

14

Système endocannabinoïde et cannabinoïdes exogènes

Les cannabinoïdes agissent sur l'organisme par l'intermédiaire du système cannabinoïde endogène, composé de substances neurochimiques (ligands endogènes) et de récepteurs spécifiques.

Les ligands cannabinoïdes peuvent être classés en trois familles (figure 14.1) :

- ligands endogènes : les principaux endocannabinoïdes caractérisés sont l'anandamide (AEA) et le 2-arachidonoylglycerol (2-AG) (Devane et coll., 1992 ; Mechoulam et coll., 1995). Ces composés, de structure lipidique, ont une demi-vie très courte et sont catabolisés par une enzyme, la FAAH (*fatty acid aminohydrolase*). Ces ligands sont produits massivement à la suite d'une augmentation de calcium intracellulaire dans différents tissus, en particulier dans le système nerveux central, où ils vont moduler la libération de neurotransmetteurs ;
- ligands exogènes naturels : il s'agit de tous les composés produits par la plante *Cannabis sativa*. On en compte plus de 60, dont le plus abondant et le plus actif est le Δ^9 -trans-tétrahydrocannabinol (Δ^9 -THC). D'autres, moins abondants, sont représentés par le Δ^8 -THC (actif), ainsi que le cannabiniol et le cannabidiol (beaucoup moins actifs) (Gaoni et Mechoulam, 1964 ; Pertwee, 1999) ;
- ligands synthétiques : parmi ces molécules modifiées chimiquement, on trouve trois classes de familles chimiques : HU-210 et CP-55940, qui dérivent du Δ^9 -THC ; WIN-55212-2, un aminoalkylindol ; SR141716A et SR144528, dérivés pyrazols, qui sont des antagonistes cannabinoïdes ou agonistes inverses (Rinaldi-Carmona et coll., 1994, 1998).

Système cannabinoïde endogène

L'identification, la caractérisation pharmacologique et la localisation spécifique de récepteurs activés par le Δ^9 -THC, le principe actif du cannabis, ont posé la question de l'existence de composés endogènes (endocannabinoïdes) pouvant agir sur les récepteurs cannabinoïdes. Étant donné leur nature lipidique, les endocannabinoïdes n'ont été mis en évidence que relativement

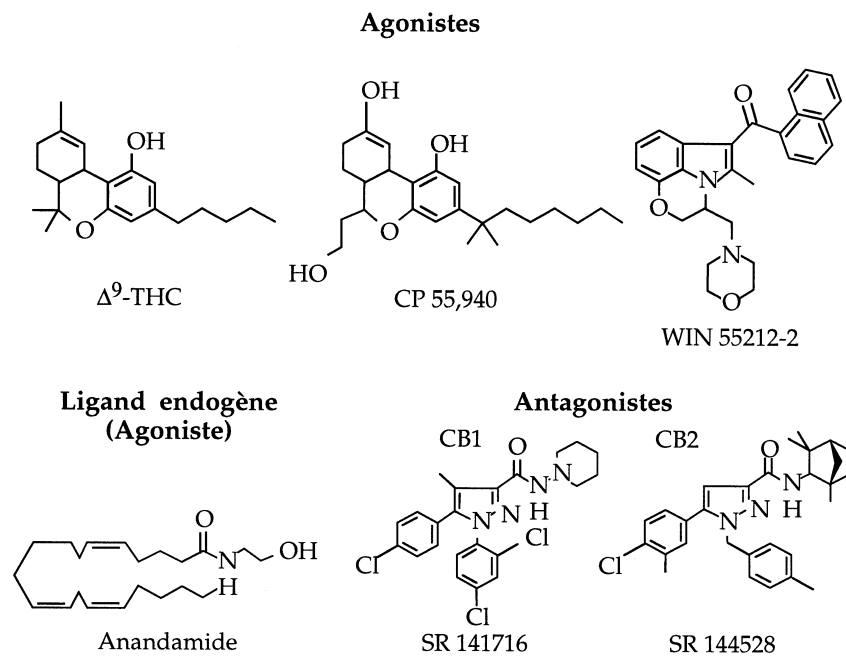


Figure 14.1 : Structure chimique des ligands cannabinoïdes

récemment (Devane et coll., 1992), alors que la structure chimique du Δ^9 -THC est déterminée depuis 1964 (Gaoni et Mechoulam, 1964).

Structure et distribution des récepteurs cannabinoïdes

Deux types de récepteurs cannabinoïdes ont été caractérisés (figure 14.2) : CB1, isolé en 1990 à partir du cerveau de rat (Matsuda et coll., 1990) et CB2, isolé en 1993 à partir de cellules myélocytaires HL60 (Munro et coll., 1993), et qui présente 44 % d'homologie avec CB1. CB1a, un variant de CB1 tronqué dans son extrémité N-terminale (98 % d'homologie avec CB1) (Shire et coll., 1995), présente la même distribution et la même pharmacologie que CB1.

CB1 est en majorité exprimé dans le système nerveux central et périphérique, aussi bien dans les cellules nerveuses que dans les cellules gliales (Matsuda et coll., 1990 ; Herkenham et coll., 1990 ; Ishac et coll., 1996). On trouve également l'ARN messager de CB1 dans les tissus périphériques tels que le testicule, l'utérus, le système immunitaire, l'intestin, la vessie, les cellules de la rétine et les cellules endothéliales ; toutefois, le niveau d'expression y est beaucoup plus faible que dans le cerveau (Bouaboula et coll., 1993). CB2, en revanche, est exprimé essentiellement dans les cellules du système immunitaire, bien que le messager CB2 soit détectable dans d'autres tissus (Galiegue

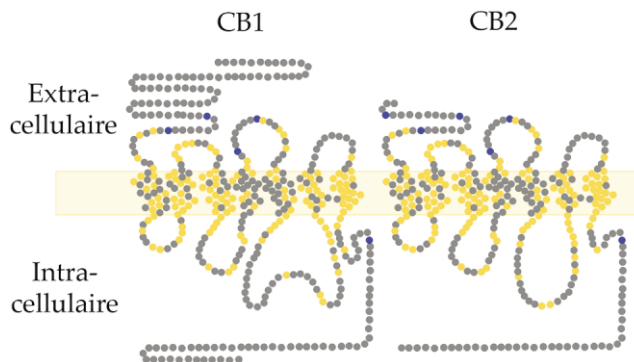


Figure 14.2 : Structure moléculaire des récepteurs CB1 et CB2

et coll., 1995). De par cette distribution, CB1 est plutôt impliqué dans les effets psychotropes des cannabinoïdes, alors que CB2 l'est dans leurs effets immunomodulateurs (figure 14.3).

Il a été montré que l'anandamide est, à forte dose (10 μ M), également capable de se lier à un récepteur de type canal calcique, le récepteur vanilloïde (VR).

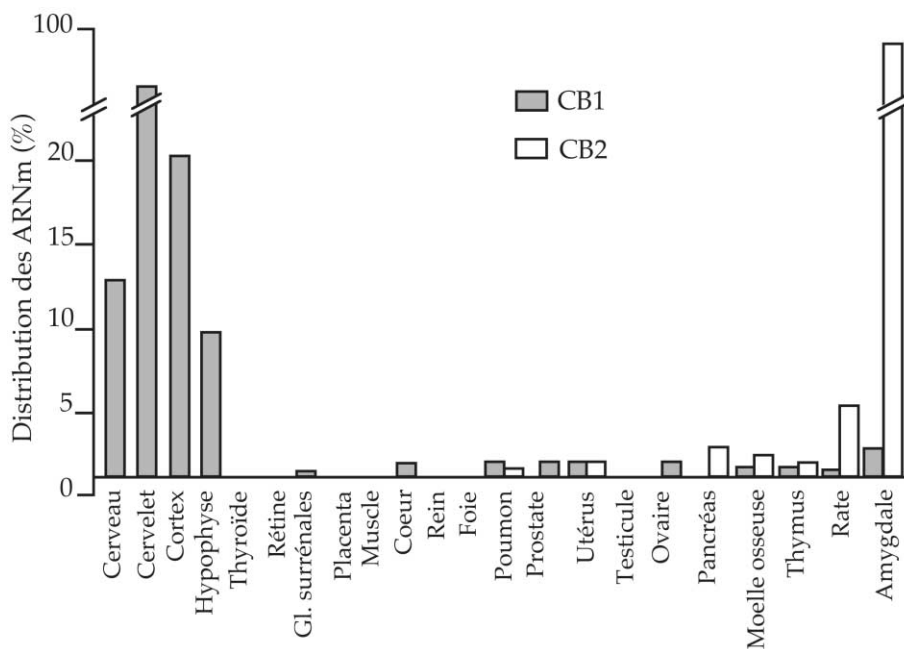


Figure 14.3 : Distribution des récepteurs cannabinoïdes

Cannabinoïdes endogènes

Les principaux endocannabinoïdes isolés à partir de tissus des systèmes nerveux central et périphérique sont l'arachidonoyléthanolamide (encore appelé anandamide, un amide d'acide gras) (Devane et coll., 1992) et le 2-arachidonoylglycérol (2-AG, un ester d'acide gras) (Mechoulam et coll., 1995). Ces composés lipidiques sont les seules molécules endogènes connues capables de se lier aux récepteurs cannabinoïdes (CB1 et CB2) et de mimer les effets pharmacologiques et comportementaux du Δ^9 -THC.

L'anandamide et le 2-AG possèdent les caractéristiques qui en font des neurotransmetteurs à part entière. Il existe cependant une différence notable avec les neurotransmetteurs classiques. Ceux-ci sont synthétisés dans le cytoplasme des neurones puis stockés dans des vésicules synaptiques, à partir desquelles ils sont excrétés par exocytose dans la fente synaptique après une excitation de la terminaison nerveuse par des potentiels d'action. L'anandamide et le 2-AG peuvent être produits sur demande après stimulation de différents récepteurs conduisant à l'hydrolyse de précurseurs lipidiques membranaires. De par leur nature lipidique, ils ne sont donc pas stockés dans des vésicules synaptiques. L'anandamide et le 2-AG peuvent être alors libérés par la cellule immédiatement après leur production (pour revue voir Piomelli et coll., 2000).

Anandamide

Il est produit à partir de l'hydrolyse, par la phospholipase D, de la N-arachidonoyl-phosphatidyléthanolamine. Une fois libéré, l'anandamide peut agir sur les récepteurs CB puis être recapturé par les cellules grâce un transporteur spécifique (Beltramo et coll., 1997 ; Piomelli et coll., 1999). L'anandamide est ensuite métabolisé par une amidohydrolase.

Les niveaux d'anandamide dans le cerveau sont comparables à d'autres neurotransmetteurs tels que la dopamine ou la sérotonine. Les plus hauts niveaux correspondent aux zones de fortes expression du récepteur CB1, c'est-à-dire l'hippocampe, le striatum, le cervelet ou le cortex (Di Marzo et coll., 1994 ; Felder et coll., 1996). L'anandamide se lie préférentiellement aux récepteurs CB1 par rapport aux CB2 (son affinité est quatre fois supérieure pour les CB1). Cependant, l'anandamide est un agoniste partiel des récepteurs cannabinoïdes ; il existe aujourd'hui de forts arguments pharmacologiques suggérant l'existence d'un récepteur propre à l'anandamide (Sagan et coll., 1999 ; Di Marzo et coll., 2000).

Si l'anandamide reproduit globalement les effets du Δ^9 -THC, il possède aussi ses effets propres. Ainsi, au niveau des astrocytes (population cellulaire majoritaire dans le cerveau), il provoque une inhibition de la perméabilité des jonctions intercellulaires, de la propagation des signaux calciques intercellulaires ainsi que la vidange des stocks calciques intracellulaires (Venance et coll., 1995, 1997). De plus, deux effets de l'anandamide ne sont pas inhibés par des traitements pharmacologiques agissant sur ceux induits par le Δ^9 -THC : il

s'agit de l'effet antinociceptif (Smith et coll., 1998) et d'un effet « presseur » cardiovasculaire (Varga et coll., 1996).

2-arachidonoylglycérol (2-AG)

La cascade enzymatique responsable de la formation des seconds messagers, inositol (1,4,5)-triphosphate (IP₃) et 1,2-diacylglycérol (DAG), est impliquée dans la biosynthèse du 2-AG. La phospholipase C (PLC) hydrolyse le phosphatidylinositol (4,5)-biphosphate en DAG, qui est à son tour converti en 2-AG par la DAG lipase (Stella et coll., 1997). La formation de 2-AG est induite par une activité neuronale ou une activation de certains récepteurs (à l'acétylcholine, par exemple) (Stella et coll., 1997 ; Mechoulam et coll., 1998). Après sa libération, le 2-AG peut être recapté par les cellules grâce au transporteur de l'anandamide (Piomelli et coll., 1999), puis être hydrolysé par une enzyme à activité monoacylglycérol lipase de nature encore inconnue.

Le 2-AG se lie aux récepteurs CB1 et CB2. Dans le cerveau, des niveaux de 2-AG 170 fois supérieurs à ceux de l'anandamide ont été détectés (Stella et coll., 1997).

Le 2-AG, tout comme l'anandamide, reproduit tous les effets comportementaux du Δ^9 -THC. Les actions du 2-AG sont cependant moins puissantes que celles du Δ^9 -THC ou de l'anandamide (Mechoulam et coll., 1995). Par ailleurs, le 2-AG inhibe, sur des tranches d'hippocampe, l'induction de la potentiation à long terme au niveau des synapses CA3-CA1, sans affecter la transmission synaptique basale (Stella et coll., 1997).

Signalisation intracellulaire des récepteurs cannabinoïdes

Les récepteurs CB1 et CB2 font partie de la famille des récepteurs couplés aux protéines G. La majorité des effets biologiques décrits pour les cannabinoïdes sont médiés par un couplage à la protéine G de type Gi/Go, sensible à la toxine pertussique. Il semble que CB1 puisse se coupler aux deux types de protéines Gi et Go, alors que CB2 se couplerait préférentiellement à Go (Glass et Northup, 1999). Cette différence de couplage pourrait expliquer la variation d'efficacité du Δ^9 -THC à activer ces récepteurs CB1 et CB2 : en effet, bien que le Δ^9 -THC se lie avec la même affinité aux deux récepteurs CB1 et CB2, il active CB1 mais pas, ou seulement de façon partielle, CB2 (Bayewitch et coll., 1996). Les récepteurs CB1 et CB2 peuvent avoir une activité basale constitutive en l'absence de ligand agoniste. Dans ce cas, les antagonistes SR141716 et SR144528 qui bloquent cette activité constitutive se comportent comme des agonistes inverses (Bouaboula et coll., 1997, 1999b ; Glass et Northup, 1999).

L'activation des récepteurs cannabinoïdes agit principalement sur trois grandes voies de signalisation intracellulaires auxquelles ils sont couplés : l'adénylate cyclase, la voie des protéines kinases activées par des agents mitogènes

MAP (*mitogen-activated protein*)-kinases et certains canaux ioniques (action spécifique *via* les récepteurs CB1). À travers ce couplage Gi/Go, l'activation des récepteurs CB1 ou CB2 induit simultanément un signal inhibiteur et un signal activateur, dont les prévalences respectives dépendent du type cellulaire.

Inhibition de l'adénylate cyclase

L'adénylate cyclase est l'enzyme responsable de la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc), l'un des principaux seconds messagers intracellulaires. L'inhibition est réversible, dose-dépendante et médiée par une protéine G ($G_{i/o}$) (Howlett et Flemming, 1984 ; Howlett et coll., 1986) ; la baisse d'AMPc dans la cellule entraîne une inhibition de la protéine kinase A (PKA) et l'augmentation des protéines phosphorylées en tyrosine, comme la protéine kinase FAK (*focal adhesion kinase*) (Derkinderen et coll., 1996). Il a également été montré que CB1 pouvait être couplé à la protéine G_s : on observe alors une augmentation du taux d'AMPc et donc une activation de la PKA (Glass et Felder, 1997). Ce couplage de CB1 à G_s n'est visible que dans le cas où la protéine G_i est inhibée (par la toxine pertussique).

Les récepteurs cannabinoïdes CB1 et CB2 sont couplés négativement à l'adénylate cyclase par une protéine G de type $G_{i/o}$. Des différences quantitatives suggèrent qu'il existe des variations d'efficacité de couplage suivant les récepteurs cannabinoïdes dans les différentes régions du cerveau. L'inhibition de l'adénylate cyclase induite par les récepteurs cannabinoïdes n'est pas médiée par d'autres récepteurs, non cannabinoïdes, connus pour être couplés négativement à l'adénylate cyclase par des protéines G, comme par exemple les récepteurs α_2 -adrénergiques, M4-muscariniques, δ -opioïdes (Howlett et Fleming, 1984 ; Pacheco et coll., 1993). Ainsi, l'addition d'autres agonistes (opioïdes, $GABA_A$, muscariniques, dopaminergiques...) n'entraîne pas d'effet additif sur l'inhibition de l'adénylate cyclase. Cependant, si les récepteurs cannabinoïdes activent leur propres *pools* de protéines G, ils partagent avec d'autres récepteurs couplés à ces protéines le même effecteur commun : l'adénylate cyclase (Childers et Deadwyler, 1996). En effet, les effets conjoints des agonistes $GABA_B$ et cannabinoïdes sont additifs dans le cas de l'activité GTPasique dans les cellules des grains du cervelet (Pacheco et coll., 1993).

Action sur la perméabilité des canaux ioniques

Les protéines G de type $G_{i/o}$ peuvent coupler les récepteurs à l'adénylate cyclase, mais également aux canaux ioniques. Les effets sur ces derniers sont propres à l'activation du récepteur CB1 (pour revue voir Ameri, 1999). Ainsi, il a été montré que le récepteur CB1 module l'activité des canaux calciques sensibles au potentiel de type L, N et P/Q, et celle des canaux potassiques sensibles au potentiel de type A et rectifiés entrants.

Inhibition des canaux calciques sensibles au potentiel de type L, N et P/Q

L'activation du récepteur CB1 entraîne une inhibition des canaux calciques sensibles au voltage de type N, L et Q/P. Ces effets sont relativement lents (quelques minutes), réversibles, médiés par une protéine G de type $G_{i/o}$ et indépendants de l'inhibition de l'adénylate cyclase (Caulfield et Brown, 1992 ; Mackie et Hille, 1992). Ces canaux calciques sont localisés préférentiellement au niveau présynaptique (tout comme les récepteurs CB1) et sont impliqués dans le contrôle de la libération des neurotransmetteurs.

Modulation de l'activité des canaux potassiques sensibles au potentiel de type A et rectifiés entrants

Les cannabinoïdes entraînent une stimulation des canaux potassiques de la rectification entrante (Henry et Chavkin, 1995 ; Mackie et coll., 1995). Cet effet est médié par une protéine G de type $G_{i/o}$ et est dépendant de l'état de phosphorylation du récepteur CB1 par la protéine kinase C, au niveau de la sérine 317 de la troisième boucle intracellulaire du récepteur (Garcia et coll., 1998). Cet effet est indépendant de l'inhibition de l'adénylate cyclase provoquée par l'activation du récepteur CB1.

De plus, l'activation des récepteurs CB1 module, d'une manière dose-dépendante, la sensibilité au voltage des canaux potassiques à inactivation rapide de type A (Deadwyler et coll., 1993). Le phénomène de sensibilité au voltage se développe pour des valeurs du potentiel de membrane plus positives. Cet effet passe par une protéine G de type $G_{i/o}$ et est dépendant de l'inhibition de l'adénylate cyclase et de la subséquente inhibition de la protéine kinase A (Hampson et coll., 1995 ; Childers et Deadwyler, 1996).

Les effets sur la transmission synaptique entraînent une mise sous silence de la synapse : l'inhibition des canaux calciques au niveau présynaptique entraîne une diminution importante de la libération de neurotransmetteurs, et les effets sur les courants potassiques tendent à réduire la durée du potentiel d'action.

Activation de la voie des MAP kinases

Les MAP kinases jouent un rôle clef dans les processus de différenciation morphologique et de survie neuronale (Fukunaga et Miyamoto, 1998). Plusieurs membres de la famille des MAP kinases sont abondamment présents dans le cerveau et sont activés lors d'événements physiologiques ou pathologiques (ischémie, épilepsie). Les cannabinoïdes sont capables d'activer la voie des MAP kinases telles que ERK1/2 (*extracellular signal-related protein kinase*), impliquée dans la régulation de l'expression de gènes et de la synthèse protéique (Bouaboula et coll., 1995) ; cet effet est dose-dépendant et indépendant de l'inhibition de la production d'AMPc (Bouaboula et coll., 1995). Le couplage des récepteurs cannabinoïdes à cette voie de signalisation « mitogénique » des MAP kinases pourrait être une étape dans l'expression de gènes précoces (tel *Krox-24*).

D'autres voies de signalisation activatrice sont également concernées par la liaison des cannabinoïdes à leurs récepteurs : Jun (*c-Jun N-terminal*) kinase (JNK) et p38-kinase, impliquées dans la régulation de l'expression de gènes et dans les processus de mort cellulaire par apoptose (Liu et coll., 2000 ; Rueda et coll., 2000) ; Akt (ou protéine kinase B), impliquée essentiellement dans la survie cellulaire, mais aussi dans la régulation du métabolisme du glucose (Del Pulgar et coll., 2000) ; NFkB (*nuclear factor kappa B*), impliquée dans l'inflammation.

On observe également une augmentation de médiateurs comme les céramides (Galve-Roperh et coll., 2000). L'ensemble de ces voies de transduction est impliqué dans le contrôle de la viabilité ou de la mort cellulaire, en particulier au cours des processus de prolifération et de croissance tumorale.

Par ailleurs, CB1 et CB2 activent l'échangeur Na^+/H^+ (type1), pouvant ainsi jouer un rôle dans la protection des cellules nerveuses vis-à-vis des variations du pH intracellulaire (Bouaboula et coll., 1999a).

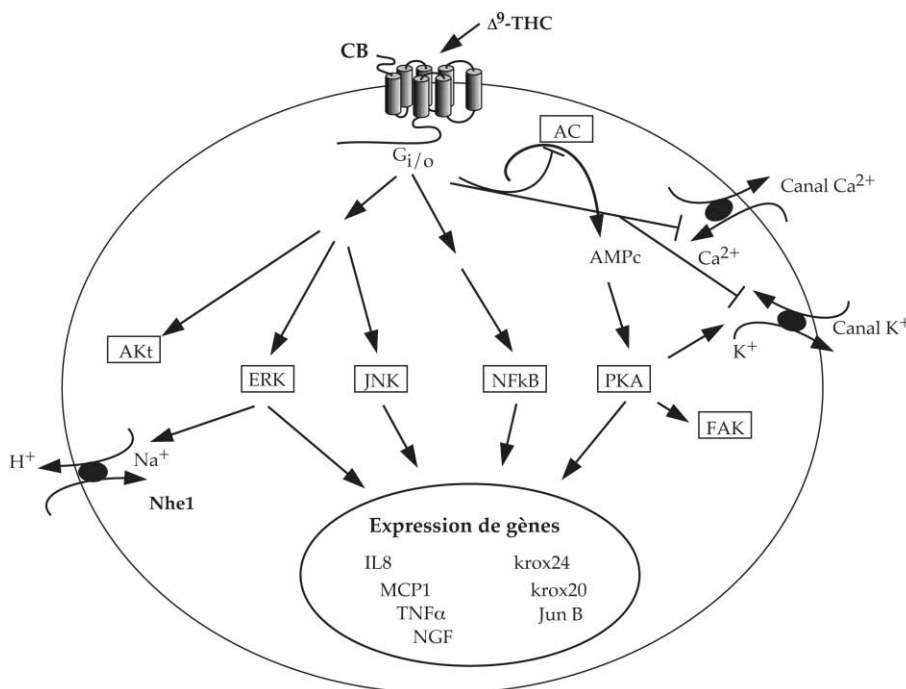


Figure 14.4 : Signalisation des récepteurs CB1 et CB2

AC : adénylate cyclase ; AMPc : adénosine monophosphate cyclique ; Akt : protéine kinase B ; ERK : *extracellular signal-related protein kinase* ; JNK : Jun kinase ; NFkB : *nuclear factor kappa B* ; PKA : protéine kinase A ; FAK : *focal adhesion kinase* ; Nhe1 : Na^+/H^+ *exchanger* ; IL8 : interleukine 8 ; MCP : *monocyte chemoattractant protein* ; TNF : tumor necrosis factor ; NGF : *nerve growth factor*.

En conclusion, on observe que les récepteurs cannabinoïdes induisent une signalisation cellulaire assez complexe. Si l'inhibition de l'adénylate cyclase et des canaux ioniques prédomine dans les cellules du système nerveux central, c'est l'activation des cascades kinases (MAPK) qui est sollicitée par les cannabinoïdes dans les cellules immunitaires et tumorales.

BIBLIOGRAPHIE

- AMERI A. The effects of cannabinoids on the brain. *Prog Neurobiol* 1999, **58** : 315-348
- BAYEWITCH M, RHEE MH, AVIDOR-REISS T, BREUER A, MECHOULAM R, VOGEL Z. (-)-Delta9-tetrahydrocannabinol antagonizes the peripheral cannabinoid receptor-mediated inhibition of adenylyl cyclase. *J Biol Chem* 1996, **271** : 9902-9905
- BELTRAMO M, STELLA N, CALIGNANO A, LIN SY, MAKRIYANNIS A, PIOMELLI D. Functional role of high-affinity anandamide transport, as revealed by selective inhibition. *Science* 1997, **277** : 1094-1097
- BOUABOULA M, RINALDI M, CARAYON P, CARILLON C, DELPECH B et coll. Cannabinoid-receptor expression in human leukocytes. *Eur J Biochem* 1993, **214** : 173-180
- BOUABOULA M, POINOT-CHAZEL C, BOURRIE B, CANAT X, CALANDRA B et coll. Activation of the mitogen-activated protein kinases by stimulation of the central cannabinoid receptor CB1. *Biochem J* 1995, **312** : 637-641
- BOUABOULA M, PERRACHON S, MILLIGAN L, CANAT X, RINALDI-CARMONA M et coll. A selective inverse agonist for central cannabinoid receptor inhibits mitogen-activated protein kinase activation stimulated by insulin or insulin-like growth factor 1. Evidence for a new model of receptor/ligand interactions. *J Biol Chem* 1997, **272** : 22330-22339
- BOUABOULA M, BIANCHINI L, MCKENZIE FR, POUYSSEGUR J, CASELLAS P. Cannabinoid receptor CB1 activates the Na⁺/H⁺ exchanger NHE-1 isoform via Gi-mediated mitogen activated protein kinase signaling transduction pathways. *FEBS Lett* 1999a, **449** : 61-65
- BOUABOULA M, DESNOYER N, CARAYON P, COMBES T, CASELLAS P. Gi protein modulation induced by a selective inverse agonist for the peripheral cannabinoid receptor CB2 : implication for intracellular signalization cross-regulation. *Mol Pharmacol* 1999b, **55** : 473-480
- CAULFIELD MP, BROWN DA. Cannabinoid receptor agonists inhibit Ca current in NG108-15 neuroblastoma cells via a pertussis toxin-sensitive mechanism. *Br J Pharmacol* 1992, **106** : 231-232
- CHILDERS SR, DEADWYLER SA. Role of cyclic AMP in the actions of cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 1996, **52** : 189-827
- DEADWYLER SA, HAMPSON RE, BENNETT BA, EDWARDS TA, MU J et coll. Cannabinoids modulate potassium current in cultured hippocampal neurons. *Receptors Channels* 1993, **1** : 121-134
- DEL PULGAR T, VELASCO G, GUZMAN M. The CB1 cannabinoid receptor is coupled to the activation of protein kinase B/Akt. *Biochem J* 2000, **347** : 369-373

- DERKINDEREN P, TOUTANT M, BURGAYA F, LE BERT M, SICILIANO JC et coll. Regulation of a neuronal form of focal adhesion kinase by anandamide. *Science* 1996, **273** : 1719-1722
- DEVANE WA, HANUS L, BREUER A, PERTWEE RG, STEVENSON LA et coll. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 1992, **258** : 1946-1949
- DI MARZO V, FONTANA A, CADAS H, SCHINELLI S, CIMINO G et coll. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature* 1994, **372** : 686-691
- DI MARZO V, BREIVOGEL CS, TAO Q, BRIDGEN DT, RAZDAN RK et coll. Levels, metabolism, and pharmacological activity of anandamide in CB1 cannabinoid receptor knockout mice : evidence for non-CB1, non-CB2 receptor-mediated actions of anandamide in mouse brain. *J Neurochem* 2000, **75** : 2434-2443
- FELDER CC, NIELSEN A, BRILEY EM, PALKOVITS M, PRILLER J et coll. Isolation and measurement of the endogenous cannabinoid receptor agonist, anandamide, in brain and peripheral tissues of human and rat. *FEBS Lett* 1996, **393** : 231-235
- FUKUNAGA K, MIYAMOTO E. Role of MAP kinase in neurons. *Mol Neurobiol* 1998, **16** : 79-95
- GAONI Y, MECHOULAM R. Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J Am Chem Soc* 1964, **86** : 1646-1647
- GALIEGUE S, MARY S, MARCHAND J, DUSSOSSOY D, CARRIERE D et coll. Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem* 1995, **232** : 54-61
- GALVE-ROPERH I, SANCHEZ C, CORTES ML, DEL PULGAR TG, IZQUIERDO M, GUZMAN M. Anti-tumoral action of cannabinoids : involvement of sustained ceramide accumulation and extracellular signal-regulated kinase activation. *Nat Med* 2000, **6** : 313-319
- GARCIA DE, BROWN S, HILLE B, MACKIE K. Protein kinase C disrupt cannabinoid actions by phosphorylation of the CB1 cannabinoid receptor. *J Neurosci* 1998, **18** : 2834-2841
- GLASS M, FELDER CC. Concurrent stimulation of cannabinoid CB1 and dopamine D2 receptors augments cAMP accumulation in striatal neurons : evidence for a Gs linkage to the CB1 receptor. *J Neurosci* 1997, **17** : 5327-5333
- GLASS M, NORTHUP JK. Agonist selective regulation of G proteins by cannabinoid CB(1) and CB(2) receptors. *Mol Pharmacol* 1999, **56** : 1362-1369
- HAMPSON RE, EVANS GJ, MU J, ZHUANG SY, KING VC et coll. Role of cyclic AMP dependent protein kinase in cannabinoid receptor modulation of potassium « A-current » in cultured rat hippocampal neurons. *Life Sci* 1995 ; **56** : 2081-2088
- HENRY DJ, CHAVKIN C. Activation of inwardly rectifying potassium channels (GIRK1) by co-expressed rat brain cannabinoid receptors in *Xenopus* oocytes. *Neurosci Lett* 1995, **186** : 91-94
- HERKENHAM M, LYNN AB, LITTLE MD, JOHNSON MR, MELVIN LS et coll. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci* 1990, **87** : 1932-1936

- HOWLETT AC, FLEMING RM. Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase. Pharmacology of the response in neuroblastoma cell membranes. *Mol Pharmacol* 1984, **26** : 532-538
- HOWLETT AC, QUALY JM, KHACHATRIAN LL. Involvement of Gi in the inhibition of adenylate cyclase by cannabimimetic drugs. *Mol Pharmacol* 1986, **29** : 307-313
- ISHAC EJ, JIANG L, LAKE KD, VARGA K, ABOOD ME, KUNOS G. Inhibition of exocytotic noradrenaline release by presynaptic cannabinoid CB1 receptors on peripheral sympathetic nerves. *Br J Pharmacol* 1996, **118** : 2023-2028
- LIU J, GAO B, MIRSHAHI F, SANYAL AJ, KHANOLKAR AD et coll. Functional CB1 cannabinoid receptors in human vascular endothelial cells. *Biochem J* 2000, **346** : 835-840
- MACKIE K, HILLE B. Cannabinoids inhibit N-type calcium channels in neuroblastoma-glioma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, **89** : 3825-3829
- MACKIE K, LAI Y, WESTENBROEK R, MITCHELL R. Cannabinoids activate an inwardly rectifying potassium conductance and inhibit Q-type calcium currents in AtT20 cells transfected with rat brain cannabinoid receptor. *J Neurosci* 1995, **15** : 6552-6561
- MATSUDA LA, LOLAIT SJ, BROWNSTEIN MJ, YOUNG AC, BONNER TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 1990, **346** : 561-564
- MECHOULAM R, BEN-SHABAT S, HANUS L, LIGUMSKY M, KAMINSKI NE et coll. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 1995, **50** : 83-90
- MECHOULAM R, FRIDE E, BEN-SHABAT S, MEIRI U, HOROWITZ M. Carbachol, an acetylcholine receptor agonist, enhances production in rat aorta of 2-arachidonoyl glycerol, a hypotensive endocannabinoid. *Eur J Pharmacol* 1998, **362** : R1-R3
- MUNRO S, THOMAS KL, ABU-SHAAR M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 1993, **365** : 61-65
- PACHECO MA, WARD SJ, CHILDERS SR. Identification of cannabinoid receptors in cultures of rat cerebellar granule cells. *Brain Res* 1993, **603** : 102-110
- PERTWEE RG. Pharmacology of cannabinoid receptor ligands. *Curr Med Chem* 1999, **6** : 635-664
- PIOMELLI D, BELTRAMO M, GLASNAPP S, LIN SY, GOUTOPOULOS A et coll. Structural determinants for recognition and translocation by the anandamide transporter. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, **96** : 5802-5807
- PIOMELLI D, GIUFFRIDA A, CALIGNANO A, RODRIGUEZ DE FONSECA F. The endocannabinoid system as a target for therapeutic drugs. *Trends Pharmacol Sci* 2000, **21** : 218-224
- RINALDI-CARMONA M, BARTH F, HEAULME M, SHIRE D, CALANDRA B et coll. SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Lett* 1994, **350** : 240-244
- RINALDI-CARMONA M, BARTH F, MILLAN J, DEROCQ JM, CASELLAS P et coll. SR 144528, the first potent and selective antagonist of the CB2 cannabinoid receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 1998, **284** : 644-650

- RUEDA D, GALVE-ROPERH I, HARO A, GUZMAN M. The CB(1) cannabinoid receptor is coupled to the activation of c-Jun N-terminal kinase. *Mol Pharmacol* 2000, **58** : 814-820
- SAGAN S, VENANCE L, TORRENS Y, CORDIER J, GLOWINSKI J, GIAUME C. Anandamide and WIN 55212-2 inhibit cyclic AMP formation through G-protein-coupled receptors distinct from CB1 cannabinoid receptors in cultured astrocytes. *Eur J Neurosci* 1999, **11** : 691-699
- SHIRE D, CARILLON C, KAGHAD M, CALANDRA B, RINALDI-CARMONA M et coll. An amino-terminal variant of the central cannabinoid receptor resulting from alternative splicing. *J Biol Chem* 1995, **270** : 3726-3731
- SMITH FL, FUJIMORI K, LOWE J, WELCH SP. Characterization of Δ^9 -THC and anandamide antinociception in nonarthritic and arthritic rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1998, **60** : 183-191
- STELLA N, SCHWEITZER P, PIOMELLI D. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature* 1997, **388** : 773-778
- VARGA K, LAKE K, HUANGFU D, GUYENET PG, KUNOS G. Mechanism of the hypotensive action of anandamide in anesthetized rats. *Hypertension* 1996, **28** : 682-686
- VENANCE L, PIOMELLI D, GLOWINSKI J, GIAUME C. Inhibition by anandamide of gap junctions and intercellular calcium signalling in striatal astrocytes. *Nature* 1995, **376** : 590-594
- VENANCE L, SAGAN S, GIAUME C. (R)-methanandamide inhibits receptor-induced calcium responses by depleting internal calcium stores in cultured astrocytes. *Eur J Physiol* 1997, **434** : 147-149