

Received: 2015.11.03
Accepted: 2016.12.01
Published: 2016.12.29

Kannabinoidy – nowy oręż do walki z nowotworami?

Cannabinoids – a new weapon against cancer?

Małgorzata Pokrywka, Joanna Góralska, Bogdan Solnica

Katedra Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

Streszczenie

Konopie siewne (*Cannabis sativa*) były wykorzystywane przez człowieka od czasów neolitycznych. Stosowano je m.in. do produkcji włókien i lin, jako substancje rekreacyjne oraz jako doskonały środek leczniczy. Wyizolowanie i opisanie struktury jednej z głównych substancji czynnych konopi – Δ^9 -tetrahydrokannabinolu oraz odkrycie receptorów CB1 i CB2 wiążących kannabinoidy, stało się podstawą w badaniach nad możliwością zastosowania *Cannabis sativa* oraz produktów powstałych na ich bazie jako leków we współczesnej medycynie. Wiele prac naukowych wskazuje na potencjalne wykorzystanie kannabinoidów do walki z nowotworami. Doświadczenia prowadzone *in vitro* na liniach komórkowych, jak również *in vivo* na modelach zwierzęcych wykazują, że fitokannabinoidy, endokannabinoidy oraz kannabinoidy syntetyczne i ich analogi mogą zahamować wzrost wielu typów nowotworów, wywierając na komórki neoplastyczne efekt cytostaticzny i/lub cytotoksyczny oraz wpływając ujemnie na proces angiogenezy i zdolność komórek guza do metastazy. Głównym mechanizmem molekularnym prowadzącym do zahamowania proliferacji komórek nowotworowych przez kannabinoidy jest apoptoza. Badania wykazały jednak, że proces apoptozy w komórkach poddanych działaniu kannabinoidów jest następstwem indukcji stresu retikulum endoplazmatycznego i autofagii. Ponieważ pojawiły się doniesienia, że w zależności od kontekstu komórkowego oraz dawki, kannabinoidy mogą wzmacniać proliferację komórek nowotworowych w wyniku supresji układu immunologicznego lub przez aktywację czynników mitogenicznych, istnieje konieczność dokładniejszego zbadania szlaków molekularnych, które modyfikują i poprzez które wywierają określony wpływ na komórki nowotworowe, aby możliwe było opracowanie na ich bazie bezpiecznych dla pacjentów leków.

Słowa kluczowe: konopie • nowotwory

Summary

Cannabis has been cultivated by man since Neolithic times. It was used, among others for fiber and rope production, recreational purposes and as an excellent therapeutic agent. The isolation and characterization of the structure of one of the main active ingredients of cannabis – Δ^9 – tetrahydrocannabinol as well the discovery of its cannabinoid binding receptors CB1 and CB2, has been a milestone in the study of the possibilities of the uses of *Cannabis sativa* and related products in modern medicine. Many scientific studies indicate the potential use of cannabinoids in the fight against cancer. Experiments carried out on cell lines *in vitro* and on animal models *in vivo* have shown that *phytocannabinoids*, endocannabinoids, synthetic cannabinoids and their analogues can lead to inhibition of the growth of many tumor types, exerting cytostatic and cytotoxic neoplastic effect on cells thereby negatively influencing neo-angiogenesis and the ability of cells to metastasize.

The main molecular mechanism leading to inhibition of proliferation of cancer cells by cannabinoids is apoptosis. Studies have shown, however, that the process of apoptosis in cells, treated with

	cannabinoids, is a consequence of induction of endoplasmic reticulum stress and autophagy. On the other hand, in the cellular context and dosage dependence, cannabinoids may enhance the proliferation of tumor cells by suppressing the immune system or by activating mitogenic factors. Leading from this there is an obvious need to further explore cannabinoid associated molecular pathways making it possible to develop safe therapeutic drug agents for patients in the future.
Keywords:	cancer • cannabis
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1227443
Word count:	4390
Tables:	–
Figures:	1
References:	79

Adres autorki: dr n. biol. Małgorzata Pokrywka; Katedra Biochemii Klinicznej, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. M. Kopernika 15A, 31-501 Kraków; e-mail: malgorzata.pokrywka@uj.edu.pl

Wykaz skrótów: **2-AG** – 2-arachidonoglicerol, **4EBP1** – białko wiążące czynnik inicjacji translacji 4E (4E binding protein), **ACPA** – syntetyczny agonista receptorów kannabinoidowych (arachidonoyl cyclopropamide), **CB1** – o niewielkim powinowactwie do receptorów CB2, **AEA** – arachidonoiloeanoamid, **Akt** – kinaza białkowa, **ALK** – kinaza chłoniaka anaplastycznego (anaplastic lymphoma kinase), **AMP** – adenozylo-5'-monofosforan, **AMPK** – kinaza aktywowana AMP (AMP-activated protein kinase), **ATP** – adenozylo-5'-trifosforan, **ATF4** – czynnik transkrypcyjny (activating transcription factor 4), **Atg** – białka regulujące autofagię, **CaMKK** – kinaza kinazy zależnej od kalmoduliny/ Ca^{2+} (Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase kinase), **CB1 i CB2** – receptory kannabinoidowe typu 1 i 2, **CBD** – kannabidiol, **CD40 i CD86** – białka powierzchniowe komórek prezentujących antygen (cluster of differentiation), **CDK1, CDK2, CDK4 i CDK6** – kinazy zależne od cyklin (cyclin-dependent kinases), **CHOP** – czynnik transkrypcyjny (C/EBP-homologous protein), **DP1, DP2** – białka tworzące heterodimery z białkiem E2F (dimerization partner 1 and 2), **EGFR** – receptor naskórkowego czynnika wzrostu (epidermal growth factor receptor), **eIF2 α** – eukaryotyczny czynnik inicjacji translacji 2 α (eukaryotic initiation factor 2), **ER** – retikulum endoplazmatyczne, **ERK** – kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo (extracellular signal regulated kinase), **FAK** – kinaza ognisk przylegania (focal adhesion kinase), **Fas-L** – ligand receptora śmierci Fas, **FIP200** – białko wchodzące w skład kompleksu inicjującego autofagię (focal adhesion kinase family interacting protein of 200 kD), **FDA** – Amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (Food and Drug Administration), **FGF2** – czynnik wzrostu fibroblastów 2 (fibroblast growth factor 2), **GW405833 (GW)** – syntetyczny agonista receptora CB2, **IRK** – dokomórkowe prostownicze kanały potasowe (inwardly rectifying potassium channels), **JNK** – kinaza c-Jun N-terminalna (c-Jun N-terminal kinase), **LC3-II** – białko zapewniające strukturalną stabilność utofagosomu (microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3), **LKB1** – kinaza wątrobowa B1 (liver kinase B1), **MAPK** – kinaza aktywowana mitogenami (mitogen-activated protein kinase), **MDK** – midkina, **Met-F-AEA** – metabolicznie stabilny analog anandamidu, **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex), **mLST8** – białko wchodzące w skład kompleksu mTORC1 (mTOR associated protein, LST8 homolog), **mTOR** – ssaczy cel rapamycyny (mammalian target of rapamycin), **mTORC1** – kompleks białkowy w skład którego wchodzi: mTOR, RAPTOR, mLST8 i PRAS40 (mammalian target of rapamycin complex 1), **NK** – grupa komórek układu odpornościowego odpowiedzialna za zjawisko naturalnej cytotoxyczności (natural killer), **p27/KIP1** – inhibitor cyklozależnych kinaz, **p8 (NUPR1)** – białko jądrowe, **PARP** – polimeraza poli ADP rybozy (poly ADP-ribose polymerase), **PI3K** – kinaza 3-fosfatidyloinozytolu (phosphatidylinositol 3 kinase), **PRAS40** – białko wchodzące w skład kompleksu mTORC1 (proline-rich PKB/Akt substrate 40-kDa), **pRB** – białko retinoblastoma (retinoblastoma protein), **ROS** – reaktywne formy tlenu (reactive oxygen species), **Ser** – seryna, **SMAC/DIABLO** – drugi mitochondrialny czynnik aktywujący kaspazy (second mitochondria derived activator of caspase), **t-BID** – przycięte białko BID (truncated BID), **TGF** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor), **Th1** – limfocyty pomocnicze, **Thr** – treonina, **TRPV1** – receptor waniloidowy-1 (vanilloid receptor-1), **ULK1** – kinaza serynowo-treoninowa, uczestnicząca w inicjacji autofagii (uncoordinated-51-like kinase-1), **Ulk1** – kompleks białkowy uczestniczący w inicjacji autofagii, w skład którego wchodzi: Atg13, FIP200, Atg101, ULK1, **UPR** – unfolded protein re-



sponce, **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (vascular endothelial growth factor), **WWA** – wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, **Δ^8 -THC** – Δ^8 -tetrahydrokannabinol, **Δ^9 -THC** – Δ^9 -tetrahydrokannabinol.

WSTĘP

Konopie siewne (*Cannabis sativa*) są rośliną uprawną, szeroko rozpowszechnioną na całym świecie. Od wieków wykorzystywano je do produkcji, m.in. włókien i lin. Od czasów neolitycznych, konopi oraz wszelkich przetworów przygotowywanych na ich bazie, używano również w celach leczniczych i – ze względu na pozytywny wpływ na nastrój i percepcję świata – rekreacyjnych. Istnieją świadectwa potwierdzające, że konopie były popularnym medykamentem w starożytnych Chinach już od około 2900 r. p.n.e., wykorzystywanym w leczeniu bólów reumatycznych, zaparć, malarii, chorób żeńskiego układu rozrodczego i wielu innych schorzeń [50]. W Indiach od około 1000 r. p.n.e. rośliny znalazły zastosowanie zarówno medyczne, jak i religijne. Stosowano je m.in. jako środki przeciwbólowe, przeciwdrgawkowe, nasenne, uspokajające, znieczulające, przeciwzapalne, czy przeciwpasożytnicze. W XIX w., w wyniku badań Williama B. O'Shoughnessy – irlandzkiego lekarza oraz Jacquesa Josepha Moreau – francuskiego psychiatry, wprowadzono konopie do medycyny zachodniej. Na przełomie XIX i XX w., zgodnie z zaleceniami Farmakopei Brytyjskiej, a następnie Farmakopei Stanów Zjednoczonych, stosowano ekstrakt z marihuany jako środek uspokajający, nasenny i przeciwdrgawkowy. Na skutek restrykcyjnych przepisów zakazujących hodowli, posiadania i konsumpcji konopi, a także w wyniku zmiennego składu preparatów roślinnych, krótkiego okresu trwałości oraz nieprzewidywalności relacji dawka-efekt, marihuanę usunięto w 1932 r. z Farmakopei Brytyjskiej, a w 1941 r. z Farmakopei Stanów Zjednoczonych [1,44,78].

Dotychczas opisano ponad 100 związków zwanych kannabinoidami uzyskanych z *Cannabis sativa*. Proporcje między zawartością poszczególnych substancji są zmienne i zależą od gleby, czynników klimatycznych i odmian rośliny. Jednym z najważniejszych i najlepiej zbadanych (również pod kątem możliwości wykorzystania w medycynie) związków aktywnych konopi jest psychoaktywny Δ^9 -tetrahydrokannabinol (THC), wyizolowany w czystej postaci w 1964 r. przez Gaoniego i wsp. [20] z Hebrajskiego Uniwersytetu w Jerozolimie [23,56]. Ważnymi z terapeutycznego punktu widzenia, ale niewykazującymi aktywności psychoaktywnych kannabinoidami są natomiast: Δ^9 -tetrahydrokannabinol, kannabidiol (CBD), kannabidiwaryna, czy kannabinol [76].

Sklonowano i opisano u ssaków dwa receptory wiążące kannabinoidy – receptor CB1 oraz CB2. Uważa się, że receptorami kannabinoidów mogą być również: TRPV1 (Transient Receptor Potential cation channel subfamily V member 1) oraz sieroce receptory sprzężone z biał-

kami G – GPR55, GPR119 i GPR18 [3,53]. Receptory CB1 oraz CB2 należą do nadrodziny receptorów związanych z białkami G i wykazują 44% podobieństwo pod względem struktury pierwszorzędowej. Białka te różnią się lokalizacją komórkową. Ekspresja receptorów CB1 zachodzi przede wszystkim w centralnym układzie nerwowym, głównie w ośrodkach kontrolujących motorykę (jądra podstawne, mózdzek), pamięć i uczenie się (kora i hipokamp), emocje (ciało migdałowe), postrzeganie zmysłowe (wzgórze) oraz funkcje autonomiczne i endokrynne (podwzgórze, most i rdzeń przedłużony) [75]. Receptory CB1 występują również w zakończeniach nerwów obwodowych oraz na powierzchni adipocytów [13,16], w wątrobie [52], trzustce [15], czy w mięśniach szkieletowych [11]. Receptory CB2 znajdują się natomiast na powierzchni komórek układu odpornościowego – głównie na limfocytach B oraz komórkach NK (natural killers), a także na limfocytach T, monocytach, makrofagach i mastocytach, jak również na neuronach, astrocytach, komórkach mikrogleju i komórkach endotelialnych mózgowych naczyń krwionośnych (cerebro microvascular endothelial cells) [37,60]. Ekspresję CB1 i CB2 obserwuje się ponadto w wielu typach nowotworów wywodzących się z komórek, które nie wydzielają ich w warunkach fizjologicznych [64]. Aktywacja receptorów CB1 i CB2 powoduje zahamowanie cykazy adenylowej. Receptory CB1 wpływają na regulację kanałów jonowych – hamują wapniowe, zależne od napięcia kanały typu N oraz P/Q i aktywują kanały potasowe IRK (inwardly rectifying potassium channels). Receptory kannabinoidowe mogą modulować wiele molekularnych szlaków sygnałowych odpowiedzialnych za przeżycie i proliferację komórek, m.in. szlaków kinaz: ERK (extracellular signal-regulated kinase), MAPK (mitogen-activated protein kinase), JNK (c-Jun N-terminal kinase), (PI3K)/Akt (phosphatidylinositol 3-kinase), FAK (focal adhesion kinase) oraz ścieżki angażującej ceramid [71]. Badania wykazały, że THC ma aktywność częściowego agonisty o umiarkowanym powinowactwie do receptorów CB1 i CB2. Δ^9 -tetrahydrokannabinol i kannabinol są odpowiednio słabym antagonistą i agonistą receptorów CB1, o niewielkiej aktywności agonistycznej w stosunku do receptorów CB2. CBD i kannabidiwaryna charakteryzują się bardzo małym powinowactwem do obydwu typów receptorów kannabinoidowych. Mechanizm, w wyniku którego CBD oddziałuje na komórki nie jest w pełni poznany [76].

W komórkach ssaków zidentyfikowano endogenne ligandy receptorów kannabinoidowych, określane jako endokannabinoidy (w odróżnieniu od wytwarzanych przez konopie – fitokannabinoiów). Do głównych endokannabinoidów zalicza się arachidonoiloleoetanoloamid (AEA), nazywany anandamidem (od sanskryckiego słowa

ananda oznaczającego rozkosz, błogostan) oraz 2-arachidonoglicerol (2-AG) [36]. Endokannabinoidy wspólnie z receptorami i białkami zaangażowanymi w ich syntezę, transport i degradację tworzą tzw. układ endokannabinoidowy [75].

KANNABINOIDY W LECZENIU NOWOTWORÓW

Po raz pierwszy uwagę na przeciwnowotworowe właściwości kannabinoidów zwrócili Munson i wsp. [47] – w czasie, kiedy receptory kannabinoidowe i endokannabinoidy nie były jeszcze znane. Wykazali, że Δ^9 -THC, Δ^8 -THC oraz kannabinol hamują wzrost komórek Lewis gruczolakoraka płuc *in vitro* przeszczepionych myszy [51].

Z roku na rok pojawia się coraz więcej danych wskazujących na możliwość wykorzystania kannabinoidów w leczeniu chorych z nowotworami. Badania prowadzone *in vitro* na hodowlach komórkowych oraz *in vivo* na modelach zwierzęcych wykazały, że fitokannabinoidy, endokannabinoidy oraz kannabinoidy syntetyczne i ich analogi mogą hamować wzrost wielu typów nowotworów, działając na komórki neoplastyczne cytostatycznie, cytotoksycznie oraz wpływając na modyfikację szlaków sygnalizacyjnych, co prowadzi do aktywacji programowanej śmierci komórkowej, inhibicji neoangiogenezy lub zahamowania migracji komórek nowotworowych. Aktywność ta w zależności od rodzaju kannabinoidu i typu nowotworu może być zależna lub niezależna od receptorów CB1 i/lub CB2 [32]. Wrażliwość na kannabinoidy wykazano m.in. w przypadku komórek gruczolakoraka płuc [51], glejaka [47], raka tarczycy [17], raka piersi [39], raka stercza [58], chłoniaka z komórek płaszczka [26], raka trzustki [10], raka okrężnicy [55] i czerniaka [7]. Należy przy tym zaznaczyć, że jak wskazują liczne badania, kannabinoidy są pozbawione działań niepożądanych związanych z innymi chemioterapeutykami, a ponadto działają wybiórczo, ich aktywność antyproliferacyjną stwierdza się przede wszystkim w komórkach transformowanych, a tylko w nieznacznym stopniu w komórkach prawidłowych [75].

Torres i wsp. [69] wykazali, że leczenie skojarzone temozolomidem (czynnik alkilujący, stosowany powszechnie w terapii nowotworów) i THC hamuje wzrost nowotworu u myszy z heteroprzeszczepem ludzkich komórek glejaka, w większym stopniu niż stosowanie każdego z tych leków osobno. Działanie supresyjne obserwowano również w guzach opornych na działanie temozolomidu. Jak wykazano, główną rolę w mechanizmie działania tych leków odgrywa aktywacja autofagii. Z badań Torresa i wsp. wynika, że również kombinacja THC i CBD wzmacnia istotnie przeciwnowotworową aktywność THC. Umożliwia to uzyskanie oczekiwanego efektu terapeutycznego już przy mniejszych dawkach THC i może doprowadzić do ograniczenia skutków psychoaktywnych potencjalnej terapii z wykorzystaniem THC [69]. Wydaje się, że pozostałe fitokannabinoidy w tym m.in. kannabinol, kannabichromen, kannabige-

rol, Δ^9 -tetrahydrokannabinawaryna i Δ^8 -THC oraz wytwarzane przez konopie terpenoidy i flawonoidy mogą również działać synergistycznie i wzmacniać korzystne, a redukować niepożądane skutki THC. Wiele z wymienionych związków ma ogromny potencjał terapeutyczny [59]. Wydaje się więc uzasadnione prowadzenie badań (również klinicznych) z wykorzystaniem nie tylko pojedynczych, oczyszczonych kannabinoidów, ale także bezpośrednio, przetworów *Cannabis sativa* [72]. Prawdziwym wyzwaniem może być jednak standaryzacja stężenia poszczególnych substancji.

Pierwsze kliniczne badania pilotażowe dotyczące możliwości wykorzystania kannabinoidów jako leków przeciwnowotworowych przeprowadzili Guzman i wsp. [27] u dziewięciu pacjentów w terminalnej fazie glejaka wielopostaciowego. Mimo to, że nie uzyskano statystycznie istotnych wyników, niektórzy z dziewięciu pacjentów biorących udział w badaniu, przynajmniej częściowo, odpowiedzieli pozytywnie na terapię THC, co zobrazowano metodą rezonansu magnetycznego. Co ważne, terapia THC nie wywoływała znaczących działań niepożądanych i zmian w parametrach fizycznych, neurologicznych, biochemicznych ani hematologicznych pacjentów [27,73].

KANNABINOIDY I NOWOTWORY – MECHANIZMY MOLEKULARNE

Indukcja stresu retikulum endoplazmatycznego i autofagii

Retikulum endoplazmatyczne (ER) pełni w komórkach eukariotycznych wiele istotnych funkcji: kontroluje stężenie jonów wapnia, odpowiada za biosyntezę fosfolipidów i cholesterolu, a także za prawidłowe fałdowanie i dojrzewanie białek błonowych oraz białek przeznaczonych na eksport. Białka błonowe i sekrecyjne są syntetyzowane na rybosomach przylegających bezpośrednio do ER i podlegają w świetle siateczki śródplazmatycznej licznym modyfikacjom z udziałem czaperonów (chaperones) i foldaz. Prawidłowo sfałdowane białka wychodzą z ER i w wyniku sekrecji trafiają do miejsc przeznaczenia; procesy zachodzące w ER są ściśle kontrolowane. Opuścić organellum mogą jedynie białka o prawidłowej konformacji. Nieprawidłowo sfałdowane białka są kierowane do proteasomów, gdzie ulegają degradacji. Zaburzenia homeostazy wapniowej, zakażenia wirusowe, stres oksydacyjny, głód lub zmiany potrzeb wydzielniczych komórki mogą upośledzić funkcjonowanie ER i doprowadzić do nagromadzenia w komórce białek o niewłaściwej strukturze przestrzennej. Stres ER aktywuje w komórce konserwatywny szlak sygnalizacyjny – UPR (unfolded protein response) w celu przywrócenia homeostazy. UPR integruje informacje o czasie trwania oraz intensywności bodźców stresowych i uruchamia w komórce szlaki przystosowawcze lub w ostateczności kieruje ją na drogę apoptozy. Innym sposobem na przywrócenie homeostazy przez UPR jest stymulacja degradacji nieprawidłowo sfałdowanych białek w wyniku autofagii lub w procesie ER-zależnej degradacji białek (ERAD) [19,34,77].



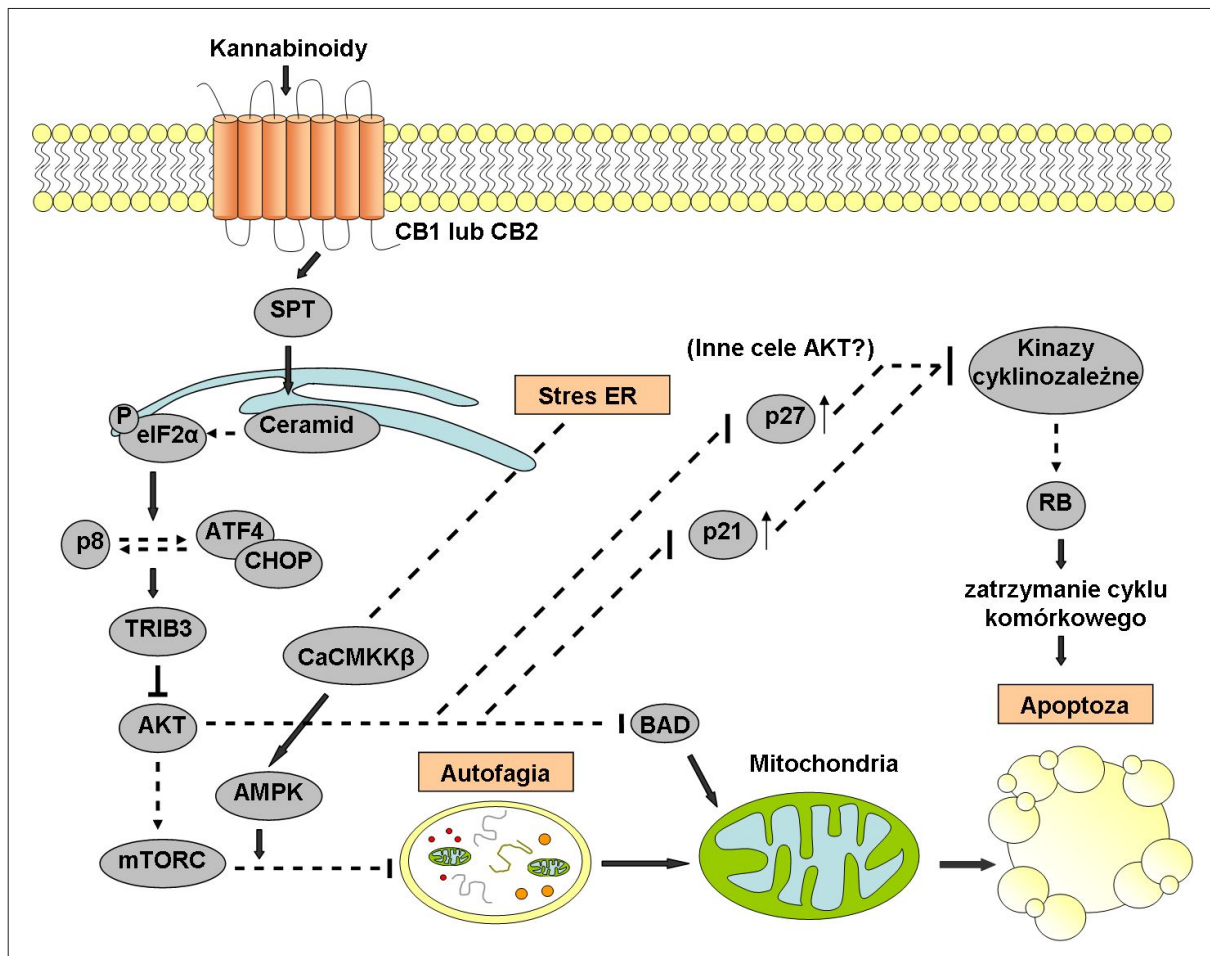
Autofagia (gr. *autós* – sam, *phageîn* – jeść) jest ważnym procesem katabolicznym uruchamianym w odpowiedzi na stres energetyczny komórki, prowadzącym do generacji związków odżywczych. Odgrywa również istotną rolę w usuwaniu zbędnych, nieprawidłowo sfałdowanych białek lub uszkodzonych organelli komórkowych. Proces autofagii polega na proteolitycznej degradacji komponentów cytoplazmatycznych – białek i organelli w lizosomach. Podczas autofagii składniki mające ulec degradacji zostają otoczone podwójną błoną tworząc tzw. autofagosom. Autofagosom ulega następnie fuzji z lizosomem, tworząc autofagolizosom – strukturę, w której dochodzi do degradacji zawartości z udziałem lizosomalnych hydrolaz (makroautofagia). Niekiedy fragmenty cytoplazmy zostają bezpośrednio otoczone przez błonę lizosomalną (mikroautofagia) lub też białka przeznaczone do degradacji są transportowane do lizosomów z udziałem odpowiednich czaperonów [24,45]. Autofagię uważa się powszechnie za mechanizm przetrwania, jednak w zależności od stanu fizjopatologicznego komórki, może ona w sposób alternatywny lub we współpracy ze szlakiem apoptotycznym doprowadzić do śmierci komórki [46]. W komórkach nowotworowych autofagia odgrywa podwójną rolę. Może pomóc komórkom przetrwać stres związany z początkowymi stadiami rozwoju nowotworu, ale może na nie działać jako supresor wzrostu. Terapie antynowotworowe aktywują często autofagię w komórkach neoplastycznych, co w zależności od czynnika indukującego oraz od typu nowotworu, promuje śmierć komórki lub przeciwnie, jest mechanizmem oporności komórki na stosowane leki [4,21].

Badania z wykorzystaniem kannabinoidów, prowadzone *in vitro* i na modelach zwierzęcych nowotworów, m.in.: glejaka, raka trzustki, piersi, wątroby i czerniaka wykazały, że jednym z głównych mechanizmów ograniczających wzrost nowotworów przez kannabinoidy jest aktywacja procesu autofagii i indukcja apoptozy w komórkach. Jak wykazano zahamowanie autofagii związkami farmakologicznymi lub pod wpływem modyfikacji genetycznych zapobiega indukowanej kannabinoidami śmierci komórkowej i ogranicza znacznie ich potencjał przeciwnowotworowy, podczas gdy blokada apoptozy chroni komórki przed śmiercią, ale nie przed autofagią indukowaną agonistami receptorów kannabinoidowych. Udało się tym samym wykazać, że apoptoza komórek poddanych działaniu kannabinoidów jest następstwem aktywacji autofagii. Niezbędne wydają się jednak badania, które pozwolą określić mechanizm molekularny łączący te dwa procesy w komórkach poddanych działaniu kannabinoidów [5,62,63,74].

Najwięcej informacji na temat mechanizmu aktywności przeciwnowotworowej kannabinoidów uzyskano w badaniach nad glejakiem. Molekularny mechanizm odpowiedzialny za aktywację autofagii w wyniku stosowania agonistów receptorów kannabinoidowych opiera się na szlaku sygnalizacyjnym związanym ze stresem retikulum endoplazmatycznego. Po związaniu kanna-

binoidów przez receptory CB1 i/lub CB2 dochodzi do stymulacji syntezy *de novo* ceramidu, co indukuje stres ER. Aktywacja szlaków odpowiedzi na stres ER prowadzi do wzmożonej fosforylacji białka eIF2 α (eukaryotic initiation factor 2) w pozycji Ser51 i wzrostu ekspresji wielu genów, w tym regulowanego stresem białka p8 (NUPR1) i oddziałujących z nim białek ATF4 (activating transcription factor 4), CHOP (C/EBP-homologous protein) oraz TRB3 (pseudokinase Tribbles homologue 3). Jak zauważono, inhibicja p8 oraz TRB3 zapobiega indukowanej kannabinoidami autofagii oraz śmierci komórkowej, co wskazuje na istotny wpływ tych białek na stres ER i autofagię jako mechanizmów działania kannabinoidów [11,62,63]. Białko TRB3 hamuje aktywność osi Akt/mTORC1 (mammalian target of rapamycin complex 1) i prowadzi do indukowanej autofagią śmierci komórki. mTORC1 to kompleks białkowy (mTOR, RAPTOR, mLST8 i PRAS40) integrujący sygnały z wielu szlaków molekularnych, odgrywający istotną rolę w syntezie białek, wzroście i proliferacji komórek. W prawidłowych warunkach mTORC1 hamuje aktywność kompleksu ULK1 (Atg13, FIP200, Atg101, korowa kinaza Ser/Thr ULK1) niezbędnego do zainicjowania procesu autofagii. Skutkiem zahamowania mTORC1 w wyniku działania TRB3 jest defosforylacja i tym samym aktywacja kompleksu ULK1, co prowadzi do uruchomienia autofagii – rekrutacji białek Atg i formowania autofagosomów (ryc. 1) [49,62,63].

Vara i wsp. [70] zaobserwowali, że w komórkach raka wątroby THC oraz JWH-015 – syntetyczny agonista receptorów kannabinoidowych, po związaniu z receptorami CB2, indukują stres ER, nadekspresję TRB3 i inhibicję osi Akt/mTORC1, a ponadto wpływają na aktywację kinazy AMPK. Wykazali również, że inhibicja AMPK wpływa ujemnie na indukowaną kannabinoidami autofagię, podobnie jak to się dzieje w przypadku zahamowania biosyntezy ceramidu lub ekspresji TRB3 [70]. Kinaza białkowa aktywowana AMP (AMPK) jest centralnym przełącznikiem metabolicznym, występującym we wszystkich komórkach eukariotycznych. Odpowiada za regulację równowagi energetycznej zarówno komórki, jak i całego organizmu przez wpływ na metabolizm glukozy i lipidów [67]. AMPK promuje autofagię wpływając pośrednio – z udziałem białka TSC2 lub bezpośrednio – w wyniku fosforylacji białka Raptor na zahamowanie aktywności kompleksu mTORC1 [2,25]. Niedawno prowadzone badania wykazały, że AMPK może regulować proces autofagii również w wyniku bezpośredniego oddziaływania z kompleksem białkowym ULK1 (uncoordinated-51-like kinase-1). W przeciwieństwie do wyciszenia TRB3, knock down AMPK nie zapobiega jednak indukowanej kannabinoidami inhibicji mTORC. Inhibicja TRB3 nie wpływa na stymulację AMPK przez kannabinoidy. Obserwacje Vara i wsp. sugerują, że TRB3 i AMPK są aktywowane przez różne mechanizmy odpowiedzi na kannabinoidy i mogą wspólnie indukować autofagię lub regulować różne stadia tego procesu w komórkach poddanych działaniu kannabinoidów [70].



Ryc. 1. Mechanizm indukcji apoptozy przez kannabinoidy; wyjaśnienie w tekście

AMPK występuje jako heterotrimeryczny kompleks zbudowany z podjednostki katalitycznej α oraz podjednostek regulatorowych β i γ . Podjednostka α zawiera klasyczną domenę kinazy Ser/Thr aktywowaną w wyniku fosforylacji. Podjednostka γ zawiera sekwencje wiążące nukleotydy adeninowe AMP, ADP i ATP, które są miejscami rozpoznającymi status energetyczny komórki. Główną kinazą fosforylującą treoninę 172 w podjednostce α i aktywującą AMPK jest w większości komórek znany supresor nowotworów – kinaza LKB1. W niektórych komórkach enzymem fosforylującym treoninę 172 w cząsteczce AMPK, jest kinaza kinazy zależnej od kalmuliny/ Ca^{2+} -CaMKK, zależna od wewnątrzkomórkowego stężenia Ca^{2+} . Kinaza CaMKK może działać synergistycznie z LKB1 lub też niezależnie od poziomu AMP [20,66]. Badania Vara i wsp. [70] wskazują, że w komórkach raka wątroby, w obecności kannabinoidów, to głównie CaMKK β stymuluje aktywność AMPK (ryc. 1) [70].

Shrivastava i wsp. [68] wykazali, że CBD indukuje niezależnie od receptorów kannabinoidowych autofagię i apoptozę w komórkach raka piersi. W badanych komórkach MDA-MB-231, CBD powodował spadek poziomu fosforylacji białek Akt, mTOR, 4EBP1 (4E

binding protein) i zmniejszał poziom cykliny D1. Oprócz inhibicji osi Akt/mTORC1, CBD prowadził do wzrostu poziomu fragmentów ciętego białka PARP (*poly ADP-ribose polymerase*) i białka LC3-II (*microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3*) – markerów odpowiednio apoptozy i autofagii. CBD w komórkach raka piersi indukował również aktywację kaspazy 8, generację i translokację t-BID (truncated BID) do mitochondriów, uwalnianie cytochromu c i SMAC z mitochondriów do cytoplazmy oraz odpowiadał za zwiększony poziom Fas-L – co świadczy o tym, że w badanych komórkach CBD indukował szlak apoptozy zależny od mitochondriów zarówno z udziałem bodźców wewnątrzkomórkowych (t-BID), jak i zewnątrzkomórkowych (Fas-L oddziałujący z receptorem śmierci). Okazało się również, że krytyczną rolę w indukowanej przez CBD programowanej śmierci odgrywają reaktywne formy tlenu (ROS). Wykazano ponadto, że inhibicja kaspaz obniżała poziom apoptozy indukowanej przez CBD i jej markerów w komórkach raka piersi, natomiast hamowanie autofagii wzmacniało poziom apoptozy indukowanej przez CBD i ekspresji jej markerów białkowych. Autorzy tłumaczą to tym, że w komórkach poddanych działaniu CBD, w których zablokowano



autofagię dochodzi do mechanizmu wyrównawczego w postaci wzmocnienia apoptozy [68].

W przypadku komórek raka trzustki w działaniu proapoptotycznym główną rolę odgrywają receptory CB2. Zauważono, że THC prowadzi do zależnej od CB2 syntezy *de novo* ceramidu i w konsekwencji do aktywacji szlaku p8-ATF-4-TRB3 i śmierci komórki. Komórki Panc1 poddane działaniu syntetycznych kannabinoidów ACPA (arachidonoyl cyclopropamide) lub GW405833 (GW) – ligandów odpowiednio receptorów CB1 i CB2 wykazują zwiększoną aktywność AMPK indukowaną wzrostem proporcji AMP/ATP zależnym od reaktywnych form tlenu [18].

Antyproliferacyjna aktywność kannabinoidów po części wynika również z ich zdolności do indukowania procesu apoptozy z powodu hamowania cyklu komórkowego. Wykazano, że w komórkach raka piersi THC przez aktywację receptorów CB2 ograniczał proliferację komórek wpływając na spadek ekspresji białka CDK1, zablokowanie cyklu komórkowego w fazie G_2/M i indukcję apoptozy [9]. Wyniki badań Sarafaraza i wsp. [65], prowadzonych na komórkach raka prostaty wykazały, że aktywacja receptorów CB1 i CB2 przez podwójnego agonistę – WIN-55,212-2 promowała aktywność szlaku sygnalizacyjnego ERK1/2 i zahamowanie aktywności szlaku PI3K/Akt, co prowadziło do: indukcji ekspresji białka p53 i inhibitora cyklozależnych kinaz – p27/KIP1, ujemnej regulacji cyklin D1, D2 i E, obniżenia poziomu ekspresji genów cyklozależnych kinaz: CDK2, CDK4, CDK6 i białka pRB (retinoblastoma protein), jak również białek DP1 i DP2 (dimerization partner 1,2), a w wyniku tych zdarzeń do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G_0/G_1 i do uruchomienia procesu apoptozy (ryc. 1) [65].

Wyniki badań wskazują, że kannabinoidy działają antyproliferacyjnie głównie w stosunku do komórek transformowanych, oszczędzając komórki prawidłowe. Na przykład w astrocytach THC nie prowadził do aktywacji stresu ER, wzmożonej aktywności szlaku sygnalizacyjnego p8, zahamowania osi Akt/mTORC1 i stymulacji autofagii i apoptozy nawet kiedy stężenie związku przekraczało stężenia wywołujące indukcję śmierci komórek glejaka. Podobne rezultaty uzyskano w przypadku pierwotnych fibroblastów zarodkowych i innych nietransformowanych komórek, wykazujących ekspresję receptorów kannabinoidowych, w porównaniu z ich niezmiennymi odpowiednikami. Niemniej jednak, wiele populacji nietransformowanych komórek, przede wszystkim komórek silnie proliferujących, np. komórki śródbłonna naczyń – może ulegać apoptozie w wyniku stymulacji kannabinoidami [75].

Hamowanie angiogenezy i przerzutowania

Jak wszystkie komórki organizmu, również i komórki nowotworowe do wzrostu wymagają związków odżywczych, tlenu oraz możliwości pozbycia się zbędnych składników przemiany materii i dwutlenku węgla.

Początkowo komórki nowotworu uzyskują wszystkie niezbędne substancje w wyniku dyfuzji. Gdy wielkość guza przekroczy 1-2 mm odżywianie w ten sposób staje się niewystarczające, dlatego już na wczesnych etapach rozwoju nowotworu indukowana jest angiogeneza. Angiogeneza to proces powstawania nowych naczyń krwionośnych w wyniku wzrostu i rozgałęziania się istniejących naczyń w kierunku strefy nieunaczynionej. Komórki budujące sieć naczyń krwionośnych nowotworu wykazują jednak nieprawidłowości morfologiczne, a same naczynia pozostają nieszczelne [29,33,35,61]. Komórki nowotworowe wytwarzają czynniki proangiogenne, które promują migrację i przeżycie komórek śródbłonna. Jednym z najważniejszych aktywatorów procesu angiogenezy jest VEGF (vascular endothelial growth factor). Blazquez i wsp. [8] wykazali, że kannabinoidy w komórkach glejaka prowadzą do spadku ekspresji czynników proangiogennych, tj. VEGF oraz angiopoetyny 2, a także do zahamowania aktywności metaloproteinazy MMP-2 – enzymu proteolitycznego zaangażowanego w przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej w czasie angiogenezy i przerzutowania. Kannabinoidy ograniczały również zdolność do migracji i przeżycie komórek endotelialnych [8,57]. Miejsce stosowanie agonisty receptora CB1 – Met-F-AEA blokowało wzrost komórek szczerzego nowotworu tarczycy u bezgranicznych myszy. Antynowotworowy efekt kannabinoidu wynikał, jak dowiedli Portella i wsp. [54], m.in z zahamowania sygnalizacji z udziałem VEGF oraz nadekspresji białka p21, co wiązało się z ograniczeniem procesu angiogenezy. Met-F-AEA hamował proliferację komórek nowotworowych oraz przeciwdziałał powstawaniu przerzutów. Warto zaznaczyć, że kannabinoid działał silniej antyproliferacyjnie na komórki metastazy niż komórki z guza pierwotnego [6,54].

Supresja układu odpornościowego

Pewną aktywnością kannabinoidów, która może być poważnym czynnikiem ograniczającym możliwość ich wykorzystania jako leków przeciwnowotworowych, jest działanie immunosupresyjne, mogące doprowadzić do zahamowania odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko komórkom nowotworowym. Hegde i wsp. [31] wykazali, że THC prowadzi do supresji odpowiedzi immunologicznej w wyniku upośledzenia funkcji komórek dendrytycznych przez redukcję ekspresji białek MHC klasy II i cząsteczek kostymulujących CD86 i CD40. Powoduje to zahamowanie polaryzacji odpowiedzi odpornościowej w kierunku limfocytów Th1. Aktywacja receptorów kannabinoidowych mobilizuje również komórki supresorowe pochodzące z linii mieloidealnej [31,43]. Te dwa efekty odgrywają kluczową rolę w zahamowaniu antynowotworowej odpowiedzi immunologicznej [75]. Większość badań analizujących antynowotworową aktywność kannabinoidów była prowadzona na myszach z upośledzoną odpornością [22]. Badania Zhu i wsp. [78] przeprowadzone na dwóch mysich modelach raka płuc wykazały, że THC wpływa na wzrost wszczepów nowotworowych u myszy immunokompe-

tentnych, natomiast nie wpływa na wzrost nowotworu u myszy SCID. Wzmocniona onkogeneza u myszy immunokompetentnych poddanych działaniu THC wynikała z zależnego od aktywacji receptorów CB2 osłabienia zdolności komórek prezentujących antygen i komórek T do alloreaktywności [78]. Należy podkreślić, że immunosupresyjny efekt kannabinoidów wydawał się oczywisty jedynie w nowotworach wykazujących niską ekspresję receptorów kannabinoidowych i niewrażliwych na antyproliferacyjną aktywność kannabinoidów [48].

Hamowanie układu odpornościowego może przynieść pewne korzyści w zapobieganiu rozwojowi nowotworów. Jak wiadomo, proces zapalny może promować nowotworzenie. Komórki zapalne, takie jak niektóre podtypy makrofagów, komórki tuczne, neutrofile oraz limfocyty T i B, infiltrujące guzy, uwalniają wiele substancji – m.in. TGF (transforming growth factor), VEGF, FGF2 (fibroblast growth factor 2), chemokiny, cytokiny oraz metaloproteinazy i inne enzymy degradujące macierz zewnątrzkomórkową – wpływających dodatnio na proliferację komórek nowotworowych, ich potencjał przerzutowy oraz powstawanie nowych naczyń krwionośnych w obrębie guza [29]. Być może, jak sugerują Velasco i wsp. [73], zmniejszenie liczby incydentów wielu typów nowotworów i zwiększona ogólna przeżywalność immunokompetentnych szczurów, którym przez dwa lata podawano THC w wysokiej dawce (50 mg/kg m.c./dzień; pięć razy w tygodniu), w stosunku do zwierząt z grupy kontrolnej wynikały ze zdolności kannabinoidu do hamowania stanu zapalnego [14,40,73].

MECHANIZMY OPORNOŚCI NA KANNABINOIDY

Każdy typ nowotworu charakteryzuje się własnym profilem molekularnym. Różnice w ekspresji poszczególnych genów obserwuje się również w obrębie nowotworów tego samego typu, a także w komórkach danego nowotworu o innym stopniu zaawansowania. Nie ma więc przesady w stwierdzeniu, że komórki nowotworowe pochodzące od konkretnego pacjenta będą indywidualnie odpowiadały na obecność czynników antyneoplastycznych, podobnie jak sami pacjenci reagują na stosowane terapie w różnym stopniu. Lorente i wsp. [42] na podstawie wyników badań wyciągnęli wnioski, że w komórkach glejaka niewrażliwych na antynowotworową aktywność THC, to raczej ekspresja konkretnych genów, a nie różnica w poziomie receptorów jest powodem oporności komórek na kannabinoidy. Analizując profil ekspresji genów w komórkach glejaka o różnej wrażliwości na THC zidentyfikowano wiele genów zaangażowanych w oporność komórek na ten związek. Jednym z czynników ulegających nadekspresji w komórkach z obniżoną wrażliwością na THC była midkina (MDK). Midkina, jak wykazano, powoduje oporność na indukowaną przez THC śmierć komórkową przez stymulację receptora ALK (anaplastic lymphoma kinase), który wpływa negatywnie na indukcję autofagii w komórkach glejaka. Farmakologiczna inhibicja ALK lub wyciszenie *in vivo* MDK uwrażliwiało komórki glejaka

na antynowotworową aktywność THC. Badania sugerują, że skojarzona przeciwnowotworowa terapia z udziałem inhibitorów osi MDK/ALK oraz THC mogłaby znacznie zwiększyć skuteczność kannabinoidu [42,72,74]. W innych badaniach Lorente i wsp. [41] wskazali, że czynnikiem wpływającym na oporność komórek glejaka na antynowotworową aktywność kannabinoidów może być również amfiregulina – jeden z ligandów receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR). Wyciszenie *in vivo* amfireguliny zwiększało wrażliwość nowotworu na działanie THC. Ekspresja amfireguliny wiązała się ze zwiększoną aktywacją kinazy ERK, która wpływała na oporność komórek na antynowotworową aktywność kannabinoidu przez ograniczenie ekspresji białek p8 i TRB3 – zaangażowanych w indukowaną przez kannabinoidy śmierć komórek glejaka [41]. Powyższe obserwacje wskazują, że celowanie w szlak molekularny EGFR może również wzmocnić antynowotworową aktywność kannabinoidów [72].

POTENCJALNE OGRANICZENIA W STOSOWANIU KANNABINOIDÓW W TERAPII NOWOTWORÓW

Wykorzystanie kannabinoidów w terapii nowotworów wydaje się jednak kontrowersyjne. Okazuje się bowiem, że w zależności od kontekstu komórkowego kannabinoidy mogą nasilać proliferację komórek nowotworowych nie tylko w wyniku supresji układu odpornościowego (patrz wyżej). Mimo pewnych wyjątków uważa się, że zarówno receptory kannabinoidowe, jak i ich endogenne ligandy ulegają nadekspresji w komórkach nowotworowych w porównaniu z komórkami prawidłowymi. Ponadto wiele badań wskazuje korelację między poziomem receptorów kannabinoidowych i/lub enzymów metabolizujących endokannabinoidy a inwazyjnością nowotworów, co wskazuje, że układ endokannabinoidowy może ulegać w nowotworach nadaktywacji i sprzyjać ich rozwojowi [73]. Hart i wsp. [30] zwrócili uwagę, że o ile stosowanie kannabinoidów w wysokich (mikromolowych) stężeniach wywołuje w komórkach nowotworowych aktywację programowanej śmierci o tyle związki te, w niskich (nanomolowych) stężeniach, mogą indukować podziały komórek nowotworowych przez aktywację szlaków mitogennych [30]. Badania dotyczące wykorzystania kannabinoidów – związków o potwierdzonym potencjale terapeutycznym – w leczeniu chorych z nowotworami niewątpliwie wymagają kontynuacji. Wiadomo, że w niektórych nowotworach, np. w glejaku, farmakologiczna blokada zarówno receptora CB1, jak i CB2 z podobną skutecznością zapobiega indukowanej obecnością kannabinoidów śmierci komórkowej. Natomiast w komórkach raka trzustki, piersi czy wątroby to blokada receptorów CB2, a nie CB1 hamuje aktywność antynowotworową tych związków. Wciąż nie wiadomo, dlaczego w zależności od typu nowotworu kannabinoidy działają tylko przez wybrany typ receptora [73]. Dokładne poznanie szlaków molekularnych jakie modyfikują kannabinoidy i przez które wywierają określony wpływ (indukcja śmierci komórkowej lub proliferacja) na komórki nowotworowe jest niezbędne, aby



mogły powstać na ich bazie skuteczne i bezpieczne dla pacjentów leki.

PODSUMOWANIE

Od lat leki na bazie związków pochodzących z konopi oraz ich syntetycznych analogów stosuje się w łagodzeniu działań niepożądanych chemioterapii, takich jak nudności i wymioty. Mimo doniesień o wpływie układu endokannabinoidowego na rozwój i progresję nowotworów oraz na hamowanie aktywności układu odpornościowego, znaczna część wyników badań wskazuje na antynowotworowe działanie THC i innych agonistów receptorów kannabinoidowych. Z roku na rok poznaje się coraz lepiej molekularne mechanizmy, przez które kannabinoidy wpływają na komórki nowotworowe. Wstępne badania kliniczne oraz badania na mysich modelach zwracają uwagę, że kannabinoidy mogą być odpowiednim lekiem stosowanym m.in. w terapii skojarzonej nowotworów, działając synergistycznie z klasycznymi lekami cytostatycznymi. Wykazując istotną aktywność przeciwnowotworową kannabinoidy, jak zaobserwowano, nie prowadzą do działań niepożądanych towarzyszących standardowej chemioterapii i wydają się oddziaływać selektywnie na komórki neoplastyczne. Jednym z ważnych aspektów związanych z zastosowaniem kannabinoidów jako leków przeciwnowotworowych jest sposób ich podania. Możliwość wykorzystania kannabinoidów do walki z nowotworami wymaga jednak dodatkowych badań, które potwierdziłyby bezpieczeństwo ich stosowania oraz niewątpliwie randomizowanych badań klinicznych.

Sposoby podawania kannabinoidów

Ważnym aspektem zastosowania kannabinoidów w medycynie jest farmakokinetyka tych lipofilnych związków, zależna od sposobu podawania. W porównaniu do szybkiego i wydajnego wchłaniania do krwiobiegu w wyniku palenia, wchłanianie po podaniu doustnym jest powolne i nieprzewidywalne. THC i inne kannabinoidy podane doustnie wykazują niską biodostępność układową (6-20%), co wiąże się z wrażliwością związków na kwaśną treść żołądkową oraz na nasilony metabolizm pierwszego przejścia w jelitach i wątrobie. Dostępność biologiczna kannabinoidów podanych doustnie jest bardzo zróżnicowana indywidualnie. Doustne podawanie wiąże się z osiągnięciem stężeń kannabinoidów we krwi na poziomie 20-30% stężenia uzyskanego z tej samej dawki w wyniku palenia. Innym ważnym czynnikiem związanym z medycznym wykorzystaniem kannabinoidów jest to, że w roślinach THC i CBD występują w postaci nieaktywnych kwasów i wymagają konwersji

do aktywnych związków neutralnych. Dekarboksylacja kannabinoidów jest procesem zależnym od temperatury i zachodzi przy około 180°C. Palenie konopi jest jednak potencjalnie szkodliwe ponieważ powoduje powstanie wielu związków kancerogennych i drażniących układ oddechowy, dlatego nie jest możliwym do przyjęcia rozwiązaniem do celów terapeutycznych. W związku ze złą farmakokinetyką doustnych kannabinoidów potrzebne są alternatywne metody ich podawania. Do takich metod należą: tzw. metoda odparowania (waporyzacji) lub w niektórych przypadkach spreje albo tabletki podawane podjęzykowo. Waporyzator umożliwia dekarboksylację kwasów kannabinoidowych w temp. około 200°C i uwalnia lotne neutralne kannabinoidy, które dostają się do krążenia płucnego w wyniku inhalacji. Waporyzacja ogranicza powstawanie niebezpiecznych produktów spalania konopi, tj. związki smoliste, tlenek węgla i inne substancje rakotwórcze jak np. benzen [28,38].

Dostępne na rynku farmaceutycznym leki na bazie kannabinoidów

Sativex – producent *GW Pharmaceuticals, Salisbury, Wielka Brytania*

W skład *Sativexu*, stosowanego w postaci doustnego aerozolu, wchodzi THC oraz CBD pozyskane z naturalnych ekstraktów *Cannabis sativa* L. oraz *folium cum flore* (liście i kwiaty *Cannabis*). Preparat zatwierdzono w ponad 20 krajach (jest jedynym lekiem na bazie kannabinoidów dostępnym w Polsce) w celu łagodzenia objawów spastyczności o przebiegu umiarkowanym i ciężkim u pacjentów ze stwardnieniem rozsianym (multiple sclerosis). W Kanadzie *Sativex* dopuszczony jest również do leczenia objawowego bólu neuropatycznego w MS i leczenia wspomagającego bólu u chorych z zaawansowanym rakiem (<http://www.gwpharm.com>).

Marinol (Dronabinol) – producent *AbbVie, North Chicago, IL, USA*

Lek zawierający syntetyczny THC został zatwierdzony przez FDA w 1985 r. Stosuje się go w celu poprawy apetytu u pacjentów z AIDS ze znaczną utratą masy oraz do łagodzenia nudności i wymiotów u osób po chemioterapii (<http://www.marinol.com>).

Cesamet (Nabilon) – producent *Meda Pharmaceuticals, Somerset, NJ, USA*

Lek zatwierdzony przez FDA, zawierający syntetyczny analog THC, zalecany w celu łagodzenia nudności i wymiotów u pacjentów po chemioterapii (<http://www.cesamet.com>).

PISMIENICTWO

- [1] Abrams D.I., Guzman M.: Cannabis in cancer care. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2015; 97: 575-586
- [2] Alexander A., Walker C.L.: The role of LKB1 and AMPK in cellular responses to stress and damage. *FEBS Lett.*, 2011; 585: 952-957
- [3] Alexander S.P.: Therapeutic potential of cannabis-related drugs. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2016; 64: 157-166
- [4] Aredia F., Guamán Ortiz L.M., Giansanti V., Scovassi A.I.: Autophagy and cancer. *Cells*, 2012; 1: 520-534
- [5] Armstrong J.L., Hill D.S., McKee C.S., Hernandez-Tiedra S., Lorente M., Lopez-Valero I., Anagnostou E.M., Babatunde F., Corazzari M., Redfern C.P., Velasco G., Lovat P.E.: Exploiting cannabinoid-induced cytotoxic autophagy to drive melanoma cell death. *J. Invest. Dermatol.*, 2015; 135: 1629-1637
- [6] Bifulco M., Laezza C., Gazerro P., Pentimalli F.: Endocannabinoids as emerging suppressors of angiogenesis and tumor invasion. *Oncol. Rep.*, 2007; 17: 813-816
- [7] Blázquez C., Carracedo A., Barrado L., Real P.J., Fernandez-Luna J.L., Velasco G., Malumbres M., Guzmán M.: Cannabinoid receptors as novel targets for the treatment of melanoma. *FASEB J.*, 2006; 20: 2633-2635
- [8] Blázquez C., Casanova M.L., Planas A., Gómez Del Pulgar T., Villanueva C., Fernández-Aceñero M.J., Aragonés J., Huffman J.W., Jorcano J.L., Guzmán M.: Inhibition of tumor angiogenesis by cannabinoids. *FASEB J.*, 2003; 17: 529-531
- [9] Caffarel M.M., Sarrió D., Palacios J., Guzmán M., Sánchez C.: Δ^9 -tetrahydrocannabinol inhibits cell cycle progression in human breast cancer cells through Cdc2 regulation. *Cancer Res.*, 2006; 66: 6615-6621
- [10] 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
- [11] Carracedo A., Lorente M., Egia A., Blázquez C., Garcia S., Giroux V., Malicet C., Villuendas R., Gironella M., González-Feria L., Piris M.A., Iovanna J.L., Guzmán M., Velasco G.: The stress-regulated protein p8 mediates cannabinoid-induced apoptosis of tumor cells. *Cancer Cell*, 2006; 9: 301-312
- [12] Cavuoto P., McAinch A.J., 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
- [13] Chakravarti B., Ravi J., Ganju R.K.: Cannabinoids as therapeutic agents in cancer: current status and future implications. *Oncotarget.*, 2014; 5: 5852-5872
- [14] Chan P.C., Sills R.C., Braun A.G., Haseman J.K., Bucher J.R.: Toxicity and carcinogenicity of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in Fischer rats and B6C3F1 mice. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1996; 30: 109-117
- [15] Cota D.: CB1 receptors: emerging evidence for central and peripheral mechanisms that regulate energy balance, metabolism, and cardiovascular health. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2007; 23: 507-517
- [16] Cota D., Marsicano G., Tschöp M., Grübler Y., Flachskamm C., Schubert M., Auer D., Yassouridis A., Thöne-Reineke C., Ortmann S., Tomassoni F., Cervino C., Nisoli E., Linthorst A.C., Pasquali R., Lutz B., Stalla G.K., Pagotto U.: The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J. Clin. Invest.*, 2003; 112: 423-431
- [17] Cozzolino R., Cali G., Bifulco M., Laccetti P.: A metabolically stable analogue of anandamide, Met-F-AEA, inhibits human thyroid carcinoma cell lines by activation of apoptosis. *Invest. New Drugs*, 2010; 28: 115-123
- [18] Dando I., Donadelli M., Costanzo C., Dalla Pozza E., D'Alessandro A., Zolla L., Palmieri M.: Cannabinoids inhibit energetic metabolism and induce AMPK-dependent autophagy in pancreatic cancer cells. *Cell Death Dis.*, 2013; 4: e664
- [19] Dufey E., Sepúlveda D., Rojas-Rivera D., Hetz C.: Cellular mechanisms of endoplasmic reticulum stress signaling in health and disease. 1. An overview. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2014; 307: C582-C594
- [20] Dziejulska A., Dobrzyń P., Dobrzyń A.: Rola kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (AMPK) w regulacji metabolizmu mięśni szkieletowych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 513-521
- [21] Eskelinen E.L.: The dual role of autophagy in cancer. *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2011; 11: 294-300
- [22] Folgi S., Breschi M.C.: The molecular bases of cannabinoid action in cancer. *Cancer Therapy*, 2008; 6: 103-116
- [23] Gaoni Y., Mechoulam R.: Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J. Am. Chem. Soc.*, 1964; 86: 1646-1647
- [24] Glick D., Barth S., Macleod K.F.: Autophagy: cellular and molecular mechanisms. *J. Pathol.*, 2010; 221: 3-12
- [25] Grahame Hardie D.: AMP-activated protein kinase: a key regulator of energy balance with many roles in human disease. *J. Intern. Med.*, 2014; 276: 543-559
- [26] Gustafsson K., Christensson B., Sander B., Flygare J.: Cannabinoid receptor-mediated apoptosis induced by R(+)-methanandamide and Win55,212-2 is associated with ceramide accumulation and p38 activation in mantle cell lymphoma. *Mol. Pharmacol.*, 2006; 70: 1612-1620
- [27] Guzmán M., Duarte M.J., Blázquez C., Ravina J., Rosa M.C., Galve-Roperh I., Sánchez C., Velasco G., González-Feria L.: A pilot clinical study of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in patients with recurrent glioblastoma multiforme. *Br. J. Cancer.*, 2006; 95: 197-203
- [28] Hall W., Christie M., Currow D.: Cannabinoids and cancer: causation, remediation, and palliation. *Lancet Oncol.*, 2005; 6: 35-42
- [29] Hanahan D., Weinberg R.A.: Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011; 144: 646-674
- [30] Hart S., Fischer O.M., Ullrich A.: Cannabinoids induce cancer cell proliferation via tumor necrosis factor α -converting enzyme (TACE/ADAM17)-mediated transactivation of the epidermal growth factor receptor. *Cancer Res.*, 2004; 64: 1943-1950
- [31] Hegde V.L., Nagarkatti M., Nagarkatti P.S.: Cannabinoid receptor activation leads to massive mobilization of myeloid-derived suppressor cells with potent immunosuppressive properties. *Eur. J. Immunol.*, 2010; 40: 3358-3371
- [32] Hermanson D.J., Marnett L.J.: Cannabinoids, endocannabinoids and cancer. *Cancer Metastasis Rev.*, 2011; 30: 599-612
- [33] Hoff P.M., Machado K.K.: Role of angiogenesis in the pathogenesis of cancer. *Cancer Treat. Rev.*, 2012; 38: 825-833
- [34] Iurlaro R., Muñoz-Pinedo C.: Cell death induced by endoplasmic reticulum stress. *FEBS J.*, 2016; 283: 2640-2652
- [35] Jarosz P., Woźniak B.: Angiogeneza w chorobach nowotworowych. *Przegląd Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego i Narodowego Instytutu Leków w Warszawie*, 2012; 4: 498-507
- [36] Kwolek G., Zakrzaska A., Kozłowska H., Malinowska B.: Wpływ anandamidu, endogennego agonisty receptorów kannabinoidowych na układ krążenia. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 208-218
- [37] Lakiotaki E., Giaginis C., Tolia M., Alexandrou P., Delladetsima



- I., Giannopoulou I., Kyrgias G., Patsouris E., Theocharis S.: Clinical significance of cannabinoid receptors CB1 and CB2 expression in human malignant and benign thyroid lesions. *Biomed. Res. Int.*, 2015; 2015: 839403
- [38] Lanz C., Mattsson J., Soydaner U., Brenneisen R.: Medicinal cannabis: in vitro validation of vaporizers for the smoke-free inhalation of cannabis. *PLoS One*, 2016; 11: e0147286
- [39] Ligresti A., Moriello A.S., Starowicz K., Matias I., Pisanti S., De Petrocellis L., Laezza C., Portella G., Bifulco M., Di Marzo V.: Antitumor activity of plant cannabinoids with emphasis on the effect of cannabidiol on human breast carcinoma. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2006; 318: 1375-1387
- [40] Liu W.M., Fowler D.W., Dalglish A.G.: Cannabis-derived substances in cancer therapy--an emerging anti-inflammatory role for the cannabinoids. *Curr. Clin. Pharmacol.*, 2010; 5: 281-287
- [41] Lorente M., Carracedo A., Torres S., Natali F., Egia A., Hernández-Tiedra S., Salazar M., Blázquez C., Guzmán M., Velasco G.: Amphiregulin is a factor for resistance of glioma cells to cannabinoid-induced apoptosis. *Glia*, 2009; 57: 1374-1385
- [42] Lorente M., Torres S., Salazar M., Carracedo A., Hernández-Tiedra S., Rodríguez-Fornés F., García-Taboada E., Meléndez B., Mollejo M., Campos-Martín Y., Lakatos S.A., Barcia J., Guzmán M., Velasco G.: Stimulation of the midkine/ALK axis renders glioma cells resistant to cannabinoid antitumoral action. *Cell Death Differ.*, 2011; 18: 959-973
- [43] Lu T., Newton C., Perkins I., Friedman H., Klein T.W.: Cannabinoid treatment suppresses the T-helper cell-polarizing function of mouse dendritic cells stimulated with *Legionella pneumophila* infection. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2006; 319: 269-276
- [44] Madras B.K.: Update of cannabis and its medical use. WHO 37th ECDD (2015) Agenda item 6.2
- [45] Mah L.Y., Ryan K.M.: Autophagy and cancer. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2012; 4: a008821
- [46] Maiuri M.C., Zalckvar E., Kimchi A., Kroemer G.: Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2007; 8: 741-752
- [47] McAllister S.D., Chan C., Taft R.J., Luu T., Abood M.E., Moore D.H., Aldape K., Yount G.: Cannabinoids selectively inhibit proliferation and induce death of cultured human glioblastoma multiforme cells. *J. Neurooncol.*, 2005; 74: 31-40
- [48] McKallip R.J., Nagarkatti M., Nagarkatti P.S.: Δ -9-tetrahydrocannabinol enhances breast cancer growth and metastasis by suppression of the antitumor immune response. *J. Immunol.*, 2005; 174: 3281-3289
- [49] Mizushima N.: The role of the Atg1/ULK1 complex in autophagy regulation. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 2010; 22: 132-139
- [50] Motyka M., Marcinkowski J.T.: Używanie pochodnych konopi. Część II. Zastosowanie w medycynie vs. konsekwencje zdrowotne. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2014; 95: 21-27
- [51] Munson A.E., Harris L.S., Friedman M.A., Dewey W.L., Carchman R.A.: Antineoplastic activity of cannabinoids. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1975; 55: 597-602
- [52] Osei-Hyiaman D., DePetrillo M., Pacher P., Liu J., Radaeva S., Batkai S., Harvey-White J., Mackie K., Offertaler 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
- [53] Pertwee R.G., Howlett A.C., Abood M.E., Alexander S.P., Di Marzo V., Elphick M.R., Greasley P.J., Hansen H.S., Kunos G., Mackie K., Mechoulam R., Ross R.A.: International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB₁ and CB₂. *Pharmacol. Rev.*, 2010; 62: 588-631
- [54] Portella G., Laezza C., Laccetti P., De Petrocellis L., Di Marzo V., Bifulco M.: Inhibitory effects of cannabinoid CB₁ receptor stimulation on tumor growth and metastatic spreading: actions on signals involved in angiogenesis and metastasis. *FASEB J.*, 2003; 17: 1771-1773
- [55] Proto M.C., Gazerro P., Di Croce L., Santoro A., Malfitano A.M., Pisanti S., Laezza C., Bifulco M.: Interaction of endocannabinoid system and steroid hormones in the control of colon cancer cell growth. *J. Cell Physiol.*, 2012; 227: 250-258
- [56] Radwan M.M., ElSohly M.A., El-Alfy A.T., Ahmed S.A., Slade D., Husni A.S., Manly S.P., Wilson L., Seale S., Cutler S.J., Ross S.A.: Isolation and pharmacological evaluation of minor cannabinoids from high-potency *Cannabis sativa*. *J. Nat. Prod.*, 2015; 78: 1271-1276
- [57] Ramer R., Hinz B.: New insights into antimetastatic and antiangiogenic effects of cannabinoids. *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.*, 2015; 314: 43-116
- [58] Ramos J.A., Bianco F.J.: The role of cannabinoids in prostate cancer: basic science perspective and potential clinical applications. *Indian J. Urol.*, 2012; 28: 9-14
- [59] Russo E.B.: Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br. J. Pharmacol.*, 2011; 163: 1344-1364
- [60] Rutkowska M., Jamontt J.: Rola układu kannabinoidowego w fizjologii i patofizjologii ośrodkowego układu nerwowego. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2005; 14: 1243-1252
- [61] Sacewicz I., Wiktorska M., Wysocki T., Niewiarowska J.: Mechanizmy angiogenezy nowotworowej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 159-168
- [62] Salazar M., Carracedo A., Salanueva I.J., Hernández-Tiedra S., Egia A., Lorente M., Vázquez P., Torres S., Iovanna J.L., Guzmán M., Boya P., Velasco G.: TRB3 links ER stress to autophagy in cannabinoid anti-tumoral action. *Autophagy*, 2009; 5: 1048-1049
- [63] Salazar M., Carracedo A., Salanueva I.J., Hernandez-Tiedra S., Lorente M., Egia A., Vázquez P., Blázquez C., Torres S., García S., Nowak J., Fimia G.M., Piacentini M., Cecconi F., Pandolfi P.P. i wsp.: Cannabinoid action induces autophagy-mediated cell death through stimulation of ER stress in human glioma cells. *J. Clin. Invest.*, 2009; 119: 1359-1372
- [64] Sarfaraz S., Adhami V.M., Syed D.N., Afaq F., Mukhtar H.: Cannabinoids for cancer treatment: progress and promise. *Cancer Res.* 2008; 68: 339-342
- [65] Sarfaraz S., Afaq F., Adhami V.M., Malik A., Mukhtar H.: Cannabinoid receptor agonist-induced apoptosis of human prostate cancer cells LNCaP proceeds through sustained activation of ERK1/2 leading to G1 cell cycle arrest. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 39480-39491
- [66] Sarnowska E., Balcerak A., Olszyna-Serementa M., Kotlarek D., Sarnowski T.J., Siedlecki J.A.: Kinaza białkowa aktywowana przez AMP (AMPK) jako cel terapeutyczny. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 750-760
- [67] Shackelford D.B., Shaw R.J.: The LKB1-AMPK pathway: metabolism and growth control in tumor suppression. *Nat. Rev. Cancer*, 2009; 9: 563-575
- [68] Shrivastava A., Kuzontkoski P.M., Groopman J.E., Prasad A.: Cannabidiol induces programmed cell death in breast cancer cells by coordinating the cross-talk between apoptosis and autophagy. *Mol. Cancer Ther.*, 2011; 10: 1161-1172
- [69] Torres S., Lorente M., Rodríguez-Fornés F., Hernández-Tiedra S., Salazar M., García-Taboada E., Barcia J., Guzmán M., Velasco G.: A combined preclinical therapy of cannabinoids and temozolomide against glioma. *Mol. Cancer Ther.*, 2011; 10: 90-103
- [70] Vara D., Salazar M., Olea-Herrero N., Guzmán M., Velasco G., Diaz-Laviada I.: Anti-tumoral action of cannabinoids on hepatocellular carcinoma: role of AMPK-dependent activation of autophagy. *Cell Death Differ.*, 2011; 18: 1099-1111
- [71] Velasco G., Galve-Roperh I., Sánchez C., Blázquez C., Haro A., Guzmán M.: Cannabinoids and ceramide: two lipids acting

hand-by-hand. *Life Sci.*, 2005; 77: 1723-1731

[72] Velasco G., Hernández-Tiedra S., Dávila D., Lorente M.: The use of cannabinoids as anticancer agents. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2016; 64: 259-266

[73] Velasco G., Sánchez C., Guzmán M.: Endocannabinoids and cancer. W: *Endocannabinoids, Handbook of Experimental Pharmacology*. Pertwee R.G. (red.), 2015, pp 449-469

[74] Velasco G., Sánchez C., Guzmán M.: Anticancer mechanisms of cannabinoids. *Curr. Oncol.*, 2016; 23: S23-S32

[75] Velasco G., Sánchez C., Guzmán M.: Towards the use of cannabinoids as antitumour agents. *Nat. Rev. Cancer*, 2012; 12: 436-444

[76] Vemuri V.K., Makriyannis A.: Medicinal chemistry of cannabinoids. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2015; 97: 553-558

[77] Yadav R.K., Chae S.W., Kim H.R., Chae H.J.: Endoplasmic reticulum stress and cancer. *J. Cancer Prev.*, 2014; 19: 75-88

[78] Zhu L.X., Sharma S., Stolina M., Gardner B., Roth M.D., Tashkin D.P., Dubinett S.M.: Δ -9-tetrahydrocannabinol inhibits antitumor immunity by a CB2 receptor-mediated, cytokine-dependent pathway. *J. Immunol.*, 2000; 165: 373-380

[79] Zuardi A.W.: History of cannabis as a medicine: a review. *Rev. Bras. Psiquiatr.*, 2006; 28: 153-157

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktów interesów.

