

# ÚLOHA ENDOKANABINOIDNÍHO SYSTÉMU V PROJEVECH POSTIŽENÍ NERVOVÉHO SYSTÉMU

prof. MUDr. Alexandra Šulcová, CSc.

Farmakologický ústav lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno

**Průkaz specifického farmakologického působení kanabinoidů prostřednictvím receptorů a existence endogenních ligandů těchto receptorů podnítl významně snahy o pochopení jejich fyziologické a patofyziologické úlohy. Podle dosud prokázaných vlivů endogenně se vyskytujících kanabinoidů jsou tyto nazývány retrográdními synaptickými posly s většinou inhibičním působením na řadu známých neurotransmiterových systémů. Podle distribuce receptorů a buněk uvolňujících endokanabinoidy v nervové síti lze předpokládat, že tento tzv. endokanabinoidní systém může spolupůsobit při vzniku, ale i nápravě projevů postižení nervového systému, a to zejména bolesti, roztroušené sklerózy, spasticity a tremoru, epilepsie a v procesech neurodegenerace i neuroprotektce.**

**Klíčová slova:** endokanabinoidní systém, bolest, roztroušená skleróza, epilepsie, neuroprotektce.

## Úvod

Po dlouhé době využívání či spíše zneužívání empiricky známých, zejména psychotropních účinků kanabinoidů – látek obsažených v *Cannabis sativa* (Konopí setém), byl v roce 1964 (5) z rostliny izolován hlavní účinný kanabinoid – delta9-tetrahydrokanabinol (THC). Dostupnost této čisté látky teprve umožnila zkoumání vlastních farmakologických mechanismů, kterými kanabinoidy v těle účinky vyvolávají. V roce 1988 bylo potvrzeno působení farmakologicky specifické tzn. zprostředkované receptory (5). Kanabinoidní receptorový systém (soubor kanabinoidních receptorů označovaných: CB) se pak záhy ukázal být nejednotným. Dosud byly klonovány dva podtypy kanabinoidních receptorů (5, 6) – CB<sub>1</sub> (1990) a CB<sub>2</sub> (1993). Liší se sekvencí aminokyselin (shoda je 48%) a také distribucí v organizmu. Densita CB<sub>1</sub> receptorů je největší na centrálních a periferních neuronech (2), zatímco CB<sub>2</sub> receptory se nacházejí především na imunokompetentních buňkách. Oba typy kanabinoidních receptorů jsou spjaty G-proteiny s adenynylycyklázou a proteinkinázou aktivovanou mitogenem. CB<sub>1</sub> receptor je prostřednictvím G-proteinů spjat také s několika typy vápníkových a draslíkových kanálů. Existence kanabinoidních receptorů podnítila snahu o poznání jejich fyziologické role, tedy i o identifikaci jejich endogenních ligandů. První endokanabinoid arachidonoyl etanolamid (anandamid) byl izolován v roce 1992 z mozku prasete a další byly objeveny shodou okolností podobně jako THC s přispěním laboratoří prof. R. Mechoulama na Hebrew University v Jeruzalémě, ester 2-arachidonoyl glycerol (2-AG) v roce 1995 a 2-arachidonoyl glyceryl éter (noladin éter) v roce 2001 (5, 9, 13). Od té doby hovoříme o endokanabinoidním systému v organizmu obratlovců, jehož fyziologické a patofyziologické úlohy zbývá objasnit.

Endokanabinoidy jsou v nervovém systému produkovány postsynaptickými buňkami, ale CB<sub>1</sub> receptory jsou lokalizovány na presynaptických zakončeních a jejich stimulace vede obvykle k inhibici uvolňování neurotransmiterů (5-HT, glycinu, CCK, GABA). Proto začaly být endogenní kanabinoidy v této funkci označovány za retrográdní synaptické posly.

Podle distribuce především CB<sub>1</sub> receptorového systému lze usuzovat, že změny jeho plasticity mohou být jed-

nak účastny při vzniku různých projevů postižení nervového systému a na druhé straně je naděje, že jejich exogenní ovlivnění by mohlo být farmakoterapeuticky významné. Samozřejmě jsou však hledány látky, které by ovlivňovaly endokanabinoidní systém s minimálními nežádoucími účinky a způsob aplikace bez poškozování zdraví kouřením, jak se nejčastěji užívají rostlinné kanabinoidy. U dostupných kanabinoidů pro humánní užití (např. synteticky připravené kanabinoidy (-)-trans-isomer delta-9-THC dronabinol registrovaný v USA jako MARINOL nebo nabilon prodáváný firmou Eli Lilly & Co. jako CESAMET) je bohužel třeba stále počítat s nežádoucími účinky. Jednak psychickými, poškozujícími psychomotorické a kognitivní funkce, vyvolávajícími anxieta a panické ataky či akutní psychózu a paranoii, patří sem i rozvoj závislosti, a také somatickými, jako jsou sucho v ústech, rozmazané vidění, palpitace, tachykardie a posturální hypotenze.

Přesto je stále v současné době zaměřena pozornost na možné budoucí terapeutické využití exogenního zásahu do endokanabinoidního systému (1, 7, 10, 13, 14, 16), a to zejména u projevů postižení nervového systému, jako při bolesti (10), roztroušené skleróze (12), poruchách hybnosti včetně Parkinsonovy choroby (3, 15), epilepsii (4), pro neuroprotektci. Zkoumat je však u jednotlivých látek důležité nejen účinnost, ale i bezpečnost a snášenlivost.

V některých z těchto oblastí pokročil výzkum do III. fáze klinického zkoušení. Velmi aktivní je např. anglická GW Pharmaceuticals plc, (<http://www.gwpharm.com>), která v současnosti řídí sedm takových dvojité slepých a placebem kontrolovaných klinických studií zaměřených na:

- a) bolest a poranění míchy
- b) bolest, spánek při roztroušené skleróze
- c) neuropatickou bolest
- d) alodynii
- e) roztroušenou sklerózu
- f) nádorovou bolest
- g) bolest při poškození brachiálního plexu.

GW Pharmaceuticals plc. rovněž předpokládá, že v průběhu roku 2003 podá žádost o licenci na kanabinoidní humánní léčivý přípravek k aplikaci sublinguálním spre-

jem a plánuje založení Výzkumného institutu pro kanabinoidy („Cannabinoid Research Institute“), který by se soustředil na jak preklinický tak klinický výzkum nejen rostlinných a endogenních kanabinoidů, ale rovněž nově synteticky připravených látek zasahujících do funkcí endokanabinoidního systému. Byla již připravena celá řada selektivních ligandů  $CB_1$  nebo  $CB_2$  receptorů s vlastnostmi agonistů, antagonistů i inverzních agonistů a pro výzkum jsou k dispozici také geneticky manipulované myši („knock-out mice“) s chyběním genu pro některý z kanabinoidních receptorů (10).

Níže předkládaný přehled vztahů mezi funkcí endokanabinoidního systému a některých projevů poškození nervového systému je stručný tak, aby byla v článku celkově splněna pravidla časopisu pro délku přehledové práce. Zároveň při podmínce uvedení jen cca 15 nejdůležitějších citací jsou zvoleny takové, které představují publikace přehledové s vysokým ohlasem a v nichž jsou uváděny i další práce, z kterých autorka čerpala.

### **Endokanabinoidní systém a bolest**

(1, 5, 7, 10, 13, 14, 16)

Léčitelské používání konopí při bolesti je prastaré. Modernější snahy o medicínské využití kanabinoidů proti bolesti somatické, viscerální a neuropatické se datují od 19. století. Také testování kanabinoidů u zvířat přinášelo

a přináší doklady o analgetické účinnosti v modelech hyperalgie a alodynie vyvolávaných formalinem, kapsaicinem, karaginanem, poškozením nervu nebo u viscerálních bolestí. Mechanismus analgetického působení kanabinoidů však není zcela jasný dodnes. Mnoho experimentálních prací ukazuje na podobnost s analgetickými účinky opioidů. Při mikrodialýze mozkového kmene se ukázalo, že elektrická stimulace periaqueductální šedé hmoty vede k uvolňování endogenního kanabinoidu anandamidu, který při vazbě na  $CB_1$  receptory vyvolá analgetické působení. Také injekce formalinu do končetiny zvířete indukuje obdobný supraspinální nocicepční mechanismus zprostředkovaný uvolněním anandamidu. Naopak k hyperalgezii vede blokáda spinálních  $CB_1$  receptorů nebo jejich exprese.  $CB_1$  receptory byly prokázány také na periferních aferentních sensorických nervových vláknech, kde mohou mít význam pro kontrolu zejména zánětlivé bolesti. Přestože naltrexon, antagonist opioidních receptorů analgetické účinky kanabinoidů neovlivňuje, bylo prokázáno, že kanabinoidy stimulují uvolňování endogenních opioidů, čímž je jejich analgetický efekt potencován. Proto se zdá, že přestože kanabinoidy a opioidy využívají ke svému analgetickému působení stejných okruhů mozkového kmene, jejich farmakologický mechanismus účinku není identický.

V letech 1975–1997 bylo publikováno devět randomizovaných kontrolovaných klinických studií posuzujících

analgetické účinky kanabinoidů. Zahrnuto v nich bylo celkem 222 dospělých pacientů: 128 s karcinomovou bolestí, 2 s chronickou nenádorovou bolestí, 2 s pooperační bolestí a testovány byly: THC, 5–10 mg p.o.; syntetický dusíkatý derivát THC (NIB), 4 mg p.o.; benzopyranoperidin (BPP), 2–4 mg, p.o.; syntetický derivát THC levonantradol, 1,5–3 mg, i.m.; analgetická účinnost byla srovnávána s p.o. podaným kodeinem, 50–120 mg a sekobarbitalem, 50 mg. V osmi z těchto devíti studií byly kanabinoidy podané jednorázově p.o. nebo i.m. účinnější než placebo, nikoliv však než p.o. podaný kodein.

Výbor pro vědu a technologii anglické Sněmovny lordů (<http://www.parliament.the-stationery-office.co.uk/pa/ld199798/ldselect/ldsctech/151/15101.htm>), stejně jako „British Medical Association“, při projednávání možnosti medicínského využívání kanabinoidů v r. 1998 označily po zhodnocení všech předložených dokladů jejich analgetickou indikaci jako vhodnou u farmakorezistentních bolestí, a to zejména neuropatických (při poškození nervů u nemoci nebo zranění míchy) a fantomových.

#### **Endokanabinoidní systém a roztroušená skleróza, spasticita a tremor (5, 7, 10, 12, 13, 14, 15, 16)**

V experimentu byl u kanabinoidů prokázán účinek snižující signifikantně tremor a spasticitu u myši v modelu roztroušené sklerózy (RS) – experimentální autoimunitní encefalomyelitidě (EAE), což se také stalo podnětem pro povolení klinického zkoušení kanabinoidů v léčbě RS. V těchto studiích bylo navíc prokázáno, že takovýto efekt může zprostředkovat endokanabinoidní systém bez psychotropních účinků, jsou-li exogenně podány látky s nepřímým farmakologickým mechanismem, které podporují účinnost endogenních kanabinoidů. Takovou je např. AM404, která blokuje selektivně zpětné vychytávání endokanabinoidů, a tím zvyšuje jejich množství v synapsi.

Po zmapování distribuce kanabinoidních receptorů byla vyslovena hypotéza, že kromě možné úlohy kanabinoidních receptorů v CNS při kontrole hybnosti by imunosupresivní účinek kanabinoidů mohl mít vliv na průběh autoimunitních nemocí, včetně RS. Výsledky preklinických studií s aplikací selektivních ligandů CB<sub>2</sub> receptorů v myším modelu RS (EAE) tuto hypotézu začínají podporovat. Klinické údaje demonstrující, že kouření marihuany uvolňuje svalové spazmy u pacientů s RS byly publikovány již dříve a v kontrolované studii s THC, která proběhla v r. 1983 s 8 pacienty reagovalo 5 z nich zlepšením stavu. S THC byla opakována klinická studie s dalšími 13 pacienty trpícími RS, tentokrát jako dvojité slepá a kontrolovaná placebem. Také tato studie potvrdila antispastický účinek THC podávaného v dávce 7,5 mg a další zpráva o rok později popsala i zlepšení ataxie po podání kanabinoidů. Vliv aplikace kanabinoidů kouřením marihuany byl z klinického použití u RS popisován ještě v r. 1997 a 2000. Zpráva (1997) rozvedla příznivé působení na řadu sledovaných symptomů u RS, které podle míry zlepšení od nejlepšího k mírnějšímu seřadila následovně: spasticita – chronická bolest končetin – akutní paroxysmální feno-

mén – tremor – narušená emocionalita – anorexie se ztrátou hmotnosti – únava – dvojité vidění – sexuální dysfunkce – potíže gastrointestinální a uropoetické – šeroslepost – potíže s chůzí a rovnováhou – úbytek paměťových funkcí. Většina dosavadních publikovaných klinických údajů (nikoliv však všechny) se shoduje v pozitivním hodnocení kanabinoidních účinků (lepších při p.o. podávání) na svalové spazmy, ataxii, dysfunkci močového měchýře a zpomalení progresu RS. Preklinické studie poslední doby pracující s novými syntetickými kanabinoidními deriváty, také u nich uvádějí nadějně účinky potlačující symptomy modelové RS (EAE) u myši.

V současné době probíhá zatím největší dvojité-slepá klinická studie, ve které byli pacienti s RS randomizovaně rozděleni pro léčbu kanabisovým olejem, THC nebo placebovými kapslemi obsahujícími rostlinný olej. K říjnu 2002 studie zahrnovala 667 pacientů, s předpokládaným ukončením v únoru 2003 a publikováním jejich výsledků v létě téhož roku.

#### **Endokanabinoidní systém a epilepsie (4, 5, 7, 13, 14, 16)**

Názor, že by kanabinoidy mohly vykazovat antikonvulzivní účinky byl poprvé opublikován v „Journal American Medical Society“ v roce 1975. Zakládal se na zprávě o zlepšení stavu jednoho mladého epileptika inhalujícího kanabis. Nicméně v následné dvojité-slepé klinické studii s 15 pacienty se sekundární generalizovanou epilepsií s temporálním ložiskem, kteří byli při randomizovaném rozdělení za dvojité-slepých podmínek léčeni buď placebem nebo kanabidiolem (200–300 mg/den) reagovalo na kanabinoid příznivě 8, z toho 4 vykázali zlepšení a 4 byli bez konvulzivních krizí. Poté byly antikonvulzivní účinky kanabinoidů popsány v řadě experimentálních zvířecích modelů epilepsie u generalizovaných a parciálních tonicko-klonických záchvatů. V roce 1990 otiskl „American Journal of Epidemiology“ přehled, v němž u 308 epileptických pacientů potlačovalo kouření marihuany nástup parciálních záchvatů.

V roce 1998 se možným terapeutickým užíváním kanabinoidů u epilepsie zabýval Výbor pro vědu a technologii anglické Sněmovny lordů (<http://www.parliament.the-stationery-office.co.uk/pa/ld199798/ldselect/ldsctech/151/15101.htm>), ale pro nedostatek předložených validních klinických studií s dostatečným množstvím pacientů doporučení neudělil. Vedle publikací s pozitivními výsledky existují rovněž takové, které upozorňují na možný prokonvulzivní účinek kanabinoidů jak u zvířat tak u člověka.

#### **Endokanabinoidní systém a neuroprotekce (3, 5, 7, 8, 13, 14, 16)**

Při poškození mozku se zvyšují hladiny škodlivých mediátorů včetně aktivního kyslíku, které způsobují sekundární poškození. Proti nim se organizmus brání řadou procesů, ve kterých hrají roli např. adenosin, melatonin, ženské pohlavní hormony a v poslední době je takový efekt připisován endokanabinoidnímu systému. Studie, jejichž výsledky potvrzují neuroprotektivní účinky kanabinoidů v současnosti převažují. První takové zprávy zveřejněné v UK v r.

1998 pracovníky NIMH (National Institutes for Mental Health) se týkaly ochranného vlivu kanabinoidů proti poškození mozku při iktu. V témže roce byly u THC a kanabidiolu (CBD), kanabinoidu údajně bez psychotropní aktivity, popsány z pokusů na zvířatech antioxidační účinky při expozici toxických hladin glutamátu. V potkanním modelu excitotoxicity indukované ouabainem rovněž vykazovaly THC a anandamid signifikantní na dávce závislé neuroprotektivní účinky. Také později popsané snížení toxických účinků kyslíkových radikálů vlivem směsi kanabinoidů marihuany dává naději, že by se některé z kanabinoidů mohly případně uplatnit jako výhodnější antioxidační činidla nežli jsou vitaminy C a E. Podobně bylo u 67 pacientů popsáno ochranné působení syntetického kanabinoidu dexamabinolu proti křečemi navozenému poškození mozkových buněk a na rok 2003 je s tímto kanabinoidem plánována multicentrická klinická studie III. fáze (v Evropě a Americe), řízená izraelskou Pharms Pharmaceutical Company. Mechanismus, kterým mohou kanabinoidy neuroprotektivně působit, jasný dosud není. Při zkoumání vlivu endokanabinoidů v myších experimentech bylo prokázáno zvýšení hladin anandamidu a zejména 2-AG prakticky okamžitě po neotevřeném zhmoždění hlavy a exogenní aplikace 2-AG u těchto zvířat signifikantně snížila mozkový edém, smrt buněk v hipokampu a usnadňovala zotavení. Naproti tomu aplikace antagonisty CB<sub>1</sub> receptorů příznivý účinek 2-AG potlačila, což by mohlo svědčit pro možný receptorový mechanismus. Avšak některé jiné kanabinoidy vážící se na CB<sub>1</sub> receptory obdobné neuroprotektivní účinky nevykazují a je tedy možné, že popsané neuroprotektivní účinky některých kanabinoidů jsou zprostředkovány buď jiným, dosud nepoznaným typem re-

ceptorů anebo mechanismem nerekceptorovým. Dalšímu výzkumu v této oblasti bude pro jeho význam určitě věnována patřičná pozornost.

### Závěr

V dubnu 2002 jsme na půdě Masarykovy univerzity v Brně uspořádali ve spolupráci České neuropsychofarmakologické společnosti a Britské asociace pro psychofarmakologii mezinárodní „workshop“ o aktuálních poznatcích o kanabinoidech a extázi. Z jednotlivých odborných sdělení uznávaných expertů v oblasti kanabinoidů (mezi nimiž byli i v článku citovaní Raphael Mechoulam a Rodger G. Pertwee) a zejména pak ze závěrečné diskuze, vyplynuly později publikované závěry (8). Bylo konstatováno, že pro poznání neurobiologických rolí endokanabinoidního systému ve fyziologických a patofyziologických procesech, na které dosavadní studie upozornily bude nezbytné uplatnit metody, pokud možno neinvazivní, které umožní zmapovat kanabinoidní receptory a jejich endogenní ligandy in vivo. Vedle testování účinků nových synteticky připravených ligandů kanabinoidních receptorů bude důležité zkoumat také látky ovlivňující endokanabinoidní systém nepřímo, tedy např. zásahem do syntézy, uvolňování, vychytávání a metabolismu endogenních kanabinoidů. Přestože zatím byla pozornost zaměřena nejvíce na neuromodulační účinky endokanabinoidního systému je důležité studovat i jeho vlivy další, v systému imunitním, kardiovaskulárním, v procesech zánětu. Při prověřování již naznačených možností terapeutického využití ligandů kanabinoidních receptorů nebo látek endokanabinoidního systému jinak ovlivňujících, je nezbytné hodnotit souběžně i jejich nežádoucí účinky.

### Literatura

1. Campbell FA. Are cannabinoids an effective and safe treatment option in the management of pain? A qualitative systematic Review. *BMJ* 2001; 323 (7303): 13–17.
2. Elphick MR, Egertová M. The neurobiology and evolution of cannabinoid signalling. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001; 356: 381–408.
3. Glass M. The role of cannabinoids in neurodegenerative diseases. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2001; 25 (4): 743–765.
4. Gordon E, Devinsky O. Alcohol and marijuana: effects on epilepsy and use by patients with epilepsy. *Epilepsia* 2001; 42 (10): 1266–1272.
5. Grotenhermen F, Russo E, editors. Cannabis and cannabinoids. Pharmacology, toxicology, and therapeutic potential. Binghamton NY: Haworth Press, 2002.
6. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, Felder CC, Herkenham M, Mackie K, Martin BR, Mechoulam R, Pertwee RG. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev* 2002; 54 (2): 161–202.
7. Killestein J. Safety, tolerability and efficacy of orally administered cannabinoids in MS. *Neurology* 2002; 58: 1404–1407.
8. Marsden ChA, Šulcová A, Pratt J. Workshop Final Report: Psychopharmacology of cannabinoids and ecstasy. *Adiktologie* 2002; 1 (Suppl. 1): 7–13.
9. Martin BR. Identification of the endogenous cannabinoid system through integrative pharmacological approaches. *J Pharm Exp Ther* 2002; 301: 790–796.
10. Pertwee RG. Cannabinoid receptor ligands: clinical and neuropharmacological considerations, relevant to future drug discovery and development *Expert Opin Inv Drug* 2000; 9: (7) 1553–1571.
11. Pertwee RG. Cannabinoid receptors and pain. *Prog Neurobiol* 2001; 63: 569–611.
12. Pertwee RG. Cannabinoids and multiple sclerosis. *Pharmacol Ther* 2002; 95: (2): 165–174.
13. Porter AC, Felder CC. The endocannabinoid nervous system: unique opportunities for therapeutic intervention. *Pharmacol Ther* 2001; 90 (1): 45–60.
14. Robson P. Therapeutic aspects of cannabis and cannabinoids. *Br J Psychiatry* 2001; 178: 107–115.
15. Sieradzan KA, Fox SH, Hill M, Dick JP, Crossman AR, Brochie JM. Cannabinoids reduce levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease: a pilot study. *Neurology* 2001; 57 (11): 2108–2111.
16. Williamson EM, Evans FJ. Cannabinoids in clinical practice. *Drugs* 2000; 60 (6): 1303–1314.