

Received: 2015.03.30
Accepted: 2016.06.09
Published: 2016.08.11

Metabolizm endokannabinoidów

Metabolism of endocannabinoids

Michał Biernacki, Elżbieta Skrzydlewska

Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Streszczenie

Endokannabinoidy należą do grupy estrowych, eterowych oraz amidowych pochodnych kwasów tłuszczowych, będących endogennymi ligandami receptorów CB₁, CB₂, TRPV1 i GPR55, wchodzącymi w skład endokannabinoidowego systemu organizmów zwierzęcych. Do najlepiej poznanych endokannabinoidów zalicza się: N-arachidonyloetanolamid, zwany anandamidem (AEA) oraz 2-arachidonoglicerol (2-AG). Endokannabinoidy występują w obrębie całego organizmu, jednak najwyższe stężenia stwierdza się w strukturach mózgu. W artykule przedstawiono drogi syntezy oraz degradacji zarówno AEA, jak i 2-AG. Endokannabinoidy są syntetyzowane z fosfolipidów (głównie fosfatydyloetanolaminy, fosfatydylocholine i fosfatydyloinozytolu) umiejscowionych w błonach komórkowych. W wyniku przeniesienia kwasu arachidonowego z fosfatydylocholine na fosfatydyloetanolaminę powstaje N-arachidonoylofosfatydyloetanolamina, która pod wpływem fosfolipazy D, C lub A₂ ulega hydrolizie do AEA. Natomiast w wyniku hydrolizy fosfatydyloinozytolu katalizowanej głównie przez DAGL powstaje 2-AG. Endokannabinoidy oddziałują na organizm głównie przez aktywację receptorów kannabinoidowych. Zarówno AEA, jak i 2-AG są agonistami głównie receptora CB₁ i w mniejszym stopniu receptorów CB₂ i TRPV1, przy czym 2-AG charakteryzuje się większym niż AEA powinowactwem do tych receptorów. Przez ich aktywację endokannabinoidy wpływają na metabolizm komórkowy. Mogą także uczestniczyć w procesach metabolicznych również niezależnie od receptorów. Endokannabinoidy, które nie są związane z receptorami ulegają degradacji. Głównymi enzymami odpowiedzialnymi za hydrolizę AEA i 2-AG są odpowiednio FAAH i MAGL. Oba endokannabinoidy, oprócz degradacji hydrolitycznej, mogą ulegać również utlenieniu z udziałem cyklooksygenazy-2, lipoksygenaz oraz poprzez działanie cytochromu P450. Wykazano również, iż metabolity obu endokannabinoidów pełnią istotną rolę biologiczną.

Słowa kluczowe:

endokannabinoidy • anandamid • 2-AG • synteza • degradacja • metabolizm

Summary

Endocannabinoids belong to a group of ester, ether and amide derivatives of fatty acids, which are endogenous ligands of receptors CB₁, CB₂, TRPV1 and GPR55 that are included in the endocannabinoid system of the animal organism. The best known endocannabinoids are: N-arachidonylethanolamide called anandamide (AEA) and 2-arachidonoylglycerol (2-AG). They occur in all organisms, and their highest level is observed in the brain. In this review the mechanisms of synthesis and degradation of both AEA and 2-AG are shown. Endocannabinoids are synthesized from phospholipids (mainly phosphatidylethanolamine, phosphatidylcholine, and phosphatidylinositol) located in the cell membrane. As a result of arachidonic acid transfer from phosphatidylcholine to phosphatidylethanolamine, N-arachidonoyl phosphatidylethanolamine is formed, which is hydrolyzed to AEA by phospholipase D, C and A₂. However, 2-AG is formed during the hydrolysis of phosphatidylinositol catalyzed mainly by DAGL. The primary role of endocannabinoids is the activation of cannabinoid receptors. Both AEA and 2-AG are primarily agonists of the CB₁ receptor and to a lower degree CB₂ and TRPV1 receptors, but 2-AG has stronger affinity for these receptors. Through activation of receptors,

Keywords:	endocannabinoids • anandamide • 2-AG • synthesis • degradation • metabolism
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1213898
Word count:	3361
Tables:	2
Figures:	5
References:	117

Adres autora: mgr Michał Biernacki, Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Mickiewicza 2D, 15-222 Białystok, tel: +48 857485708 tel/fax: +48 857485882 e-mail: michalbiernacki@wp.pl

Wykaz skrótów: **ABH** – α/β -hydrolaza fosfoanandamidu; **AEA** – anandamid, N-arachidonyloetanoloamid; **2-AG** – 2-arachidonyloglicerol; **AIBP** – wewnątrzkomórkowymi białkami wiążącymi; **BChE** – esteraza serynowa, butyrylocholinoesterazy; **CB₁** – receptor kannabinoidowy typu 1; **CB₂** – receptor kannabinoidowy typu 2; **COX-2** – cyklooksigenaza-2; **CYP P450** – cytochrom P450; **DAG** – 1,2-diacyloglicerol; **DAGL** – lipaza diacyloglicerolowa; **ECS** – endogenne system kannabinoidowy; **EET** – kwas epoksyekoizatrienowy; **EMT** – błonowy nośnik białkowy; **FAAH** – hydrolaza amidowa kwasów tłuszczowych; **GDE₁** – fosfodiesterazy GDE₁; **GpAEA** – glicerofosfoarachidonyloetanoloamid; **HETE** – kwas hydroksyeikoizatetraenowy; **lizo-PLC** – lizofosfolipaza C; **lizo-PLD** – lizofosfolipaza D; **Lizo-PI** – lizofosfatydyloinozytol; **LOX** – lipoksygenaza; **MAGL** – lipaza monoacyloglicerolu; **NAPE** – N-arachidonylofosfaty-dyloetanoloaminy; **NAPE-PLD** – fosfolipaza D; **NAT** – N-acylotransferaza; **p-AEA** – fosfoanandamid; **PI** – fosfatydyloinozytol; **PLA₂** – fosfolipaza A₂; **PLC** – fosfolipaza C; **PTPN22** – fosfatazy tyrozynowe; Δ^9 -**THC** – Δ^9 -tetrahydrokannabinol; **TRPV1** – receptor waniloidowy.

Kannabinoidy to grupa związków występujących naturalnie w roślinach, głównie w konopiach siewnych (*Cannabis sativa*), jak również w organizmach zwierzęcych oraz związkach syntetycznych o znaczeniu farmakologicznym. Kannabinoidy były stosowane w leczeniu malarii, jaskry, zaparc, nadciśnienia, astmy oskrzelowej, a także bólów reumatycznych i porodowych. Za ich działanie farmakologiczne jest odpowiedzialny głównie Δ^9 -tetrahydrokannabinol (Δ^9 -THC) [23,45]. Wszystkie związki o budowie charakterystycznej dla kannabinoidów są agonistami receptorów kannabinoidowych i przez ich aktywację działają na organizmy zwierząt i ludzi. Biorąc pod uwagę pochodzenie oraz mechanizm działania, kannabinoidy można zakwalifikować do czterech grup:

- Kannabinoidy klasyczne (roślinne) to pochodne głównie tricyklicznych pochodnych benzopirenu o 21 atomach węgla, których głównymi przedstawicielami są psychoaktywny Δ^9 -tetrahydrokannabinol (Δ^9 -THC) i Δ^8 -THC oraz niewykazujący właściwości psychoaktywnych kannabidiol (CBD) [15].

- Kannabinoidy syntetyczne dicykliczne, których głównym przedstawicielem jest CP55940. Związek ten jest około 4-25 razy bardziej aktywny psychoaktywnie niż Δ^8 -THC [72]. Zawiera dwupierscieniową strukturę odpowiedzialną za działanie analgetyczne. 7-8 węglowy łańcuch alkilowy przy węglu C₃ pierścienia zapewnia mu maksymalne powinowactwo do receptora CB₁ oraz aktywność przeciwbólową [43].

- Syntetyczne związki kannabinomimetyczne naśladujące budowę i działaniem kannabinoidy należące do aminoalkilindoli (związki przeciwzapalne i przeciwbólowe), których przedstawicielem jest WIN 55212-2, wykazujący niewielki stopień selektywności do receptora CB₂ [85].

- Endogenne kannabinoidy wchodzące w skład endogenne systemu kannabinoidowego organizmów zwierzęcych (ECS).

Endogenne system kannabinoidowy składa się z endogennych ligandów (endokannabinoidów) oraz swoistych dla nich receptorów (CB₁, CB₂, TRPV1 oraz GPR55),

a także z białek regulujących poziom i rozmieszczenie endokannabinoidów w tkankach i komórkach (enzymy kataboliczne i anaboliczne oraz białka wiążące endokannabinoidy i odpowiedzialne za ich transport) [29].

Główne receptory kannabinoidowe – CB1 są umiejscowione przede wszystkim presynaptycznie w błonie komórkowej neuronów ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego, a ich aktywacja hamuje uwalnianie wielu neuroprzekazników, tj. acetylocholiny, nora-drenaliny, dopaminy, serotoniny, glutamianu czy kwasu γ -aminomasłowego i hormonów [82]. Receptory CB₂ występują głównie na powierzchni komórek układu odpornościowego, a zwłaszcza limfocytów typu B, makrofagów i monocytów. Ich aktywacja powoduje zahamowanie uwalniania prozapalnych i zwiększenie uwalniania przeciwzapalnych cytokin [82]. Receptory waniloidowe [TRPV1] są umiejscowione głównie w błonie komórkowej czuciowych neuronów aferentnych, takich jak zwój korzenia grzbietowego, zwój trójdzielny oraz włókna nerwowe [56]. Aktywacja receptorów TRPV1 prowadzi do regulacji: przepływu krwi, temperatury ciała oraz odpowiada za uwalnianie insuliny i cyto-kin [86]. Natomiast receptory GPR55 ulegają aktywacji w komórkach mózgu i wątroby człowieka oraz śledziony, układu krążenia, jelita i łożyska szczura [63]. Jednak ich najwyższą ekspresję obserwuje się w komórkach nowotworów złośliwych [4]. Aktywacja receptorów GPR55 reguluje zarówno liczbę, jak i funkcje osteoklastów oraz prowadzi do wzmożonej proliferacji komórek nowotworowych [63].

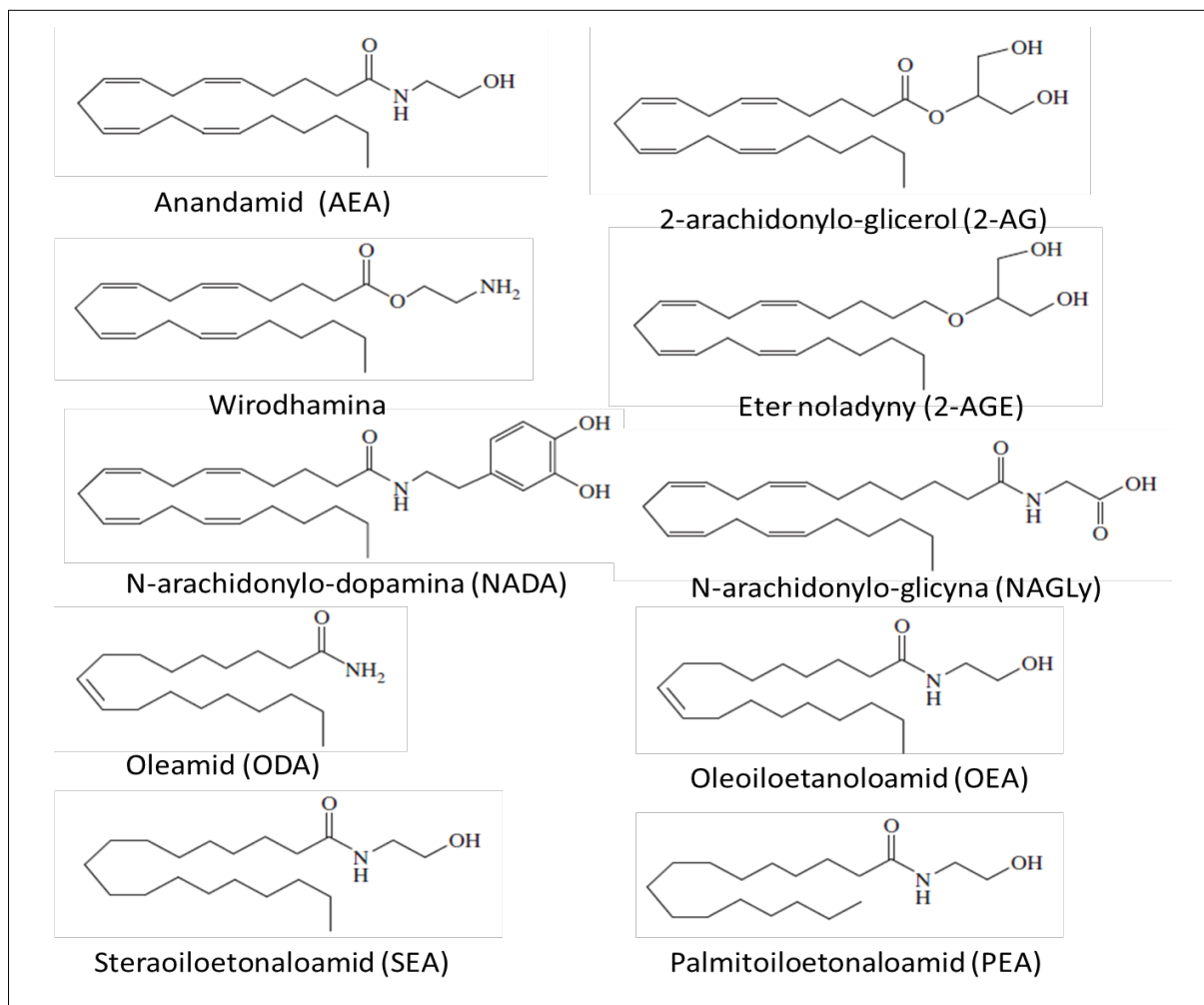
Niezależnie od aktywacji receptorów endokannabinoidy mogą oddziaływać na organizm również przez inne mechanizmy. Wykazano, że endokannabinoidy modulują działanie amfipatyczne i/lub hydrofobowe kanałów jonowych, jak również wpływają na funkcje białek błonowych transportujących jony, m.in. białek szczelinowych (koneksyny) oraz transporterów neuroprzekazników [81]. Sugeruje się ponadto, że endokannabinoidy uczestniczą w procesach antyproliferacyjnych i apoptozie [110].

Wykazano, że zaburzenie homeostazy w systemie endokannabinoidowym może powodować progresję wielu stanów patologicznych dotyczących m.in. a) układu krążenia: zawał mięśnia sercowego, miażdżyca, niewydolność mięśnia sercowego; b) ośrodkowego układu nerwowego: choroba Parkinsona, Huntingtona, Alzheimer, stwardnienie zanikowe boczne, stwardnienie rozsiane, schizofrenia, depresja; c) wątroby: zapalenie wątroby, marskość, zwłóknienie, stłuszczenie; d) chorób autoimmunologicznych: reumatoidalne zapalenie stawów; e) nowotworów: skóry, płuc itd.; f) nerek: nefropatia; g) trzustki: stan zapalny h) tkanki tłuszczowej: insulinooporność, otyłość; i) kości: osteoporoza; j) oka: zapalenie błony naczyniowej oka; k) systemu rozrodczego: dysfunkcja reprodukcji, zapalenie błony śluzowej macicy l) dróg oddechowych: astma alergiczna; m) skóry: alergiczne zapalenie skóry [83].

Pod względem strukturalnym endokannabinoidy są estrowymi, eterowymi i amidowymi pochodnymi długołańcuchowych zarówno nasyconych, jak i wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym głównie kwasu arachidonowego (ryc.1) [30]. Najlepiej poznanymi endokannabinoidami są N-arachidonyloetanolamid (AEA) i 2-arachidonyloglicerol (2-AG). Do grupy endokannabinoidów należą także inne związki mogące wiązać się z receptorami kannabinoidowymi: eter arachidonyloglicerolowy (eter noladyny, 2-AGE), ester kwasu arachidonowego z etanolaminą (wirodamina), N-arachidonylodopamina (NADA) oraz *cis*-9-oktadekanoamid (oleamid ODA), N-arachidonyloglicyna (NAGLy), a także N-acyloetanolamidy (NAE), pochodne różnych kwasów tłuszczowych: arachidonowego (N-arachidonyloetanolamid AEA), palmitynowego (N-palmitoiloetanolamid PEA), stearynowego (N-steraoiloetanolamid SEA) i oleinowego (N-oleoiloetanolamid OEA) [36]. Uważa się, że endokannabinoidy nie są przechowywane w komórkach, lecz wytwarzane głównie „na żądanie” podczas syntezy błonowych prekursorów fosfolipidowych. Istnieją jednak doniesienia, iż AEA może być również przechowywany w adiposomach, strukturach komórek syntetyzujących i magazynujących tłuszcze proste – adipocytów [79].

ANANDAMID (AEA)

Najlepiej poznanym endokannabinoidem jest N-arachidonyloetanolamid znany jako anandamid, związek, którego najwyższe stężenie występuje w mózgu i jest syntetyzowany z fosfolipidów (fosfatydyloetanolaminy, fosfatydylocholi) zlokalizowanych w wewnętrznej warstwie błony komórkowej (tabela 1, ryc. 2) [20]. Proces syntezy anandamidu rozpoczyna aktywacja N-acylotransferazy (NAT) (enzymu niezależnego od ATP i CoA) wewnątrz błony komórkowej, zachodząca pod wpływem wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia, czemu towarzyszy przeniesienie kwasu arachidonowego z pozycji Sn-1 fosfatydylocholi na fosfatydyloetanolaminę z utworzeniem N-arachidonylofosfatydyloetanolaminy (NAPE) [65]. NAT jest integralnym białkiem błonowym i jest aktywowana w obojętnym i zasadowym pH przez wiązanie jonów Ca²⁺. Jej aktywność stymulują także jony Sr²⁺, Mn²⁺ i Ba²⁺ będące analogami jonów Ca²⁺, a substratami są jedynie fosfolipidy [49]. Największą aktywność NAT obserwuje się w obrębie pnia mózgu, a najmniejszą we wzgórzu i podwzgórzu mózgu szczura [19]. Aktywność NAT obniża się z wiekiem, w związku z czym w mikrosomach mózgu 30-dniowych szczurów aktywność NAT jest 4-krotnie niższa w porównaniu do zwierząt 1-dniowych [75]. Powstająca w wyniku działania NAT na fosfolipidy NAPE występuje w komórkach w niewielkich ilościach i stanowi mniej niż 0,1% ilości fosfolipidów w komórkach ssaków, gdyż ulega hydrolizie do anandamidu pod wpływem działania selektywnej wobec NAPE fosfolipazy D (NAPE-PLD) – fosfodiesterazy należącej do rodziny metalo- β -laktamaz umiejscowionej w wewnętrznej warstwie błony komórkowej [42,80]. Stwierdzono, że enzym ten działa nie tylko na N-arachidonylofosfatydyloetanolaminę, ale również na acylo-

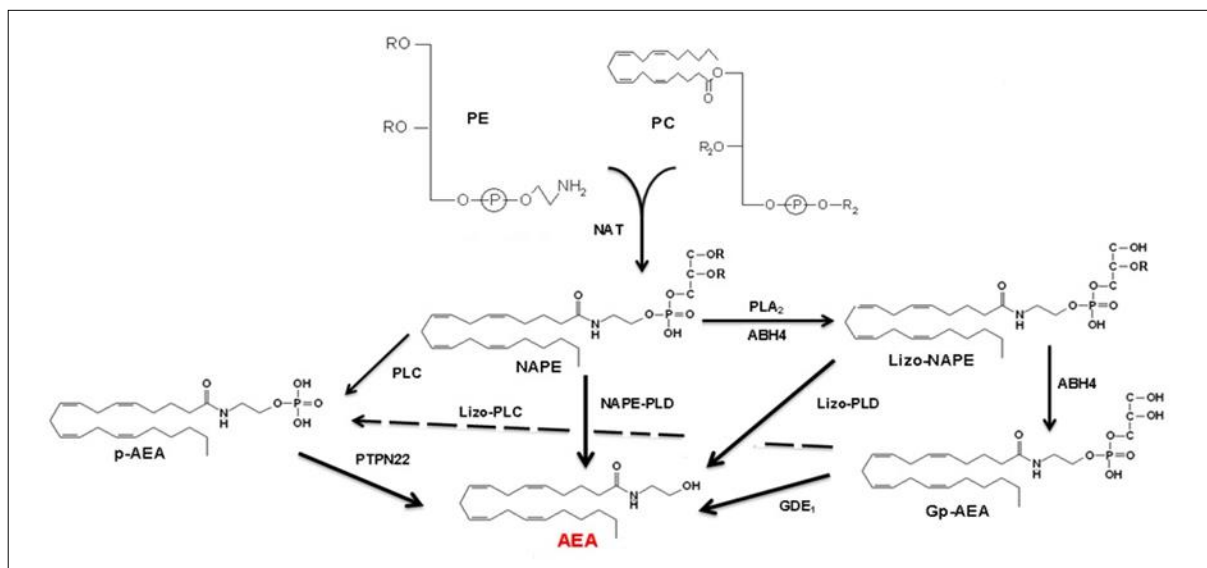


Ryc. 1. Endokannabinoidy

fosfatydyloetanoaminy z innymi niż arachidonowa grupami N-acylowymi (NAPE's) [115]. Chociaż NAPE-PLD pod względem strukturalnym i funkcjonalnym różni się od innych fosfolipaz D, stwierdzono, że NAPE-PLD występujące w sercu myszy, szczura i człowieka są w około 89% identyczne pod względem składu aminokwasowego [80]. Enzym ten powszechnie występuje w tkankach gryzoni, przy czym aktywność NAPE-PLD w mózgu szczura ulega obniżeniu wraz ze starzeniem się organizmu [74,75,80].

Syntezę anandamidu mogą również katalizować: fosfolipaza C i fosfolipaza A₂ oraz α/β -hydrolaza 4 (ABH4) – selektywna hydrolaza dla NAPEs [66,96]. Z udziałem fosfolipazy C zachodzi dwuetapowa synteza AEA. W pierwszym etapie fosfolipaza C katalizuje hydrolizę NAPE do fosfoanandamidu (p-AEA), który pod wpływem fosfatów tyrozynowych PTPN22 ulega defosforylacji [66]. Istnienie p-AEA stwierdzono w komórkach mózgu oraz w makrofagach [66]. Aktywność fosfatów w komórkach mózgu jest znacznie niższa niż w komórkach układu odpornościowego, dlatego inne fosfaty PTPN22 mogą w znaczący sposób uczestniczyć w syntezie AEA w układzie nerwo-

wym [66]. NAPE może być również hydrolizowana przez fosfolipazę A₂ do lizo-NAPE, która pod wpływem lizofosfolipazy D (lizo-PLD) ulega dalej hydrolizie do anandamidu [65]. Największą aktywność fosfolipazy A₂ zaobserwowano w komórkach żołądka myszy, a w innych tkankach, takich jak wątroba, nerki i mózg aktywność tego enzymu jest znacznie mniejsza [103]. Ograniczona ekspresja PLA₂ powoduje, że hydrolizę może wspomagać dodatkowo α/β -hydrolaza 4 (ABH4). Enzym ten jest zbudowany z 342 aminokwasów i zarówno w organizmie myszy, szczura, jak i człowieka wykazuje dużą homologię na poziomie aminokwasowym (99% identyczności u myszy i szczura, a 96% identyczności u myszy i człowieka). Stwierdzono, że poziom mRNA tego enzymu jest najwyższy w mózgu, rdzeniu kręgowym, a mniejszy w wątrobie, nerkach i sercu [96]. Może działać zarówno na NAPE, jak i lizo-NAPE, katalizując powstanie glicerofosfoarachidonyloetanoamidu (GpAEA), który pod wpływem fosfodiesterazy GDE₁ zależnej od jonów metali, takich jak Mn²⁺, Mg²⁺, Co²⁺ ulega hydrolizie do anandamidu [97]. Hydrolizę GpAEA do p-AEA może katalizować również lizofosfolipaza C (lizo-PLC) [66].



Ryc. 2. Synteza AEA; **AEA** – anandamid; **PE** – fosfatydyloetanolaminy; **PC** – fosfatydylocholino; **NAT** – N-acylotransferaza; **NAPE** – N-arachidonylofosfatydyloetanolaminy; **NAPE-PLD** – fosfolipaza D; **PLC** – fosfolipaza C; **PLA₂** – fosfolipaza A₂; **ABH4** – α/β-hydrolaza fosfoanandamidu; **p-AEA** – fosfoanandamid; **PTPN22** – fosfatazy tyrozynowe; **GpAEA** – glicerofosfoarachidonyloetanolamid; **GDE₁** – fosfodiesterazy GDE₁; **lizo-PLC** – lizofosfolipaza C; **lizo-PLD** – lizofosfolipaza D; **AA** – kwas arachidonowy

Tabela 1. Stężenia AEA w wybranych tkankach

Gatunek	Tkanka	Stężenie	Piśmiennictwo
szczur	krew/osocze	0,8-5,2 nM	[39,70]
	mózg/hipokamp	12-29 nmol/kg	[17,34,87]
	mózg/podwzgórze	10-18 nmol/kg	[17,87]
	rdzeń kręgowy	16 nmol/kg	[104]
	serce	25-80 nmol/kg	[57,112]
	płuca	99 nmol/kg	[113]
	wątroba	77 nmol/kg	[57]
człowiek	krew/osocze	0,7-4,6 nM	[7,32]
	nasienie	0,2 nM	[3]
	płyn mózgowo-rdzeniowy	0,01-5,2 nM	[38,84]
	tkanka tłuszczowa	34-40 nmol/kg	[5,69]
	mózg/hipokamp	39-108 nmol/kg	[34,100]
	serce	10 nmol/kg	[34]

W zależności od stężenia AEA we wnętrzu komórki i w przestrzeni pozakomórkowej AEA może ulegać translokacji zarówno do wnętrza komórki, jak i do przestrzeni zewnątrzkomórkowej [54]. W obu przypadkach w procesie uczestniczy błonowy nośnik białkowy (EMT), przy czym do przestrzeni wewnątrzkomórkowej AEA jest również transportowany w wyniku endocytozy [106]. Zidentyfikowano dwie drogi endocytarne: zależną klatrynowo i niezależną (związaną z kowaleiną i raftami lipidowymi) [50]. AEA jest przenoszony do wnętrza komórki w sytuacji, gdy stężenie w cytosolu jest mniejsze niż w przestrzeni

pozakomórkowej. Szybkość transportu AEA do wnętrza komórki zwiększa się wraz ze wzrostem stężenia cholesterolu [8]. W transporcie anandamidu może również uczestniczyć NO oraz produkt jego reakcji z anionorodnikiem ponadtlenkowym – nadtlenoazotyn, które biorą udział w aktywacji białek transportujących AEA. Wiązanie zewnątrzkomórkowego AEA z receptorami CB₁ oraz CB₂ prowadzi do aktywacji wewnątrzkomórkowej syntazy tlenku, powodując wzrost stężenia NO. Proces może hamować S-nitrozylacja tlenku azotu przez GSH. W związku z tym transport anandamidu jest uzależniony od aktyw-

ności syntazy tlenu azotu oraz od stężenia glutationu [68]. Po wnikięciu do wnętrza komórki rozpoczyna się wewnątrzkomórkowy transport AEA rozpoczynający się związaniem z wewnątrzkomórkowymi białkami wiążącymi (AIBP), takimi jak Hsp70, FABP5 i FABP7, przy czym nadekspresja tych białek przyspiesza wchłaniania AEA [53]. W związku z tym białkom AIBP przypisuje się istotny udział w szybkiej i skutecznej dystrybucji AEA do różnych struktur komórkowych, jak np. adiposomów, gdzie może być on gromadzony i degradowany [79].

W komórce anandamid pełni rolę agonisty receptorów kannabinoidowych, głównie receptora CB₁ i w mniejszym stopniu receptorów CB₂ i TRPV1. Wykazano, że aktywując receptor CB₁, anandamid działa antyproliferacyjnie, hamując aktywność cykazy adenylowej i zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G1/S [71], a podwyższając generację reaktywnych form tlenu (RFT) i aktywację kaspazy-3, nasila apoptozę różnych komórek nowotworowych, np. jelita grubego [24]. Aktywacja CB₁ powoduje także wzrost stężenia ceramidów i aktywację kaskady kinaz Raf1/ERK [14] oraz kinaz JNK/p38 [89]. Również aktywacja receptora CB₂ nasila biosyntezę ceramidów, co wpływa m.in. na ekspresję białka p38 oraz czynnika transkrypcyjnego 4, przyczyniając się także do apoptozy komórek [22]. Aktywując receptor TRPV1, anandamid przyczynia się do nasilenia stresu oksydacyjnego i aktywacji kalpain, co także prowadzi do apoptozy np. komórek glejaka [48]. Rozregulowanie funkcjonowania układu endokannabinoidowego, w tym relacji endokannabinoidy-receptory, może prowadzić do powstania i/lub progresji zmian patologicznych. Nadaktywność systemu endokannabinoidowego z aktywacją receptorów CB₁ może być przyczyną m.in. niewydolności mięśnia sercowego, miażdżycy, zmian neurodegeneracyjnych, wstrząsu kardiogennego lub marskości wątroby. Natomiast aktywacja receptorów CB₂ odgrywa znaczącą rolę w regulacji odpowiedzi zapalnej komórek OUN, zwłaszcza mikrogleju. Może również wywołać zmiany neurodegeneracyjne [81].

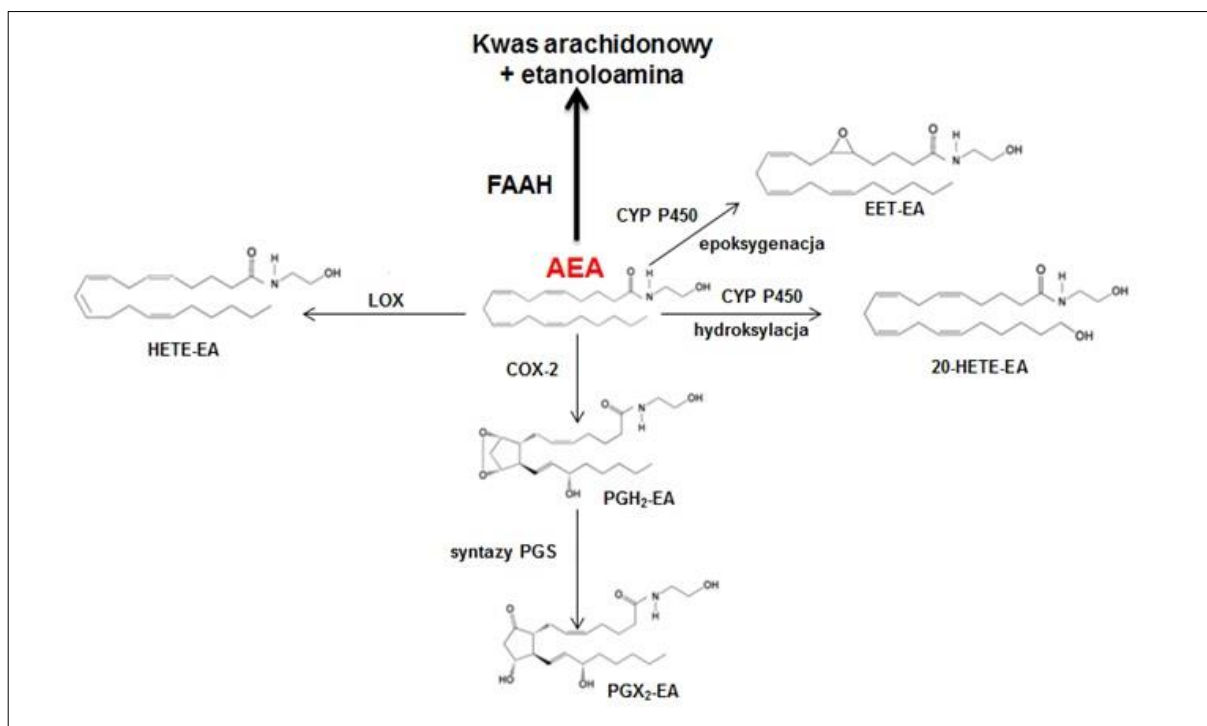
Anandamid niezwiązany z receptorami ulega metabolizmowi przez hydrolizę oraz utlenienie (ryc. 3). Hydrolizę anandamidu do kwasu arachidonowego i etanoloaminy katalizują wewnątrzkomórkowe serynowe hydrolazy amidowe kwasów tłuszczowych [FAAH] zawierające pojedynczą N-końcową domenę transbłonową [26]. Istnieją dwie izoformy hydrolaz amidowych kwasów tłuszczowych – FAAH-1 oraz FAAH-2. Występujący w organizmie człowieka izoenzym FAAH-2 wykazuje jedynie 20% identyczności w sekwencji aminokwasowej z FAAH-1, natomiast u szczurów występuje jedynie FAAH-1 [114]. Największą aktywność FAAH stwierdzono w wątrobie, jelicie cienkim i mózgu szczura [55]. FAAH-1 jest umiejscowiona w retikulum endoplazmatycznym, a FAAH-2 głównie w kroplach lipidowych [53]. FAAH reguluje stężenie wewnątrzkomórkowe anandamidu, dlatego zahamowanie jej aktywności podwyższa stężenie AEA [46]. Chociaż FAAH-2 w mniejszym stopniu uczestniczy w hydrolizie endokannabinoidów niż FAAH-1, jej wysoki poziom ekspresji zaobserwowano w wątrobie, gdzie anandamid ulega

w znacznym stopniu metabolizmowi [53]. Udział FAAH-2 wzrasta w metabolizmie endokannabinoidów, gdy inaktywacji ulega FAAH-1 [114]. Do głównych syntetycznych inhibitorów FAAH zalicza się URB597 (N-cykloheksylokarbaminian 3-(3'-karbamoilodifenylu), JP83 (heksylofenylokarbaminian 3-(3'-karbamoilodifenylu) oraz OL135 (7-fenyl-1-[5-(2-pirydylo)-2-(1,3-oksazolo)]heptan-1-on [18]. Inhibitory FAAH powodują podwyższenie stężenia endogennego AEA oraz innych endokannabinoidów i dlatego nadal są prowadzone badania nad ich zastosowaniem w farmakoterapii chorób o podłożu zapalnym i neurodegeneracyjnym [90]. We wczesnych etapach cholestatycznych chorób wątroby stężenie i aktywność FAAH ulega obniżeniu, co sprzyja podwyższeniu stężenia AEA [94].

Oprócz hydrolizy AEA ulegać może w organizmie również innym przemianom metabolicznym. Ponieważ AEA charakteryzuje się podobieństwem strukturalnym do wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, dlatego może być utleniany przez lipoksygenazy i cyklooksygenazę-2 (COX-2) oraz ulega metabolizmowi pod wpływem działania cytochromu P450 [88].

AEA jest utleniany przez LOX-12, LOX-15, LOX-5 odpowiednio do 12-HETE-EA, 15-HETE-EA, 11-HETE-EA [60]. Lipoksygenazy 12 i 15 wykazują taką samą regioswoistość w stosunku do kwasu arachidonowego jak i do AEA. Natomiast 5-LOX wykazuje różną regioswoistość w stosunku do obu substratów i katalizuje powstanie odpowiednio 11-HETE-EA z AEA oraz 5-HETE z kwasu arachidonowego [60]. Natomiast COX-2 utlenia AEA do prostaglandyn- H_2 -etanoloamidu (PGH₂-EA), który ulega hydrolizie pod wpływem swoistych syntaz komórkowych PGS do: 1-etanoloamid prostoglandyny E2 (PGE₂-EA), 1-etanoloamid prostoglandyny D2 (PGD₂-EA), 1-etanoloamid prostoglandyny F2 (PGF₂-EA), 1-etanoloamid prostoglandyny I2 (PGI₂-EA) [2]. Powstające prostanoidy działają przez aktywację jednego lub więcej swoistych receptorów sprzężonych z białkiem G (GPCR), a także poprzez jądrowe receptory aktywowane przez proliferatory peroksyosomów (PPAR) [98]. Wykazano, że utlenienie AEA przez COX-2 podwyższa stężenie cytotoksycznych PGE₂-EA i PGD₂-EA, w wyniku czego może dochodzić do apoptozy komórek nowotworowych, np. płuc JWF2 [62]. Jednak PGE₂-EA działa także przeciwzapalnie, hamując ekspresję IL-12 i IL-23 w komórkach mikrogleju, a analog PGF₂ α -EA – bimatoprost jest stosowany w leczeniu jaskry [25,116]. Wykazano, że aktywacja receptorów CB₂ obserwowana w komórkach gwiaździstych w zwłóknieniu wątroby prowadzi do zahamowania wzrostu komórek oraz nasilonej apoptozy komórek przez wzmożony stres oksydacyjny [52].

W wyniku hydroksylacji AEA z udziałem cytochromu P450 powstaje etanoloamid kwasu hydroksyeikozatetraenowego (20-HETE-EA), a w wyniku epoksygenacji etanoloamidu kwasu epoksyjeikozatrienowego (5,6-EET-EA, 8,9-EET-EA, 11,12-EET-EA, 14,15-EET-EA) [88], przy czym tempo metabolizmu AEA jest najszybsze w wątrobie [73]. Stwierdzono, że izoenzym P450 3A4 w mikrosomach wątroby człowieka katalizuje powstanie 5,6-EET-EA,



Ryc. 3. Degradacja AEA. **AEA** – anandamid; **FAAH** – hydrolaza amidowa kwasów tłuszczowych; **COX-2** – cyklooksygenaza-2; **LOX** – lipoksygenaza; **CYP P450** – cytochrom kwasu epoksykozatrienowego; **PGX₂-EA** – prostaglandyno-X₂-etanoloamid; LOX = 12 LOX, 15 LOX, 5 LOX; HETE-EA = 12-HETE-EA, 15-HETE-EA, 11-HETE-EA; EET-EA = 5,6-EET-EA, 8,9-EET-EA, 11,12-EET-EA, 14,15-EET-EA; PGX₂-EA = PGE₂-EA, PGD₂-EA, PGF₂-EA, PGI₂-EA

Tabela 2. Stężenia 2-AG w wybranych tkankach

Gatunek	Tkanka	Stężenie	Piśmiennictwo
szczur	krew/osocze	12 nM	[58]
	mózg/hipokamp	4-12,6 μmol/kg	[10,28]
	mózg/podwzgórze	1,8-30,3 μmol/kg	[17,87]
	rdzeń kręgowy	18,5 μmol/kg	[104]
	serce	5,2 μmol/kg	[112]
	płuca	0,8-19,6 μmol/kg	[58,113]
	wątroba	1,2 μmol/kg	[58]
człowiek	krew/osocze	1-18,7 nM	[7,76]
	tkanka tłuszczowa	6 μmol/kg	[69]

8,9-EET-EA, 11,12-EET-EA, 14,15-EET-EA oraz 20-HETE-EA [99]. Natomiast izoenzym P450 4F2 odpowiada przede wszystkim za metabolizm AEA w mikrosomach nerki i tworzy tylko jeden produkt 20-HETE-EA [88].

2-ARACHIDONYGLICEROL

Innym ważnym biologicznie endokannabinoidem jest 2-arachidonylglicerol (2-AG). Jego biosynteza rozpoczyna się od hydrolizy fosfolipidów błonowych, głównie fosfatydyloinozytolu (PI), katalizowanej przez fosfolipazę C (PLC), w wyniku czego powstaje 1,2-diacylglicerol (DAG), który ulega dalszej hydrolizie katalizowanej przez

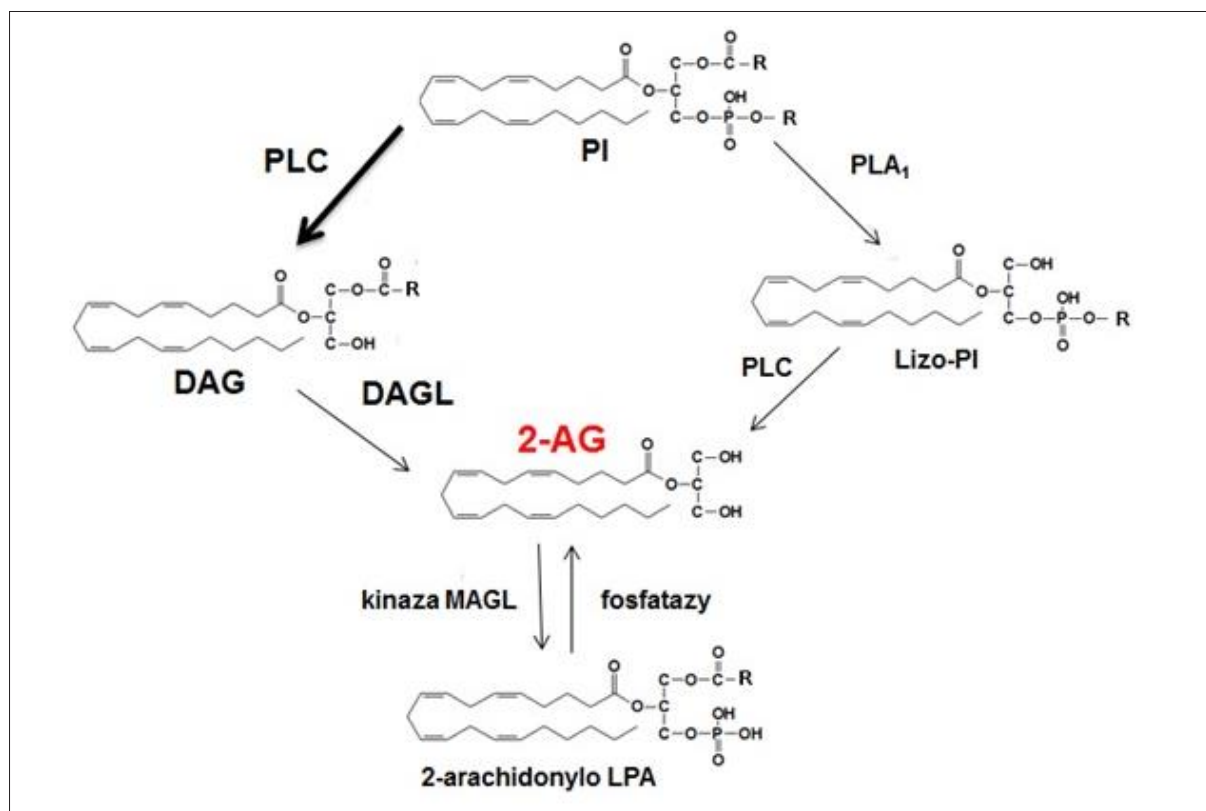
lipazę diacyloglicerolową (DAGL) do 2-AG [102] (ryc. 4). Substratami do biosyntezy 2-AG mogą być również inne fosfolipidy, takie jak fosfatydylocholina i fosfatydyloetanoloamina, jednak w komórkach OUN głównym substratem jest fosfatydyloinozytol [92]. Aktywność DAGL jest stymulowana jonami Ca²⁺, a hamowana przez inhibitory, takie jak: p-hydroksybenzoesan, HgCl₂, RHC-80267 (heksylokarbaminian cykloheksylidenoamino N-6-cykloheksylidenuamino-oksokarbonyloaminy) i O-3841 (ester 1-metoksymetylo-2-fluoro-metylo-fosfinoiloksy etylowy kwasu oktadeka-9-enowego) [51]. Stwierdzono, że biosynteza 2-AG ulega intensyfikacji pod wpływem działania guanozyno-5'-tio-trifosforanu (GTPγS), nawet przy

niskim stężeniu jonów Ca^{2+} [58]. W mózgu myszy wykazano występowanie dwóch izoenzymów DAGL-u, DAGL- α i DAGL- β , przy czym syntezę 2-AG katalizuje głównie DAGL- α , która uczestniczy we wstecznej sygnalizacji synaptycznej [1]. Natomiast niedobór DAGL- β w wątrobie zmniejsza o 90% stężenie 2-AG, co wskazuje na istotne znaczenie tej izoformy w biosyntezie 2-AG [109]. W wieku rozwojowym lipazy diacyloglicerolu występują głównie w aksonach, a u dojrzałych osobników w neuronach postsynaptycznych [11].

Biosyntezę 2-AG może rozpocząć również fosfolipaza A_1 (PLA_1), hydrolizując PI do lizofosfatydyloinozytolu (Lizo-PI), który dalej ulega hydrolizie do 2-AG pod wpływem lizofosfolipazy C (Lizo-PLC) [102]. Lizofosfolipaza C różni się swoistością substratową od innych izoform fosfolipazy C, ponieważ działa tylko na lizofosfatydyloinozytol [107]. 2-AG może powstawać również w wyniku enzymatycznej konwersji kwasu 2-arachidonolizofosfatydowego zależnej od ATP. Struktura chemiczna 2-arachidonolizofosfatydowego różni się od struktury 2-AG obecnością grupy fosforanowej w 2-arachidonolizofosfatydowym, co sugeruje, że te dwie cząsteczki są metabolicznie ściśle powiązane ze sobą. Ponieważ prawie 60% kwasu arachidonowego jest przyłączone w pozycji SN2 LPA w wyniku hydrolizy kwasu 2-arachidonolizofosfatydowego katalizowanej przez fosfatazy dochodzi do utworzenia 2-AG [78].

W mózgu, który jest głównym miejscem występowania 2-AG stężenie tego endokannabinoidu jest około 800 razy wyższe niż AEA [17]. Ponadto 2-AG ma większe powinowactwo do receptorów CB_1 oraz CB_2 niż anandamid [101]. Stwierdzono, że wzrost stężenia 2-AG, powodując aktywację receptorów CB_2 wpływa na obniżenie stresu oksydacyjnego oraz działa przeciwzapalnie przez zmniejszenie wytwarzania cytokiny IL-17, co może się przyczynić np. do regeneracji wątroby przez przyspieszenie proliferacji hepatocytów [21,105]. Wykazano również, że 2-AG aktywuje szlaki transdukcji sygnału w układzie hormonalnym i odpornościowym [31,101]. Na poziomie komórkowym 2-AG uczestniczy w aktywacji kanałów potasowych [41], hamuje uwalnianie neuroprzebieżników podwzgórza (GABA, glutaminian) [27,95], aktywuje MAP kinazy (kinazę p42/44, kinazę p38, kinazę c-Jun) [89,101], a także uczestniczy w wytwarzaniu tlenku azotu i PGE_2 przez indukcję NOS i COX-2 [111]. Stwierdzono, że 2-AG bierze udział w hamowaniu wzrostu i proliferacji komórek nowotworowych przez aktywację receptorów CB_1 [64]. 2-AG wpływa również na metabolizm komórkowy niezależnie od pobudzenia receptorów kannabinoidowych przez aktywację białka Notch2 [37]. Ponadto wykazano, że nasilając generację RFT i wzrost stężenia Ca^{2+} , 2-AG hamuje proliferację komórek gwiazdzistych wątroby [93].

2-AG, podobnie jak AEA, jeśli nie jest związany z receptorami ulega natychmiast metabolizmowi zarówno

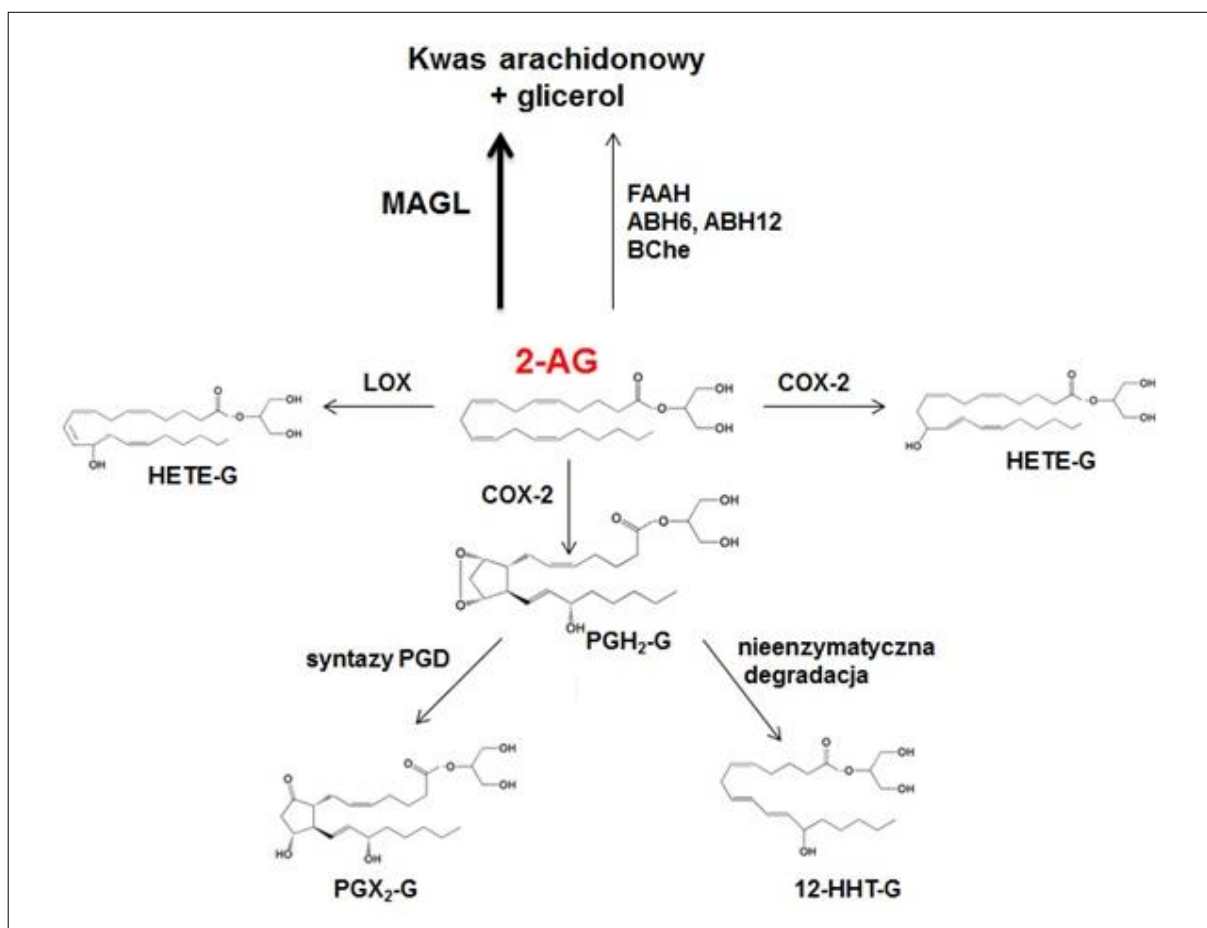


Ryc. 4. Synteza 2-AG. 2-AG – 2-arachidonoglicerol; PI – fosfatydyloinozytol; PLC – fosfolipaza C; PLA_1 – fosfolipaza A_1 ; DAG – 1,2-diacylglicerol; DAGL – lipaza diacyloglicerolowa; Lizo-PI – lizofosfatydyloinozytol; kinaza MAGL – kinaza lipazy monoacyloglicerolu; LPA – kwas lizofosfatydowy

w wyniku hydrolizy, jak i utleniania. Podstawowym enzymem odpowiedzialnym za degradację 2AG do gliceryny i kwasu arachidonowego jest lipaza monoacyloglicerolu (MAGL), która jest cytosolową hydrolazą serynową (ryc. 5) [33]. Duże stężenie mRNA tego enzymu stwierdzono w hipokampie, mózdzku, biegunie przedniego wzgórza i w korze mózgu, przy czym są to obszary zawierające również receptory kannabinoide CB₁ [33]. Do głównych inhibitorów syntetycznych MAGL zalicza się KML29 (kwas 1,1,1,3,3,3-heksafluoropropan-2-yl-4-(di(benzo[d][1,3]diokso-5-yl)(hydroksy)metylopiperydynokarboksylowy) i JZL184 (kwas (4-nitrofenylo-4-[di(1,3-benzo-dioksyl-5-yl)(hydroksy)metylopiperydynokarboksylowy). JZL184 karbonyluje grupy nukleofilowe seryny MAGL, powodując zahamowanie jej aktywności, prowadzi również do częściowego zahamowania aktywności FAAH [67]. Stwierdzono, że KML29 nawet 10-krotnie podwyższa stężenie 2-AG, nie powodując przy tym zmiany stężenia AEA w mózgu, co wskazuje, że jest selektywnym inhibitorem MAGL, nie obniżając aktywności FAAH [108]. Wykazano, że np. w komórkach mikrogleju dochodzi do hydrolizy 2-AG,

nawet w przypadku braku MAGL, co świadczy o istnieniu innych dróg degradacji 2-AG [77]. Zauważono, że za degradację 2-AG do gliceryny i kwasu arachidonowego może również odpowiadać FAAH [40], a także inne enzymy hydrolityczne, takie jak α/β hydrolazy 6 (ABH6) i 12 (ABH12). Stwierdzono, że w mózgu myszy w warunkach fizjologicznych udział ABH6 w degradacji 2-AG wynosi 4%, a ABH12 – 9% [13]. 2-AG może być również metabolizowany do 2-arachidonoylo-LPA w wyniku działania kinaz monoacyloglicerolu, przy czym jest to reakcja odwrótne do szlaku biosyntezy 2-AG [78]. Hydrolizę 2-AG do kwasu arachidonowego i glicerolu katalizuje również nieswoista esteraza serynowa, butyrylocholinoesteraza (BChE), której inhibitorami są: AEBSF (fluorek 4-(2-aminoetylo) benzenosulfonylu) oraz PMSF (fluorek fenylometylosulfonylu) [9].

2-AG ulega również metabolizmowi pod wpływem COX-2 [61] oraz lipoksygenaz [59]. COX-2 utlenia 2-AG do 15-HETE-G i 11-HETE-G oraz do estru glicerylowego prostaglandyny H2 (PGH₂-G), który może ulec hydrolizie do estru glicerylowego prostaglandyny E2 (PGE₂-G).



Ryc. 5. Degradacja 2-AG. 2-AG – 2-arachidonyloglicerol; Δ⁹-THC – ABH – hydrolaza serynowa α/β-hydrolaza; FAAH – hydrolaza amidowa kwasów tłuszczowych; COX-2 – cyklooksygenaza-2; LOX – lipoksygenaza; CYP P450 – cytochrom P450; HETE – G – glicerol kwasu hydroksyeikozatetraenowego; PGX₂-G – ester glicerylowy prostaglandyny-X₂ i kwasu epoksyekoizatrienowego; 12-HHT-G – ester glicerolu i kwasu 12-hydroksyheptadekatrienowego BChE – esteraza serynowa, butyrylocholinoesteraza, LOX = 12-LOX, 15-LOX; HETE-G = 12-HETE-G, 15-HETE-G; PGX₂-G = PGE₂-G, PGI₂-G, PGF₂-G, PGD₂-G

-G), I2 (PGI₂-G), estru glicerylowego prostaglandyny F2 (PGF₂-G) i D2 (PGD₂-G) [2], przy czym stwierdzono, że PGE₂-G wpływa na aktywność NF-κB [47], a także powoduje efekty przeciwstawne do jego prekursorów, takie jak wzmocnione przekazywanie synaptyczne w komórkach hipokampa glutaminergicznego i indukcję neurotoksyczności [91]. PGE₂-G poprzez receptory CB₁ i prostanoidowe mechanizmy receptorowe indukuje kinazy ERK i p38 MAPK, hamując proces neurodegeneracji [117]. Hamowanie syntezy PGD₂-G przez inhibitory lipazy DAGL potwierdza bezpośredni związek syntezy DAG i biosyntezy prostaglandyn glicerolu [61]. Z powyższych rozważań wynika, że COX-2 odgrywa główną rolę w różnych szlakach przekazywania sygnałowego z udziałem DAG, zwłaszcza, że największą aktywność COX-2 obserwuje się w mózgu oraz w komórkach układu immunologicznego [61]. W degradacji 2-AG uczestniczą również lipoksygenazy-12 i -15, katalizując powstawanie odpowiednio 15-HETE-G oraz 12-HETE-G, przy czym lipoksygenaza-12 ma taką samą regioswoistość zarówno w stosunku do AA, jak i do 2-AG, ale o 40% efektywniej katalizuje degradację 2-AG [59]. 2AG ulega również epoksygenacji przez cytochrom P450, w wyniku której powstają glicerydy kwasu epoksyeikozatrienowego (GEET), odpowiedzialne za rozszerzanie naczyń krwionośnych [6].

Niezależnie od udziału endokannabinoidów w metabolizmie komórkowym zarówno AEA, jak i 2-AG, aktywując receptory kannabinoidowe mogą wywoływać śmierć komórki. Indukcja śmierci komórek jest związana ze zmianami morfologicznymi, takimi jak kondensacja chromatyny i fragmentacja DNA oraz zmianami metabolicznymi wynikającymi ze wzrostu aktywności kaspazy 3/7, które są osłabiane przez selektywnych antagonistów receptora CB₁ [35]. Śmierć komórki może być również indukowana aktywacją receptorów CB₂ i TRPV1 [35,44].

W związku z wielokierunkowym działaniem biologicznym składników endogenego systemu kannabinoidowego (ECS), poszukuje się agonistów/antagonistów

receptorów kannabinoidowych o potencjalnym zastosowaniu w farmakoterapii celowanej skierowanej na ECS. Chociaż kannabinoidy pochodzenia roślinnego od dawna są wykorzystywane w medycynie, coraz częściej pojawiają się próby farmakoterapii z wykorzystaniem związków syntetycznych będących ligandami receptorów kannabinoidowych lub modulatorami enzymów uczestniczących w metabolizmie endokannabinoidów. Uważa się, że związki oddziałujące na ECS mogą brać udział w farmakoterapii, m.in.: chorób metabolicznych, OUN, układu krążenia i oddechowego oraz w leczeniu uzależnień [82,83]. Przykładem leku będącego antagonistą receptora CB₁ jest Rimonabant. Natomiast od leków będących agonistami receptorów kannabinoidowych należą: Nabilon – syntetyczny analog THC zapobiegający nudnościom i wymiotom oraz Sativex – zawierający Δ-9-THC i kannabidiol łagodzący stany spastyczne w stwardnieniu rozsianym oraz bóle neuropatyczne w chorobach nowotworowych [16]. W ostatnich latach pojawiają się również doniesienia na temat potencjalnych leków regulujących pośrednio poziom endokannabinoidów. Jednym z przykładów jest URB597, znany również jako preparat KDS-4103, którego działanie przeciwdepresyjne i przeciwbólne wykorzystano w badaniach klinicznych przez firmę farmaceutyczną Kadmus. Natomiast inne inhibitory FAAH (PMSF, AM374, AM381, O-1887, OL-135, URB-532, URB-602) oraz MAGL (RB602, NAM, OMDM169, JZL184, KML29) są badane na modelach zwierzęcych [12]. Jednak ciągłym problemem jest diametralne zróżnicowanie odpowiedzi organizmu w zależności od dawki, co powoduje, że stosowane preparaty mogą zarówno działać terapeutycznie, jak również powodować progresję wielu stanów chorobowych. Przykładem jest Rimonabant, selektywny antagonist receptoru CB₁, od 2006 r. stosowany jako lek w leczeniu otyłości oraz uzależnień, wycofany w 2008 r. z powodu częstych działań niepożądanych ze strony układu pokarmowego, oddechowego oraz OUN. Ze względu na potencjalne korzyści dla organizmu, uwzględniając możliwe działania niepożądane, nadal trwają poszukiwania nowych związków, dla których punktami uchwytu są składniki ECS.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Aaltonen N., Riera Ribas C., Lehtonen M., Savinainen J.R., Laitinen J.T.: Brain regional cannabinoid CB₁ receptor signalling and alternative enzymatic pathways for 2-arachidonoylglycerol generation in brain sections of diacylglycerol lipase deficient mice. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2014; 51: 87-95
- [2] Alhouayek M., Muccioli G.G.: COX-2-derived endocannabinoid metabolites as novel inflammatory mediators. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2014; 35: 284-292
- [3] Amoako A.A., Marczylo T.H., Lam P.M., Willets J.M., Derry A., Elson J., Konje J.C.: Quantitative analysis of anandamide and related acylethanolamides in human seminal plasma by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 2010; 878: 3231-3237
- [4] Andradas C., Caffarel M.M., Pérez-Gómez E., Salazar M., Lorente M., Velasco G., Guzmán M., Sánchez C.: The orphan G protein-coupled

receptor GPR55 promotes cancer cell proliferation via ERK. *Oncogene*, 2011; 30: 245-252

[5] Annuzzi G., Piscitelli F., Di Marino L., Patti L., Giacco R., Costabile G., Bozzetto L., Riccardi G., Verde R., Petrosino S., Rivellese A.A., Di Marzo V.: Differential alterations of the concentrations of endocannabinoids and related lipids in the subcutaneous adipose tissue of obese diabetic patients. *Lipids Health Dis.*, 2010; 9: 43

[6] Awumey E.M., Hill S.K., Diz D.I., Bukoski R.D.: Cytochrome P-450 metabolites of 2-arachidonoylglycerol play a role in Ca²⁺-induced relaxation of rat mesenteric arteries. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2008; 294: 2363-2370

[7] Balvers M.G., Verhoeckx K.C., Witkamp R.F.: Development and validation of a quantitative method for the determination of 12 endocannabinoids and related compounds in human plasma using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr.*

B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci., 2009; 877: 1583-1590

[8] Bari M., Battista N., Fezza F., Finazzi-Agro A., Maccarrone M.: Lipid rafts control signaling of type-1 cannabinoid receptors in neuronal cells. Implications for anandamide-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 12212-12220

[9] Barricklow J., Blatnik M.: 2-Arachidonoylglycerol is a substrate for butyrylcholinesterase: A potential mechanism for extracellular endocannabinoid regulation. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2013; 536: 1-5

[10] Bisogno T., Berrendero F., Ambrosino G., Cebeira M., Ramos J.A., Fernandez-Ruiz J.J., Di Marzo V.: Brain regional distribution of endocannabinoids: implications for their biosynthesis and biological function. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999; 256: 377-380

[11] Bisogno T., Howell F., Williams G., Minassi A., Cascio M.G., Ligresti A., Matias I., Schiano-Moriello A., Paul P., Williams E.J., Gangadharan U., Hobbs C., Di Marzo V., Doherty P.: Cloning of the first sn1-DAG lipases points to the spatial and temporal regulation of endocannabinoid signaling in the brain. *J. Cell. Biol.*, 2003; 163: 463-468

[12] Blankman J.L., Cravatt B.F.: Chemical probes of endocannabinoid metabolism. *Pharmacol. Rev.*, 2013; 65: 849-871

[13] Blankman J.L., Simon G.M., Cravatt B.F.: A comprehensive profile of brain enzymes that hydrolyze the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. *Chem. Biol.*, 2007; 14: 1347-1356

[14] Blázquez C., Galve-Roperh I., Guzmán M.: De novo-synthesized ceramide signals apoptosis in astrocytes via extracellular signal-regulated kinase. *FASEB J.*, 2000; 14: 2315-2322

[15] Booz G.W.: Cannabidiol as an emergent therapeutic strategy for lessening the impact of inflammation on oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.*, 2011; 51: 1054-1061

[16] Bostwick J.M.: Blurred boundaries: the therapeutics and politics of medical marijuana. *Mayo Clin. Proc.*, 2012; 87: 172-186

[17] Bradshaw H.B., Rimmerman N., Krey J.F., Walker J.M.: Sex and hormonal cycle differences in rat brain levels of pain-related cannabinoid lipid mediators. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2006; 291: R349-R358

[18] Butini S., Brindisi M., Gemma S., Minetti P., Cabri W., Gallo G., Vincenti S., Talamonti E., Borsini F., Caprioli A., Stasi M.A., Di Serio S., Ros S., Borrelli G., Maramba S. i wsp.: Discovery of potent inhibitors of human and mouse fatty acid amide hydrolases. *J. Med. Chem.*, 2012; 55: 6898-6915

[19] Cadas H., di Tomaso E., Piomelli D.: Occurrence and biosynthesis of endogenous cannabinoid precursor, N-arachidonoyl phosphatidylethanolamine, in rat brain. *J. Neurosci.*, 1997; 17: 1226-1242

[20] Cadas H., Gaillet S., Beltramo M., Venance L., Piomelli D.: Biosynthesis of an endogenous cannabinoid precursor in neurons and its control by calcium and cAMP. *J. Neurosci.*, 1996; 16: 3934-3942

[21] Cao Z., Mulvihill M.M., Mukhopadhyay P., Xu H., Erdélyi K., Hao E., Holovac E., Haskó G., Cravatt B.F., Nomura D.K., Pacher P.: Monoacylglycerol lipase controls endocannabinoid and eicosanoid signaling and hepatic injury in mice. *Gastroenterology*, 2013; 144: 808-817

[22] Carracedo A., Gironella M., Lorente M., Garcia S., Guzmán M., Velasco G., Iovanna J.L.: Cannabinoids induce apoptosis of pancreatic tumor cells via endoplasmic reticulum stress-related genes. *Cancer Res.*, 2006; 66: 6748-6755

[23] Cheng L.J., Xie J.H., Chen Y., Wang L.X., Zhou Q.L.: Enantioselective total synthesis of (-)- Δ^8 -THC and (-)- Δ^9 -THC via catalytic asymmetric hydrogenation and S(N)Ar cyclization. *Org. Lett.*, 2013; 15: 764-767

[24] Cianchi F., Papucci L., Schiavone N., Lulli M., Magnelli L., Vinci M.C., Messerini L., Manera C., Ronconi E., Romagnani P., Donnini M., Perigli G., Trallori G., Tanganelli E., Capaccioli S., Masini E.: Cannabinoid receptor activation induces apoptosis through tumor necrosis factor α -mediated ceramide de novo synthesis in colon cancer cells.

Clin. Cancer Res., 2008; 14: 7691-7700

[25] Correa F., Docagne F., Mestre L., Clemente D., Hernangómez M., Loria F., Guaza C.: A role for CB2 receptors in anandamide signalling pathways involved in the regulation of IL-12 and IL-23 in microglial cells. *Biochem. Pharmacol.*, 2009; 77: 86-100

[26] Deutsch D.G., Chin S.A.: Enzymatic synthesis and degradation of anandamide, a cannabinoid receptor agonist. *Biochem. Pharmacol.*, 1993; 46: 791-796

[27] Di S., Malcher-Lopes R., Marcheselli V.L., Bazan N.G., Tasker J.G.: Rapid glucocorticoid-mediated endocannabinoid release and opposing regulation of glutamate and g-aminobutyric acid inputs to hypothalamic magnocellular neurons. *Endocrinology*, 2005; 146: 4292-4301

[28] Di Marzo V., Breivogel C.S., Tao Q., Bridgen D.T., Razdan R.K., Zimmer A.M., Zimmer A., Martin B.R.: Levels, metabolism, and pharmacological activity of anandamide in CB₁ cannabinoid receptor knockout mice: evidence for non-CB₁, non-CB₂ receptor-mediated actions of anandamide in mouse brain. *J. Neurochem.*, 2000; 75: 2434-2444

[29] Di Marzo V., Ligresti A., Cristino L.: The endocannabinoid system as a link between homeostatic and hedonic pathways involved in energy balance regulation. *Int. J. Obes.*, 2009; 33: S18-S24

[30] Di Marzo V., Melck D., Bisogno T., De Petrocellis L.: Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. *Trends Neurosci.*, 1998; 21: 521-528

[31] Di Marzo V., Piscitelli F., Mechoulam R.: Cannabinoids and endocannabinoids in metabolic disorders with focus on diabetes. *Handb. Exp. Pharmacol.*, 2011; 203: 75-104

[32] Di Marzo V., Verrijken A., Hakkarainen A., Petrosino S., Mertens I., Lundbom N., Piscitelli F., Westerbacka J., Soro-Paavonen A., Matias I., Van Gaal L., Taskinen M.R.: Role of insulin as a negative regulator of plasma endocannabinoid levels in obese and nonobese subjects. *Eur. J. Endocrinol.*, 2009; 161: 715-722

[33] Dinh T.P., Carpenter D., Leslie F.M., Freund T.F., Katona I., Sensi S.L., Kathuria S., Piomelli D.: Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 10819-10824

[34] Felder C.C., Nielsen A., Briley E.M., Palkovits M., Priller J., Axelrod J., Nguyen D.N., Richardson J.M., Riggan R.M., Koppel G.A., Paul S.M., Becker G.W.: Isolation and measurement of the endogenous cannabinoid receptor agonist, anandamide, in brain and peripheral tissues of human and rat. *FEBS Lett.*, 1996; 393: 231-235

[35] Fonseca B.M., Correia-da-Silva G., Teixeira N.A.: Anandamide-induced cell death: dual effects in primary rat decidual cell cultures. *Placenta*, 2009; 30: 686-692

[36] Fonseca B.M., Costa M.A., Almada M., Correia-da-Silva G., Teixeira N.A.: Endogenous cannabinoids revisited: a biochemistry perspective. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, 2013; 102: 13-30

[37] Frampton G., Coufal M., Li H., Ramirez J., DeMorrow S.: Opposing actions of endocannabinoids on cholangiocarcinoma growth is via the differential activation of Notch signaling. *Exp. Cell Res.*, 2010; 316: 1465-1478

[38] Giuffrida A., Leweke F.M., Gerth C.W., Schreiber D., Koethe D., Faulhaber J., Klosterkötter J., Piomelli D.: Cerebrospinal anandamide levels are elevated in acute schizophrenia and are inversely correlated with psychotic symptoms. *Neuropsychopharmacology*, 2004; 29: 2108-2114

[39] Giuffrida A., Piomelli D.: Isotope dilution GC/MS determination of anandamide and other fatty acylethanolamides in rat blood plasma. *FEBS Lett.*, 1998; 422: 373-376

[40] Goparaju S.K., Ueda N., Yamaguchi H., Yamamoto S.: Anandamide amidohydrolase reacting with 2-arachidonoylglycerol, another cannabinoid receptor ligand. *FEBS Lett.*, 1998; 422: 69-73

- [41] Guo J., Ikeda S.R.: Endocannabinoids modulate N-type calcium channels and G-protein-coupled inwardly rectifying potassium channels via CB1 cannabinoid receptors heterologously expressed in mammalian neurons. *Mol. Pharmacol.*, 2004; 65: 665-674
- [42] Hansen H.S., Moesgaard B., Hansen H.H., Schousboe A., Petersen G.: Formation of N-acyl-phosphatidylethanolamine and N-acyl-ethanolamine (including anandamide) during glutamate-induced neurotoxicity. *Lipids*, 1999; 34: S327-S330
- [43] Herkenham M., Lynn A.B., Little M.D., Johnson M.R., Melvin L.S., de Costa B.R., Rice K.C.: Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990; 87: 1932-1936
- [44] Herrera B., Carracedo A., Diez-Zaera M., del Pulgar T.G., Guzmán M., Velasco G.: The CB2 cannabinoid receptor signals apoptosis via ceramide-dependent activation of the mitochondrial intrinsic pathway. *Exp. Cell Res.*, 2006; 312: 2121-2131
- [45] Hiley C.R., Ford W.R.: Cannabinoid pharmacology in the cardiovascular system: potential protective mechanisms through lipid signalling. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.*, 2004; 79: 187-205
- [46] Ho W.S., Randall M.D.: Endothelium-dependent metabolism by endocannabinoid hydrolases and cyclooxygenases limits vasorelaxation to anandamide and 2-arachidonoylglycerol. *Br. J. Pharmacol.*, 2007; 150: 641-651
- [47] Hu S.S., Bradshaw H.B., Chen J.S., Tan B., Walker J.M.: Prostaglandin E2 glycerol ester, an endogenous COX-2 metabolite of 2-arachidonoylglycerol, induces hyperalgesia and modulates NF κ B activity. *Br. J. Pharmacol.*, 2008; 153: 1538-1549
- [48] Jacobsson S.O., Wallin T., Fowler C.J.: Inhibition of rat C6 glioma cell proliferation by endogenous and synthetic cannabinoids. Relative involvement of cannabinoid and vanilloid receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001; 299: 951-959
- [49] Jin X.H., Okamoto Y., Morishita J., Tsuboi K., Tonai T., Ueda N.: Discovery and characterization of a Ca²⁺-independent phosphatidylethanolamine N-acyltransferase generating the anandamide precursor and its congeners. *J. Biol. Chem.*, 2007; 282: 3614-3623
- [50] Johannes L., Lamaze C.: Clathrin-dependent or not: is it still the question? *Traffic*, 2002; 3: 443-451
- [51] Johnston M., Bhatt S.R., Sikka S., Mercier R.W., West J.M., Makriyannis A., Gatley S.J., Duclos R.I. Jr.: Assay and inhibition of diacylglycerol lipase activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2012; 22: 4585-4592
- [52] Julien B., Grenard P., Teixeira-Clerc F., Van Nhieu J.T., Li L., Karsak M., Zimmer A., Mallat A., Lotersztajn S.: Antifibrogenic role of the cannabinoid receptor CB2 in the liver. *Gastroenterology*, 2005; 128: 742-755
- [53] Kaczocha M., Glaser S.T., Chae J., Brown D.A., Deutsch D.G.: Lipid droplets are novel sites of N-acyl ethanolamine inactivation by fatty acid amide hydrolase-2. *J. Biol. Chem.*, 2010; 285: 2796-2806
- [54] Kaczocha M., Hermann A., Glaser S.T., Bojesen I.N., Deutsch D.G.: Anandamide uptake is consistent with rate-limited diffusion and is regulated by the degree of its hydrolysis by fatty acid amide hydrolase. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 9066-9075
- [55] Katayama K., Ueda N., Kurahashi Y., Suzuki H., Yamamoto S., Kato I.: Distribution of anandamide amidohydrolase in rat tissues with special reference to small intestine. *Biochim. Biophys. Acta*, 1997; 1347: 212-218
- [56] Kim Y.H., Back S.K., Davies A.J., Jeong H., Jo H.J., Chung G., Na H.S., Bae Y.C., Kim S.J., Kim J.S., Jung S.J., Oh S.B.: TRPV1 in GABAergic interneurons mediates neuropathic mechanical allodynia and disinhibition of the nociceptive circuitry in the spinal cord. *Neuron*, 2012; 74: 640-647
- [57] Koga D., Santa T., Fukushima T., Homma H., Imai K.: Liquid chromatographic-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometric determination of anandamide and its analogs in rat brain and peripheral tissues. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.*, 1997; 690: 7-13
- [58] Kondo S., Kondo H., Nakane S., Kodaka T., Tokumura A., Waku K., Sugiura T.: 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor agonist: identification as one of the major species of monoacylglycerols in various rat tissues, and evidence for its generation through Ca²⁺-dependent and -independent mechanisms. *FEBS Lett.*, 1998; 429:152-156
- [59] Kozak K.R., Crews B.C., Morrow J.D., Wang L.H., Ma Y.H., Weinander R., Jakobsson P.J., Marnett L.J.: Metabolism of the endocannabinoids, 2-arachidonoylglycerol and anandamide, into prostaglandin, thromboxane, and prostacyclin glycerol esters and ethanolamides. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 44877-44885
- [60] Kozak K.R., Marnett L.J.: Oxidative metabolism of endocannabinoids. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2002; 66: 211-220
- [61] Kozak K.R., Rowlinson S.W., Marnett L.J.: Oxygenation of the endocannabinoid, 2-arachidonoylglycerol, to glyceryl prostaglandins by cyclooxygenase-2. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 33744-33749
- [62] Kuc C., Jenkins A., Van Dross R.T.: Arachidonoyl ethanolamide (AEA)-induced apoptosis is mediated by J-series prostaglandins and is enhanced by fatty acid amide hydrolase (FAAH) blockade. *Mol. Carcinog.*, 2012; 51: 139-149
- [63] Li K., Fichna J., Schicho R., Saur D., Bashashati M., Mackie K., Li Y., Zimmer A., Göke B., Sharkey K.A., Storr M.: A role for O-1602 and G protein-coupled receptor GPR55 in the control of colonic motility in mice. *Neuropharmacology*, 2013; 71: 255-263
- [64] Liao Y.S., Wu J., Wang P., Zhang H.: Anandamide inhibits the growth of colorectal cancer cells through CB1 and lipid rafts. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*, 2011; 33: 256-259
- [65] Liu J., Wang L., Harvey-White J., Huang B.X., Kim H.Y., Luquet S., Palmiter R.D., Krystal G., Rai R., Mahadevan A., Razdan R.K., Kunos G.: Multiple pathways involved in the biosynthesis of anandamide. *Neuropharmacology*, 2008; 54: 1-7
- [66] Liu J., Wang L., Harvey-White J., Osei-Hyiaman D., Razdan R., Gong Q., Chan A.C., Zhou Z., Huang B.X., Kim H.Y., Kunos G.: A biosynthetic pathway for anandamide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 13345-13350
- [67] Long J.Z., Nomura D.K., Cravatt B.F.: Characterization of monoacylglycerol lipase inhibition reveals differences in central and peripheral endocannabinoid metabolism. *Chem. Biol.*, 2009; 16: 744-753
- [68] Maccarrone M., Lorenzon T., Bari M., Melino G., Finazzi-Agro A.: Anandamide induces apoptosis in human cells via vanilloid receptors. Evidence for a protective role of cannabinoid receptors. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 31938-31945
- [69] Matias I., Gonthier M.P., Orlando P., Martiadis V., De Petrocellis L., Cervino C., Petrosino S., Hoareau L., Festy F., Pasquali R., Roche R., Maj M., Pagotto U., Monteleone P., Di Marzo V.: Regulation, function, and dysregulation of endocannabinoids in models of adipose and β -pancreatic cells and in obesity and hyperglycemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2006; 91: 3171-3180
- [70] Matsuda K., Mikami Y., Takeda K., Fukuyama S., Egawa S., Sunamura M., Maruyama I., Matsuno S.: The cannabinoid 1 receptor antagonist, AM251, prolongs the survival of rats with severe acute pancreatitis. *Tohoku J. Exp. Med.*, 2005; 207: 99-107
- [71] Melck D., Rueda D., Galve-Roperh I., De Petrocellis L., Guzmán M., Di Marzo V.: Involvement of the cAMP/protein kinase A pathway and of mitogen-activated protein kinase in the anti-proliferative effects of anandamide in human breast cancer cells. *FEBS Lett.*, 1999; 463: 235-240
- [72] Melvin L.S., Milne G.M., Johnson M.R., Subramaniam B., Wilken G.H., Howlett A.C.: Structure-activity relationships for cannabinoid receptor-binding and analgesic activity: studies of bicyclic cannabinoid analogs. *Mol. Pharmacol.*, 1993; 44: 1008-1015
- [73] Meyer R.P., Gehlhaus M., Knoth R., Volk B.: Expression and

function of cytochrome p450 in brain drug metabolism. *Curr. Drug. Metab.*, 2007; 8: 297-306

[74] Moesgaard B., Hansen H.H., Hansen S.L., Hansen S.H., Petersen G., Hansen H.S.: Brain levels of N-acyl ethanolamine phospholipids in mice during pentylenetetrazol-induced seizure. *Lipids*, 2003; 38: 387-390

[75] Moesgaard B., Petersen G., Jaroszewski J.W., Hansen H.S.: Age dependent accumulation of N-acyl ethanolamine phospholipids in ischemic rat brain. A ³¹P NMR and enzyme activity study. *J. Lipid. Res.*, 2000; 41: 985-990

[76] Monteleone P., Matias I., Martiadis V., De Petrocellis L., Maj M., Di Marzo V.: Blood levels of the endocannabinoid anandamide are increased in anorexia nervosa and in binge-eating disorder, but not in bulimia nervosa. *Neuropsychopharmacology*, 2005; 30: 1216-1221

[77] Muccioli G.G., Xu C., Odah E., Cudaback E., Cisneros J.A., Lambert D.M., López Rodríguez M.L., Bajjalieh S., Stella N.: Identification of a novel endocannabinoid-hydrolyzing enzyme expressed by microglial cells. *J. Neurosci.*, 2007; 27: 2883-2889

[78] Nakane S., Oka S., Arai S., Waku K., Ishima Y., Tokumura A., Sugiura T.: 2-Arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphate, an arachidonic acid containing lysophosphatidic acid: occurrence and rapid enzymatic conversion to 2-arachidonoyl-sn-glycerol, a cannabinoid receptor ligand, in rat brain. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2002; 402: 51-58

[79] Oddi S., Fezza F., Pasquariello N., De Simone C., Rapino C., Dainese E., Finazzi-Agrò A., Maccarrone M.: Evidence for the intracellular accumulation of anandamide in adiposomes. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2008; 65: 840-850

[80] Okamoto Y., Morishita J., Tsuboi K., Tonai T., Ueda N.: Molecular characterization of a phospholipase D generating anandamide and its congeners. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 5298-5305

[81] Oz M.: Receptor-independent actions of cannabinoids on cell membranes: Focus on endocannabinoids. *Pharmacol. Ther.*, 2006; 111: 114-144

[82] Pacher P., Bátkai S., Kunos G.: The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol. Rev.*, 2006; 58: 389-462

[83] Pacher P., Mechoulam R.: Is lipid signaling through cannabinoid 2 receptors part of a protective system? *Prog. Lipid Res.*, 2011; 50: 193-211

[84] Pisani A., Fezza F., Galati S., Battista N., Napolitano S., Finazzi-Agro A., Bernardi G., Brusa L., Pierantozzi M., Stanzione P., Maccarrone M.: High endogenous cannabinoid levels in the cerebrospinal fluid of untreated Parkinson's disease patients. *Ann. Neurol.*, 2005; 57: 777-779

[85] Pollastro F., Tagliatalata-Scafati O., Allarà M., Muñoz E., Di Marzo V., De Petrocellis L., Appendino G.: Bioactive prenylogous cannabinoid from fiber hemp (*Cannabis sativa*). *J. Nat. Prod.*, 2011; 74: 2019-2022

[86] Premkumar L.S., Abooj M.: TRP channels and analgesia. *Life Sci.*, 2013; 92: 415-424

[87] Richardson D., Ortori C.A., Chapman V., Kendall D.A., Barrett D.A.: Quantitative profiling of endocannabinoids and related compounds in rat brain using liquid chromatography-tandem electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Biochem.*, 2007; 360: 216-226

[88] Rouzer C.A., Marnett L.J.: Endocannabinoid oxygenation by cyclooxygenases, lipoxygenases, and cytochromes P450: cross-talk between the eicosanoid and endocannabinoid signaling pathways. *Chem. Rev.*, 2011; 111: 5899-5921

[89] Rueda D., Galve-Roperh I., Haro A., Guzman M.: The CB₁ cannabinoid receptor is coupled to the activation of c-Jun N-terminal kinase. *Mol. Pharmacol.*, 2000; 58: 814-820

[90] Sałaga M., Sobczak M., Fichna J.: Inhibition of fatty acid amide hydrolase (FAAH) as a novel therapeutic strategy in the treatment of pain and inflammatory diseases in the gastrointestinal tract. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2014; 52: 173-179

[91] Sang N., Zhang J., Chen C.: COX-2 oxidative metabolite of endocannabinoid 2-AG enhances excitatory glutamatergic synaptic transmission and induces neurotoxicity. *J. Neurochem.*, 2007; 102: 1966-1977

[92] Savinainen J.R., Järvinen T., Laine K., Laitinen J.T.: Despite substantial degradation, 2-arachidonoylglycerol is a potent full efficacy agonist mediating CB1 receptor-dependent G-protein activation in rat cerebellar membranes. *Br. J. Pharmacol.*, 2001; 134: 664-672

[93] Siegmund S.V., Qian T., De Minicis S., Harvey-White J., Kunos G., Vinod K.Y., Hungund B., Schwabe R.F.: The endocannabinoid 2-arachidonoyl glycerol induces death of hepatic stellate cells via mitochondrial reactive oxygen species. *FASEB J.*, 2007; 21: 2798-2806

[94] Siegmund S.V., Seki E., Osawa Y., Uchinami H., Cravatt B.F., Schwabe R.F.: Fatty acid amide hydrolase determines anandamide-induced cell death in the liver. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 10431-10438

[95] Sigel E., Baur R., Rácz I., Marazzi J., Smart T.G., Zimmer A., Gertsch J.: The major central endocannabinoid directly acts at GABA_A receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2011; 108: 18150-18155

[96] Simon G.M., Cravatt B.F.: Anandamide biosynthesis catalyzed by the phosphodiesterase GDE1 and detection of glycerophospho-N-acyl ethanolamine precursors in mouse brain. *J. Biol. Chem.*, 2008; 283: 9341-9349

[97] Simon G.M., Cravatt B.F.: Endocannabinoid biosynthesis proceeding through glycerophospho-N-acyl ethanolamine and a role for α/β-hydrolase 4 in this pathway. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 26465-26472

[98] Smith W.L., Urade Y., Jakobsson P.J.: Enzymes of the cyclooxygenase pathways of prostanoid biosynthesis. *Chem. Rev.*, 2011; 111: 5821-5865

[99] Snider N.T., Kornilov A.M., Kent U.M., Hollenberg P.F.: Anandamide metabolism by human liver and kidney microsomal cytochrome p450 enzymes to form hydroxyeicosatetraenoic and epoxyeicosatrienoic acid ethanolamides. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2007; 321: 590-597

[100] Steffens M., Feuerstein T.J., Van Velthoven V., Schnierle P., Knörle R.: Quantitative measurement of depolarization-induced anandamide release in human and rat neocortex. *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol.*, 2003; 368: 432-436

[101] Sugiura T., Kishimoto S., Oka S., Gokoh M.: Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. *Prog. Lipid Res.*, 2006; 45: 405-446

[102] Sugiura T., Kondo S., Sukagawa A., Nakane S., Shinoda A., Itoh K., Yamashita A., Waku K.: 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995; 215: 89-97

[103] Sun Y.X., Tsuboi K., Okamoto Y., Tonai T., Murakami M., Kudo I., Ueda N.: Biosynthesis of anandamide and N-palmitoylethanolamine by sequential actions of phospholipase A2 and lysophospholipase D. *Biochem. J.*, 2004; 380: 749-756

[104] Suplita R.L. 2nd, Gutierrez T., Fegley D., Piomelli D., Hohmann A.G.: Endocannabinoids at the spinal level regulate, but do not mediate, nonopioid stress induced analgesia. *Neuropharmacology*, 2006; 50: 372-379

[105] Teixeira-Clerc F., Belot M.P., Manin S., Deveaux V., Cadoudal T., Chobert M.N., Louvet A., Zimmer A., Tordjmann T., Mallat A., Lotersztajn S.: Beneficial paracrine effects of cannabinoid receptor 2 on liver injury and regeneration. *Hepatology*, 2010; 52: 1046-1059

[106] Trezza V., Vanderschuren L.J.: Divergent effects of anandamide transporter inhibitors with different target selectivity on social

play behavior in adolescent rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2009; 328: 343-350

[107] Ueda H., Kobayashi T., Kishimoto M., Tsutsumi T., Okuyama H.: A possible pathway of phosphoinositide metabolism through EDTA-insensitive phospholipase A, followed by lysophosphoinositide-specific phospholipase C in rat brain. *J. Neurochem.*, 1993; 61: 1874-1881

[108] Ueda N., Tsuboi K.: Discrimination between two endocannabinoids. *Chem. Biol.*, 2012; 19: 545-547

[109] Ueda N., Tsuboi K., Uyama T.: N-acylethanolamine metabolism with special reference to N-acylethanolamine-hydrolyzing acid amidase (NAAA). *Prog. Lipid Res.*, 2010; 49: 299-315

[110] Van Dross R., Soliman E., Jha S., Johnson T., Mukhopadhyay S.: Receptor-dependent and receptor-independent endocannabinoid signaling: a therapeutic target for regulation of cancer growth. *Life Sci.*, 2013; 92: 463-466

[111] Vannacci A., Giannini L., Passani M.B., Di Felice A., Pierpaoli S., Zagli G., Fantappie O., Mazzanti R., Masini E., Mannaioni P.F.: The endocannabinoid 2-arachidonylethanolamide decreases the immunological activation of guinea pig mast cells: involvement of nitric oxide and eicosanoids. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2004; 311: 256-264

[112] Wagner J.A., Abesser M., Karcher J., Laser M., Kunos G.: Coronary vasodilator effects of endogenous cannabinoids in vasopressin-precontracted unpaired rat isolated hearts. *J. Cardiovasc. Pharma-*

col., 2005; 46: 348-355

[113] Wahn H., Wolf J., Kram F., Frantz S., Wagner J.A.: The endocannabinoid arachidonylethanolamide (anandamide) increases pulmonary arterial pressure via cyclooxygenase-2 products in isolated rabbit lungs. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2005; 289: 2491-2496

[114] Wei B.Q., Mikkelsen T.S., McKinney M.K., Lander E.S., Cravatt B.F.: A second fatty acid amide hydrolase with variable distribution among placental mammals. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 36569-36578

[115] Wellner N., Diep T.A., Janfelt C., Hansen H.S.: N-acylation of phosphatidylethanolamine and its biological functions in mammals. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013; 1831: 652-662

[116] Woodward D.F., Krauss A.H., Wang J.W., Protzman C.E., Nieves A.L., Liang Y., Donde Y., Burk R.M., Landsverk K., Struble C.: Identification of an antagonist that selectively blocks the activity of prostamides (prostaglandin-ethanolamides) in the feline iris. *Br. J. Pharmacol.*, 2007; 150: 342-352

[117] Yang H., Zhang J., Andreasson K., Chen C.: COX-2 oxidative metabolism of endocannabinoids augments hippocampal synaptic plasticity. *Mol. Cell. Neurosci.*, 2008; 37: 682-695

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.