

Potencjał terapeutyczny układu endokanabinoidowego w leczeniu bólu ostrego i przewlekłego

The therapeutic potential of endocannabinoid system for acute and chronic pain

Magdalena Kostrzewa, Katarzyna Starowicz

Pracownia Patofizjologii Bólu, Zakład Farmakologii Bólu, Instytut Farmakologii PAN, ul. Smętna 12, 31-343 Kraków

STRESZCZENIE: Układ endokanabinoidowy odgrywa ważną rolę w modulowaniu wielu procesów fizjologicznych. Stanowią go receptory kanabinoidowe, endogenne ligandy (endokanabinoidy) oraz enzymy odpowiedzialne za ich syntezę i degradację. W ostatnich latach podkreśla się przeciwbólowy potencjał kanabinoidów. Jednakże, obawy dotyczące bezpieczeństwa ich stosowania ograniczają ich zastosowanie w klinice. Nowatorskim podejściem terapeutycznym w wielu stanach patologicznych jest możliwość modulacji aktywności endokanabinoidów poprzez regulację ich syntezy i/lub degradacji. W prezentowanej pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat systemu endokanabinoidowego w farmakoterapii bólu; omówiono również najnowsze doniesienia w dziedzinie leczenia bólu neuropatycznego.

SŁOWA KLUCZE: Kanabinoidy, anandamid, FAAH, ból, neuropatia obwodowa

ABSTRACT: The endocannabinoid system has been recently recognized as an important modulatory system. The endogenous cannabinoid system includes cannabinoid receptors, their endogenous ligands (endocannabinoids) and enzymes for their synthesis and degradation. Currently there is a heightened interest in their analgesic potential, although concerns about the safety of cannabinoids prevent clinical use. It is anticipated that modulating the activity of the endocannabinoid system turned out to hold therapeutic promise in a wide range of disparate diseases and pathological conditions including pain. Here, we provide a comprehensive overview on the current state of knowledge of the endocannabinoid system as a target of pain pharmacotherapy; we will discuss the latest discoveries on the subject of neuropathic pain treatment.

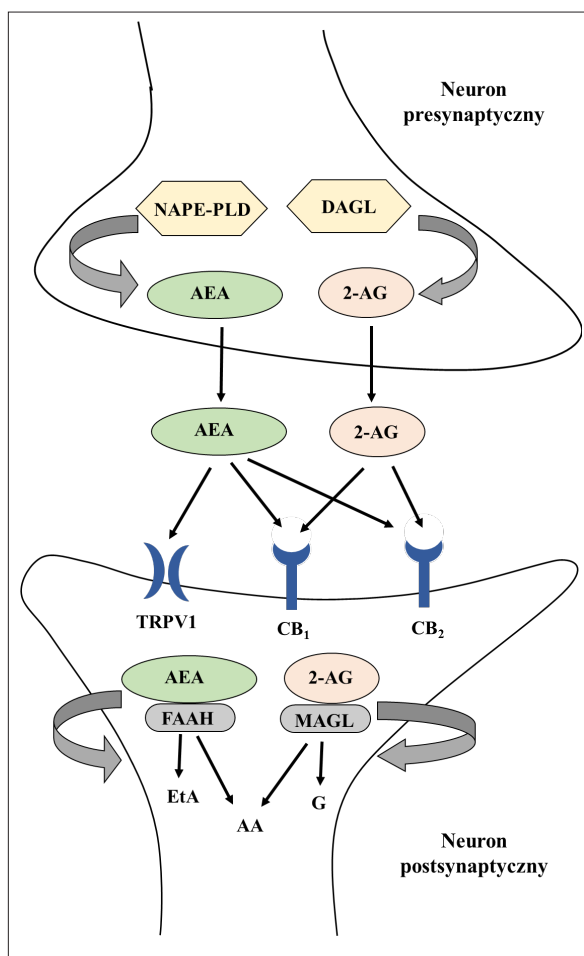
KEY WORDS: Cannabinoids, anandamide, FAAH, pain, peripheral neuropathy

WSTĘP

Przeciwbólowe właściwości kanabinoidów na nowo wzbudzają zainteresowanie badaczy. Wyniki licznych badań potwierdzają skuteczność kanabinoidów w terapii bólu zapalnego i neuropatycznego [1, 12, 47]. Prace nad lekami przeciwbólowymi spokrewnionymi z aktywnym składnikiem marihuany, tetrahydrokanabinolem (THC), trwają od wielu lat. Stosowa-

nie kanabinoidów może mieć duże znaczenie w leczeniu bólu przewlekłego, ze szczególnym uwzględnieniem bólu neuropatycznego, którego patomechanizm jest złożony i nie do końca poznany, a jego leczenie trudne.-

Nazwa kanabinoidy pochodzi od nazwy konopi siewnych (*Cannabis sativa*), których medyczne właściwości zostały dostrzeżone już około 5000 lat temu w Indiach i Chinach.



Ryc. 1. Uproszczony schemat elementów układu endokannabinoidowego. CB₁ – receptor kanabinoidowy typu 1, CB₂ – receptor kanabinoidowy typu 2, TRPV1 – Receptor waniloidowy, AEA – anandamid, 2-AG – 2-arachidonylglicerol, NAPE-PLD – N-acylofosfatydilo-etanolamino-selektywna fosfolipaza D, DAGL – lipaza diacyloglicerolu, FAAH – hydrolaza amidów kwasów tłuszczowych, MAGL – lipaza monoglicerolowa, EtA – etanoloamina, AA – kwas arachidonowy, G – glicerol.

W konopiach zidentyfikowano ponad 60 związków z grupy kanabinoidów, Δ^9 -tetrahydrokanabinol (THC) występuje w nich w największych ilościach [69]. Pionierem badań nad układem endokannabinoidowym jest prof. R. Mechoulam, który jako pierwszy w 1964 r. wyizolował z *Cannabis sativa* główny psychoaktywny składnik (Δ^9 – THC) oraz opisał jego lipidową strukturę [25].

Endogenny układ kanabinoidowy obejmuje receptory CB₁ i CB₂, ich główne endogenne ligandy oraz enzymy zaangażowane w ich syntezę i degradację (Ryc. 1). Dotychczas zidentyfikowano pięć endokannabinoidów: anandamid (AEA), 2-arachidonylglicerol (2-AG), eter noladyny (eter arachidonylo-glicerolowy), wirodaminę (ester kwasu arachidonowego z etanoloaminą) i N-arachidonoilodopamine (NADA).

Odkryto dwa typy receptorów kanabinoidowych, które różnią się budową, miejscem występowania i pełnią funkcją [77]. W 1990 r. z cDNA kory mózgowej szczura sklonowa-

no pierwszy receptor kanabinoidowy – CB₁ [63], a w 1993 r. w liniach ludzkich komórek białaczki promielocytowej HL60 zidentyfikowano receptor CB₂ [67]. Receptory wykazują 44% homologii aminokwasowej [72]. Receptory CB₁ występują najobficiej w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN), jednakże występują również w wielu tkankach poza układem nerwowym (m.in. w wątrobie, trzustce oraz mięśniach) [10,71,91]. Receptory CB₂ zlokalizowane są głównie na komórkach układu immunologicznego, aczkolwiek dane literaturowe donoszą o ich występowanie w mózgu [5,28]. Pobudzenie receptora CB aktywuje białko G, a poprzez to powoduje zahamowanie aktywności cykazy adenylanowej. W wyniku tego dochodzi do blokady kanałów wapniowych typu N, P/Q i L bramkowanych napięciem. Aktywują się kanały potasowe, wzrasta potencjał transbłonowy dochodzi do hiperpolaryzacji neuronu i zahamowania transmisji presynaptycznej. To powoduje zmniejszone uwalnianie neuromediatorów z neuronów. Receptory CB₂, podobnie jak CB₁ również są powiązane z białkami typu G [77].

Ligandy receptorów kanabinoidowych można podzielić na pochodne dibenzopyranu, które są naturalnymi (zwanymi również klasycznymi) kanabinoidami (Δ^9 -THC) i ich syntetyczne analogi (np. HU-210). Drugą grupę, nieklasycznych kanabinoidów stanowią dwucykliczne i trójcykliczne analogi Δ^9 -THC, pozbawionego pierścienia pyranowego (głównym przedstawicielem tej grupy związków jest CP-55940, wiążący się z receptorem CB₁ i CB₂). Trzecią grupę egzogennych agonistów stanowią aminoalkilindole (np. WIN-55,212-2, AM1241) z dużym powinowactwem kolejno do receptorów CB₁ i CB₂. Diarylopirazole przynależą do czwartej grupy kanabinoidów, w której wyróżnia się selektywnych antagonistów receptorów kanabinoidowych np. SR141716A (Rimonabant). Ostatnią grupą, szerzej opisaną w niniejszym opracowaniu stanowią endokannabinoidy. AEA i 2-AG to dwa najszersze badane i najdokładniej opisane endokannabinoidy występujące w żywych organizmach. AEA został wyizolowany w 1992 r. z mózgu świni [20]. Nazwa pochodzi od sanskryckiego słowa *ananda* – rozkosz, wewnętrzny błogostan. Wykazuje większe powinowactwo do receptora CB₁ niż CB₂, przy czym jest częściowym agonistą receptora CB₁. W 1995 r. odkryto 2-AG [64], który ma mniejsze powinowactwo do receptora CB₁ niż AEA, jest natomiast pełnym agonistą. Oba związki są niestabilne i podatne na hydrolizę, zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Te endogenne substancje są syntetyzowane w żywych organizmach na żądanie (*on demand*) [99]. Charakteryzują się krótkim czasem działania ze względu na szybką enzymatyczną degradację przeprowadzaną głównie przez hydrolazę amidów kwasów tłuszczowych (*fatty acid amide hydrolase*, FAAH) oraz lipazę monoglicerolową (*monoglyceride lipase*, MAGL) odpowiednio dla AEA i 2-AG. Innymi enzymami zaangażowanymi w degradację endokannabinoidów są cykloksygenaza 2 (*cyclooxygenase-2*, COX-2) oraz lipooksygenaza 12 i 15 (*lipoxigenase 12/15*, LOX-12/15) [35,96]. W niniejszej pracy przeglądowej zostanie przybliżony potencjał terapeutyczny związków oddziałujących na układ endokannabinoidowy w leczeniu

różnych rodzajów bólu ze szczególnym uwzględnieniem bólu neuropatycznego.

ROZMIESZCZENIE RECEPTORÓW KANABINOIDOWYCH W SZLAKACH ZAANGAŻOWANYCH W PRZEWODNICTWO BÓLOWE

U podstaw odczuwania i uświadamiania doznań bólowych leży proces nocycepcji, który obejmuje procesy transdukcji, transmisji oraz modulacji, a końcowym jego etapem jest percepcja zachodząca na poziomie mózgowia. W procesie transdukcji energia bodźca uszkadzającego różnego pochodzenia (np. mechanicznego, termicznego, chemicznego) przekształcana jest w obwodowych zakończeniach nerwowych na impuls nerwowy przewodzony dośrodkowo włóknami nerwowymi A δ i C. W procesie transmisji dociera do ciała macierzystego komórki w zwoju korzenia tylnego rdzeniowego (*dorsal root ganglion*, DRG), a następnie do rogów tylnych rdzenia kręgowego, gdzie przekazywana jest poprzez połączenie synaptyczne do II neuronu. Na poziomie rogów tylnych rdzenia kręgowego dochodzi jednocześnie do procesów modulacji bodźca poprzez interneurony rogów tylnych oraz aktywność zstępujących układów antynocyceptywnych. Róg tylny rdzenia kręgowego jest strategicznym miejscem przetwarzania informacji bólowej, co czyni go kluczowym celem modulacji transmisji nocyceptywnej w rdzeniu kręgowym oraz wyższych piętach OUN. Procesy modulacji, zarówno nasilające jak i hamujące bodźce nocyceptywne mogą zachodzić na każdym etapie procesu nocycepcji. Z rogu tylnego rdzenia kręgowego informacja nocyceptywna przekazywana jest do wyższych piętach OUN. Dwa główne szlaki bólowe: rdzeniowo-wzgórzowe oraz rdzeniowo-mostowo-migdałowate związane są z czuciowymi i emocjonalnymi reakcjami bólowymi. W obrębie OUN mogą zachodzić dwa przeciwstawne zjawiska – torowania (zwane też zjawiskiem facylitacji) oraz hamowania. Percepcja, w korze mózgowej, jest ostatnim etapem procesu nocycepcji. Spełnia one rolę poznawczą, jest też odpowiedzialna za ocenę stymulacji bólowej oraz za reakcje afektywne i emocjonalne. Najlepiej poznanym zstępującym szlakiem bólowym jest ścieżka przesyłająca informacje nocyceptywne ze zlokalizowanej w śródmózgowiu istoty szarej okołowodociągowej (*periaqueductal gray*, PAG) przez brzuszno-dogłową część rdzenia przedłużonego (*rostral ventromedial medulla*, RVM) do rdzenia kręgowego. Szlaki zstępujące mogą modulować aktywność neuronów w działaniu wielu leków przeciwbólowych w tym kanabinoidów [54]. Co ciekawe, regiony zaangażowane w procesy przewodnictwa bólowego w obydwu szlakach często się pokrywają.

Wiele badań skupia się na poznaniu mechanizmu analgezji związanego z receptorami kanabinoidowymi w obwodowych, rdzeniowych oraz ponadrdzeniowych strukturach układu nerwowego [76], a elementy układu kanabinoidowego wykazują ekspresję w strukturach zaangażowanych w transmisję i modulację sygnałów nocyceptywnych. Badania neuroanatomiczne wykazały, że receptor kanabinoidowy CB₁ odpowiada-

jący głównie za modulację bólu ulega ekspresji w neuronach ośrodkowego układu nerwowego (OUN i w zwojach korzeni grzbietowych. Występowanie receptora CB₂ nie jest przypisane do jednego typu tkanki. Pierwotnie ekspresja tego receptora była opisywana w tkankach układu immunologicznego [62]. Natomiast kolejne badania donoszą o jego obecności w OUN gryzoni oraz ludzkich DRG [3, 28]. Testy behawioralne przeprowadzone na zwierzęcych modelach bólu zapalnego oraz neuropatycznego potwierdziły hipotezę, iż kanabinoidy poprzez aktywację swoich receptorów uczestniczą w procesach antynocycepcji.

Dużą gęstość receptorów kanabinoidowych CB₁ wykazano w regionach związanych z modulacją i przewodzeniem bólu – w ciele migdałowatym, w PAG, w rogach grzbietowych rdzenia kręgowego i w DRG. Wykazano, że aktywacja receptorów CB₁ jest związana zasadniczo z hamowaniem pobudliwości neuronalnej, a przez to hamowaniem przewodnictwa bodźców bólowych [46]. W PAG receptory CB₁ występują w innych rejonach niż receptory opioidowe, co wskazuje na odrębność tych dwóch mechanizmów przeciwbólowych. Kanabinoidy w PAG hamują transmisję GABA-ergiczną, co odblokowuje neurony pobudzające (głównie glutaminergiczne) i inicjuję antynocycepcję w wyniku aktywacji dróg zstępujących [103]. W rdzeniu kręgowym receptory CB₁ występują w rogach grzbietowych, gdzie są zlokalizowane w interneuronach rdzeniowych, na zakończeniach aferentnych neuronów czuciowych i zakończeniach eferentnych neuronów ponadrdzeniowych. Są także obecne w zwojach, a ich stymulacja hamuje uwalnianie działające probólowo substancji P i CGRP - peptydu związanego z genem kalcytoniny (*calcitonin gene related peptide*, CGRP) [79]. W działaniu przeciwbólowym AEA mogą pośredniczyć także inne receptory: waniloidowy (*transient receptor potential vanilloid type 1*, TRPV1) dla którego AEA jest endogennym agonistą [93,94], serotonergiczny 5-HT_{2A} (*5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 2A*, 5-HT_{2A}) i muskarynowe M₁ oraz M₄ (*cholinergic receptor, muscarinic 1, 4*, M₁ and M₄) [11,42]. Ponadto kanabinoidy wykazują synergizm z opioidami [55,56]. Stwierdzono, że ich działanie na receptor CB₁ jest nasilone w przypadku długotrwałych stanów zapalnych oraz w bólu neuropatycznym. Istnieje również wiele dowodów na udział receptorów CB₂ w łagodzeniu bólu zapalnego, neuropatycznego, a także związanego z osteoartrozą [6,27,80]. Szczególnie obiecująco przedstawia się perspektywa wykorzystania wybiórczych agonistów receptorów CB₂ działających przeciwbólowo i jednocześnie pozabawionych niepożądanych skutków ze strony OUN. Receptor CB₂ wykazuje ekspresję m.in. w zakończeniach nerwów obwodowych [2,66] a jego aktywacja prowadzi do hamowania odpowiedzi komórkowej oraz obniżonego uwalniania cytokin prozapalnych [82].

KANABINOIDY W LECZENIU BÓLU OSTREGO I ZAPALNEGO

Wyniki badań eksperymentalnych potwierdzają słuszność stosowania kanabinoidów w łagodzeniu stanów zapalnych

i bólu różnego pochodzenia w Chinach i Indiach datowanych na 2737-1400r p.n.e. Kanabinoidy działają przeciwbólowo zarówno na poziomie mózgu i rdzenia jak i obwodu. Te ostatnie poziomy działania są szczególnie interesujące, ponieważ nie wiążą się z niepożądanym działaniem psychotropowym. Praca Lichtmana, w której wykazał udział kanabinoidów w ponadrdzeniowych szlakach antynocyceptywnych zapoczątkowała serię badań nad przeciwbólowym zastosowaniem kanabinoidów [49]. W kolejnych badaniach do identyfikacji roli kanabinoidów w ponadrdzeniowych procesach modulacji bólu wykorzystano iniekcję agonistów receptorów kanabinoidowych do różnych regionów pnia mózgu. Dodatkowe badania wykazały, że mikroiniekcje CP-55940, WIN-55,212-2 oraz HU-210 do boczno-grzbietowej części PAG, jąder szwu, RVM, ciała migdałowatego, boczno-tylnych części wzgórza wywoływały działanie przeciwbólowe [60]. Ponadto w badaniach Menga i wsp. wykazano, że systemowe podanie selektywnego antagonisty receptora CB₁ (SR141716A) zmniejszyło aktywność komórek hamujących w RVM, a przez to obniżyło próg bólowy [65] delta-9-tetrahydrocannabinol (delta-9-THC). Badacze wykazali, że receptor CB₁ występuje w zstępujących ścieżkach bólowych i uczestniczy w modulacji reakcji nocycyptywnych. Grupa Walker'a wykazała, że iniekcja kanabinoidów (WIN-55,212-2 i HU-210) do RVM powoduje opóźnienie reakcji w teście odsuwania ogona (*tail-flick*). Podkreślając udział receptora CB₁ w tym procesie, efekt HU-210 został zablokowany przez rimonabant, ponadto iniekcja nieaktywnego enantiomeru WIN-55,212-3 nie wywołała poprzedniego efektu [61]. W pracy Lichtmana i współpracowników [48] dowiedziono, że podawanie CP-55940 do tylnej grzbietobrzusznej części PAG/grzbietowych jąder szwu, ale nie do skorupy jądra półleżącego przegrrody wywołuje antynocycepcję, katalapsję i hipotermię [16]. Mikroiniekcja kanabinoidu HU-210 do grzbietowej części PAG również wytwarzała antynocycepcję, w której uczestniczył receptor CB₁ po iniekcji formaliny do łapy szczurów [23]. Egzogenne kanabinoidy redukowały również agresję u szczurów wywołaną przez ultradźwięki. W opisanych efektach może uczestniczyć grzbietowa część PAG, jednak nie można jednoznacznie stwierdzić, że tylko za pośrednictwem receptorów CB₁, ponieważ efekty te były obserwowane, także po podaniu selektywnego antagonisty receptora CB₁ – rimonabantu. Tym samym autorom nie udało się wykazać, że mechanizm działania HU-210 jest bezpośrednio zależny od receptora CB₁ [22]. Grupa naukowców pod kierunkiem doktora Toth'a z *University of Calgary's Hotchkiss Brain Institute* w Calgary wykazała, że syntetyczny kanabinoid, nabilon, pomaga łagodzić ból towarzyszący neuropatii cukrzycowej, tj. uszkodzeniu obwodowych nerwów czuciowych, ruchowych, ale też nerwów autonomicznych, które unerwiają wiele narządów wewnętrznych i regulują procesy fizjologiczne u chorych na cukrzycę [101]. Pacjenci przyjmujący nabilon odczuwali ulgę w bólu oraz poprawę snu i redukcję lęków w porównaniu z grupą osób otrzymujących placebo. Wyniki te wskazują na potencjalne korzyści medyczne z zastosowania kanabinoidów w trudnych do leczenia dolegliwościach bólowych.

NOWY CEL W TERAPII BÓLU I STANÓW ZAPALNYCH: UKŁAD ENDOKANABINOIDOWY

Skutki niepożądane ze strony OUN takie jak: niepokój, senność, zaburzenia aktywności lokomotorycznej oraz pamięci stanowią ograniczenie dla stosowania egzogennych kanabinoidów w leczeniu bólu [39]. Interesującą alternatywę stanowią syntetyzowane na żądanie ze składników błony komórkowej endokanabinoidy, które nie wywołują tych efektów [99]. Niestety ze względu na efektywną degradację enzymatyczną uwalniane lokalnie endokanabinoidy cechują się krótkim czasem półtrwania. Badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych wykazały, iż zablokowanie degradacji endokanabinoidów (poprzez unieczynnienie enzymu FAAH) ma działanie przeciwbólowe oraz przeciwzapalne bez wywołania niepożądanych efektów ze strony OUN [50,87]. Endogenne kanabinoidy takie jak AEA, wiążąc się do swoich presynaptycznych i postsynaptycznych receptorów modulują aktywność neuronalną [88]. Dowiedziono, że blokowanie ośrodkowych lub obwodowych receptorów CB₁ prowadzi do hiperalgezji, sugerując toniczną aktywację tych receptorów przez endokanabinoidy. Elektryczna stymulacja grzbietowej i bocznej części PAG wywoływała działanie przeciwbólowe zależne od aktywacji receptora kanabinoidowego CB₁. Podawanie antagonistów receptorów opioidowych nie miało wpływu na obserwowany efekt. Natomiast mikroiniekcja do PAG antagonisty receptorów kanabinoidowych, rimonabantu, przywracała czucie bólu. Efektowi temu towarzyszył wzrost poziomu AEA w PAG. Ponadto zauważono wzrost stężenia endokanabinoidów w PAG w odpowiedzi na obwodowy odczyn zapalny [104].

Kolejne badania wykazały podwyższony poziom 2-AG i AEA w grzbietowej części śródmózgowia towarzyszący analgezji niezależnej od opioidów [35]. Co więcej, mikroiniekcja inhibitorów enzymu FAAH - URB-597 i AA-5-HT również powodowała analgezję zależną od receptorów kanabinoidowych [100]. Mikroiniekcja URB-597 do brzuszno-bocznej części PAG powodowała wzrost poziomu endokanabinoidów (zarówno AEA i 2-AG) oraz indukowała efekt przeciwbólowy zależnych nie tylko od receptorów CB₁, ale również od receptorów TRPV1. Powyższe badania potwierdzają współdziałanie układu endokanabinoidowego z innymi układami receptorowymi, w tym TRPV1, również istotnie zaangażowanymi w przekazywanie bólowe [54]. Podanie inhibitora MAGL - URB-602 do PAG zwiększało poziom endogennej 2-AG (ale nie AEA) w badanej strukturze [35]. Wyniki te podkreślają zaangażowanie endokanabinoidów w modulację bólową w śródmózgowiu. Jednak należy mieć na uwadze, że nie za wszystkie efekty endokanabinoidów odpowiadają receptory kanabinoidowe. Sugeruje się bowiem, że w niektóre efekty przeciwbólowe endokanabinoidów zaangażowane są receptory TRPV1.

Kolejną strukturą zaangażowaną w przekazywanie bólowe, lęk i mechanizmy obrony, i w której wykazano obecność recep-

torów kanabinoidowych, jest ciało migdałowate. Największą ekspresję mRNA receptora CB₁ zlokalizowano w podstawno-bocznym jądrze ciała migdałowatego. Region ten zaangażowany jest w modulację ostrych i tonicznych procesów nocycyptywnych [31]. Antynocycyptywne działanie WIN 55,212-2 zostało potwierdzone w teście odsuwania ogona oraz po podskórnym podaniu formaliny. Obserwowane efekty były dawkozależne, jak również wrażliwe na działanie antagonisty receptora CB₁ - AM251. Co ciekawe, stosowanie antagonisty receptora CB₂, SR144528 nie wpływało na antynocycyptywę wywołaną podaniem WIN 55,212-2. Sugeruje to, że efekty przeciwbólowe WIN 55,212-2 są zależne wyłącznie od receptora CB₁ [59]. Ponadto, obustronne lezje w obrębie ciała migdałowatego powodowały, że zwierzęta były mniej wrażliwe na przeciwbólowe działanie syntetycznych kanabinoidów np. WIN-55,212-2. Warto zaznaczyć, że zarówno FAAH i MAGL zlokalizowane są presynaptycznie oraz postsynaptycznie odpowiednio, w podstawno-bocznej i bocznej części ciała migdałowatego [21,30,102], co wskazuje na możliwe istnienie mechanizmów inaktywacji AEA i 2-AG w tej strukturze. Badania przeprowadzone na obecność kanabinoidów w ciele migdałowatym, jak również bezpośrednie ich podania do tej struktury [60], sugerują, że endokanabinoidy mogą skutecznie tłumić reakcje na szkodliwe bodźce bólowe [32,33].

Wczesne obserwacje antynocycyptywnych właściwości kanabinoidów przyczyniły się do zapoczątkowania serii kolejnych badań nad wykorzystaniem przeciwbólowych właściwości układu endokanabinoidowego w bólu przewlekłym. Obecnie potencjalnym celem w leczeniu bólu i chorób zapalnych jest enzym FAAH [87]. Hamowanie FAAH wpływa na dłuższy czas działania AEA w stanach bólowych, co zostało udowodnione w badaniach na różnych modelach zwierzęcych [38, 74, 85, 89]. Ablacja genu *faah* u myszy powoduje znaczny wzrost stężenia AEA w mózgu oraz w rdzeniu kręgowym [35] oraz redukcję obrzęku indukowanego podaniem karageniny do tapy zwierząt [18]. Farmakologiczne blokowanie FAAH, podnosząc poziom anandamidu, zmniejsza ból oraz redukuje termiczną i mechaniczną hiperalgezę w szczurzym modelu bólu zapalnego indukowanym podaniem pełnego adiuwantu Freund'a (*complete Freund's adjuvant*, CFA) [38]. W badaniach przeprowadzonych przez Bookera i wsp. wykazano, że podania inhibitorów enzymu FAAH – URB-597, OL-135 oraz PF-3845 przeciwdziałały alodynii w mysim modelu bólu zapalnego. Zablokowanie enzymu FAAH powodowało zwiększenie poziomu AEA w mózgu oraz rdzeniu kręgowym. Dowiedziono również, że w obserwowanych efekty przeciwbólowych badanych związków istotną rolę odgrywały oba receptory kanabinoidowe, CB₁ i CB₂ [8]. Ponieważ leczenie bólu neuropatycznego wciąż stanowi poważne wyzwanie dla lekarzy, pragniemy zwrócić uwagę czytelników na potencjał terapeutyczny endokanabinoidów w tym schorzeniu.

KANABINOIDY W BÓLU NEUROPATYCZNYM

Ból receptorowy jest normalną, fizjologiczną reakcją organizmu na uszkodzenie tkanek, a jego patomechanizm jest dość

dobrze poznany. Natomiast ból neuropatyczny, czyli powstający w następstwie uszkodzenia lub dysfunkcji ośrodkowego lub obwodowego układu nerwowego, pozostaje trudnym, złożonym zagadnieniem z wieloma niewiadomymi. Mimo wprowadzania do terapii nowych technik i leków skuteczność leczenia bólu neuropatycznego nie jest satysfakcjonująca, a ból ten jest aktualnie jednym z głównych wyzwań w kontekście terapii bólu przewlekłego. W badaniach zmierzających do zrozumienia plastyczności układu nerwowego w odpowiedzi na ból przewlekły używa się modeli zwierzęcych bólu neuropatycznego. Jednym z najczęściej stosowanych modeli obwodowej neuropatii jest model podwiązania nerwu kulszowego (*chronic constriction injury*, CCI) szczegółowo opisany przez Bennetta'a [7] oraz częściowe podwiązanie nerwu [90] lub uszkodzenie L5 i L6 nerwu rdzeniowego (*spinal nerve ligation*, SNL) [41]. Wszystkim wymienionym modelom po stronie uszkodzenia towarzyszy mechaniczna oraz termiczna alodynia (reakcja na bodziec nie bólowy), a także hiperalgezia (przeczulica, nadmierne odczuwanie bólu, obniżony próg bólowy). Najnowsze doniesienia sugerują, że ważnymi elementami patomechanizmu bólu neuropatycznego są komórki mikrogleju, które również wykazują ekspresję receptorów kanabinoidowych. Zrozumienie interakcji pomiędzy neuronami a komórkami glejowymi oraz układem endokanabinoidowym może przyczynić się do odnalezienia nowych mechanizmów antynocycyptywnych [53]. Dlatego też jedną z obiecujących strategii leczenia bólu neuropatycznego jest wykorzystanie układu endokanabinoidowego.

SYNTETYCZNE KANABINOIDY W LECZENIU BÓLU NEUROPATYCZNEGO

Skuteczność stosowania selektywnego agonisty receptora WIN-55,212-2 w leczeniu bólu neuropatycznego dowiodły badania grupy Herzberg'a [34]. Związek ten przeciwdziałał hiperalgezji oraz mechanicznej alodynii w dwóch zwierzęcych modelach bólu neuropatycznego: modelu CCI oraz SNL. Autorzy wykazali, że efekt przeciwbólowy był zależny od receptora CB₁, a więc blokowany po podaniu antagonisty receptora CB₁ - SR141716A [9]. Kolejna ciekawa seria badań dotyczyła wpływu długotrwałego podawania kanabinoidów na symptomy bólu neuropatycznego. Wykazano, że przewlekłe podania WIN-55,212-2 osłabiały termiczną i mechaniczną hiperalgezę, dodatkowo nie powodując rozwoju tolerancji [16]. Wielokrotne podania WIN-55,212-2 wykazały również skuteczność w hamowaniu uwalniania mediatorów zapalnych odpowiedzialnych za uwrażliwienie obwodowych zakończeń nerwów czuciowych wywołujących hiperalgezę oraz normalizowały poziomy prostaglandyny E2 (PGE2) oraz tlenku azotu (NO) w surowicy [13]. Podkreśla to skuteczność WIN-55,212-2 nie tylko w łagodzeniu bólu neuropatycznego, ale również w stanach zapalnych tkanek obwodowych. Wyniki tych badań w sposób szczególnie podkreślają terapeutyczne możliwości kanabinoidów w łagodzeniu objawów bólu neuropatycznego. Jednocześnie w modelu CCI wykazano, że w efekcie analgetycznym po zastosowaniu WIN-55,212-2 oraz innych częściowych ago-

nistów receptorów kanabinoidowych (CP-55940 i HU-210) pośredniczy głównie receptor CB_1 . Wszystkie wymienione związki przeciwdziałały mechanicznej hiperalgezji sugerując, że aktywność agonistów receptorów kanabinoidowych jest skorelowana z ich anatomicznym rozmieszczeniem. Wykazanie, że obwodowe, a nie narządowe podanie antagonisty receptora CB_1 : SR141716A, blokowały efekt analgetyczny WIN-55,212-2 [24], co przyczyniło się do zaproponowania obwodowego mechanizmu działania związków kanabinoidowych. Sprzeczne i zaskakujące wyniki pojawiły się w odniesieniu do tego samego związku (SR141716A), którego jednorazowe podanie powodowało hiperalgezję oraz allodynię w modelu CCI [34]. Z drugiej strony chroniczne podawanie tego związku zmniejszało przeczulicę cieplną i mechaniczną, zarówno u szczurów i myszy $CB_1^{+/+}$ ale nie wykazywało takiego efektu u myszy $CB_1^{-/-}$ [15]. Aktualne doniesienia na temat anti- lub pro-nocyceptywnego profilu działania antagonistów tego receptora kanabinoidowego są niejednoznaczne i wymagają dalszych badań.

Badania z grupy Lichtman'a znacząco przyczyniły się do rozwoju związków, które selektywnie aktywowały receptor CB_2 nie wpływając na receptor CB_1 , a więc niwelowały efekty kanabinomimetyczne, takie jak zaburzenia lokomotoryczne czy hipotermia. Kinsley i wsp. [45] dowiedli, że analog THC, O-3223 wykazywał selektywną skuteczność w stosunku do receptora CB_2 . W serii badań z zastosowaniem O-3223 w mysich modelach bólu neuropatycznego, w tym również w modelu CCI, badany związek przeciwdziałał termicznej hiperalgezji. Analgetyczny efekt O-3223 był blokowany przez podanie selektywnego agonisty receptora CB_2 SR144528, ale nie przez antagonistę CB_1 - rimonabant. Warto zaznaczyć, że w przeciwieństwie do CP-55,940 (agonisty receptorów kanabinoidowych), O-3223 nie powodował hipertermii oraz, jak wykazano w teście pręta obrotowego (*Rota rod*), nie wpływał na koordynację ruchową. Powyższe badania sugerują, że O-3223 może posłużyć jako cząsteczka modelowa do stworzenia nowych, selektywnych agonistów receptora CB_2 o zwiększonej zdolności analgetycznej. W zgodzie z tym stwierdzeniem obserwuje się rosnącą liczbę publikacji na temat analgetycznego działania agonistów receptora CB_2 w modelach bólu przewlekłego [106]. Warto również zaznaczyć, że w modelu CCI wykazano podwyższony poziom receptora CB_2 na poziomie mRNA w lędźwiowym odcinku rdzenia kręgowego głównie w komórkach nieneuronalnych [107]. Wielokrotne podania agonisty receptora CB_2 , A-836,339 nie wpływały na rozwój tolerancji oraz nie wywoływały niepożądanych skutków niepożądanych zachowując swój przeciwbólowy potencjał (przeciwdziałały termicznej i mechanicznej hiperalgezji) [105]. Z badania Leichsenringa i jego współpracowników wynika, że przewlekle stosowanie agonisty receptora CB_2 GW-405833 lub WIN-55,212-2 w niskich, nie wywołujących efektów psychoaktywnych dawkach przeciwdziałało mechanicznej allodyni w modelu SNL [47]. Brak negatywnych działań niepożądanych ze strony OUN to korzyści, jakie wynikają z zastosowania związków wybiórczo działających na jeden typ receptorów kanabino-

idowych – receptora CB_2 . Takie substancje są obiecującą alternatywą przyszłych terapii przeciwbólowych w leczeniu bólu neuropatycznego.

PERSPEKTYWY ROZWOJU TERAPII BÓLU NEUROPATYCZNEGO W OPARCIU O LEKI MODULUJĄCE UKŁAD ENDOKANABINOIDOWY

W badaniach prowadzonych na zwierzęcych modelach bólu neuropatycznego niejednokrotnie obserwowano, że wzmożenie aktywności nocyceptywnych szlaków związane jest z podniesionym poziomem endokanabinoidów, w szczególności AEA, w rdzeniu kręgowym, w DRG oraz w RVM. Jednocześnie zmianom tym towarzyszy niskie stężenie PEA w wymienionych strukturach [29,78].

W stanach bólu neuropatycznego w modelu CCI obserwowano wzrost stężenia AEA i 2-AG w strukturach zaangażowanych w przewodnictwo bólowe takich jak: PAG i RVM [78]. Ponadto, w modelu CCI zaobserwowano podwyższony poziom receptorów serotoniny (5-HT_{1A}) w jądrze szwu, który może być blokowany przez WIN-55,212-2 i AM404 wskazując na udział receptora CB_1 w obserwowanym efekcie [73]. Co więcej w szczurzym modelu CCI w grzbietowych warstwach lędźwiowego odcinka rdzenia kręgowego wykazano zwiększoną ekspresję białka FOS (markera aktywacji neuronów) w odpowiedzi na niebólowy bodziec mechaniczny. AM404 obniżał ekspresję białka FOS, a jednoczesne stosowanie antagonistów receptorów kanabinoidowych oraz receptora TRPV1 zmniejszało efekt AM404. Powyższy wynik wskazuje na udział receptorów kanabinoidowych oraz receptora TRPV1 w tym efekcie [84]. Wydaje się, że zwiększona akumulacja AM404, inhibitora wychwytu zwrotnego anandamidu, prowadzi do zmniejszenia biodostępności endokanabinoidów poprzez jeszcze niezidentyfikowane mechanizmy. AM404 w modelu CCI przywracał prawidłowy poziom tlenu azotu, cytokin (np. TNF- α and IL10) oraz czynnika NF- κ B [14]. Ponadto jego wielokrotne podania tłumiły wynaczynienie osocza do przestrzeni pozanaczyniowej [81]. Spośród związków modulujących aktywność układu endokanabinoidowego, AM404 wydaje się być dobrym kandydatem do leczenia bólu neuropatycznego w dawkach, które nie wpływałyby na aktywność lokomotoryczną zwierząt. Postuluje się, że jego skuteczne działanie w przeciwdziałaniu termicznej hiperalgezji jest skorelowane z aktywacją zarówno receptorów CB_1 oraz TRPV1 [14, 84].

Alternatywnym podejściem terapeutycznego zastosowania układu endokanabinoidowego jest zablokowanie enzymów degradujących dwa główne endokanabinoidy: AEA i 2-AG, a więc odpowiednio inhibicja enzymów FAAH i MAGL. Zarówno nieodwracalna (poprzez związek URB-597) jak i odwracalna (poprzez OL-135) inhibicja FAAH powoduje przeciwbólowe efekty podobne do obserwowanych u myszy *knock-out* (*FAAH^{-/-}*) [17,51]. Ponadto, jak wykazano w badaniach prowadzonych na ma-

pach, URB-597 nie powoduje uzależnienia [40] i ma działanie ochronne w stosunku do szlaku przewodzenia pokarmowego [68]. Wykazano, że efekty działania OL-135 są zależne od aktywacji zarówno receptora CB_1 , jak i CB_2 . Dodatkowo zarówno OL-135 i URB-597 mają działanie antynocycetywne u myszy z enzymem FAAH ($FAAH^{+/+}$) lecz nie wykazywały podobnego efektu u myszy *knock-out* ($FAAH^{-/-}$). W modelu CCI inhibitor MAGL - JZL184 przeciwdziała mechanicznej i termicznej alłodyni poprzez pośrednią aktywację receptora CB_1 . Efekt był obserwowany zarówno u myszy $FAAH^{+/+}$ jak i $FAAH^{-/-}$. Wskazuje to na istnienie odrębnych mechanizmów inhibicji FAAH oraz MAGL [44]. Badania przeprowadzone z użyciem innego inhibitora enzymu FAAH, PF-3845 wykazały redukcję objawów mechanicznej i termicznej alłodyni w mysim modelu CCI. W porównaniu do innych inhibitorów FAAH związek ten cechuje się większą selektywnością oraz dłuższą aktywnością *in vivo* [43]. Eksperymenty przeprowadzone na tym samym modelu wykazały, iż podania inhibitorów MAGL, MJN110 oraz JZL184 nie tylko podnosiły poziom 2-AG w mózgu ale również znacząco przeciwdziałały typowym objawom neuropatii m.in. mechanicznej alłodyni. Obserwowane efekty anty-alłodyniczne były znacząco większe niż te, po podaniach agonisty receptora CB_1 - CP55,940. Natomiast skutki niepożądane ze strony OUN wynikające z podań opisanych inhibitorów MAGL niewielkie [36]. Doświadczenia na myszach pozbawionych receptorów kanabinoidowych $CB_1^{-/-}$ lub $CB_2^{-/-}$ dowiodły, że zahamowanie enzymu FAAH nie wiązało się ze zmniejszeniem objawów alłodyni. Co ciekawe, w badaniach z zastosowaniem inhibitorów MAGL, głównego enzymu rozkładającego 2-AG, efekt przeciwdziałający mechanicznej alłodyni wykazano tylko u myszy pozbawionych receptora $CB_1^{-/-}$, natomiast nie zauważono podobnego efektu u myszy $CB_2^{-/-}$. Tak więc w efektach anty-alłodynicznych wywoływanych przez ligandy AEA i 2-AG uczestniczą odrębne mechanizmy aktywacji receptorów kanabinoidowych. Autorzy postulują [43], że podwyższony poziom endogenego AEA przeciwdziała mechanicznej alłodyni za pośrednictwem receptorów CB_1 oraz CB_2 . A zatem miejscowe blokowanie aktywności FAAH i MAGL w szczurzym modelu bólu neuropatycznego przeciwdziała termicznej hiperalgezji i mechanicznej alłodyni [19]. Doniesienia naukowców z *Virginia Commonwealth University* wykazały, że stosowanie związków hamujących rozkład 2-AG również posiada duży potencjał terapeutyczny. KML29, selektywny inhibitor MAGL, przeciwdziała mechanicznej alłodyni w mysim modelu bólu zapalnego wywołanym podaniem karageniny, jak również w modelu CCI [37]. Najnowsze doniesienia sugerują, że jednoczesne hamowanie enzymu FAAH z częściowym blokowaniem MAGL efektywniej przeciwdziała stanom bólowym w porównaniu do związków działających na jeden cel molekularny. Dodatkowym atutem takich związków jest niewielkie ryzyko skutków niepożądanych ze strony OUN. Badania potwierdzające tę hipotezę przeprowadzono na mysich modelach bólu zapalnego i neuropatycznego [4, 26] oraz w szczurzym modelu bólu trzewnego [86].

Innowacyjne podejście do terapii bólu przewlekłego uwzględnia dualistyczną naturę endogenego liganda re-

ceptorów TRPV1 i CB_1 - anandamidu. Wyniki ostatnich badań wskazują, że endowaniloidy działają jako endogenne aktywatory zstępujących antynocycetywnych szlaków przewodzenia bólu [92]. Tak więc nie tylko TRPV1, ale również endowaniloidy i enzymy regulujące metabolizm endokannabinoidów, mogą być obiecującymi punktami uchwytu dla badań farmakologicznych mających na celu opracowanie skutecznych metod leczenia bólu [98]. Dane otrzymane przez naszą grupę badawczą wskazują, że w przeciwbólowych właściwościach egzogennie, a także endogennie podwyższonego poziomu anandamidu w bólu neuropatycznym uczestniczą mechanizmy TRPV1-zależne [94]. Bieżące badania sugerują, że efekt analgetyczny wywołany zahamowaniem enzymatycznego rozkładu AEA w warunkach *in vivo* jest zależny od dawki inhibitora FAAH i pośredniczą w nim receptory TRPV1 i/lub CB_1 [54]. Nasze badania wykazały, że efekt analgetyczny jest zależny od dawki inhibitora FAAH (10 μ g vs. 100 μ g podane nardzeniowo, i.t.) oraz, że jest receptorowo-specyficzny i pośredniczą w nim receptory TRPV1 i/lub CB_1 [94]. W kolejnej części badań poszerzyliśmy zakres dawek URB-597, aby dokładniej określić rolę receptorów TRPV1 w obserwowanych efektach analgetycznych. Efekt URB-597 w dawce 200 μ g (i.t.) ulegał znacznemu osłabieniu tylko w przypadku zablokowania receptora TRPV1 [93]. Nasze badania potwierdzają hipotezę dotyczącą roli endogennych ligandów TRPV1 w przeciwdziałaniu alłodyni i hiperalgezji w stanach bólu neuropatycznego i sugerują zasadność dalszych badań nad strategiami terapeutycznymi polegającymi na pośredniej modulacji czynności receptorów TRPV1 [94]. Poziom endogenego AEA w odcinku lędźwiowym rdzenia kręgowego szczurów po podaniu URB-597 w dawce 10 μ g nie zmieniał się (obserwowano jedynie tendencję do podwyższonego poziomu AEA), natomiast wzrastał znamiennie po podaniu URB-597 w dawce 100 μ g, podczas gdy poziom innych estrów kwasów tłuszczowych: 2-AG, PEA i OEA nie ulegał zmianie. Zahamowanie degradacji endogenego AEA z zastosowaniem wyższej dawki inhibitora enzymu FAAH, URB-597 – 200 μ g, spowodowało istotne obniżenie poziomu AEA oraz wzrost poziomu 2-AG, PEA i OEA w rdzeniu kręgowym [93,94]. Podsumowując, wyniki tej serii badań farmakologicznych i biochemicznych wskazują na istotną rolę receptora TRPV1 w przeciwbólowych efektach wywołanych przez substancje oddziałujące z układem endokannabinoidowym w bólu neuropatycznym oraz na udział systemu endowaniloidowego w przewlekłych procesach bólowych na poziomie rdzenia kręgowego [93,94]. W oparciu o łączną analizę wyników badań behawioralnych, które wykazały efekt przeciwbólowy po farmakologicznej modulacji poziomu endogenego AEA (poprzez zahamowanie aktywności głównego enzymu odpowiedzialnego za jego hydrolizę) z wynikami analizy metodą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią masową (LCMS), gdzie dawka 100 μ g URB-597 podwyższała, a 200 μ g URB-597 obniżała poziom endogenego AEA, można wysunąć hipotezę, że pełne wyłączenie aktywności enzymu FAAH może uruchamiać mechanizmy kompensacyjne, które aktywują alternatywne

ścieżki metabolizmu AEA. W oparciu o aktualny stan wiedzy i wyniki naszych badań możemy zaproponować, że obserwowany efekt analgetyczny wywołany podaniem URB-597 w dawce 200 µg nie jest efektem wywołanym bezpośrednio aktywacją receptorów TRPV1 przez AEA, ale może być sumarycznym efektem włączenia alternatywnych ścieżek metabolizmu AEA. Zgodnie z wysuniętą powyżej hipotezą w sytuacji zahamowania aktywności FAAH dochodzi do aktywacji szlaku lipoksygenacji (z udziałem 12-/15-LOX) i wytwarzania innego/kolejnego endogennego liganda receptora TRPV1, 12-/15-S-HPETE (szczegółowy opis i rycina w [97]) a dowodem na ten mechanizm jest brak opisanych efektów po zastosowaniu baikaleiny, inhibitora ścieżki lipoksygenacji. Odkrycie i charakterystyka endogennych systemów kanabinoidowego i waniloidowego stwarza nowy kierunek dla rozwoju leków przeciwbólowych opartych na hamowaniu katabolizmu endokanabinoidów, działających na więcej niż jeden cel molekularny. Strategia omijająca bezpośrednio działanie na receptory CB₁ oraz związane z tym częste występowanie objawów niepożądanych, stwarza możliwość bezpieczniejszego przejścia od badań podstawowych do kliniki. Najnowsze wyniki badań przeprowadzone przez naszą grupę wskazują, że podczas rozwoju symptomów bólowych – hiperalgezji i alłodynii dochodzi do wzrostu ekspresji receptora CB₂, zarówno na poziomie DRG, jak i w rdzeniu kręgowym. Mimo braku zmian ilości enzymu klasycznej ścieżki syntezy AEA – NAPE-PLD (*N-acyl phosphatidylethanolamine phospholipase D*, NAPE-PLD) zaobserwowano wzrost ekspresji enzymów alternatywnych dróg syntezy. Dodatkowo enzymy degradujące AEA (FAAH i LOX12/15) wykazywały wzrosty ekspresji w badanych strukturach [57]. Dane te poszerzyły wiedzę na temat modulacji systemu endokanabinoidowego w przebiegu bólu neuropatycznego. Badania wykazały zmiany w alternatywnych ścieżkach syntezy i degradacji AEA, które mogą tłumaczyć zmiany poziomów endokanabinoidów w przebiegu bólu przewlekłego oraz świadczą o dużej plastyczności układu podatnej na modulację farmakologiczną. Ponadto najnowsze doniesienia sugerują współdziałanie receptorów CB₁ i TRPV1 ze szczególnym uwzględnieniem tej interakcji dla procesów bólowych, rozwijających się w stanach zapalnych i bólu przewlekłym [52]. Przeprowadzone przez nas badania wykazały wzrost ekspresji TNFα (*Tumor necrosis factor α*, TNFα) oraz NGF (*Nerve growth factor*, NGF) w początkowym etapie rozwoju neuropatii oraz silny wzrost ekspresji kinazy PKCε (*Protein kinase C*, PKC) w dalszych etapach rozwoju choroby. Wyniki badań sugerowały, że inne czynniki mają udział w sensytyzacji receptora podczas przejścia bólu z ostrego w neuropatyczny, a inne w podtrzymaniu aktywacji TRPV1 w trakcie trwania schorzenia. Zaproponowano tym samym nowe cele molekularne dla leczenia bólu przewlekłego związanego z uszkodzeniem nerwów [58]. Opisanie interakcji dwóch endogennych układów w bólu przewlekłym stanowi uzasadnienie do proponowanego wcześniej [95] zastosowania związków hybrydowych (oddziałujących na oba układy) jako nowych leków o potencjalnym działaniu przeciwbólowym.

PODSUMOWANIE

Zarówno bezpośrednia aktywacja receptorów kanabinoidowych jak i akumulacja endogennych kanabinoidów przyczynia się do łagodzenia objawów w modelach bólu neuropatycznego u gryzoni. Enzymy FAAH i MGL stanowią nowe, interesujące cele do opracowania nowatorskich środków farmakologicznych w walce z bólem przewlekłym.

Badania podstawowe zgromadzone w tej pracy popierają skuteczność stosowania kanabinoidów w schorzeniach bólowych opornych na tradycyjne metody leczenia. Stosowanie preparatów na bazie kanabinoidów powoli zaczynają pojawiać się w badaniach klinicznych. Doskonałym przykładem jest preparat o nazwie *Sativex*. Środek ten składający się z Δ9-tetrahydrokanabinolu i kanabidiolu (THC:CBD) minimalizował bolesne doznania u pacjentów cierpiących na bóle związane z uszkodzeniem nerwów i oporne na inne metody leczenia [70]. *Sativex* z sukcesem stosowany był u również u pacjen-

Tabela 1. Lista syntetycznych związków używanych do badań farmakologii receptorów kanabinoidowych i układu endokanabinoidowego. CB₁ – receptor kanabinoidowy typu 1, CB₂ – receptor kanabinoidowy typu 2, TRPV1 – Receptor waniloidowy, FAAH - hydrolaza amidów kwasów tłuszczowych, MAGL - lipaza monoglicerolowa.

Związek	Funkcja
A-836,339	Selektywny agonista receptora CB ₂
AA-5-HT	Inhibitor enzymu FAAH oraz antagonist receptoru TRPV1
AM1241	Agonista receptora CB ₂
AM251	Antagonista receptora CB ₁
AM404	Inhibitor wychwytu zwrotnego anandamidu
CP-55940	Agonista receptora CB ₁ oraz CB ₂
GW-405833	Agonista receptora CB ₂
HU-210	Agonista receptora CB ₁ oraz CB ₂
JZL184	Selektywny inhibitor MAGL
KML29	Selektywny inhibitor MAGL
MJN110	Selektywny inhibitor MAGL
O-3223	Selektywny agonista receptora CB ₂
OL-135	Odwracalny inhibitor enzymu FAAH
PF-3845	Inhibitor enzymu FAAH
SR14176A (Rimonabant)	Antagonista receptora CB ₂
SR144528	Antagonista receptora CB ₂
URB-597	Nieodwracalny inhibitor enzymu FAAH
URB-602	Nieodwracalny inhibitor enzymu MAGL
WIN-55,212-2	Agonista receptora CB ₁ oraz CB ₂
WIN-55,212-3	Antagonista kompetycyjny receptora CB ₂

tów cierpiących na bóle nowotworowe, odporne na leczenie opioidami [39]. Ponadto *Sativex* był dobrze tolerowany, nie wykazywał poważnych działań niepożądanych ze strony OUN, a znoszenie bólu utrzymywało się bez zwiększania dawki. Dodatkowo, badania kliniczne donoszą również o jego znikomym wpływie na możliwości nadużywania oraz niewielkim potencjale psychoaktywnym [83].

Artykuły naukowe zebrane w niniejszej pracy przedstawiają przeciwbólowe właściwości terapeutyczne kanabinoidów. Jednakże podkreśla się ich większą skuteczność w bólu przewlekłym niż w krótko trwającym bólu zapalnym. Interesujące badania grupy Pernia-Andrade [75] częściowo wyjaśniają, dlaczego w próbach klinicznych leki ukierunkowane na system kanabinoidowy nie przyniosły efektu terapeutycznego w bólu zapalnym, a były skuteczne w innych przewlekłych stanach bólowych. Autorzy wykazali, że na poziomie rdzenia kręgowego zarówno egzo- jak i endogenne kanabinoidy powodują, że pobudzone interneurony hamujące uwalniają mniejsze ilości kwasu γ -aminomasłowego oraz GABA. Efektem takiego działania jest otwarcie „bramki bólowej” i sensytyzacja neuronów nocycyptywnych. W konsekwencji prowadzi to do zwiększenia neuroprzekaznictwa, zarówno w odpowiedzi na uszkodzające, jak i nieuszkodzające bodźce mechaniczne. Liczba naukowych

donesień o przeciwbólowym działaniu kanabinoidów wzrasta z roku na rok. Najnowsze odkrycia koncentrują się na systemie endokannabinoidowym, jako istotnym elemencie procesów kontroli bólu. Środki działające selektywnie na obwodowe receptory kanabinoidowe hamujące aktywność enzymów FAAH/MGL i jednocześnie zapobiegające rozkładowi endokannabinoidów (zebrane w tabeli 1) oferują możliwość oddzielenia korzystnego efektu przeciwbólowego od niekorzystnych skutków niepożądanych. Podsumowując, endokannabinoidy wydają się być interesującymi i obiecującymi celami molekularnymi w walce z bólem. Perspektywy ich wykorzystania w leczeniu są znacznie szersze. Co więcej, istnieje możliwość otrzymania leków o unikalnym profilu terapeutycznym, np. działających przeciwbólowo, przeciwzapalnie i jednocześnie przeciwwrzodowo. Wynika to z istotnej roli endogennego układu kanabinoidowego w fizjologii i patofizjologii człowieka.

Podziękowania

praca została wykonana w ramach projektów Narodowego Centrum Nauki SONATA BIS NCN/2012/07/E/NZ7/01269 oraz OPUS NCN/2011/03/B/NZ4/00042, a także w ramach działalności statutowej Zakładu Farmakologii Bólu IF PAN w Krakowie

Piśmiennictwo

- [1] Anand P, Whiteside G, Fowler CJ, Hohmann AG. Targeting CB2 receptors and the endocannabinoid system for the treatment of pain. *Brain Res. Rev.* 2009;60:255–66.
- [2] Anand U, Otto WR, Sanchez-Herrera D, Facer P, Yiangou Y, Korchev Y, Birch R, Benham C, Bountra C, Chessell IP, Anand P. Cannabinoid receptor CB2 localisation and agonist-mediated inhibition of capsaicin responses in human sensory neurons. *Pain* 2008;138:667–680.
- [3] Anand U, Otto WR, Sanchez-Herrera D, Facer P, Yiangou Y, Korchev Y, Birch R, Benham C, Bountra C, Chessell IP, Anand P. Cannabinoid receptor CB2 localisation and agonist-mediated inhibition of capsaicin responses in human sensory neurons. *Pain* 2008;138:667–80.
- [4] Anderson WB, Gould MJ, Torres RD, Mitchell V a., Vaughan CW. Actions of the dual FAAH/MAGL inhibitor JZL195 in a murine inflammatory pain model. *Neuropharmacology* 2014;81:224–230.
- [5] Ashton JC, Friberg D, Darlington CL, Smith PF. Expression of the cannabinoid CB2 receptor in the rat cerebellum: An immunohistochemical study. *Neurosci. Lett.* 2006;396:113–116.
- [6] Beltramo M, Bernardini N, Bertorelli R, Campanella M, Nicolussi E, Fredduzzi S, Reggiani A. CB2 receptor-mediated antihyperalgesia: Possible direct involvement of neural mechanisms. *Eur. J. Neurosci.* 2006;23:1530–1538.
- [7] Bennett GJ, Xie YK. A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988;33:87–107.
- [8] Booker L, Kinsey SG, Abdullah R a., Blankman JL, Long JZ, Ezzili C, Boger DL, Cravatt BF, Lichtman AH. The fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitor PF-3845 acts in the nervous system to reverse LPS-induced tactile allodynia in mice. *Br. J. Pharmacol.* 2012;165:2485–2496.
- [9] Bridges D, Ahmad K, Rice a S. The synthetic cannabinoid WIN55,212-2 attenuates hyperalgesia and allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Br. J. Pharmacol.* 2001;133:586–594.
- [10] Cavuoto P, McAinch AJ, Hatzinikolas G, Janovská A, Game P, Wittert G a. The expression of receptors for endocannabinoids in human and rodent skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007;364:105–110.
- [11] Christopoulos A, Wilson K. Interaction of anandamide with the M1 and M4 muscarinic acetylcholine receptors. 2001;915:70–78.
- [12] Clayton N, Marshall FH, Bountra C, O’Shaughnessy CT. CB1 and CB2 cannabinoid receptors are implicated in inflammatory pain. *Pain* 2002;96:253–260.
- [13] Costa B, Colleoni M, Conti S, Trovato a E, Bianchi M, Sotgiu ML, Giagnoni G. Repeated treatment with the synthetic cannabinoid WIN 55,212-2 reduces both hyperalgesia and production of pronociceptive mediators in a rat model of neuropathic pain. *Br. J. Pharmacol.* 2004;141:4–8.
- [14] Costa B, Siniscalco D, Trovato AE, Comelli F, Sotgiu ML, Colleoni M, Maione S, Rossi F, Giagnoni G. AM404, an inhibitor of anandamide uptake, prevents pain behaviour and modulates cytokine and apoptotic pathways in a rat model of neuropathic pain. *Br. J. Pharmacol.* 2006;148:1022–1032.
- [15] Costa B, Trovato AE, Colleoni M, Giagnoni G, Zarini E, Croci T. Effect of the cannabinoid CB1 receptor antagonist, SR141716, on nociceptive response and nerve demyelination in rodents with chronic constriction injury of the sciatic nerve. *Pain* 2005;116:52–61.
- [16] Costa B, Trovato AE, Comelli F, Giagnoni G, Colleoni M. The non-psychoactive cannabis constituent cannabidiol is an orally effective therapeutic agent in rat chronic inflammatory and neuropathic pain. *Eur. J. Pharmacol.* 2007;556:75–83.
- [17] Cravatt BF, Demarest K, Patricelli MP, Bracey MH, Giang DK, Martin BR, Lichtman a H. Supersensitivity to anandamide and enhanced endogenous cannabinoid signaling in mice lacking fatty acid amide hydrolase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001;98:9371–9376.
- [18] Cravatt BF, Saghatelian A, Hawkins EG, Clement AB, Bracey MH, Lichtman AH. Functional disassociation of the central and peripheral fatty acid amide signaling systems. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004;101:10821–10826.
- [19] Desroches J, Guindon J, Lambert C, Beaulieu P. Modulation of the anti-nociceptive effects of 2-arachidonoyl glycerol by peripherally administered FAAH and MGL inhibitors in a neuropathic pain model. *Br. J. Pharmacol.* 2008;155:913–924.

- [20] Devane W a, Hanus L, Breuer a, Pertwee RG, Stevenson L a, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum a, Etinger a, Mechoulam R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 1992;258:1946–1949.
- [21] Egertová M, Cravatt BF, Elphick MR. Comparative analysis of fatty acid amide hydrolase and CB1 cannabinoid receptor expression in the mouse brain: Evidence of a widespread role for fatty acid amide hydrolase in regulation of endocannabinoid signaling. *Neuroscience* 2003;119:481–496.
- [22] Finn DP, Jhaveri MD, Beckett SRG, Kendall D a., Marsden C a., Chapman V. Cannabinoids modulate ultrasound-induced aversive responses in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2004;172:41–51.
- [23] Finn DP, Jhaveri MD, Beckett SRG, Roe CH, Kendall D a., Marsden C a., Chapman V. Effects of direct periaqueductal grey administration of a cannabinoid receptor agonist on nociceptive and aversive responses in rats. *Neuropharmacology* 2003;45:594–604.
- [24] Fox A, Kesingland A, Gentry C, Mcnair K, Patel S, Urban L, James I. The role of central and peripheral Cannabinoid 1 receptors in the anti-hyperalgesic activity of cannabinoids in a model of neuropathic pain. 2001;92:91–100.
- [25] Gaoni Y, Mechoulam R. Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J. Am. Chem. ...* 1964;86:1646–1647
- [26] Ghosh S, Kinsey SG, Liu Q -s., Hrubá L, McMahon LR, Grim TW, Merritt CR, Wise LE, Abdulla R a., Selley DE, Sim-Selley L, Cravatt BF, Lichtman a. H. Full FAAH inhibition combined with partial monoacylglycerol lipase inhibition: Augmented and sustained antinociceptive effects with negligible cannabimimetic side effects in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2015;53226.
- [27] Giblin GMP, Shaughnessy CTO, Naylor A, Mitchell WL, Eatherton AJ, Slingsby BP, Rawlings DA, Goldsmith P, Brown AJ, Haslam CP, Clayton NM, Wilson AW, Chessell IP, Wittington AR, Green R. Neurology and GI Centre of Excellence for Drug Discovery, Molecular Discovery Research, GlaxoSmithKline, New Frontiers Park, Harlow, Essex, CM19 5AW, U.K. Received October 13, 2006. *Society* 2007:2597–2600.
- [28] Gong JP, Onaivi ES, Ishiguro H, Liu QR, Tagliaferro P a., Brusco A, Uhl GR. Cannabinoid CB2 receptors: Immunohistochemical localization in rat brain. *Brain Res.* 2006;1071:10–23.
- [29] Guasti L, Richardson D, Jhaveri M, Eldeeb K, Barrett D, Elphick MR, Alexander SPH, Kendall D, Michael GJ, Chapman V. Minocycline treatment inhibits microglial activation and alters spinal levels of endocannabinoids in a rat model of neuropathic pain. *Mol. Pain* 2009;5:35. doi:10.1186/1744-8069-5-35.
- [30] Gulyas a. I, Cravatt BF, Bracey MH, Dinh TP, Piomelli D, Boscia F, Freund TF. Segregation of two endocannabinoid-hydrolyzing enzymes into pre- and postsynaptic compartments in the rat hippocampus, cerebellum and amygdala. *Eur. J. Neurosci.* 2004;20:441–458.
- [31] Hasanein P, Parviz M, Keshavarz M, Javanmardi K. CB1 receptor activation in the basolateral amygdala produces antinociception in animal models of acute and tonic nociception. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2007;34:439–449.
- [32] Helmstetter FJ, Bellgowan PS. Lesions of the amygdala block conditional hypoalgesia on the tail flick test. *Brain Res.* 1993;612:253–257.
- [33] Helmstetter FJ, Bellgowan PS, Poore LH. Microinfusion of mu but not delta or kappa opioid agonists into the basolateral amygdala results in inhibition of the tail flick reflex in pentobarbital-anesthetized rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1995;275:381–388.
- [34] Herzberg U, Eliav E, Bennett GJ, Kopin IJ. The analgesic effects of R(+)-WIN 55,212-2 mesylate, a high affinity cannabinoid agonist, in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci. Lett.* 1997;221:157–160.
- [35] Hohmann AG, Suplita RL, Bolton NM, Neely MH, Fegley D, Mangieri R, Krey JF, Walker JM, Holmes P V, Crystal JD, Duranti A, Tontini A, Mor M, Tarzia G, Piomelli D. An endocannabinoid mechanism for stress-induced analgesia. *Nature* 2005;435:1108–1112.
- [36] Ignatowska-jankowska B, Wilkerson JL, Mustafa M, Abdullah R, Niphakis M, Wiley JL, Cravatt BF, Lichtman AH. Selective Monoacylglycerol Lipase Inhibitors : Antinociceptive versus Cannabimimetic Effects in Mice s. 2015:424–432.
- [37] Ignatowska-jankowska BM, Ghosh S, Crowe MS, Kinsey SG, Niphakis MJ, Abdullah R a., Tao Q, O'Neal ST, Walentyn DM, Wiley JL, Cravatt BF, Lichtman a. H. In vivo characterization of the highly selective monoacylglycerol lipase inhibitor KML29: Antinociceptive activity without cannabimimetic side effects. *Br. J. Pharmacol.* 2014;171:1392–1407.
- [38] Jayamanne A, Greenwood R, Mitchell V a, Aslan S, Piomelli D, Vaughan CW. Actions of the FAAH inhibitor URB597 in neuropathic and inflammatory chronic pain models. *Br. J. Pharmacol.* 2006;147:281–288.
- [39] Johnson JR, Burnell-Nugent M, Lossignol D, Ganae-Motan ED, Potts R, Fallon MT. Multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group study of the efficacy, safety, and tolerability of THC:CBD extract and THC extract in patients with intractable cancer-related pain. *J. Pain Symptom Manage.* 2010;39:167–179.
- [40] Justinova Z, Mangieri R a., Bortolato M, Chefer SI, Mukhin AG, Clapper JR, King AR, Redhi GH, Yasar S, Piomelli D, Goldberg SR. Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibition Heightens Anandamide Signaling Without Producing Reinforcing Effects in Primates. *Biol. Psychiatry* 2008;64:930–937.
- [41] Kim SH, Chung JM. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992;50:355–363.
- [42] Kimura T, Ohta T, Watanabe K, Yoshimura H, Yamamoto I. Anandamide, an endogenous cannabinoid receptor ligand, also interacts with 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptor. *Biol. Pharm. Bull.* 1998;21:224–226.
- [43] Kinsey SG, Long JZ, Cravatt BF, Lichtman AH. Fatty acid amide hydrolase and monoacylglycerol lipase inhibitors produce anti-allodynic effects in mice through distinct cannabinoid receptor mechanisms. *J. Pain* 2010;11:1420–1428.
- [44] Kinsey SG, Long JZ, O'Neal ST, Abdullah RA, Poklis JL, Boger DL, Cravatt BF, Lichtman AH. Blockade of endocannabinoid-degrading enzymes attenuates neuropathic pain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2009;330:902–10.
- [45] Kinsey SG, Mahadevan A, Zhao B, Sun H, Naidu PS, Razdan RK, Selley DE, Imad Damaj M, Lichtman AH. The CB2 cannabinoid receptor-selective agonist O-3223 reduces pain and inflammation without apparent cannabinoid behavioral effects. *Neuropharmacology* 2011;60:244–251.
- [46] Konarska L., Ellert A. (2004). *Receptory Kanabinoidowe*, pod red. J. Z. Nowaka i J. B. Zawilskiej, Receptory i mechanizmy przekazywania sygnału (s. 464–490). Warszawa: Wydaw. Nauk. PWN, 2004.
- [47] Leichsenring A, Andriske M, Bäcker I, Stichel CC, Lübbert H. Analgesic and antiinflammatory effects of cannabinoid receptor agonists in a rat model of neuropathic pain. *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* 2009;379:627–636.
- [48] Lichtman a H, Cook S a, Martin BR. Investigation of brain sites mediating cannabinoid-induced antinociception in rats: evidence supporting periaqueductal gray involvement. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1996;276:585–593.
- [49] Lichtman a H, Martin BR. Spinal and supraspinal components of cannabinoid-induced antinociception. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1991;258:517–523.
- [50] Lichtman AH, Chapman V. A FAAH-fetched approach to treat osteoarthritis pain. *Pain* 2011;152:959–960.
- [51] Lichtman AH, Leung D, Shelton CC, Saghatelian A, Hardouin C, Boger DL, Cravatt BF. Reversible inhibitors of fatty acid amide hydrolase that promote analgesia: evidence for an unprecedented combination of potency and selectivity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004;311:441–448.
- [52] Ligresti A, Martos J, Wang J, Guida F, Allarà M, Palmieri V, Luongo L, Woodward D, Di Marzo V. Prostanoid F2a receptor antagonism combined with inhibition of FAAH may block the pro-inflammatory mediators formed following selective FAAH inhibition. *Br. J. Pharmacol.* 2014;171:1408–1419.
- [53] Luongo L, Maione S, Di Marzo V. Endocannabinoids and neuropathic pain: Focus on neuron-glia and endocannabinoid-neurotrophin interactions. *Eur. J. Neurosci.* 2014;39:401–408.
- [54] Maione S, Bisogno T, Novellis V De, Palazzo E, Cristino L, Valenti M, Petrosino S, Guglielmotti V, Rossi F, Marzo V Di, Sabatino Maione, Tiziana Bisogno, Vito de Novellis, Enza Palazzo, Luigia Cristino, Marta Valenti, Stefania Petrosino, Vittorio Guglielmotti, Francesco Rossi, and Vincenzo Di Marzo. *Pharmacology* 2006;316:969–982.
- [55] Maione S, Cristino L, Migliozi AL, Georgiou AL, Starowicz K, Salt TE, Di Marzo V. TRPV1 channels control synaptic plasticity in the developing superior colliculus. *J. Physiol.* 2009;587:2521–2535.

- [56] Maldonado R, Valverde O. Participation of the opioid system in cannabinoid-induced antinociception and emotional-like responses. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2003;13:401–410.
- [57] Malek N, Kucharczyk M, Starowicz K. Alterations in the Anandamide Metabolism in the Development of Neuropathic Pain. *Biomed Res. Int.* 2014;2014:1–12.
- [58] Malek N, Pajak A, Kolosowska N, Kucharczyk M, Starowicz K. The importance of TRPV1-sensitisation factors for the development of neuropathic pain. *Mol. Cell. Neurosci.* 2015;65:1–10.
- [59] Manning BH, Merin NM, Meng ID, Amaral DG. Reduction in opioid- and cannabinoid-induced antinociception in rhesus monkeys after bilateral lesions of the amygdaloid complex. *J. Neurosci.* 2001;21:8238–8246.
- [60] Martin WJ, Coffin PQ, Attias E, Balinsky M, Tsou K, Walker JM. Anatomical basis for cannabinoid-induced antinociception as revealed by intracerebral microinjections. *Brain Res.* 1999;822:237–42.
- [61] Martin WJ, Tsou K, Walker JM. Cannabinoid receptor-mediated inhibition of the rat tail-flick reflex after microinjection into the rostral ventromedial medulla. *Neurosci. Lett.* 1998;242:33–36.
- [62] Di Marzo V, Bifulco M, De Petrocellis L. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2004;3:771–784.
- [63] Matsuda L a, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young a C, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990;346:561–564.
- [64] Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz a R, Gopher a, Almog S, Martin BR, Compton DR. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem. Pharmacol.* 1995;50:83–90.
- [65] Meng ID, Manning BH, Martin WJ, Fields HL. An analgesia circuit activated by cannabinoids. *Nature* 1998;395:381–383.
- [66] Mitrirattanakul S, Ramakul N, Guerrero A V, Matsuka Y, Ono T, Iwase H, Mackie K, Faull KF, Spigelman I. Site-specific increases in peripheral cannabinoid receptors and their endogenous ligands in a model of neuropathic pain. *Pain* 2006;126:102–114.
- [67] Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 1993;365:61–65.
- [68] Naidu PS, Booker L, Cravatt BF, Lichtman AH. Synergy between enzyme inhibitors of fatty acid amide hydrolase and cyclooxygenase in visceral nociception. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2009;329:48–56.
- [69] Nocerino E, Amato M, Izzo A a. Cannabis and cannabinoid receptors. *Fitoterapia* 2000;71:6–12.
- [70] Nurmikko TJ, Serpell MG, Hoggart B, Toomey PJ, Morlion BJ, Haines D. Sativex successfully treats neuropathic pain characterised by allodynia: A randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Pain* 2007;133:210–220.
- [71] Osei-Hyiaman D, DePetrillo M, Pacher P, Liu J, Radaeva S, Bátkai S, Harvey-White J, Mackie K, Offertáler L, Wang L, Kunos G. Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J. Clin. Invest.* 2005;115:1298–1305.
- [72] Pacher P, Bátkai S, Kunos G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol. Rev.* 2006;58:389–462. doi:10.1124/pr.58.3.2.
- [73] Palazzo E, De Novellis V, Petrosino S, Marabese I, Vita D, Giordano C, Di Marzo V, Mangoni GS, Rossi F, Maione S. Neuropathic pain and the endocannabinoid system in the dorsal raphe: Pharmacological treatment and interactions with the serotonergic system. *Eur. J. Neurosci.* 2006;24:2011–2020.
- [74] Palmer J a., Higuera ES, Chang L, Chaplan SR. Fatty acid amide hydrolase inhibition enhances the anti-allodynic actions of endocannabinoids in a model of acute pain adapted for the mouse. *Neuroscience* 2008;154:1554–1561.
- [75] Pernia-Andrade AJ. Spinal endocannabinoids and CB1 receptors. *Science* 2004;325:760–764.
- [76] Pertwee RG. Cannabinoid receptors and pain. *Prog. Neurobiol.* 2001;63:569–611.
- [77] Pertwee RG. Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacol. Ther.* 1997;74:129–180.
- [78] Petrosino S, Palazzo E, de Novellis V, Bisogno T, Rossi F, Maione S, Di Marzo V. Changes in spinal and supraspinal endocannabinoid levels in neuropathic rats. *Neuropharmacology* 2007;52:415–22.
- [79] Piomelli D, Giuffrida A, Calignano A, Rodríguez De Fonseca F. The endocannabinoid system as a target for therapeutic drugs. *Trends Pharmacol. Sci.* 2000;21:218–224.
- [80] La Porta C, Bura SA, Aracil-Fernández A, Manzanares J, Maldonado R. Role of CB1 and CB2 cannabinoid receptors in the development of joint pain induced by monosodium iodoacetate. *Pain* 2013;154:160–174.
- [81] La Rana G, Russo R, D'Agostino G, Sasso O, Raso GM, Iacono a., Meli R, Piomelli D, Calignano a. AM404, an anandamide transport inhibitor, reduces plasma extravasation in a model of neuropathic pain in rat: Role for cannabinoid receptors. *Neuropharmacology* 2008;54:521–529.
- [82] Richardson D, Pearson RG, Kurian N, Latif ML, Garle MJ, Barrett D a, Kendall D a, Scammell BE, Reeve AJ, Chapman V. Characterisation of the cannabinoid receptor system in synovial tissue and fluid in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Res. Ther.* 2008;10:R43.
- [83] Robson P. Abuse potential and psychoactive effects of δ -9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol oromucosal spray (Sativex), a new cannabinoid medicine. *Expert Opin. Drug Saf.* 2011;10:675–685.
- [84] Rodella LF, Borsani E, Rezzani R, Ricci F, Buffoli B, Bianchi R. AM404, an inhibitor of anandamide reuptake decreases Fos-immunoreactivity in the spinal cord of neuropathic rats after non-noxious stimulation. *Eur. J. Pharmacol.* 2005;508:139–146.
- [85] Sagar DR, Staniaszek LE, Okine BN, Woodhams S, Norris LM, Pearson RG, Garle MJ, Alexander SPH, Bennett AJ, Barrett D a., Kendall D a., Scammell BE, Chapman V. Tonic modulation of spinal hyperexcitability by the endocannabinoid receptor system in a rat model of osteoarthritis pain. *Arthritis Rheum.* 2010;62:3666–3676.
- [86] Sakin YS, Dogrul a., Ilkaya F, Seyrek M, Ulas UH, Gulsen M, Bagci S. The effect of FAAH, MAGL, and Dual FAAH/MAGL inhibition on inflammatory and colorectal distension-induced visceral pain models in Rodents. *Neurogastroenterol. Motil.* 2015.
- [87] Schlosburg JE, Kinsey SG, Lichtman AH. Targeting fatty acid amide hydrolase (FAAH) to treat pain and inflammation. *AAPS J.* 2009;11:39–44.
- [88] Schuelert N, Johnson MP, Oskins JL, Jassal K, Chambers MG, McDougall JJ. Local application of the endocannabinoid hydrolysis inhibitor URB597 reduces nociception in spontaneous and chemically induced models of osteoarthritis. *Pain* 2011;152:975–981.
- [89] Schuelert N, Johnson MP, Oskins JL, Jassal K, Chambers MG, McDougall JJ. Local application of the endocannabinoid hydrolysis inhibitor URB597 reduces nociception in spontaneous and chemically induced models of osteoarthritis. *Pain* 2011;152:975–981.
- [90] Seltzer Z, Dubner R, Shir Y. A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* 1990;43:205–18.
- [91] Starowicz K, Cristino L, Matias I, Capasso R, Racioppi a, Izzo a, Di Marzo V. Endocannabinoid Dysregulation in the Pancreas and Adipose Tissue of Mice Fed With a High-fat Diet. *Obesity* 2008;16:553–565.
- [92] Starowicz K, Maione S, Cristino L, Palazzo E, Marabese I, Rossi F, de Novellis V, Di Marzo V. Tonic endovanilloid facilitation of glutamate release in brainstem descending antinociceptive pathways. *J. Neurosci.* 2007;27:13739–13749.
- [93] Starowicz K, Makuch W, Korostynski M, Malek N, Slezak M, Zychowska M, Petrosino S, De Petrocellis L, Cristino L, Przewlocka B, Di Marzo V. Full inhibition of spinal FAAH leads to TRPV1-mediated analgesic effects in neuropathic rats and possible lipoxygenase-mediated remodeling of anandamide metabolism. *PLoS One* 2013;8:e60040.
- [94] Starowicz K, Makuch W, Osikowicz M, Piscitelli F, Petrosino S, Di Marzo V, Przewlocka B. Spinal anandamide produces analgesia in neuropathic rats: possible CB(1)- and TRPV1-mediated mechanisms. *Neuropharmacology* 2012;62:1746–55.
- [95] Starowicz K, Di Marzo V. Non-psychotropic analgesic drugs from the endocannabinoid system: "magic bullet" or "multiple-target" strategies? *Eur. J. Pharmacol.* 2013;716:41–53. doi:10.1016/j.ejphar.2013.01.075.
- [96] Starowicz K, Nigam S, Di Marzo V. Biochemistry and pharmacology of endovanilloids. *Pharmacol. Ther.* 2007;114:13–33.

- [97] Starowicz K, Nigam S, Di Marzo V. Biochemistry and pharmacology of endovanilloids. *Pharmacol. Ther.* 2007;114:13–33. doi:10.1016/j.pharmthera.2007.01.005.
- [98] Starowicz K, Przewlocka B. Modulation of neuropathic-pain-related behaviour by the spinal endocannabinoid/endovanilloid system. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2012;367:3286–99.
- [99] Van der Stelt M, Trevisani M, Vellani V, De Petrocellis L, Schiano Moriello A, Campi B, McNaughton P, Geppetti P, Di Marzo V. Anandamide acts as an intracellular messenger amplifying Ca²⁺ influx via TRPV1 channels. *EMBO J.* 2005;24:3026–3037.
- [100] Suplita RL, Farthing JN, Gutierrez T, Hohmann AG. Inhibition of fatty-acid amide hydrolase enhances cannabinoid stress-induced analgesia: Sites of action in the dorsolateral periaqueductal gray and rostral ventromedial medulla. *Neuropharmacology* 2005;49:1201–1209.
- [101] oth CC, Jedrzejewski NM, Ellis CL, Frey WH. Cannabinoid-mediated modulation of neuropathic pain and microglial accumulation in a model of murine type I diabetic peripheral neuropathic pain. *Mol. Pain* 2010;6:16.
- [102] Tsou K, Nogueron MI, Muthian S, Sañudo-Peña MC, Hillard CJ, Deutsch DG, Walker JM. Fatty acid amide hydrolase is located preferentially in large neurons in the rat central nervous system as revealed by immunohistochemistry. *Neurosci. Lett.* 1998;254:137–140.
- [103] Vaughan CW, McGregor IS, Christie MJ. Cannabinoid receptor activation inhibits GABAergic neurotransmission in rostral ventromedial medulla neurons in vitro. *Br. J. Pharmacol.* 1999;127:935–940.
- [104] Walker JM, Huang SM, Strangman NM, Tsou K, Sañudo-Peña MC. Pain modulation by release of the endogenous cannabinoid anandamide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1999;96:12198–203.
- [105] Yao BB, Hsieh G, Daza A V, Fan Y, Grayson GK, Garrison TR, Kouhen O El, Hooker B a, Pai M, Wensink EJ, Salyers AK, Chandran P, Zhu CZ, Zhong C, Ryther K, Gallagher ME, Chin C-L, Tovcimak AE, Hradil VP, Fox GB, Dart MJ, Honore P, Meyer MD, El Kouhen O. Characterization of a Cannabinoid CB2 Receptor-Selective amide], Using in Vitro Pharmacological Assays , in Vivo Pain Models , and Pharmacological Magnetic Resonance Imaging. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2009;328:141–151.
- [106] Yao BB, Hsieh GC, Frost JM, Fan Y, Garrison TR, Daza a V, Grayson GK, Zhu CZ, Pai M, Chandran P, Salyers a K, Wensink EJ, Honore P, Sullivan JP, Dart MJ, Meyer MD. In vitro and in vivo characterization of A-796260: a selective cannabinoid CB2 receptor agonist exhibiting analgesic activity in rodent pain models. *Br. J. Pharmacol.* 2008;153:390–401.
- [107] Zhang J, Hoffert C, Vu HK, Groblewski T, Ahmad S, O'Donnell D. Induction of CB2 receptor expression in the rat spinal cord of neuropathic but not inflammatory chronic pain models. *Eur. J. Neurosci.* 2003;17:2750–2754.

Adres do korespondencji/Address for correspondence

dr hab. Katarzyna Starowicz,
Pracownia Patofizjologii Bólu,
Zakład Farmakologii Bólu,
Instytut Farmakologii PAN
ul. Smętna 12, 31-343 Kraków PL
tel.: + 48 12 6623206; fax: + 48 12 6374500
email: starow@if-pan.krakow.pl

Tables: 1

Photographs: 1

References: 107

otrzymano/received: 06-05-2015

otrzymano po recenzji/revised: 11-06-2015

zaakceptowano/accepted: 16-06-2015