

Wpływ kanabinoidów na kształtowanie odpowiedzi oddechowo-ciśnieniowej w modelu zwierzęcym

BEATA KOPCZYŃSKA

Zakład Farmakologii Doświadczalnej, Pracownia Odruchów Oddechowych
Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN, ul. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa

Kopczyńska B.

Cannabinoids' influence on cardio-respiratory response in an animal model

Summary

Cannabinoids, the active components of *Cannabis sativa*, and their derivatives produce a wide spectrum of physiological effects mediated by two different types of receptors: G protein coupled cannabinoid receptor CB1 and transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1). The afferent vagal pathway modulates the cardio-respiratory response to cannabinoids. The present article summarizes the cardio-respiratory effects of selected cannabinoids: endogenous anandamide and a novel drug arvanil, a metabolically stable hybrid between anandamide and capsaicin.

An intravenous administration of anandamide in rats induces apnoea coupled with hypotension and evokes the decrease in the tidal volume at the early phase of reinitiated breathing. The inhibition of respiration and depression of blood pressure produced by anandamide are mediated via vagal peripheral input to the respiratory center in the medulla, while the nodose ganglia are essential in the observed phenomena. Post-anandamide apnoea and hypotension are mediated by both TRPV1 and CB1 receptors but the decline of tidal volume evoked by anandamide might depend on receptors of a different type.

An administration of arvanil produced an increase of tidal volume and diaphragm activity, hypertension coupled with a fall in respiratory rate. The post-arvanil rise of tidal volume was mediated by both TRPV1 and CB1 receptors. Only vanilloid receptors seemed to be involved in the increase of diaphragm activity and decrease of respiratory frequency. Hypertensive response to arvanil might depend on receptors of a different type. The respiratory effects elicited by arvanil require intact midcervical vagi. Supranodose vagotomy failed to eliminate the hypertension evoked by arvanil. This implies that post-arvanil hypertension could be co-mediated by both vagal and extravagal pathways. The mechanism of cardio-respiratory effects of cannabinoids is worth exploring on account of their anti-tumor and anti-inflammatory actions and the possible usage of cannabinoids and their derivatives as drugs.

Keywords: cannabinoids, cardio-respiratory response, animal model

Nazwę kanabinoidy nadano w latach 40. psychoaktywnym terpenofenolom wyizolowanym z konopia siewnego (*Cannabis sativa*), którego najbardziej znanymi przetworami są marihuana – suszone kwiatostany konopia i haszysz – jego żywica.

Najpopularniejszym związkiem decydującym o aktywności psychodysleptycznej pochodzącym z konopia siewnego jest Δ^9 -THC [(-)-trans- Δ^9 -tetrahydrokanabinol]. W konopiach wykryto ponad 400 substancji, a około 60 z nich wykazywało podobną strukturę i działanie jak Δ^9 -THC. Od nazwy rośliny, z której je wyizolowano, zostały nazwane kanabinoidami.

Konopie stosowano od wieków zarówno do celów medycznych, jak i dla ich działania euforycznego czy halucynogennego, jednak dopiero od niedawna bada się mechanizm ich działania. Obecnie przedmiotem

zainteresowania jest działanie przeciwbólowe, przeciwspastyczne, przeciwzapalne i antyoksydacyjne kanabinoidów, a także ich wpływ na układ immunologiczny.

W 1988 r. odkryto, że substancje te oddziałują na uprzednio nieznanne błonowe metabotropowe receptory należące do grupy receptorów sprzężonych z białkiem G (GPCR), występujące przede wszystkim w układzie nerwowym i odpornościowym, ale także m.in. w płucach i w drogach oddechowych. Zostały one nazwane receptorami kanabinoidowymi. Znane są dwa typy receptorów kanabinoidowych, receptory CB1 i CB2, podejrzewa się istnienie trzeciego typu, CB3. Receptory CB1 występują głównie w mózgu, a także śledzionie, migdałkach, nadnerczach, sercu, jajnikach, jądrach, jelitach oraz w płucach (19), a receptory CB2

– na komórkach układu odpornościowego i krwiotwórczego (31). Począwszy od 1992 r. odkryto kilka endogennych ligandów receptorów kanabinoidowych (endokanabinoidów).

Obecnie nazwą kanabinoidy obejmowane są wszystkie ligandy receptorów kanabinoidowych (41). Wyróżnia się wśród nich cztery grupy:

– kanabinoidy klasyczne bądź naturalne, do których należą substancje o charakterze terpenofenoli, występujące naturalnie w liściach i wierzchołkach kwiatostanów konopia siewnego (fitokanabinoidy) np. Δ^9 -THC, Δ^8 -THC kanabinol, kanabidiol, a także inne i ich analogi syntetyczne np. HU-210 i HU-243,

– kanabinoidy nieklasyczne, np. AC-bicykliczny CP-55940, ACD-tricykliczny CP-55244 oraz syntetyczna hybrydowa substancja będąca połączeniem anandamidu i agonisty receptorów waniloidowych TRPV1 kapsaicyny, będącej alkaloidem zawartym w owocach czerwonej papryki i agonistą tych receptorów – arvanil,

– związki kanabinomimetyczne, takie jak aminoalkilindole, np. WIN-55212-2,

– endokanabinoidy, produkowane naturalnie w organizmie związki kanabinomimetyczne, które są pochodnymi kwasu arachidonowego np. anandamid, 2-arachidonyloglicerol (2-AG) oraz palmityloetanoloamid (18, 19).

Wiele kanabinoidów jest jednocześnie ligandami receptorów waniloidowych TRPV1 (transient receptor potential vanilloid type 1). Receptory te umieszczone są w ciałach komórek nerwowych, aksonach i zakończeniach czuciowych (47). Wykryto je w zwojach czuciowych somatycznych (nerw trójdzielny, korzenie grzbietowe) i trzewnych (guzkowy), obwodowo w nerwie błędnym i kulszowym, w rogach grzbietowych rdzenia kręgowego, w jądrze pasma samotnego i jądrze rdzeniowym nerwu trójdzielnego (42). Agonistą tych receptorów jest kapsaicyna, pierwotnie uzyskiwana z pieprzu i ostrej papryki rodzaju *Capsacium* (odpowiada za ostry smak tych przypraw), obecnie jest otrzymywana także za pomocą syntezy chemicznej. Oddziałuje na włókna sensoryczne za pośrednictwem receptorów waniloidowych (TRPV1) (3). Receptory te są charakterystyczne dla cienkich włókien czuciowych, a ich immunoreaktywność względem receptora TRPV1 jest uważana za ważny marker peptyderygicznych włókien sensorycznych (15). Receptory te znajdują się zarówno w obrębie włókien czuciowych wchodzących w skład nerwów rdzeniowych, jak i gałęzi nerwu trójdzielnego. Ich aktywacji towarzyszy wydzielanie nie tylko peptydów związanych z genem kalcytoniny (CGRP) i substancji P, ale także innych neurokinin (16).

Charakterystyka anandamidu i arvanilu

Kanabinoidami stymulującymi zarówno receptory kanabinoidowe, jak i waniloidowe są anandamid i arvanil. Stwierdzono, że substancje te wykazują między

innymi właściwościami przeciwwzapalne i przeciwnowotworowe, co daje nadzieję na wykorzystanie ich jako potencjalnych leków.

Anandamid (arachidonyletanolamid) – endokanabinoid wyodrębniony z mózgu świni w 1992 r. – powstaje w wyniku hydrolizy fosfolipidowego prekursora N-arachidonoylo-fosfatidyletanolamidu, prowadzonej przez Ca^{2+} -zależną fosfolipazę D. Farmakologia anandamidu jest złożona: działa on nie tylko na błonowe receptory CB1 i CB2, ale także na błonowe receptory waniloidowe TRPV1 zwane receptorami kapsaicynowymi i będące nioselektywnymi kanałami kationowymi pobudzonymi przez różne bodźce nociceptywne. Ponadto anandamid działa na wewnątrzkomórkowe receptory jądrowe aktywowane przez proliferatory peroksysomów (PPAR) (41). Jego inaktywacja jest katalizowana enzymatycznie, głównie przez amidohydrolazę kwasów tłuszczowych (FAAH). Anandamid i inne endokanabinoidy są wytwarzane w tkankach w początkowej fazie wielu procesów patologicznych i działają podobnie do niesterydowych leków przeciwwzapalnych (NSAID) (35, 41). Anandamid podawany układowo lub miejscowo wykazuje działanie przeciwbólowe, przeciwwzapalne i przeciwnowotworowe (12). W odniesieniu do płuc opublikowano trzy doniesienia o jego działaniu przeciwwzapalnym. U świnek morskich substancja ta podawana dożylnie częściowo zapobiegała akumulacji granulocytów i uszkodzeniom śródbłonna w płucach w modelu farmakologicznej wywołanej astmy (40) i hamowała aktywację płucnych receptorów C, wygaszając neurogeną składową zapalenia płuc (48). Podana inhalacyjnie znacznie redukowała skurcz oskrzeli wywołany działaniem jednego z mediatorów procesu zapalnego, leukotrienu D4 (40). Endogennie uwalniany z błon komórkowych anandamid, który działa parakrynnie, musi ulegać precyzyjnie kontrolowanej inaktywacji. W tym celu musi on wejść do komórki i wewnątrzkomórkowo przedostać się do miejsc, w których zlokalizowany jest rozkładający go enzym FAAH, czyli do błon retikulum endoplazmatycznego (17). Anandamid jest słabo rozpuszczalnym w wodzie lipidem, a niektórzy autorzy uważają, że jego swobodna dyfuzja przez cytozol byłaby bardzo powolna i musi być ułatwana przez białka opiekuńcze. Mogą nimi być białka wiążące kwasy tłuszczowe (FABP) (17), albumina i białka szoku cieplnego Hsp70 (32).

Arvanil (N-(3-metoksy-4-hydroksybenzyl)-arachidonoylamid) jest strukturalną „hybrydą” ligandu receptorów kanabinoidowych anandamidu i ligandu receptorów waniloidowych TRPV1 kapsaicyny. Wykazuje powinowactwo do receptorów CB1 porównywalne z anandamidem i jednocześnie jest silniejszym niż kapsaicyna agonistą receptorów TRPV1. Interesującą różnicę pomiędzy anandamidem i arvanilem wykazały badania z użyciem modelu neurotoksyczności powodowanej inhibicją Na^+/K^+ -ATPazy przy pomocy ouabainy *in vivo*. Obie substancje wykazywały aktyw-

ność neuroprotekcijną (przeciwobrzękową). W przypadku arvanilu aktywność ta była w całości związana z jego oddziaływaniem na receptory CB1 i waniloidowe. Jednak w przypadku anandamidu późna składowa neuroprotekcijnej aktywności związana była w całości z oddziaływaniem na receptory CB1, ale wczesna składowa nie była zależna ani od receptorów CB1, ani TRPV1, tylko od innego niezidentyfikowanego mechanizmu (45). Efekty oddechowo-ciśnieniowe podania arvanilu (21) były również zupełnie odmienne od efektów podania anandamidu (22).

Wpływ kanabinoidów na kształtowanie odpowiedzi oddechowo-ciśnieniowej

Badanie oddziaływania wybranych kanabinoidów (anandamidu i arvanilu) na oddychanie i ciśnienie, a także udziału receptorów CB1 i TRPV1 w efektach oddechowo-ciśnieniowych nie jest przypadkowe. Z danych piśmiennictwa (nielicznych dotyczących arvanilu) wynika, iż mają one silne działanie przeciwzapalne i przeciwnowotworowe (12, 40). Dokładne poznanie działania tych substancji ułatwiłoby ich ewentualne użycie jako środków profilaktycznych chroniących np. przed chorobami zapalnymi płuc.

Użycie wybranych kanabinoidów jako profilaktycznych środków przeciwzapalnych warunkowane jest poznanie i opisaniem mechanizmów wpływu kanabinoidów na oddychanie i ciśnienie krwi oraz próbą ustalenia udziału receptorów kanabinoidowych i waniloidowych w kształtowaniu wzorca oddechowego i ciśnieniowego.

Wykazano, że wstrzyknięcie anandamidu do krążenia płucnego wywołuje bezdech, bradykardię (22, 24, 27) i spadek ciśnienia tętniczego (26, 28, 44) pobudza aferentne włókna czuciowe typu C w płucach.

Dożylna iniekcja anandamidu prowadzi do trójfazowej odpowiedzi ciśnieniowej polegającej na nagłym, gwałtownym spadku ciśnienia krwi (faza I), po którym następuje krótkotrwały wzrost ciśnienia (faza II), a na końcu obserwowana jest długotrwała hipotensja i bradykardia (faza III) (28, 33). Stwierdzono, że u szczurów za powstanie fazy I i II odpowiada pobudzenie receptorów TRPV1 (25), a za fazę III aktywacja receptorów CB1 (22, 28).

Uznaje się, że pobudzenie receptorów CB1 przy użyciu Δ^9 -tetrahydrokanabinolem wywołuje depresję oddychania zarówno u czuwających, jak i uśpionych szczurów (13, 37, 46), a także u kotów kontrolnych oraz wagotomizowanych w odcinku szyjnym (13). Po podaniu anandamidu u szczurów występuje bezdech (22, 24, 27), a przywrócone po bezdechu oddychanie charakteryzuje się obniżoną objętością oddechową (22, 24). Odruch ten zależy od ciągłości nerwu błędnego w odcinku ponad zwojami guzkowymi (24). Za wystąpienie bezdechu wywołanego anandamidem odpowiadają obydwa typy receptorów TRPV1 i CB1. Obniżenie objętości oddechowej w przywróconym po

bezdechu oddychaniu zależy od innego typu receptorów niż wymienione powyżej (22).

Arvanil pobudza zarówno receptory kanabinoidowe CB1, jak i receptory waniloidowe TRPV1. Działa on również jako inhibitor transportera anandamidu (30). Według niektórych autorów, arvanil może pobudzać receptory CB1 przez fakt, że pośrednio podnosi poziom anandamidu. Arvanil i anandamid posiadają podobne powinowactwo receptorów CB1 (12), a jednak to arvanil jest funkcjonalnie silniejszym aktywatorem tych receptorów niż sam anandamid (11). Arvanil jest również silniejszym aktywatorem receptorów waniloidowych niż jego składowa – kapsaicyna (9, 36). Arvanil zmniejsza hiperkinezę u szczurów w zwierzęcym modelu choroby Huntingtona (8, 10), łagodzi napięcia mięśniowe, ból (1) oraz objawy stwardnienia rozsianego w szczurzym modelu tej choroby (2). Stwierdzono również, że arvanil posiada właściwości przeciwnowotworowe (7) i przeciwzapalne (10, 12).

Arvanil jako związek hybrydowy, będący agonistą receptorów kanabinoidowych CB1 i waniloidowych TRPV1, posiada właściwości obu swoich składowych – kapsaicyny pobudzającej receptory TRPV1 i anandamidu – stymulującego oba wspomniane typy receptorów. Podanie kapsaicyny kotom (43), czasem szczurom (39) oraz śwince morskiej (4) wywołuje u zwierząt bezdech, tak jak iniekcja anandamidu (22, 24, 27). W przypadku kapsaicyny bezdech i inne elementy odpowiedzi oddechowej eliminowane były przez wago-tomię szyjną, co potwierdzało udział płucnych włókien typu C (5, 14, 34, 43).

Oddechowo-ciśnieniowa reakcja na podanie anandamidu (depresja oddychania wraz ze spadkiem ciśnienia krwi) eliminowana była przez przecięcie nerwów błędnych ponad zwojami guzkowymi, co wskazuje na udział w tej odpowiedzi zwojów guzkowych, a także impulsu przewodzonego do ośrodka oddechowego w mózgu (24).

Wzorzec reakcji oddechowo-ciśnieniowej występujący po podaniu arvanilu różnił się od tego obserwowanego u poszczególnych jego składowych. Wzrostowi objętości oddechowej i aktywności przepony towarzyszyło spowolnienie oddychania, a odpowiedź tę eliminowało wykonanie wago-tomii w odcinku szyjnym. Wago-tomia szyjna eliminowała także pokapsaicynową depresję oddychania. Odpowiedź oddechowa na iniekcję arvanilu jest modelowana przede wszystkim aktywacją płucnych włókien typu C zależnych od stymulacji receptorów TRPV1 (20).

Jak już wspomniano, arvanil aktywuje dwa typy receptorów (CB1 i TRPV1), które często umieszczone są w wielu obszarach organizmu po sąsiedzku, na przykład w mózgu gryzoni (6, 29, 38).

Ustalono wzorzec odpowiedzi oddechowej oraz ciśnieniowej wywołanej dożylnym podaniem kanabinoidów: występującego endogennie anandamidu oraz wytworzonego syntetycznie arvanilu (tab. 1). Odpowiedź na dożylnie podanie anandamidu to: krótkotrwały

bezdech, oddychanie przywrócone po bezdechu charakteryzujące się obniżoną objętością, któremu towarzyszy znaczny spadek ciśnienia (24). Odpowiedź na podanie arvanilu jest zupełnie odmienna. Arvanil nie wywołuje bezdechu. Oddychanie po podaniu arvanilu ulega spowolnieniu, ale charakteryzuje się wzrostem objętości oddechowej. Zmianom tym towarzyszy znaczne podwyższenie ciśnienia (21).

Określono również udział dróg wagalnych w regulowaniu odpowiedzi oddechowo-ciśnieniowej na badane kanabinoide. Zarówno efekt oddechowy, jak i ciśnieniowy anandamidu znoszony jest

przez wykonanie wagoatomii nadguzkowej (24). Wzrost objętości oddechowej oraz spadek częstości oddychania wywołane podaniem arvanilu eliminowane są przez wagoatomie szyjną. Odpowiedź ciśnieniowa na arvanil nie zależy od dróg wagalnych (20).

Udało się ustalić udział receptorów kanabinoidowych CB1 oraz waniloidowych TRPV1 w modulacji efektów oddechowo-ciśnieniowych uzyskanych przez podanie badanych kanabinoidów. Za powstawanie bezdechu oraz za obniżenie ciśnienia indukowanego anandamidem współodpowiedzialne są zarówno receptory kanabinoidowe CB1, jak i waniloidowe TRPV1. Za zmiany objętości i częstości oddychania występujące po podaniu anandamidu odpowiedzialne są prawdopodobnie inne typy receptorów, tzw. nie CB1 i nie TRPV1 (22). Wzrost objętości oddechowej wywołany iniekcją arvanilu modulowany jest zarówno przez receptory CB1, jak i receptory TRPV1. Zwolnienie oddychania zależy jedynie od aktywacji receptorów waniloidowych. Hipertensja występująca po arvanilu zależy prawdopodobnie od pobudzenia innych typów receptorów (21).

Perspektywy zastosowania kanabinoidów jako substancji profilaktycznych w chorobach zapalnych płuc

Znając już możliwe reakcje oddechowo-ciśnieniowe organizmu na podanie kanabinoidów oraz mechanizmy ich modulowania przez drogi wagalne, a także przez odpowiednie receptory, można było przystąpić do badań nad praktycznym zastosowaniem tych substancji jako potencjalnych leków. Ostatnio prowadzono badania nad wpływem anandamidu na ekspresję białek Hsp. Wewnątrzkomórkowa ekspresja białek szoku cieplnego, w tym w szczególności należących do rodziny Hsp70, jest uniwersalną metodą „uodporniania” komórek na czynniki stresowe. Sugerowano, że wywołana farmakologicznie indukcja Hsp70 mogłaby być skuteczna w leczeniu oraz profilaktyce za-

Tab. 1. Wpływ kanabinoidów na kształtowanie odpowiedzi oddechowo-ciśnieniowej w modelu zwierzęcym

Wzorzec oddechowy	Anandamid			Arvanil	
		udział dróg wagalnych	udział receptorów	udział dróg wagalnych	udział receptorów
Bezdech	+		CB1/TRPV1	-	
Objętość oddechowa	↓	Odpowiedź eliminowana przez wagoatomie nadguzkową	Inne receptory	↑	Odpowiedź eliminowana przez wagoatomie szyjną CB1/TRPV1
Częstość oddychania	↓	Odpowiedź eliminowana przez wagoatomie nadguzkową	Inne receptory	↓	Odpowiedź eliminowana przez wagoatomie szyjną TRPV1
Ciepłota krwi	↓	Odpowiedź eliminowana przez wagoatomie nadguzkową	CB1/TRPV1	↑	Odpowiedź pozostaje po wagoatomii szyjnej i nadguzkowej Inne receptory

palenia. Znanych jest wiele substancji chemicznych indukujących białka Hsp70 w komórkach, w większości są one jednak toksyczne, a więc medycznie bezużyteczne. Możliwość indukcji ekspresji cytozolowych białek Hsp przez kanabinoide nie była dotychczas brana pod uwagę. Wstępne badania wykazały, że anandamid pobudza ekspresję białek Hsp w płucach (23), co daje nadzieję na praktyczne zastosowanie go w profilaktyce chorób zapalnych płuc. Wymaga to jednak przeprowadzenia dalszych badań.

Piśmiennictwo

- Brooks J. W., Pryce G., Bisogno T., Jaggar S. I., Hankey D. J. R., Brown P., Bridges D., Ledent C., Bifulco M., Rice A. S. C., Di Marzo V., Baker D.: Arvanil-induced inhibition of spasticity and persistent pain: evidence for therapeutic sites of action different from the vanilloid VR1 receptor and cannabinoid CB1/CB2 receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 2002, 439, 83-92.
- Cabranes A., Venderova K., de Lago E., Fezza F., Sánchez A., Mestre L., Valenti M., Garcia-Merino A., Ramos J. A., Di Marzo V., Fernández-Ruiz J.: Decreased endocannabinoid levels in the brain and beneficial effects of agents activating cannabinoid and/or vanilloid receptors in a rat model of multiple sclerosis. *Neurobiol. Dis.* 2005, 20, 207-217.
- Caterina M. J., Schumacher M. A., Tominaga M., Rosent T. A., Levine J. D., Julius D.: The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 1997, 389, 816-824.
- Chou Y.-L., Scarupa M. D., Mori N. J., Canning B. J.: Differential effects of airway afferent nerve subtypes on cough and respiration in anesthetized guinea pigs. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2008, 295, R1572-R1584.
- Coleridge J. C. G., Coleridge H. M.: Afferent vagal C fibre innervation of the lungs and airways and its functional significance. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 1984, 99, 1-110.
- Cristino L., de Petrocellis L., Pryce G., Baker D., Guglielmotti V., Di Marzo V.: Immunohistochemical localization of cannabinoid type 1 and vanilloid transient receptor potential vanilloid type 1 receptors in the mouse brain. *Neuroscience* 2006, 139, 1405-1415.
- De Lago E., Gustafsson S. B., Fernández-Ruiz J., Nilsson J., Jacobsson S. O. P., Fowler C. J.: Acyl-based anandamide uptake inhibitor cause rapid toxicity to C6 glioma cells at pharmacologically relevant concentrations. *J. Neurochem.* 2006, 99, 677-688.
- De Lago E., Urbani P., Ramos J. A., Di Marzo V., Fernández-Ruiz J.: Arvanil, a hybrid endocannabinoid and vanilloid compound, behaves as an antihyperkinetic agent in a rat model of Huntington's disease. *Brain Res.* 2005, 1050, 210-216.
- De Petrocellis L., Melck D., Bisogno T., Di Marzo V.: Endocannabinoids and fatty acid amides in cancer, inflammation and related disorders. *Chem. Phys. Lipids* 2000, 108, 191-209.

10. Di Marzo V, Bisogno T, De Petrocellis L.: Anandamide: some like it hot. *Trends Pharmacol. Sci.* 2001, 22, 346-349.
11. Di Marzo V, De Petrocellis L, Fezza F, Ligresti A, Bisogno T.: Anandamide receptors. *Prostag. Leukotr. Ess.* 2002, 66, 377-391.
12. Di Marzo V, Melck D., De Petrocellis L., Bisogno T.: Cannabimimetic fatty acid derivatives in cancer and inflammation. *Prostaglandins* 2000, 61, 43-61.
13. Doherty P. A., McCarthy L. E., Borison H. L.: Respiratory and cardiovascular depressant effects of nabilone, N-methyllevonantradol and Δ^9 -tetrahydrocannabinol in anaesthetized cats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1983, 227, 508-516.
14. Haxiu M. A., Lunteren van E., Deal E. C., Cherniack N. S.: Effect of stimulation of pulmonary C-fiber receptors on canine respiratory muscles. *J. Appl. Physiol.* 1988, 65, 1087-1092.
15. Holzer P.: Capsaicin as a tool for studying neuron functions, [w:] Costa M.: *Sensory Nerves and Neuropeptides in Gastroenterology: from Basis Science to Clinical Perspectives.* Plenum Press, New York 1991, 3-16.
16. Hou M., Uddman R., Tajti J., Kanje M., Edvinsson L.: Capsaicin receptor immunoreactivity in the human trigeminal ganglion. *Neurosci. Lett.* 2002, 33, 223-226.
17. Kaczocha M., Glaser S. T., Deutsch D. G.: Identification of intracellular carriers for the endocannabinoid anandamide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2009, 106, 6375-6380.
18. Kazula A.: Zastosowanie naturalnych kannabinoidów i endokannabinoidów w terapii. *Postepy Farmakoterapii* 2009, 65, 147-160.
19. Konarska L., Ellert A.: Receptory kanabinoidowe, [w:] Nowak J. Z., Zawilska J.: *Receptory i mechanizmy przekazywania sygnału.* Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2004.
20. Kopczyńska B.: Midcervical vagotomy precludes respiratory response to novel anti-inflammatory and anti-tumour drug arvanil in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2010, 643, 101-106.
21. Kopczyńska B.: Role of VR1 and CB1 receptors in modelling of cardio-respiratory response to arvanil, an endocannabinoid and vanilloid hybrid, in rats. *Life Sci.* 2008, 83, 85-91.
22. Kopczyńska B.: The contribution of VR1 and CB1 receptors and the role of the afferent vagal pathway in modelling of cardio-respiratory effects of anandamide in rats. *Life Sci.* 2007, 80, 1738-1745.
23. Kopczyńska B., Sulejczak D., Welniak-Kamińska M., Gietka A., Grieb P.: Immunohistochemiczna ocena wpływu dożylnego podania anandamidu na ekspresję białek szoku cieplnego Hsp70 i Hsp25 w płucach. Porównanie metody „klasycznej” i metody opartej na wykorzystaniu kropek kwantowych. *Streszcz. V Zjazdu Pol. Tow. Farmakologii Klinicznej i Terapii: „Metody molekularne w farmakologii klinicznej od teorii do zastosowań”.* Poznań, 19. XI. 2009, s. 28.
24. Kopczyńska B., Szereda-Przestaszewska M.: Supranodose vagotomy eliminates anandamide-evoked cardiorespiratory depression in anaesthetized rats. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2006, 152, 143-151.
25. Kwolek G., Zakrzewska A., Schlicker E., Göthert M., Godlewski G., Malinowska B.: Central and peripheral components of the pressor effect of anandamide in urethane-anaesthetized rats. *Brit. J. Pharmacol.* 2005, 145, 567-575.
26. Lake K. D., Compton D. R., Varga K., Martin B. R., Kunos G.: Cannabinoid-induced hypotension and bradycardia in rats is mediated by CB1-like cannabinoid receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997, 281, 1030-1037.
27. Lin Y. S., Lee L.-Y.: Stimulation of pulmonary vagal C-fibers by anandamide in anaesthetized rats: role of vanilloid type 1 receptors. *J. Physiol.* 2002, 539, 947-955.
28. Malinowska B., Kwolek G., Göthert M.: Anandamide and methanandamide induce both vanilloid VR1- and cannabinoid CB1 receptor-mediated changes in heart rate and blood pressure in anaesthetized rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2001, 364, 562-569.
29. Marinelli S., Di Marzo V., Florenzano F., Fezza F., Viscomi M. T., van der Stelt M., Bernardi G., Molinari M., Maccarrone M., Mercuri N. B.: N-arachidonoyldopamine tunes synaptic transmission onto dopaminergic neurons by activating both cannabinoid and vanilloid receptors. *Neuropsychopharmacol.* 2007, 32, 298-308.
30. Melck D., Bisogno T., De Petrocellis L., Chuang H., Julius D., Bifulco M., Di Marzo V.: Unsaturated long-chain N-acyl-vanillyl-amides (N-AVAMs): vanilloid receptor ligands that inhibit anandamide-facilitated transport and bind to CB1 cannabinoid receptors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999, 262, 275-284.
31. Mouslech Z., Valla V.: Endocannabinoid system: An overview of its potential in current medical practice. *Neuro Endocrinol. Lett.* 2009, 30, 153-179.
32. Oddi S., Fezza F., Pasquariello N., D'Agostino A., Catanzaro G., De Simone C., Rapino C., Finazzi-Agro A., Maccarrone M.: Molecular identification of albumin and Hsp70 as cytosolic anandamide-binding proteins. *Chemistry Biology* 2009, 16, 624-632.
33. Pacher P., Bátkai S., Kunos G.: Haemodynamic profile and responsiveness to anandamide of TRPV1 receptor knock-out mice. *J. Physiol.* 2004, 558, 647-657.
34. Paleček F., Sant' Ambrogio G., Sant' Ambrogio F. B., Mathew O. P.: Reflex responses to capsaicin: intravenous, aerosol and intratracheal administration. *J. Appl. Physiol.* 1989, 67, 1428-1437.
35. Petrosino S., Di Marzo V.: FAAH and MAGL inhibitors: therapeutic opportunities from regulating endocannabinoid levels. *Curr. Opin. Investig. Drugs* 2010, 11, 51-62.
36. Ross R. A., Gibson T. M., Brockie H. C., Leslie M., Pashmi G., Craib S. J., Di Marzo V., Perwee R. G.: Structure-activity relationship for the endogenous cannabinoid, anandamide, and certain of its analogues at vanilloid receptors in transfected cells and vas deferens. *Brit. J. Pharmacol.* 2001, 132, 631-640.
37. Schmid K., Niederhoffer N., Szabo B.: Analysis of the respiratory effects of cannabinoids in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2003, 368, 301-308.
38. Sharkey K. A., Cristino L., Oland L. D., Van Sickle M. D., Starowicz K., Pittman Q. J., Guglielmotti V., Davison J. S., Di Marzo V.: Arvanil, anandamide and N-arachidonoyl-dopamine (NADA) inhibit emesis through cannabinoid CB1 and vanilloid TRPV1 receptors in the ferret. *Eur. J. Neurosci.* 2007, 25, 2773-2782.
39. Smith P. J. W., McQueen D. S.: Anandamide induces cardiovascular and respiratory reflexes via vasosensory nerves in the anaesthetized rat. *Br. J. Pharmacol.* 2001, 134, 655-663.
40. Stengel P. W., Cockerham S. L., Silbaugh S. A.: Inhaled anandamide reduces leukotriene D4- induced airway obstruction in guinea pig. *Eur. J. Pharmacol.* 2007, 557, 66-68.
41. Sun Y., Bennett A.: Cannabinoids: A new group of agonists of PPARs. *PPAR Res.* 2007, 2007, 23513.
42. Szallasi A., Nillsson S., Forkas-Szallasi T., Blumberg P. M., Hökfelt T., Lundberg J. M.: Vanilloid (capsaicin) receptors in the rat: distribution in the brain, regional differences in the spinal cord, axonal transport to the periphery, and depletion by systemic vanilloid treatment. *Brain Res.* 1995, 703, 175-183.
43. Szereda-Przestaszewska M., Wypych B.: Laryngeal constriction produced by capsaicin in the cat. *J. Physiol. Pharmacol.* 1996, 47, 351-360.
44. Varga K., Lake K., Martin B. R., Kunos G.: Novel antagonist implicates the CB1 cannabinoid receptor in the hypotensive action of anandamide. *Eur. J. Pharmacol.* 1995, 278, 279-283.
45. Veldhuis W. B., van der Stelt M., Wadman M. W., van Zadelhoff G., Maccarrone M., Fezza F., Veldink G. A., Vliegthart J. F., Bär P. R., Nicolay K., Di Marzo V.: Neuroprotection by the endogenous cannabinoid anandamide and arvanil against in vivo excitotoxicity in the rat: role of vanilloid receptors and lipoxygenases. *J. Neurosci.* 2003, 23, 4127-4133.
46. Vivian J. A., Kishioka S., Butelman E. R., Broadbauer J., Lee K. O., Woods J. H.: Analgesic, respiratory and heart rate effects of cannabinoid and opioid agonists in Rhesus monkeys: antagonist effects of SR 141716A. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1998, 286, 697-703.
47. Wood J. N., Docherty R.: Chemical activators of sensory neurons. *Annu. Rev. Physiol.* 1997, 59, 417-482.
48. Yoshihara S., Morimoto H., Otori M., Yamada Y., Abe T., Arisaka O.: Endogenous cannabinoid receptor agonists inhibit neurogenic inflammations in guinea pig airways. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2005, 138, 80-87.

Adres autora: dr Beata Kopczyńska, ul. Pawińskiego 5, 02-106 Warszawa;
e-mail: kopczybn@cmdik.pan.pl