

# Endokanabinoidni sustav

---

Baljkas, Lovre

Master's thesis / Diplomski rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:130835>

Rights / Prava: [In copyright](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2022-03-25**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine  
Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Lovre Baljkas

# **Endokanabinoidni sustav**

Diplomski rad



Zagreb, 2019.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Katedri za socijalnu medicinu i organizaciju zdravstvene zaštite na Školi narodnog zdravlja „Andrija Štampar“, Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom doc. dr. sc. Ognjena Brborovića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2018./2019.

**POPIS I OBJAŠNENJA KRATICA KORIŠTENIH U RADU:**

Kratice	Hrvatsko značenje	Englesko značenje
2-AG	2-arahidonoilglicerol	2-arachidonoylglycerol
2-AGE	2-arahidonil gliceril eter ili noladin eter	2-arachidonyl glyceryl ether or noladin ether
abn-CBD	abnormalni kanabidiol	abnormal cannabidiol
AEA	anandamid ili N-arahidonoiletanolamin	anandamide or N-arachidonoylethanolamine
ATF2	aktivacijski transkripcijski faktor 2	activating transcription factor 2
cAMP	ciklički adenzin monofosfat	cyclic adenosine monophosphate
CB	Kanabinoid	Cannabinoid
CB1	kanabinoid receptor 1	cannabinoid receptor type 1
CB2	kanabinoid receptor 2	cannabinoid receptor type 2
CBD	Kanabidiol	Cannabidiol
CD	Crohnova bolest	Chron's disease
COX	Ciklooksigenaza	Cyclooxygenase
COX2	ciklooksigenaza 2	cyclooxygenase 2
CREB	protein koji veže CBP	cyclic AMP response element-binding
DAGL	diacilglicerol lipaza	diacylglycerol lipase
EKS	endokanabinoidni sustav	endocannabinoid system
FAAH	hidrolaza amida masnih kiselina	fatty acid amide hydrolase
FLAT	transporter anandamida nalik na FAAH	FAAH-like anandamide transporter
GABA	gama-aminomaslačna kiselina	gamma-aminobutyric acid
GI	Gastrointestinalno	Gastrointestinal
GPCR	G protein spregnuti receptor	G protein-coupled receptors
HDL	lipoprotein velike gustoće	high-density lipoprotein
5-HT1A	serotoninski receptor 1A	serotonin 1A receptor
HPA	osovina hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda	hypothalamic-pituitary-adrenal axis
IBD	upalne bolesti crijeva	inflammatory bowel disease
ITM	indeks tjelesne mase	body mass index

Kratica	Hrvatsko značenje	Englesko značenje
LOX	Lipooksigenaza	Lipoxygenase
MAGL	monoacilglicerol lipaza	monoacylglycerol lipase
MAPK	mitogenom aktivirana protein kinaza	mitogen-activated protein kinase
MAPK/ERK	put Ras-Raf-MEK-ERK	Ras-Raf-MEK-ERK pathway
NADA	N-arahidonil dopamin	N-arachidonoyl dopamine
NAE	N-acetiletanolamini	N-acylethanolamine
NAPE	N-acilfosfatidiletanolamin	N-acylphosphatidylethanolamines
NAPE-PLD	N-acilfosfatidiletanolamin specifična fosfolipaza D	N-acyl phosphatidylethanolamine phospholipase D
NAT	N-acetiltransferaza	N-acetyltransferase
NF- $\kappa$ B	$\kappa$ B –jezgrin čimbenik	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NF-AT	jezgrin čimbenik aktiviranih T stanica	nuclear factor of activated T cells
NMDA	N-metil-D-aspartat	N-methyl-D-aspartate
O-AEA	Virodhamin	Virodhamine
OEA	Oleoiletanolamin	Oleoylethanolamine
PEA	palmitoiletanolamid	Palmitoylethanolamide
PFK	prefrontalni korteks	prefrontal cortex
PKA	protein kinaza A	protein kinase A
PLC	fosfolipaza C	phospholipase C
PLD	fosfolipaza D	phospholipase D
PPAR	peroksisom proliferatorom-aktivirani receptor	peroxisome proliferator-activated receptors
PTPN22	protein tirozin fosfataza ne-receptorskog tipa 22	protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22
PTSP	posttraumatski stresni poremećaj	posttraumatic stress disorder
RhoA	član A Ras obitelji homolognih gena	Ras homolog gene family member A
ROCK	Rho asocirana protein kinaza	Rho-associated protein kinase

Kratica	Hrvatsko značenje	Englesko značenje
SŽS	središnji živčani sustav	central nervous system
THC	tetrahidrokanabinol	Tetrahydrocannabinol
THCV	tetrahidrokanabivarin	Tetrahydrocannabivarin
TNF $\alpha$	čimbenik nekroze tumora alfa	tumor necrosis factor
TRP	receptor kanala prolaznog potencijala	transient receptor potential channels
TRPV1	TRP receptor član 1 podskupine V	transient receptor potential cation channel subfamily V member 1
UC	ulcerozni kolitis	ulcerative colitis
VEGF	vaskularni endotelni čimbenik rasta	vascular endothelial growth factor

1. SAŽETAK	
2. SUMMARY	
3. UVOD.....	1
4. OSNOVNE STRUKTURE ENDOKANABINOIDNOG SUSTAVA .....	2
5. RECEPTORI .....	5
5.1. CB1 receptori .....	5
5.2. CB2 receptori .....	7
5.3. Ostali receptori .....	8
6. ENDOKANABINOIDI.....	12
7. METABOLIZAM .....	13
7.1. Sinteza .....	13
7.2 Razgradnja.....	14
8. ENDOKANABINOIDOM.....	15
9. ULOGA EKS-A U RAZVOJU ŽIVČANOG SUSTAVA .....	16
10. EKS I RAK.....	19
11. GI TRAKT I EKS.....	22
11.1 Utjecaj endokanabinoida na crijevnu mikrofloru .....	22
11.2. EKS i upalne bolesti crijeva.....	23
12. LIJEKOVI S VIŠE META.....	25
13. ZAKLJUČAK .....	27
14. ZAHVALE .....	28
15. LITERATURA.....	29
16. ŽIVOTOPIS .....	32

## 1. SAŽETAK

### ENDOKANABINOIDNI SUSTAV

Lovre Baljkas

Endokanabinoidni sustav zajednički je naziv za receptore kanabinoid receptor 1 i kanabinoid receptor 2, ligande tzv. endokanabinoide anandamid i 2-arahidonoilglicerol, te enzime koji sudjeluju u njihovom metabolizmu. Naziv je dobio po biljci *Cannabis sativa*, čije se najvažnije aktivne tvari tetrahidrokanabinol i kanabidiol vežu za kanabinoidne receptore. Psihotropni učinak kanabisa povijesno je zasjenio ostale učinke njegovih aktivnih tvari te tako i širok spektar funkcija endokanabinoidnog sustava. Endokanabinoidni sustav ne utječe samo na psihološku i neurološku funkciju čovjeka, nego ima i ključnu funkciju u regulaciji fiziološke funkcije probavnog sustava te patologiji upale istog. Pokazalo se da je endokanabinoidni sustav ključni element u središnjem živčanom sustavu, gdje se putem njega odvija retrogradna signalizacija među neuronima. Isto tako, sudjeluje u modulaciji brojnih metaboličkih mehanizama. Danas je poznato da funkciju endokanabinoidnog sustava u užem smislu nadopunjava takozvani endokanabinoidom, skupni naziv za sve ostale receptore, ligande, enzime i metabolite svojom funkcijom povezane s endokanabinoidnim sustavom. Tako širok spektar djelovanja svojevrsni je dvosjekli mač, naime otvara mnoga vrata za terapijsku primjenu, dok istovremeno otežava istraživanje i sintezu lijekova koji bi mogli biti od praktične koristi. Naime, zbog velikog preklapanja i svestranosti nije lako sintetizirati lijekove koji će imati izolirani učinak. Bolje razumijevanje endokanabinoidnog sustava omogućit će daljnje razjašnjavanje brojnih fizioloških i patoloških procesa u ljudskom tijelu, te time potencijalno otvoriti vrata za mnoge nove terapijske metode koje će modulirati funkciju endokanabinoidnog sustava.

Ključne riječi: endokanabinoidni sustav, kanabinoidni receptori, endokanabinoidi



## 2. SUMMARY

### ENDOCANNABINOID SYSTEM

Lovre Baljkas

The term endocannabinoid system is commonly used to refer to the receptors, ligands, so-called endocannabinoids and the enzymes involved in their metabolism. It is named after the plant *Cannabis sativa* whose most important active substances tetrahydrocannabinol and cannabidiol bind to the endocannabinoid receptors. Tetrahydrocannabinol's psychotropic effects are the main reason for the popularity of cannabis, which is the most popular recreational drug in the Western world. Early scientific research focused on the effects of tetrahydrocannabinol due to its psychotropic nature. Possibly because of the toxic effects of tetrahydrocannabinol and because of the belief that tetrahydrocannabinol is the main active substance in cannabis, early research focused primarily on the effects of tetrahydrocannabinol. Only much later, with the discovery of the endocannabinoids and the myriad of functions that the endocannabinoid system performs in the mammalian body, did the focus of research slowly drift towards the endocannabinoid system itself, as opposed to the fitocannabinoids. The bodily functions which the multifarious endocannabinoid system affects include the central nervous system, gastrointestinal system and immune system. The cannabinoid receptors CB1 and CB2 are widespread throughout the human body. As such, it is difficult to target them specifically for therapeutic purpose. Hundreds of mediators are chemically related to endocannabinoids, often with similar metabolic pathways, thus the path to therapeutic relevancy is further complicated. Better understanding of the endocannabinoid system will enable researchers to discern the exact function of many key mechanisms in the human body, and thus hopefully pave the way to new therapeutic avenues.

Keywords: endocannabinoid system, cannabinoid receptors, endocannabinoids

### 3. UVOD

Endokanabinoidni sustav (EKS) je skupni naziv za kanabinoidne (CB) receptore kanabinoid receptor 1 (CB1) i kanabinoid receptor 2 (CB2), njihove endogene ligande N-arahidonoiletanolamin (AEA ili anandamid) i 2-arahidonoilglicerol (2-AG), te pet glavnih enzima koji sudjeluju u njihovom metabolizmu N-acilfosfatidiletanolamin specifična fosfolipaza D (NAPE-PLD), diacilglicerol lipaza alfa (DGL alfa), diacilglicerol lipaza (DGL beta), hidrolaza amida masnih kiselina (FAAH) i monoacilglicerol lipaza (MAGL) [1,2]. EKS je svoje ime dobio po biljci *Cannabis sativa*. Sredinom 1950tih i 1960tih su prvi put otkrivene aktivne tvari *C. Sativa* [1]. Te tvari, fitokanabinoidi kanabidiol (CBD) i tetrahidrokanabinol (THC), su prvi otkriveni kanabinoidi. Kasnije su opisani receptori za koji se oni vežu, CB1 i CB2. Budući da u tijelu postoje kanabinoidni receptori, može se zaključiti da moraju postojati i endogeni ligandi, takozvani endokanabinoidi AEA i 2-AG. Osim njih danas poznajemo i brojne druge i sigurno će se u budućnosti proširiti paleta poznatih endokanabinoida. S obzirom na psihoaktivna svojstva THC-a i na činjenicu da su fitokanabinoidi otkriveni ranije [3], fiziološki učinci EKS-a dugo su vremena bili zanemarivani [1]. EKS je povijesno zanemarivan jer riječ „kanabinoid“ asocira na zlouporabu kanabisa, najčešće korištene rekreativne droge na svijetu. Usprkos negativnih stavova javnosti, istraživanja EKS-a dovela su do spoznaja o njegovoj svestranoj ulozi u ljudskome tijelu. Danas znamo da EKS sudjeluje u brojnim neurološkim i imunološkim procesima te u modulaciji funkcije probavnog sustava, nociopciji, termogenezi, regulaciji apetita i metabolizma [1,2]. Sve u svemu, EKS je svojevrstni multipraktik u ljudskome tijelu, koji je upleten u gotovo sve funkcije ljudskog organizma.

#### 4. OSNOVNE STRUKTURE ENDOKANABINOIDNOG SUSTAVA

Endokanabinoidni se sustav sastoji od endogenih liganada anandamida (AEA, N-arahidonoiletanolamin) i 2-arahidonoilglicerola (2-AG) i receptora za koje se oni vežu kanabinoidni receptor 1 (CB1) i kanabinoidni receptor 2 (CB2). Uz njih u EKS ubrajamo i pet glavnih enzima njihove biosinteze [1,2]. Otkriće endokanabinoidnog sustava potaklo je brojna istraživanja o mogućim fiziološkim učincima kanabinoida te povezanosti tog sustava s nekim patološkim stanjima. Endokanabinoidna signalizacija u dijelovima mozga povezana je sa složenom motorikom, kognicijom, učenjem i pamćenjem te regulacijom sna i budnosti [2]. Između ostalog, rezultati raznih studija pokazali su važnost endokanabinoida u kontroli anksioznosti i različitih bolnih stanja. Istraživanje iz 2016. godine pokazalo je da poremećaji broja kanabinoidnih receptora ili nepravilnosti u izlučivanju endokanabinoida mogu utjecati na nastanak posttraumatskog stresnog poremećaja (PTSP) [4]. Istraživanja su pokazala i moguću ulogu EKS-a u prevenciji i nastanku mnogih neurodegenerativnih i drugih bolesti živčanog sustava kao što su infarkt mozga, Alzheimerova bolest, multipla skleroza i Parkinsonova bolest [5].

Endokanabinoidi u središnjem živčanom sustavu (SŽS) sintetiziraju se u postsinaptičkim neuronima. Nakon otpuštanja oni putuju u presinaptički neuron i aktivacijom CB receptora moduliraju funkciju SŽS-a. Njihova jedinstvena pozicija retrogradnih signalizatora u SŽS-u objašnjava njihov širok spektar neuroloških funkcija. Danas se EKS smatra važnim putem za razumijevanje mnogih neuroloških, fizioloških i patoloških funkcija [5,6,7].

U mozgu glodavca CB1 receptori izolirani su u najvećim količinama iz dijelova bazalnog ganglija, uključujući substanciju nigru (pars reticulata) i globus palidus, te iz hipokampusa i molekularnog sloja cerebeluma. Nalazimo ih i u moždanom deblu. CB1 receptori SŽS-a imaju ključnu ulogu u modulaciji apetita. Njihovom aktivacijom pokreću se mehanizmi koji

za rezultat imaju nastanak osjećaja gladi. Antagonističkim utjecajem na njih suprimira se apetit. CB1 imaju važnu ulogu i u termoregulaciji i termogenezi [5].

Endokanabinoidni sustav pobudio je interes znanstvene zajednice u okviru onkologije. Naime, CB1 i CB2 receptori otkriveni su u stanicama različitih tumora, npr. astrocitoma, karcinoma prostate, karcinoma pluća, karcinoma dojke [8]. Utjecaj EKS-a i u toj je okolini kompleksan. Djelovanjem kanabinoida može se potencijalno spriječiti rast tumorskih stanica [8]. Zapaženo je i da kanabinoidi mogu imati antimetastatski učinak [8]. Prije ovih otkrića uporaba kanabinoida smatrala se ograničenom na palijativnu njegu, no što se više informacija dobiva o EKS-u sve više se vidi mogućnost primjene kanabinoidnih terapija u kurativne svrhe. Endokanabinoidni sustav također ima ključnu ulogu u regulaciji boli [2,5,6,7,8,9], što je potvrđeno otkrićem poveznice između EKS-a i obitelji receptora kanala prolaznog potencijala (TRP) koji su se smatrali sirotim [2,10]. Imaju ključnu funkciju u nastanku kronične boli te indirektnim i direktnim djelovanjem na njih EKS sustav može modulirati kroničnu bol [10]. CB2 receptori najviše su eksprimirani na stanicama imunskog sustava. Njihovom funkcijom mogu se objasniti imunoregulatorna svojstva kanabinoida i EKS-a. EKS sudjeluje i u protuupalnim procesima probavnog sustava, što je pokazano na modelu upale gastrointestinalnog (GI) trakta i istraživanjem EKS-a u okviru reumatoidnog artritisa [9].

Istraživanja su pokazala da EKS utječe na implantaciju i embriogenezu [11]. Otkriveno je da embrij sadrži izražene CB receptore na koje se vežu kanabinoidi koji se luče u maternici. Na taj način EKS sudjeluje u regulaciji implantacije ploda [11]. To bi se moglo pokazati važnim u daljnjim istraživanjima vremenske i prostorne orijentacije ploda i poremećaja koji su povezani s tim fiziološkim procesom. Funkcija anandamida u tom procesu je dvosmislena. Previsoke i preniske koncentracije kanabinoida u žene mogu uzrokovati pobačaj, što ukazuje i na moguću terapijsku primjenu kanabinoida u prevenciji pobačaja. Pravovremenom i

preciznom regulacijom razine kanabinoida mogla bi se poboljšati mogućnosti implantacije i razvoja ploda. Činjenicu da je EKS uistinu sveobuhvatan i da se stalno otkrivaju nove funkcije u kojima sudjeluje, pokazala je studija 2013. godine u kojoj je zabilježen učinak endokanabinoida u mlijeku na novorođenčad. Naime, pokazalo se da ljudsko mlijeko u svom sastavu sadrži brojne kanabinoide koji moduliraju proces sisanja u novorođene djece. Anandamid koji majčinim mlijekom prelazi na dijete stimulira osjećaj gladi u djeteta [11].

## 5. RECEPTORI

Kanabinoidni receptori rasprostranjeni su posvuda po ljudskom tijelu. Sudjeluju u brojnim fiziološkim i patološkim procesima. Ta njihova funkcionalna svestranost ih čini atraktivnim metama za mnoga istraživanja.

### 5.1. CB1 receptori

CB1 je G-proteinom spregnuti (GPCR) kanabinoidni receptor. Jedan je od najčešćih receptora u mozgu sisavca [1]. Kodiran je genom CNR1. Sastoji se od 472 aminokiseline [12]. Različite varijacije CNR1 gena određuju sklonost razvijanju ovisnosti o kanabisu. Osim dugog oblika CB1 receptora, postoje i dvije kraće izoforme koje nastaju alternativning splicingom. CB1 receptor pune duljine najčešći je u mozgu i skeletalnim mišićima, dok je CB1b (koji je kraći za 33 amino kiseline na N-kraju) češći u jetri i gušterači, gdje sudjeluje u regulaciji metabolizma [12]. Farmakološke i fiziološke razlike između te dvije varijante još nisu dovoljno istražene. Za CB1 receptore vežu se EK anandamid i 2-AG [1,12]. Osim njih na CB1 receptore djeluje i egzogeni fitokanabinoid THC te sintetski kanabinoidi poput JWH-073 [2]. CB1 je prvo otkriven u mozgu. Ispostavilo se da je CB1 najčešći GPCR u ljudskome mozgu [2,12]. Regije mozga s najvišim koncentracijama CB1 ekspresije su: olfaktorni bulbus, hipokampus, bazalni gangliji i cerebelum [12]. Isto tako, CB1 se može pronaći u cerebralnom korteksu, septumu, amigdali, hipotalamusu i u moždanome deblu te u dorzalnom rogu leđne moždine. U SŽS-u CB1 se uglavnom nalazi presinaptički na neuronu, te sudjeluje u retrogradnoj signalizaciji. CB1 je zapažen i na postsinaptičkim neuronima. Funkcija postsinaptičkog CB1 je autoinhibicija neurona neokorteksa, koja je također modulirana endokanabinoidima[12]. Osim u neuronima, CB1 se u SŽS-u nalazi i u astrocitima, oligodentrocitima, te mirkoglijji, gdje sudjeluje u medijaciji sinaptičke transmisije [12]. Osim

u SŽS-u, CB1 je eksprimiran i u stanicama perifernog živčanog sustava. U GI traktu, tkiva enteričkog živčanog sustava i stanice crijevne sluznice, enteroendokrine stanice, imunološke stanice te enterociti obiluju CB1 receptorima [12]. Putem neurona ali i ne neuronskim putevima, CB1 modulira motilitet GI trakta, sekreciju želučanih kiselina, tekućine, neurotransmitera, hormona i propusnost crijevnog epitela [12]. Zapažena je povišena ekspresija CB1 receptora tijekom patoloških kardiovaskularnih stanja. Djelovanje CB1 je u tim stanjima štetno. Aktivacijom CB1 receptora dolazi do oksidativnog stresa, upale i fibroze srčanog tkiva [12]. CB1 receptori prisutni su u piramidalnim glutaminičkim stanicama. Te stanice preko GABAeričnog (gama-aminomaslačna kiselina) sustava moduliraju pamćenje, čime je pronađena poveznica između EKS-a i pamćenja [12]. CB1 receptor svojim djelovanjem inhibira izlučivanje gama-aminomaslačne kiseline (GABA) i glutamata iz presinaptičkih neurona. Na taj način CB1 modulira neurotransmisiju [12]. Predloženo je da time CB1 može imati neuroprotektivan učinak protiv ekscitotoksičnosti, prominentni patološki proces u mnogim neurološkim poremećajima, poput epilepsije i neurodegenerativnih bolesti [12]. Funkcija CB1 receptora ovisi o koncentraciji agonista, što još jedna prepreka u terapijskoj primjeni kanabinoidnih lijekova, jer je regulacija endokanabinoida jako fin, osjetljiv proces.

Visoka koncentracija CB1 receptora u motoričkim i senzoričkim regijama mozga upućuje na njegovu važnu funkciju u modulaciji kognicije i motivacije. Distribucija CB1 receptora mijenja se starenjem. U neonatalnom periodu bijela tvar mozga bogata je CB1 receptorima a starenjem se gube CB1 receptori u bijeloj tvari [5,6,7]. CB1 receptori nalaze se primarno presinaptički u centralnim i perifernim neuronima. To omogućuje njihovu funkciju inhibicije otpuštanja neurotransmitera [5,6,7]. Aktivacijom CB1 receptora dolazi do smanjenja razine cikličkog adenozin monofosfata (cAMP) u stanici, čime se inhibira cAMP ovisna protein kinaza (PKA). Aktivacijom CB1 receptora dolazi do stimulacije funkcije mitogen-aktiviranog

proteina (MAP), preko kojeg endokanabinoidi utječu na plastičnost mozga, migraciju stanica te moguće i na rast neurona [6].

U međuvremenu su otkriveni fitokanabinoidi koji imaju antagonističko djelovanje na CB1 receptore. Fitokanabinoidi tetrahidrokanabivarin (THCV) i kanabigerol pokazali su se korisnima u istraživanjima funkcije CB1 receptora. Sintetizirani su i umjetni inverzni agonisti rimonabant i taranabant. Zbog tog svojstva je izrazito teško da THC ostvari izoliranu terapijsku funkciju. Zbog rasprostranjenosti ciljnog receptora teško će doći samo do željenog učinka. Pretkliničke studije pokazale su da aktivacija CB1 receptora u perifernom i centralnom živčanom sustavu može imati povoljan učinak na mnoga patološka psihička i neurološka stanja, kao što su neuropatska bol, upale, anksioznost, depresija, PTSP, neuralgije i bolesti kao što su multipla skleroza i Huntingtonova bolest [7]. Isto tako može povoljno utjecati na ishode upalnih crijevnih bolesti. Pretilost i dijabetes tip 2 stanja su u kojima nalazimo prekomjernu aktivnost CB1 receptora. U tim slučajevima mogu biti korisni CB1 antagonisti. Na ovom primjeru možemo savršeno vidjeti osjetljivi balans CB1 receptora u ljudskome tijelu i njihovu aktivaciju i inaktivaciju, kontroliranu, lokaliziranu, u službi homeostaze. Uz učinak na metabolički sindrom, inhibicija CB1 receptora pokazala je pozitivan učinak na pacijente s Alzheimerovom bolešću i shizofrenijom [5,7].

## **5.2. CB2 receptori**

CB2 je otkriven tri godine nakon CB1. Prvo je izoliran iz makrofaga slezene [12]. Naknadne studije pokazale su da je CB2 predominantno eksprimiran u stanicama imunološkog sustava, te u drugim perifernim tkivima, kao što su kardiovaskularni sustav, gastrointestinalni (GI) trakt, jetra, masno tkivo, kosti te reproduktivni sustav [12]. Kao i CB1, CB2 je GPCR. Kodira



ga gen CNR2, te se sastoji od 360 aminokiselina. Budući da su prvo otkriveni u stanicama imunološkog sustava, smatralo se da kanabinoidni (CB2) receptori sudjeluju samo u imunomodulaciji [1,12]. Novije studije su pokazale da je CB2 prisutan u mozgu, ali je manje eksprimiran nego CB1 [1,12]. Iako je prisutan u puno manjem broju nego CB1 u živčanom sustavu, smatra se da CB2 ima ključnu ulogu u nocicepciji, ovisnosti o drogama, te neuroinflamatornim bolestima [12]. Putem G-proteina CB2 receptori inhibiraju aktivnost adenilat ciklaze [1,12]. U SŽS-u CB2 receptori se primarno mogu naći eksprimirani u sklopu mikroglialnih stanica. Pokazalo se da postoje i CB2 receptori u neuronima hipokampusa [1]. S obzirom na to da aktivacija CB2 stvara protuupalne učinke u SŽS-u, smatra se da bi daljnje istraživanje i razumijevanje CB2 receptora otvorilo put razvoju novih terapijskih mogućnosti za neurodegenerativne bolesti i druga patološka stanja SŽS-a [5].

Zbog široke rasprostranjenosti CB receptora u ljudskom tijelu, kako bi došlo do praktične primjene kanabinoidnih lijekova u terapijske svrhe, potrebno je ograničiti prolaznost tih tvari. Razvojem lijekova koji bi svojom slabom penetracijom kroz krvno moždanu barijeru slabo utjecali na SŽS proširio bi se terapijski spektar kanabinoidnih lijekova. Paralelno s razvojem tih lijekova raste interes za razvoj indirektnih agonista, lijekova koji bi djelovali samo na populacije receptora koji su greškom aktivirani. Indirektni agonisti inaktiviraju kataboličke enzime koji razgrađuju endokanabinoide ili pojačavaju aktivnost putem pozitivne alosteričke modulacije [1].

### **5.3. Ostali receptori**

Osim dvaju već navedenih, najpoznatijih receptora EKS-a CB1 i CB2, postoje i brojni drugi, manje istraženi receptori koji sudjeluju u funkciji EKS-a. Ubrzo nakon otkrića AEA, otkriveno je da on uz kanabinoidne receptore djeluje i na brojne druge ciljeve u organizmu. AEA i drugi kanabinoidi vežu se za kalcijske kanale L-tipa i tako ostvaruju različite učinke

[1]. U desetljećima koja su slijedila otkriveni su novi receptori koji su se pokazali kao potencijalne mete kanabinoida. U mozgu su tako otkriveni receptori GPR55, GPR18, GPR110

[1]. G protein spregnuti receptori (GPCR) jako su rasprostranjeni te na njih djeluje 60% lijekova.

Postoji znatan broj tzv. *orphan* (sirotih) GPCR-ova kojima još nisu poznati endogeni ligandi. GPR55 je receptor koji se može naći u SŽS-u, adrenalnim žlijezdama, GI traktu, plućima, jetri, mjehuru, bubrezima, kostima i drugim tkivima [1,13]. Djelovanjem preko GPR55 mogao bi se objasniti širok spektar funkcija kanabinoida. Međutim, neka istraživanja ne smatraju GPR55 kanabinoidnim receptorom. Pokazalo se da GPR55 ipak aktiviraju različite kanabinoidne tvari kao što su 2-arahidonoilglicerol (2-AG), virodhamin (O-AEA), 2-arahidonil gliceril eter (2-AGE), palmitoiletanolamid (PEA), oleoiletanolamin (OEA), kanabidiol (CBD), abnormalni kanabidiol (abn-CBD) [13].

Aktivacijom GPR55 dolazi do aktivacije fosfolipaze C (PLC), člana A Ras obitelji homolognih gena (RhoA), Rho asocirane protein kinaze (ROCK), puta Ras-Raf-MEK-ERK (MAPK/ERK), p38 mitogen aktivirane protein kinaze i otpuštanja kalcijevih iona, čime se može inducirati aktivnost transkripcijskih čimbenika poput jezgrinog čimbenika aktiviranih T stanica (NF-AT),  $\kappa$ B –jezgrinog čimbenika (NF- $\kappa$ B), proteina koji veže CBP (CREB), i aktivacijskog transkripcijskog čimbenika 2 (ATF2). Time se može dalje povezati EKS s brojnim funkcijama u ljudskom tijelu, poput nastanka upalnih bolesti crijeva (IBD) [13].

Smatra se da AEA i 2-AG imaju sposobnost vezanja za GPR, glicinske, serotoninске te GABA A receptore [1]. Nova istraživanja pokazala su da se AEA i 2-AG mogu vezati na *transient receptor potential cation channel subfamily V member 1* (TRPV1) [1,10]. Prije toga otkrića smatralo se da TRPV1 receptore aktiviraju temperatura  $>42^{\circ}\text{C}$ , protoni te kapsaicin. Danas se zna da se uz endokanabinoide na TRPV1 receptore vežu još i CBD, kanabigerol

(CBG), tetrahidrokanabivarin (THCV) i drugi amidi više masnih kiselina [10]. TRP receptorski kanali imaju ključnu ulogu u nastanku kronične boli. Oni se nalaze gotovo posvuda u senzornim neuronima. Budući da reagiraju na razne fizikalne faktore i upalu, protuupalnim djelovanjem endokanabinoida može se objasniti dio analgezijskih svojstava kanabinoida [10]. Nove studije pokazuju da kanabinoidi imaju i direktan utjecaj na TRP receptore [10].

Anandamid je prvi otkriveni endogeni agonist TPRV1 receptora. On je parcijalni agonist koji uzrokuje blagu analgeziju. Kasnije je otkriven puni agonist u SŽS-u (NADA) koji se potentno veže za TPRV1. 2-AG je kasnije pokazao sposobnost vezivanja na TPRV1 i njegovu posljedičnu desenzitaciju [10].

Pokazalo se i da kanabinoidi imaju sposobnost vezivanja i aktivacije peroksisom proliferatorom-aktiviranih receptora (PPAR)  $\alpha$ ,  $\beta$  i  $\gamma$  [2,14]. PPAR je obitelj jezgrinih hormonskih receptora koji reguliraju transkripciju određenih gena. Geni koje obitelj PPAR regulira povezani su s regulacijom metabolizma, homeostaze, diferencijacijom stanica i upalom [14]. Od 2002. godine pretpostavlja se da kanabinoidi utječu na PPAR receptore. Preko utjecaja kanabinoida na PPAR mogao bi se objasniti jako velik dio učinaka kanabinoida kao što su protuupalni, analgetski, protutumorski, gastrointestinalni i neuromodulacijski učinci [14]. Utjecajem PEA na PPAR $\alpha$  ostvaren je protuupalni učinak u modelu Alzheimerove bolesti. Moguće je da PEA može preko PPAR $\alpha$  ostvariti i analgezijski učinak. Utjecajem kanabinoida OEA u eksperimentalnom modelu s miševima pokazano je da OEA preko PPAR $\alpha$  može djelovati neuroprotektivno kod moždanog infarkta [14]. Neke studije su pokazale da i AEA, 2-AG, 2-AGE, O-AEA potencijalno također mogu aktivirati PPAR $\alpha$ . Postoje studije koje povezuju učinak THC-a na PPAR $\gamma$  s vazodilatacijom krvnih žila [14]. To otvara vrata novim terapijskim mogućnostima u kardiovaskularnim bolestima.



## 6. ENDOKANABINOIDI

Nakon otkrića kanabinoidnih receptora nametnuo se zaključak da moraju postojati endogeni ligandi koji se vežu za njih. S obzirom na lipofilni karakter THC-a, očekivano je da će i endogeni kanabinoidi biti lipofilnog karaktera. Prvo je u mozgu izolirana molekula N-arahidonoiletanolamin ili anandamid (AEA) [1]. Zatim je iz perifernog tkiva izolirana molekula 2-arahidonoil glicerol (2-AG) [1]. 2-AG izoliran je iz crijeva psa, a kasnije je izoliran iz mnogih drugih tkiva glodavaca (mozak, bubreg, jetra, slezena i pluća) [9]. Obje molekule derivati su arahidonske kiseline. Anandamid se veže za CB1 i CB2 receptore, imajući pri tome veći afinitet prema CB1 receptorima. AEA djeluje kao parcijalni agonist. 2-AG se također veže za CB1 i CB2 i djeluje kao puni agonist za oba receptora [1]. Te dvije molekule dva su najčešća endogena liganda koji se vežu za kanabinoidne receptore, pa su tako postale i dva najistraživanija endogena kanabinoida. Za razliku od drugih neurotransmitera, AEA i 2-AG ne pohranjuju se u vezikulama, nego se sintetiziraju neposredno prije izlučivanja. Funkcijski najčešće služe kao brzi retrogradni glasnici [5,6,7]. Nakon sinteze u postsinaptičkom neuronu, 2-AG prolazi retrogradno preko sinapse i aktivira presinaptičke kanabinoidne receptore. Tako endokanabinoidni sustav omogućuje povratnu signalizaciju u sinapsama.

Osim ta dva najčešća endokanabinoida postoje i brojne druge molekule koje sudjeluju u funkciji EKS. Novije otkriveni endokanabinoidi su 2-arahidonil gliceril eter (noladin eter), prvi put izoliran iz mozga svinje, virodhamin (O-AEA), palmitoilethanolamin (PEA), oleoiletanolamid (OEA) [1,6].

## 7. METABOLIZAM

Kao što je već navedeno, AEA i 2-AG derivati su arahidonske kiseline. Pripadaju skupini lipida, specifično, AEA pripada skupini N-acetiletanolamina (NAE), a 2-AG pripada skupini 2-acilglicerola (2-AcG) [1].

### 7.1. Sinteza

Sinteza AEA i 2-AG ovisi o unutarstaničnoj koncentraciji kalcijevih iona. NAE se u stanici dobivaju iz N-acilfosfatidiletanolamina, koji se dobivaju prenošenjem acilnog lanca sa sn-1 položaja fosfolipida na NH<sub>2</sub> skupinu fosfatidiletanolamina. Niskom koncentracijom esterificirane arahidonske kiseline na sn-1 položaju objašnjava se niska koncentracija AEA u usporedbi s NAE [1]. Sinteza anandamida odvija se u postsinaptičkom neuronu. On nastaje cijepanjem fosfolipidnog prekursora N-arahidonoilfosfatidiletanolamina (NAPE). U prijenosu arahidonske kiseline sudjeluje enzim N-acetiltransferaza (NAT). Taj enzim katalizira prijenos arahidonske kiseline iz fosfatidilkolina na fosfatidiletanolaminovu glavnu skupinu. Za pravilnu funkciju ovog enzima potrebna je dostatna količina kalcijevih iona te je njegova funkcija regulirana cAMP-om [1]. Specifična fosfolipaza D (PLD) katalizira otpuštanje anandamida iz NAPE [15]. Drugi enzimi koji sudjeluju u sintezi su glicerolfosfodiesteraza (GED1) i fosfataza PTPN22 [6].

Po svojoj strukturi 2-AG je monoglicerid. Sinteza 2-AG velikim dijelom je pod utjecajem metabolizma triacilglicerola. Ovisi o aktivaciji fosfatidilinozitol-specifične fosfolipaze C (PLC). 2-AcG se sintetiziraju preko enzimske aktivnosti PLC na fosfolipidima, te aktivnostću enzima diacilglicerol lipaze (DGL) DGL $\alpha$  i DGL $\beta$  na rezultirajućim diacilglicerolima (DAG). Stvaranje 2-AG stimulirano je prisutnošću kalcijevih iona. Kalcijevi

ioni ulaze preko 20 glutamatnih N-metil-D-aspartat (NMDA) receptora. NMDA receptor regulira aktivnost fosfolipaze C te se njegovom aktivacijom povećava njena aktivnost [1,9].

## 7.2 Razgradnja

Važan čimbenik za neurološku funkciju i općenito za signalizacijsku funkciju endokanabinoida je brz i pravovremen prekid signala. Taj proces se u EKS-u odvija dvama mehanizmima. Prvo se kanabinoidi prenose u unutrašnjost stanice. S obzirom na lipofilna svojstva endokanabinoida pretpostavljalo se da se kanabinoidi prenose preko stanične membrane pasivnom difuzijom. Danas je poznato da postoje selektivni proteini za anandamid, izolirani iz tkiva jetre i mozga. Taj transportni protein dobio je ime transporter anandamida nalik na FAAH (FLAT) jer je po strukturi analog amid hidrolaze masnih kiselina (FAAH), ali ne posjeduje hidrolitičku aktivnost [1,9].

Poznata su dva glavna enzima koji metaboliziraju endokanabinoide. AEA je supstrat enzima FAAH. FAAH hidrolizom pretvara AEA u arahidonsku kiselinu i etanolamin. Taj enzim posjeduje veći afinitet za AEA nego za zasićene NAE [1]. Osim FAAH u razgradnji AEA sudjeluju COX-2, LOX i citokrom P450 [6]. 2-AG hidrolizira enzim monoacilglicerol lipaza (MAGL). Hidrolizom 2-AG nastaju arahidonska kiselina i glicerol. Razgradnjom endokanabinoida njihove sastavnice se mogu opet iskoristiti u stanici. Inhibitori enzima koji sudjeluju u katabolizmu endokanabinoida predstavljaju potencijalne nove lijekove koji bi se mogli koristiti u mnogim patološkim stanjima. Problem je to što ti enzimi ne djeluju samo na AEA i 2-AG nego i na brojne druge kanabinoidne i nekanabinoidne tvari, tako da izoliran učinak nije jednostavno ostvariti [1].

## 8. ENDOKANABINOIDOM

Kao što je već prije navedeno, endokanabinoidni sustav je kompleksan i utječe na mnoge funkcije u ljudskom organizmu. Tijekom sinteze i razgradnje endokanabinoida nastaju mnoge različite tvari koje mogu utjecati na fiziologiju čovjeka na slične načine. Endokanabinoidom je naziv koji opisuje endokanabinoidni sustav skupa sa svim lipidnim medijatorima, srodnim tvarima endokanabinoida, te bioaktivne metabolite endokanabinoida, njihove prekursore i mnoge ciljane molekule koje pogađaju [1]. To je svojevrsni ekspanzirani endokanabinoidni sustav koji naglašava kompleksnost već kompleksnog EKS-a [1].

Proučavanje EKS-a dodatno otežava činjenica da mnogi okolišni čimbenici mogu utjecati na funkciju endokanabinoidoma. Prehrana različitim masnim kiselinama može utjecati na ljudsko tijelo. Promjenom sastava masti u ljudskom tijelu ostvaruje se učinak na endokanabinoidom jer su endokanabinoidi po sastavu lipidi [1].

Otkriće čimbenika koji utječu na endokanabinoidni sustav će bitno utjecati na daljnji tijek proučavanja endokanabinoidnog sustava i lijekova koji djeluju preko njega [1].



## 9. ULOGA EKS-A U RAZVOJU ŽIVČANOG SUSTAVA

Prisutnost EKS-a je zabilježena već u najranijim fazama ontološkog razvoja. Endokanabinoidni sustav ima ključnu ulogu u neuronalnom razvoju i sinaptogenezi u mnogih sisavaca, kako u glodavaca tako i u ljudi. U štakora je već tijekom desetog postnatalnog dana zabilježena sposobnost EKS-a da regulira sinaptičku transmisiju [15].

Razina aktivnosti EKS-a promjenljiva je kroz cijeli razvojni period čovjeka. Tijekom puberteta su zabilježeni vrhunci u signalizacijskoj funkciji EKS-a. Tijekom određenih perioda ranog razvoja, CB1 receptori se mogu pronaći na nekim subpopulacijama glijalnih stanica, koje imaju ključnu ulogu u razvoju živčanog sustava [15]. Kanabinoidi induciraju mobilizaciju arahidonske kiseline u kortikalnim glija stanicama, zbog čega se smatra da bi CB1R mogao imati ulogu u signalizaciji između neurona i glije [6]. Dokazano je da 2-AG stimulira rast neurita u cerebelarnim neuronima putem mehanizma koji ovisi o intrinzičnoj diacilglicerol lipazi (DAGL). Zbog tog opažanja se danas smatra da bi EKS mogao imati ulogu u diferencijaciji i prostornoj orijentaciji aksona [6]. Tijekom adolescentnog razdoblja povećana je ekspresija CB1 receptora, te su zapažene povišene koncentracije endokanabinoida AEA i 2-AG. U štakora, najviša je ekspresija CB1 receptora u početnoj fazi adolescencije, posebno u prefrontalnom korteksu (PFK) i striatumu. Ta razina ekspresije se polako smanjuje kako nastupa odraslo doba. Kod čovjeka razina ekspresije CB1 receptora dostiže svoj vrhunac prije pete godine života te se ekspresija smanjuje do odrasle faze. Ono što je zajedničko i u ljudi i u glodavaca je varijabilnost EKS-a tijekom različitih životnih faza [15].

Razine endokanabinoida AEA tijekom rane adolescencije pa sve do odraslog doba su varijabilne. Od rane adolescencije do odraslog doba u pravilu razine rastu. Značajne količine AEA zapažene su u PFK-u, hipokampusu, amigdali te hipotalamusu. Razine endokanabinoida

2-AG visoke su tijekom ranih i kasnih faza adolescencije, ali su niže tijekom srednjeg perioda adolescencije. U štakora je zabilježena promjenjiva razina FAAH tijekom adolescencije, koja bi mogla dijelom objasniti varijabilnost razine AEA tijekom adolescencije. Kako variraju razine MAGL ekspresije tijekom razvoja je manje poznato. Ali postoje dokazi da se razina MAGL smanjuje od prve godine života na dalje, te u pubertetu još značajnije opada [15]. Budući da promjene u EKS-u prate mnoge hormonalne promjene u pubertetu, moguće je da su adolescentne promjene u sekreciji hormona povezane s EKS-om. Zapažene su i razlike među spolovima. CB1 ekspresija dostiže svoj vrhunac ranije u ženki štakora. Razine AEA u hipotalamusu u ženki štakora najviše su u kratkom periodu prije puberteta [15]. Moguće je da su EKS i gonadalni hormoni u uskoj svezi. Istraživanja su pokazala da EKS modulira otpuštanje i aktivnost gonadalnih hormona kao što su androgeni, estrogen te progesteron. Uz to se pokazalo da EKS utječe i na otpuštanje gonadotropina. Promjene u sekreciji gonadalnih hormona mogu utjecati na EKS preko osovine hipotalamus, hipofiza, limbičke regije. Sve to upućuje na moguću bitnu funkciju EKS u spolno specifičnom razvoju [15].

Tijekom puberteta razvijaju se različiti obrasci ponašanja. Mehanizmi koji se odvijaju tijekom adolescencije znatno utječu na razvoj anksioznih poremećaja u kasnijoj dobi [15]. Najčešće se aktivacijom EKS-a signalizacije dobiva učinak smanjenja anksioznosti, suprotni učinak se dobiva inhibicijom EKS-a. To se sve odvija putem kortikolimbickih struktura kao što su PFK, hipokampus te amigdala. Kako EKS sazrijeva te promjene prati osovina hipotalamus, hipofiza, nadbubrežna žlijezda. To dodatno upućuje na važnu ulogu EKS-a u učenju straha i stresnim reakcijama. Istraživanja su pokazala da EKS ima ulogu u habituaciji organizma na stresore [15]. Aktivnost osovine hipotalamus-hipofiza-nadbubrežna žlijezda (HPA) je generalno inhibirana EKS-om. Time dolazi do smanjenog izlučivanja glukokortikoida a time i stresa. Pokazalo se da stres i HPA aktivnost mogu povratno utjecati na EKS [15]. Na modelu štakora pokazalo se da je tijekom adolescencije utjecaj EKS-a na osovину HPA mnogo veći.

Da bi se dobio jednak učinak habituacije na stresor potrebna je dvostruko veća stimulacija preko EKS-a [15]. EKS igra bitnu ulogu u sazrijevanju kortikolimbickih sveza. Utječe na ravnotežu izlučivanja i inhibiciju neurotransmitera. Kompleksni odnosi korteksa, limbickih regija te PFK-a ključni su za razvoj odnosa prema strahovima i anksioznosti [15]. Dio limbickih glutamatergičnih neurona posjeduje CB1 receptore. Tim putem se modulira proces razvoja straha [15].

Tijekom adolescencije događa se prekrajanje neuronske strukture PFK-a. Znatnije opada broj ekscitacijskih sinapsi nego li broj inhibicijskih. Tako dolazi do velike promjene u neurološkim odnosima PFK-a. Kako EKS utječe na glutamatergički i GABAnergične neurone, EKS znatno utječe na funkciju PFK-a. Poremećaji endokanabinoidnog sustava mogu imati znatne posljedice na razvoj PFK-a. Istraživanja su pokazala da stimulacijom CB1 receptora dolazi do poremećaja arborizacije piramidalnih neurona u medijalnom PFK-u [15].

Utjecaj EKS-a na razvoj SŽS-a je širok, i još se uvijek istražuje. Ono što je za sada jasno je da utjecaj EKS-a tijekom razvoja ima ključnu ulogu u reagiranju na stres u odrasloj dobi. Uzevši u obzir da je stres značajan dio svakodnevnice modernog čovjeka, istraživanju EKS-a pripisuje se sve veća važnost.

## 10. EKS I RAK

Nova znanstvena otkrića o EKS-u ukazuju na njegovu važnost u okviru onkologije. Podatci o dvostrukoj ulozi EKS-a kao promotora i inhibitora razvoja karcinoma i nastanka metastaza, stavljaju ga u novi položaj u istraživanju tumorogeneze i protutumorskih učinaka [8]. Iako su dobro dokumentirani učinci kanabinoida u palijativnoj medicini, još uvijek nedostaju dodatna klinička istraživanja usmjerena na kurativni terapijski učinak kanabinoida. CB1 i CB2 mogu tvoriti homodimere, heterodimere i različite oligodimere s drugim GPCR ili ne-GPCR strukturama. Otkriveni su brojni heteromeri koji sadrže CB1 i CB2 u tumorskim stanicama. Takvi proteinski kompleksi posjeduju svojevrstne farmakološke i signalizacijske karakteristike te njihova modulacija može imati učinak na antitumorsko djelovanje EKS-a [8].

Mehanizmi uključeni u regulaciju EKS-a te procesi koje EKS regulira uključeni su u gotovo sve puteve koji su važni za nastanak tumora. Sastavni dijelovi EKS-a mogu imati antiproliferativne, proapoptotičke, antiangiogenične, antimetastatske i antiinflamatorne učinke, ovisno o vrsti tumora i okolišu. Normalno se receptori EKS-a i endokanabinoidi nalaze u višim koncentracijama u tumorskom tkivu te se po razini ekspresije može procijeniti razina agresivnosti tumora [8]. Po tome se može zaključiti da prekomjerna aktivacija EKS-a može imati pozitivan učinak na genezu tumora, no EKS je kompleksan sustav te njegovo djelovanje nije crno-bijelo.

Dokumentirani su slučajevi *in vivo* u kojima genetska ablacija CB1 i CB2 receptora snižava kancerogeni učinak štetnog ultraljubičastog zračenja [8]. Druga istraživanja pokazala su da prekomjerna ekspresija CB2 receptora može dovesti do povećanog rizika za nastanak leukemije u slučaju virusne infekcije [8]. S druge strane, postoje zabilježeni slučajevi u kojima je farmakološka aktivacija receptora CB dovela do smanjenja brzine rasta tumora,

ukazujući na potencijalni tumorsupresivni učinak. Dokumentirani su i slučajevi u kojima je zbog gubitka ekspresije CB1 i CB2 došlo do akceleracije rasta tumora [8].

Mnoge vrste tumora imaju tendenciju povećane ekspresije CB1 i CB2 receptora, što ih čini potencijalnim metama za antitumorsku terapiju. Važan čimbenik u utjecaju EKS-a na razvoj tumora, osim kanabinoidnih receptora, također su nekanabinoidni receptori. Sama ekspresija kanabinoidnih receptora pokazala je dvosmislene rezultate, što upućuje na utjecaj drugih čimbenika. Tu se važnima pokazali putevi Ras-Raf-MEK-ERK (RAS/MAPK) i PI3K-AKT, čimbenikom nekroze tumora  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) inducirana sinteza ceramida, geni povezani stresom ATF-4 i TRB3 [16], ciklooksigenaza 2 (COX-2), te mnogi drugi mehanizmi [8].

Stanice glioma najčešći su model za istraživanje protutumorskih učinaka kanabinoida. Inicijalne studije pokazale su da kanabinoidi mogu inducirati apoptozu stanica glioma preko aktivacije receptora CB1 i CB2, koja dovodi do *de novo* sinteze sfingolipida ceramida koji ima apoptotička svojstva [8].

Razina apoptoze inducirana CB receptorima ne ovisi samo o kvantiteti agonista i evociranom odgovoru, nego i o njegovoj kvaliteti. THC uzrokuje mnogo veći apoptotski učinak na nižim koncentracijama u usporedbi sa sintetičkim agonistom WIN-55,212-2, koji ima viši afinitet za receptore [8]. U stanicama glioma apoptotički je potencijal jednak i u CB1 i u CB2, no različiti tipovi tumora različito reagiraju. U stanicama karcinoma pankreasa, dojke i jetre značajni apoptotički učinak iziskuje samo antagonističko djelovanje. Još uvijek nije poznato što dovodi do tih razlika [8].

Drugi mogući mehanizam protutumorskog djelovanja EKS-a uz apoptozu je stimulacija autofagije. Aktivacija CB receptora *in vitro* može dovesti do autofagije, a inhibicija autofagije se postiže antagonističkim djelovanjem na CB receptore. Smatra se da je u tom autofagijskom djelovanju ključan protein p8, čija je koncentracija često povišena tijekom autofagije

inducirane EKS-om [8]. U slučaju hormonski ovisnih tumora postoji moguća poveznica između učinka kanabinoidnih agonista i sniženih koncentracija faktora rasta. Učinak kanabinoida na autofagiju tumora ovisi o specifičnoj vrsti tumora [8].

Istraživanja su pokazala da EKS može utjecati na razvoj krvnih žila pod utjecajem vaskularnog endotelnog čimbenika rasta (VEGF) u gliomu i karcinomu štitnjače. Aktivacijom CB1 i CB2 agonistima zapažena je inhibicija adhezije lokalnih i udaljenih invazivnih stanica [8]. Spomenuti učinak uočen je u *in vitro* i *in vivo* istraživanjima raznih tumora poput glioma, karcinoma dojke, pluća i cerviksa. Važno je naglasiti, da kada dođe do inhibicije sinteze ceramida, ti pozitivni učinci izostaju [8].

Određena istraživanja pokazala su da vezivanje liganda na CB2 može dovesti do nastanka okoline povoljne za rast i razvoj tumora. Aktivacijom CB2 dolazi do inhibicije protutumorskog učinka imunološkog sustava. Postoje i istraživanja koja pokazuju da kanabinoidi mogu imati pozitivan utjecaj na aktivaciju imunološkog sustava u protutumorskoj reakciji. Time opet dolazi do izražaja dvostruka funkcija EKS-a u nastanku tumora [8].

Postoji mnogo dokaza koji upućuju na važnost EKS-a u regulaciji tumorogeneze. Zbog toga je EKS danas predmet mnogih onkoloških istraživanja, čiji bi rezultati mogli dovesti do razvoja novih terapija.

## 11. GI TRAKT I EKS

### 11.1 Utjecaj endokanabinoida na crijevnu mikrofloru

Dugo je vremena poznata uloga crijevne mikroflore kao zaštitnog faktora od nastanka upalnih bolesti probavnog sustava, raznih lezija, infekcija i metaboličkih bolesti. Moderna saznanja upućuju na važnu funkciju crijevne mikroflore u mnogim drugim fiziološkim funkcijama u ljudskome tijelu. Poremećaj u crijevnoj mikroflori može imati teške kratkoročne te dugoročne posljedice za ljudsko zdravlje poput dispepsije i sindroma iritabilnog crijeva [17]. Probiotik *Lactobacillus acidophilus* ima antinociceptivni učinak, smanjuje visceralnu bol povećavajući ekspresiju CB2 receptora i opioidnog  $\mu$  receptora. Nije poznato je li taj učinak direktno ili indirektno posredovan ostalom crijevnom mikroflorom [1]. Aktivacija CB1 receptora može dovesti do povećane propusnosti crijevnog epitela, što za posljedicu ima razvoj intestinalne disbioze, koja dovodi do upalnih stanja sluznice. Kapsaicin, tvar koju ljudi najčešće unose putem čili papričica, djeluje kao agonist TRPV1 receptora te ima protektivni učinak na crijevnu sluznicu i pozitivne učinke na metabolizam. Odnos endokanabinoidnog sustava i crijevne mikroflore je dvosmjernan. Blokada CB1 receptora dovodi do poboljšanja prognoze kod adipoznosti i pratećih metaboličkih bolesti jer je inaktivacija CB1 receptora povezana s povećanjem količine bakterije *Akkermansia muciphila*, komenzalne gram negativne bakterije koja ima pozitivan učinak na metabolizam. *Akkermansia muciphila* je pokazala i protuupalni učinak u ljudskome crijevu [1].

Suprotno tome, prekomjerna ekspresija i aktivacija CB1 receptora dovodi do povećanog rizika za nastanak adipoznosti i raznih metaboličkih bolesti [18].

## 11.2. EKS i upalne bolesti crijeva

Upalne bolesti crijeva (IBD) i kolorektalni karcinom bolesti su koje su sve češće u modernom zapadnom društvu. Prelevancija ulcerativnog kolitisa (UC) i Crohnove bolesti (CD) se povećala u zadnjih nekoliko desetljeća te sada iznosi više od 200 slučajeva bolesti po 100 000 stanovnika [19]. Terapijske mjere za liječenje IBD još su uvijek nedostatne. Poznata je prisutnost i važna uloga EKS-a u regulaciji probavnog sustava te zbog svojih imunomodulacijskih svojstava utjecaj na EKS može biti dobar smjer u razvoju terapije ovih teških bolesti. Mnoga novija istraživanja pokazala su da kanabinoidi imaju protuupalni učinak na tkivo probavnog trakta. U probavnom traktu EKS sudjeluje u brojnim fiziološkim funkcijama, sve u svrhu održavanja homeostaze. Mnogi nekanabinoidni receptori modulirani su kanabinoidima, kao na primjer peroksisom proliferator-aktivirani receptor (PPAR) i G protein-spareni receptor 55 (GPR55). Uz njih djeluju i endokanabinoidima slični lipidi. Svi oni u vezi su s EKS-om i zajedno ih nazivamo endokanabinoidomom [1,19]. Komponente EKS-a i endokanabinoidoma imaju značajan i opsežan učinak na probavni trakt, kao što su modulacija apetita i sitosti, propusnosti epitela i imunomodulacija [19]. Po dosadašnjim spoznajama naslućivan je protuupalni učinak EKS-a u kontekstu IBD, kao i uloga u ponovnoj uspostavi homeostaze. To se pokazalo djelomično točnim, budući da je u tkivima pogođenim IBD-om pronađena povišena koncentracija AEA, PEA i OEA. Zabilježene su povećane koncentracije AEA i PEA u bioptatima crijevne mukoze pacijenata s UC, u usporedbi s kontrolom. Zabilježene su i povišene koncentracije 2-AG u bioptatima tkiva pacijenata s CD. U funkciji EKS-a u probavnom sustavu do izražaja dolazi endokanabinoid OEA koji se sintetizira i razgrađuje po sličnim načelima kao i PEA i AEA, što se vidi i po porastu koncentracije OEA zajedno s koncentracijom AEA i PEA u IBD-u [19].



Poznato je da osobe s visokim indeksom tjelesne mase (ITM) i visokim razinama HDL kolesterola u krvi mogu imati povišene koncentracije 2-AG u krvnoj plazmi, što može utjecati na rezultate istraživanja IBD. Za sada nisu zabilježene korelacije između koncentracije AEA, PEA i OEA u plazmi i HDL kolesterola u krvi [19].

Iz ovoga se može vidjeti da endokanabinoidni sustav sigurno ima ulogu u modulaciji upala koje nastaju u probavnom traktu, te da elementi EKS-a mogu potencijalno poslužiti kao pokazatelj uznapređovalosti kolorektalnog karcinoma. Daljnje istraživanje EKS-a može otvoriti razne puteve koji bi mogli biti korisni u terapiji za ove sve češće bolesti [1,19].

## 12. LIJEKOVI S VIŠE META

Bez obzira radi li se o receptorima, ligandima ili enzimima, zbog isprepletenosti endokanabinoidnog sustava s velikim brojem tjelesnih funkcija, teško je utjecati na pojedine elemente bez rizika za poremećaj homeostaze. To je jedan od glavnih problema koji priječi širu uporabu sintetskih i fitokanabinoida [1].

Jedna mogućnost za razvoj specifičnih lijekova koji djeluju putem EKS-a predstavljaju lijekovi s više specifičnih meta. Jedna od mogućih posljedica inhibicije enzima koji sudjeluju u razgradnji endokanabinoida je aktivacija nekanabinoidnih receptora i tako mogu nastati brojne nuspojave [1]. Lijekovima koji sadrže više aktivnih tvari, jednu koja inhibira FAAH ili MAGL i drugu koja bi antagonistički djelovala na nekanabinoidne receptore, moglo bi se izbjeći nastanak nuspojava [1]. Olvanil je lijek koji inhibira prijenos endokanabinoida preko stanične membrane. Inhibicijom transporta endokanabinoida u stanicu spriječit će se njihova razgradnja, budući da se katabolitički enzimi nalaze intracelularno [1]. AM404 prvotno je dizajniran kao inhibitor membranskog transporta endokanabinoida. Kasnije je otkriveno da aktivira i desenzibilizira TRPV1 te da je metabolički produkt paracetamola i u ljudi i u štakora. Djelovanjem AM404 može se objasniti dio protuupalnog djelovanja paracetamola. N-arahidonil-serotonin inicijalno je osmišljen kao FAAH inhibitor [1]. Kasnije se ispostavio da je endogeni lipid te da antagonizira TRPV1. Djelujući na CB1 i TRPV1 postiže anksiolitički, analgetički i antidepresivni učinak u štakora. Potencijalno bi mogao biti korišten kao terapija za IBD [1]. Inhibicijom katabolizma AEA putem FAAH dolazi do razgradnje AEA putem COX2. Tim putem nastaju prostamidi, koji mogu imati proupalni i pronocioceptivni učinak. Da bi se to spriječilo potrebno je koristiti istovremeno FAAH inhibitor te inhibitore prostamidskih receptora, ili FAAH-COX inhibitor [1].

Osim sintetskih lijekova s više meta, korisnima su se pokazali lijekovi bazirani na djelovanju fitokanabinoida. U početku se smatralo da je THC samostalno najvrjedniji potencijalni terapijski čimbenik [1]. Međutim, novija istraživanja pokazala su da THC svoje djelovanje ostvaruje uz pratnju drugih fitokanabinoida te brojnih drugih molekula prisutnih u biljnim preparatima. Ta pojava se naziva *entourage effect* (učinak pratnje) [20]. Jedna skupina tvari koje sudjeluju u učincima fitokanabinoida su terpenoidi poput limonena, mircena, linaloola, nerolidola, fitola te  $\alpha$ -pinena [20]. Daljnjim istraživanjem kompleksnih međuodnosa fitokanabinoida i drugih tvari prisutnih u biljnim preparatima mogla bi se znatno proširiti terapijska primjena fitokanabinoida.

Sativex je prvi botanički lijek proizveden iz konoplje [1]. To je pripravak koji sastoji od 1:1 mješavine standardiziranih ekstrakta dviju različitih sojeva *C. sativa*, jedan soj bogat THC-om, a drugi CBD-om. Uz to su prisutne i druge komponentne kanabisa. Daje se u obliku oromukoznog spreja. Od 2007. godine koristi se u terapiji neuropatske boli (samo u Kanadi) te u terapiji spasticiteta kod oboljelih od multiple skleroze (u 30 različitih država) [1]. Klinički se Sativex još koristi kao terapija boli u oboljelih od raznih karcinoma. CBD smanjuje psihoaktivno djelovanje THC-a, čime omogućava širu terapijsku primjenu. Taj učinak CBD ostvaruje putem svog utjecaja na razne mete u organizmu, npr. na adenzin receptor A2a te serotoninški receptor 1A (5-HT1A) [1].

Kao što se vidi, zbog kompleksnosti endokanabinoidnog sustava teško je stvoriti lijekove koji djeluju izolirano. Kada tome nadodamo i relativnu neistraženost endokanabinoidnog sustava, lako se može shvatiti zašto postoje mogućnosti za iznenadne nuspojave. Ipak, lijekovi s više meta koji ne djeluju samo na pojedine dijelove, nego na šire dijelove endokanabinoidnog sustava i povezanih struktura imaju mnogo potencijala.

### 13. ZAKLJUČAK

Endokanabinoidi sustav još uvijek je neistraženo područje ljudske fiziologije. Budući da je uključen u mnoge fiziološke i patološke procese, bitno je daljnje istraživanje i razumijevanje EKS-a. Lijekovi koji djeluju na endokanabinoidni sustav, osobito ako ga se promatra kao dio većeg signalizacijskog sustava, endokanabinoidoma, već postoje te se razvijaju još i mnogi novi [1]. Nove spoznaje o endokanabinoidumu mogle bi otvoriti mnoga vrata novim terapijskim opcijama. Takvi lijekovi mogli bi povoljno utjecati na kvalitetu života bolesnika oboljelih od sve češćih bolesti modernog svijeta, kao što je IBD. Sve veći uspjeh biljnih lijekova koji se temelje na ne-psihotropnim fitokanabinoidima rezultat je, vjerojatno barem djelomično, njihove modulacije nekoliko proteina endokanabinoidoma. Stoga postoji snažan razlog za razvoj sintetičkih ili prirodnih lijekova s višestrukim djelovanjem na endokanabinoidome. Endokanabinoidomski receptori prepoznaju manji broj endogenih liganda, kao što je CB2, koji su selektivno eksprimirani u tkivima ili na stanicama u patofiziološkim uvjetima. Međutim, mnoštvo potencijala u terapijskim mogućnostima koje nudi je upravo zahvaljujući svojoj složenosti. Napredak tehnologije će omogućiti sljedeća istraživanja u području endokanabinoidnog sustava te će ta istraživanja pomoći u uklanjanju stigme s ove skupine lijekova.

## **14. ZAHVALE**

Zahvaljujem svom mentoru doc. dr. sc. Ognjenu Brboroviću na uloženom trudu, strpljenju i vremenu prilikom izrade ovog diplomskog rada.

Kolegama što su mi lektorirali rad te obitelji i prijateljima na svemu ostalome.

## 15. LITERATURA

1. Di Marzo V. New approaches and challenges to targeting the endocannabinoid system. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2018;17(9): 623–39.
2. Mechoulam R, Shvo Y, Hashish. I. The structure of cannabidiol. *Tetrahedron.* 1963;19(12):2073-8.
3. Mechoulam R, Shani A, Edery H, Grunfeld Y, Chemical basis of hashish activity. *Science.* 1970;169(3945):611-2.
4. Mizrachi Zer-Aviv T, Segev A, Akirav I. Cannabinoids and post-traumatic stress disorder: clinical and preclinical evidence for treatment and prevention. *Behav Pharmacol.* 2016;27(7):561-9.
5. Basavarajappa BS, Shivakumar M, Joshi V, Subbanna S. Endocannabinoid System in Neurodegenerative Disorders. *J Neurochem.* 2017;142(5): 624–48.
6. Basavarajappa BS. Fetal Alcohol Spectrum Disorder: Potential Role of Endocannabinoids Signaling. *Brain Sci.* 2015;5(4): 456–93.
7. Mechoulam R, Parker LA. The endocannabinoid system and the brain. *Annu Rev Psychol.* 2013;64:21-47.
8. Moreno E, Cavic M, Krivokuca A, Casadó V, Canela E. The Endocannabinoid System as a Target in Cancer Diseases: Are We There Yet? *Front Pharmacol.* 2019;10:339.
9. Lu Y, Anderson HD. Cannabinoid signaling in health and disease. *Can J Physiol Pharmacol.* 2017;95(4):311-27.

10. Storozhuk MV, Zholos AV. TRP Channels as Novel Targets for Endogenous Ligands: Focus on Endocannabinoids and Nociceptive Signalling. *Curr Neuropharmacol.* 2018;16(2): 137–50.
11. Chan HW, McKirdy NC, Peiris HN, Rice GE, Mitchell MD. The role of endocannabinoids in pregnancy. *Reproduction*, 2013;146:101-109.
12. Zou S, Kumar U. Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(3): 833.
13. Shore DM, Reggio PH, The therapeutic potential of orphan GPCRs, GPR35 and GPR55. *Front Pharmacol.* 2015;6:69.
14. O'Sullivan SE, An update on PPAR activation by cannabinoids. *Br J Pharmacol.* 2016;173(12):1899–910.
15. System and Genetic Variation in Adolescent Brain Development. *Neuropsychopharmacology.* 2018 ;43(1):21-33.m: physiology and pharmacology. *Alcohol Alcohol.* 2005 ;40(1):2-14.
16. Carracedo A, Gironella M, Lorente M, Garcia S, Guzmán M, Velasco Get, i sur. Cannabinoids induce apoptosis of pancreatic tumor cells via endoplasmic reticulum stress-related genes. *Cancer Res.* 2006 1;66(13):6748-55.
17. Babić Z. Dispepsija. Hrvatska; Zagreb: Medicinska Naklada; 2011.
18. Kang C, Wang B, Kaliannan K, Wang X, Lang H, Hui S, i sur. Gut Microbiota Mediates the Protective Effects of Dietary Capsaicin against Chronic Low-Grade Inflammation and Associated Obesity Induced by High-Fat Diet. *MBio.* 2017;8(3).

19. Grill M, Högenauer C, Blesl A, Haybaeck J, Golob-Schwarzl N, Ferreirós N, i sur. Members of the endocannabinoid system are distinctly regulated in inflammatory bowel disease and colorectal cancer. *Sci Rep.* 2019; 9(1):2358.
20. Russo EB. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol.* 2011; 163(7): 1344–1364.



## **16. ŽIVOTOPIS**

Rođen sam 22.3.1995 u Šibeniku. Završio sam Osnovnu školu Juraj Šižgorić. Nakon osnovne škole upisao sam Gimnaziju Antun Vrančić. Medicinski fakultet u Zagrebu upisao sam 2013. Godine. Aktivno se služim engleskim i njemačkim jezikom.