

Rola systemu endokannabinoidów w patogenezie i terapii otyłości

The role of Endocannabinoid System in pathogenesis and therapy of obesity

^{1,2}Maria Pysznik, ^{1,2}Katarzyna Pogoda, ³Artur Mazur, ^{1,3}Jacek Tabarkiewicz

¹Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ²Studium Medycyny Molekularnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

³Instytut Pielęgniarstwa i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Rzeszowski

Adres do korespondencji: Jacek Tabarkiewicz, Katedra i Zakład Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 4a, 20-093 Lublin, jacek.tabarkiewicz@gmail.com

Słowa kluczowe: układ Endokannabinoidowy, receptor kanabinoidowy, agonista, antagonist, otyłość

Key words: Endocannabinoid System, cannabinoid receptor, agonist, antagonist, obesity

STRESZCZENIE/ABSTRACT

Wkrótce po odkryciu pierwszego aktywnego składnika *Cannabis sativa* - Δ^9 -THC wykazano, iż jego działanie jest zależne od aktywacji specyficznego białka błonowego, tj. receptora kanabinoidowego (CB). Jak dotąd, zidentyfikowano dwa typy tego receptora – CB1 i CB2. Obecnie wiadomo już, że należą one do wewnątrzkomórkowego systemu sygnałowego, nazywanego układem kanabinoidowym (ECS), w którego skład wchodzi także ich ligandy oraz enzymy związane z syntezą i degradacją tych związków. ECS jest obecny w rejonach mózgu związanych z kontrolą odżywiania, a także w tkankach obwodowych odpowiedzialnych za pobór i przetwarzanie energii oraz metabolizm lipidów i glukozy, co wskazuje na udział tego układu w patogenezie otyłości. Liczne badania mówią m.in. o silnym oreksygenym działaniu endokannabinoidów, wywoływanym za pośrednictwem receptorów CB1 w CUN. Co więcej, aktywacja CB1 w tkankach obwodowych nasila lipogenezę, sprzyjając tym samym akumulacji tkanki tłuszczowej w takich narządach, jak wątroba. W trzustce i mięśniach szkieletowych zastosowanie agonistów CB1 indukowało wytworzenie insulinooporności i rozwój hiperglikemii, stanowiących parametry metaboliczne otyłości. Wyniki te dały podstawy do poszukiwania substancji blokujących CB1 o potencjalnej skuteczności w terapii otyłości. Próby przedkliniczne i kliniczne z zastosowaniem rimonabantu – antagonisty/odwrotnego agonisty CB1 – przyniosły korzystne rezultaty w postaci obniżenia masy ciała i zmniejszenia ryzyka powikłań kardiometabolicznych. Jednakże ze względu na poważne psychiatryczne skutki uboczne został on wycofany z obiegu. Celem badań jest przygotowanie leku, który służyłby leczeniu otyłości, jednocześnie nie wywołując powikłań. Ostatnio uwaga naukowców koncentruje się wokół neutralnych antagonistów i selektywnych, odwrotnych agonistów receptorów kanabinoidowych. Endokrynol. Ped. 13/2014;2(47):65-76.

Soon after the discovery of the first active component of *Cannabis sativa* – Δ^9 -THC, it has been shown that its action is mediated mainly through the activation of specific membrane protein – cannabinoid receptor (CB). So far two types of this protein were isolated: CB1 and CB2. It is already known that they constitute the intracellular signaling system, called Endocannabinoid System (ECS), which also includes their ligands and enzymes involved in the synthesis and

degradation of this compounds. ECS is abundant in the brain regions associated with feeding control and also in peripheral organs regulating food intake and glucose and lipids metabolism, suggesting the crucial role of this system in pathogenesis of obesity. Much evidence has proven potent orexigenic action of endocannabinoids induced via the CB1 receptors activation in CNS. They also stimulate lipogenesis, leading to the fat accumulation in such organs like the liver. Moreover, the CB1 receptor agonist-based treatment induced insulin resistance and development of hyperglycaemia – characteristic metabolic parameters of obesity. These results has led to the development of CB1-blocking drugs with potential efficacy in obesity treatment. Preclinical and clinical studies with the use of antagonist/inverse agonist – rimonabant have shown significant decrease in body weight and improve in cardiometabolic risk factors. However, serious psychiatric effects of this substance contributed to its withdrawal from the market. The main goal is to design a drug which might prevent obesity without these side effects. Therapies based on the CB1 receptor's neutral antagonists or selective, inverse agonists might be a promising strategy in obesity treatment. *Pediatr. Endocrinol.* 13/2014;2(47):65-76.

Wstęp

Otyłość stanowi obecnie poważny problem zarówno medyczny, jak i społeczny. Światowa Organizacja Zdrowia prognozuje, iż do roku 2015 do około 2,3 biliona wzrośnie liczba ludzi cierpiących z powodu nadwagi, zaś ponad 800 milionów będzie dotkniętych problemem otyłości. Z tego względu zjawisko to obecnie zyskało miano epidemii [1–3]. Otyłość jest chorobą przewlekłą, charakteryzującą się między innymi zaburzeniem homeostazy energetycznej organizmu i nadmiernym odkładaniem się tkanki tłuszczowej w różnych rejonach ciała, a także nieprawidłowym profilem wydzielanych hormonów i cytokin [3, 4]. Rozwój otyłości wynika ze współlistnienia wielu czynników [2, 4]. Coraz więcej dowodów wskazuje na udział układu endokannabinoidowego w patogenezie tej choroby, sugerując także możliwość poszukiwań nowych koncepcji terapeutycznych celujących w poszczególne elementy tego układu.

Budowa i mechanizmy działania układu endokannabinoidowego

W połowie lat 60. ubiegłego stulecia zidentyfikowano pierwszy związek zaliczany do kanabinoidów. Był to główny aktywny składnik *Cannabis sativa* (konopii siewnej)- Δ^9 -THC (tetrahydrokanabinol). Chęć zbadania mechanizmów warunkujących działanie tego związku, przede wszystkim psychoaktywne, doprowadziła do odkrycia specyficznego białka błonowego, na który THC oddziałuje – receptora kanabinoidowego (CB) [5–7]. Zidentyfikowano dotąd i sklonowano dwa typy receptorów kanabinoidowych – CB1 i CB2, należące do nadrodziny receptorów związanych z białkiem $G_{i/o}$ [5, 7, 8]. Najwyższą ekspresję typu CB1 stwier-

dza się w zakończeniach nerwowych, szczególnie w mózgu, a także w mniejszych ilościach w tkankach obwodowych, takich jak mięśnie szkieletowe, wątroba, tkanka tłuszczowa, jelita czy trzustka [3, 9]. Aktywacja tego receptora wpływa na zahamowanie uwalniania neurotransmiterów, zarówno pobudzających jak i tłumiących. Wśród nich możemy wyróżnić acetylocholinę (Ach), noradrenalinę (NA), dopaminę, 5-hydrokсыtryptaminę (5-HT), kwas gamma-aminomasłowy (GABA), glutaminyan, asparaginyan i cholecystokininę (CKK) [3, 7, 10]. Z kolei receptor CB2 najczęściej jest zlokalizowany w komórkach układu immunologicznego – limfocytach T i B, monocytach i makrofagach [3, 7], zaś jego stymulacja wiąże się z kontrolą wydzielania cytokin i związanych z nimi reakcji immunologicznych [3, 10].

Obecność receptorów kanabinoidowych w ludzkim organizmie przyczyniła się do odkrycia naturalnych, endogennych substancji stymulujących te białka, tj. endokanabinoidów (EC). Najlepiej dotąd poznanymi związkami z tej grupy są AEA (anandamid, N-arachidonoyletanoloamina) oraz 2-AG (2-arachidonoylglicerol) [7, 9]. Należą one do rodzin lipidów obojętnych: amidów kwasów tłuszczowych (*fatty acid amides*, FAA) oraz monoacylogliceroli (*monoacylglycerols*, MAG), odpowiednio [8]. Obecnie wiadomo już, że endokanabinoidy nie są przechowywane w pęcherzykach wydzielniczych, lecz w odpowiedzi na depolaryzację błony i wzrost wewnątrzkomórkowego poziomu jonów Ca^{2+} są syntetyzowane „na żądanie” z prekursorów fosfolipidowych błony postsynaptycznej i natychmiast wydzielane do przestrzeni zewnątrzkomórkowej [3, 8, 11, 12]. Prekursorem dla AEA jest N-arachidonoylfosfatydyloetanoloamina (NAPE), podczas gdy 2-AG powstaje z diacylogliceroli (DAG). AEA i 2-AG są syntetyzowane przez Ca^{2+} -wrażliwe en-

zymy: odpowiednio przez NAPE-selektywną fosfolipazę D (NAPE-PLD) oraz lipazę DAG, w dwóch izoformach DAGL α i DAGL β [3, 7, 13, 14]. Endokannabinoidy uważane są za lokalne neuromodulatory wsteczne [14], które po uwolnieniu z błony postsynaptycznej, drogą autokrynną bądź parakrynną, aktywują swoiste receptory CB obecne w błonie presynaptycznej, wywołując szereg zmian biochemicznych [8]. Do tych zmian zalicza się: hamowanie aktywności cykazy adenylowej, skutkujące obniżeniem poziomu cAMP, blokowanie bramkowanych napięciem kanałów wapniowych typu N, P i Q, aktywację kanałów potasowych oraz szlaków kinaz białkowych aktywowanych mitogenami (MAPK) [5, 6, 8, 10]. Dowiedziono również, że receptor CB1 łącząc się z białkami G $_{q/11}$ może przyczyniać się do wzrostu aktywności fosfolipaz C (PLC), a przez to do zwiększenia wewnątrzkomórkowego stężenia jonów Ca $^{2+}$ [10]. Po aktywacji odpowiednich receptorów endokannabinoidy ulegają wychwytowi zwrotnemu (*reuptake*) i są inaktywowane przy udziale enzymów degradujących [3]. Anandamid jest rozkładany przede wszystkim przez amidową hydrolazę kwasów tłuszczowych (*fatty acid amide hydrolase*, FAAH), natomiast 2-AG przez lipazę monoacyloglicerolową (*monoacylglycerol lipase*, MAGL) [7, 14]. Niedawno odkryto, że 2-AG może być także degradowany przy udziale $\alpha\beta$ -hydrolazy 6 (ABH6) oraz $\alpha\beta$ -hydrolazy 12 (ABH12) [15, 16].

Nie ulega wątpliwości, że głównym celem endogennych kanabinoidów jest wiązanie i aktywacja swoistych receptorów kanabinoidowych – CB1 i CB2. AEA charakteryzuje się najwyższym powinowactwem dla obu typów CB, natomiast 2-AG cieszy się wyższą skutecznością w aktywowaniu receptorów CB1 i CB2. Najprawdopodobniej wynika to z faktu, iż AEA działa jako częściowy agonista tych białek [17]. W ostatnich latach opisano mechanizmy działania kanabinoidów endogennych, syntetycznych oraz roślinnych, w których pośredniczą receptory nie-kanabinoidowe [15,18]. Wykazano, że anandamid może stymulować receptor waniloidowy TRPV1, a w wysokich stężeniach także jądrowy receptor aktywowany proliferatorami peroksydomów typu α i γ (PPAR α i γ) [15, 19]. Poza tym zarówno AEA, jak i 2-AG mogą oddziaływać na receptor sierocy GPR55 [3, 7, 15, 18].

System receptorów kanabinoidowych CB1 i CB2, endogennych ligandów tych receptorów oraz zespół enzymów odpowiedzialnych za syntezę i degradację tych substancji nosi nazwę układu endokannabinoidowego (ECS) [5, 8, 10, 20].

Udział układu endokannabinoidowego w patogenezie otyłości

ECS odgrywa istotną rolę w wielu procesach metabolicznych, między innymi wpływa na utrzymanie homeostazy energetycznej organizmu poprzez kontrolę pobierania pokarmu [14, 17]. Obecność receptorów kanabinoidowych i ich endogennych mediatorów została dowiedziona w różnych rejonach centralnego układu nerwowego, związanych z kontrolą odżywiania, tj. podwzgórze, jądrze półleżącym, nerwie błędnym i zakończeniach zwoju dolnego, a także w niektórych obszarach pnia mózgu [17].

Liczne badania mówią o silnym oreksygenym, tj. stymulującym łaknienie, działaniu endokannabinoidów, wywoływanym za pośrednictwem receptorów CB1 w centralnym układzie nerwowym [17,21,22]. Również roślinny kanabinoid – THC wywołuje podobny efekt. Silna potrzeba spożycia pokarmu, czyli tzw. hiperfagia, jest jednym z charakterystycznych objawów występujących u osób nadużywających marihuanę [17]. W jednym z badań stymulacja receptorów CB1 za pomocą bezpośredniego podania 2-AG do układu nerwowego przyczyniła się do wzmocnienia apetytu u myszy doświadczalnych [23]. W tym samym badaniu wykazano podwyższony poziom endokannabinoidów w odpowiedzi na kilkunastogodzinne głodzenie, a następnie ich spadek po wznowieniu odżywiania [23]. Wyniki te jednoznacznie wskazują na udział ECS w kontroli spożycia pokarmu. Za kluczowy rejon mózgu odpowiedzialny za stymulację apetytu przez endokannabinoidy uważa się podwzgórze [17]. W nim przetwarzane są sygnały nerwowe pochodzące z narządów obwodowych, takich jak wątroba czy jelita, dając informację o obecnym statusie energetycznym [14].

Wzmoczony apetyt, który powstaje w wyniku aktywacji receptorów CB1, dotyczy przede wszystkim pokarmów o wysokich walorach smakowych. Wiąże się to z pobudzaniem kolejnego ważnego regionu mózgu, regulującego zachowania żywieniowe, tj. ośrodka nagrody [17]. W jednym z badań wykazano wzrost poziomu endokannabinoidów w jądrze półleżącym (związanym z systemem nagrody w mózgu) w wyniku głodzenia. Jednocześnie podanie 2-AG w ten rejon zwiększyło przyjmowanie pokarmu, zależne od CB1 [23].

Liczne dowody potwierdzają słuszność hipotezy dotyczącej udziału układu endokannabinoidowego w patogenezie otyłości. Badania wskazują, iż

w przebiegu tego schorzenia poziom krążących endokannabinoidów jest istotnie podwyższony [9, 24]. Zaburzenia te były stwierdzane zarówno na poziomie centralnym, jak i obwodowym [9].

Jedną z przyczyn tego stanu może być utrata kontroli neurohormonalnej nad poziomem EC. Badania wskazują na istotne znaczenie leptyny w kontroli poziomu EC w otyłości. Leptyna jest hormonem, który oddziałując na neurony podwzgórza, zmniejsza apetyt oraz wpływa na redukcję masy ciała [25]. Stwierdzono, że u otyłych ob/ob myszy leptyna powodowała redukcję poziomu 2-AG oraz AEA w podwzgórzu [23, 25]. Jest to zgodne z ogólnym przekonaniem, że leptyna obniża stężenie endokannabinoidów. Jednocześnie obniżenie poziomu leptyny w wyniku ograniczenia spożywania pokarmów może wyjaśniać przyczynę równoczesnego wzrostu stężenia endokannabinoidów w odpowiedzi na głodzenie [9]. Do rozwoju otyłości może dojść w wyniku oporności na działanie leptyny, rozwijającej się podczas hiperleptynemii [24]. Zastosowanie odwrotnego agonisty obwodowego receptora CB1 przyczyniło się do zmniejszenia sekrecji leptyny przez adipocyty i przywrócenia jej normalnego poziomu, co skutkowało zniesieniem oporności neuronów podwzgórza na działanie tego hormonu u otyłych myszy [24].

Kolejnym hormonem, który wpływa na poziom krążących endokannabinoidów, jest grelina. Kola i wsp. wykazali istotny wzrost stężenia 2-AG w podwzgórzu pod wpływem bezpośredniego podania tego peptydu [26, 27]. Wydzielany w żołądku na czczo, za pośrednictwem podwzgórza zwiększa łaknienie w wyniku stymulacji sekrecji neuropeptydu Y, białka agouti oraz oreksyny, a także poprzez hamowanie wydzielania antyoreksygennych związków, takich jak proopiomelanokortyna, białko CART (*cocaine- and amphetamine-regulated transcript*, CART) oraz hormon melanotropowy (*melanocyte-stimulating-hormone*, MSH) [2, 27]. Efekt ten wydaje się zależny od aktywacji kinazy białkowej aktywowanej AMP, kluczowego enzymu w utrzymaniu homeostazy energetycznej organizmu. W niedawno przeprowadzonym doświadczeniu u myszy, u których dokonano ablacji genu kodującego receptor CB1 lub zablokowano ten receptor za pomocą selektywnego antagonisty CB1- rimonabantu, nie stwierdzono aktywacji AMPK zależnej od greliny. Wynik ten wskazuje jednoznacznie, iż oreksygenne działanie tego hormonu jest zależne od CB1 [27]. W innym badaniu wykazano, iż kannabinoidy także aktywizują AMPK w podwzgórzu,

a efekt ten jest możliwy tylko w obecności receptora dla greliny (GHS-R), co potwierdza zależność tych dwóch układów [26].

Coraz więcej dowodów wskazuje na istotny wpływ ECS w integracji obwodowego i centralnego układu nerwowego. Ekspresja systemu endokannabinoidowego została udowodniona w różnych tkankach i narządach obwodowych zaangażowanych w procesy decydujące między innymi o pobieraniu pokarmu i przemianach metabolicznych glukozy i lipidów [3, 9]. Wykazano ją między innymi w tkance tłuszczowej [28], wątrobie [29], endokrynnej części trzustki [30], mięśniach szkieletowych [31, 32] oraz przewodzie pokarmowym [33].

Zaburzenia metabolizmu endokannabinoidów mogą być jedną z przyczyn wzrostu ich stężeń w organizmie. W jednym z badań stwierdzono podwyższony poziom ogólnoustrojowy EC u otyłych kobiet po menopauzie, związany z obniżoną ekspresją CB1 i genu FAAH w tkance tłuszczowej [34]. Poza tym dieta wysokotłuszczowa wpływa na wzrost wątrobowego poziomu anandamidu w wyniku zmniejszenia aktywności FAAH, co skutkuje ograniczeniem degradacji tego związku [35].

Zaburzenia działania ECS mogą wystąpić już we wczesnej fazie rozwoju otyłości lub nawet przed rozpoczęciem się tego procesu, co może wynikać między innymi z predyspozycji genetycznych [34, 36]. Dowiedziano, że polimorfizm typu missens genu kodującego FAAH, enzymu degradującego anandamid, wiąże się z większym prawdopodobieństwem wystąpienia otyłości [36].

Wpływ ECS na fizjologię tkanki tłuszczowej i różnicowanie adipocytów został udowodniony w badaniach [17, 37]. Stwierdzono podwyższoną ekspresję receptorów CB1 i FAAH w dojrzałych ludzkich adipocytach, podczas gdy w niedojrzałych pozostawała ona na normalnym poziomie [34]. Aktywacja CB1 w tkance tłuszczowej nasila lipogenezę między innymi poprzez stymulowanie dojrzewania adipocytów oraz zwiększenie dostępności enzymów adipogennych [17]. W hodowli pierwotnych adipocytów pobranych od myszy C57BL/6N, prowadzonej w obecności agonisty CB1, zauważono wzrost aktywności lipazy lipoproteinowej w zależności od dawki [38]. Co więcej, zastosowanie selektywnego antagonisty CB1 – rimonabantu oraz wyciszenie genu dla CB1 przyczyniło się do przemiany białej tkanki tłuszczowej w brązową, bardziej termogenną [39]. W doświadczeniu przeprowadzonym przez Jourdana i wsp. wprowadzenie diety wysokotłuszczowej skutkowało podwyższoną

ekspresją genów związanych z transportem (translokaza kwasów tłuszczowych – *fatty acid translocase*, FAT/CD36), β -oksydacją (CPT-I), lipogenezą (FAS, ACC1) oraz uwalnianiem kwasów tłuszczowych (lipaza hormonowrażliwa, *hormonesensitive-lipase*, HSL) w trzewnej tkance tłuszczowej myszy [40]. Co interesujące, zablokowanie receptora CB1 za pomocą selektywnego antagonisty istotnie obniżyło ekspresję tych genów [40].

W wątrobie stymulacja receptorów CB1 skutkuje zwiększoną syntezą kwasów tłuszczowych *de novo* i nasila lipogenezę, przyczyniając się do nadmiernej akumulacji tkanki tłuszczowej w tym narządzie. Odbywa się to poprzez indukcję lipogennego czynnika transkrypcyjnego SREBP-1c oraz enzymów ECC-1 i FAS. Aktywacja tego szlaku odgrywa kluczową rolę w rozwoju otyłości indukowanej dietą wysokotłuszczową, prowadząc do stłuszczenia wątroby [35]. Co więcej, w przypadkach otyłości indukowanej dietą stwierdzono podwyższoną ekspresję CB1 w wątrobie i w tkance tłuszczowej, zaś zastosowanie selektywnego antagonisty CB1 – SR141716 przyczyniło się do całkowitego odwrócenia tego efektu [40].

Ekspresja receptorów CB1 oraz innych elementów układu endokannabinoidowego w mięśniach szkieletowych została dowiedziona zarówno na poziomie mRNA, jak i białek [12, 31, 32, 41, 42]. Mięśnie stanowią podstawowe miejsce utleniania kwasów tłuszczowych i wychwyty glukozy [32, 43]. Wydaje się, iż w wyniku zwiększenia spożycia tłuszczów następuje utrata zdolności oksydacyjnej komórek mięśniowych, co skutkuje zaburzeniem przetwarzania glukozy i wytworzeniem oporności na insulinę [32]. Istnieje szereg dowodów świadczących o udziale systemu endokannabinoidowego w rozwoju tych zmian w przebiegu otyłości. Jest to szczególnie ważne ze względu na związek insulinooporności z patogenezą zespołu metabolicznego i cukrzycy typu 2 [32]. Lipina i wsp. [43] wykazali, iż zastosowanie odwrotnego agonisty CB1 – SR141716 przyniosło wzrost wrażliwości komórek mięśniowych na insulinę. Według badaczy efekt ten jest związany z pobudzeniem dwóch kluczowych szlaków sygnałowych, tj. 3-kinazy fosfatydoinozytolu/kinazy białkowej B (PI 3-K/PKB) oraz Raf-MEK1/2-ERK1/2 [32, 43]. W innym badaniu stymulacja CB1 w tkance mięśniowej przez podanie agonisty tego receptora – HU210 indukowała wytworzenie oporności na insulinę, podczas gdy zastosowanie selektywnego antagonisty CB1-AM251 przyczyniło się do zniesienia tego efektu

u myszy doświadczalnych [42]. W tym samym badaniu u myszy $Cb1^{-/-}$ pozbawionych tego receptora zarówno w CUN, jak i w tkankach obwodowych nie wykazano podobnych zmian. Co więcej, Song i wsp. sugerują, iż zmiany wrażliwości komórek na insulinę pod wpływem HU210 są niezależne od centralnego układu nerwowego [42]. Wyniki te dają podstawy do stwierdzenia, iż nadekspresja układu ECS w tkankach obwodowych, takich jak mięśnie szkieletowe, jest odpowiedzialna za rozwój insulinooporności, skutkując zaburzeniem wychwyty glukozy przez komórki.

W wyspach trzustkowych stwierdzono ekspresję receptorów kanabinoidowych CB1 i CB2, a także ich endogennych mediatorów [30]. Endokannabinoidy biorą udział w regulacji funkcji wydzielniczej trzustki [38, 44]. Stymulacja receptora CB1 zwiększa wydzielanie hormonów trzustkowych: insuliny, somatostatyny i glukagonu, podczas gdy działanie CB2 polega na hamowaniu sekrecji insuliny [30, 38]. Dodatkowo wykazano obecność enzymów niezbędnych dla metabolizmu 2-AG, tj. DAGL α i β oraz MAGL. Wynik ten sugeruje, że związek ten może być syntetyzowany i degradowany w trzustce. Ponadto zaobserwowano również ekspresję FAAH, enzymu degradującego AEA. Prawdopodobnie AEA jest transportowany do trzustki, a jego podwyższone stężenie w tym narządzie skutkuje hiperglikemią, insulinoopornością i insulinemią [30]. Zaburzenia te mogą prowadzić w konsekwencji do hipertrofii komórek β trzustki oraz dać początek cukrzycy typu 2 [9]. Są one także uważane za charakterystyczne parametry metaboliczne w otyłości.

Ekspresja układu endokannabinoidowego w przewodzie pokarmowym oraz udział w rozwoju otyłości nie zostały dotąd dostatecznie zbadane. W licznych doświadczeniach podejmujących ten temat wykazany został istotny wzrost poziomu 2-AG i anandamidu w jelicie cienkim w wyniku ograniczenia spożywania pokarmów, a następnie spadek ich stężenia po wznowieniu odżywiania [45, 46]. Według niektórych autorów podwyższone poziomy tych endokannabinoidów w jelitach przyczyniają się do wzmożonego spożycia tłuszczów, zaś anandamid jest uważany za „sygnał głodu” [45, 46].

Istnieją przesłanki mówiące o możliwości stosowania pomiaru stężeń endokannabinoidów jako czynników ryzyka wystąpienia ciężkich przypadków otyłości [47]. Słuszności tego założenia mają dowodzić wyniki badań, w których u ludzi cierpiących z powodu ciężkiej otyłości ze współistniejącą mutacją genu kodującego FAAH wykazano istot-

nie podwyższone poziomy krążącego anandamidu oraz jego pochodnych – N-acyletanolamin (NAE) [47]. W innym badaniu zaobserwowano znacznie podwyższone stężenia endokannabinoidów (2-AG, AEA) i N-acyletanolamin (OEA, PEA) w ślinie pacjentów z otyłością i opornością na insulinę w porównaniu z grupą o normalnej masie ciała. Zauważono też dodatnią korelację pomiędzy poziomem anandamidu w ślinie a BMI oraz obwodem talii, sugerując użyteczność oznaczania stężeń AEA w ślinie jako biomarkera w otyłości [48].

Wykorzystanie receptorów kanabinoidowych w terapii

W przeciwieństwie do substancji pochodzenia roślinnego otrzymywanych z gatunku *Cannabis*, od lat stosowanych w medycynie, pojedyncze ligandy dla receptorów kanabinoidowych zostały wprowadzone do terapii stosunkowo niedawno. Jako pierwszy pojawił się lek o nazwie handlowej Cesamet. W swoim składzie zawierał nabilon, substancję będącą agonistą receptorów CB1/CB2. Był to syntetyczny analog Δ^9 -tetrahydrokannabinolu (Δ^9 -THC). Został wprowadzony na rynek w roku 1981 jako lek hamujący mdłości i wymioty u pacjentów poddanych chemioterapii. Następnie, w roku 1985, w terapii zastosowano sam Δ^9 -THC w postaci leku o nazwie handlowej Marinol, zawierającego substancję czynną – dronabinol, oraz w późniejszych latach (2005) jako Sativex. Początkowo Marinol produkowano podobnie jak nabilon z myślą o jego właściwościach przeciwwymiotnych. Jednak od roku 1992 lekarze mogli już przepisywać go pacjentom z zaburzeniami łaknienia, ze szczególnym uwzględnieniem chorych na AIDS dotkniętych dużą utratą wagi. Natomiast Sativex, zawierający Δ^9 -THC oraz kanabidiol, przeznaczony był do łagodzenia objawów bólu neuropatycznego u dorosłych chorych na stwardnienie rozsiane oraz, od sierpnia 2007 roku, jako środek wspomagający leczenie bólu u dorosłych pacjentów onkologicznych [7].

Badania nad drugą generacją agonistów receptorów kanabinoidowych miały na celu wprowadzenie do terapii środków wykazujących większą selektywność niż Δ^9 -THC czy nabilon. Rozpoczęto poszukiwania agonistów receptorów CB1 oraz CB2 skutecznych w leczeniu bólu, ale nieprzekraczających bariery krew-mózg. Tego rodzaju leki mogłyby znaleźć zastosowanie w terapii schorzeń, w których stymulacja receptorów kanabinoidowych prowadziłyby do ustąpienia objawów choroby lub

do opóźnienia jej przebiegu. Badania prowadzone przez Pertwee'go wykazują, że zahamowanie wychwytu komórkowego lub enzymatycznego rozkładu endokannabinoidów zmniejsza spastyczność i upośledzenie ruchu w zwierzęcych modelach stwardnienia rozsianego oraz odczuwanie bólu w zwierzęcych modelach ostrego zapalnego i neuropatycznego bólu [49,50].

Jednak stymulacja receptorów kanabinoidowych może też prowadzić do rozwoju niektórych schorzeń [49]. Dlatego też poszukuje się również leków blokujących te receptory. Wykazano, że odwrotni agonisci receptorów CB2 hamują migrację leukocytów, przez co mogą znaleźć zastosowanie w terapii schorzeń o podłożu zapalnym. Natomiast leki blokujące jednocześnie receptory CB1 jak i CB2 mogą znaleźć zastosowanie w terapii przewlekłych schorzeń wątroby. Pojawiły się też badania świadczące o tym, że agonistów lub antagonistów receptorów kanabinoidowych można wykorzystać w terapii osteoporozy oraz choroby Parkinsona. Jednakże najbardziej istotnym efektem badań nad antagonistami receptorów kanabinoidowych, patrząc z perspektywy terapii otyłości, było pojawienie się na rynku europejskim selektywnego antagonisty/odwrotnego agonisty receptora CB1 – związku SR141716A, czyli rimonabantu (preparat Acomplia), wyprodukowanego w roku 1994 przez firmę Sanofi-Aventis [7].

Wykorzystanie receptorów kanabinoidowych w terapii otyłości

Problem otyłości narasta zarówno w Stanach Zjednoczonych jak i w Europie. Szacuje się, że roczne koszty związane z terapią otyłości i schorzeń towarzyszących w USA wynoszą 400 mld USD. Nadwadze i otyłości towarzyszą zazwyczaj choroby kardiometaboliczne, których leczenie generuje największą część wydatków w terapii otyłości. Ocenia się, że w krajach zamożnych ok. 6% środków przeznaczonych na opiekę zdrowotną poświęcane jest na walkę z tym schorzeniem. W porównaniu do populacji osób szczupłych pacjenci otyli podlegają większej ilości hospitalizacji oraz częściej przyjmują leki, przez co obniża się jakość ich życia. Biorąc pod uwagę, że epidemia otyłości wciąż się rozprzestrzenia, wysiłki terapeutyczne i nakłady finansowe konieczne do walki z tym zjawiskiem będą wciąż wzrastać. Dlatego też dąży się do lepszego poznania procesów związanych z magazynowaniem energii oraz odpowiedzialnych za regulację masy ciała; podejmuje się próby prześledzenia molekularnych

szlaków sygnałowych biorących udział w regulacji gospodarki energetycznej i magazynowaniu tłuszczów, jak również dąży się do zwiększenia bezpieczeństwa i efektywności terapii farmakologicznej [51, 52].

Antagoniści/odwrotni agoniści receptorów kanabinoidowych w terapii otyłości

Rimonabant

Wspomniany wcześniej rimonabant (N-piperyno-5-(4-chlorofenylo)-1-(2,4-dichlorofenylo)-4-metylopyrazolo-3-karboksamid) jest antagonistą/odwrotnym agonistą receptorów CB1 [5]. Początkowo wiązano z nim duże nadzieje w terapii otyłości [53]. Jego zdolność do zmniejszania łaknienia oraz obniżania masy została wykazana w próbach przedklinicznych. Jednocześnie zaobserwowano u badanych zwierząt pewne skutki uboczne – apatię, nudności. Podobne działania niepożądane pojawiły się następnie w próbach klinicznych. W ramach tak zwanego projektu RIO – *Rimonabant in Obesity* – przeprowadzono szereg randomizowanych, wielośrodkowych, międzynarodowych badań klinicznych z grupą kontrolną placebo, które miały na celu zweryfikować możliwość zastosowania tego leku w praktyce [20]. W badaniu RIO-North America wzięli udział pacjenci cierpiący na nadwagę lub otyłość, z lub bez towarzyszących chorób metabolicznych, takich jak cukrzyca, dyslipidemia, nadciśnienie [54]. Po dwóch latach zaobserwowano, że dawka terapeutyczna rimonabantu 20 mg/dobę w połączeniu z odpowiednią dietą oraz ćwiczeniami fizycznymi skutkuje u 30–40% osób ponad 5%, a u 10–20% ponad 10% utratą wagi. W całej grupie badanych zaobserwowano natomiast znaczne zmniejszenie odczucia głodu, spadek masy ciała, zmniejszenie obwodu w pasie oraz wzrost frakcji cholesterolu HDL. Pacjenci przyjmujący placebo przybrali na wadze w trakcie badań. Natomiast głównym skutkiem ubocznym terapii były jedynie nudności i wymioty [51].

Kolejnymi badaniami należącymi do programu RIO były RIO-Europe, RIO-LIPIDS oraz RIO-Diabetes. Były to badania roczne. Podobnie jak w badaniu RIO-North America pacjenci z nadwagą lub otyłością zostali podzieleni na trzy grupy – jedna z nich była grupą placebo, a kolejne otrzymywały odpowiednio rimonabant w dawce 5 mg/dobę oraz w dawce 20 mg/dobę. Projekt RIO-Europe miał na celu sprawdzenie wpływu rimonabantu na

masę ciała oraz na czynniki ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. RIO-LIPIDS miał nieco szerszy zakres, ponieważ zawierał w sobie również ocenę takich parametrów, jak wpływ rimonabantu na rozmiar cząsteczek cholesterolu LDL, stężenie białka C reaktywnego oraz adiponektyny [55]. W III fazie obu wspomnianych prób klinicznych okazało się, że rimonabant poprawia kardiometaboliczne czynniki ryzyka, czyli zmniejsza prawdopodobieństwo wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych. Prowadzi również do wzrostu frakcji cholesterolu HDL, zwiększenia odsetka dużych cząsteczek frakcji LDL (tym samym skutkuje zmniejszeniem ich aterogenności), wzrostu stężenia adiponektyny w surowicy krwi oraz spadku poziomu CRP i leptyny. Natomiast badania prowadzone w ramach RIO-Diabetes u pacjentów z cukrzycą typu 2 wykazały, że rimonabant korzystnie wpływa na parametry kontroli metabolicznej cukrzycy – przede wszystkim redukuje masę ciała u tych pacjentów, poziom hemoglobiny glikowanej (HbA1c) oraz ryzyko wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych [5, 51].

Następnym krokiem było badanie SERENADE (*Study Evaluating Rimonabant Efficacy in Drug Naive Diabetic Patients*). Trwało zaledwie pół roku i miało na celu przeprowadzenie analizy wpływu rimonabantu na kontrolę glikemii u pacjentów z cukrzycą typu 2 [56]. W badaniu wzięły udział ośrodki ze Stanów Zjednoczonych, Argentyny, Niemiec, Węgier, Chile, Holandii oraz z Polski. Podobnie jak w poprzednich próbach wykazano, że rimonabant obniżył poziom HbA1c, stężenie triglicerydów, masę ciała, obwód w pasie, natomiast spowodował wzrost frakcji cholesterolu HDL oraz stężenia adiponektyny. Z objawów niepożądanych pacjenci wymieniali zawroty głowy i dolegliwości dyspeptyczne [5].

Jednym z badań klinicznych dotyczących rimonabantu było również badanie ADAGIO-LIPIDS (*An International Study of Rimonabant in Dyslipidemia with Athero-GeneticRisk in AbdominallyObesePatients*). Było ono prowadzone przez rok w 14 krajach u osób otyłych ze współistniejącą dyslipidemią w celu sprawdzenia wpływu rimonabantu na kardiometaboliczne czynniki ryzyka, takie jak poziom CRP, adiponektyny oraz insulinooporność. W badaniu tym nie mogły brać udziału osoby ze skłonnością do stanów depresyjnych. Wyniki były zbliżone do uzyskanych w poprzednich próbach. Podawanie rimonabantu wpłynęło korzystnie na obniżenie ryzyka wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych. Wykazało ono również, że rimonabant

bant wpływa znacznie bardziej na redukcję tkanki tłuszczowej trzewnej niż podskórnej. Istotny jest też fakt, że w trakcie trwania badań nie odnotowano żadnych niepokojących sygnałów o skutkach ubocznych tego preparatu w postaci zaburzeń psychiatrycznych [57].

Próby kliniczne STRADIVARIUS (*Strategy to Reduce Atherosclerosis Development Involving Administration of Rimonabant- The Intravascular Ultrasound Study*) oraz AUDITOR (*Atherosclerosis Underlying Development Assessed by Intima-Media Thickness in Patients On Rimonabant*) miały na celu porównanie wpływu rimonabantu i placebo na płytkę miażdżycową. CRESCENDO (*Comprehensive Rimonabant Evaluation Study of Cardiovascular ENDpoints and Outcomes*) koncentrowało się na skutkach działania rimonabantu u osób powyżej 54 roku życia z otyłością brzuszną i chorobą niedokrwienną serca lub z innymi czynnikami ryzyka chorób układu sercowo-naczyniowego [5].

Oprócz prób klinicznych opisanych powyżej podjęto jeszcze kilka innych badań, wśród nich takie jak: VICTORIA (*Visceral Fat Reduction Assessed by CT-scan on Rimonabant*), ARPEGGIO (*A Multicenter, Randomized, Placebocontrolled, Double-blind, Parallel-group, Fixed-dose Study Evaluating the Effect of One Dose of Rimonabant 20 mg/day on Glycemic Control in Type 2 Diabetic Patients Inadequately Controlled with Insulin*), RAPSODI (*Rimonabant in Pre-diabetic Subjects to Delay Onset of Type 2 Diabetes*), oscylujące głównie wokół pacjentów otyłych z cukrzycą typu 2 lub dyslipidemią [51].

Inni odwrotni agoniści receptorów kanabinoidowych w terapii otyłości

Oprócz rimonabantu na rynku pojawiły się kolejne substancje tego typu, a wśród nich taranabant, surinabant oraz kilka innych.

Taranabant (MK0364) jest środkiem produkowanym przez firmę Merck. Podobnie jak rimonabant jest antagonistą/odwrotnym agonistą receptorów CB1, z tym że wykazuje do nich nieco większe powinowactwo niż sam rimonabant. Przeprowadzono pięć randomizowanych prób klinicznych z podwójnie ślełą próbą, z kontrolą placebo, mających na celu sprawdzenie efektywności i bezpieczeństwa stosowania taranabantu w terapii otyłości. Badania te zostały jednak przerwane w III fazie prób klinicznych ze względu na skutki uboczne w postaci mdłości i stanów depresyjnych [51].

Surinabant (SR147778) wyprodukowany został przez firmę Sanofi-Aventis. W swojej strukturze jest podobny do rimonabantu. Podjęte zostały również randomizowane próby kliniczne w terapii otyłości z udziałem tego leku z podwójnie ślełą próbą oraz grupą kontrolną placebo. Dotarły one do drugiej fazy badań klinicznych. Drinabant (AVE1625) również należy do firmy Sanofi-Aventis. W II fazie badań klinicznych oceniana była jego zdolność do redukcji masy ciała u osób z otyłością brzuszną i aterogenną dyslipidemią. Ibipinabant (SVL-319, BMS-646256) wyprodukowała firma Solvay SA oraz Bristol-MyersSquibb. Jednak II/III faza badań klinicznych została wstrzymana. Bristol-MyersSquibb oddał prawa do ibipinabantu firmie Solvay, która podjęła się rozpoczęcia III fazy badań wśród pacjentów z otyłością, z cukrzycą typu 2 lub też u osób otyłych z cukrzycą typu 2. Badania kliniczne podjęto również nad preparatami takimi, jak otenabant (CP-945,598) firmy Pfizer oraz rosonabant firmy Solvay/Esteve [51].

Skutki uboczne stosowania odwrotnych agonistów receptorów kanabinoidowych w terapii otyłości

Rimonabant został wycofany ze sprzedaży pomimo korzystnych wyników w terapii otyłości. Pojawiły się wątpliwości dotyczące bezpieczeństwa stosowania odwrotnych agonistów receptorów kanabinoidowych ze względu na występujące u pacjentów działania niepożądane. W cięższych przypadkach były to depresja, myśli i próby samobójcze, niepokój, napady padaczkowe. Dodatkowo pacjenci skarżyli się na mdłości i świąd, które pojawiały się już w próbach przedklinicznych na zwierzętach. W konsekwencji zarówno FDA (*Food and Drug Administration*) w Stanach Zjednoczonych, jak i EMEA (*European Medicines Agency*) w Unii Europejskiej wstrzymały sprzedaż odwrotnych agonistów receptorów CB1 i rozpoczęto badania nad nowymi preparatami, które pozwoliłyby uniknąć tak poważnych powikłań [58, 59].

Najczęściej występującym zaburzeniem psychiatrycznym były stany niepokoju u osób przyjmujących terapeutyczne dawki rimonabantu. Część z nich przerwała z tego względu udział w projekcie RIO-North America [10]. Na podobne stany skarżyli się pacjenci biorący udział w próbach klinicznych dotyczących taranabantu [58, 59].

W trakcie prób klinicznych zaobserwowano również stany depresyjne. Podczas trwania projek-

tu RIO odnotowano kilka przypadków samobójstw wśród osób biorących udział w badaniu, a projekt CRESCENDO przerwano z tego względu. Samobójstwa zanotowano zarówno u pacjentów przyjmujących rimonabant, jak i w grupie placebo, aczkolwiek więcej obserwowano u osób przyjmujących lek [58,59].

Agoniści receptorów CB1 są powszechnie znani ze swoich właściwości przeciwwymiotnych. Dlatego też zablokowanie receptorów kanabinoidowych u wielu osób prowadziło do mdłości. Była to druga, zaraz po stanach depresyjnych, przyczyna rezygnacji pacjentów z udziału w badaniach klinicznych [58].

Neutralni antagoniści oraz selektywni antagoniści receptorów kanabinoidowych

W związku z szeregiem skutków ubocznych, jakie zaobserwowano u pacjentów po zastosowaniu u nich antagonistów/odwrotnych agonistów receptorów kanabinoidowych, poszukuje się obecnie alternatywnych środków w terapii otyłości. Celem poszukiwań jest przygotowanie leku, który posiadałby właściwości podobne do rimonabantu – służyłby w leczeniu otyłości, cukrzycy typu 2, zmniejszałby ryzyko chorób sercowo-naczyniowych, a jednocześnie nie wywoływałby u pacjentów stanów depresyjnych i zaburzeń dyspeptycznych. Dlatego też obecne badania koncentrują się wokół neutralnych antagonistów i selektywnych, odwrotnych agonistów receptorów kanabinoidowych.

Neutralni antagoniści receptorów kanabinoidowych wiążą się ze wspomnianymi receptorami, nie wpływając na ich aktywność. Należą do tej grupy między innymi związki takie, jak O-2050, LH-21. Badania przedkliniczne nad tymi substancjami wykazały, że podobnie jak rimonabant hamują one łaknienie, nie powodując przy tym skutków ubocznych w postaci nudności czy stanów depresyjnych. W grupie tej znajdują się również związki takie, jak AM4113, AM6527, AM6545 oraz NESS0327. Ze wstępnych doniesień wynika, że opisane substancje mogą pełnić w leczeniu otyłości podobną rolę, jak odwrotni agoniści receptorów CB1, jednak wciąż pojawiają się nowe informacje na ich temat i nowe wątpliwości [58, 60]. Wiley i wsp. wykazali bowiem, że O-2050 może oddziaływać na receptory CB1 podobnie jak ich agoniści [61]. Biorąc pod uwagę zdolność tych substancji do zmniejszania łaknienia oraz brak skutków ubocznych po ich za-

stosowaniu w próbach przedklinicznych, mogą one okazać się bardziej efektywne w terapii otyłości niż odwrotni agoniści, tacy jak rimonabant. Istnieje jednak potrzeba większej ilości badań nad tego rodzaju związkami [58].

Inną drogą w terapii otyłości jest poszukiwanie selektywnych antagonistów oddziałujących na receptory kanabinoidowe zlokalizowane wyłącznie w tkankach obwodowych i nieprzenikających przez barierę krew-mózg. Taki zabieg ma na celu wyeliminowanie skutków ubocznych w postaci zaburzeń psychiatrycznych. Przykładem takiego związku jest opisany niedawno LH-21. Przenika on do centralnego układu nerwowego tylko w niewielkim stopniu, natomiast w badaniach przedklinicznych na szczurach prowadził do utraty wagi. Nie poprawił jednak parametrów metabolicznych, co może sugerować, że mają na nie wpływ odwrotni agoniści, przenikając przez barierę krew-mózg. Opisano niedawno również związek URB447 będący antagonistą receptorów CB1 i jednocześnie agonistą receptorów CB2, ale podobnie jak LH-21 zmniejszający łaknienie i nieprzenikający do centralnego układu nerwowego [60]. Sелеktywnym antagonistą receptorów CB1 jest również AM6545. W badaniach, w których porównywany był on z rimonabantem, wykazano, że podobnie jak rimonabant zmniejsza łaknienie, ale nie wywołuje stanów depresyjnych oraz mdłości i w znacznie mniejszym stopniu przenika do ośrodkowego układu nerwowego [58]. Do selektywnych antagonistów receptorów CB1 należy także TM38837, który w badaniach przedklinicznych, podobnie jak AM6545, cechował się dużo mniejszą penetracją do ośrodkowego układu nerwowego niż rimonabant. Obecnie rozpoczęto już próby kliniczne nad tym związkiem [62].

Podsumowanie

Narastający problem otyłości w krajach rozwiniętych skłonił naukowców do poszukiwania nowych środków o potencjalnej skuteczności w terapii tego schorzenia. W licznych badaniach udowodniono istotny udział układu endokannabinoidowego w procesach metabolicznych, odpowiedzialnych za utrzymanie homeostazy energetycznej organizmu. Pobudzenie receptora kanabinoidowego typu 1 okazało się czynnikiem sprzyjającym rozwojowi otyłości. Duże nadzieje związane z zastosowaniem substancji blokujących te receptory przyczyniły się do rozpoczęcia badań nad odwrotnymi agonistami CB1. W badaniach przedklinicznych, jak i pro-

wadzonych w późniejszym czasie badaniach klinicznych, po zastosowaniu rimonabantu uzyskano spadek masy ciała oraz poprawę parametrów metabolicznych (obniżenie ryzyka wystąpienia chorób sercowo-naczyniowych, wzrost frakcji cholesterolu HDL, zmniejszenie aterogenności cząsteczek LDL). Jednak w krótkim czasie po wejściu preparatu Acomplia (rimonabant) na rynek lek musiał

zostać wycofany z obiegu ze względu na poważne skutki uboczne. Stało się to bodźcem do poszukiwania nowych rozwiązań, takich jak neutralni lub selektywni antagoniści receptorów kanabinoidowych. Dotychczasowe wyniki wydają się dość obiecujące, aczkolwiek wprowadzenie ich do terapii otyłości wymaga przeprowadzenia większej ilości badań.

PIŚMIENICTWO/REFERENCES

- [1] Mathus-Vliegen L., Toouli J., Fried M. et al.: World Gastroenterology Organisation global guidelines on obesity. *J. Clin. Gastroenterol.*, 2012;46(7), 555-561.
- [2] Kinalska I., Poptawska-Kita A., Telejko B. et al.: Otyłość a zaburzenia przemiany węglowodanowej. *Endokrynologia, Otyłość, Zaburzenia Przemiany Materii*, 2006;2, 3, 94-101.
- [3] Serrano A., Javier Pavon F., Suarez J. et al.: Obesity and the Endocannabinoid System: Is There Still a Future for CB1 Antagonists in Obesity? *Curr. Obes. Rep.*, 2012;1,(4), 216-228.
- [4] Przybylska D., Kurowska M., Przybylski P.: Otyłość i nadwaga w populacji rozwojowej. *Hygeia Public Health*, 2012;47(1), 28-35.
- [5] Drzewoski J., Śliwińska A.: Rimonabant – nadzieją w leczeniu otyłości i cukrzycy typu 2. *Diabetologia Doświadczalna i Kliniczna*, 2007;7, 53-63.
- [6] Pawlak M., Łaczmanski Ł., Milewicz A.: Rola układu endokannabinoidowego i polimorfizmów genu CNR1w powstawaniu otyłości. *Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii*, 2011;7, 192-196.
- [7] Pertwee R.G.: Ligands that target cannabinoid receptors in the brain: from THC to anandamide and beyond. *Addict Biol.*, 2008;13, 147-159.
- [8] Silvestri C., Di Marzo V.: The Endocannabinoid System in Energy Homeostasis and the Etiopathology of Metabolic Disorders. *Cell Metab.*, 2013 Apr 2;17(4), 475-490.
- [9] Izzo A.A., Piscitelli F., Capasso R. et al.: Peripheral endocannabinoid dysregulation in obesity: relation to intestinal motility and energy processing induced by food deprivation and re-feeding. *Br. J. Pharmacol.*, 2009;158(2), 451-461.
- [10] Matias I., Di Marzo V.: Endocannabinoids and the control of energy balance. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2007;18(1), 27-37.
- [11] Matias I., Bisogno T., Di Marzo V.: Endogenous cannabinoids in the brain and peripheral tissues: regulation of their levels and control of food intake. *Int. J. Obes.*, 2006;30, 7-12.
- [12] Heyman E., Gamelin F.X., Aucouturier J. et al.: The role of the endocannabinoid system in skeletal muscle and metabolic adaptations to exercise: potential implications for the treatment of obesity. *Obes Rev.*, 2012;13(12), 1110-1124.
- [13] Muccioli G.G.: Endocannabinoid biosynthesis and inactivation, from simple to complex. *Drug Discov Today*, 2010;15(11-12), 474-483.
- [14] Lipina C., Rastedt W., Irving A. et al.: New vistas for treatment of obesity and diabetes? Endocannabinoid signaling and metabolism in the modulation of energy balance. *Bioessays*, 2012;34, 681-691.
- [15] Di Marzo V.: Targeting the endocannabinoid system: to enhance or reduce? *Nat Rev. Drug. Discov.*, 2008;7, 438-455.
- [16] Jung K.M., Clapper J.R., Fu J. et al.: 2-arachidonoylglycerol signaling in forebrain regulates systemic energy metabolism. *Cell. Metab.*, 2012;7, 15(3), 299-310.
- [17] Romero-Zerbo S.Y., Bermudez-Silva F.J.: Cannabinoids, eating behaviour, and energy homeostasis. *Drug. Test. Analysis*, 2014;6, 52-58.
- [18] Ryberg E., Larsson N., Sjögren S. et al.: The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br. J. Pharmacol.*, 2007;152(7), 1092-1101.
- [19] Galve-Roperh I., Chirchiu V., Diaz-Alonso J. et al.: Cannabinoid receptor signaling in progenitor/stem cell proliferation and differentiation. *Prog. Lipid. Res.*, 2013;52(4), 633-650.
- [20] Di Marzo V.: The endocannabinoid system in obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2008;51, 1356-1367.
- [21] Kozakowski J., Zgliczyński W.: Rola układu endokannabinoidowego w patogenezie otyłości. *Post. N. Med.*, 2008;3, 198-202.
- [22] Cristino L., Busetto G., Imperatore R. et al.: Obesity-driven synaptic remodeling affects endocannabinoid control of orexinergic neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013;110(24), 2229-2238.
- [23] Kirkham T.C., Williams C.M., Fezza F. et al.: Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *Br. J. Pharmacol.*, 2002;136(4), 550-557.
- [24] Tam J., Cinar R., Liu J.: Peripheral Cannabinoid-1 Receptor Inverse Agonism Reduces Obesity by Reversing Leptin Resistance. *Cell. Metab.*, 2012;16(2), 167-179.

- [25] Di Marzo V., Goparaju S.K., Wang L. et al.: Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature*, 2001:410(6830), 822-825.
- [26] Lim C.T., Kola B., Feltrin D. et al.: Ghrelin and cannabinoids require the ghrelin receptor to affect cellular energy metabolism. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2013:365(2), 303-308.
- [27] Kola B., Farkas I., Christ-Crain M. et al.: The Orexigenic Effect of Ghrelin Is Mediated through Central Activation of the Endogenous Cannabinoid System. *Plos One*, 2008:3, 1-8.
- [28] Bellocchio L., Cervino C., Vicennati V. et al.: Cannabinoid Type 1 Receptor: Another Arrow in the Adipocytes' Bow. *Journal of Neuroendocrinology*, 2008:20, 130-138.
- [29] Tam J., Liu J., Mukhopadhyay B. et al.: Endocannabinoids in Liver Disease. *Hepatology*, 2011:53(1), 346-355.
- [30] Bermudez-Silva F.J., Suarez J., Baixeras E. et al.: Presence of functional cannabinoid receptors in human endocrine pancreas. *Diabetologia*, 2008:51, 476-487.
- [31] Eckardt K., Sell H., Taube A. et al.: Cannabinoid type 1 receptors in human skeletal muscle cells participate in the negative crosstalk between fat and muscle. *Diabetologia*, 2009:52, 664-674.
- [32] Crespillo A., Suarez J., Bermudez-Silva F.J.: "Expression of the cannabinoid system in muscle: effects of a high-fat diet and CB1 receptor blockade". *Biochem. J.*, 2011:433, 175-185.
- [33] Alhouayek M., Muccioli G.G.: The endocannabinoid system in inflammatory bowel diseases: from pathophysiology to therapeutic opportunity. *Trends Mol. Med.*, 2012:18(10), 615-625.
- [34] Engeli S., Böhnke J., Feldpausch M. et al.: Activation of the Peripheral Endocannabinoid System in Human Obesity. *Diabetes*, 2005:54(10), 2838-2843.
- [35] Osei-Hyiaman D., DePetrillo M., Pache P. et al.: Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J. Clin. Invest.*, 2005:115(5), 1298-1305.
- [36] Sipe J.C., Waalen J., Gerber A. et al.: Overweight and obesity associated with a missense polymorphism in fatty acid amide hydrolase (FAAH). *Int. J. Obes.*, 2005:29(7), 755-759.
- [37] You T., Disanzo B.L., Wang X. et al.: Adipose tissue endocannabinoid system gene expression: depot differences and effects of diet and exercise. *Lipids Health Dis.*, 2011:28, 10, 194.
- [38] O'Keefe L., Simcocks A.C., Hryciw D.H. et al.: The cannabinoid receptor 1 and its role in influencing peripheral metabolism. *Diabetes Obes. Metab.*, 2013, 1-11.
- [39] Perwitz N., Wenzel J., Wagner I. et al.: Cannabinoid type 1 receptor blockade induces transdifferentiation towards a brown fat phenotype in white adipocytes. *Diabetes Obes Metab.*, 2010:12(2), 158-166.
- [40] Jourdan T., Djaouti L., Demizieux L. et al.: CB1 antagonism exerts specific molecular effects on visceral and subcutaneous fat and reverses liver steatosis in diet-induced obese mice. *Diabetes*, 2010:59(4), 926-934.
- [41] Esposito I., Proto M.C., Gazzero P. et al.: The cannabinoid CB1 receptor antagonist rimonabant stimulates 2-deoxyglucose uptake in skeletal muscle cells by regulating the expression of phosphatidylinositol-3-kinase. *Mol Pharmacol.*, 2008:74(6), 1678-1686.
- [42] Song D., Bandsma R.H., Xiao C. et al.: Acute cannabinoid receptor type 1 (CB1R) modulation influences insulin sensitivity by an effect outside the central nervous system in mice. *Diabetologia*, 2011:54(5), 1181-1189.
- [43] Lipina C., Stretton C., Hastings S. et al.: Regulation of MAP kinase-directed mitogenic and protein kinase B-mediated signaling by cannabinoid receptor type 1 in skeletal muscle cells. *Diabetes*, 2010:59(2), 375-385.
- [44] Li C., Bowe J.E., Huang G.C. et al.: Cannabinoid receptor agonists and antagonists stimulate insulin secretion from isolated human islets of Langerhans. *Diabetes Obes Metab.*, 2011:13(10), 903-910.
- [45] DiPatrizio N.V., Astarita G., Schwartz G. et al.: Endocannabinoid signal in the gut controls dietary fat intake. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011:108(31), 12904-12908.
- [46] Izzo A.A., Camilleri M.: Emerging role of cannabinoids in gastrointestinal and liver diseases: basic and clinical aspects. *Gut*, 2008:57, 1140-1155.
- [47] Sipe J.C., Scott T.M., Murray S. et al.: Biomarkers of endocannabinoid system activation in severe obesity. *PLoS One.*, 2010 Jan 20:5(1), 1-6.
- [48] Matias I., Gatta-Cherifi B., Tabarin A. et al.: Endocannabinoids Measurement in Human Saliva as Potential Biomarker of Obesity. *PLoS ONE*, 2012:7 (7), 1-9.
- [49] Pertwee R.G.: The therapeutic potential of drugs that target cannabinoid receptors or modulate the tissue levels or actions of endocannabinoids. *AAPS J.*, 2005:7, E625-E654.
- [50] Pertwee R.G.: Cannabinoids and multiple sclerosis. *Mol Neurobiol.*, 2007:36, 45-59.
- [51] Janero D.R., Makriyannis A.: Cannabinoid receptor antagonists: pharmacological opportunities, clinical experience, and translational prognosis. *Expert Opin. Emerging Drugs*, 2009:14, 43-65.
- [52] Lange J.H., Kruse C.G.: Keynote review: Medicinal chemistry strategies to CB1 cannabinoid receptor antagonists. *Drug Discov. Today*, 2005:10, 693-702.
- [53] Cota D., Marsicano G., Lutz B. et al.: Endogenous cannabinoid system as a modulator of food intake. *Int. J. Obes.*, 2003:27, 289-301.

- [54] Pi-Sunyer F.X., Aronne L.J., Heshmati H.M. et al.: Effect of Rimonabant, a Cannabinoid-1 Receptor Blocker, on Weight and Cardiometabolic Risk Factors in Overweight or Obese Patients, RIO-North America: A Randomized Controlled Trial. *JAMA*, 2006;295, 761-776.
- [55] Despres J.P., Golay A., Sjostrom L.: Effects of Rimonabant on Metabolic Risk Factors in Overweight Patients with Dyslipidemia. *N. Engl. J. Med.*, 2005;353, 2121-2134.
- [56] Derosa G., Maffioli P.: Anti-obesity drugs: a review about their effects and their safety. *Expert Opin. Drug Saf.*, 2012;11, 459-471.
- [57] Taskinen M.R.: ADAGIO-Lipids Gives Promises but Faces the Setbacks. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2009;29, 339-340.
- [58] McLaughlin P.J.: Reports of the death of CB1 antagonists have been greatly exaggerated: recent preclinical findings predict improved safety in the treatment of obesity. *Behavioural Pharm.*, 2012;23, 537-550.
- [59] Christensen R., Kristensen P.K., Bartels E.M.: Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet*, 2007;370, 1706-1713.
- [60] Bermudez-Silva F.J., Viveros M.P., McPartland J.M. et al.: The endocannabinoid system, eating behavior and energy homeostasis: The end or a new beginning? *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 2010;95, 375-382.
- [61] Wiley J.L., Breivogel C.S., Mahadevan A. et al.: Structural and pharmacological analysis of O-2050, a putative neutral cannabinoid CB1 receptor antagonist. *European Journal of Pharmacology*, 2011;651, 96-105.
- [62] Takano A., Gulyás B., Varnäs K. et al.: Low Brain CB1 Receptor Occupancy by a Second Generation CB1 Receptor Antagonist TM38837 in Comparison With Rimonabant in Nonhuman Primates: A PET Study. *Synapse*, 2014;68, 89-97.