

16

Mécanismes d'action des cannabinoïdes dans différents systèmes

Différents effets physiologiques ou pathologiques associés à l'utilisation du cannabis ont été décrits dans la littérature. Parallèlement, l'isolement du principe actif (Δ^9 -THC), le clonage des récepteurs cannabinoïdes CB1 et CB2 et l'élaboration d'analogues pharmacologiques (agonistes ou antagonistes) plus actifs et plus sélectifs que le Δ^9 -THC ont aidé à rationaliser la recherche dans le domaine des cannabinoïdes et à définir leurs sites et mécanismes d'action au niveau cellulaire. Les antagonistes cannabinoïdes utilisés pour bloquer les effets du cannabis au niveau cellulaire, dans les modèles animaux mais également chez l'homme, ont permis de mettre en évidence l'implication du système endocannabinoïde dans des régulations physiologiques normales mais aussi pathologiques. Toutefois, les différents cannabinoïdes n'ont pas encore livré tous leurs secrets et un certain nombre d'effets controversés restent inexpliqués.

L'affinité de liaison du Δ^9 -THC aux récepteurs CB1 et CB2 est de l'ordre de 10-30 nM (0,010-0,030 μ M). Un certain nombre de travaux décrivent des effets biologiques obtenus *in vitro* pour des concentrations en Δ^9 -THC variant entre 3 et 30 μ M, c'est-à-dire 100 à 1 000 fois supérieures à l'affinité de liaison du Δ^9 -THC aux récepteurs, et 10 à 100 fois supérieures à la concentration plasmatique en Δ^9 -THC retrouvée chez un consommateur moyen : dans l'étude de Harder et coll. (1997), la concentration en Δ^9 -THC au pic (quelques minutes après la consommation) est d'environ 70 ng/ml, soit 0,2 μ M ; cinq heures après la prise d'un joint, le niveau basal en Δ^9 -THC est de l'ordre de 0,013 μ M. Par ailleurs, le Δ^9 -THC a une structure hydrophobe qui lui permet, à forte dose, de s'insérer et de perturber les membranes cellulaires, et donc d'induire un effet biologique non spécifique, indépendant du récepteur cannabinoïde. Les études les plus pertinentes sont donc celles qui utilisent des doses pharmacologiques de Δ^9 -THC (0,1-1 μ M) et dans lesquelles l'implication des récepteurs cannabinoïdes est confirmée par l'utilisation d'antagonistes spécifiques de CB1 (SR141716A, par exemple) et de CB2 (SR144528, par exemple).

Contrôle de la viabilité cellulaire

Les cannabinoïdes peuvent induire soit la prolifération, soit un arrêt de la croissance et le déclenchement de la mort cellulaire programmée. L'opposition entre ces effets est liée au type de cellules, à la concentration et au type du ligand cannabinoïde utilisé, mais également au temps de traitement.

Un grand nombre de travaux ont décrit que le Δ^9 -THC ou l'anandamide inhibent la prolifération cellulaire et induisent un arrêt du cycle cellulaire (G1/GS), ainsi qu'une mort cellulaire par apoptose (Zhu et coll., 1998 ; Di Marzo et coll., 2000). Toutefois, la spécificité de ces effets reste à vérifier dans de nombreux cas, en raison des fortes doses de cannabinoïdes utilisées.

Dans le cas des cellules immunitaires, et en particulier les lymphocytes B, les ligands cannabinoïdes à faible concentration (1-10 nM) induisent la prolifération cellulaire, alors qu'à doses élevées ils induisent la mort cellulaire (1 000 nM). L'effet obtenu à faible concentration de ligand est médié par le récepteur CB2, tandis que l'effet proapoptotique semble être récepteur-indépendant (Derocq et coll., 1995).

Dans le cas des cellules tumorales de gliome, le Δ^9 -THC induit une mort cellulaire par apoptose (Sanchez et coll., 1998). Le Δ^9 -THC induit l'apoptose des cellules tumorales de prostate (PC3), de façon récepteur indépendante (Ruiz et coll., 1999). Le Δ^9 -THC en traitement chronique induit la mort des cellules tumorales de gliome, aussi bien en culture qu'*in vivo* dans des modèles de xénogreffe (Galve-Roperh et coll., 2000). Dans ce cas, l'effet antitumoral du Δ^9 -THC *in vitro* semble être médié par les deux récepteurs CB1 et CB2. Ces résultats, qui pourraient ouvrir la perspective d'une éventuelle application du Δ^9 -THC comme substance antitumorale, n'ont cependant pas encore été confirmés par d'autres groupes ni dans d'autres modèles.

De plus, il a été clairement montré (Zhu et coll., 2000) que les cannabinoïdes, et en particulier le Δ^9 -THC, peuvent être suppresseurs de l'immunité antitumorale, et en conséquence favoriser l'accélération de croissance de deux types de tumeurs de poumon murine implantées dans des modèles syngéniques.

Un groupe d'auteurs a montré que l'anandamide n'induit pas d'apoptose dans des cellules humaines de cancer du sein MCF-7, EFM-19 et T-47D, mais plutôt un effet antiprolifératif par un arrêt du cycle cellulaire en G1/GS, à travers le récepteur CB1 (De Petrocellis et coll., 1998). À l'inverse, une autre équipe a montré que l'anandamide induit un effet apoptotique en activant le récepteur vanilloïde dans des cellules de neuroblastome CHP100 et de lymphome U937 ; la présence des récepteurs cannabinoïdes CB1 et CB2 semble être protectrices, puisque le traitement simultané avec des antagonistes cannabinoïdes (anandamide + SR141716 pour les cellules C6 glioma ou anandamide + SR144528 pour les cellules Daudi) augmente l'effet apoptotique de l'anandamide (Maccarrone et coll., 2000).

L'effet des cannabinoïdes sur la croissance ou la viabilité cellulaire est donc très contrasté. *In vitro*, on peut aussi bien observer un effet antitumoral que protumoral. *In vivo*, on ne peut retenir que deux études majeures, observant que le Δ^9 -THC a un effet proapoptotique antitumoral direct sur les cellules tumorales du gliome (Galve-Roperh et coll., 2000) et que, à l'opposé, il peut favoriser la croissance tumorale, surtout des tumeurs n'exprimant pas de récepteur cannabinoïde, en raison de son effet suppresseur de la réponse immunitaire antitumorale (Zhu et coll., 2000).

Embryogenèse

Les récepteurs CB1 et CB2 sont exprimés chez l'embryon aux stades pré- et postimplantatoires ainsi que dans le placenta (Wang et coll., 1999 ; Berrendero et coll., 1999 ; Paria et coll., 1999 ; Kenney et coll., 1999). Au niveau de l'utérus, seul l'ARN messager du récepteur CB1 a été identifié (Das et coll., 1995 ; Paria et coll., 1995). Quant au système nerveux central, l'expression du récepteur CB1 a été détectée à partir du 14^e jour de développement. Les premières régions exprimant le récepteur CB1 sont le cortex, le tronc cérébral et le mésencéphale, puis viennent l'hippocampe, le cervelet et les ganglions de la base. Au stade embryonnaire, les neurones ou les neuroblastes expriment le récepteur CB1, et les cellules gliales (principalement les astrocytes) exprimeraient le récepteur spécifique de l'anandamide CBX.

Concernant les cannabinoïdes endogènes, l'embryon contient aux stades précoces les niveaux les plus élevés d'anandamide mesurés dans des tissus de mammifères (pour revue voir Paria et Dey, 2000). Dans la paroi utérine, les taux d'anandamide sont inversement proportionnels à la réceptivité utérine pour l'implantation de l'embryon (Paria et coll., 1995 ; Schmid et coll., 1997 ; Paria et coll., 1998 ; Berrendero et coll., 1998 ; Berrendero et coll., 1999) : les taux les plus bas ont été mesurés au niveau des zones d'implantation, et les plus hauts au niveau des zones d'interimplantation. Il existe trois phases spatio-temporelles concernant l'implantation de l'embryon : pré-réceptive (taux d'anandamide très élevés), réceptive (taux bas) et non réceptive ou réfractaire (taux très élevés). Il apparaît donc que les endocannabinoïdes déterminent la fenêtre d'implantation de l'embryon en synchronisant la différenciation du blastocyte avec la préparation de l'utérus au stade d'implantation. De plus, de fortes concentrations d'anandamide empêchent la migration du blastocyte en dehors des sites appropriés.

Au niveau placentaire, l'activation des récepteurs CB1 et CB2 inhibe le transporteur de la sérotonine par l'intermédiaire d'une baisse du calcium intracellulaire (Paria et coll., 1999 ; Kenney et coll., 1999). Le placenta pourrait donc constituer une cible directe pour les cannabinoïdes, même si

l'impact d'une inhibition de la clairance de la sérotonine au niveau du placenta reste à déterminer. Au niveau de l'œuf et de l'embryon, les cannabinoïdes ont des effets très variés, voire paradoxaux.

Au stade deux cellules, une exposition de l'œuf aux cannabinoïdes exogènes ou à l'anandamide (même à de faibles doses : 7 nM) perturbe le développement du blastocyte. Cela entraîne une inhibition de la cavitation du blastocyte et de la prolifération du trophoblaste. Ces effets sont médiés par le récepteur CB1 (Paria et coll., 1995 ; Yang et coll., 1996 ; Schmid et coll., 1997). Au stade blastocyte, une exposition à des doses, même faibles, d'agonistes cannabinoïdes favorise la différenciation et la croissance du trophoblaste, ce qui se traduit par une augmentation d'expression de la fibronectine. Là encore, cet effet est médié par le récepteur CB1. Il existe donc un effet « paradoxal » des cannabinoïdes sur deux stades de développement de l'embryon. Des doses très fortes d'agonistes cannabinoïdes provoquent un effet contraire, c'est-à-dire une inhibition de la différenciation du trophoblaste (Paria et coll., 1995 ; Yang et coll., 1996).

Au stade d'implantation de l'embryon, de très fortes doses de Δ^9 -THC peuvent compromettre cette étape. Cependant, pour des doses d'agonistes cannabinoïdes « physiologiques », la paroi utérine et l'embryon possèdent des systèmes de neutralisation du Δ^9 -THC, grâce à une activité cytochrome P450 importante. Celui-ci est classiquement impliqué dans des processus de détoxification, en permettant la transformation du (-) Δ^9 -THC en (+) Δ^9 -THC, qui est l'énantiomère inactif. Ainsi, lorsque le cytochrome P450 est inhibé pharmacologiquement, une accumulation de (-) Δ^9 -THC est observée au niveau des tissus de l'embryon après exposition au Δ^9 -THC (Paria et coll., 1998).

Une exposition périnatale au Δ^9 -THC, même à de fortes doses, n'induit pas de changements significatifs dans la liaison des cannabinoïdes à leurs récepteurs au niveau du cerveau adulte de la souris, ni dans les niveaux d'expression de l'ARNm du récepteur CB1 (Garcia-Gil et coll., 1999).

Enfin, on ne retrouve globalement pas d'effet tératogène après exposition de l'embryon à des doses de Δ^9 -THC même massives (500-600 mg/kg chez la souris, 12-50 mg/kg chez le rat). Des saignements vaginaux peuvent en revanche être observés, probablement dus à une perturbation des implantations (Borgen et coll., 1973 ; Fried et Nieman, 1973 ; Banerjee et coll., 1975 ; Fried, 1976 ; Bloch et coll., 1986).

Immunomodulation et inflammation

La plupart des études chez l'animal ou sur culture cellulaire montrent que le Δ^9 -THC exerce un effet immunosuppresseur : inhibition de la fonction des macrophages des lymphocytes, de la résistance aux agents infectieux et de la production de cytokines (Cabral et Dove Pettit, 1998 ; Klein et coll., 1998).

Cependant, dans la majorité de ces études, la dose de Δ^9 -THC utilisée est 10 fois plus élevée que la concentration maximale de Δ^9 -THC retrouvée dans le plasma de fumeur de cannabis, et 1 000 fois plus importante que l'affinité du Δ^9 -THC pour les récepteurs cannabinoïdes.

Depuis, des antagonistes sélectifs de CB1 et de CB2 (SR141716 et SR144528) ont été élaborés (Rinaldi-Carmona et coll., 1994, 1998), des souris transgéniques dans lesquelles a été inactivé le gène de CB1 (CB1^{-/-}KO, Jarai et coll., 1999) ou de CB2 (CB2^{-/-}KO) (Buckley et coll., 2000) ont été obtenues, et plus récemment un agoniste CB2 sélectif (HU-308) a été synthétisé (Hanus et coll., 1999). Ces différents outils ont été utilisés afin de mieux définir l'activité spécifique des cannabinoïdes dans la réponse immunitaire.

Les cannabinoïdes, Δ^9 -THC ou autres ligands, peuvent agir comme suppresseurs ou stimulants de la réponse immune en fonction du type de l'agent infectieux et du type de cellule immunitaire activé. Par exemple, sur culture cellulaire, les cannabinoïdes activent les lymphocyte B (Derocq et coll., 1995), induisent l'expression de gènes impliqués dans le programme de différenciation cellulaire dans les cellules promyélocyaires (Derocq et coll., 2000) et activent la production de cytokines proinflammatoires telles que les interleukines 8 et 6, le TNF α (*tumor necrosis factor α*) et la MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein*) à travers l'activation des voies de signalisation MAPK et NF κ B (Derocq et coll., 2000).

À l'inverse, les cannabinoïdes inhibent l'activité du macrophage (Buckley et coll., 2000 ; Sacerdote et coll., 2000) et la migration des cellules *natural killer* (Massi et coll., 2000). Ces effets sont dus en partie au récepteur CB2, donc indépendants de l'inhibition de la production de l'AMPc, puisque CB2 ne module pas ou seulement de façon médiocre l'AMPc dans les cellules immunes.

In vivo, dans certains modèles animaux, le Δ^9 -THC a un effet suppresseur de la réponse immunitaire antitumorale (Zhu et coll., 2000) et de la résistance aux infections bactériennes (Smith et coll., 2000). Dans ces modèles, le Δ^9 -THC inhibe l'expression de cytokines telles que l'interféron γ et l'interleukine 12, et augmente la production de cytokines suppressives comme l'interleukine 10 et le TNF β (*tumor necrosis factor β*). La réponse antitumorale serait liée à CB2, alors que, dans la réponse anti-infectieuse, on trouve une composante CB2 mais aussi CB1 dont l'origine pourrait être le système nerveux central.

Le Δ^9 -THC joue donc un rôle immunomodulateur, suppresseur ou stimulant de la réponse immune et inflammatoire selon les types d'agents infectieux et de cellules immunitaire considérés. L'hypothèse de l'implication des récepteurs cannabinoïdes dans le contrôle de la réponse immunitaire se trouve renforcée par le fait que l'expression de ces récepteurs peut être modulée au cours de la différenciation des lymphocytes (Carayon et coll., 1998) ; par ailleurs, les ligands cannabinoïdes endogènes (anandamide et 2-AG) sont produits et

dégradés localement au niveau des cellules lymphocytaires (Bisogno et coll., 1997 ; Di Marzo et coll., 1999).

Dilatation et constriction bronchiques

Le Δ^9 -THC a été testé pour ses propriétés bronchodilatatrices chez des sujets asthmatiques (Tashkin et coll., 1975, 1977 ; Abboud et coll., 1976). Les résultats de ces études ne permettent pas de conclure à une réelle efficacité pour atténuer les bronchospasmes : le Δ^9 -THC avait dans certains cas un effet inhibiteur, et dans d'autres induisait l'effet inverse, une bronchoconstriction aggravant l'état des patients asthmatiques.

Une étude récente publiée par le groupe de Piomelli montre clairement que l'anandamide, à travers le récepteur CB1, induit des effets opposés sur la dilatation des voies aériennes chez le rongeur (Calignano et coll., 2000). L'activation de CB1 inhibe les bronchospasmes stimulés par des produits irritants tels que la capsaïcine, qui agit à travers le récepteur vanilloïde. Cet effet est réversé par le SR141716, mais pas par le SR144528. À l'inverse, la désinnervation des bronches par section du nerf vague ou à l'aide d'atropine (bloqueur cholinergique) entraîne une suppression du tonus constricteur basal exercé par le nerf vague. Dans ce cas, l'activation de CB1 induit une bronchoconstriction qui est bloquée par le SR141716, mais pas par le SR144528. Le fait d'avoir supprimé un tonus basal constricteur exercé par la terminaison nerveuse a permis de révéler l'effet direct du CB1 sur les muscles bronchiques, qui est constricteur et non dilatateur. Cependant, cette étude a pu mettre en évidence la biosynthèse locale d'anandamide, mais pas l'expression de CB1 au niveau des muscles bronchiques.

L'ensemble de ces résultats obtenus chez le rongeur peut être corrélé aux observations obtenues chez l'homme. Le Δ^9 -THC exogène, ou l'anandamide produit localement, induisent un effet dépendant de l'état de contractilité du muscle bronchique : dans le cas où le muscle est déjà contracté, les ligands cannabinoïdes provoquent une inhibition de cette contraction et donc une dilatation, alors qu'ils induiraient une constriction dans le cas où le muscle est relaxé, se traduisant par une augmentation des bronchospasmes chez certains sujets asthmatiques.

Vasodilatation

Les effets cardiovasculaires des cannabinoïdes sont décrits depuis 1979 (Siqueira et coll., 1979). Le Δ^9 -THC comme l'anandamide induisent un effet hypotenseur et une bradycardie chez le rongeur, alors qu'ils provoquent une tachycardie chez l'homme. Cet effet hypotenseur caractéristique du Δ^9 -THC

est composé de trois phases : une baisse rapide de la pression artérielle, suivie d'un effet hypertenseur et d'une hypotension plus lente accompagnée d'une bradycardie (Varga et coll., 1995). L'hypotension et la bradycardie sont liées à l'inhibition du nerf vagal (l'axe sympathique) et en particulier à la libération de neurotransmetteurs (norépinéphrine) par les terminaisons des neurones périphériques. En utilisant le SR141716A, il a été montré que, à l'exception de l'hypertension transitoire dans la phase intermédiaire, ces effets sont médiés par le récepteur CB1. L'implication de ce récepteur a par la suite été confirmée par des études effectuées sur les souris transgéniques n'exprimant pas CB1 : le traitement par les ligands cannabinoïdes ne provoque ni hypotension ni bradycardie, mais l'induction de l'effet hypertenseur est maintenue (Jarai et coll., 1999).

Il a par ailleurs été suggéré que, en plus de leur action indirecte par inhibition du nerf vagal, les cannabinoïdes pourraient avoir un effet vasodilatateur direct. En effet, l'agoniste cannabinoïde HU-210 inhibe l'effet hypertenseur de la vasopressine (Vidrio et coll., 1996), et les agonistes cannabinoïdes diminuent la pression artérielle avec une amplitude plus importante que celle obtenue après section du nerf vagal (Lake et coll., 1997). Cet effet hypotenseur direct pourrait être médié par CB1 qui est exprimé par les cellules endothéliales vasculaires (Sugiura et coll., 1998) et fonctionnel : modulation de la production de l'AMPc induite par la forskoline (Holland et coll., 1999), activation de la MAPK (Liu et coll., 2000), induction de flux calcique et production de NO (Deutsch et coll., 1997).

Des travaux récents montrent que l'anandamide induit une hypotension de l'artère mésentérique à travers un récepteur différent de CB1, CB2 ou VR1. Cet effet hypotenseur au niveau de l'endothélium vasculaire est spécifique à l'anandamide, et peut être bloqué par le SR141716 y compris chez des souris transgéniques n'exprimant ni CB1 ni CB2 (Jarai et coll., 1999). L'existence de ce nouveau type de récepteur est renforcée par le fait que abn-cbd (un ligand dérivé du cannabidiol qui ne reconnaît pas CB1) est également capable d'induire un effet hypotenseur bloqué par le SR141716 dans ces souris *knock out* pour les récepteurs CB1 et CB2.

Système visuel

Le récepteur CB1 est exprimé au niveau du système visuel ; en revanche, il n'y a pas d'expression détectable du récepteur CB2. Les récepteurs CB1 sont exprimés au niveau de la rétine (cellules en bâtonnet, cellules amacrine, cellules horizontales) et de l'œil antérieur (cornée, iris, corps cilié) (Buckley et coll., 1998 ; Porcella et coll., 1998 ; Yazulla et coll., 1999 ; Straiker et coll., 1999a et b).

Concernant les endocannabinoïdes, une synthèse massive d'anandamide et de 2-arachidonoylglycérol a été mesurée au niveau de la rétine. Paradoxalement,

si le récepteur CB2 n'a pas été détecté au niveau de la rétine, un composé endogène pouvant se lier au récepteur CB2, la palmityléthanolamide, a été mesuré dans la rétine. La synthèse d'anandamide est deux fois plus forte dans la rétine que dans le reste du cerveau (Matsuda et coll., 1997 ; Straiker et coll., 1999a ; Bisogno et coll., 1999). Cependant, suivant les préparations et les espèces étudiées, les taux d'anandamide détectés peuvent varier considérablement.

Les effets des cannabinoïdes au niveau du système visuel sont extrêmement variés. Cependant, la grande majorité des travaux de recherche concerne les effets des cannabinoïdes dans le cadre du traitement des glaucomes. Les cannabinoïdes exogènes et endogènes entraînent une diminution de la pression intra-oculaire (PIO) ; or l'augmentation de la PIO constitue un facteur aggravant dans la survenue des glaucomes. Les effets des cannabinoïdes sur la PIO ont été étudiés dès le début des années soixante-dix, puis confirmés par la suite sur différents modèles animaux ou humains (Hepler et Franck, 1971 ; Flom et coll., 1975 ; Purnell et Gregg, 1975 ; Green, 1984 ; Colasanti, 1986 ; Hodges et coll., 1997 ; Pate et coll., 1998 ; Porcella et coll., 2001). L'action des cannabinoïdes sur la diminution de la PIO est dose-dépendante et spécifique d'une action sur les récepteurs CB1, puisqu'elle est inhibée par un traitement avec un antagoniste CB1 (Hodges et coll., 1997 ; Pate et coll., 1998). Cependant, les effets de l'anandamide sur la PIO ne sont pas altérés par un antagoniste CB1 ; ce qui suggère la participation d'un récepteur propre à l'anandamide (CBX), qui n'est toujours pas identifié. Le mécanisme d'action des cannabinoïdes sur la PIO reste hypothétique, mais pourrait impliquer une réduction de la formation d'humeur aqueuse et l'augmentation de la sortie de l'humeur aqueuse dans la chambre antérieure de l'œil.

Les cannabinoïdes exogènes entraînent une augmentation de la photosensibilité (Kiplinger et coll., 1971 ; Consroe et coll., 1997). Les cannabinoïdes exogènes et endogènes provoquent une inhibition des courants calciques sensibles au potentiel de type L au niveau des cellules bipolaires de la rétine (Straiker et coll., 1999a et b). Le Δ^9 -THC entraîne un déficit direct dans le choix de la réponse lors de stimuli visuels très courts (< 100 ms). Cependant, il n'induit aucune distorsion pour la détection de stimuli visuels plus longs (> 100 ms). Enfin, il n'affecte pas la détection de changement de phase lumière-obscurité (Presburger et Robinson, 1999).

En conclusion, on observe que le Δ^9 -THC agit sur différentes fonctions physiologiques chez le rongeur et chez l'homme. La plupart de ces effets, quand ils sont récepteur dépendants, sont médiés par CB1. CB2, en revanche, ne semble être impliqué que dans l'immunomodulation et l'effet proapoptotique du Δ^9 -THC. L'existence d'un troisième récepteur cannabinoïde reste à confirmer pour expliquer les effets atypiques des cannabinoïdes endogènes sur le système vasculaire.

BIBLIOGRAPHIE

- ABBOUD RT, SANDERS HD. Effect of oral administration of delta-tetrahydrocannabinol on airway mechanics in normal and asthmatic subjects. *Chest* 1976, **70** : 480-485
- BANERJEE BN, GALBREATH C, SOFIA RD. Teratologic evaluation of synthetic delta-9-tetrahydrocannabinol in rats. *Teratology* 1975, **11** : 99-101
- BERRENDERO F, GARCIA-GIL L, HERNANDEZ ML, ROMERO J, CEBEIRA M et coll. Localization of mRNA expression and activation of signal transduction mechanisms for cannabinoid receptor in rat brain during fetal development. *Development* 1998, **125** : 3179-3188
- BERRENDERO F, SEPE N, RAMOS JA, DI MARZO V, FERNANDEZ-RUIZ JJ. Analysis of cannabinoid receptor binding and mRNA expression and endogenous cannabinoid contents in the developing rat brain during late gestation and early postnatal period. *Synapse* 1999, **33** : 181-91
- BISOGNO T, MAURELLI S, MELCK D, DE PETROCELLIS L, DI MARZO V. Biosynthesis, uptake, and degradation of anandamide and palmitoylethanolamide in leukocytes. *J Biol Chem* 1997, **272** : 3315-3323
- BISOGNO T, DELTON-VANDENBROUCKE I, MILONE A, LAGARDE M, DI MARZO V. Biosynthesis and inactivation of N-arachidonylethanolamine (anandamide) and N-docosahexaenylethanolamine in bovine retina. *Arch Biochem Biophys* 1999, **370** : 300-307
- BLOCH E, FISHMAN RH, MORRILL GA, FUJIMOTO GI. The effect of intragastric administration of delta 9-tetrahydrocannabinol on the growth and development of fetal mice of the A/J strain. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986, **82** : 378-382
- BORGEN LA, DAVIS WM, PACE HB. Effects of prenatal THC on the development of rat offspring. *Pharmacol Biochem Behav* 1973, **1** : 203-206
- BUCKLEY NE, HANSSON S, HARTA G, MEZEY E. Expression of the CB1 and CB2 receptor messenger RNAs during embryonic development in the rat. *Neuroscience* 1998, **82** : 1131-1149
- BUCKLEY NE, MCCOY KL, MEZEY E, BONNER T, ZIMMER A et coll. Immunomodulation by cannabinoids is absent in mice deficient for the cannabinoid CB(2) receptor. *Eur J Pharmacol* 2000, **396** : 141-149
- CABRAL GA, DOVE PETTIT DA. Drugs and immunity : cannabinoids and their role in decreased resistance to infectious disease. *J Neuroimmunol* 1998, **83** : 116-123
- CALIGNANO A, KATONA I, DESARNAUD F, GIUFFRIDA A, LA RANA G et coll. Bidirectional control of airway responsiveness by endogenous cannabinoids. *Nature* 2000, **408** : 96-101
- CARAYON P, MARCHAND J, DUSSOSSOY D, DEROCQ JM, JBILO O et coll. Modulation and functional involvement of CB2 peripheral cannabinoid receptors during B-cell differentiation. *Blood* 1998, **92** : 3605-3615
- COLASANTI BK. Ocular hypotensive effect of marihuana cannabinoids : correlate of central action or separate phenomenon ? *J Ocul Pharmacol* 1986, **2** : 295-304
- CONSROE P, MUSTY R, REIN J, TILLERY W, PERTWEE RG. The perceived effects of smoked cannabis on patients with multiple sclerosis. *Eur Neurol* 1997, **38** : 44-48

- DAS SK, PARIA BC, CHAKRABORTY I, DEY SK. Cannabinoid ligand-receptor signaling in the mouse uterus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, **92** : 4332-4336
- DE PETROCELLIS L, MELCK D, PALMISANO A, BISOGNO T, LAEZZA C et coll. The endogenous cannabinoid anandamide inhibits human breast cancer cell proliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998, **95** : 8375-8380
- DEROCQ JM, SEGUI M, MARCHAND J, LE FUR G, CASELLAS P. Cannabinoids enhance human B-cell growth at low nanomolar concentrations. *FEBS Lett* 1995, **369** : 177-182
- DEROCQ JM, JBILO O, BOUABOULA M, SEGUI M, CLERE C, CASELLAS P. Genomic and functional changes induced by the activation of the peripheral cannabinoid receptor CB2 in the promyelocytic cells HL-60. Possible involvement of the CB2 receptor in cell differentiation. *J Biol Chem* 2000, **275** : 15621-15628
- DEUTSCH DG, GOLIGORSKY MS, SCHMID PC, KREBSBACH RJ, SCHMID HH et coll. Production and physiological actions of anandamide in the vasculature of the rat kidney. *J Clin Invest* 1997, **100** : 1538-1546
- DI MARZO V, BISOGNO T, DE PETROCELLIS L, MELCK D, ORLANDO P et coll. Biosynthesis and inactivation of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol in circulating and tumoral macrophages. *Eur J Biochem* 1999, **264** : 258-267
- 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
- DI MARZO V, MELCK D, DE PETROCELLIS L, BISOGNO T. Cannabimimetic fatty acid derivatives in cancer and inflammation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 2000, **61** : 43-61
- FELDER CC, BRILEY EM, AXELROD J, SIMPSON JT, MACKIE K, DEVANE WA. Anandamide, an endogenous cannabimimetic eicosanoid, binds to the cloned human cannabinoid receptor and stimulates receptor-mediated signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, **90** : 7656-7660
- 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
- FLOM MC, ADAMS AJ, JONES RT. Marijuana smoking and reduced pressure in human eyes : drug action or epiphenomenon ? *Invest Ophthalmol* 1975, **14** : 52-55
- FRIED PA. Short and long-term effects of pre-natal cannabis inhalation upon rat offspring. *Psychopharmacology* 1976, **50** : 285-291
- FRIED PA, NIEMAN GW. Inhalation of cannabis smoke in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1973, **1** : 371-378
- 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-GIL L, ROMERO J, RAMOS JA, FERNANDEZ-RUIZ JJ. Cannabinoid receptor binding and mRNA levels in several brain regions of adult male and female rats perinatally exposed to delta9-tetrahydrocannabinol. *Drug Alcohol Depend* 1999, **55** : 127-136

GREEN K. Marijuana effects on intraocular pressure. *In* : Glaucoma : Applied pharmacology in medical treatment. DRANCE S, NEUFELD A eds., 1984 : 507-526

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

HANUS L, BREUER A, TCHILIBON S, SHILOAH S, GOLDENBERG D et coll. HU-308 : a specific agonist for CB(2), a peripheral cannabinoid receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, **96** : 14228-14233

HARDER S, RIETBROCK S. Concentration-effect relationship of delta-9-tetrahydrocannabinol and prediction of psychotropic effects after smoking marijuana. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1997, **35** : 155-159

HEPLER RS, FRANCK IR. Marijuana smoking and intraocular pressure. *J Am Med Assoc* 1971, **217** : 1392

HODGES LC, REGGIO PH, GREEN K. Evidence against cannabinoid receptor involvement in intraocular pressure effects of cannabinoids in rabbits. *Ophthalmic Res* 1997, **29** : 1-5

HOLLAND M, JOHN CHALISS RA, STANDEN NB, BOYLE JP. Cannabinoid CB1 receptors fail to cause relaxation, but couple via Gi/Go to the inhibition of adenylyl cyclase in carotid artery smooth muscle. *Br J Pharmacol* 1999, **128** : 597-604

JARAI Z, WAGNER JA, VARGA K, LAKE KD, COMPTON DR et coll. Cannabinoid-induced mesenteric vasodilation through an endothelial site distinct from CB1 or CB2 receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, **96** : 14136-14141

KENNEY SP, KEKUDA R, PRASAD PD, LEIBACH FH, DEVOE LD, GANAPATHY V. Cannabinoid receptors and their role in the regulation of the serotonin transporter in human placenta. *Am J Obstet Gynecol* 1999, **181** : 491-497

KIPLINGER GF, MANNO JE, RODDA BE, FORNEY RB. Dose-response analysis of the effects of tetrahydrocannabinol in man. *Clin Pharmacol Ther* 1971, **12** : 650-657

KLEIN TW, NEWTON C, FRIEDMAN H. Cannabinoid receptors and immunity. *Immunol Today* 1998, **19** : 373-381

LAKE KD, COMPTON DR, VARGA K, MARTIN BR, KUNOS G. Cannabinoid-induced hypotension and bradycardia in rats mediated by CB1-like cannabinoid receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1997, **281** : 1030-1037

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

MACCARRONE M, LORENZON T, BARI M, MELINO G, FINAZZI-AGRO A. Anandamide induces apoptosis in human cells via vanilloid receptors. Evidence for a protective role of cannabinoid receptors. *J Biol Chem* 2000, **275** : 31938-31945

MACKIE K, DEVANE WA, HILLE B. Anandamide, an endogenous cannabinoid, inhibits calcium currents as a partial agonist in N18 neuroblastoma cells. *Mol Pharmacol* 1993, **44** : 498-503

MASSI P, FUZIO D, VIGANO D, SACERDOTE P, PAROLARO D. Relative involvement of cannabinoid CB(1) and CB(2) receptors in the Delta(9)-tetrahydrocannabinol-induced inhibition of natural killer activity. *Eur J Pharmacol* 2000, **387** : 343-347

MATSUDA S, KANEMITSU N, NAKAMURA A, MIMURA Y, UEDA N et coll. Metabolism of anandamide, an endogenous cannabinoid receptor ligand, in porcine ocular tissues. *Exp Eye Res* 1997, **64** : 707-711

PARIA BC, DAS SK, DEY SK. The preimplantation mouse embryo is a target for cannabinoid ligand-receptor signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, **92** : 9460-9464

PARIA BC, DEUTSCH DD, DEY SK. The uterus is a potential site of anandamide synthesis and hydrolysis : differential profiles of anandamide synthase and hydrolase activities in the mouse uterus during the periimplantation period. *Mol Reprod Dev* 1996, **45** : 183-192

PARIA BC, MA W, ANDRENYAK DM, SCHMID PC, SCHMID HH et coll. Effects of cannabinoids on preimplantation mouse embryo development and implantation are mediated by brain-type cannabinoid receptors. *Biol Reprod* 1998, **58** : 1490-1495

PARIA BC, ZHAO X, WANG J, DAS SK, DEY SK. Fatty-acid amide hydrolase is expressed in the mouse uterus and embryo during the periimplantation period. *Biol Reprod* 1999, **60** : 1151-1157

PARIA BC, DEY SK. Ligand-receptor signaling with endocannabinoids in preimplantation embryo development and implantation. *Chem Phys Lipids* 2000, **108** : 211-220

PATE DW, JARVINEN K, URTTI A, MAHADEVAN V, JARVINEN T. Effect of the CB1 receptor antagonist, SR141716A, on cannabinoid-induced ocular hypotension in normotensive rabbits. *Life Sci* 1998, **63** : 2181-2188

PORCELLA A, CASELLAS P, GESSA GL, PANI L. Cannabinoid receptor CB1 mRNA is highly expressed in the rat ciliary body : implications for the antiglaucoma properties of marijuana. *Brain Res Mol Brain Res* 1998, **58** : 240-245

PORCELLA A, MAXIA C, GESSA GL, PANI L. The synthetic cannabinoid WIN55212-2 decreases the intraocular pressure in human glaucoma resistant to conventional therapies. *Eur J Neuroscience* 2001, **13** : 409-412

PRESBURGER G, ROBINSON JK. Spatial signal detection in rats is differentially disrupted by delta-9-tetrahydrocannabinol, scopolamine, and MK-801. *Behav Brain Res* 1999, **99** : 27-34

PURNELL WD, GREGG JM. Delta-tetrahydrocannabinol, euphoria and intraocular pressure in man. *Ann Ophthalmol* 1975, **7** : 921-923

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

RUIZ L, MIGUEL A, DIAZ-LAVIADA I. Delta9-tetrahydrocannabinol induces apoptosis in human prostate PC-3 cells via a receptor-independent mechanism. *FEBS Lett* 1999, **458** : 400-404

SACERDOTE P, MASSI P, PANERAI AE, PAROLARO D. In vivo and in vitro treatment with the synthetic cannabinoid CP55, 940 decreases the in vitro migration of macrophages in the rat : involvement of both CB1 and CB2 receptors. *J Neuroimmunol* 2000, **109** :

SANCHEZ C, GALVE-ROPERH I, CANOVA C, BRACHET P, GUZMAN M. Delta9-tetrahydrocannabinol induces apoptosis in C6 glioma cells. *FEBS Lett* 1998, **436** : 6-10

SCHMID PC, PARIA BC, KREBSBACH RJ, SCHMID HHO, DEY SK. Changes in anandamide levels in mouse uterus are associated with uterine receptivity for embryo implantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997, **94** : 4188-4192

SIQUEIRA SW, LAPA AJ, RIBEIRO DO VALLE J. The triple effect induced by delta 9-tetrahydrocannabinol on the rat blood pressure. *Eur J Pharmacol* 1979, **58** : 351-357

SMITH SR, TERMINELLI C, DENHARDT G. Effects of cannabinoid receptor agonist and antagonist ligands on production of inflammatory cytokines and anti-inflammatory interleukin-10 in endotoxemic mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2000, **293** : 136-150

STRAIKER A, STELLA N, PIOMELLI D, MACKIE K, KARTEN HJ, MAGUIRE G. Cannabinoid CB1 receptors and ligands in vertebrate retina : localization and function of an endogenous signaling system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999a, **96** : 14565-14570

STRAIKER AJ, MAGUIRE G, MACKIE K, LINDSEY J. Localization of cannabinoid CB1 receptors in the human anterior eye and retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999b, **40** : 2442-2448

SUGIURA T, KODAKA T, NAKANE S, KISHIMOTO S, KONDO S, WAKU K. Detection of an endogenous cannabimimetic molecule, 2-arachidonoylglycerol, and cannabinoid CB1 receptor mRNA in human vascular cells : is 2-arachidonoylglycerol a possible vasomodulator ? *Biochem Biophys Res Commun* 1998, **243** : 838-843

TASHKIN DP, SHAPIRO BJ, LEE YE, HARPER CE. Effects of smoked marijuana in experimentally induced asthma. *Am Rev Respir Dis* 1975, **112** : 377-386

TASHKIN DP, REISS S, SHAPIRO BJ, CALVARESE B, OLSEN JL, LODGE JW. Bronchial effects of aerosolized delta 9-tetrahydrocannabinol in healthy and asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 1977, **115** : 57-65

VARGA K, LAKE K, MARTIN BR, KUNOS G. Novel antagonist implicates the CB1 cannabinoid receptor in the hypotensive action of anandamide. *Eur J Pharmacol* 1995, **278** : 279-283

VIDRIO H, SANCHEZ-SALVATORI MA, MEDINA M. Cardiovascular effects of (-)-11-OH-delta 8-tetrahydrocannabinol-dimethylheptyl in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1996, **28** : 332-336

WANG J, PARIA BC, DEY SK, ARMANT DR. Stage-specific excitation of cannabinoid receptor exhibits differential effects on mouse embryonic development. *Biol Reprod* 1999, **60** : 839-844

YANG ZM, PARIA BC, DEY SK. Activation of brain-type cannabinoid receptors interferes with preimplantation mouse embryo development. *Biol Reprod* 1996, **55** : 756-761

YAZULLA S, STUDHOLME KM, MCINTOSH HH, DEUTSCH DG. Immunocytochemical localization of cannabinoid CB1 receptor and fatty acid amide hydrolase in rat retina. *J Comp Neurol* 1999, **415** : 80-90

ZHU W, FRIEDMAN H, KLEIN TW. Delta9-tetrahydrocannabinol induces apoptosis in macrophages and lymphocytes : involvement of Bcl-2 and caspase-1. *J Pharmacol Exp Ther* 1998, **286** : 1103-1109

ZHU LX, SHARMA S, STOLINA M, GARDNER B, ROTH MD et coll. Delta-9-tetrahydrocannabinol inhibits antitumor immunity by a CB2 receptor-mediated, cytokine-dependent pathway. *J Immunol* 2000, **165** : 373-380

ZYGMUNT PM, PETERSSON J, ANDERSSON DA, CHUANG H, SORGARD M et coll. Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature* 1999, **400** : 452-457