

## Svojstva kanabinoidnih receptora ljekovite biljke *Cannabis sativa*

Ana Tomašić Paić

Institut "Ruđer Bošković", Zavod za molekularnu biologiju, Laboratorij za elektronsku mikroskopiju

Autor za korespondenciju:

Dr. sc. Ana Tomašić Paić

Ruđer Bošković Institute, Bijenička c. 54, P.O.Box 180

10002 Zagreb, Croatia

E-pošta: Ana.Tomasic@irb.hr

Pregledni članak

UDK 615.21:633.888

Prispjelo: 24. rujna 2012.

Biljka *Cannabis sativa*, konoplja, sadrži mnoga ljekovita svojstva koja se polako otkrivaju. Nakon otkrića endokanabinoidnoga sustava, ustanovljena je poveznica između ljudskoga tijela i biljke kanabis. Među mnogim medicinskim svojstvima, endokanabinoidni sustav pokazuje utjecaj na rast tumorskih stanica, njihovo širenje, angiogenezu, migraciju i temelj je budućih ciljnih istraživanja u farmakoterapiji. Također, brojne studije ukazuju na nove uvide u terapijsko liječenje neurodegenerativnih bolesti poput multiple skleroze i Parkinsonove bolesti, glaukoma, gojaznosti i povezanih metaboličkih bolesti te raka. Anti-tumorske tvari ili kanabinoidi jesu supresori rasta tumora, te je poznato kako stimuliraju apetit u pacijenata oboljelih od raka ili HIV-a, te sprečavaju povraćanja i mučnine u kemoterapijskih pacijenata. Unatoč svemu, ta je biljka i dalje klasificirana kao narkotik. No, ono što čini razliku između zlouporabe konoplje i njezine medicinske upotrebe jesu konstruktivna znanstvena istraživanja i uravnotežena medicinska primjena. Ovaj članak pokriva mnoga svojstva i aspekte primjene konoplje, kako bi se omogućilo bolje razumijevanje te kontroverzne droge kao medicinske biljke.

**Ključne riječi:** Konoplja; Kanabinoidni receptori; Endokanabinoidi; Tetrahidrokanabinol; Neurodegenerativne bolesti; Rak

### Uvod

Jedna od najkontroverznijih biljaka današnjice, *Cannabis* (konoplja), i njezina medicinska primjena snažno je podijelila današnju znanstvenu zajednicu. Nakon desetljeća istraživanja i medicinskih dokaza, farmakološka svojstva biljke i dalje su osporavana i potiskivana. Prethodnom klasifikacijom u opasan narkotik, sedativ, a nedavno u halucinogen, potencijal konoplje da se razvije kao medicinski lijek, nažalost, i dalje je opstruiran. U opsežnim *in vivo* i *in vitro* kliničkim istraživanjima otkrivena su anti-tumorska svojstva fito-kanabinoida, poput delta-9-tetrahidrokanabinola (THC), glavne psihoaktivne komponente konoplje. No, THC nema jednako djelovanje kao i biljka kanabis koja sadrži preko šezdeset različitih kanabinoida poput kanabidiola i kanabinola, s djelovanjem direktno na kanabinoidne receptore, a mogu i pojačati ili smanjiti potentnost interakcijom s THC-om. Endokanabinoidi i njihovi receptori otkriveni su u mozgu, brojnim organima, vezivnom tkivu, žlijezdama, imunim stanicama te čine kanabinoidni sustav, čiji je osnovni zadatak

održavanje homeostaze organizma. Istraživanja na životinjama ukazuju kako endokanabinoidni CB1 receptor ima nekoliko funkcija u organizmu koji se razvija, a koja uključuju embrionalnu implantaciju, neuralni razvoj, te ima neuroprotektivnu ulogu. Funkcionalan kanabinoidni sustav esencijalan je za zdravlje jer kanabinoidi imaju ključnu ulogu u jačanju imunološkoga sustava, zaštiti stanica protiv bolesti, zaštiti mozga i živčanoga sustava, te olakšavaju bolove i upalne bolesti, a koriste se i u liječenju neurodegenerativnih bolesti. Među ostalim, budućnost primjene kanabinoida ističe se i u pedijatrijskoj medicini, u liječenju cistične fibroze.

### Povijest primjene konoplje

Sjemenke konoplje pronađene su u ostacima kineske hrane koja potječe iz razdoblja 8 500 godina prije Krista. Također, prve medicinske i farmakološke primjene konoplje spominju se u kineskim spisima naziva *Chinese materia medica* koji datiraju od 2 737. godine pr. Kr. Atharvaveda, sveti hinduistički tekst, spominje

medicinsku primjenu konoplje u Indiji između 1 200. i 800. godine pr. Kr. Židovska vjerska sekta, eseni, koje je karakterizirao asketizam, siromaštvo, odricanja od svjetovnih užitaka i svakodnevne molitve, a čiji život je opisan u Kumranskim spisima (eng. *Dead Sea Scrolls*), prema Koptima, koristili su konoplju kao dio ritualnih pročišćavanja. Smatra se kako su biljku *Cannabis* prvi u Europu uveli Skiti, nomadski narodi i plemena iransko-ga podrijetla, kako je zabilježio Herodot 430. godine pr. Kr. Pedanije Dioskorides, ili Dioskorid (100. g. po. Kr.), smatrao je konoplju rimskom medicinskom biljkom, dok je Galen jasno istaknuo njena psihotropna svojstva (170. g. po. Kr.).

Smatra se kako je popularnost konoplje u srednjem vijeku u Europi rasla zahvaljujući putovanjima Marca Pola, koji je među ostalim izvještavao i o korištenju hašiša u Aziji od strane Hasana ibn al-Sabbaha i njegovih hašišina (eng. *assasin*). Kanabis se većinom koristio kao medicinski lijek u Engleskoj, te kao industrijska konoplja, npr. za izradu papira, tkanine. Upravo je na najfinijem konopljinom papiru u Mainzu tiskana 1445. godine Biblija Johanna Gutenberga. U 16. stoljeću (1545. g.), španjolski osvajači uvode kultivaciju konoplje u države južne Amerike, poput Čilea i Perua, a 1776. godine Američka deklaracija nezavisnosti skicirana je upravo na papiru od konoplje. Ubrzo, Napoleonovi vojnici donose konoplju u Europu, na povratku iz Egipta, a britanski liječnici koji su se vraćali iz Indije šire spoznaje o njezinim medicinskim svojstvima.

Kontinuirano kultiviranje biljke kroz povijest rezultiralo je trima taksonomskim varijantama iste botaničke vrste: *Cannabis sativa* L. uzgajana u Europi klasificirana je prema biologu Linnéu kao monotipska biljka. Godine 1783. prirodoslovac Lamarck klasificirao je indijsku biljku *Cannabis indica* (hrv. indijska konoplja) kao biološki različitu od *C. sativa*, te *Cannabis ruderalis* Janischevske koja je uzgajana u jugoistočnim dijelovima središnje Rusije, a definirao ju je ruski botaničar D. E. Janischevsky. Prema Smallovoj i Cronquistovoj [1] taksonomskoj studiji, konoplja se sastoji od jedne visoko varijabilne vrste *Cannabis sativa* L., mada se botaničari ni dan danas ne slažu o tome je li *Cannabis* monotipsko-ga ili politipskog roda. Tako npr. Emboden [2] u svom radu "*Cannabis - a polytypic genus*" sugerira kako se rod ustvari sastoji od nekoliko različitih vrsta.

Nadalje, sjevernoafrički hašiš u Europi postaje poznat tek u 19. st. zahvaljujući pariškom *Le Club des Hashichins* koji posjećuju pjesnici poput Baudelairea, te Gautiera [3]. Psihijatar Moreau u svojoj knjizi *Hashish and Mental Illness* [4] opisuje psihološke komponente zabilježene na ispitanicima volonterima prilikom konzumi-

ranja velikih količina hašiša. Pri tome opisuje njihova stanja poput osjećaja sreće, uzbuđenja, opisuje prostorno-vremensku iluzornu komponentu, fluktuacije emocija, pojačan osjet sluha, zablude, impulzivnost, halucinacije, delirij, relaksaciju, euforiju, te kratkotrajan gubitak pamćenja.

Između ostaloga, kraljici Viktoriji je konoplju prepisivao njezin osobni liječnik, Russell Reynolds, oko 1890. godine, kao lijek protiv menstrualnih bolova. Konoplja je kao biorazgradivi proizvod bila korištena za dobivanje užadi i jedara, jer je neizmjerljivo čvršća od današnjih prirodnih vlakana. Prve je hlače Levi Strauss u 19. stoljeću izradio od konoplje. Zanimljivo je kako je 1941. godine Henry Ford izradio cjelokupnu autokaroseriju od biorazgradive plastike dobivene upravo od vlakana konoplje. Štoviše, takav automobil je vozio na etanol - također dobiven iz konoplje, te je već 1925. Henry Ford objavio u *New York Timesu* kako je etilni alkohol gorivo budućnosti.

No, unatoč mnogim medicinskim i industrijskim primjenama ove biljke, godine 1925., Ženevska konvencija svrstava konoplju i hašiš na listu opasnih i zabranjenih droga. U SAD-u, kanabis je bio korišten u medicinske svrhe od 1843. godine (u liječenju depresije, gihta, tetanusa, ludila, histerije, bjesnoće, ublažavanju dizenterije). Kao umirujuća supstanca, kanabis je bio uvršten u američku farmakopeju 1937. godine, no zahvaljujući novom zakonu o porezu (*Marijuana Tax Act*) otkupna cijena proizvoda koji sadrže konoplju nemilosrdno je rasla. Tijekom 20. st. konoplja se primjenjuje za liječenje drugih ovisnosti, poput opijuma. Godine 1941. američka vlada u potpunosti uklanja odobrenje za njezinu upotrebu.

### Osnovne karakteristike konoplje kao biljke

Azijska biljka *Cannabis sativa* L., konoplja ili eng. *hemp*, jednogodišnja je biljka s listovima sastavljenim od dugih i utanjenih lisaka, te brojem kromosoma  $2n=20$ . Koristila se prije više od 8 500 godina zbog svojih medicinskih i psihotropnih učinaka. Vrlo je vjerojatno kako se iz originalne sumerske riječi "kunibu" razvio poznati oblik "kan(n)ab(is)" i "hanaba", potom "henep" i konačno, *hemp*. Konoplju, zeljastu biljku bez mliječnoga soka koja pripada porodici *Cannabaceae*, karakterizira uspravna stabljika i prstasto razdijeljeni listovi (Slika 1.). Jednospolni cvjetovi čine obično manje ili više produžene cvatove: muške s više cvjetova, ženske s manje. U muškom se cvijetu nalazi i jednostruko ocvijeće (od pet dijelova). Ženske jedinke su veće i nose brojne neugledne cvjetove u skupinama poput klasova. Muške jedinke su manje i tvore cvatove u obliku metlice. Plodovi



SLIKA 1.

*Cannabis sativa* jest jednogodišnja, dvodomna, zeljasta kritosjemenjača, koja raste u umjerenoj ili tropskoj klimi. Iako je najviše poznata zbog psihoaktivnih svojstava, te ju upotrebljavaju konzumenti lakih droga, konoplja je povijesno gledano korištena u industrijske i u medicinske svrhe. Primjenjuje se u liječenju bolesti, također potiče kreativnost, oslobađa od tjeskobe i dosade, povećava osjetljivost doživljaja te utječe na promjenu svijesti.

FIGURE 1.

*Cannabis sativa* is an annual, dioecious, herbaceous angiosperm, which grow in temperate or tropical climates. Though most famous for her psychoactive properties and use consumers of drugs, cannabis has historically been used for industrial and medical purposes. It is used in treating diseases, stimulates creativity, relieves anxiety and boredom, increases the sensitivity of experiences and influences the change of consciousness.



SLIKA 2.

Prikazan je karakteristični izgled cvjetnih glavica ženske (A) i muške (B) biljke konoplje. Fitokanabinoidi jesu koncentrirani u viskoznom rezinu, koji nastaje u glandularnim strukturama poznatim kao trihomi. Pored kanabinoida, resin, tj. smola bogata je terpenima, koji su u znatnoj mjeri odgovorni za miris biljke kanabisa. (Izvor: The Science of Marijuana, Oxford University Press, 2000).

FIGURE 2.

Engravings showing the characteristic appearance of the flowering heads of female (A) and male (B) cannabis plants. Phytocannabinoids are concentrated in viscous resin, originated from glandular structures or trichomes. The resin is highly enriched with terpenoids, significantly responsible for the plant smell (Source: The Science of Marijuana, Oxford University Press, 2000).

SLIKA 3.

Prikazane su kemijske strukture glavnih spojeva biljke *Cannabis sativa* L., :  $\Delta^9$ -tetrahidrokanabinol (1), kanabinol (2) i kanabidiol (3). THC je psihoaktivni spoj prisutan u velikoj količini u rezini marihuane čiji sadržaj varira ovisno o genetičkom soju i zrelosti biljke.

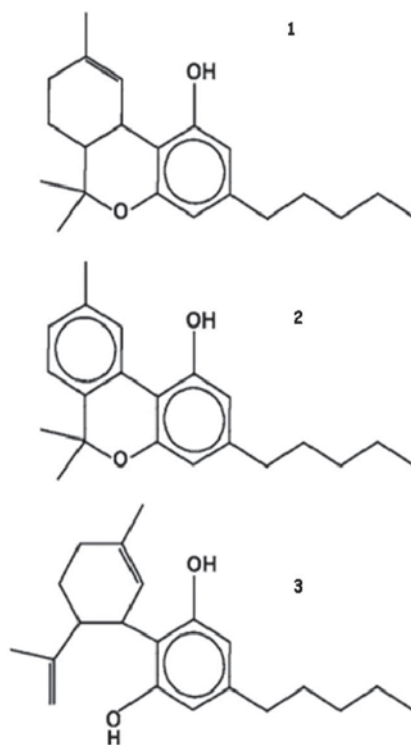


FIGURE 3.

The main constituents of *Cannabis sativa* L.,  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (1, THC), cannabinol (2) and cannabidiol (3) chemical structures are shown. THC, psychoactive compound is mostly present in cannabis sticky resin, which content varies depending of the genetic type and plant ripeness.

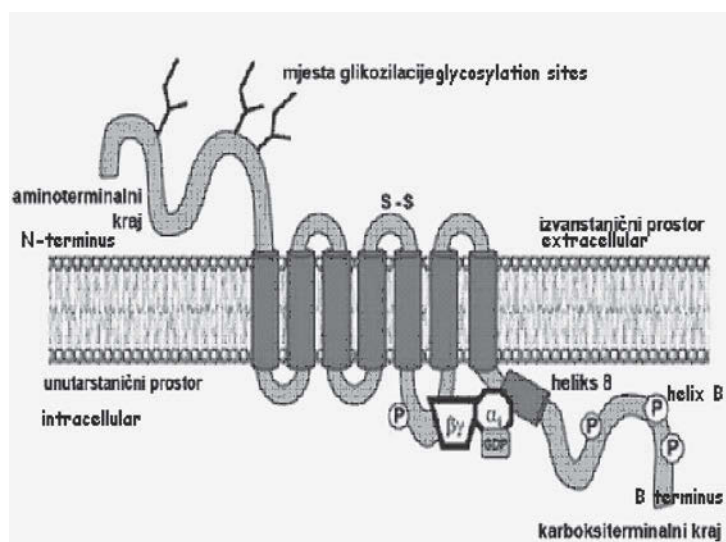
su sitni, jednosjemeni oraščići. Na ograncima i na dijelovima cvijeta imaju žlijezde s ekskretima. Bogate su aromatsko smolastim tvarima, trijeslovinama, alkaloidima i dr. Nalazimo ih uglavnom u toplim krajevima.

Karakterističan izgled cvjetnih glavica konoplje prikazan je na Slici 2. Kao lijek se od davnina upotrebljavaju plodovi i listovi. Isjeckani ili istučeni plodovi (*Fructus Cannabis*), pomiješani s vodom, liječe upale probavnih organa, mjehura te mokraćnih putova. Slično se upotrebljava i lišće koje je neprijatnoga mirisa te skuhanu djeluje kao opij. Iz ploda se priređuje ulje za primjenu u veterinarskoj medicini, dok alkoholni ekstrakt iz ploda navodno smanjuje postotak šećera u krvi. Zahvaljujući odgovarajućemu klimatskom pojasu u Indiji, biljka *Cannabis sativa* var. *Indica* (Lamarck) razvija tvari poput esencijalnoga ulja te smolastoga glikozid kanabina, sastojka kojeg ne sadrži biljka rasla u umjerenom pojasu. Stoga se konoplja u Indiji uzgaja prije svega zbog narkotičkih svojstava, više nego zbog proizvodnje biljnih vlakana, dok u višim predjelima poput Himalaje, biljka gubi sposobnost stvaranja ljekovitih glikozida. Najslabija vrsta koja se danas upotrebljava u medicini s obzirom na to da sadrži najmanje smole jest *bhanga*, *gauza*, *banghair gauza* (dolazi iz Indije preko Bombaya), *siddhi*. U drogi nema većih listova ni dijelova stabljike. Najbolja je *charas*, *churrus*, *tschars*, *momeka* iz Indije. To su ostrugane, slijepjene, smolaste žlijezde s lišća i sa stabljike. Od smole se pravi hašiš (*hadši*, *ahah*) koji se podosta uživa u Indiji (puši se, pije, žvače), te djeluje na središnji živčani sustav kao *narcoticum*, ujedno ubla-

žava bolove. Upotrebljava se kao lijek rijetko, i to protiv hripavca, migrene, bolova maternice, kod probavnih smetnji, kolika, astme, išijasa, reume, itd. [5].

#### Endokanabinoidni receptori i signalni sustav

Prvi izolirani fito-kanabinoid, kanabinol, otkriven je u ekstraktu ulja konoplje te je 1930-te razjašnjena njegova kemijska struktura [6]. Struktura i stereokemija prirodnoga aromatskog terpenoida (-)-kanabidiola izoliranoga 1930. godine (struktura je utvrđena 1963.) i (-)-trans- $\Delta^9$ -tetrahidrokanabinola ( $\Delta^9$ -THC) ili dronabinola (sintetički THC), glavnoga psihoaktivnog sastojka marihuane i hašiša otkrivena je 1964. godine [7]. Tim otkrićem dolazi do porasta interesa brojnih znanstvenoistraživačkih grupa u svrhu proučavanja kemijskih i farmakoloških svojstava ovog spoja (Slika 3.). Mehanizam djelovanja  $\Delta^9$ -THC spoja ostaje nepoznat gotovo sljedeća dva desetljeća, no ubrzo Allyn Howlett i kolege otkrivaju kanabinoidni CB1 receptor u mozgu, te je 1992. u laboratoriju dr. Mechoulama u Izraelu, izoliran glavni endogeni kanabinoid anandamid (na sanskrtnu *ananda* znači unutarnje blaženstvo) i 2-arahidonoil glicerol (1995.). Navedeni spojevi jesu derivati arahidonske kiseline ( $\omega$ -6), te je ubrzo pojašnjena njihova biosinteza i razgradnja. Najučinkovitiji od svih fitokanabinoida jest upravo THC, odnosno  $\Delta^9$ -THC, spoj koji je odgovoran za većinu učinaka poput motoričkih poremećaja i katalapsije (psihomotorna napetost, uzbuđenost), arefleksije (gubitak refleksa), euforije te neraspoloženja, lošega osjećanja, tjeskoba, uspavanosti, promijenjene vremenske i



SLIKA 4.

Struktura humanoga CB1 receptora. Prikazane su osnovne funkcionalne domene i mjesta post-translacijske modifikacije.

FIGURE 4.

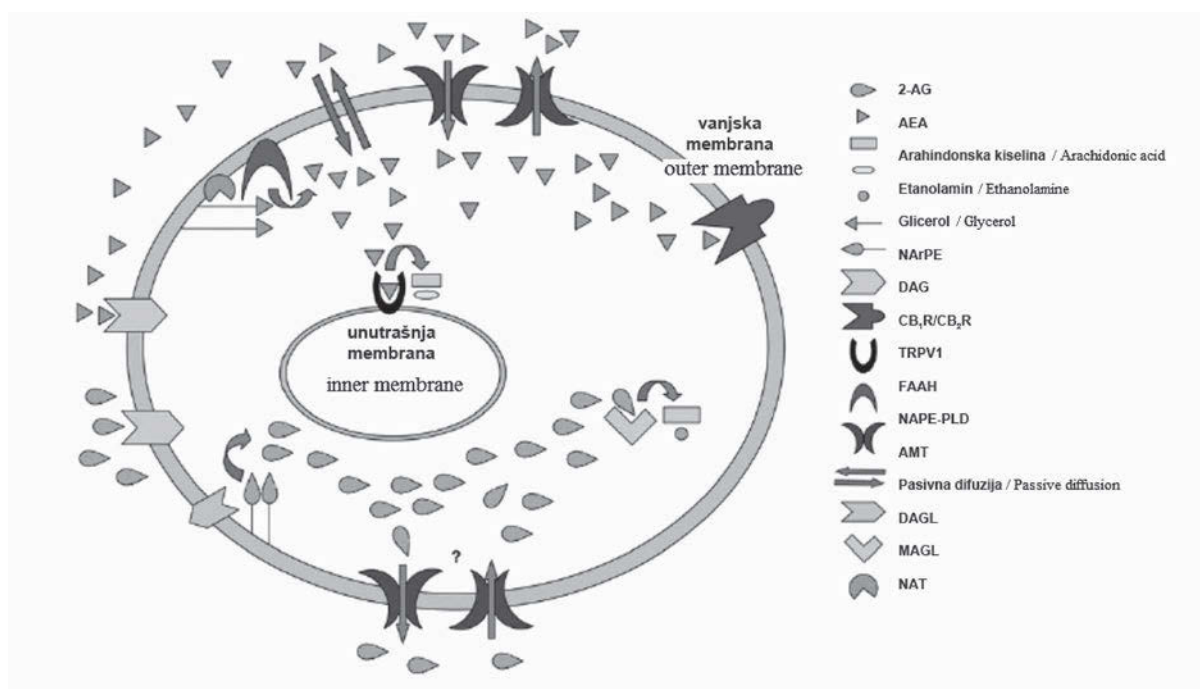
A helix net representation of the human CB1 receptor. The main functional domains and sites of post-translational modifications are presented.

audiovizualne percepcije, napadaja panike i oslabljene memorije [8-11]. Nedavno su otkriveni kanabinoidi bi-benzil tipa u biljci jetrenki (*Radula perrottetii*, *Radula marginata*), te nepsihooaktivni kanabinoidi u medicinskoj biljci, *Echinacea purpurea*.

Smatralo se kako upravo lipofilni  $\Delta^9$ -THC stvara nespecifične interakcije sa staničnim membranama mijenjajući njihovu fluidnost i strukturu te da tako utječe na većinu staničnih tipova [12,13]. No, (-)- $\Delta^9$ -THC se veže na dva G-protein kanabinoidna receptora CB1 i CB2, otkrivena u tkivu sisavaca. CB1 se pojavljuje unutar i izvan centralnoga živčanog sustava, dok je CB2 otkriven isključivo u perifernome sustavu [14]. Postoje dokazi o postojanju drugih receptora, ali njihova karakterizacija još uvijek nije dovršena. Interakcijom endogenih liganada s kanabinoidnim receptorima, endokanabinoidi reguliraju stanične razine cAMP-a (molekula koje djeluju kao sekundarni glasnik u važnim biološkim procesima te sudjeluju u prijenosu signala) kroz G-protein posredovane interakcije sa adenilil-ciklazom, i moduliraju funkcionalna svojstva naponski reguliranih ionskih kanala ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ , različite tipove  $\text{K}^+$  kanala), te ligand-reguliranih ionskih kanala poput serotoniniskoga 5-HT<sub>3</sub> receptora, nikotinskoga acetilkolina, i glicin receptora. Također, sudjeluju u prepoznavanju specifičnih kanabinoid vezujućih mjesta u mozgu [15]. Aktivacija CB1 receptora inhibira naponski-regulirane  $\text{Ca}^{2+}$  kanale [16,17] i aktivira  $\text{K}^+$  kanale [18,19]. S druge strane, CB2 receptor signalni putovi su vezani uz aktivaciju mitogen-aktivirane proteinske kinaze (MAPK), regulaciju fosfatidilinozitol-3-kinaze

i signaliziranje kroz ceramide kao sekundarne glasnike [20]. Ubrzo su otkriveni kanabinoidni receptori u mozgu, najprije u štakora, potom u ljudi te je najprije otkriven CB1 (Slika 4.), potom CB2 receptor [21-23]. Oba kanabinoidna receptora, CB1 i CB2, pripadaju superporodici G protein-spregnutih visokoafinitetnih receptora (eng. *G-protein coupled receptors*, GPCR) sastavljenih od sedam transmembranskih domena rodopsin tipa, koji pokazuju 48% homologije aminokiselinskih slijedova. Općenito, kanabinoidne receptore aktiviraju tri glavne grupe liganada: endokanabinoidi (koji se proizvode u tijelu sisavaca; N-arahidonoil-etanolamin (anandamid, AEA), 2-arahidonoil-glicerol (2-AG), 2-arahidonoil-gliceril-eter (noladin eter), N-arahidonoil-dopamin (NADA), O-arachidonoil-etanolamine (virodamin)) - to su prirodni signalni lipidi koji se vežu za kanabinoidne receptore); biljni kanabinoidi (poput THC-a, glavnoga psihoaktivnog sastojka biljke kanabis potom kanabidiol i kanabinol) i sintetičkih kanabinoida (kao što je neselektivni agonist HU-210). Svi endokanabinoidi i biljni kanabinoidi jesu lipofilnoga karaktera. Anandamid i NADA, osim što se vežu za kanabinoidne receptore, dijele i svojstvo kapsaicina, sastojka ljute papričice, koji stimulira vaniloid receptore (TRPV1). Kapsaicin ima snažno analgetsko djelovanje kad se primjenjuje lokalno na kožu. Također, stimulira dio mozga zadužen za regulaciju tjelesne temperature i snižava je.

Centralni ili CB1 receptor otkriven 1990., indiciran je kao terapijska meta mnogih bolesti, kao npr. pretilosti, ovisnosti o alkoholu, Parkinsonove bolesti, kod osjeta



SLIKA 5.

Endokanabinoidni sustav. Endokanabinoidi su lipidni medijatori, izolirani iz mozga i perifernoga tkiva, koji uključuju amide i estere dugolančanih polinezasićenih masnih kiselina. Dva derivata arahidonske kiseline, AEA i 2-AG, biološki su najaktivniji endokanabinoidi do sada opisani. AEA je proizveden na zahtjev receptor-stimuliranoga cijepanja lipidnoga prekursora, N-arahidonoil-fosfatidil-etanolamina, čija je sinteza katalizirana  $Ca^{2+}$ -ovisnom N-aciltransferazom (NAT). Biološka aktivnost AEA CB receptora završava njegovim uklanjanjem iz vanstaničnoga prostora pomoću visoko-afinitetnoga transportera (AMT). 2-AG također je proizveden cijepanjem lipidnoga prekursora, tj. hidrolizom fosfolipida specifičnim enzimom DAGL. AEA i 2-AG vežu se i tako aktiviraju CB1 i CB2 receptore. (Centonze i sur., 2007).

FIGURE 5.

The endocannabinoid system. Endocannabinoids are lipid mediators, isolated from brain and peripheral tissues, that include amides and esters of long-chain polysaturated fatty acids. Two arachidonic acid derivatives, AEA and 2-AG, are the most biologically active endocannabinoids described so far. AEA is produced “on-demand” by receptor-stimulated cleavage of lipid-precursor, N-arachidonoyl-phosphatidyl-ethanolamine, reaction catalyzed by a  $Ca^{2+}$ -dependent N-acyltransferase (NAT). The biological activity of AEA at CB receptors is terminated by its removal from the extracellular space by high-affinity transporter (AMT). 2-AG is also generated by lipid-precursor cleavage, the hydrolysis of phospholipids by specific DAGL. AEA and 2-AG derivatives bind CB1 and CB2 receptors and thus trigger them (Centonze et al., 2007).

boli i mnogih drugih. Selektivni CB2 receptorni ligandi imaju potencijalnu terapijsku primjenu kao modulatori imuniteta za supresiju tumora [24] i upala [25]. CB2 receptorni agonisti (kemijske tvari koje se vežu za receptore stanica i potiču odgovor stanice) dovode do analgezije (uklanjanja ili odsustva boli bez gubitka svijesti) neuropatskih bolova [26,27], što je zanimljivo otkriće s obzirom na smještaj CB2 receptora izvan središnjega živčanog sustava, stoga agonisti koji selektivno aktiviraju CB2 receptor (periferni) dovode do efektivne analgezije bez neželjenih psihoaktivnih učinaka na središnji živčani sustav, a koji su povezani s CB1 receptorom [28].

Ekspresija CB2 receptora većinom je ograničena na imunosna tkiva (slezena, krajnici) i hematopoetske matične stanice. Nađen je i u mikroglijalnim [29-31], u malignim gliomalnim stanicama, kao i stanicama tumora kože [32,33]. Također je utvrđena neočekivano velika raspodjela CB1 receptora u mozgu [34], točnije u bazalnim ganglijama, hipokampusu, cerebelumu i korteksu, ali i u plućima, jetri, slezeni i bubrezima.

U središnjem živčanom sustavu, endokanabinoidi imaju ulogu neuromodulatora ili retrogradnih glasnika koji inhibiraju oslobađanje različitih neurotransmitera; dok u perifernom i neuralnom tkivu, gdje moduliraju učinke proteina i jezgrinih faktora uključenih u proliferaciju stanice, diferencijaciju i apoptozu, djeluju kao parakrini

i autokrini medijatori. Ti podaci ukazuju na ulogu endokanabinoida u kontroli sudbine stanice [35].

CB1 transkript i protein detektirani su u regijama mozga uključenim u nekoliko vitalnih funkcija središnjega živčanog sustava, uključujući učenje i pamćenje, motivaciju i spoznaju, percepciju boli, neuroendokrinu kontrolu i mnoge druge funkcije. Općenito, ekspresija CB1 receptora u mozgu, moždini i perifernim živcima, prilično odgovara poznatim učincima egzogeno upravljanim CB1 receptor agonistima, kao i samoj endogenoj funkciji CB1 receptora [36]. No, ima iznimaka.

Endokanabinoidi jesu sintetizirani i oslobođeni uslijed potražnje receptor-ovisnoga signalnog puta (Slika 5.). Djeluju kao glasnici retrogradnoga signaliziranja u GABA-nergičnim i glutamatergičnim sinapsama, i kao modulatori post-sinaptičkoga prijenosa, interagirajući s drugim neurotransmiterima. Endokanabinoidi jesu transportirani u stanice posebnim sustavom unosa i degradirani enzimima poput amidne hidrolaze masnih kiselina (AHEMK) i monoacilglicerol lipaze (MAGL). Endokanabinoidni sustav uključen je u različite patofiziološke procese u centralnom i perifernom tkivu, koji uključuju hormonalnu regulaciju unosa hrane, kardiovaskularne, gastrointestinalne, imunološke, bihevioralno-kognitivne, antiproliferativne i reproduktivne funkcije [37].

### Tetrahidrokanabinol (THC)

Aktivni spoj tetrahidrokanabinol (THC), kanabinoidni alkaloid, viskozna je smola koja ne može kristalizirati. U čistome obliku na hladnom je čvrst i staklast, a ugrijan postaje ljepljiv i viskoznan. THC je vrlo slabo topljiv u vodi, ali je vrlo topljiv u većini organskih otapala poput etanola ili heksana. Kao i kod nikotina i kofeina, glavna funkcija THC-a u konoplji, poput mnogih farmakološki-aktivnih sekundarnih metabolita u biljaka, najvjerojatnije je zaštita biljke od štetočina [38]. THC posjeduje i svojstva visoke apsorpcije UV-B svjetla (280-315 nm) štiteći tako biljku od štetne radijacije [39].

Utjecaj THC-a na psihomotorni i kognitivni učinak dokazan je brojnim eksperimentalnim studijama, gdje je općenito utvrđeno kako THC doziran ispitanicima po 40 i 300 µg/kg uzrokuje opadanje motornih funkcija, pamćenja, te pažnje tijekom izvođenja testova. Najizraženiji učinci THC-a očituju se prvi sat nakon pušenja ili između jedan i dva sata nakon oralnoga unosa [40], a opadaju 3-4 sata nakon uzimanja THC-a. U dugoročnoj studiji, Fried i suradnici [41] su ispitali IQ rezultate laganih (<5 jointova/tjedno) i teških (≥5 jointova/tjedno) korisnika marihuane, bivših korisnika i ne-korisnika. IQ rezultati su uspoređeni sa subjektima čiji su IQ rezultati utvrđeni

prije početne uporabe droge. Fried i sur. [41] utvrdili su kako su trenutačni korisnici marihuane pokazali manji ukupan IQ, ali isključivo teži, tj. češći korisnici marihuane. Bivši češći korisnici marihuane, koji je nisu pušili najmanje tri mjeseca, nisu pokazali pad u IQ rezultatima. Utjecaj je očigledan u trenutačnih pušača, čak i ako nisu u intoksirajućem stanju, no ovo "pogoršanje" nije trajno. Primjenom pozitron emisijske tomografije i magnetske rezonancije otkrivene su razlike u aktivnosti mozga u kategoriji teških ovisnika o kanabisu i teških ovisnika nakon 25 dana apstinencije. Iskustveni apstinencijski ovisnici koriste alternativne neuralne putove u mozgu kako bi kompenzirali "oštećenje" uzrokovano djelovanjem THC-a.

Konoplja sadrži preko šezdeset različitih kemikalija koje su strukturalno povezane s THC-om te su svrstane u kanabinoide. Neki od tih spojeva sadrže THC-u slične učinke, iako mnogi djeluju putem različitih mehanizama, te imaju neutvrđen farmakološki učinak. THC djeluje na temelju endogenoga kanabinoidnog sustava (EKS) koji modulira mnoge fiziološke procese uključujući bol, upalu, pamćenje, pažnju i dr. Kanabinoidi pokazuju učinkovitost u tretiranju stanja poput kemoterapijom inducirane mučnine i povraćanja, kao i u tretmanima simptoma bolesti poput anoreksije i pretilosti. Sintetički THC (dronabinol) dostupan je u pilulama kao lijek na recept pod trgovačkim nazivom *Marinol* (SAD, Njemačka, Nizozemska) od 1986. godine za liječenje kemoterapijom izazvanih mučnina i povraćanja, kao i za smanjen apetit u pacijenata s AIDS-om, te u anoreksičnih pacijenata oboljelih od Alzheimerera. Sintetički kanabinoid, nabilon - analog drobinolu, pod trgovačkim imenom *Cesament*, odobren je u Kanadi od FDA-e za liječenje mučnina, glavobolja i povraćanja kod pacijenata kojima ne pomažu konvencionalni antiemetici. Godine 2005. Kanada je odobrila *Sativex*, raspršivač za usta za oboljele od multiple skleroze u svrhu olakšanja boli. *Sativex* sadrži tetrahidrokanabinol zajedno sa kanabidiolom. Proizvodi ga tvrtka *GW Pharmaceuticals* i to je prvi lijek u svijetu baziran na konoplji. Potom je proizveden rimonabant, kanabinoidni receptorni antagonist (poznat kao *Acomplia*, *Monaslim*, *Bethin*, *Riobant*, *Slimona*, *Rimoslim*, *Zimulti*) za gubitak težine i liječenje bolesti povezanih s pretilosti. Međutim, naknadno je utvrđeno kako je vrlo opasan za pacijente koji pate od depresije, te uzimaju antidepresive, kao i za osobe s visokim krvnim tlakom.

Endokanabinoidni sustav (EKS) ima autoprotektivnu ulogu, koja se očituje u povećanju oslobađanja endokanabinoida koji se vežu za receptore i/ili povećanju gustoće ili efektivnosti vezanja na ove receptore. Endokanabinoid-posredovana autoprotekcija očituje se kod bolesti poput multiple skleroze, raka, crijevnih poremećaja,

TABLICA 1.  
Pripravci konoplje i sadržaj THC-a.

Ime	Dio biljke	THC sadržaj (%)
Marijuana (bhang, dagga, kif)	Listovi, male stabljike	1.0-3.0
Sinsemilla	Sterilne ženske glavice cvjetova	3.0-6.0
Ganja	Sabijene sterilne ženske glavice cvjetova	4.0-8.0
Hashish (charas)	Rezine kanabisa	10.0-15.0*
Cannabis ulje	Alkoholni ekstrakt rezine	20.0-60.0

\*Ulični uzorci konoplje sadrže puno manju količinu THC-a, jer su krivotvoreni drugim tvarima.

TABLE 1.  
Cannabis Preparations

Name	Part of the plant	THC content (%)
Marijuana (bhang, dagga, kif)	Leaves, small stems	1.0-3.0
Sinsemilla	Sterile female flower heads	3.0-6.0
Ganja	Compressed sterile female flower heads	4.0-8.0
Hashish (charas)	Cannabis resin	10.0-15.0*
Cannabis oil	Alcoholic extract of resin	20.0-60.0

\*Street samples of cannabis resin often contain much smaller quantities of THC because they are frequently adulterated with other substances.

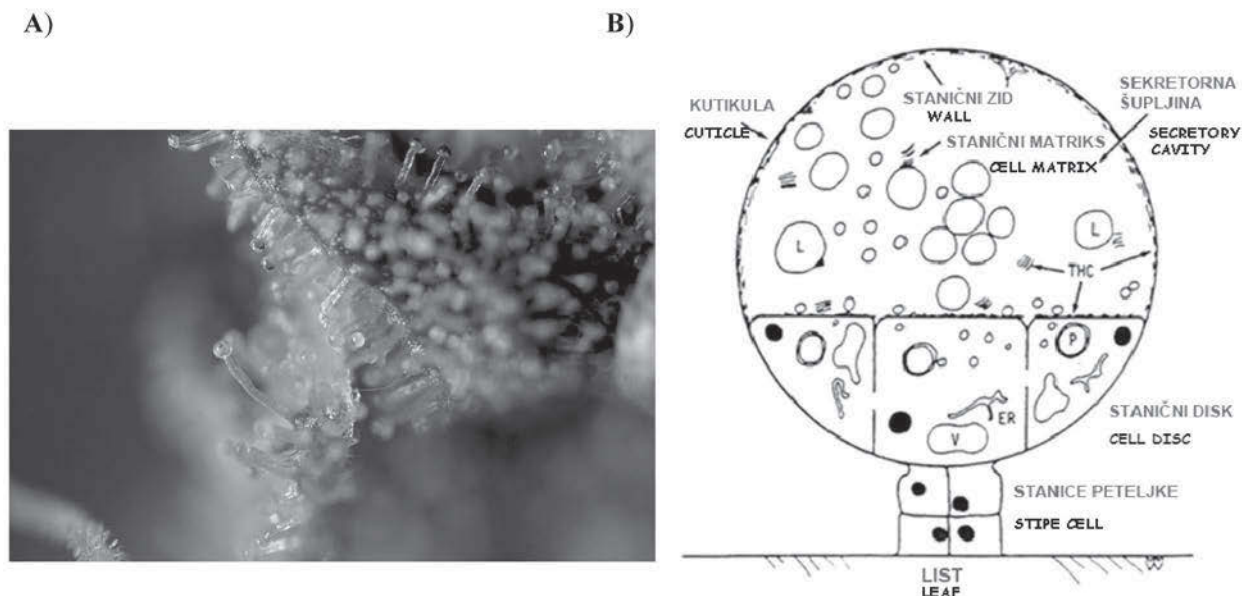
posttraumatskoga stresa, fobija, tjeskoba, traumatskih oštećenja mozga, hipertenzije, ateroskleroze, Parkinsonove bolesti i dr. EKS utječe i na druge fiziološke sustave interakcijom s drugim receptorima, unutarstaničnim signalnim putevima, hormonima i neurotransmiterima. Neki ili većina bioloških učinaka EKS-a očituju se kroz kompleksna međudjelovanja s drugim sustavima. Anandamid npr. aktivira vaniloid tip 1 (TRPV1) i kapsaicin receptor 1, ionski kanal u senzornim neuronima čija je funkcija detekcija i regulacija tjelesne temperature (osjećaj topline i boli), pri čemu dolazi do lučenja  $Ca^{2+}$ , odnosno posljedično do oslobađanja neurotransmitera. Antagonisti blokiraju TRPV1 aktivnost, smanjujući bol. Lijekovi koji djeluju na TRPV1 receptor mogli bi se koristiti u svrhu liječenja neuropatskih bolova povezanih s multiplom sklerozom, kemoterapijom ili amputacijom, bolovima povezanim s upaljenim ili oštećenim tkivom, kao i kod osteoartritisa. No, lijekovi agonisti TRPV1 receptora, trenutačno u fazama ispitivanja, antagonisti

su purinergičnih, serotoninergičnih 5-HT<sub>3</sub> i glutamatnih NMDA receptora (uloga u kontroli sinaptičke plastičnosti i memorijske funkcije). Stoga je moguće da TRPV1 posreduje u nastajanju dugoročne depresije u hipokampusu.

#### Sinteza, lokalizacija psihoaktivne supstance THC-a u konoplji i ljekovita svojstva ulja konoplje

Znanstvenici Paul G. Mahlberg (SAD) i Eun Soo Kim (Koreja), 1995. godine proučavali su nakupljanje THC-a u žlijezdama biljke konoplje. Lokalizacija THC-a u biljkama općenito nije poznata. Njihove studije usmjerene su na otkrivanje gdje su ovi psihoaktivni sastojci smješteni u biljci i u kojem specifičnom tkivu, s dugoročnim ciljem otkrića u kojim se organelama ili membranama u staniци sintetiziraju. Njihova istraživanja bila su koncentrirana na otkriće gena, odnosno koda za sintezu THC-a, kako bi razvili soj konoplje bez THC-a ili bez kanabi-





SLIKA 6.

(A) Prikaz trihoma bogatih kanabinoidima. (B) Prikaz zrele sekretorne žlijezde. Stanica (disc cell) je pričvršćena na list kratkom stabljikom i bazalnim stanicama te oslobađa vlaknasti stanični matriks u sekretornu šupljinu gdje pridonosi čvrstoći stijenke uslijed povećanja šupljine. Plastidi (P) u stanici proizvode izlučevine koje se nakupljaju izvan plazma membrane, prolaze kroz staničnu stijenku i oblikuju sekretorne vezikule (L) u šupljini. Vezikule u kontaktu sa subepidermalnom stijenkom oslobađaju sadržaj koji doprinosi rastu i povećanju šupljine. THC se pojavljuje u stijenkama, vlaknastom matriksu i drugim sadržajima koji okružuju vezikulu, ali ne i u vezikuli.

Jezgra (crna točkica), V (vakuola), L (vezikule), P (plastidi), ER (endoplazmatski retikulum).

FIGURE 6.

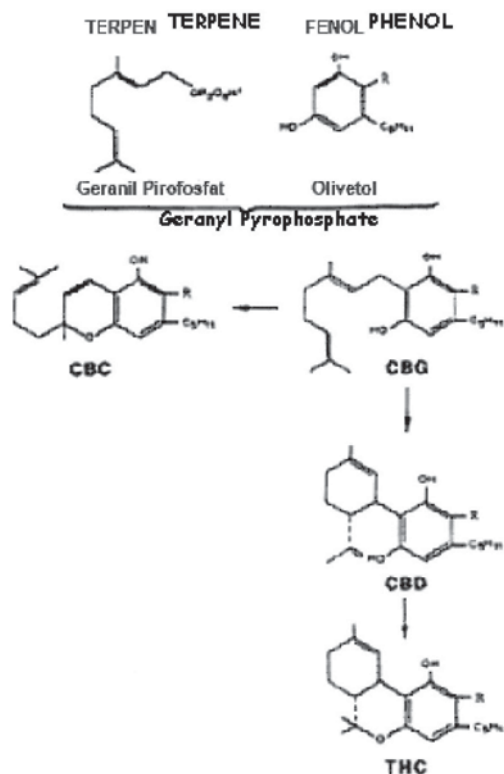
(A) Trichomes rich in cannabinoids are shown. (B) Representation of mature secretory gland. Disc cells, attached to leaf or bract by stipe cells and basal cells (below stipe), release fibrillar wall matrix into secretory cavity where it contributes to thickening of subcuticular wall (wall) during enlargement of secretory cavity. Plastids (P) in disc cells produce secretions which accumulate outside plasma membrane, pass through cell wall as hyaline areas to form secretory vesicles (L) in secretory cavity. Vesicles in contact with subcuticular wall release contents to contribute to growth of cuticle during enlargement of secretory cavity. THC occurs in walls, fibrillar matrix and other contents surrounding the vesicles, but not in the vesicles. Nucleus = black; vacuole = V; vesicles = L; plastids = P; endoplasmic reticulum = ER.

noida, u svrhu poljoprivrednoga uzgoja takve biljke. Preliminarni rezultati ukazali su na prisustvo THC-a u žlijezdama trihoma ženskih biljaka. Biljni mutanti bez ključnih žlijezdi, kada bi ih se moglo konstruirati, omogućili bi smanjivanje sadržaja THC-a u biljkama. No, samim time, tj. gubitkom žlijezda, biljke bi bile manje otporne na UV-B zračenje.

Sjeme konoplje je najveći izvor proteina u prirodi te sadrži antioksidanse, bjelančevine, karotene, fitosterole, fosfolipide, kao i brojne minerale, uključujući kalcij, magnezij, sumpor i željezo, cink i fosfor. Također sadrži svih dvadeset poznatih aminokiselina, uključujući devet esencijalnih aminokiselina, vitamine A, B1, B2, B3, B6, C, D, E, u lako probavljivom obliku. Ulje konopljinog sjemena izuzetno je bogato esencijalnim masnim kiselinama, posebno  $\gamma$ -linolenskom kiselinom. Redovito konzumiranje ulja konoplje pomaže u poboljšanju ili

otklanjanju zdravstvenih tegoba poput neurodermitisa, predmenstrualnoga sindroma, artritisa, koristi se kod dijabetičke neuropatije, bolesti srca i krvnih žila, sprječava zgrušavanje krvi, pomaže kod reumatoidnoga artritisa, kronične upale mjehura, psorijaze, ulceroznoga kolitisa. Konoplja sadrži visoko vrijedne nezasićene masne kiseline koje potpuno čiste tijelo od kolesterola. Kora konoplje ima najduža i najčvršća vlakna od svih biljaka. Od njih se mogu izgraditi svi građevni materijali, uključujući lesomit, materijali za pokrivanje krovova, materijali za podove, zidne ploče, boja, iverica, žbuka, šperploča, armirani beton, cigle i biorazgradivi plastični kompoziti čvršći od čelika.

Ekološki održiva konoplja ne zahtijeva nikakve herbicide i pesticide kod uzgoja. Stvara humus, čisti tlo od teških minerala i upija enormne količine ugljika iz atmosfere. Konoplja može dati više vlakana od pamuka, uz



SLIKA 7.

Kanabinoidni biosintetski put. Kanabinoidi su dimeri koji se sastoje od fenolne i terpenske komponente. Kanabigerol (CBG) je prva komponenta, koja prolazi kroz kemijske izmjene i nastaje kanabikromen (CBC), ili kanabidiol (CBD). Delta 9-tetrahidrokanabinol je derivat CBD-a.

FIGURE 7.

Cannabinoid pathway. Cannabinoids represent a dimer consisting of a terpene and a phenol component. Cannabigerol (CBG) is the first component of the pathway. It undergoes chemical change to form either cannabichromene (CBC), or cannabidiol (CBD). Delta 9-tetrahydrocannabinol (THC) is derived from CBD.

manju potrošnju vode, te više vlakana od lana, na istoj površini (42).

Koncentracija THC-a u konoplji općenito varira ovisno o vrsti pripravka, vrsti konoplje (Tablica 1.), zrelosti biljke (npr. starenjem žlijezdi koncentracija THC-a opada), ovisi o dobu godine prilikom uzgoja biljke i brojnim drugim faktorima.

Kanabinoidi i THC proizvedeni su u samo jednom dijelu konoplje: unutar glavice trihoma. Biljne organele, vakuole koje sadrže fenol - kemijski spoj sličan alkoholu, i drugi tip organela u kojima se odvija proces fotosinteze, plastidi, sadrže ugljikovodike zvane terpene. Terpeni se nekako prenose do sekretornih šupljina u trihomama, gdje se sjedinjuju s tvarima u sekretornoj šupljini i prevode u prozirna vlakanca, koja djelovanjem UV-B zraka uzrokuju nastajanje kanabinoida (Slika 6.). Budući da su psihoaktivni sastojci proizvedeni u trihomama, ovi mali smolasti končići su bili glavni izvor za proizvodnju hašiša i ulja. No povećana proizvodnja trihoma u biljci nužno ne znači povećanu količinu kanabinoida THC-a. Neki smatraju kako je bitna količina THC-a u uljima proizvedenim unutar smolaste žlijezde, no nove studije ukazuju na utjecaj drugih kanabinoida, osim THC-a, na kognitivne i druge funkcije mozga kao i dobro poznate psihotropne simptome.

Drugi kanabinoid, kanabinol (CBN) nastaje iz THC-a (Slika 7.), te se može detektirati u nekih biljnih sojeva.

Tipično, THC, CBD, CBC i CBG se u različitim omjerima pojavljuju u nekih biljnih vrsta. U vlaknastih sojeva CBD/CBC je u većoj koncentraciji uz THC u manjoj; dok je u sojevima droga THC visoke koncentracije, a CBD/CBC niže. Zanimljivo bi bilo istražiti gdje se potencijalni prekursori koji stvaraju kanabinoide pojavljuju i sintetiziraju u biljnoj stanici. Na Slici 7. prikazan je biosintetski put nastanka THC-a u žlijezdama biljke konoplje.

Kako bi se utvrdila točna mjesta nakupljanja THC-a u biljci, svježe sekretorne žlijezde su smrznute visokotlačnom krio-fiksacijom i učvršćene krio-supstitucijom kako bi se spriječilo pomicanje THC-a u žlijezdi tijekom samoga procesa fiksacije. Kao proba, priređeno je monoklonalno protutijelo na THC na koje su pričvršćene zlatne čestice kako bi bile vidljive pod elektronskim mikroskopom. Potom su tanki prerezi žlijezda tretirani s protutijelom, pri čemu se protutijelo veže na THC u tkivu. Pod elektronskim mikroskopom uočavaju se čestice zlata kao crne točke, ondje gdje se protutijelo vezalo za THC (Slika 8.) [43].

Geni uključeni u sintezu kanabinoida prisutni su u svim stanicama u biljci, ali u tkivima za razliku od sekretornih žlijezda sintetizira se manja količina ovih spojeva. Mutiranim sojevima biljke *Cannabis* mogu se reducirati ili eliminirati žlijezde, čime će se značajno smanjiti količina THC-a u biljkama. No, biosintetski put sinteze kanabinoida kontroliran je genetički, tj. žlijezde su

SLIKA 8.

Mjesta nakupljanja THC-a. THC je prisutan u staničnoj stijenci (disc cell wall, W), stanični zid kutikula (velika strelica), duž površinskoga sadržaja oko vezikula u šupljini (mala strelica), u fibrilnom matriksu koji se otpušta sa stijenske stanice (otvorena strelica) i u kutikulama (strelica). Izvan žlijezde nisu utvrđene čestice. Skala = 0.2  $\mu\text{m}$ .

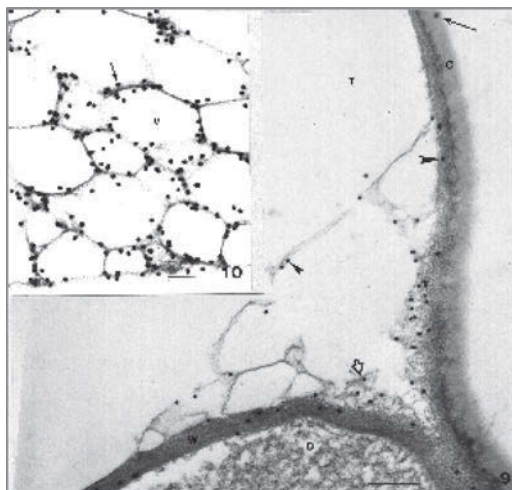


FIGURE 8.

Sites of THC accumulation are shown. THC is present in the disc cell wall (W), subcuticular wall (large arrowhead), along the surface features around vesicles in the cavity (small arrowhead), in fibrillar matrix being released from the disc cell wall (open arrow) and in the cuticle (arrow). No particles were evident outside the gland. Bar = 0.2  $\mu\text{m}$ .

specijalizirane za sintezu velikih količina kanabinoida. Stoga se može očekivati kako će biljka bez žlijezdi sintetizirati vrlo malu količinu kanabinoida. Uloga kanabinoida u žlijezdama nije poznata, ujedno nedostatak žlijezda može ili ne mora promijeniti njihovu funkcionalnu ulogu. Druge stanice također sintetiziraju ove spojeve, iako u vrlo malim količinama koja može biti dovoljna za izvođenje njihove funkcionalne uloge u biljci.

### Endokanabinoidni sustav i neurodegenerativne bolesti

Klasični neurodegenerativni poremećaji su u uskoj vezi s upalnim bolestima središnjega živčanog sustava. Alzheimerova, Parkinsonova bolest, te amiotrofična lateralna skleroza povezane su s upalnim procesima, dok su multipla skleroza i s HIV-om povezana demencija upalni poremećaji, koji dovode do oštećenja neurona. Terapeutski lijekovi koji ciljaju endokanabinoidni metabolizam značajno ublažavaju kliničke simptome i upalne neurološke bolesti, kako je utvrđeno na modelima životinja [44].

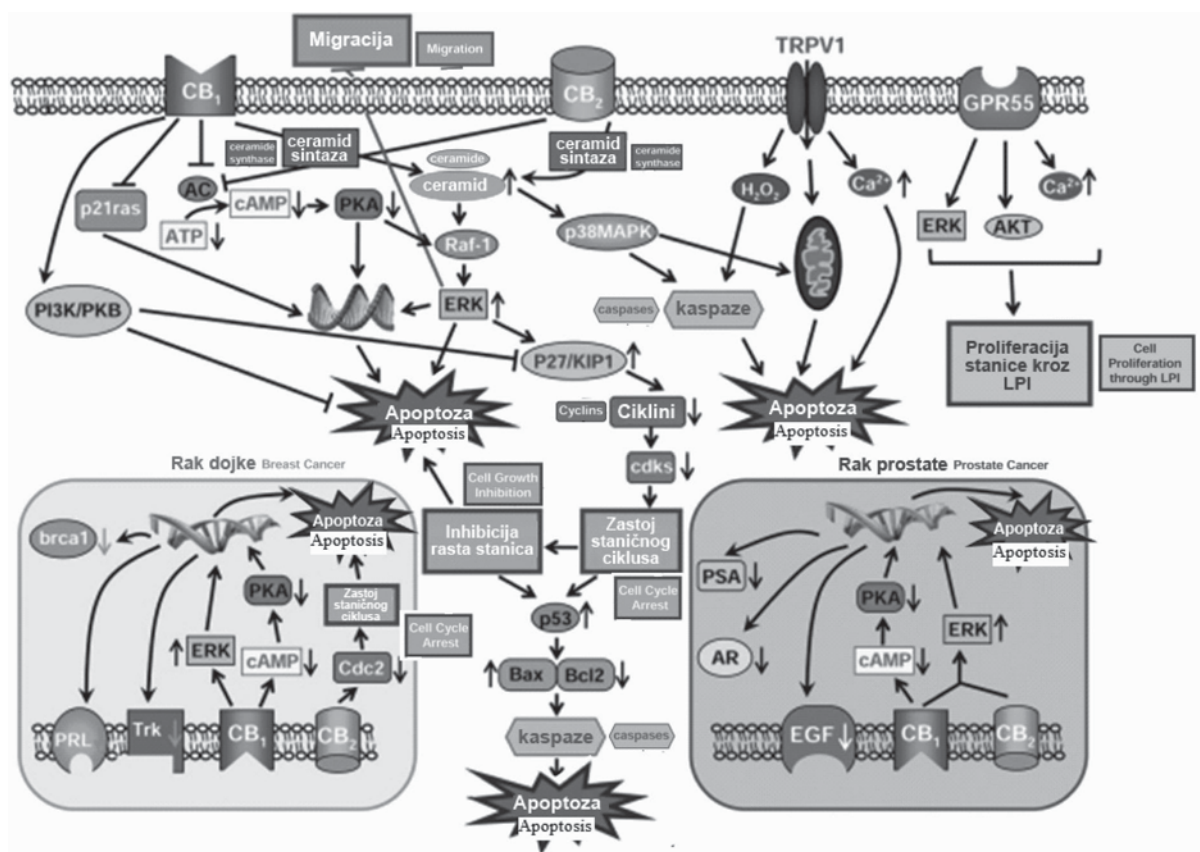
Huntingtonova bolest (HD) jest nasljedna, fatalna neurodegenerativna bolest s incidencijom 1:15 000, koju karakteriziraju simptomi poput poremećaja u kretanjama, raspoloženju, spoznajama [45]. Godine 1993. mapiran je mutirani, patološki promijenjeni huntington gen (HTT) s ([CAG] $n$ ) ponavljanjima, odgovoran za bolest. U HD pacijenata jedan od prvih simptoma jest značajno smanjenje gustoće CB1 u unutarnjem i vanjskom dijelu mozga poznatog pod lat. nazivom *globulus pallidus i substantia nigra* [46]. Nasuprot otkrićima s CB1, CB2 receptor je značajno eksprimiran (eng. *up-regulated*) što je utvrđeno u posmrtnom HD *striatumu*. Također je utvrđeno kako su preparati limfocita u HD pacijenata sadržavali šest puta više anandamida od kontrolne grupe pacijenata. Očito se anandamid nakuplja u mozgu, a kako nije u mogućnosti vezati se na CB1 receptor, dolazi do inhibicije u funkciji

amido-hidrolaznoga enzima masne kiseline (AHEMK), ključnoga za metabolizam, tj. razgradnju anandamida (u etanolamin i arahidonsku kiselinu). Također je utvrđena redukcija AHEMK aktivnosti u cerebralnom korteksu HD pacijenata.

Znanstvenici su u čokoladi otkrili prisustvo anandamida, koji je ključan za osjećaj motivacije i zadovoljstva. Prema studiji iz 1998., anandamid inhibira proliferaciju stanica raka dojki u žena.

Alzheimerova bolest (AD) jest progresivna neurodegenerativna bolest nepoznate etiologije u kojoj dolazi do gubitka živčanih stanica i posljedične atrofije mozga uz progresivnu demenciju. Znanstvene studije su utvrdile smanjenu ekspresiju CB1 u mozgu [47,48], ili nepromijenjenu [49]. CB2 ekspresija drastično je povećana, posebno u mikroglijalnim stanicama koje okružuju  $\beta$ -amiloid plakove u ljudskom mozgu.  $\beta$ -amiloid je citotoksičan, a ujedno pridonosi stvaranju neurofibrilarnih vrtloga, posljedica čega su biokemijski poremećaji koji uzrokuju psihičke simptome. Promjene u živčanim stanicama konačno dovode do njihova odumiranja.

Multipla skleroza (MS) jest najčešća bolest živčanoga sustava, koju karakteriziraju nakupine demijeliniziranih plakova vidljivih na MRI (magnetska rezonanca), što dovodi do povremene pojave neuroloških simptoma. Spastičnost, karakteristika MS-a, koja podrazumijeva povećan tonus mišića ili pojačanu ukočenost donjih udova, po mišljenju mnogih korisnika konoplje s dijagnosticiranom multiplom sklerozom, smanjuje se učestalom primjenom kanabisa [50]. Daljnje studije ukazuju kako je CB1 receptor glavna, no ne i jedina meta utjecaja kanabisa na opuštanje mišića [51-54]. Također, postoje ograničeni dokazi koji ukazuju na neuronsku ulogu CB2 receptora i u kontroli spastičnosti [20, 53, 55].



SLIKA 9.

Shematski prikaz različitih mehanizama/signalnih puteva kojima kanabinoidi utječu na apoptozu, proliferaciju i migraciju (Guindon i Hohmann, 2011.).

FIGURE 9.

Shematic representation of different mechanisms/signalling pathways through which cannabinoids impact apoptosis, proliferation and migration (Guindon and Hohmann, 2011).

### Uloga endokanabinoida kod dijabetesa te dijabetičkih komplikacija

Dijabetes, autoimuni poremećaj karakteriziran destrukcijom inzulina-producirajućih  $\beta$ -stanica Langerhansovih otočića, jedan je od vodećih uzroka sljepoće i amputacija današnjice. Najčešće je uzrokovan oksidativnim stresom i upalnim procesima. Nedavno je ustanovljeno kako endokanabinoidni sustav može značajno utjecati na stvaranje kisikovih jedinaka, razvoj upala, i ozljede tkiva [56]. Razina serumskih endokanabinoida; anandamida i 2-AG istraživana je u  $\beta$ -stanicama dijabetičara te je utvrđeno kako njihova koncentracija raste kod hiperglikemije, dok kod hipoglikemije opada [57]. Također je otkriveno kako unos inzulina snižava razinu endokanabinoida, pri čemu je poznato kako kanabinoidi štite od razgradnje mijelina i smanjuju incidenciju dijabetičke neuropatije. Terapija kanabinoidima smatra se ključnom za liječenje težih slučajeva dijabetesa i dijabetičkih komplikacija, jer povećava osjetljivost na inzulin, povećava transport kisika, sprječava neuropatiju, pokazuje neuroprotektivne učinke, povećava metabolizam

glukoze i lipida, te inhibira djelovanje upalnih kemikina.

### Endokanabinoidni sustav i rak

Godine 2008. zloćudna novotvorina (neoplazma, tumor) ili rak uzrokovao je smrt gotovo 7,6 milijuna ljudi širom svijeta [58]. U razvijenim zemljama, ta bi bolest uskoro mogla biti jedna od vodećih uzročnika smrti, čak ispred srčanih bolesti. Kanabinoidi i modulatori endokanabinoidnoga sustava proizvode protutumorne učinke, npr. smanjenje upalnih procesa, proliferacije i preživljavanja kancerogenih stanica kod različitih vrsta raka. Pozitivan utjecaj kanabinoida proučavan je kod raka prostate, dojke te raka kostiju. Učinci glavnoga sastojka tetrahidrokanabinola ističu se njegovim djelovanjem na ključne CB1 i CB2 receptore.

Rak se ističe nekontroliranim dijeljenjem stanica i staničnom smrću (apoptoza), koja proizlazi iz kumulativnoga oštećenja važnih regulatornih gena. Mnoštvo gena treba biti oštećeno kako bi došlo do rasta malignih stani-

ca i njihova širenja (metastaze). Rak može biti nasljedan i/ili uzrokovan vanjskim faktorima (duhan, kemikalije, zračenje, infektivni organizmi i drugo) ili unutrašnji (naslijeđene mutacije, hormoni, metaboličke mutacije).

Prva svojstva THC-a zabilježena su prije 35 godina, kada je bilo utvrđeno kako unos THC-a inhibira rast plućnih adenokarcinomalnih stanica *in vivo* i *in vitro*. Tetrahidrokanabinol (THC) inhibira induciran rast i migraciju receptora epidermalnoga faktora rasta (eng. *epidermal growth factor receptor*, EGFR) koji se nalazi na površini mnogih tumorskih stanica, čijom aktivacijom se potiče rast i razmnožavanje tumorske stanice. Rak pluća koji ekspirira receptor epidermalnoga faktora rasta obično je izuzetno agresivan i otporan na kemoterapiju. Naši znanstvenici, dr. I. Đikić i dr. I. Štagljar otkrili su citoplazmatsku lizin deacetilazu, tj. protein HDAC6 (histon deacetilaza 6), koja aktivira signalne procese uključene u ključne stanične odgovore, te tako koči i usporava rast određenih tumora u ljudi koji uzrokuju rak pluća, dojki, gušterače i debeloga crijeva, mehanizmom kombiniranoga blokiranja EGF receptora i novootkrivene molekule [59].

*In vivo* studije pokazuju kako kanabinoidi reduciraju rast tumora i metastaze kao i staničnu proliferaciju i angiogenezu (stvaranje krvnih žila) putem CB1 i CB2 ovisnih mehanizama kod miševa u kojih su injektirane različite vrste sojeva raka dojki. Mehanizmi kojima kanabinoidi/kanabinoidni receptori utječu na proliferaciju, migraciju i apoptozu kancerogenih stanica jesu prilično kompleksni i još uvijek nedovoljno poznati. Na Slici 9. prikazani su glavni signalni putevi uključeni u aktivaciju različitih kanabinoidnih receptornih podvrsta putem pripadnih agonista i njihova uloga u staničnim procesima.

Protukancerogeni učinci kanabinoida (Slika 9.) mogu se objasniti *de novo* sintezom ceramida, lipidnih molekula sastavljenih od sfingozina i masnih kiselina, nađenih u staničnoj membrani. Sinteza ceramida odvija se aktivacijom enzima ceramid sintaze i vodi daljnjoj aktivaciji ERK signalnoga puta (eng. *extracellular regulated kinase*), procesa koji rezultira zastojeom staničnoga ciklusa i apoptozom. Aktivacija CB1 ili CB2 receptora okidač je za ceramid-ERK signalni put i apoptozu [60-62] (Slika 9.). Porast ceramida vodi aktivaciji p38MAPK puta (eng. *mitogen-activated protein kinase*), koji vodi apoptozi kroz višestruke mehanizme (npr. aktivacijom cistein proteaze (kaspaze) ili kroz oslobađanje citokroma C iz mitohondrija). Aktivacija ERK također potiče indukciju p27/KIP1 (eng. *cyclin kinase inhibitor*) koji modulira regulatorne molekule staničnoga ciklusa (cikline, cdk) rezultirajući zastojeom staničnoga ciklusa i apoptozom [60-62] (Slika 9.). Zastoj staničnoga ciklusa uključuje

ekspresiju p53 proteina koji utječe na promjene razina pro-apoptotičnih i anti-apoptotičnih proteina (porast razine pro-apoptotičnoga proteina Bax i sniženje razine anti-apoptotičnoga proteina Bcl2), što posljedično vodi aktivaciji kaspaza, esencijalnih okidača apoptoze. Aktivacija CB1 ili CB2 receptora inhibira aktivnost AC (eng. *adenylyl cyclase*) i smanjuje razine cAMP-a i PKA (eng. *protein kinase A*) čime uzrokuje smanjenje transkripcije gena uključenih u apoptozu.

Nove studije temelje se na dva kanabinoidima slična spoja – metanandamidu (MET) i JWH-015, sintetički spojevi koji se ne pojavljuju u kanabisu, no slični su spojevima nađenima u biljci. Istraživači su ispitali djelovanje tih spojeva na različite stanice raka prostate uzgojene u laboratoriju, te su utvrdili kako usporavaju njihov rast i potiču smrt stanica. RNAi tehnologijom ispitani su anti-kancerogeni učinci, tj. afinitet podtip-selektivnih kanabinoidnih agonista MET i JWH-015 na kanabinoidne receptore te je utvrđeno kako je CB2 receptor glavna meta tih spojeva. Ujedno, JWH-015 posjeduje imunomodulatorne učinke [63], koji potiču imunološki odgovor organizma. Općenito, CB2 agonisti mogu biti korisni u liječenju kod akutnih bolova i upala.

## Zaključak

Dok znanstvenici ulažu veliki napor kako bi objasnili ulogu endokanabinoida i sintetičkih kanabinoida u pro-proliferativnim efektima, inhibitornim efektima na rast tumora, angiogenezu, metastaze; s druge strane ogroman broj ljudi trenutačno vodi bitku s različitim oblicima raka i polaže nadu u bolju budućnost i novi lijek. Mnoge istraživačke grupe diljem svijeta bave se proučavanjem protutumorskih svojstava kanabinoida, čiji su specifični receptori uključeni u gotovo sve procese u našem tijelu. Nadajmo se kako će se pored tolikih znanstvenih otkrića o utjecaju kanabinoida na uništenje stanica raka; izliječenje Alzheimerera, glaukoma kod dijabetičara tipa 2, u liječenju dijabetesa, tumora dojki, prostate, raka pluća, limfoma; probuditi svijest o pomoći potrebitima, a ne samo o znanstvenoj ili materijalnoj dobiti.

Aktivna svojstva biljke *Cannabis* ne temelje se samo na svojstvima vezanja kanabinoida na THC receptor već na višestruke aktivne sastojke prisutne u biljci. No, istraživači su usko fokusirani samo na THC spoj ne razmišljajući o drugim kanabinoidima i njihovim također standardiziranim, referentnim spojevima. Nažalost, biološka aktivnost većine kanabinoida nikada nije bila testirana. Prema riječima Arna Kazekampa, člana Znanstvenoga odbora i Međunarodnoga udruženja medicinskoga kanabisa (Bedrocan Int.), potreban je novi uvid u biljku kako bi se nadopunila spoznaja o konoplji kao medicinskom

lijeku. Kompanija Bedrokan bavi se legalnim uzgojem higijenski ispravna i standardiziranoga medicinskog kanabisa za istraživanje i u svrhu liječenja oboljelih pacijenata, pri čemu se uzgoj konoplje radi u optimalnim uvjetima, bez pesticida, metala ili gljivica.

Zahvaljujući protutumorskim, anti-proliferativnim učincima, angiogenetskim efektima, anti-metastatskom učinku i dokazanom apoptotičnom učinku THC-a i pripadnih spojeva, otvoreno je novo poglavlje u liječenju raka. Suradnjom između empirijske (biljke i prirodni lijekovi) i alopatske medicine (farmakološki lijekovi), odnosno kombinacijom tradicionalnih, biljnih lijekova te eventualno ciljanih molekula endokanabinoidnoga sustava, rak bi kao bolest mogao biti samo još jedna stranica naše povijesti.

“If (Marijuana) were unknown, and bio-prospectors were suddenly to find it in some remote mountain crevice, it’s discovery would no doubt be hailed as a medical breakthrough. Scientists would praise it’s potential for treating everything from pain to cancer and marvel at it’s rich pharmacopoeia; many of whose chemicals mimic vital molecules in the human body.”

Izvor: *The Economist*, “*Reefer Madness, Marijuana Is Medically Useful Whether Politicians Like It or Not*,” April 29, 2006.

#### LITERATURA

1. Small E, Cronquist A. A practical and natural taxonomy for Cannabis. *Taxon*. 1976;25:405-35.
2. Emboden WA. Cannabis - A Polytypic Genus. *Econ Bot*. 1974;28:304-10.
3. Mechoulam R. The pharmacohistory of Cannabis sativa. U: Mechoulam R, ur. *Cannabinoids as Therapeutic Agents*. Boca Raton, FL: CRC Press; 1986. str. 1-19.
4. Moreau JJ. Hashish and Mental Illness. New York: Raven; 1973.
5. Kušan F. Ljekovito bilje. Sistematski prikaz najvažnijeg ljekovitog, otrovnog i industrijskog (tehničkog) bilja čitavoga svijeta. Zagreb: vlastita naklada; 1938. str. 70.
6. Pertwee RG. Cannabinoid pharmacology: the first 66 years. *Br J Pharmacol*. 2006;147: S163-71.
7. Gaoni Y, Mechoulam R. Isolation, Structure and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. *J Am Chem Soc*. 1964;86:1646-47.
8. Haagen-Smit AJ, Wawra CZ, Koepfli JB, Alles GA, Feigen GA, Prater AN. A physiologically active principle from Cannabis sativa (Marihuana). *Science*. 1940; 91:602-3.
9. Loewe S. Studies on the pharmacology and acute toxicity of compounds with marihuana activity. *J Pharmacol Exp Ther*. 1946;88:154-61.
10. Paton WDM, Pertwee RG. The pharmacology of cannabis in animals. U: Mechoulam R, ur. *Marijuana, Chemistry, Pharmacology, Metabolism and Clinical Effects*. New York: Academic Press; 1973. str. 191-285.
11. Howlett AC, Breivogel CS, Childers SR, Deadwyler SA, Hampson RE, Porrino LJ. Cannabinoid physiology and pharmacology: 30 years of progress. *Neuropharmacology*. 2004;47:345-58.
12. Lawrence DK, Gill EW. The effects of delta1-tetrahydrocannabinol and other cannabinoids on spin-labeled liposomes and their relationship to mechanisms of general anesthesia. *Mol Pharmacol*. 1975;11:595-602.
13. Hillard CJ, Harris RA, Bloom AS. Effects of the cannabinoids on physical properties of brain membranes and phospholipid vesicles: fluorescence studies. *J Pharmacol Exp Ther*. 1985;232:579-88.
14. Huffman JW, Duncan SG, Wiley JL, Martin BR. Synthesis and pharmacology of the 1',2'-dimethylheptyl- $\Delta$ 8-THC isomers: Exceptionally potent cannabinoids. *Bioorg Med Chem Lett*. 1997;7:2799-804.
15. Devane WA, Dysarz FA, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC. Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol*. 1988;34:605-13.
16. Felder CC, Briley EM, Axelrod J, Simpson JT, Mackie K, Devane W. Anandamide, an endogenous cannabimimetic eicosanoid, binds to the cloned human cannabinoid receptor and stimulates receptor-mediated signal transduction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90:7656-60.
17. Mackie K, Devane WA, Hille B. Anandamide, an endogenous cannabinoid, inhibits calcium currents as a partial agonist in N18 neuroblastoma cells. *Mol Pharmacol*. 1993;44:498-503.
18. Mackie K, Lai Y, Westenbroek R, Mitchell R. Cannabinoids activate an inwardly rectifying potassium conductance and inhibit Q-type calcium currents in AtT20 cells transfected with rat brain cannabinoid receptor. *J Neurosci*. 1995;15:6552-61.
19. McAllister SD, Griffin G, Satin LS, Abood ME. Cannabinoid receptors can activate and inhibit G protein-coupled inwardly rectifying potassium channels in a xenopus oocyte expression system. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999;291:618-26.
20. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, i sur. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev*. 2002;54: 161-202.
21. Gérard C, Mollereau C, Vassart G, Parmentier M. Nucleotide sequence of a human cannabinoid receptor cDNA. *Nucleic Acids Res*. 1990;18:7142.
22. Gérard CM, Mollereau C, Vassart G, Parmentier M. Molecular cloning of a human cannabinoid receptor which is also expressed in testis. *Biochem J*. 1991;279:129-34.
23. Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*. 1990;346:561-4.
24. Klein TW, Newton C, Larsen K, Lu L, Perkins I, Nong N, i sur. The cannabinoid system and immune modulation. *J Leukoc Biol*. 2003;74:486-96.
25. Conti S, Costa B, Colleoni M, Parolaro D, Giagnoni G. Antiinflammatory action of endocannabinoid palmitoylethanolamide and the synthetic cannabinoid nabilone in a model of acute inflammation in the rat. *Br J Pharmacol*. 2002;135:181-7.
26. Ibrahim MM, Deng H, Zvonok A, Cockayne DA, Kwan J, Mata HP, i sur. Activation of CB2 cannabinoid receptors by AM1241 inhibits experimental neuropathic pain: pain inhibition by receptors not present in the CNS. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:10529-33.
27. Scott DA, Wright CE, Angus JA. Evidence that CB-1 and CB-2 cannabinoid receptors mediate antinociception in neuropathic pain in the rat. *Pain*. 2004;109:124-31.
28. Cravatt BF, Lichtman AH. The endogenous cannabinoid system and its role in nociceptive behavior. *J Neurobiol*. 2004;61: 149-60.

29. Kearn CS, Hilliard CJ. Rat microglial cell express the peripheral-type cannabinoid receptor (CB2) which is negatively coupled to adenylyl cyclase. Symposium on Cannabinoids; Burlington (VT): International Cannabinoid Research Society; 1997. str. 61.
30. Walter L, Franklin A, Witting A, Wade C, Xie Y, Kunos G, i sur. Nonpsychotropic cannabinoid receptors regulate microglial cell migration. *J Neurosci.* 2003;23:1398–405.
31. Núñez E, Benito C, Pazos MR, Barbachano A, Fajardo O, González S, i sur. Cannabinoid CB2 receptors are expressed by perivascular microglial cells in the human brain: an immunohistochemical study. *Synapse.* 2004;53:208–13.
32. Casanova ML, Blazquez C, Fernandez-Acenero MJ, Villanueva C, Jorcano J, Guzman M. CB1 and CB2 receptors are expressed in the skin and their activation inhibits the growth of skin cancer cells. Symposium on Cannabinoids; Burlington (VT): International Cannabinoid Research Society; 2001. str. 151.
33. Di Marzo V, Bifulco M, De Petrocellis L. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nat Rev Drug Discov.* 2004;3:771–84.
34. Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci.* 1991;11:563–583.
35. Guzmán M, Galve-Roperh I, Sánchez C. Ceramide: a new second messenger of cannabinoid action. *Trends Pharmacol Sci.* 2001;22:19–22.
36. Breivogel CS, Childers SR. The functional neuroanatomy of brain cannabinoid receptors. *Neurobiol Dis.* 1998;5:417-31.
37. Mouslech Z, Valla V. Endocannabinoid system: An overview of its potential in current medical practice. *Neuro Endocrinol Lett.* 2009;30:153-79.
38. Pate DW. Chemical ecology of Cannabis. *Journal of the International Hemp Association.* 1994;1:32–7.
39. Lydon J, Teramura AH. Photochemical decomposition of cannabidiol in its resin base. *Phytochemistry.* 1987;26:1216–17.
40. Curran HV, Brignell C, Fletcher S, Middleton P, Henry J. Cognitive and subjective dose-response effects of acute oral Delta 9-tetrahydrocannabinol (THC) in infrequent cannabis users. *Psychopharmacology (Berl).* 2002;164:61–70.
41. Fried P, Watkinson B, James D, Gray R. Current and former marijuana use: preliminary findings of a longitudinal study of effects on IQ in young adults. *CMAJ.* 2002;166:887-91.
42. Dostupno na URL: <http://www.val-znanje.com/>
43. Kim E, Mahlberg P. Immunohistochemical localization of tetrahydrocannabinol (THC) in cryofixed glandular trichomes of Cannabis (Cannabaceae). *Am J Bot.* 1997;84:336-42.
44. Bari M, Battista N, Fezza F, Gasperi V, Maccarrone M. New insights into endocannabinoid degradation and its therapeutic potential. *Mini Rev Med Chem.* 2006;6:257-68.
45. Ross CA, Margolis RL. Huntington's disease. *Clin Neurosci Res.* 2001;1:142–52.
46. Glass M, Dragunow M, Faull RL. The pattern of neurodegeneration in Huntington's disease: a comparative study of cannabinoid, dopamine, adenosine and GABA(A) receptor alterations in the human basal ganglia in Huntington's disease. *Neuroscience.* 2000;97:505–19.
47. Westlake TM, Howlett AC, Bonner TI, Matsuda LA, Herkenham M. Cannabinoid receptor binding and messenger RNA expression in human brain: an in vitro receptor autoradiography and in situ hybridization histochemistry study of normal aged and Alzheimer's brains. *Neuroscience.* 1994;63:637–52.
48. Ramírez BG, Blázquez C, Gómez DP, Guzmán M, De Ceballos ML. Prevention of Alzheimer's disease pathology by cannabinoids: neuroprotection mediated by blockade of microglial activation. *J Neurosci.* 2005;25:1904–13.
49. Benito C, Núñez E, Tolón RM, Carrier EJ, Rábano A, Hillard CJ, Romero J. Cannabinoid CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are selectively overexpressed in neuritic plaque-associated glia in Alzheimer's disease brains. *J Neurosci.* 2003;23:11136–41.
50. Consroe P, Musty R, Rein J, Tillery W, Pertwee R. The perceived effects of smoked cannabis on patients with multiple sclerosis. *Eur Neurol.* 1997;38:44–8.
51. Baker D, Pryce G, Croxford JL, Brown P, Huffman JW, Pertwee RG, Layward L. Cannabinoids control spasticity and tremor in a multiple sclerosis model. *Nature.* 2000;404:84–7.
52. Brooks JW, Pryce G, Bisogno T, Jaggar SI, Hankey DJ, Brown P, i sur. Arvanil-induced inhibition of spasticity and persistent pain: evidence for therapeutic sites of action different from the vanilloid VR1 receptor and cannabinoid CB(1)/CB(2) receptors. *Eur J Pharmacol.* 2002;439:83–92.
53. Pryce G, Baker D. Control of spasticity in a multiple sclerosis model is mediated by CB1, not CB2, cannabinoid receptors. *Br J Pharmacol.* 2007;150:519–25.
54. Wilkinson JD, Whalley BJ, Baker D, Pryce G, Constanti A, Gibbons S, i sur. Medicinal cannabis: is delta9-tetrahydrocannabinol necessary for all its effects?. *J Pharm Pharmacol.* 2003;55:1687–94.
55. Van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ, Mouihate A, Urbani P, Mackie K, i sur. Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science.* 2005;310:329–32.
56. Horváth B, Mukhopadhyay P, Haskó G, Pacher P. The endocannabinoid system and plant-derived cannabinoids in diabetes and diabetic complications. *Am J Pathol.* 2012;180:432-42.
57. Matias I, Gonthier MP, Orlando P, Martiadis V, De Petrocellis L, Cervino C, i sur. Regulation, function, and dysregulation of endocannabinoids in models of adipose and beta-pancreatic cells and in obesity and hyperglycemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:3171-80.
58. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer.* 2010;127:2893–917.
59. Deribe YL, Wild P, Chandrashaker A, Curak J, Schmidt MH, Kalaidzidis Y, i sur. Regulation of epidermal growth factor receptor trafficking by lysine deacetylase HDAC6. *Sci Signal.* 2009:ra84.
60. Kogan NM. Cannabinoids and Cancer. *Mini Rev Med Chem.* 2005;5:941–52.
61. Sarfaraz S, Afaq F, Adhami VM, 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;281:39480–91.
62. Sarfaraz S, Adhami VM, Syed DN, Afaq F, Mukhtar H. Cannabinoids for cancer treatment: progress and promise. *Cancer Res.* 2008;68:339–42.
63. Montecucco F, Burger F, Mach F, Steffens S. CB2 cannabinoid receptor agonist JWH-015 modulates human monocyte migration through defined intracellular signaling pathways. *Am J Physiology Heart Circ Physiol.* 2008;294:H1145–55.

## PROPERTIES OF CANNABINOID RECEPTORS IN MEDICINAL PLANT CANNABIS SATIVA

Ana Tomašić Paić

Rudjer Bošković Institute, Division of Molecular Biology, Laboratory for Electron Microscopy

Corresponding author:

Dr. sc. Ana Tomašić Paić

Ruder Bošković Institute, Bijenička c. 54, P.O.Box 180

10002 Zagreb, Croatia

E-pošta: Ana.Tomasic@irb.hr

Review

### ABSTRACT

Cannabis plant (*Cannabis sativa*) contains many healing properties which are being slowly revealed. After the endocannabinoid system discovery, it has been acknowledged that human body is interacting with the cannabis. Among many medical aspects, the endocannabinoid system exerts effect on the growth of tumour cells, its proliferation, angiogenesis and migration and represents an emerging target of pharmacotherapy. Also, many studies have delivered new insights into the therapeutic targeting of this system for treating neurodegenerative disorders such as multiple sclerosis and Parkinson's disease, glaucoma, obesity and related metabolic disorders, also cancer, etc. Effective anti-tumoural agents or cannabinoids are suppressors of tumour growth, also known for stimulating appetite in cancer and HIV affected patients, as well as for preventing vomiting and nausea in chemotherapy patients. Nevertheless, this plant is still classified as a narcotic; however what makes a distinction between drug abuse and medicine use are constructive and well-designed research investigations and balanced medical application. This article, hopefully, covers as many aspects of cannabis as possible, in order to provide better understanding of this controversial drug as a medicine plant.

**Keywords:** Cannabis; Receptors, cannabinoid; Endocannabinoids; Tetrahydrocannabinol; Neurodegenerative diseases; Neoplasmas