna obserwowana była nadal po uprzednim zastosowaniu związków sympatolitycznych (a po dożylniej iniekcji fentolaminy wystąpiło nawet jej nasilenie) bądź po przecięciu lub zniszczeniu rdzenia kręgowego? Niewątpliwie w tym przypadku obserwowana jest składowa obwodowa, a efekt ten jest wyraźny, gdyż wymienione na wstępie związki bądź procedury znoszą lub istotnie hamują działające w przeciwną stronę fazy I i III. Przykładem obwodowego działania anandamidu jest m.in. niewrażliwość na antagonist receptorów kannabinoidowych CB₁ AM 251, wyraźna odpowiedź presyjna u szczurów czuwających połączona ze wzrostem oporu w tętnicy krezkowej, nerkowej oraz łożysku naczyniowym tylnej kończyny [18]. Podobne działanie zanotowano u szczurów uśpionych pentobarbitem, u których dochodziło do wzrostu oporu łożyska naczyniowego śledziony po podaniu anandamidu [17].

Jak wykazaliśmy w naszym laboratorium [38] składowa obwodowa wzrostu ciśnienia krwi jest prawdopodobnie zwią-

zana z permissyjnym działaniem anandamidu na kanały wapniowe umiejscowione w mięśniówce naczyń krwionośnych. Zarówno u szczurów uśpionych uretanem jak i odrdzienionych dochodziło bowiem do zahamowania fazy presyjnej po dożylnym podaniu nifedypiny, czerwieni rutenowej oraz pentobarbitalu – związków blokujących kanały wapniowe typu L. Podsumowując, według najnowszych badań [38], złożony mechanizm odpowiedzialny za indukowany anandamidem wzrost ciśnienia krwi składa się z:

- wrażliwej na propranolol i MK-801 komponenty ośrodkowej, prawdopodobnie umiejscowionej w RVLM oraz
- wrażliwej na nifedypinę, pentobarbital i czerwień rutenową, zależnej od jonów wapnia, komponenty naczyniowej.

Nie można przy tym wykluczyć hipotezy, że anandamid działa za pośrednictwem obwodowo umiejscowionych receptorów waniloidowych. Podobnie jak faza I (odruchowa bradykardia i hipotensja) również faza II indukowana była bowiem nie tylko przez dożylną iniekcję anandamidu, ale także przez agonistę receptorów waniloidowych TRPV1 kapsaicynę [12,49]. Poza tym u myszy transgenicznych pozbawionych tych receptorów dochodziło do istotnej redukcji bądź zniesienia fazy presyjnej indukowanej podaniem anandamidu i kapsaicyny [61]. Jednak wzrost ciśnienia krwi po podaniu endogennego kannabinoidu u szczurów uśpionych uretanem był zahamowany przez czerwień rutenową, a nie przez swoistego antagonistę tych receptorów kapsazepinę [38]. Istnieje jednak prawdopodobieństwo potencjalnego udziału innego typu receptorów waniloidowych w działaniu presyjnym anandamidu. Byłoby to zgodne z hipotezą zaproponowaną przez naukowców z Australii, którzy oceniali zużycie tlenu oraz przepływ krwi przez naczynia krwionośne mięśni szkieletowych tylnej kończyny szczura. W przeprowadzonych doświadczeniach stwierdzono, że mniejsze stężenia kapsaicyny nasilają, a większe hamują zużycie tlenu, czemu w obydwu przypadkach towarzyszył wzrost ciśnienia perfuzyjnego [8,21]. Na podstawie powyższych wyników autorzy ci zaproponowali istnienie dwóch typów receptora waniloidowego nazwanych przez nich VN₁ i VN₂. Co ciekawe, wrażliwy na kapsaicynę receptor VN₁ był hamowany przez kapsazepinę. Natomiast receptor VN₂ charakteryzował się niewielkim powinowactwem zarówno do kapsaicyny jak i kapsazepiny. Wykazywał natomiast wyjątkowo dużą wrażliwość na działanie czerwieni rutenowej. Taka charakterystyka odpowiada receptorom VRL-1 i VRL-2 opisanym w najnowszej klasyfikacji receptorów waniloidowych [22].

MECHANIZM FAZY III

Najwięcej publikacji ukazało się na temat długotrwałej hipotensji wywołanej podaniem anandamidu. Niewątpliwie faza ta jest związana z pobudzeniem receptorów kannabinoidowych CB₁. Przemawia za tym wiele faktów, potwierdzonych eksperymentalnie zarówno w warunkach *in vivo* jak i *in vitro*. Przede wszystkim wykazano, że zarówno anandamid, jak i syntetyczne kannabinoidy nie wywoływały fazy depresyjnej u myszy transgenicznych pozbawionych receptorów kannabinoidowych CB₁ [29,41], a SR 141716A w sposób zależny od dawki hamował stymulowane przez te związki długotrwałą hipotensję oraz spadek oporu obwodowego w tętnicy krezkowej u uśpionych szczurów [17,40,80].

Gdzie są umiejscowione receptory CB_1 odpowiedzialne za długotrwały spadek ciśnienia krwi? Niewątpliwie zaangażowany jest tu układ współczulny, bowiem zarówno fentolamina, guanetydyna jak i przecięcie rdzenia kręgowego na wysokości kręgów szyjnych całkowicie znosiły efekt przedłużonego spadku ciśnienia krwi [38,80]. Faza III nie występowała również u odrzniętych szczurów [47] i królików [58]. Ponadto odpowiedź ta obserwowana była u zwierząt z nasiloną aktywnością układu współczulnego (uśpione i czuwające szczury z nadciśnieniem samoistnym). Nie zanotowano jej natomiast u normotensyjnych szczurów czuwających [18,19,40].

Receptory kannabinoidowe CB_1 są umiejscowione zarówno w ośrodkowej, jak i obwodowej części układu współczulnego, a budowa chemiczna ligandów kannabinoidowych umożliwia im przechodzenie przez barierę krew-mózg. Powstało więc pytanie, która część układu autonomicznego, ośrodkowa czy obwodowa jest odpowiedzialna za długotrwały spadek ciśnienia krwi? Jak się okazało jest to zależne od gatunku badanego zwierzęcia. Nie stwierdzono żadnych zmian w parametrach układu krążenia po dokomorowym podaniu Δ^9 -THC bądź anandamidu odpowiednio uśpionym kotom [82] i szczurom [79] lub WIN-55.212-2 do jądra pasma samotnego lub RVLM uśpionym szczurom [57]. Również dożylnie podanie anandamidu szczurom z odnerwionymi baroreceptorami nie modulowało aktywności przedwspółczulnych neuronów w RVLM [79]. Natomiast dośrodkowa iniekcja Δ^9 -THC uśpionym psom wywoływała zarówno hipotensję jak i bradykardię [6], a ośrodkowe podanie CP-55.940 i WIN-55.212-2 czuwającym królikom zwiększało, w sposób wrażliwy na SR 141716A, aktywność układu współczulnego i poziom noradrenaliny w surowicy krwi [58]. Z kolei u odrzniętych szczurów [47] i królików [58] udowodniono, że WIN-55.212-2 i CP-55.940 hamowały w sposób zależny od dawki wzrost ciśnienia krwi i/lub poziom noradrenaliny wywołany elektryczną stymulacją przedwzwojowych włókien współczulnych. Działanie to zachodziło za pośrednictwem presynaptycznych receptorów CB_1 umiejscowionych na zakończeniach włókien współczulnych, gdyż było hamowane przez SR 141716A, a badani agoniści nie modyfikowali wzrostu ciśnienia krwi zachodzącego pod wpływem egzogennej noradrenaliny lub fenylefryny [47,56,57,63,79].

W doświadczeniach *in vitro* wykazano, że anandamid rozszerzał izolowane naczynia krwionośne m.in. żyły odpiszczelowej człowieka, tętnicy szyjnej szczura, tętnicy głównej świnki morskiej, izolowanej tętnicy wątrobowej szczura, tętnicy wieńcowej wołu, tętnicy kręzkowej szczura i tętnicy mózgowej kota. Działania takiego nie stwierdzono natomiast w przypadku izolowanej tętnicy wieńcowej i aorty szczura [szczegółowa literatura w pracy poglądowej 70]. Jak zaznaczono na ryc. 4 prowadzące do długotrwałej hipotensji działanie rozszerzające naczynia anandamidu może wynikać z jego wpływu na nerwy współczulne, okołonaczyniowe włókna czuciowe, śródbłonek lub mięśnie gładkie naczyń. Sugeruje się przy tym, że związek ten może działać nie tylko za pośrednictwem receptorów kannabinoidowych i waniloidowych, ale także innych mechanizmów.

Wykazane w warunkach *in vitro* działanie naczyniorozszerzające anandamidu wynikające z pobudzenia recepto-

rów waniloidowych omówiono wcześniej przy opisywaniu fazy I. Z czasem okazało się, że naczyniorozszerzające receptory waniloidowe TRPV1 biorą udział, oprócz receptorów kannabinoidowych CB_1 , w powstawaniu długotrwałej hipotensji. Okazało się bowiem, że zarówno SR 141716A, jak i kapsazepina są niezbędne do zahamowania odpowiedzi wywołanej dokanałowym podaniem anandamidu lub dożylną iniekcją metanandamidu odpowiednio uśpionym szczurom normotensyjnym [9] i czuwającym z nadciśnieniem samoistnym [43]. Jak wykazano dodatkowo u zwierząt z nadciśnieniem samoistnym, dochodziło przy tym do uwalniania endogennego CGRP z okołonaczyniowych włókien czuciowych [43].

Jak zaznaczono na ryc. 4, anandamid może nie tylko pobudzać bezpośrednio receptory waniloidowe, ale także – podobnie jak inne kannabinoidy – hamować uwalnianie neuroprzekazników z okołonaczyniowych włókien czuciowych w wyniku aktywacji receptorów CB_1 . Ten ostatni mechanizm sugerują wyniki badań, w których zaobserwowano, że anandamid i metanandamid zapobiegały (w sposób wrażliwy na SR 141716A) procesowi wywołanego kapsaicyną wynaczynienia w tylnej łapie szczura [72]. Z kolei niemający powinowactwa do receptorów waniloidowych kannabinoid HU-210 hamował elektrycznie stymulowany, a będący wynikiem zmniejszenia uwalniania CGRP z okołonaczyniowych włókien czuciowych, rozkurcz izolowanej tętnicy kręzkowej szczura [33]. Brak jego wpływu na relaksację wywołaną podaniem egzogenego CGRP potwierdził jednoznacznie jego presynaptyczny punkt uchwytu działania.

Podsumowując, anandamid, działając na nerwy czuciowe może działać zarówno pobudzająco (receptory TRPV1) jak i hamująco (receptory CB_1) [67]. Nie wiadomo jednoznacznie jaka jest rola fizjologiczna ambiwalentnej natury tego związku. Przypuszcza się, że ma ona znaczenie w niektórych stanach patologicznych, kiedy to stężenie endokannabinoidów w tkankach zmienionych chorobowo znacznie wzrasta. Anandamid wykazuje większe powinowactwo do receptorów kannabinoidowych niż waniloidowych, stąd w warunkach fizjologicznych aktywowane są tylko receptory kannabinoidowe, co jak się przypuszcza zapobiega przewodzeniu „zbędnych” informacji do ośrodkowego układu nerwowego. Natomiast w warunkach patofizjologicznych, stężenie anandamidu wzrasta do poziomu zdolnego pobudzić receptory waniloidowe. W wyniku tego przewodzona jest do ośrodka informacja o chorobowo zmienionych tkankach. Tak więc anandamid działałby jak zależny od stężenia hamująco-pobudzający integrator informacji bólowej [78].

Od rozpoczęcia badań nad kannabinoidami ukazały się prace sugerujące, że związki te mogą uwalniać różne wazoaktywne substancje ze śródbłonna lub być przezeń uwalniane (anandamid), działając jako autokryny hormon [10,15]. Zwrócono m.in. uwagę na potencjalny udział tlenu azotu. Okazało się, że działanie naczyniorozszerzające anandamidu zostało zahamowane po zniszczeniu śródbłonna tętnicy wieńcowej wołu [66] lub uprzednim zastosowaniu inhibitora syntazy tlenu azotu, estru metyloвого N^ω-nitro-L-argininy (L-NAME) (tętnica nerkowa szczura; [10]). Ponadto zaobserwowano zachodzący pod wpływem endogennego kannabinoidu wzrost poziomu syntazy tlenu azotu w hodowli izolowanych komórek śród-

błonka żyły pępkowej człowieka [45] i komórek śródbłonka tętnicy nerkowej szczura [10], a podwyższenie stężenia tlenu azotu w izolowanej ludzkiej żyły odpiszczelowej, tętnicy piersiowej i fragmentach prawego przedsionka. Proces ten hamowany był zarówno przez L-NAME jak i SR 141716A [4]. Powyższych obserwacji nie potwierdzono natomiast u uśpionych myszy, u których podanie L-NAME nie modulowało hipotensyjnego działania anandamidu [36].

W komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych wykazano istnienie wielu kanałów jonowych, których aktywacja lub inaktywacja prowadzi do zmiany polaryzacji miocytów. Następstwem tego jest skurcz lub rozkurcz łożyska naczyniowego. Jak się okazało, anandamid może modulować funkcje niektórych z nich w sposób pośredni, w wyniku aktywacji receptorów kannabinoidowych lub bezpośrednio oddziaływając na samo białko kanału.

W 1996 roku opublikowano interesującą hipotezę sugerującą, że anandamid może pełnić funkcje śródbłonkowego czynnika hiperpolaryzującego (EDHF [69,71]). Oparto ją na spostrzeżeniach, że zachodzące w obecności inhibitorów syntazy tlenu azotu i cytochromu P-450 klotrimazolu, rozszerzenie izolowanych tętnic krezkowej oraz wieńcowej szczura wywołane podaniem EDHF (karbachol i jonofor wapniowy) hamowane było przez SR 141716A. Z drugiej strony indukowane podaniem anandamidu działanie relaksacyjne było osłabiane zarówno przez SR 141716A, jak i duże stężenie jonów potasu [69,89]. Z czasem pojawiły się jednak prace przeczące przedstawionej powyżej teorii. Wykazano, że relaksacja tętnicy krezkowej szczura nie była hamowana przez SR 141716A [65], a hiperpolaryzacja komórek mięśni gładkich wywołana przez anandamid i EDHF angażowała inny rodzaj kanałów potasowych [7,92]. Z kolei badania na tętnicy wieńcowej wołu udowodniły, że to nie anandamid lecz jego metabolity powodowały zależny od śródbłonka rozkurcz naczyń [66]. Anandamid rozkurczał także tętnicę mózgową [13] i krezkową szczura [16] w sposób wrażliwy na indometacynę i diklofenak, co świadczyło o oddziaływaniu jego metabolitów. Inhibitory cyklooksygenazy nie modyfikowały natomiast działania relaksacyjnego anandamidu, np. w tętnicy wieńcowej szczura [91].

Anandamid może też m.in. pobudzać receptory kannabinoidowe CB₁ hamować dokomórkowy prąd wapniowy poprzez dihydropirydynowe kanały typu L. Wykazano to na rozkurczanych przez anandamid i WIN-55.212-2 izolowanych segmentach tętnicy mózgowej kota, w których dochodziło dodatkowo do zahamowania dokomórkowego prądu wapniowego w sposób wrażliwy na SR 141716A [20]. Z kolei w badaniach z użyciem izolowanych fragmentów błon komórkowych mięśni szkieletowych królika wykazano, że ten endogenne kannabinoid bezpośrednio oddziaływał na białko kanału wapniowego typu L [76]. Jak się okazało, rozkurcz izolowanej tętnicy krezkowej szczura pod wpływem anandamidu wynikał zarówno z jego oddziaływania na receptory wanioloidowe i kannabinoidowe jak i bezpośredniego hamowania napływu jonów wapniowych do komórki [26]. Co ciekawe, po usunięciu zewnątrzkomórkowego wapnia anandamid kurczył izolowaną tętnicę krezkową szczura w sposób niewrażliwy na SR 141716A [90].

Kolejne miejsce oddziaływania anandamidu to jeszcze wciąż niesklonowany, hipotetyczny śródbłonkowy „recep-

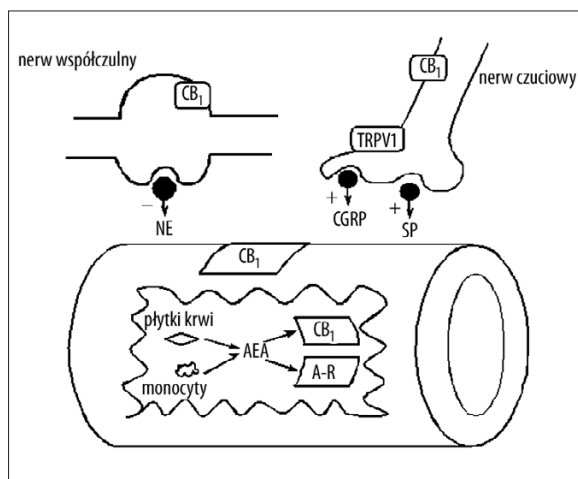
tor anandamidowy” (zaznaczony jako A-R na ryc. 4). Jego pobudzenie pod wpływem anandamidu (ale nie Δ⁹-THC, WIN-55.212-2 i HU-210) prowadziło do zależnego od śródbłonka rozszerzenia izolowanych tętnic krezkowych pochodzących od myszy transgenicznych pozbawionych receptorów CB₁ i CB₁/CB₂. Powyższe działanie było blokowane przez SR 141716A. Natomiast pozostawał niewrażliwy na AM 251 i AM 630 (bardziej swoistych antagonistów receptorów odpowiednio CB₁ i CB₂) oraz inhibitory syntazy tlenu azotu, cyklooksygenazy i receptora wanioloidowego TRPV1 [30]. Do jego zahamowania dochodziło pod wpływem toksyny krztuśca [59], co świadczyło o działaniu anandamidu przez receptor sprzęgnięty z białkiem G. Dalsze badania dowiodły, że śródbłonkowy „receptor anandamidowy” jest również aktywowany przez nietypowy kannabidiol (abnormal cannabidiol; abn-CBD) – związek pozbawiony działania psychotycznego [30]. Jak się okazało dodatkowo, kannabidiol hamował relaksacyjne działanie zarówno anandamidu jak i nietypowego kannabidiolu, co dowodzi, że anandamid i nietypowy kannabidiol działają przez ten sam, wspólny receptor.

Podobnie jak w przypadku długotrwałej hipotensji, towarzyszący jej spadek częstości akcji serca wywołany endo- i egzokannabinoidami jest związany z pobudzeniem receptorów CB₁. Udowodniono bowiem, że bradykardia wywołana dożylnym podaniem Δ⁹-THC, WIN-55.212-2, CP-55.940, anandamidu i 2-AG (2-arachidonyloglicerolu) była hamowana przez antagonistę receptorów kannabinoidowych CB₁, SR 141716A [39] i nie występowała u myszy transgenicznych pozbawionych tych receptorów [29,41].

Odpowiedzialne za spadek częstości akcji serca receptory CB₁ mogą być umiejscowione ośrodkowo, przy czym stwierdzono tu wyraźne różnice gatunkowe. Ośrodkowe podanie Δ⁹-THC uśpionym psom [6], kotom [82] a WIN-55.212-2 czuwającym królikom [58] prowadziło do spadku częstości akcji serca. Takiej odpowiedzi nie zaobserwowano natomiast u uśpionych szczurów po iniekcji WIN-55.212-2 [57] oraz anandamidu [79] w okolicę jądra pasma samotnego i RVLM.

Badania przeprowadzone na odrdzienionych szczurach [50,57] i królikach [56] wykazały z kolei, że w działaniu kannabinoidów biorą udział obwodowe receptory kannabinoidowe CB₁ umiejscowione presynaptycznie na zakończeniach włókien współczulnych. W obu przypadkach WIN-55.212-2 i CP-55.940 hamowały bowiem w sposób zależny od SR 141716A neurogenną tachykardię nie wpływając przy tym na wzrost częstości akcji serca wywołany dożylnym podaniem izoprenaliny. Jak zaobserwowano w analogicznych doświadczeniach bradykardia wywołana elektryczną stymulacją nerwu błędnego była hamowana wskutek pobudzenia presynaptycznych receptorów CB₁ u odrdzienionych królików [56], ale nie szczurów [50].

Obecność hamujących presynaptycznych receptorów CB₁ na zakończeniach włókien współczulnych unerwiających serce została potwierdzona w badaniach *in vitro*. Wykazano w nich, że agoniści tych receptorów (m.in. anandamid, HU-210 bądź WIN-55.212-2 i CP-55.940) zmniejszali w sposób zależny od antagonistów (tj. AM 251 i SR 141716A) uwalnianie znakowanej trytem noradrenaliny z elektrycznie stymulowanych, izolowanych serc [37] lub przedsionków [28] szczura oraz fragmentów ludzkich przedsionków [53].



Ryc. 4. Potencjalne miejsca działania kannabinoidów w układzie naczyniowym; CB₁ – receptor kannabinoidowy typu pierwszego, TRPV1 – receptor waniloidowy typu pierwszego, A-R – hipotetyczny śródbłonkowy „receptor anandamidowy”, NE – noradrenalina, CGRP – peptyd pochodny genu kalcytoninowego, SP-substancja P, AEA – anandamid

UDZIAŁ ANANDAMIDU W PATOLOGII UKŁADU KRAŻENIA

W warunkach fizjologicznych endogenne układy kannabineryczne nie ma dużego znaczenia w regulacji układu krążenia. Zaobserwowano bowiem jedynie pewną tendencję do około 18% wzrostu poziomu noradrenaliny w obecności antagonisty receptorów kannabinoidowych CB₁, SR141716A [57] oraz zaledwie niewielki wzrost ciśnienia pod wpływem AM 404, inhibitora białka transportującego anandamid do wnętrza komórki [5]. Jednak w pozostałych pracach nie stwierdzono żadnego wpływu antagonistów receptorów kannabinoidowych na wyjściową wartość ciśnienia tętniczego krwi [17,29,39,47,50,63]. Świadczy to jednoznacznie o braku istotnego udziału endokannabinoidów w utrzymaniu ciśnienia krwi.

Sytuacja wygląda zupełnie inaczej w warunkach patologicznych. Wykazano bowiem, że anandamid i 2-AG są wydzielane z krążących we krwi monocytów i płytek (ryc. 4) w takich stanach patologicznych jak szok krwotoczny [85] i septyczny [81,87], marskość wątroby [1,74] i zawał mięśnia sercowego [83] prowadzące do nagłego spadku ciśnienia krwi i śmierci. Co ciekawe, do długotrwałej hipotensji dochodziło również u zdrowych szczurów, którym przetoczono płytki i makrofagi pobrane od zwierząt traktowanych wcześniej LPS-em, co obok badań spektralnych jednoznacznie wskazuje na źródło endogennych kannabinoidów [81]. Także u pacjentów z posocznicą poziom anandamidu w surowicy krwi wzrastał czterokrotnie, a 2-AG trzykrotnie w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami [88]. Jak wykazali Maccarrone i wsp. [46] lipopolisacharyd (LPS) podnosił poziom anandamidu w ludzkich limfocytach poprzez hamowanie ekspresji genu kodującego FAAH. Ciekawe jest to, że obserwowana na modelach zwierzęcych nagła, powstała w stanie szoku hipotensja, nie była modulowana przez L-NAME, co wyklucza udział tlenu azotu w tym procesie. Do całkowitego powrotu do wartości wyjściowej (a nawet podwyższenia) spadku ciśnienia krwi, powstałego pod wpływem wymienionych wyżej warunków wstrząs-

sowych dochodziło w obecności SR 141716A. Co ważne, zaobserwowano dodatkowo wzrost gęstości receptorów CB₁ w śródbłonku naczyniowym [1], a SR 141716A podnosił ciśnienie perfuzyjne jedynie w mających zachowany śródbłonek tętnicach kregkowych zwierząt poddanych wstrząsowi [86]. Z kolei zastosowanie HU-210, nieselektywnego agonisty receptorów kannabinoidowych zapobiegało dysfunkcji śródbłonka i hipotensji u szczurów z zastoinową niewydolnością serca [84]. Nie wiadomo jednak, czy endokannabinoidy działają protekcyjnie w wymienionych stanach, gdyż w obecności SR 141716A dochodziło wprawdzie do zniesienia hipotensji powstałej w szoku kardiogenym, ale jednocześnie zwiększała się śmiertelność zwierząt [83]. Do końca niepewna też jest rola receptorów kannabinoidowych CB₁ we wstrząsie. Możliwe, że jest tutaj zaangażowany omówiony wyżej „śródbłonkowy” receptor anandamidu. Okazało się bowiem, że w przeciwieństwie do SR 141716A jego analog, AM 251 nie wpływał na przeżywalność szczurów z indukowanym szokiem kardiogenym [83], a hipotensja wywołana LPS-em odwracana była przez SR 141716A zarówno u myszy kontrolnych, jak i pozbawionych obu receptorów kannabinoidowych [2].

Niewykluczone, że w przyszłości będzie się też większą rolę wiązać z tym, że anandamid - agonista receptorów waniloidowych TRPV1 stymuluje odruch Bezolda-Jarisch. Do związanego z nim odruchowego spadku częstości akcji serca i ciśnienia krwi dochodzi bowiem m.in. w czasie omdlenia wazowagalnego, niedotlenienia i zawału mięśnia sercowego, zwłaszcza tylną-dolną ścianę lewej komory, a także podczas badań koronarograficznych pod wpływem podawanego kontrastu [34]. Ponieważ receptory waniloidowe są umiejscowione w przeważającej części na włóknach czuciowych [22], tłumaczyć to może również uczucie bólu w klatce piersiowej na jaki skarżą się pacjenci podczas zawału.

WYKORZYSTANIE KANNABINOIDÓW W TERAPII. PERSPEKTYWY NA PRZYSZŁOŚĆ

Uwzględniając kompleksowy, dobrze zbadany, wpływ egzogennych kannabinoidów na organizm człowieka, ich zastosowanie jest prawdopodobne w terapii takich schorzeń jak choroba Parkinsona, Huntingtona i Tourette’a, w terapii stwardnienia rozsianego, epilepsji i schizofrenii, jako związki stymulujące apetyt u chorych w stanie wyniszczenia towarzyszącego AIDS i chorobom nowotworowym. Działają przeciwwymiotnie i przeciwbólowo, obniżają ciśnienie śródgałkowe, a także wywołują apoptozę komórek nowotworowych [52]. Niestety, dotychczasowe badania kliniczne dowodzą, że działania niepożądane kannabinoidów znacznie przewyższają ich potencjalną wartość terapeutyczną. Dlatego też wydaje się mało prawdopodobne aby w niedalekiej przyszłości kannabinoidy znalazły kliniczne zastosowanie w leczeniu powyższych stanów chorobowych [55].

W fazie badań klinicznych znajduje się wprawdzie antagonist receptorów kannabinoidowych SR 141716A (rimonabant), który wykazuje pewną skuteczność w leczeniu otyłości i uzależnienia od nikotyny [42], a dwa preparaty kannabinoidowe [Merinol® (dronabinol) i Cesamet® (nabilone)] dopuszczono już jako związki przeciwwymiotne do obrotu na rynkach w USA i Wielkiej Brytanii. Jednak,

jak wskazują badania, ostatnie dwa preparaty nie przewyższają skutecznością leków dotychczas stosowanych, a nawet działają od nich słabiej.

W tym świetle coraz większe nadzieje wiąże się z wykorzystaniem kannabinoidów w leczeniu tych schorzeń,

w których mechanizmy patofizjologiczne ściśle korelują z układem endokannabinergicznym, np. wspomniany szok krwotoczny, kardiogeny czy septyczny. Dokładne poznanie funkcji endokannabinoidów w układzie krążenia może mieć więc potencjalne znaczenie w przyszłości w rozpoznawaniu, zapobieganiu i leczeniu tych schorzeń.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Batkai S., Jarai Z., Wagner J.A., Goparaju S.K., Varga K., Liu J., Mirshahi F., Khanolkar A.D., Makriyannis A., Urbaschek R., Garcia N., Sanyal A.J., Kunos G.: Endocannabinoids acting at vascular CB1 receptors mediate the vasodilated state in advanced liver cirrhosis. *Nat. Med.*, 2001; 7: 827–832
- [2] Batkai S., Pacher P., Jarai Z., Wagner J.A., Kunos G.: Cannabinoid antagonist SR141716 inhibits endotoxic hypotension by a cardiac mechanism not involving CB1 or CB2 receptors. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2004; 287: H595–H600
- [3] Berdyshev E.V.: Cannabinoid receptors and the regulation of immune response. *Chem. Phys. Lipids*, 2000; 108: 169–190
- [4] Bilfinger T.V., Salzet M., Fimiani C., Deutsch D.G., Tramu G., Stefano G.B.: Pharmacological evidence for anandamide amidase in human cardiac and vascular tissues. *Int. J. Cardiol.*, 1998; 64(Suppl.1): S15–S22
- [5] Calignano A., La Rana G., Beltramo M., Makriyannis A., Piomelli D.: Potentiation of anandamide hypotension by the transport inhibitor, AM 404. *Eur. J. Pharmacol.*, 1997; 337: R1–R2
- [6] Caverio I., Solomon T., Buckley J.P., Jandhyala B.S.: Studies on the hypotensive activity of (–)- Δ^9 -trans-tetrahydrocannabinol in anesthetized dogs. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 1973; 6: 527–540
- [7] Chataigneau T., Feletou M., Thollen C., Villeneuve N., Vilaine J.P., Duhault J., Vanhoutte P.M.: Cannabinoid CB1 receptor and endothelium-dependent hyperpolarization in guinea-pig carotid, rat mesenteric and porcine coronary arteries. *Br. J. Pharmacol.*, 1998; 123: 968–974
- [8] Colquhoun E.Q., Eldershaw T.P., Bennett K.L., Hall J.L., Dora K.A., Clark M.G.: Functional and metabolic evidence for two different vanilloid (VN1 and VN2) receptors in perfused rat hindlimb. *Life Sci.*, 1995; 57: 91–102
- [9] del Carmen Garcia M., Adler-Graschinsky E., Celuch S.M.: Hypotensive effect of anandamide through the activation of CB₁ and VR1 spinal receptors in urethane-anesthetized rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 2003; 368: 270–276
- [10] Deutsch D.G., Golygorsky M.S., Schmid P.C., Krebsbach R.J., Schmid H.H., Das S.K., Dey S.K., Arreaza G., Thorup C., Stefano G., Moore L.C.: Production and physiological actions of anandamide in vasculature of the rat kidney. *J. Clin. Invest.*, 1997; 100: 1538–1546
- [11] Devane W.A., Hanuš L., Breuer A., Pertwee R.G., Stevenson L.A., Griffin G., Gibson D., Mandelbaum A., Etinger A., Mechoulam R.: Isolation and structure of brain constituent that binds the cannabinoid receptor. *Science*, 1992; 258: 1946–1949
- [12] Donnerer J., Lembeck F.: Analysis of the effects of intravenously injected capsaicin in rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1982; 320: 54–57
- [13] Ellis E.F., Moore S.F., Willoughby K.A.: Anandamide and Δ^9 -THC dilation of cerebral arterioles is blocked by indomethacin. *Am. J. Physiol. Heart Circ.*, 1995; 269: H1859–H1864
- [14] Felder C.C., Nielsen A., Briley E.M., Palkovits M., Priller J., Axelrod J., Nguyen D.N., Richardson J.M., Riggan R.M., Koppel G.A., Paul S.M., Becker G.W.: Isolation and measurement of the endogenous cannabinoid receptor agonist, anandamide, in brain and peripheral tissues of human and rat. *FEBS Lett.*, 1996; 393: 231–235
- [15] Fimiani C., Mattocci D., Cavani F., Salzet M., Deutsch D.G., Pryor S., Bilfinger T.V., Stefano G.B.: Morphine and anandamide stimulate intracellular calcium transients in human arterial endothelial cells: coupling to nitric oxide release. *Cell Signal.*, 1999; 11: 189–193
- [16] Fleming I., Schermer B., Popp R., Busse R.: Inhibition of the production of endothelium-derived hyperpolarizing factor by cannabinoid receptor agonists. *Br. J. Pharmacol.*, 1999; 126: 949–960
- [17] Garcia N., Jarai Z., Mirshahi F., Kunos G., Sanyal Arunaj J.: Systemic and portal hemodynamic effects of anandamide. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2001; 280: G14–G20
- [18] Gardiner S.M., March J.E., Kemp P.A., Bennett T.: Complex regional haemodynamic effects of anandamide in conscious rats. *Br. J. Pharmacol.*, 2002; 135: 1889–1896
- [19] Gardiner S.M., March J.E., Kemp P.A., Bennett T.: Influence of the CB1 receptor antagonist, AM 251, on the regional haemodynamic effects of WIN-5512-2 or HU 210 in conscious rat. *Br. J. Pharmacol.*, 2002; 136: 581–587
- [20] Gebramedhin D., Lange A.R., Campbell W.B., Hillard C.J., Harder D.R.: Cannabinoid CB₁ receptor of cat cerebral arterial muscle functions to inhibit L-type Ca²⁺ channel current. *Am. J. Physiol.*, 1999; 279: H2085–H2093
- [21] Griffiths C.D., Eldershow T.P.D., Geraghty D.P., Hall J.L., Colquhoun E.Q.: Capsaicin-induced biphasic oxygen uptake in rat muscle: antagonism by capsazepine and ruthenium red provides further evidence for peripheral vanilloid receptor subtypes (VN1/VN2). *Life Sci.*, 1996; 59: 105–117
- [22] Gunthorpe M.J., Benham C.D., Randall A., Davis J.B.: The diversity in the vanilloid (TRPV) receptor family of ion channels. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2002; 23: 183–191
- [23] Hampson A.J., Bornheim L.M., Scanziani M., Yost C.S., Gray A.T., Hansen B.M., Leonoudakis D.M., Bickler P.E.: Dual effects of anandamide on NMDA receptor-mediated responses and neurotransmission. *J. Neurochem.*, 1998; 70: 671–676
- [24] Harris D., McCulloch A.I., Kendall D.A., Randall M.D.: Characterization of vasorelaxant responses to anandamide in the rat mesenteric arterial bed. *J. Physiol.*, 2002; 539: 893–902
- [25] Hiley C.R., Ford W.R.: Cannabinoid pharmacology in the cardiovascular system: potential protective mechanisms through lipid signalling. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, 2004; 79: 187–205
- [26] Ho W.S., Hiley C.R.: Endothelium-independent relaxation to cannabinoids in rat-isolated mesenteric artery and role of Ca²⁺ influx. *Br. J. Pharmacol.*, 2003; 139: 585–597
- [27] Högestätt E.D., Zygmunt P.M.: Cardiovascular pharmacology of anandamide. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2002; 66: 343–351
- [28] Ishac E.J., Jiang L., Lake K.D., Varga K., Abood M.E., Kunos G.: Inhibition of exocytotic noradrenaline release by presynaptic cannabinoid CB₁ receptors on peripheral sympathetic nerves. *Br. J. Pharmacol.*, 1996; 118: 2023–2028
- [29] Jarai Z., Wagner J.A., Goparaju S.K., Wang L., Razdan R.K., Sugiura T., Zimmer A.M., Bonner T.I., Zimmer A., Kunos G.: Cardiovascular effects of 2-arachidonoyl glycerol in anesthetized mice. *Hypertension*, 2000; 2: 679–684
- [30] Jarai Z., Wagner J.A., Varga K., Lake K., Compton D.R., Martin B.R., Zimmer A.M., Bonner T.I., Buckley N.E., Mezey E., Razdan R.K., Zimmer A., Razdan G.: Cannabinoid-induced mesenteric vasodilation through an endothelial site distinct from CB₁ or CB₂ receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 14136–14141
- [31] Jones R.T.: Cardiovascular system effects of marijuana. *J. Clin. Pharmacol.*, 2002; 42(Suppl.11): 58S–63S
- [32] Kagaya M., Lamb J., Robbins J., Page C.P., Spina D.: Characterization of the anandamide induced depolarization of guinea-pig isolated vagus nerve. *Br. J. Pharmacol.*, 2002; 137: 39–48
- [33] Kawasaki H., Takasaki K., Saito A., Goto K.: Calcitonin gene-related peptide acts as a novel vasodilator neurotransmitter in mesenteric resistance vessels of the rat. *Nature*, 1988; 335: 164–167
- [34] Kinsella S.M., Tuckey J.P.: Perioperative bradycardia and asystole: relationship to vasovagal syncope and the Bezold-Jarisch reflex. *Br. J. Anaesth.*, 2001; 86: 859–868
- [35] Kumar R.N., Chambers W.A., Pertwee R.G.: Pharmacological actions and therapeutic uses of cannabis and cannabinoids. *Anaesthesia*, 2001; 56: 1059–1068

- [36] Kunos G., Jári Z., Varga K., Liu J., Wang L., Wagner J.A.: Cardiovascular effects of endocannabinoids – the plot thickens. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, 2000; 61: 71–84
- [37] Kurihara J., Nishigaki M., Suzuki S., Okubo Y., Takata Y., Nakane S., Sugiura T., Waku K., Kato H.: 2-Arachidonoylglycerol and anandamide oppositely modulate norepinephrine release from the rat heart sympathetic nerves. *Jpn. J. Pharmacol.*, 2001; 87: 93–96
- [38] Kwolek G., Zakrzewska A., Schlicker E., Göthert M., Godlewski G., Malinowska B.: Central and peripheral components of the pressor effect of anandamide in urethane-anaesthetized rats. *Br. J. Pharmacol.*, 2005 (w druku)
- [39] Lake K.D., Compton D.R., Varga K., Martin B.R., Kunos G.: Cannabinoid-induced hypotension and bradycardia in rats is mediated by CB₁-like receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1997; 281: 1030–1037
- [40] Lake K.D., Martin B.R., Kunos G., Varga K.: Cardiovascular effects of anandamide in anesthetized and conscious normotensive and hypertensive rats. *Hypertension*, 1997; 29: 1204–1210
- [41] Ledent C., Valverde O., Cossu G., Petit F., Aubert J.F., Beslot F., Bohme G.A., Imperato A., Pedrazzini T., Roques B.P., Vassart G., Fratta W., Parmentier M.: Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB₁ receptor knockout mice. *Science*, 1999; 283: 401–404
- [42] Le Fur G.: Pharmacology of cannabinoid receptor antagonists-possible therapeutic applications. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 2004; 18(Suppl.1): 9
- [43] Li J., Kaminski N.E., Wang D.H.: Anandamide-induced depressor effect in spontaneously hypertensive rats: role of the vanilloid receptor. *Hypertension*, 2003; 41: 757–762
- [44] Lin Y.S., Lee L.: Stimulation of pulmonary vagal C-fibres by anandamide in anaesthetized rats: role of vanilloid type 1 receptors. *J. Physiol.*, 2002; 539: 947–955
- [45] Maccarrone M., Bari M., Lorenzon T., Bisogno T., Di Marzo V., Finazzi-Agrò A.: Anandamide uptake by human endothelial cells and its regulation by nitric oxide. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 13484–13492
- [46] Maccarrone M., De Petrocellis L., Bari M., Fezza F., Salvati S., Di Marzo V., Finazzi-Agrò A.: Lipopolysaccharide downregulates fatty acid amide hydrolase expression and increases anandamide levels in human peripheral lymphocytes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2001; 393: 321–328
- [47] Malinowska B., Godlewski G., Bucher B., Schlicker E.: Cannabinoid CB₁ receptor-mediated inhibition of the neurogenic vasopressor response in the pithed rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1997; 356: 197–202
- [48] Malinowska B., Göthert M., Godlewski G., Wróbel B., Bönisch H., Buczek W.: Inhibitory effects of ethanol on 5-hydroxytryptamine-induced Bezold-Jarisch reflex-involvement of peripheral 5-HT₃ receptors. *Eur. J. Pharmacol.*, 1995; 293: 71–76
- [49] Malinowska B., Kwolek G., Göthert M.: Anandamide and methanandamide induce both vanilloid VR₁- and cannabinoid CB₁ receptor-mediated changes in heart rate and blood pressure in anaesthetized rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 2001; 364: 562–569
- [50] Malinowska B., Piszcz J., Koneczny B., Hryniewicz A., Schlicker E.: Modulation of the cardiac autonomic transmission of pithed rats by presynaptic opioid OP4 and cannabinoid CB₁ receptors. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 2001; 364: 233–241
- [51] Matsuda L.A., Lolait S.J., Brownstein M.J., Young A.C., Bonner T.I.: Structure of cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*, 1990; 346: 561–564
- [52] Mechoulam R.: Recent advances in cannabinoid research. *Forsch. Komplementärmed.*, 1999; 6(Suppl.3): 16–20
- [53] Molderings G.J., Likungu J., Göthert M.: Presynaptic cannabinoid and imidazoline receptors in the human heart and their potential relationship. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1999; 360: 157–164
- [54] Munro S., Thomas K.L., Abu-Shaar M.: Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*, 1993; 365: 61–65
- [55] Nava F.: Cannabinoids: don't use them without a medical prescription! *Trends Pharmacol. Sci.*, 2001; 22: 13–14
- [56] Niederhoffer N., Hansen H.H., Fernandez-Ruiz J.J., Szabo B.: Effects of cannabinoids on adrenaline release from adrenal medullary cells. *Br. J. Pharmacol.*, 2001; 134: 1319–1327
- [57] Niederhoffer N., Schmid K., Szabo B.: The peripheral sympathetic nervous system is the major target of cannabinoids in eliciting cardiovascular depression. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 2003; 367: 434–443
- [58] Niederhoffer N., Szabo B.: Effect of the the cannabinoid receptor agonist WIN 55212-2 on sympathetic cardiovascular regulation. *Br. J. Pharmacol.*, 1999; 126: 457–466
- [59] Offertaler L., Mo F.M., Batkai S., Liu J., Begg M., Razdan R.K., Martin B.R., Bukoski R.D., Kunos G.: Selective ligands and cellular effectors of a G protein-coupled endothelial cannabinoid receptor. *Mol. Pharmacol.*, 2003; 63: 699–705
- [60] Okuda N., Kohara K., Mikami H., Moriguchi A., Yamada K., Higarki J., Ogihara T.: Effect of propranolol on central neurotransmitter release in Wistar rats analysed by brain microdialysis. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 1999; 26: 220–224
- [61] Pacher P., Batkai S., Kunos G.: Haemodynamic profile and responsiveness to anandamide of TRPV1 receptor knock-out mice. *J. Physiol.*, 2004; 558: 647–657
- [62] Padley J.R., Li Q., Pilowsky P.M., Goodchild A.K.: Cannabinoid receptor activation in the rostral ventrolateral medulla oblongata evokes cardiorespiratory effects in anaesthetised rats. *Br. J. Pharmacol.*, 2003; 140: 384–394
- [63] Pfützer T., Niederhoffer N., Szabo B.: Search for an endogenous cannabinoid-mediated effect in the sympathetic nervous system. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 2005; 371: 9–17
- [64] Piomelli D., Giuffrida A., Calignano A., Rodriguez de Fonseca F.: The endocannabinoid system as a target for therapeutic drugs. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2000; 21: 218–224
- [65] Plane F., Holland M., Waldron G.J., Garland C.J., Boyle J.P.: Evidence that anandamide and EDHF act via different mechanisms in rat isolated mesenteric arteries. *Br. J. Pharmacol.*, 1997; 121: 1509–1511
- [66] Pratt P.F., Hillard C.J., Edgemond W.S., Campbell W.B.: N-arachidonyl-ethanolamide relaxation of bovine coronary artery is not mediated by CB1 cannabinoid receptor. *Am. J. Physiol.*, 1998; 274: H375–H381
- [67] Ralevic V., Kendall D.A., Randall M.D., Smart D.: Cannabinoid modulation of sensory neurotransmission via cannabinoid and vanilloid receptors: roles in regulation of cardiovascular function. *Life Sci.*, 2002; 71: 2577–2594
- [68] Ralevic V., Kendall D.A., Randall M.D., Zygmunt P.M., Movahed P., Högestätt E.D.: Vanilloid receptors on capsaicin-sensitive sensory nerves mediate relaxation to methanandamide in the rat isolated mesenteric arterial bed and small mesenteric arteries. *Br. J. Pharmacol.*, 2000; 130: 1483–1488
- [69] Randall M.D., Alexander S.P.H., Bennett T., Boyd E.A., Fry J.R., Gardiner S.M., Kemp P.A., McCulloch A.I., Kendall D.A.: An endogenous cannabinoid as an as endothelium-derived vasorelaxant. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1996; 229: 114–120
- [70] Randall M.D., Harris D., Kendall D.A., Ralevic V.: Cardiovascular effects of cannabinoids. *Pharmacol. Ther.*, 2002; 95: 191–202
- [71] Randall M.D., Kendall D.A.: The involvement of an endogenous cannabinoid in EDHF-mediated vasorelaxation in the rat coronary vasculature. *Eur. J. Pharmacol.*, 1997; 335: 205–209
- [72] Richardson J.D., Kilo S., Hargreaves K.M.: Cannabinoids reduce hyperalgesia and inflammation via interaction with peripheral CB₁ receptors. *Pain*, 1998; 75: 111–119
- [73] Roberts L.A., Christie M.J., Connor M.: Anandamide is a partial agonist at native vanilloid receptors in acutely isolated mouse trigeminal sensory neurons. *Br. J. Pharmacol.*, 2002; 137: 421–428
- [74] Ros J., Claria J., To-Figueras J., Planaguma A., Cejudo-Martin P., Fernandez-Varo G., Martin-Ruiz R., Arroyo V., Rivera F., Rodés J., Jiménez W.: Endogenous cannabinoids: A new system involved in the homeostasis of arterial pressure in experimental cirrhosis. *Gastroenterology*, 2002; 122: 85–93
- [75] Schlicker E., Kathman M.: Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2001; 22: 565–572
- [76] Shimasue K., Urushidani T., Hagiwara M., Nagao T.: Effects of anandamide and arachidonic acid on specific binding of (+) -PN200-110, diltiazem and (–) -desmethoxyverapamil to L-type Ca²⁺ channel. *Eur. J. Pharmacol.*, 1996; 296: 347–350
- [77] Smith P.J., McQueen D.S.: Anandamide induces cardiovascular and respiratory reflexes via vasosensory nerves in the anaesthetized rat. *Br. J. Pharmacol.*, 2001; 134: 655–663
- [78] van der Stelt M., Di Marzo V.: Endovanilloids. Putative endogenous ligands of transient receptor potential vanilloid 1 channels. *Eur. J. Biochem.*, 2004; 271: 1827–1834
- [79] Varga K., Lake K.D., Huangfu D., Guyenet P.G., Kunos G.: Mechanism of the hypotensive action of anandamide in anaesthetised rats. *Hypertension*, 1996; 28: 682–686

- [80] Varga K., Lake K.D., Martin Billy R., Kunos G.: Novel antagonist implicates the CB₁ cannabinoid receptor in the hypotensive action of anandamide. *Eur. J. Pharmacol.*, 1995; 278: 279–283
- [81] Varga K., Wagner J.A., Bridgen D.T., Kunos G.: Platelet- and macrophage- derived endogenous cannabinoids are involved in endotoxin-induced hypotension. *FASEB J.*, 1998; 12: 1035–1044
- [82] Vollmer R.R., Cavero I., Ertel R.J., Solomon T.A., Buckley J.P.: Role of the central autonomic nervous system in the hypotension and bradycardia induced by (–)-Δ⁹-trans-tetrahydrocannabinol. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1974; 26: 186–192
- [83] Wagner J.A., Hu K., Bauersachs J., Karcher J., Wiesler M., Goparaju S.K., Kunos G., Ertl G.: Endogenous cannabinoids mediate hypotension after experimental myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2001; 38: 2048–2054
- [84] Wagner J.A., Hu K., Karcher J., Bauersachs J., Schafer A., Laser M., Han H., Ertl G.: CB(1) cannabinoid receptor antagonism promotes remodeling and cannabinoid treatment prevents endothelial dysfunction and hypotension in rats with myocardial infarction. *Br. J. Pharmacol.*, 2003; 138: 1251–1258
- [85] Wagner J.A., Varga K., Ellis E.F., Rzigalinski B.A., Martin B.R., Kunos G.: Activation of peripheral CB₁ cannabinoid receptors in haemorrhagic shock. *Nature*, 1997; 390: 518–521
- [86] Wagner J.A., Varga K., Járαι Z., Kunos G.: Mesenteric vasodilation mediated by endothelial anandamide receptors. *Hypertension*, 1999; 33: 429–434
- [87] Wagner J.A., Varga K., Kunos G.: Cardiovascular actions of cannabinoids and their generation during shock. *J. Mol. Med.*, 1998; 76: 824–836
- [88] Wang Y., Liu Y., Ito Y., Hashiguchi T., Kitajima I., Yamakuchi M., Shimizu H., Matsuo S., Imaizumi H., Maruyama I.: Simultaneous measurement of anandamide and 2-arachidonoylglycerol by polymyxin B-selective adsorption and subsequent high-performance liquid chromatography analysis: increase in endogenous cannabinoids in the sera of patients with endotoxic shock. *Anal. Biochem.*, 2001; 294: 73–82
- [89] White R., Hiley C.R.: A comparison of EDHF-mediated and anandamide-induced relaxations in the rat isolated mesenteric artery. *Br. J. Pharmacol.*, 1997; 122: 1573–1584
- [90] White R., Hiley C.R.: The actions of the cannabinoid receptor antagonist, SR 141716A, in the rat isolated mesenteric artery. *Br. J. Pharmacol.*, 1998; 125: 689–696
- [91] White R., Ho W.S., Bottrill F.E., Ford W.R., Hiley C.R.: Mechanisms of anandamide-induced vasorelaxation in rat isolated coronary arteries. *Br. J. Pharmacol.*, 2001; 134: 921–929
- [92] Zygmunt P.M., Högestätt E.D., Waldeck K., Edwards G., Kirkup A.J., Weston A.H.: Studies on the effects of anandamide in rat hepatic artery. *Br. J. Pharmacol.*, 1997; 122: 1679–1686
- [93] Zygmunt P.M., Petersson J., Andersson D.A., Chuang H., Sörgård M., DiMarzo V., Julius D., Högestätt E.D.: Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature*, 1999; 400: 452–457