

Received: 2014.08.17
Accepted: 2016.02.09
Published: 2016.07.07

Kannabinoidy a hemostaza*

Cannabinoids and haemostasis

Agnieszka Zakrzaska, Tomasz Grędziński, Wioleta Kisiel, Ewa Chabielska

Samodzielna Pracownia Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Streszczenie

Elementy układu endokannabinoidowego (receptory kannabinoidowe CB₁, CB₂, CB_{ED} i CB_{PT}, endokannabinoidy oraz układy enzymatyczne biorące udział w ich syntezie i metabolizmie) znajdują się w strukturach zaangażowanych w proces hemostazy. Wzrost stężenia endokannabinoidów obserwuje się w niektórych stanach patologicznych, w których może dochodzić do zaburzeń hemostazy. Także niepokojąco rośnie liczba doniesień o incydentach sercowo-naczyniowych u palaczy marihuany. W badaniach eksperymentalnych i obserwacjach klinicznych wykazano wielotorowy, często przeciwstawny, wpływ kannabinoidów na hemostazę, na który składa się ich działanie w obrębie płytek krwi, śródbłonna naczyniowego, układu fibrynolizy i osoczowego układu krzepnięcia. W mechanizmy działania kannabinoidów na hemostazę zaangażowane są receptory CB₁ i CB₂, CB_{ED} i CB_{PT} pobudzane przez nie receptory innych układów, a także metabolity endokannabinoidów i tlenek azotu. Zakres biologicznych funkcji endo- i fitokannabinoidów poszerzony o wpływ na proces hemostazy, może stanowić argument do uznania ich za nowy czynnik odpowiedzialny za powikłania zakrzepowo-zatorowe u palaczy marihuany, w stanach patologicznych przebiegających z podwyższonym stężeniem endokannabinoidów oraz u osobników z polimorfizmem FAAH C385A, A385A. Istnieją jednak przekonujące przesłanki o hamującym układ hemostazy działaniu kannabinoidów.

Słowa kluczowe:

kannabinoidy • receptory kannabinoidowe • hemostaza • proces zakrzepowy • marihuana

Summary

Elements of the endocannabinoid system (cannabinoid receptors CB₁, CB₂, CB_{PT} and CB_{ED}, endocannabinoids, enzymes involved in the synthesis and metabolism of endocannabinoids) are located on the structures involved in the process of hemostasis. An increasing level of endocannabinoids was also observed in some pathological conditions, which may occur in disorders of hemostasis. At the same time, disconcertingly, there is an increased number of reports about incidents of cardiovascular events in smokers of marijuana. Experimental and clinical studies demonstrated multidirectional, often contradictory, effects of cannabinoids on hemostasis, including effects of the compounds on platelets, vascular endothelium, fibrinolysis and plasma coagulation systems. The mechanisms of action of cannabinoids on homeostasis depend on the cannabinoid receptors CB₁, CB₂, CB_{PT} and CB_{ED}, receptors of other systems stimulated by endocannabinoids, as well as metabolites of endocannabinoids and nitrogen oxide. The range of biological functions of endo- and plant cannabinoids, expanded to include the process of hemostasis, may constitute a condition for their recognition as a new factor responsible for thromboembolism in smokers of marijuana, in pathological disorders with increased levels of endocannabinoids and in individuals with polymorphisms of FAAH C385A and A385A. On the other hand, there are compelling reasons for anti-hemostatic action of cannabinoids.

Keywords:

cannabinoids • cannabinoid receptors • hemostasis • thrombotic process • marijuana

*Praca finansowana ze środków prac statutowych Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku nr 123-26857F i 143-26734F oraz grantu naukowego przyznanego przez Polskie Towarzystwo Kardiologiczne, ufundowanego przez firmę ADAMED

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1209157>

Word count: 4451
Tables: 3
Figures: 2
References: 114

Adres autorki: dr n. med. Agnieszka Zakrzaska, Samodzielna Pracownia Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Mickiewicza 2c, 15-222 Białystok; e-mail: azakrze@umb.edu.pl

Wykaz skrótów: **BLT1** – receptor typu 1 leukotrienu B₄; **BMI** – wskaźnik masy ciała; **CB₁** – receptor kannabinoidowy typu 1; **CB₂** – receptor kannabinoidowy typu 2; **CBC** – kannabichromen; **CBD** – kannabidiol; **CB_{ED}** – śródbłonkowy receptor kannabinoidowy; **CBG** – kannabigerol; **CBN** – kannabinol; **CB_{PT}** – płytkowy receptor kannabinoidowy; **CBV** – kannabiwarin; **COX-2** – cyklooksygenaza 2; **CYP 450** – cytochrom P450; **FAAH** – hydrolaza amidowa kwasów tłuszczowych; **GPR55** – receptor związany z białkiem G; **IL-6** – interleukina 6; **L-NAME** – ester metylowy N^G-nitro-L-argininy; **LOX** – lipooksygenaza; **LTB₄** – leukotrien B₄; **MAGL** – lipaza monoacyloglicerolowa; **NO** – tlenek azotu; **eNOS** – śródbłonkowa syntaza tlenku azotu; **PAI-1** – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1; **PAI-2** – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 2; **PGD₂** – prostaglandyna D₂; **PGE₂** – prostaglandyna E₂; **PGF_{2α}** – prostaglandyna F_{2α}; **PGH₂** – prostaglandyna H₂; **PGI₂** – prostacyklina; **PPAR** – receptory jądrowe aktywowane przez proliferatory peroksyosomów; **SHR** – szczury szczepu Wistar ze spontanicznym nadciśnieniem; **TAS** – całkowita zdolność antyoksydacyjna osocza; **TF** – czynnik tkankowy; **TNFα** – czynnik martwicy nowotworu α; **t-PA** – tkankowy aktywator plazminogenu; **TRPV1** – receptor waniloidowy typu 1; **TXA₂** – tromboksan A₂; **Δ⁸-THC** – Δ⁸-tetrahydrokannabinol; **Δ⁹-THC** – Δ⁹-tetrahydrokannabinol; **5-HT_{A1}** – receptor serotoninowy typu A1.

Kannabinoidy są grupą związków organicznych, wśród których wyróżnia się: kannabinoidy pochodzenia roślinnego – fitokannabinoidy, kannabinoidy wytwarzane przez organizmy zwierząt i człowieka – endokannabinoidy oraz kannabinoidy syntetyczne. Do fitokannabinoidów zalicza się około 60 substancji występujących w konopiach indyjskich (*Cannabis sativa* var. *indica*). Najpopularniejsze surowce pozyskiwane z konopi, znane od tysięcy lat, to haszysz i marihuana. Najważniejszym psychoaktywnym związkiem odpowiedzialnym za ich aktywność biologiczną jest Δ⁹-tetrahydrokannabinol (Δ⁹-THC) [39]. W używce, poza wymienionym Δ⁹-THC, występuje mieszanina związków, z których najważniejsze to kannabinol (CBN), kannabidiol (CBD), kannabichromen (CBC), kannabigerol (CBG), kannabiwarin (CBV) i Δ⁸-tetrahydrokannabinol (Δ⁸-THC) [2].

Kannabinoidy nie są unikatową cechą świata roślinnego, w początkach lat 90 XX w. odkryto istnienie układu endokannabinoidowego. Składa się z receptorów kannabinoidowych, ich endogennych ligandów (endokannabinoidów), układu enzymów syntetyzujących i degradujących oraz białek transportujących i uwalniających endokannabinoidy. Mnogość i wielofunkcyjność aktywnych związków, różnorodność receptorów, pobudzenie których daje często przeciwstawną odpowiedź, a także to, że receptory są umiejscowione w różnych strukturach decydują o tym, że układ pełni istotną rolę w regulacji wielu procesów fizjologicznych i patologicznych. Spośród kilku do tej pory zidentyfikowanych endokannabinoidów, najdokładniej poznano

i opisano anandamid [25] oraz 2-arachidonoyloglicerol [101]. Oprócz działania fizjologicznego jak zmniejszenie wrażliwości na ból, łagodzenie sytuacji stresowych czy regulacja motoryki przewodu pokarmowego wykazano zmiany ich stężeń w stanach patologicznych, w których często dochodzi także do zaburzeń hemostazy.

TERAPEUTYCZNE I NIEPOŻĄDANE DZIAŁANIE KANNABINOIDÓW

Pierwsze wzmianki na temat terapeutycznego działania fitokannabinoidów, które można znaleźć w antycznym herbarzu chińskim z 2700 r. p.n.e. dotyczyły leczenia reumatyzmu, malarii, zaparc oraz łagodzenia bólów porodowych i operacyjnych. W Indiach konopie stanowiły podstawę uzdrawiających rytuałów religijnych. W starożytnej Grecji i w świecie arabskim także wykorzystywano ich właściwości lecznicze. W XIX w. irlandzki lekarz O'Shaughnessy sprowadził preparaty konopi do Europy. Na podstawie zdobytych w Indiach doświadczeń zalecał je jako środki przeciwbólowe, przeciwwymiotne, przeciwdrgawkowe i rozluźniające w stanach spastycznych oraz pobudzające apetyt [84]. Rosnące zainteresowanie ich działaniem psychoaktywnym spowodowało stopniowe wycofanie fitokannabinoidów z lecznictwa, a używanie konopi zdefiniowano jako narkomania. Okres lat 60 XX w. to czas, kiedy nastąpił ogromny wzrost spożycia marihuany i haszyszu. Marihuana jest nadal najczęściej używanym narkotykiem na świecie, a dostęp do niej jest z roku na rok łatwiejszy. W większości krajów marihuana jest na liście substancji niebezpiecznych, a co za tym idzie, jej posiadanie, uprawa i handel są zagro-

zone karą pozbawienia wolności. W ostatnich latach zauważono jednak, że używka przynosi ulgę niektórym pacjentom (nowotwory, ból), którym medycyna konwencjonalna nie może pomóc. Wykorzystywanie marihuany do celów medycznych dozwolone jest prawem m.in. w Czechach, niektórych stanach USA (20), Holandii i Kanadzie. Prawo Hiszpanii zezwala na uprawę marihuany na tzw. „własny użytek”. Także w Polsce złagodzone przepisy dotyczące jej posiadania na własny użytek (Dz. U. Nr 117, poz. 678 z dn. 1.04.2011 r.). W grudniu 2013 r. senat Urugwaju, jako pierwszy na świecie, uchwalił ustawę zezwalającą na uprawianie, sprzedaż i zażywanie marihuany. Od stycznia 2014 r. w USA w stanie Kolorado i od 8 lipca 2014 r. w stanie Waszyngton zakup marihuany do celów rekreacyjnych jest legalny. Należy podkreślić, iż w ostatnich latach niepokojąco wzrosła liczba doniesień dotycząca występowania incydentów zakrzepowo-zatorowych u palaczy marihuany.

Wieloletnie badania fitokannabinoidów doprowadziły do poznania lipidowej struktury związków, a także zidentyfikowania, a następnie sklonowania punktów uchwytu ich molekularnego działania w organizmie. Zaowocowało to m.in. wprowadzeniem na rynek farmaceutyczny substancji zawierających Δ^9 -tetrahydrokannabinol lub jego syntetyczne analogi. Obecnie na światowym rynku farmaceutycznym znajduje się kilka leków, agonistów receptorów kannabinoidowych. Są to m.in.: Cesamet® (nabilon), Marinol® (dronabinol) oraz Sativex® (Δ^9 -THC z kannabidiolem). Najszerszej dostępny jest Sativex®, bo aż w 11 krajach, od 2012 r. także w Polsce, Cesamet® dostępny jest w Kanadzie, Stanach Zjednoczonych, Wielkiej Brytanii i Meksyku, a Marinol® w Stanach Zjednoczonych, Holandii i Niemczech. Pierwsze dwa są stosowane w nudnościach i wymiotach spowodowanych chemio- i radioterapią. Marinol® jest również stosowany w celu zwiększenia apetytu w zespole wyniszczenia u pacjentów w przebiegu AIDS, a Sativex® jest zarejestrowany jako preparat do leczenia neuropatycznego bólu występującego w stwardnieniu rozsianym. Wśród niezbyt często ($\approx 1/1000$ - $< 1/100$) występujących działań niepożądanych tej grupy leków wymienia się hipotensję oraz incydenty mózgowo-naczyniowe [89].

W artykule przedstawiono aktualny przegląd danych eksperymentalnych i klinicznych dotyczących wpływu kannabinoidów na procesy hemostazy.

ZARYS SYNTETY I METABOLIZMU KANNABINOIDÓW. METABOLITY ENDOKANNABINOIDÓW AKTYWNE W PROCESIE HEMOSTAZY

Anandamid i 2-arachidonoyloglicerol powstają z fosfolipidowych substratów w neuronach centralnych i obwodowych, w płytkach krwi i makrofagach oraz w śródbłonku naczyniowym [24,103]. Głównym źródłem anandamidu jest fosfatydylocholina, która z udziałem N-acetylotransferazy jest przekształcana w N-arachidonoylofosfatydyloetanoloaminę, z której pod wpływem selektywnej fosfolipazy D powstaje anandamid. Reakcja tworzenia 2-arachidonoyloglicerolu przebiega

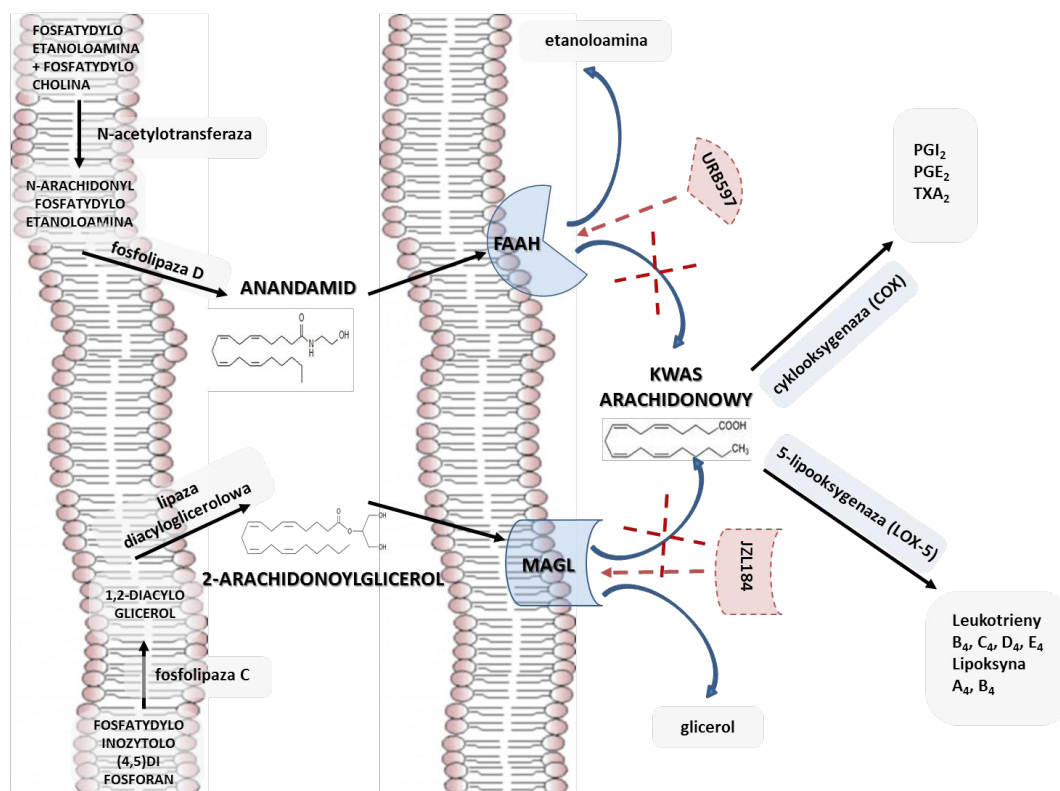
z udziałem fosfolipazy C, która hydrolizuje fosfatydyloinozytolo(4,5)difosforan do 1,2-diacylglicerolu, a ten w obecności lipazy diacyloglicerolowej jest przekształcany w 2-arachidonoyloglicerol (ryc. 1).

Synteza i uwalnianie endokannabinoidów zachodzi „na żądanie”. W warunkach fizjologicznych stężenie endokannabinoidów jest niewielkie. Stężenie anandamidu jest o 30% wyższe w surowicy niż w osoczu krwi ludzkiej i jak podają różne źródła waha się w granicach 0,4-13 nM. Stężenie 2-arachidonoyloglicerol waha się w granicach 1-400 nM [46]. Anandamid może się wiązać z albuminami krwi [10,42], natomiast brak jest danych na temat wiązania z białkami 2-arachidonoyloglicerolu. Endokannabinoidy mają bardzo krótki okres półtrwania (liczony w sekundach bądź minutach). Nie są magazynowane jak typowe neuroprzekazniki. Po zakończeniu działania są przenoszone do wnętrza komórki za pomocą właściwych transporterów lub dyfuzji prostej, gdzie są metabolizowane. Anandamid ulega degradacji pod wpływem hydrolazy amidowej kwasów tłuszczowych (Fatty Acid Amide Hydrolase - FAAH) do kwasu arachidonowego i etanoloaminy. Inaktywacja tego enzymu powoduje znaczący, nawet 10-krotny, wzrost stężenia anandamidu u ludzi i zwierząt laboratoryjnych [1]. 2-arachidonoyloglicerol jest rozkładany przez lipazę monoacyloglicerolową (MonoAcylGlycerol Lipase - MAGL) do kwasu arachidonowego oraz glicerolu.

Powstały w wyniku przemian endokannabinoidów kwas arachidonowy włącza się następnie do szlaku metabolicznego zależnego od enzymatycznych układów oksydacyjnych cyklooksygenazy (głównie COX-2) i lipo-oksigenazy (LOX). COX-2 katalizuje konwersję kwasu arachidonowego do endonadtlenku prostaglandyny (PGH₂). Powstają także biologicznie aktywne związki jak prostaglandyny (PGE₂, PGD₂, PGF_{2α}), prostacyklina (PGI₂) i tromboksan A₂ (TXA₂) (ryc. 1).

W ostatnich latach wykazano, że anandamid i 2-arachidonoyloglicerol mogą być bezpośrednimi substratami COX-2. Powstają wówczas etanoloamid prostaglandyny (PGH₂-EA) i jego ester glicerolowy (PGH₂-G). Etanoloamidy prostaglandyn i ich estry glicerolowe, określane mianem prostamidów, reprezentują nową klasę eikozanoidów z osobnymi dla nich receptorami i swoistymi drogami przekazywania sygnału. Są także słabymi aktywatorami receptorów kannabinoidowych i receptorów prostanoidowych [102]. Endokannabinoidy mogą być także metabolizowane przez lipooksygenazy do kwasów hydroperoksyekoizatetraenowych (HETE), które następnie ulegają metabolizmowi do etanoloamidu hydroksyeikoizatetraenowego (HETE-EA) lub glicerolu (HETE-G). Wymienione metabolity anandamidu są agonistami receptorów waniloidowych TRPV1, a niektóre wykazują też powinowactwo do receptorów CB₁ [33,102].

W procesie metabolizmu fitokannabinoidów powstają nieaktywne metabolity. Δ^9 -THC podlega reakcjom hydroksylacji i oksydacji z udziałem enzymów mikrosomalnych wątroby CYP450 do 11-hydroksy-tetrahy-



Ryc. 1. Schemat syntezy i metabolizmu anandamidu i 2-arachidonoylglicerolu (wg [100,102] zmodyfikowano); FAAH – hydrolaza amidowa kwasów tłuszczowych; JZL184 – inhibitor MAGL; MAGL – lipaza monoacyloglicerolowa; PGE₂ – prostaglandyna E₂; PGI₂ – prostacyklina; TXA₂ – tromboksan A₂; URB597 – inhibitor FAAH

drokannabinolu i kwasu 11-nor-THC-9-karboksyowego, które następnie są sprzężane z kwasem glukuronowym i wydalane z moczem [53].

Podsumowując, powstające w wyniku metabolizmu endokannabinoidów metabolity, to biologicznie aktywne związki, o udowodnionym wpływie na płytki krwi i naczynia krwionośne [91].

KANNABINOIDY A HEMOSTAZA

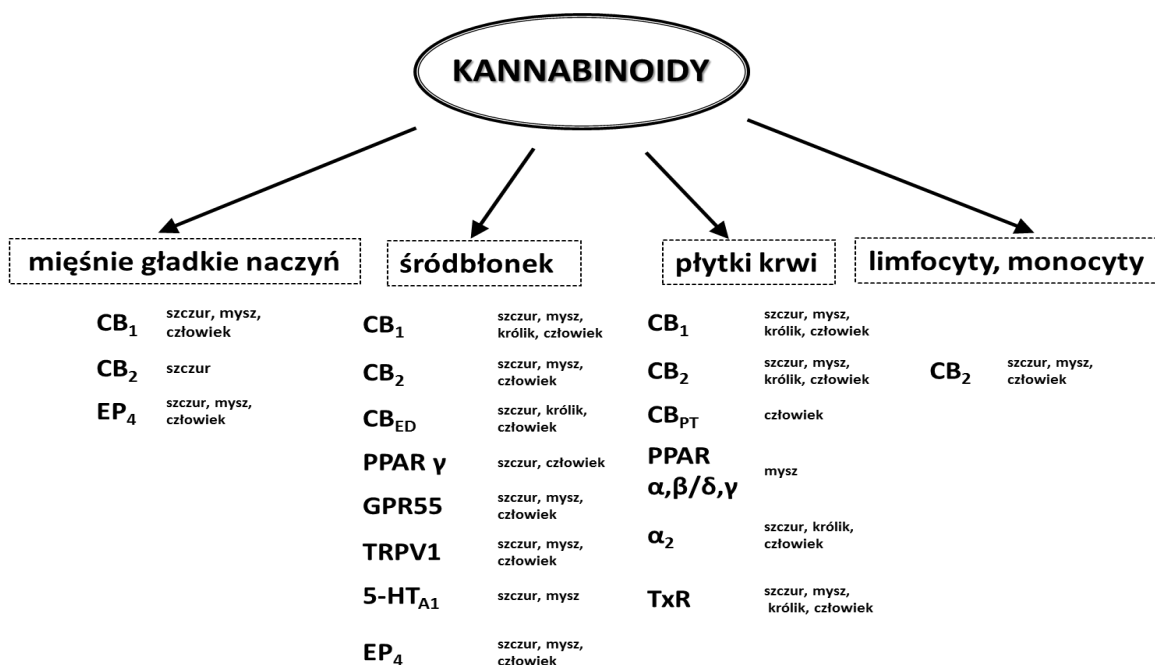
Hemostaza to zespół procesów fizjologicznych zapewniających płynność krwi krążącej, szczelność łożyska naczyniowego oraz skuteczne zatrzymanie krwawienia po przerwaniu ciągłości ściany naczynia krwionośnego. Jest to dynamiczny stan równowagi między przebiegającymi równolegle reakcjami pro- i przeciwzakrzepowymi, w których biorą udział: ściana naczynia, białka osocza (układ krzepnięcia i fibrynolizy), płytki krwi oraz inne elementy morfotyczne krwi, takie jak monocyty, erytrocyty i leukocyty. Prawidłowo funkcjonujący śródbłonek zapewnia utrzymanie napięcia naczyń wydzielając substancje o właściwościach relaksacyjnych, takie jak NO i PGI₂, hamuje proliferację mięśni gładkich, dostarcza powierzchni przeciwzakrzepowej, pośredniczy w zachowaniu równowagi między procesami krzepnięcia i fibrynolizy [21]. Kiedy nad mechanizmami regulującymi hemostazę zaczynają

przeważać patologiczne procesy prozakrzepowe dochodzi wówczas do inicjacji zakrzepicy. Klinicznym objawem zakrzepicy w układzie naczyń tętniczych jest głównie zawał serca i udar niedokrwienny mózgu, a w układzie naczyń żylnych zakrzepica żył głębokich i zatorowość płucna. Dlatego tak ważna jest identyfikacja wpływających na nią czynników.

AKTYWOWANE PRZEZ KANNABINOIDY RECEPTORY OBECNE NA STRUKTURACH ISTOTNYCH W PROCESIE HEMOSTAZY

O znaczeniu kannabinoidów w regulacji procesów hemostazy może świadczyć obecność metabotropowych receptorów kannabinoidowych typu 1 (CB₁) i typu 2 (CB₂) w strukturach biorących udział w hemostazie (ryc. 2). Receptory CB₁ występują w śródbłonku, mięśniach gładkich naczyń oraz płytkach krwi. Natomiast receptory CB₂ występują we wszystkich wymienionych strukturach oraz na limfocytach i monocytach [79]. Wykazano ponadto obecność dwóch innych receptorów kannabinoidowych - płytkowego CB_{PT} [4,63] oraz śródbłonkowego CB_{ED} [5]; obu receptorów do tej pory nie sklonowano.

W komórkach śródbłonka znajdują się także receptory kannabinoidowe GPR55 zwane „sierocymi”, receptory waniloidowe typu 1 (TRPV1) [79] oraz receptory serotoninowe 5-HT_{1A} [32], aktywowane zarówno przez anan-



Ryc. 2. Receptory obecne w strukturach istotnych w procesie hemostazy aktywowane przez kannabinoidy wg [78,79,97]; 5HT_{A1} – receptor serotoniny typu A1; CB₁ – receptor kannabinoidowy typu 1; CB₂ – receptor kannabinoidowy typu 2; CB_{ED} – śródbłonkowy receptor kannabinoidowy; CB_{PT} – płytkowy receptor kannabinoidowy; EP₄ – receptor prostanoidowy; GPR55 – receptor sprzężony z białkiem G; PPAR α, β/δ, γ – receptor jądrowy aktywowany przez proliferatory peroksyosomów typu α, β/δ, γ; TRPV1 – receptor waniloidowy typu 1; TxR – receptor tromboksanu; α₂ – receptor α₂-adrenergiczny

damid jak i 2-arachidonoyloglicerol. Kannabinoidy są również słabymi agonistami receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksyosomów (PPAR – peroxisome proliferator – activated receptors) obecnych w płytkach krwi i komórkach śródbłonka i mięśni gładkich tętnic [6,97] (ryc. 2). Zgodnie z aktualnymi danymi receptory CB₁, CB₂, GPR55, TRPV 1 oraz α₂-adrenergiczne są pobudzane także przez fitokannabinoidy [8].

KANNABINOIDY A PŁYTKI KRWI

Pierwsze wzmianki dotyczące wpływu fitokannabinoidów na hemostazę pojawiły się w połowie lat 70 ub.w. i dotyczyły wpływu na funkcje płytek krwi. Wykazano w nich, iż Δ¹-THC, aktywny składnik marihuany i haszyszu, dodany do płukanych ludzkich płytek krwi wywołuje spontaniczną i nieodwracalną agregację, co autorzy badania tłumaczą procesem degranulacji ziarnistości płytkowych i uwalnianiem związków indukujących agregację płytek [59]. Wykazano, iż Δ¹-THC, dodany do płukanych ludzkich płytek krwi hamuje ich agregację indukowaną adrenaliną, ADP czy PAF [34]. Natomiast u pacjentów otrzymujących przez dwa tygodnie Δ⁹-THC w oleju sezamowym (*per os*; 70-210 mg/dzień) nie wykazano wpływu związku na liczbę płytek krwi i ich agregację [44]. Badania dotyczące zmian funkcji płytek krwi pod wpływem kannabinoidów są najliczniej reprezentowane w literaturze tematu.

Postuluje się co najmniej cztery szlaki oddziaływania kannabinoidów na płytki krwi. Po pierwsze, jest to zależna od pobudzenia receptorów CB₁ i CB₂ aktywacja płytek krwi [23,61,92]. Po drugie, pobudzenie kannabi-

noidowego receptora płytkowego CB_{PT} [4,62], które jak wykazano może prowadzić, w zależności od użytego stymulatora, do wzrostu lub zahamowania agregacji płytek. Po trzecie, silna aktywacja płytek produktami przemian kwasu arachidonowego - głównego metabolitu endokannabinoidów [10,11,54]. Po czwarte, aktywacja płytek przez zaangażowanie innych receptorów płytkowych, nienależących do układu endokannabinoidowego. Wymienia się tu receptory PPARα i PPARβ/δ znajdujące się w mysich płytkach krwi, których pobudzenie powoduje wzrost wewnątrzkomórkowego cAMP [6] oraz receptory α₂-adrenergiczne, których pobudzenie kannabigerolem, pierwszym wyizolowanym składnikiem marihuany [39], hamuje agregację płytek [13,34].

Większość przedstawionych w tabeli 1 badań dotyczyła działania kannabinoidów w warunkach *in vitro*, kiedy ocenie podlega wpływ związków na proces aktywacji płytek w układzie izolowanym. Tym samym uzyskane wyniki nie zawsze są zgodne z otrzymanymi *ex vivo* czy *in vivo*. W badaniach *in vivo* bowiem, na ostateczny efekt działania związku może mieć także jego wpływ na aktywność prokoagulacyjną płytek, a więc proces powstawania na ich powierzchni trombiny. I tak, w badaniu przyżyciowym formowania płytkowego zakrzepu u myszy, anandamid hamował zarówno agregację jak i aktywność prokoagulacyjną płytek krwi w sposób częściowo zależny od receptorów CB₁ i CB₂ [110,111]. Ponadto, nie można wykluczyć zaangażowania mechanizmów pozapłytkowych w oddziaływaniu kannabinoidów na płytki krwi np. związków uwalnianych ze śródbłonka naczyniowego lub innych elementów morfotycznych krwi (tab. 1).

Tabela 1. Potencjalne mechanizmy wpływu kannabinoidów na płytki krwi.

Model	Związek	Stężenie/ dawka	Efekt działania	Mechanizm działania	Piśmiennictwo
ludzkie	AEA	1,3 mM	↑ aktywacji płukanych płytek krwi (indukowanej anandamidem), [Ca ²⁺]	zależny od receptorów CB ₁ /CB ₂	[61]
		10 μM - 1 mM	↑ agregacji płukanych płytek krwi (indukowanej anandamidem), [Ca ²⁺] ↑ NO, aktywności eNOS		[92]
	Δ ⁹ -THC	10 μM - 100 nM	↑ ekspresji glikoproteiny IIb-IIIa ↑ ekspresji selektywny P		[23]
królicze	AEA	0,1 - 100 μM	↑ agregacji płukanych płytek krwi (indukowanej ADP, trombiną, kolagenem)	zależny od metabolitów endokannabinoidów	[11]
	2-AG	200 μM	↑ agregacji płytek we krwi pełnej (indukowanej ADP, trombiną)		[54]
	Δ ⁹ -THC	300 μM	brak wpływu na płytki		
<i>in vitro</i>	2-AG wirodamina	200 μM	↑ agregacji płytek we krwi pełnej (indukowanej ADP, serotoniną, epinefryną, U46619, TRAP, LPA)		[10]
		400 μM	↑ agregacji płukanych płytek krwi (indukowanej lucyferazą) zmiana kształtu płytek uwalnianie zawartości ziarnistości płytkowych		
ludzkie	2-AG	50 - 400 μM	↑ aktywacji płukanych płytek krwi (indukowanej serotoniną) w sposób zależny od stężenia, [Ca ²⁺], [IP ₃] ↓ aktywacji płukanych płytek krwi (indukowanej ADP, kolagenem)	zależny od receptora CB ₁	[62]
		10 μM	↑ agregacji płukanych płytek krwi (indukowanej ADP, trombiną), [Ca ²⁺] ↑ uwalniania TXA ₂ z płytek krwi ↑ uwalniania substancji z ziarnistości płytkowych (w tym ADP) zmiany morfologiczne płytek		[4]
	200 μM 400 μM	zmiana kształtu płytek uwalnianie zawartości ziarnistości płytkowych	zależny od receptorów TxR		[10]
ludzkie	kanabigerol	10 ⁻³ – 10 ⁻⁵ M	hamowanie agregacji płytek krwi indukowanej adrenaliną	α ₂ -adrenergiczne	[13,34]
<i>ex vivo</i>	szczurze	10 mg/kg/h infuzja 1 h	↓ adhezji płukanych płytek krwi (indukowanej kolagenem)	zależny od receptorów CB ₁ /CB ₂	[110,111]
<i>in vivo</i>	mysie	10 mg/kg bolus	↓ agregacji płytek krwi (indukowanej anandamidem) ↓ całkowitej objętości płytek krwi w zakrzepie ↓ aktywności prokoagulacyjnej płytek krwi	NO metabolitów AEA	

↓ - spadek; ↑ - wzrost; ADP – adenylo-5'-difosforan; AEA – anandamid; 2-AG – 2-arachidonoylglicerol; CB₁ – receptory kannabinoidowe typu 1; CB₂ – receptory kannabinoidowe typu 2; CB_{1/2} – płytkowy receptor kannabinoidowy; cGMP – cykliczny guanozyno-3',5'-monofosforan; LPA – kwas lizofosfatydowy; eNOS – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu; NO – tlenek azotu; TRAP – peptyd aktywujący receptor trombiny; TXA₂ – tromboksan A₂; U46619 – analog prostaglandyny PGH₂; Δ⁹-THC – Δ⁹-tetrahydrokannabinol.

KANNABINOIDY A NACZYNNIA KRWIONOŚNE

Przy interpretacji wyników badań dotyczących hemostazy *in vivo*, a szczególnie łożyska tętniczego, należy uwzględnić wpływ badanych substancji na parametry

hemodynamiczne. Podwyższone ciśnienie tętnicze krwi działa bowiem przeciwnie do sił zamykających naczyń. Warto więc podkreślić, iż zmiana kurczliwości naczyń pod wpływem kannabinoidów może być istotnym elementem modulującym przebieg procesu zakrzepowego.

Kannabinoidy mogą obniżać ciśnienie tętnicze krwi, zmniejszając kurczliwość mięśnia sercowego i redukując opór obwodowy [48,107]. Rozkurcz naczyń, jak wykazano w modelach zwierzęcych i izolowanych naczyniach, jest związany z aktywacją receptorów kannabinoidowych oraz receptorów innych układów i kanałów jonowych.

W mięśniach gładkich naczyń działanie naczyniorozszerzające anandamidu jest wynikiem aktywacji receptorów CB₁ oraz kanałów wapniowych typu L (L-type Ca²⁺) [40]. Działanie może być spotęgowane metabolitem anandamidu - PGE₂ i jej etanoloamidem, agonistami receptorów prostanoidowych EP₄ obecnych w komórkach mięśni gładkich aorty szczura [56,85]. Rozkurcz naczyń może być także stymulowany pobudzeniem znajdujących się w mięśniówce gładkiej receptorów CB₂ [77].

Kolejnym miejscem działania kannabinoidów w naczyniach jest śródbłonek. Jak wykazano, aktywacja śródbłonkowych receptorów CB₁ prowadzi do silnej odpowiedzi rozkurczowej spowodowanej wzrostem:

- uwalniania NO w ludzkiej żyły odpiszczelowej [99],
- ekspresji COX-2 i wytworzenia mediatorów rozkurczających naczyń mózgowych myszy [14] oraz
- stężenia wewnątrzkomórkowego Ca²⁺ w ludzkich komórkach śródbłonka naczyń mózgowych [43].

Uważa się, że aktywacja anandamidem lub 2-arachidonoyloglicerolem śródbłonkowych receptorów CB₂, powodująca wyłącznie wzrost stężenia wewnątrzkomórkowego jonów Ca²⁺ [43], nie odgrywa znaczącej roli w mechanizmie rozkurczu naczyń.

Pobudzenie anandamidem śródbłonkowego receptora CB_{ED} powoduje rozkurcz króliczych [68] oraz ludzkich płucnych naczyń tętniczych [57] w mechanizmie zależnym od NO. W rozkurcz indukowany anandamidem są zaangażowane także śródbłonkowe receptory TRPV1, których aktywacja zwiększa stężenie wewnątrzkomórkowe jonów Ca²⁺ [43] oraz receptory GPR55, których aktywacja prowadzi do hiperpolaryzacji i rozkurczu naczyń mikrokrążenia skórno człowieka [114] oraz mikrokrążenia naczyń siatkówki szczura [64]. Natomiast aktywacja śródbłonkowych receptorów PPARy anandamidem, 2-arachidonoyloglicerolem lub Δ⁹-THC powoduje wzrost uwalniania NO i rozkurcz szczurzej aorty i tętnicy krezkowej oraz ludzkiej tętnicy krezkowej [74,76]. Aktywacja śródbłonkowych receptorów 5-HT_{A1} kannabidiolem i kannabigerolem zwiększa przepływ mózgowy u myszy [71].

Naczyniowe efekty endokannabinoidów mogą ulec zmianie, kiedy naczynie objęte jest procesem patologicznym. Obserwowano nasiloną odpowiedź naczyniorozkurczową izolowanych naczyń krezki po kannabinoidach u szczurów z nadciśnieniem wywołanym chroniczną blokadą syntazy NO [75,106], u szczurów z marskością wątroby

[28], a także u szczurów ze spontanicznym nadciśnieniem (SHR) [107]. Autorzy badań sugerują, że nasiloną odpowiedź rozkurczową może być związana ze wzrostem aktywacji receptorów TRPV1, zwiększeniem ekspresji białka receptorowego CB₁ i TRPV1 czy też aktywacją wapniowo-zależnych kanałów potasowych BK_{Ca}. Słabszą odpowiedź rozkurczową po anandamidzie, spowodowaną spadkiem ekspresji receptorów CB₁ i CB₂ w komórkach śródbłonka [60] oraz nasilonym metabolizmem endokannabinoidów, prowadzącym do powstania metabolitów kurczących naczyń, obserwowano u szczurów z genetycznie indukowaną cukrzycą i otyłością (Zucker rats) [97].

Podsumowując, wpływ kannabinoidów na naczynia krwionośne jest złożony i zależny od związku, rodzaju łożyska naczyniowego, ekspresji receptorów, a także funkcji śródbłonka, który odpowiada za utrzymanie *status quo* naczyń i jednocześnie jest miejscem ich syntezy i metabolizmu.

INTERAKCJE: PŁYTKI KRWI - ŚCIANA NACZYNIA, LEUKOCYTY - ŚCIANA NACZYNIA

Pierwszym etapem formowania zakrzepu, określanym mianem hemostazy pierwotnej, jest przyleganie (adhezja) płytek krwi do podśródbłonkowej warstwy ściany naczyń [86]. Ten skomplikowany proces jest zależny od rozpoznania protein adhezyjnych obecnych we włóknach kolagenu przez swoiste płytkowe glikoproteiny powierzchniowe (GP) [105]. Poza testem adhezji płytek krwi do kolagenu, parametrem, który służy do oceny interakcji między płytkami krwi a ścianą naczyń jest czas krwawienia [22]. Ważnym czynnikiem modulującym pierwszy etap aktywacji układu hemostazy jest napięcie naczyniowe.

Wykazano, że Δ⁹-THC podany w oleju sezamowym (*per os*; 70-210 mg/dzień) przez dwa tygodnie nie zmienił adhezji ludzkich płytek krwi *ex vivo* oraz czasu krwawienia [44]. W badaniach własnych, w modelu zwierzęcym *ex vivo*, anandamid istotnie zmniejszał adhezję płytek krwi do kolagenu typu pierwszego, skracając jednak czas krwawienia. Jak się wydaje wpływ związku na proces hemostazy pierwotnej jest wypadkową jego działania antyadhezyjnego i naczyniorozkurczającego. Powyższe skutki anandamidu były częściowo zależne od receptorów CB₁ i CB₂ oraz NO [110,111].

Interakcja leukocytów z aktywowanymi płytkami krwi i komórkami śródbłonka ma istotne znaczenie w procesie hemostazy i związanej z nią odpowiedzi zapalnej w miejscu uszkodzenia naczyń [69]. Funkcja receptorów CB₂ występujących na powierzchni leukocytów jest stosunkowo słabo poznana. W literaturze tematu można znaleźć pojedyncze doniesienia o hamującym funkcję neutrofilów i makrofagów działaniu kannabinoidów i hamowaniu syntezy czynnika martwicy nowotworów α (TNF-α) [38,70]. Tylko w jednym badaniu wykazano aktywujące neutrofile działanie 2-arachidonoyloglicerolu przez wzrost uwalniania mieloperoksy-

dazy oraz wzrost syntezy leukotrienu B_4 [15]. Przy czym należy wspomnieć, iż o ile leukotrien B_4 odgrywa rolę m.in. w rekrutacji leukocytów do miejsc objętych zapaleniem [88], to mieloperoksydaza uważana jest za czynnik ryzyka wystąpienia ostrego zespołu wieńcowego [113].

KANNABINOIDY A UKŁAD KRZEPNIĘCIA

W wyniku uszkodzenia ściany naczynia wzrasta ekspresja czynnika tkankowego (TF), głównego inicjatora szlaku krzepnięcia produkowanego m.in. przez komórki śródbłonna i mięśni gładkich naczyń [55]. Umożliwia to inicjację kaskady krzepnięcia i konwersję protrombiny w trombinę [37]. Znaczenie formowania trombiny na powierzchni płytkowego zakrzepu w procesie jego powstawania należy rozpatrywać w dwóch aspektach, tj. aktywacji płytek, a także powstawania fibryny w środowisku agregujących płytek, która stabilizując rosnący zakrzep jest nieodzowna do powstania okluzyjnego zakrzepu.

Wykazano antykoagulacyjne działanie endokannabinoidów, polegające na obniżeniu ekspresji TF w komórkach HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cells) oraz spadku stężenia osoczowego TF u szczura [41,110,111] (tab. 2). Mechanizm spadku stężenia TF u szczurów normotensyjnych był częściowo zależny od receptorów CB_1 i CB_2 oraz metabolitów anandamidu, których obecność osłabiła antykoagulacyjne działanie związku [110,111]. Nie można wykluczyć, że zdolność obniżania przez 2-arachidonoyloglicerol podwyższonej ekspresji mRNA TF, indukowanej inhibitorem COX-2, może potencjalnie działać ochronnie w grupach pacjentów leczonych koksybami (inhibitorami COX-2), u których wzrasta ryzyko wystąpienia powikłań zakrzepowych (badania kliniczne VIGOR) [96].

W przypadku fitokannabinoidów ich wpływ na układ krzepnięcia nie jest jednoznaczny (tab. 2). Δ^9 -THC z jednej strony, w obserwacji klinicznej, wykazywał działanie prokoagulacyjne [44], z drugiej zaś, działanie antykoagulacyjne, wyrażone hamowaniem aktywności trombiny *in vitro* [16]. Także w badaniach eksperymentalnych Δ^9 -THC wykazywał aktywność antykoagulacyjną u szczurów [16].

Podsumowując, wpływ kannabinoidów na proces krzepnięcia nie jest jednoznaczny. Wydaje się, że endokannabinoidy *in vitro* i *in vivo* wykazują działanie antykoagulacyjne, podczas gdy fitokannabinoid może działać także prokoagulacyjnie, w zależności od stanu patofizjologicznego, jego stężenia i drogi podania.

KANNABINOIDY A UKŁAD FIBRYNOLIZY

Rolą układu fibrynolitycznego w hemostazie jest rozpuszczanie śródnacyniowych złożeń fibryny i utrzymanie drożności łożyska naczyniowego. Równowaga układu fibrynolizy zależy od aktywności aktywatorów fibrynolizy tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) i urokinazy oraz inhibitorów aktywatora plazminogenu typu 1 i 2 (PAI-1, PAI-2).

Niewiele jest danych dotyczących wpływu kannabinoidów na fibrynolizę (tab. 2). W przypadku endokannabinoidów, w badaniach własnych, po raz pierwszy, wykazano profibrynolityczny, zależny od receptorów CB_1 i CB_2 , skutek działania anandamidu u zdrowych szczurów. Obecność metabolitów anandamidu zmniejszała jego profibrynolityczne działanie [110,111]. Przeciwnie, antyfibrynolityczne działanie endokannabinoidów zauważono u chorych zwierząt ze zmniejszoną aktywnością układu fibrynolitycznego [50,87].

U palaczy marihuany, z zawałem serca, nie stwierdzono zmian stężenia osoczowego PAI-1 [18]. U zdrowych szczurów inhalowanych dymem haszyszowym wykazano wzrost aktywności fibrynolitycznej osocza, co, jak sugerowali autorzy pracy, mogło być efektem działania adrenaliny [66] (tab. 2).

W świetle aktualnych danych można stwierdzić, że u zdrowych zwierząt kannabinoidy wykazują działanie profibrynolityczne zaś u zwierząt z cukrzycą i otyłością obserwuje się spadek aktywności fibrynolitycznej osocza.

KANNABINOIDY A BIODOSTĘPNOŚĆ TLENKU AZOTU I STRES OKSYDACYJNY

Jedną z przyczyn zachwiania równowagi między procesami pro- i przeciwzakrzepowymi jest nasilenie stresu oksydacyjnego. Powstające wówczas reaktywne formy tlenu i azotu modyfikują funkcję składowych układu hemostazy [47]. Znaczenie wolnych rodników tlenowych w formowaniu zakrzepu potwierdzono w modelach zakrzepicy płucnej oraz zakrzepicy tętnicy mózgowej śródkowej u myszy [51].

Badania eksperymentalne dotyczące wpływu anandamidu na parametry stresu oksydacyjnego dostarczają sprzecznych wyników (tab. 2). W badaniach własnych anandamid nie zmienił całkowitej zdolności antyoksydacyjnej osocza szczura (TAS) i spowodował wzrost stężenia metabolitów NO, co może być skutkiem aktywacji receptorów CB_2 i/lub innych receptorów kannabinoidowych CB_{ED} , CB_{PT} bądź waniloidowych TRPV1 [110,111]. W jednym dostępnym badaniu, wykazano, że Δ^9 -THC powodował obniżenie stresu oksydacyjnego u szczura [17]. Brak jest w literaturze przedmiotu danych na temat zmian stężenia NO w osoczu po podaniu kannabinoidów.

KANNABINOIDY A DOŚWIADCZALNY PROCES ZAKRZEPOWY

Wyniki badań eksperymentalnych dostarczają dowodów na istnienie zależności między kannabinoidami a izolowanymi elementami hemostazy. Nie wyjaśniają jednak kierunku działania związków podczas formowania zakrzepu *in vivo*. Nie zawsze bowiem wpływ związków zmieniających funkcje płytek krwi i śródbłonna *in vitro* odzwierciedla podobny skutek w środowisku naczynia, kiedy obecność przepływającej krwi może rozcieńczać badane związki, a zmiana napięcia naczynia promuje lub ogranicza dynamiczny proces zakrzepowy.

Tabela 2. Wpływ kannabinoidów na hemostazę.

Model	Związek	Stężenie/Dawka	Efekt działania	Mechanizm działania	Piśmiennictwo	
Ściana naczyń						
<i>in vitro</i>	ludzkie naczynia płucne/ niedrobnokomórkowy rak płuc	AEA	0.1-100 μM	rozkurcz naczyń	CB ₁ i CB ₂ , NO	[57]
	aorta królika		1 nM – 1 μM	aktywacja eNOS, ↑ NO rozkurcz naczyń	CB ₁ /CB ₂ , NO	[68]
	tętnica krezkowa /otyłe szczury Zucker		1 nM – 1 mM	↓ rozkurcz naczyń	↓ ekspresji CB ₁ /CB ₂	[60]
Leukocyty						
<i>in vitro</i>	ludzkie neutrofile	2-AG	3 μM	↑ uwalniania mieloperoksydazy, ↑ wytwarzania LTB ₄ , [Ca ²⁺]	BLT ₁	[15]
		AEA	10 ⁻¹⁰ -10 ⁻⁶ M	zahamowanie migracji neutrofilii	CB ₁	[70]
<i>in vitro</i>	mysie makrofagi	2-AG	0.05-50 μg/ml 10 mg/kg	↓ wytwarzania – TNFα		[38]
Układ krzepnięcia						
<i>in vitro</i>	HUVEC	2-AG	10 μM	↓ ekspresja TF	szlak metabol. COX-2 - PPARδ	[41]
<i>ex vivo</i>	ludzkie osocze		70-210 mg/dzień/ 2 tyg.	↑ aktywności czynnika VII, tendencja do wzrostu aktywności czynników V i VIII		[44]
<i>in vitro</i>		Δ ⁹ -THC	0 – 10 mg/ml	hamuje tworzenie skrzepu indukowanego trombiną		[16]
<i>in vivo</i>	osocze/szczury otyłe		2,5-5,0 mg/ml	↑ czasu krzepnięcia		
<i>ex vivo</i>	osocze małpy Rhesus		2,5 mg/kg/dzień/ 3 tyg.	↑ stężenia fibrynogenu		[93]
	szczurze osocze	AEA	10 mg/kg infuzja	↓ TF	CB ₁ i CB ₂ , metabolity AEA	[110,111]
Układ fibrynolizy						
<i>ex vivo</i>	szczurze osocze	Δ ⁹ -THC	dym	↓ ECLT		[66]
		AEA	10 mg/kg infuzja	↑ t-PA, ↓ PAI-1	CB ₁ i CB ₂ , metabolity AEA	[110,111]
		RIM	3, 10 mg/kg/dzień/ 12 m-cy 10 mg/kg/dzień/ 12 tyg.	↑ ECLT	CB ₁	[50,87]
Stres oksydacyjny i biodostępność NO						
<i>ex vivo</i>	osocze/szczury z cukrzycą STZ	Δ ⁹ -THC	15 lub 30 mg/kg	↑ GSH, GSSG, GSH/GSSG, ↓ MDA		[17]
	szczurze osocze		10 mg/kg infuzja	↓ mRNA NADPH, mRNA SOD, MDA ↑ NO ₂ /NO ₃	CB ₁ , CB ₂	[109,110,111]
	szczurza błona śluzowa żołądka	AEA0	0,3-3 μmol/kg	↓ wytwarzania reaktywnych form tlenu	CB ₁	[104]
<i>in vitro</i>	ludzkie komórki śródbłonna tętnicy wieńcowej		10 μM	↑ wytwarzania reaktywnych form tlenu	CB ₁	[49,83]

↓ - spadek; ↑ - wzrost; AEA – anandamid; 2-AG – 2-arachidonoylglicerol; BLT₁ – receptor dla leukotrienu B₂; CB₁ - receptory kannabinoidowe typu 1; CB₂ - receptory kannabinoidowe typu 2; CB_{ED} – śródbłonkowy receptor kannabinoidowy; COX-2 – cyklooksygenaza 2; ECLT – czas lizy skrzepu euglobulin; GSH – glutation; GSSG – zredukowany glutation; LTB₄ – leukotrien B₄; MDA – malonyldialdehyd; NADPH – dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy; NO – tlenek azotu; PAI-1 – inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu typu 1; PPARδ – receptory jądrowe aktywowane przez proliferatory peroksydomów typu δ; RIM – rimonabant, selektywny antagonist receptorów CB, kannabinoidowych; SOD – dysmutaza ponadtlenkowa; STZ – streptozotocyna; TF – czynnik tkankowy; TNFα – czynnik martwicy guza; t-PA – tkankowy aktywator plazminogenu; Δ⁹-THC – Δ⁹-tetrahydrokannabinol.

We wstępnych badaniach własnych (tab. 3), w modelu zwierzęcym stosując trzy modele zakrzepicy, zbadano wpływ anandamidu na proces zakrzepowy u zdrowych zwierząt laboratoryjnych. Wykazano przeciwzakrzepowe, zależne od płytek krwi, działanie anandamidu w modelu zakrzepicy żyłnej u myszy. U szczurów, w modelu zakrzepicy tętnicznej, anandamid wykazywał tendencję do hamowania tworzenia zakrzepu bez wpływu natomiast na proces zakrzepicy żyłnej u szczurów. Prowadzone jednocześnie pomiary pierwotnej i osoczowej hemostazy oraz aktywności fibrynolitycznej osocza dowodzą istotnego, hamującego działania związku na układ krzepnięcia i aktywację fibrynolizy u szczura. Słuszną wydaje się hipoteza, że brak wyraźnego wpływu na proces formowania zakrzepu jest wynikiem wielokierunkowego (zależnego od aktywacji różnych receptorów) i często przeciwstawnego, działania anandamidu i jego metabolitów. Ponadto wpływ anandamidu na proces formowania zakrzepu może być związany z siłą i rodzajem bodźca indukującego zakrzepicę, rodzajem naczynia oraz naturalną historią powstawania zakrzepu (tab. 3).

Podsumowując, różnorodność warsztatów badawczych m.in. stężenia substancji, czas ich oddziaływania, droga

podania, różnice gatunkowe, stwarza trudność w interpretacji porównawczej wyników. Istotny jest także fakt, iż końcowe efekty działania kannabinoidów w warunkach *in vivo* mogą być wypadkową ich jednoczesnego wpływu na różne komórki, z których uwalniane są zarówno aktywatory jak i inhibitory osoczowego układu krzepnięcia i fibrynolizy. W związku z powyższym ostateczny wpływ tych związków na osoczowy układ krzepnięcia i fibrynolizy, płytki krwi oraz śródbłonek w warunkach *in vivo* pozostaje nadal bez rozstrzygającej odpowiedzi.

STANY PATOLOGICZNE Z ZABURZENIAMI HEMOSTAZY, W KTÓRYCH DOCHODZI DO WZROSTU STĘŻENIA ENDOKANNABINOIDÓW

W badaniach omówionych w poprzednich rozdziałach, stężenia kannabinoidów często przewyższały stężenia znajdowane w osoczu i tkankach zdrowych osobników (5-5000 razy). Należy jednak podkreślić, iż w różnych stanach patologicznych znajduje się wysokie stężenia anandamidu i 2-arachidonoyloglicerolu [46], które mogą prawdopodobnie mieć potencjalnie istotne znaczenie w modulowaniu układu hemostazy.

W zawale mięśnia sercowego wykazano podwyższone stężenia anandamidu w miejscach objętych zawałem.

Tabela 3. Wpływ anandamidu na proces formowania zakrzepu tętnicznego i żylnego w doświadczalnych modelach zakrzepicy

Model	Miejsce uszkodzenia	Związki	Efekt działania	Mechanizm działania
Myszy transgeniczne C57BL/6J z ekspresją GFP z zakrzepicą indukowaną laserem	Naczynia żyłne krezki Ograniczony do pojedynczych komórek śródbłonna obszar uszkodzenia, przypominający reakcję zapalną	AEA	↓ agregacji płytek ↓ całkowitej objętości płytek krwi w zakrzepie ↓ aktywności prokoagulacyjnej płytek	zależny od receptorów CB ₁ /CB ₂
		AEA+RIM AEA+SR144528	nasilenie ↓ agregacji płytek ↓ całkowitej objętości płytek krwi w zakrzepie ↓ aktywności prokoagulacyjnej płytek	
Szczury normotensyjne z zakrzepicą indukowaną prądem stałym	Tętnica szyjna wspólna lewa Uszkodzenie ściany naczynia i odsłonięcie macierzy podśródbłonkowej, zmiany w układzie krzepnięcia i fibrynolizy	AEA	↑ średniego przepływu krwi nieznaczne wydłużenie całkowitego czasu do okluzji ↑ częstości występowania okluzji nieznaczny ↓ masy zakrzepu	zależny od receptorów CB ₁
		AEA+RIM	(-) średni przepływ krwi (-) całkowity czas do okluzji ↑ częstości występowania okluzji (-) masy zakrzepu	
Szczury normotensyjne z zakrzepicą indukowaną stazą	Żyła główna dolna Zastój krwi, metaboliczne i mechaniczne upośledzenie funkcji śródbłonna, hipoksja, zmiany w układzie krzepnięcia i fibrynolizy	AEA	(-) masy zakrzepu (-) częstości występowania zakrzepicy	zależny od NO metabolitów AEA
		AEA+RIM AEA+SR144528	(-) masy zakrzepu (-) częstości występowania zakrzepicy	
		AEA+URB597	↓ masy zakrzepu ↓ częstości występowania zakrzepicy	
		AEA+L-NAME	↑ masy zakrzepu	

(-) – brak zmian; ↓ - spadek; ↑ - wzrost; AEA – anandamid; CB₁ - receptory kannabinoidowe typu 1; CB₂ - receptory kannabinoidowe typu 2; GFP - Green Fluorescent Protein - białko zielonej fluorescencji; L-NAME - ester metylowy N^G-nitro-L-argininy; NO – tlenek azotu; RIM – rimonabant – selektywny antagonist receptorów kannabinoidowych CB₁; SR144528 - selektywny antagonist receptorów kannabinoidowych CB₂; URB597 – inhibitor hydrolazy amidowej kwasów tłuszczowych.

Uważa się, że źródłem związku są aktywowane w tym obszarze makrofagi. Wzrost stężenia anandamidu może działać kardioprotekcyjnie (rozszerzenie naczyń, nasilenie przepływu wieńcowego, bradykardia) [9,58] bądź też, gdy stężenie związku przekracza 10 μM , pogłębia patologię ostrego zespołu wieńcowego, prowadząc do apoptozy komórek śródbłonka naczyniowego i mięśni gładkich naczyń wieńcowych [65,108].

W otyłości obserwuje się wzrost stężeń anandamidu i 2-arachidonoyloglicerolu w osoczu, w związku ze zwiększoną dostępnością substratów do ich syntezy (tkanka tłuszczowa, pożywienie) i/lub zaburzeniami metabolizmu anandamidu z powodu spadku aktywności FAAH [19]. Będąca konsekwencją powyższych zmian nadmierna aktywność układu endokannabinoidowego, w mechanizmie sprzężenia zwrotnego, zwiększając apetyt na potrawy słodkie i słone, pogłębia rozwój otyłości [30]. Tkanka tłuszczowa jest powszechnie uznana za aktywny organ endokrynni syntetyzujący związki związane z układem krzepnięcia, m.in. TNF- α , IL-6, PAI-1 i TF. Wzrost anandamidu i/lub 2-arachidonoyloglicerolu w osoczu może być czynnikiem ryzyka w inicjacji i rozwoju choroby wieńcowej u pacjentów otyłych z BMI wynoszącym średnio 41,3 (31,75-45,45) kg/m^2 [82].

W cukrzycy typu 2 u ludzi obserwuje się wzrost stężeń anandamidu i 2-arachidonoyloglicerolu, pochodzących najprawdopodobniej z tkanki tłuszczowej [26]. Nadmierna aktywacja receptorów CB₁, obecnych w komórkach β Langerhansa, prowadzi do wzrostu wydzielania insuliny, co powoduje stan hiperinsulinemii oraz następową insulinooporność u myszy i ludzi [67,98].

Podobnie u pacjentów z marskością wątroby stwierdza się wyższe stężenie anandamidu we krwi obwodowej, którego źródłem są przede wszystkim monocyty i makrofagi [12]. Sugeruje się, iż zwiększone stężenie anandamidu, wywołujące apoptozę komórek może odgrywać kluczową rolę w uszkodzeniu śródbłonka w zespole hemolityczno-mocznicowym, charakteryzującym się obecnością mikrozakrzepów w naczyniach tętniczych [108].

Także u pacjentów z polimorfizmem FAAH (hydrolazy amidowej kwasów tłuszczowych) typu FAAH C385A i FAAH A385A, którzy mają prawie o połowę niższą ekspresję białka i aktywność FAAH stwierdza się zwiększone stężenie anandamidu w osoczu [94]. Uważa się, że silniejsze pobudzenie przez anandamid receptorów CB₁ [27] może być przyczyną większej skłonności do nadwagi i otyłości obserwowanej u homozygot z genotypem FAAH A385A [94]. U tych pacjentów obserwuje się wzrost wskaźników ryzyka występowania chorób sercowo-naczyniowych, tj. stężenia insuliny, wskaźnika HOMA (stopnia insulinooporności) i TNF- α , [20]. Przy czym należy podkreślić, że TNF- α jest silnym stymulatorem PAI-1, którego podwyższone stężenie koreluje ze zwiększonym ryzykiem choroby niedokrwiennej serca i miażdżycy [35,95].

Reasumując, istnieją przesłanki, aby wzrost stężenia endokannabinoidów i aktywację układu endokannabinoidowego w omawianych stanach patologicznych oraz u pacjentów z polimorfizmem enzymu FAAH C385A, A385A uznać za czynnik związany z rozwojem powikłań zakrzepowo-zatorowych. Jednak, w świetle wyników badań podstawowych, nie można wykluczyć ochronnego, hamującego układu hemostazy działania endokannabinoidów (tab. 2, 3).

WZROST RYZYKA SERCOWO-NACZYNIOWEGO U PALĄCY MARIHUANY

Usystematyzowanie i poszerzenie wiedzy na temat powiązań między paleniem marihuany a procesami hemostazy wydaje się konieczne, tym bardziej że obserwacje kliniczne pacjentów palących marihuanę potwierdzają hipotezę o roli fitokannabinoidów w wywoływaniu incydentów zakrzepowo-zatorowych. Opisano przypadki wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych (w tym zawału mięśnia sercowego, stenoz naczyń tętniczych kończyn dolnych czy zatorowości płucnej) u młodych osób (19-36 lat), bez rodzinnej historii choroby sercowo-naczyniowej, deklarujących palenie marihuany od dłuższego czasu [3,7,18,29,73,80]. Także w retrospektywnych i prospektywnych obserwacjach klinicznych, w grupach pacjentów hospitalizowanych z powodu zawału mięśnia sercowego i palących marihuanę stwierdzono prawie 5-krotny wzrost ryzyka wystąpienia zawału mięśnia sercowego w ciągu godziny od wypalenia marihuany, wzrost śmiertelności sercowo-naczyniowej w obserwacji długoterminowej, zakrzepowo-zarostowe zapalenie naczyń kończyn dolnych oraz zmiany przepływu w naczyniach mózgowych [36,45,52,72,90]. Prawie jedna trzecia zarejestrowanych powikłań sercowo-naczyniowych u osób uzależnionych zakończyła się zgonem [52].

Jakkolwiek mechanizmy promujące powstawanie incydentów o podłożu zakrzepowo-zatorowym u palaczy marihuany nie są w pełni wyjaśnione, to wyniki badań eksperymentalnych w większości wskazują na aktywujące płytki i układ krzepnięcia działanie Δ^9 -THC [23,44,93]. Wykazano też, że chroniczne przyjmowanie dużych dawek Δ^9 -THC może prowadzić do wzrostu gęstości receptorów CB₁ w mózgu i naczyniach krwionośnych ludzi, co może być jednym z powodów wzrostu oporu naczyń mózgowych [45]. Należy też podkreślić, że możliwą przyczyną częstszego niż w przeszłości występowania przypadków toksycznego działania marihuany może być około 2-krotne zwiększenie zawartości Δ^9 -THC w produktach sprzedawanych w niektórych krajach. Przeciętna zawartość Δ^9 -THC w jednym papierosie wynosi około 20 mg i zależy od właściwości genetycznych rośliny, warunków wegetacji, sposobu zbierania, wieku rośliny, rodzaju gleby i klimatu [81,112]. Stwarza to realną możliwość wzrostu zagrażających zdrowiu i życiu działań fitokannabinoidów.

Oprócz skutków związanych z bezpośrednim działaniem fitokannabinoidów, palenie marihuany jest związane z narażeniem pacjenta na zawarte w dymie substancje

toksyczne, wzrostem stężenia karboksyhemoglobiny i spadkiem zdolności do przenoszenia tlenu przez erytrocyty [36,72]. Także spowodowana paleniem ograniczona dostępność NO, może zwiększać podstawowe napięcie naczyń, ich skurcz, aktywację, adhezję i agregację płytek krwi i uwalnianie z nich czynników naczyniokurczących, proagregacyjnych i antyfibrynolitycznych promujących powstawanie zakrzepu [31].

Reasumując, w oparciu o badania podstawowe i obserwacje kliniczne, związek między paleniem marihuany a incydentami o podłożu zakrzepowo-zatorowym wydaje się bardzo prawdopodobny.

PODSUMOWANIE

- Przedstawiony przegląd badań eksperymentalnych i klinicznych systematyzuje wiedzę o powiązaniach kannabinoidów z procesami hemostazy.
- Endokannabinoidy, w przeciwieństwie do fitokannabinoidów, są lepiej przebadaną grupą związków. W warunkach fizjologicznych wydają się mieć korzystny wpływ na układ hemostazy. Zbyt mała liczba badań klinicznych nie pozwala jednak na jednoznaczne określenie ich roli w procesie krzepnięcia w stanach patologicznych. Natomiast obserwacje kliniczne wskazują jednoznacznie na niekorzystne działanie fitokannabinoidów w układzie hemostazy.
- Uzyskane w badaniach podstawowych i obserwacjach klinicznych dane wskazują na wielokierunkowy, często przeciwstawny, wpływ kannabinoidów na śródbłonek naczyniowy, płytki krwi, układ fibrynolizy i osoczkowy

układ krzepnięcia. Mechanizm działania kannabinoidów może być zależny od receptorów kannabinoidowych CB₁ i CB₂, CB_{ED} i CB_{PT}, a także pobudzanych przez nie receptorów innych układów oraz metabolitów endokannabinoidów i tlenu azotu. Różnorodność warsztatów badawczych oraz różnice gatunkowe stwarzają trudności w interpretacji porównawczej wyników.

- Zakres biologicznych funkcji endo- i fitokannabinoidów, poszerzony o wpływ na proces hemostazy, może stanowić argument za uznaniem ich za nowy czynnik odpowiedzialny za powikłania zakrzepowo-zatorowe u palaczy marihuany, w stanach patologicznych przebiegających z podwyższonym stężeniem endokannabinoidów oraz u osobników z polimorfizmem FAAH C385A, A385A. Istnieją jednak przekonujące przesłanki dotyczące hamującego układu hemostazy działania kannabinoidów.
- Rosnący dostęp do marihuany stwarza konieczność poznania wpływu jej aktywnych biologicznie składników na proces hemostazy. Wiedza ta może być punktem wyjścia do poszukiwania nowych strategii terapii pacjentów palących marihuanę z incydentami sercowo-naczyniowymi. W czasie toczącej się dyskusji na temat legalizacji tego narkotyku, może też dostarczyć argumentów odnoszących się do zdrowotnych skutków jej legalizacji.
- Badania o powiązaniach kannabinoidów i hemostazy poszerzą również wiedzę na temat bezpieczeństwa stosowania we współczesnej terapii fitokannabinoidów i ich analogów oraz antagonistów receptorów kannabinoidowych.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Ahn K., Johnson D.S., Mileni M., Beidler D., Long J.Z., McKinney M.K., Weerapana E., Sadagopan N., Limatta M., Smith S.E., Lazerwith S., Stiff C., Kamtekar S., Bhattacharya K., Zhang Y. i wsp.: Discovery and characterization of a highly selective FAAH inhibitor that reduces inflammatory pain. *Chem. Biol.*, 2009; 16: 411-420
- [2] Ameri A.: The effects of cannabinoids on the brain. *Prog. Neurobiol.*, 1999; 58: 315-348
- [3] Bailly C., Merceron O., Hammoudi N., Dorent R., Michel P.L.: Cannabis induced acute coronary syndrome in a young female. *Int. J. Cardiol.*, 2010; 143: e4-e6
- [4] Baldassarri S., Bertoni A., Bagarotti A., Sarasso C., Zanfa M., Catani M.V., Avigliano L., Maccarrone M., Torti M., Sinigaglia F.: The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol activates human platelets through non-CB₁/CB₂ receptors. *J. Thromb. Haemost.*, 2008; 6: 1772-1779
- [5] Begg M., Pacher P., Bátkai S., Osei-Hyiaman D., Offertáler L., Mo F.M., Liu J., Kunos G.: Evidence for novel cannabinoid receptors. *Pharmacol. Ther.*, 2005; 106: 133-145
- [6] Bishop-Bailey D.: The platelet as a model system for the acute actions of nuclear receptors. *Steroids*, 2010; 75: 570-575
- [7] Biyik I., Akturk I.F., Yalcin A.A., Tanidir I.C., Ertruk M.: Cannabis joint triggered recurrent anterior myocardial infarction in an adolescent taking dual anti-platelet therapy. *Postep. Kardiol. Inter.*, 2012; 2: 156-159
- [8] Borgelt L.M., Franson K.L., Nussbaum A.M., Wang G.S.: The pharmacologic and clinical effects of medical cannabis. *Pharmacotherapy*, 2013; 33: 195-209
- [9] Bouchard J.F., Lépicier P., Lamontagne D.: Contribution of endocannabinoids in the endothelial protection afforded by ischemic preconditioning in the isolated rat heart. *Life Sci.*, 2003; 72: 1859-1870
- [10] Brantl S.A., Khandoga A.L., Siess W.: Mechanism of platelet activation induced by endocannabinoids in blood and plasma. *Platelets*, 2014; 25: 151-161
- [11] Braud S., Bon C., Touqui L., Mounier C.: Activation of rabbit blood platelets by anandamide through its cleavage into arachidonic acid. *FEBS Lett.*, 2000; 471: 12-16
- [12] Caraceni P., Viola A., Piscitelli F., Giannone F., Berzigotti A., Cescon M., Domenicali M., Petrosino S., Giampalma E., Riili A., Grazi G., Golfieri R., Zoli M., Bernardi M., Di Marzo V.: Circulating and hepatic endocannabinoids and endocannabinoid-related molecules in patients with cirrhosis. *Liver Int.*, 2010; 30: 816-825
- [13] Cascio M.G., Gauson L.A., Stevenson L.A., Ross R. A., Pertwee R.G.: Evidence that the plant cannabinoid cannabigerol is a highly potent α_2 -adrenoceptor agonist and moderately potent 5HT_{1A} receptor antagonist. *Br. J. Pharmacol.*, 2010; 159: 129-141
- [14] Chen P., Hu S., Yao J., Moore S.A., Spector A.A., Fang X.: Induction of cyclooxygenase-2 by anandamide in cerebral microvascular

endothelium. *Microvasc. Res.*, 2005; 69: 28-35

[15] Chouinard F., Lefebvre J.S., Navarro P., Bouchard L., Ferland C., Lalancette-Hébert M., Marsolais D., Laviolette M., Flamand N.: The endocannabinoid 2-arachidonoyl-glycerol activates human neutrophils: critical role of its hydrolysis and de novo leukotriene B4 biosynthesis. *J. Immunol.*, 2011; 186: 3188-3196

[16] Coetzee C., Levendal R.A., van de Venter M., Frost C.L.: Anticoagulant effects of a Cannabis extract in an obese rat model. *Phyto-medicine*, 2007; 14: 333-337

[17] Comelli F., Bettoni I., Colleoni M., Giagnoni G., Costa B.: Beneficial effects of a Cannabis sativa extract treatment on diabetes-induced neuropathy and oxidative stress. *Phytother. Res.*, 2009; 23: 1678-1684

[18] Dahdouh Z., Roule V., Lognone T., Sabatier R., Grollier G.: Cannabis and coronary thrombosis: What is the role of platelets? *Platelets*, 2012; 23: 243-245

[19] de Luis D.A., Izaola O., Aller R., de La Fuente B., Pacheco D.: Effects of C358A polymorphism of the endocannabinoid degrading enzyme fatty acid amide hydrolase (FAAH) on weight loss, adipocytokines levels, and insulin resistance after a high polyunsaturated fat diet in obese patients. *J. Endocrinol. Invest.*, 2013; 36: 965-969

[20] de Luis D.A., Sagrado M.G., Aller R., Izaola O., Conde R., Romero E.: C358A missense polymorphism of the endocannabinoid degrading enzyme fatty acid amide hydrolase (FAAH) and insulin resistance in patients with diabetes mellitus type 2. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2010; 88: 76-80

[21] Deanfield J.E., Halcox J.P., Rabelink T.J.: Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*, 2007; 115: 1285-1295

[22] Dejana E., Villa S., de Gaetano G.: Bleeding time in rats: a comparison of different experimental conditions. *Thromb. Haemost.*, 1982; 48: 108-111

[23] Deusch E., Kress H.G., Kraft B., Kozek-Langenecker S.A.: The procoagulatory effects of delta-9-tetrahydrocannabinol in human platelets. *Anesth. Analg.*, 2004; 99: 1127-1130

[24] Deutsch D.G., Goligorsky M.S., Schmid P.C., Krebsbach R.J., Schmid H.H., Das S.K., Dey S.K., Arreaza G., Thorup C., Stefano G., Moore L.C.: Production and physiological actions of anandamide in the vasculature of the rat kidney. *J. Clin. Invest.*, 1997; 100: 1538-1546

[25] Devane W.A., Hanus L., Breuer A., Pertwee R.G., Stevenson L.A., Griffin G., Gibson D., Mandelbaum A., Etinger A., Mechoulam R.: Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science*, 1992; 258: 1946-1949

[26] Di Marzo V.: The endocannabinoid system in obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2008; 51: 1356-1367

[27] Dlugos A.M., Hamidovic A., Hodgkinson C.A., Goldman D., Palmer A.A., de Wit H.: More aroused, less fatigued: fatty acid amide hydrolase gene polymorphisms influence acute response to amphetamine. *Neuropsychopharmacology*, 2010; 35: 613-622

[28] Domenicali M., Ros J., Fernández-Varo G., Cejudo-Martín P., Crespo M., Morales-Ruiz M., Briones A.M., Campistol J.M., Arroyo V., Vila E., Rodés J., Jiménez W.: Increased anandamide induced relaxation in mesenteric arteries of cirrhotic rats: role of cannabinoid and vanilloid receptors. *Gut*, 2005; 54: 522-527

[29] Elikowski W., Małek M., Kurosz J., Podkowińska A., Łukasik - Głębocka M., Zawilska K.: Ciężka zatowarłość płucna u młodego mężczyzny palącego regularnie marihuane. *Kardiol. Pol.*, 2011; 69: 1168-1170

[30] Engeli S.: Dysregulation of the endocannabinoid system in obesity. *J. Neuroendocrinol.*, 2008; 20, Suppl. 1: 110-115

[31] Erhardt L.: Cigarette smoking: an undertreated risk factor for cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 2009; 205: 23-32

[32] Félétou M., Dellazua O., Duhault J.: Serotonergic receptor

subtype in coronary artery smooth muscle from young and atherosclerotic rabbit. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1994; 268: 124-132

[33] Fonesca B.M., Costa M.A., Almada M., Correia-da-Silva G., Teixeira N.A.: Endogenous cannabinoids revisited: A biochemistry perspective. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.*, 2013; 102-103: 13-30

[34] Formukong E.A., Evans A.T., Evans F.J.: The inhibitory effects of cannabinoids, the active constituents of Cannabis sativa L., on human and rabbit platelet aggregation. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1989; 41: 705-709

[35] Fortenberry Y.M.: Plasminogen activator inhibitor-1 inhibitors: a patent review (2006-present). *Expert Opin. Ther. Pat.*, 2013; 23: 801-815

[36] Frost L., Mostofsky E., Rosenbloom J.I., Mukamal K.J., Mittleman M.A.: Marijuana use and long-term mortality among survivors of acute myocardial infarction. *Am. Heart J.*, 2013; 165: 170-175

[37] Furie B., Furie B.C.: Thrombus formation in vivo. *J. Clin. Invest.*, 2005; 115: 3355-3362

[38] Gallily R., Breuer A., Mechoulam R.: 2-Arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid, inhibits tumor necrosis factor- α production in murine macrophages, and in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 2000; 406: R5-R7

[39] Gaoni Y., Mechoulam R.: Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J. Am. Chem. Soc.*, 1964; 86: 1646-1647

[40] Gebremedhin D., Lange A.R., Campbell W.B., Hillard C.J., Harder D.R.: Cannabinoid CB₁ receptor of cat cerebral arterial muscle functions to inhibit L-type Ca²⁺ channel current. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 1999; 276: H2085-H2093

[41] Ghosh M., Wang H., Ai Y., Romeo E., Luyendyk J.P., Peters J.M., Mackman N., Dey S.K., Hla T.: COX-2 suppresses tissue factor expression via endocannabinoid-directed PPAR δ activation. *J. Exp. Med.*, 2007; 204: 2053-2061

[42] Giuffrida A., Rodriguez de Fonseca F., Nava F., Loubet-Lescoulié P., Piomelli D.: Elevated circulating levels of anandamide after administration of the transport inhibitor, AM404. *Eur. J. Pharmacol.*, 2000; 408: 161-168

[43] Golech S.A., McCarron R.M., Chen Y., Bembry J., Lenz F., Mechoulam R., Shohami E., Spatz M.: Human brain endothelium: coexpression and function of vanilloid and endocannabinoid receptors. *Brain Res. Mol. Brain Res.*, 2004; 132: 87-92

[44] Heiden D., Rodiven R., Jones R., Mielke C.H.Jr.: Effect of oral delta-9-tetrahydrocannabinol on coagulation. *Thromb. Res.*, 1980; 17: 885-889

[45] Herning R.I., Better W.E., Tate K., Cadet J.L.: Cerebrovascular perfusion in marijuana users during a month of monitored abstinence. *Neurology*, 2005; 64: 488-493

[46] Hillard C.J., Weinlander K.M., Stuhr K.L.: Contributions of endocannabinoid signaling to psychiatric disorders in humans: genetic and biochemical evidence. *Neuroscience*, 2012; 204: 207-229

[47] Ho E., Karimi Galougahi K., Liu C.C., Bhindi R., Figtree G.A.: Biological markers of oxidative stress: applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biol.*, 2013; 1: 483-491

[48] Ho W.S., Gardiner S.M.: Acute hypertension reveals depressor and vasodilator effects of cannabinoids in conscious rats. *Br. J. Pharmacol.*, 2009; 156: 94-104

[49] Ito T., Mishima Y., Ito A., Kameyama N., Harada H., Iwata O., Watanabe S., Ushijima K.: Propofol protects against anandamide-induced injury in human umbilical vein endothelial cells. *Kurume Med. J.*, 2011; 58: 15-20

[50] Janiak P., Poirier B., Bidouard J.P., Cadrouvele C., Pierre F., Gouraud L., Barbosa I., Dedio J., Maffrand J.P., Le Fur G., O'Connor S., Herbert J.M.: Blockade of cannabinoid CB1 receptors improves renal

- function, metabolic profile, and increased survival of obese Zucker rats. *Kidney Int.*, 2007; 72: 1345-1357
- [51] Jin R.C., Mahoney C.E., Coleman Anderson L., Ottaviano F., Croce K., Leopold J.A., Zhang Y.Y., Tang S.S., Handy D.E., Loscalzo J.: Glutathione peroxidase-3 deficiency promotes platelet-dependent thrombosis in vivo. *Circulation*, 2011; 123: 1963-1973
- [52] Jouanous E., Lapeyre-Mestre M., Micallef J., French Association of the Regional Abuse and Dependence Monitoring Centres (CEIP-A) Working Group on Cannabis Complications: Cannabis use: signal of increasing risk of serious cardiovascular disorders. *J. Am. Heart Assoc.*, 2014; 3: e000638
- [53] Karschner E.L., Schwilke E.W., Lowe R.H., Darwin W.D., Hering R.L., Cadet J.L., Huestis M.A.: Implications of plasma Δ^9 -tetrahydrocannabinol, 11-hydroxy-THC, and 11-nor-9-carboxy-THC concentrations in chronic cannabis smokers. *J. Anal. Toxicol.*, 2009; 33: 469-477
- [54] Keown O.P., Winterburn T.J., Wainwright C.L., Macrury S.M., Neilson I., Barrett F., Leslie S.J., Megson I.L.: 2-arachidonyl glycerol activates platelets via conversion to arachidonic acid and not by direct activation of cannabinoid receptors. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2010; 70: 180-188
- [55] Kotschy M., Kotschy D., Witkiewicz W.: The role of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in blood coagulation and in thrombotic complication. *Kardiol. Pol.*, 2010; 68: 1158-1162
- [56] Kozak K.R., Crews B.C., Morrow J.D., Wang L.H., Ma Y.H., Weinander R., Jakobsson P.J., Marnett L.J.: Metabolism of the endocannabinoids, 2-arachidonylglycerol and anandamide, into prostaglandin, thromboxane, and prostacyclin glycerol esters and ethanolamides. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 44877-44885
- [57] Kozłowska H., Baranowska M., Schlicker E., Kozłowski M., Lau-dański J., Malinowska B.: Identification of the vasodilatory endothelial cannabinoid receptor in the human pulmonary artery. *J. Hypertens.*, 2007; 25: 2240-2248
- [58] Lépiciér P., Bouchard J.F., Lagneux C., Lamontagne D.: Endocannabinoids protect the rat isolated heart against ischaemia. *Br. J. Pharmacol.*, 2003; 139: 805-815
- [59] Levy R., Schurr A., Nathan I., Dvilanski A., Livne A.: Impairment of ADP-induced platelet aggregation by hashish components. *Thromb. Haemost.*, 1976; 36: 634-640
- [60] Lobato N.S., Filgueira F.P., Prakash R., Giachini F.R., Ergul A., Carvalho M.H., Webb R.C., Tostes R.C., Fortes Z.B.: Reduced endothelium-dependent relaxation to anandamide in mesenteric arteries from young obese Zucker rats. *PLoS One*, 2013; 8: e63449
- [61] Maccarrone M., Bari M., Menichelli A., Del Principe D., Agró A.F.: Anandamide activates human platelets through a pathway independent of the arachidonate cascade. *FEBS Lett.*, 1999; 447: 277-282
- [62] Maccarrone M., Bari M., Menichelli A., Giuliani E., Del Principe D., Finazzi-Agró A.: Human platelets bind and degrade 2-arachidonoylglycerol, which activates these cells through a cannabinoid receptor. *Eur. J. Biochem.*, 2001; 268: 819-825
- [63] Maccarrone M., Finazzi-Agro A.: Platelet activation: a new vascular activity of anandamide. *FEBS Lett.*, 2000; 483: 84-85
- [64] MacIntyre J., Dong A., Straiker A., Zhu J., Howlett S.E., Bagher A., Denovan-Wright E., Yu D.Y., Kelly M.E.: Cannabinoid and lipid-mediated vasorelaxation in retinal microvasculature. *Eur. J. Pharmacol.*, 2014; 735: 105-114
- [65] Maeda N., Osanai T., Kushibiki M., Fujiwara T., Tamura Y., Oowada S., Higuma T., Sasaki S., Yokoyama J., Yoshimachi F., Matsunaga T., Hanada H., Okumura K.: Increased serum anandamide level at ruptured plaque site in patients with acute myocardial infarction. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 2009; 23: 351-357
- [66] Mahfouz M., Makar A.B., Ghoneim M.T., Mikhail M.: Effect of hashish on brain gamma aminobutyric acid system, blood fibrinolytic activity and glucose and some serum enzymes in the rat. *Pharmazie*, 1975; 30: 772-774
- [67] Malenczyk K., Jazurek M., Keimpema E., Silvestri C., Janikiewicz J., Mackie K., Di Marzo V., Redowicz M.J., Harkany T., Dobrzyn A.: CB₁ cannabinoid receptors couple to focal adhesion kinase to control insulin release. *J. Biol. Chem.*, 2013; 288: 32685-32699
- [68] McCollum T., Howlett A.C., Mukhopadhyay S.: Anandamide-mediated CB₁/CB₂ receptor-independent nitric oxide production in rabbit aortic endothelial cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2007; 321: 930-937
- [69] McEver R.P.: Adhesive interactions of leukocytes, platelets, and the vessel wall during hemostasis and inflammation. *Thromb. Haemost.*, 2001; 86: 746-756
- [70] McHugh D., Tanner C., Mechoulam R., Pertwee R.G., Ross R.A.: Inhibition of human neutrophil chemotaxis by endogenous cannabinoids and phytocannabinoids: evidence for a site distinct from CB₁ and CB₂. *Mol. Pharmacol.*, 2008; 73: 441-450
- [71] Mishima K., Hayakawa K., Abe K., Ikeda T., Egashira N., Iwasaki K., Fujiwara M.: Cannabidiol prevents cerebral infarction via a serotonergic 5-hydroxytryptamine_{1A} receptor-dependent mechanism. *Stroke*, 2005; 36: 1077-1082
- [72] Mittleman M.A., Lewis R.A., Maclure M., Sherwood J.B., Muller J.E.: Triggering myocardial infarction by marijuana. *Circulation*, 2001; 103: 2805-2809
- [73] Montisci M., Thiene G., Ferrara S.D., Basso C.: Cannabis and cocaine: a lethal cocktail triggering coronary sudden death. *Cardiovasc. Pathol.*, 2008; 17: 344-346
- [74] O'Sullivan S.E., Kendall D.A., Randall M.D.: The effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in rat mesenteric vasculature, and its interactions with the endocannabinoid anandamide. *Br. J. Pharmacol.*, 2005; 145: 514-526
- [75] O'Sullivan S.E., Randall M.D., Gardiner S.M.: The in vitro and in vivo cardiovascular effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in rats made hypertensive by chronic inhibition of nitric-oxide synthase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2007; 321: 663-672
- [76] O'Sullivan S.E., Sun Y., Bennett A.J., Randall M.D., Kendall D.A.: Time-dependent vascular actions of cannabidiol in the rat aorta. *Eur. J. Pharmacol.*, 2009; 612: 61-68
- [77] Pacher P., Bátkai S., Kunos G.: The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol. Rev.*, 2006; 58: 389-462
- [78] Pertwee R.G.: The pharmacology of cannabinoid receptors and their ligands: an overview. *Int. J. Obes.*, 2006; 30: S13-S18
- [79] 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
- [80] Peyrot I., Garsaud A.M., Saint-Cyr I., Quitman O., Sanchez B., Quist D.: Cannabis arteritis: a new case report and review of literature. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, 2007; 21: 388-391
- [81] Potter D.J.: A review of the cultivation and processing of cannabis (*Cannabis sativa* L.) for production of prescription medicines in the UK. *Drug Test. Anal.*, 2014; 6: 31-38
- [82] Quercioli A., Pataky Z., Vincenti G., Makoundou V., Di Marzo V., Montecucco F., Carballo S., Thomas A., Staub C., Steffens S., Seimbille Y., Golay A., Ratib O., Harsh E., Mach F., Schindler T.H.: Elevated endocannabinoid plasma levels are associated with coronary circulatory dysfunction in obesity. *Eur. Heart J.*, 2011; 32: 1369-1378
- [83] Rajesh M., Mukhopadhyay P., Haskó G., Liaudet L., Mackie K., Pacher P.: Cannabinoid-1 receptor activation induces reactive oxygen species-dependent and -independent mitogen-activated protein

kinase activation and cell death in human coronary artery endothelial cells. *Br. J. Pharmacol.*, 2010; 160: 688-700

[84] Robson P.: Therapeutic aspects of cannabis and cannabinoids. *Br. J. Psychiatry*, 2001; 178: 107-115

[85] Ross R.A., Craib S.J., Stevenson L.A., Pertwee R.G., Henderson A., Toole J., Ellington H.C.: Pharmacological characterization of the anandamide cyclooxygenase metabolite: prostaglandin E2 ethanolamide. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2002; 301: 900-907

[86] Ruggeri Z.M., Mendolicchio G.L.: Adhesion mechanisms in platelet function. *Circ. Res.*, 2007; 100: 1673-1685

[87] Russell J.C., Kelly S.E., Diane A., Wang Y., Mangat R., Novak S., Vine D.F., Proctor S.D.: Rimonabant-mediated changes in intestinal lipid metabolism and improved renal vascular dysfunction in the JCR:LA-cp rat model of prediabetic metabolic syndrome. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2010; 299: 507-516

[88] Sallusto F., Mackay C.R.: Chemoattractants and their receptors in homeostasis and inflammation. *Curr Opin. Immunol.*, 2004; 16: 724-731

[89] Sativex. GW Pharmaceuticals. www.gwpharm.com/Sativex.aspx (19.03.2016)

[90] Sauvanier M., Constans J., Skopinski S., Barcat D., Berard A., Parrot F., Guerin V., Vergnes C., Midy D., Baste J.C., Conri C.: Lower limb occlusive arteriopathy: retrospective analysis of 73 patients with onset before the age of 50 years. *J. Mal. Vasc.*, 2002; 27: 69-76

[91] Schrör K., Bretschneider E., Fischer K., Fischer J.W., Pape R., Rauch B.H., Rosenkranz A.C., Weber A.A.: Thrombin receptors in vascular smooth muscle cells - function and regulation by vasodilatory prostaglandins. *Thromb. Haemost.*, 2010; 103: 884-890

[92] Signorello M.G., Giacobbe E., Leoncini G.: Activation by 2-arachidonylglycerol of platelet p38MAPK/cPLA2 pathway. *J. Cell. Biochem.*, 2011; 112: 2794-2802

[93] Silverman A.Y., Darnell B.J., Montiel M.M., Smith C.G., Asch R.H.: Response of rhesus monkey lymphocytes to short-term administration of THC. *Life Sci.*, 1982; 30: 107-115

[94] Sipe J.C., Scott T.M., Murray S., Harismendy O., Simon G.M., Cravatt B.F., Waalen J.: Biomarkers of endocannabinoid system activation in severe obesity. *PLoS One*, 2010; 5: e8792

[95] Sipe J.C., Waalen J., Gerber A., Beutler E.: Overweight and obesity associated with a missense polymorphism in fatty acid amide hydrolase (FAAH). *Int. J. Obes.*, 2005; 29: 755-759

[96] Solomon D.H., Schneeweiss S., Glynn R.J., Kiyota Y., Levin R., Moqun H., Avorn J.: Relationship between selective cyclooxygenase-2 inhibitors and acute myocardial infarction in older adults. *Circulation*, 2004, 109: 2068-2073

[97] Stanley C., O'Sullivan S.E.: Vascular targets for cannabinoids: animal and human studies. *Br. J. Pharmacol.*, 2014; 171: 1361-1378

[98] Starowicz K.M., Cristino L., Matias I., Capasso R., Racioppi A., Izzo A.A., Di Marzo V.: Endocannabinoid dysregulation in the pancreas and adipose tissue of mice fed with a high-fat diet. *Obesity*, 2008; 16: 553-565

[99] Stefano G.B., Bilfinger T.V., Rialas C.M., Deutsch D.G.: 2-arachidonyl-glycerol stimulates nitric oxide release from human immune and vascular tissues and invertebrate immunocytes by cannabinoid receptor 1. *Pharmacol. Res.*, 2000; 42: 317-322

[100] Sugiura T., Kobayashi Y., Oka S., Waku K.: Biosynthesis and degradation of anandamide and 2-arachidonylglycerol and their

possible physiological significance. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*, 2002; 66: 173-192

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

[102] Ueda N., Tsuboi K., Uyama T.: Metabolism of endocannabinoids and related N-acyl ethanolamines: Canonical and alternative pathways. *FEBS J.*, 2013; 280: 1874-1894

[103] Wagner J.A., Varga K., Kunos G.: Cardiovascular actions of cannabinoids and their generation during shock. *J. Mol. Med.*, 1998; 76: 824-836

[104] Warzecha Z., Dembinski A., Ceranowicz P., Dembinski M., Cieszkowski J., Kownacki P., Konturek P.C.: Role of sensory nerves in gastroprotective effect of anandamide in rats. *J. Physiol. Pharmacol.*, 2011; 62: 207-217

[105] Watson S., Berlanga O., Best D., Frampton J.: Update on collagen receptor interactions in platelets: is the two-state model still valid? *Platelets*, 2000; 11: 252-258

[106] Wheal A.J., Bennett T., Randall M.D., Gardiner S.M.: Effects of chronic nitric oxide synthase inhibition on the cardiovascular responses to cannabinoids in vivo and in vitro. *Br. J. Pharmacol.*, 2007; 150: 662-671

[107] Wheal A.J., Randall M.D.: Effects of hypertension on vasorelaxation to endocannabinoids in vitro. *Eur. J. Pharmacol.*, 2009; 603: 79-85

[108] Yamaji K., Sarker K.P., Kawahara K., Iino S., Yamakuchi M., Abeyama K., Hashiguchi T., Murayama I.: Anandamide induces apoptosis in human endothelial cells: its regulation system and clinical implications. *Thromb. Haemost.*, 2003; 89: 875-884

[109] Zakrzaska A., Bogucka S., Szmraj J., Chabiłska E.: Effect of endocannabinoid - anandamide on oxidative stress during the formation of an arterial thrombus in rats - preliminary study. Conference "Analytical methods to study oxidative damage, antioxidants and drugs" Białystok, 10-13 November 2011. Book of Programme and Abstracts

[110] Zakrzaska A., Bogucka S., Szmraj J., Grędziński T., Chabiłska E.: Effect of endocannabinoid - anandamide on venous thrombus formation in rats. *New Frontiers in Basic Cardiovascular Research 2012*, S. 53-54, P-23. 10th Meeting of France - New EU Countries, Hradec Kralove, Czech Republic, June 12-15, 2012

[111] Zakrzaska A., Szoka P., Muszyńska A., Grędziński T., Kisiel W., Chabiłska E.: Antithrombotic effect of rimonabant - selective CB1 cannabinoid receptor antagonist in experimental models of thrombosis. Book of Abstracts 6th European Workshop on Cannabinoid Research; P057, Trinity College Dublin, Ireland, 18-20 April 2013

[112] Zamengo L., Frison G., Bettin C., Sciarone R.: Variability of cannabis potency in the Venice area (Italy): a survey over the period 2010-2012. *Drug Test Anal.*, 2014; 6: 46-51

[113] Zhang R., Brennan M.L., Fu X., Aviles R.J., Pearce G.L., Penn M.S., Topol E.J., Sprecher D.L., Hazen S.L.: Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA*, 2001; 286: 2136-2142

[114] Zhang X., Maor Y., Wang J.F., Kunos G., Groopman J.E.: Endocannabinoid-like N-arachidonoyl serine is a novel pro-angiogenic mediator. *Br. J. Pharmacol.*, 2010; 160: 1583-1594

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.