

# Fisiopatologia del sistema endocannabinoide: focus sul metabolismo

Uberto Pagotto, Valentina Vicennati, Renato Pasquali

Unità Operativa di Endocrinologia e Centro di Ricerca Biomedica Applicata (C.R.B.A.), Dip. Medicina Interna e Gastroenterologia Policlinico S. Orsola-Malpighi, Università Alma Mater Studiorum, Bologna

**L**a crescita esponenziale nelle società industrializzate nelle ultime tre decadi dell'obesità, ed in particolar modo di quella di tipo viscerale, sta determinando un crescente allarme sociale. L'obesità è infatti strettamente associata ad un aumentato rischio per patologie quali il diabete, l'ipertensione, la dislipidemia e le malattie cardiovascolari (1). Il tutto, secondo alcuni autori, potrebbe portare già nelle prossime due decadi ad una ridotta globale aspettativa di vita (2).

Benché le correzioni dello stile di vita nutrizionale e l'incremento dell'attività fisica restino i baluardi per fronteggiare l'obesità, proprio i dati epidemiologici documentanti l'incremento esponenziale dei pazienti obesi nelle società occidentali dimostrano che tali presidi non sono più sufficienti per limitare il fenomeno. Pertanto, con l'avanzare delle scoperte molecolari che hanno cominciato a decifrare i meccanismi patofisiologici che inducono obesità, è iniziata anche a venire alla luce la necessità di un approccio farmacologico per affrontare in maniera più incisiva il problema dell'obesità.

Il sistema endocannabinoide rappresenta sicuramente una delle nuove frontiere tra i target farmacologici recentemente identificati per contrastare l'obesità viscerale e le comorbidità associate. Tale sistema si compone di composti endogeni di tipo lipidico, denominati endocannabinoidi (EC) e di proteine di legame appartenenti alla famiglia dei recettori accoppiati alle proteine G denominati recettore di tipo 1 (CB<sub>1</sub>) e di tipo 2 (CB<sub>2</sub>) (3-5). I recettori CB<sub>1</sub> sono presenti nei nuclei ipotalamici coinvolti nel controllo dell'apporto alimentare, come pure nei neuroni del sistema mesolimbico, i quali mediano la gratificazione indotta da sostanze in grado di indurre piacere (6). Recenti risultati dimostrano che i recettori CB<sub>1</sub> sono presenti anche in organi

periferici, quali il tessuto adiposo, il tessuto muscolare scheletrico, il tessuto epatico, il pancreas endocrino e il sistema gastrointestinale, organi chiave nella regolazione del metabolismo energetico (6). Ipotesi di lavoro starebbero a dimostrare un'associazione tra obesità e uno stato di iperattivazione del sistema endocannabinoide nei vari organi descritti sopra. Tale iperattivazione si estrinsecerebbe mediante l'aumentata produzione di EC oppure attraverso una up-regolazione dell'espressione del recettore CB<sub>1</sub> (5, 6). L'iperono cannabinoide potrebbe determinare una serie di conseguenze patologiche tra le quali iperfagia a livello cerebrale e stimolazione della lipogenesi a livello di organi periferici, contribuendo in tal modo alla formazione e al mantenimento dello stato di obesità. La sintesi di composti ad azione antagonista del recettore CB<sub>1</sub> ha permesso di sperimentare in modelli animali e poi nell'uomo gli effetti del blocco del sistema endocannabinoide, proponendo tale classe di farmaci come nuovo e innovativo presidio terapeutico per contrastare l'obesità e le comorbidità associate.

## *Il sistema endocannabinoide*

L'utilizzo della marijuana a scopi sia medicali sia ricreativi è riportato in diverse epoche storiche ed in differenti culture (7). Tra gli altri impieghi tramandati per via aneddotica vi era anche quello di stimolare l'appetito e di aiutare soggetti cachettici a guadagnare peso. Dai primi studi, che impiegavano estratti di *Cannabis sativa*, si potevano, tuttavia, derivare nozioni grossolane sulle azioni di tale composto. Si dovette attendere la caratterizzazione della struttura chimica del Δ<sup>9</sup>-tetraidrocannabinolo (THC), il principale costituente psicoattivo della marijuana (1), per poter procedere con ricerche con valenza scientifica (8). In ogni

caso, fu solo in seguito alla clonazione di due tipi di recettori in grado di legare i cannabinoidi esogeni presenti nella *Cannabis*, chiamati rispettivamente CB<sub>1</sub> e CB<sub>2</sub> (9, 10), che la ricerca scientifica sui meccanismi d'azione della marijuana procedette con vigore. La scoperta dei recettori venne immediatamente seguita dall'identificazione dei ligandi endogeni di tali recettori: gli EC (11-13), e solo allora si poté definire l'esistenza del sistema endocannabinoidale. Oggi sappiamo che tale sistema si compone non solo di propri recettori e di ligandi endogeni ma anche di un complesso apparato per la loro sintesi e degradazione (3-5).

In termini generali, il sistema endocannabinoidale è coinvolto in molteplici funzioni fisiologiche, molte delle quali correlate ai sistemi di risposta allo stress e al mantenimento dell'omeostasi: gli EC dispongono di proprietà neuroprotettive e antinocicettive, sono in grado di regolare l'attività motoria e di controllare alcune fasi del processo della memoria (3-5). Inoltre, il sistema endocannabinoidale è coinvolto nella modulazione delle risposte immunitarie, infiammatorie ed endocrine (3-6). Gli EC influenzano sensibilmente anche i sistemi cardiovascolare e respiratorio, controllando il ritmo cardiaco, riducendo la pressione arteriosa e avendo capacità broncodilatatorie. Infine, gli EC sono anche in grado di esercitare azioni anti-proliferative (3-5).

### *Recettori dei cannabinoidi*

Come prima accennato, fino ad oggi sono stati identificati e caratterizzati a livello molecolare due recettori denominati CB<sub>1</sub> (9) e CB<sub>2</sub> (10). Il CB<sub>1</sub> fu inizialmente descritto come di "tipo cerebrale"; infatti, la sua espressione a livello cerebrale è elevata al punto che il CB<sub>1</sub> è ritenuto il recettore associato a proteina G maggiormente espresso in questa sede (14). I recettori CB<sub>1</sub> sono presenti nel bulbo olfattivo, nelle regioni corticali (neocorteccia, corteccia piriforme, ippocampo, amigdala), in diverse parti dei gangli basali, nel mesolimbico, nei nuclei talamici e ipotalamici, nella corteccia cerebellare e nei nuclei del midollo allungato e del ponte (14). Ivi sono comprese le due aree cerebrali che controllano il comportamento alimentare: il mesolimbico, ove viene controllata la gratificazione e il piacere derivati da sostanze appetitose, e l'ipotalamo, ove sono localizzati i neuroni che producono neuropeptidi anoressizzanti ed oressizzanti in grado di controllare il senso della fame e della sazietà.

La definizione del CB<sub>1</sub> come recettore cerebrale, tuttavia, è stata confutata da studi recentissimi in cui si

dimostra che diversi organi periferici sono, attraverso l'attivazione del CB<sub>1</sub>, importanti siti d'azione degli EC. Infatti, nel 2003, due gruppi di ricerca hanno indipendentemente evidenziato la presenza di CB<sub>1</sub> negli adipociti di roditore (15, 16). Tale espressione è più evidente in adipociti maturi piuttosto che in pre-adipociti (16), dimostrando la maggior rilevanza degli EC nelle funzioni metaboliche rispetto a quelle di differenziazione. Tali riscontri in adipociti di roditori sono stati recentemente confermati anche in adipociti umani (17). Il recettore CB<sub>1</sub> è presente anche nel muscolo soleo murino (6), come pure negli epatociti dello stesso animale (18). Il medesimo recettore è presente nelle cellule endocrine del pancreas (19). Il CB<sub>1</sub> è espresso anche in terminazioni vagali che innervano il tratto gastrointestinale (20): in questa sede la sua attivazione modula svariate funzioni, incluse la motilità, l'infiammazione e la secrezione.

Il recettore CB<sub>2</sub>, invece, è presente nelle cellule immunitarie e del sangue, dove interviene nella regolazione della risposta immunitaria (14). Tuttavia, i recettori CB<sub>2</sub> svolgono funzioni anche in cellule non immunitarie come i cheratinociti, gli osteoclasti e il pancreas endocrino (14).

### *Gli endocannabinoidi*

Nel 1992, fu identificato il primo cannabinoide endogeno: l'arachidonoil-etanolamide noto anche come anandamide (AEA) (11). In seguito, fu scoperto un secondo endocannabinoide: il 2-arachidonoil-glicerolo (2-AG) (12, 13). Entrambi questi composti sono derivati dell'acido arachidonico e sono in grado di legare, benché con differenti affinità ed efficacia d'attivazione, i recettori CB<sub>1</sub> e CB<sub>2</sub>. Durante gli ultimi anni, sono stati descritti e sono in corso di descrizione molti altri mediatori lipidici bioattivi che sembrano agire, almeno in parte, attraverso CB<sub>1</sub> e/o CB<sub>2</sub>, conferendo specifici effetti farmacologici in vivo (3).

Alla luce della lipofilia degli EC, questi ultimi non possono essere accumulati in vescicole, piuttosto essi sono sintetizzati in seguito a particolari stimoli come la depolarizzazione della membrana o un aumento del Ca<sup>2+</sup> intracellulare a partire da precursori presenti nella membrana. Di conseguenza, la regolazione degli EC è controllata dalla loro sintesi e degradazione (3-5). Un aspetto interessante dell'attività degli EC è la rapida induzione della loro sintesi, l'attivazione del recettore e la loro immediata degradazione (3-5). È stato proposto, quindi, che il sistema endocannabinoidale agisca "su

richiesta”, con una selettività finemente regolata spazialmente e temporalmente: il sistema esercita le sue azioni modulatorie solo “quando” e “dove” esso serve. Questo fatto pone un’importante distinzione tra le funzioni fisiologiche del sistema endocannabinoide (selettivo nello spazio e nel tempo) e le azioni farmacologiche degli agonisti esogeni (cannabinoidi derivati dalle piante o sintetici) del recettore dei cannabinoidi, che mancano di tale selettività.

### *Sintesi e degradazione degli endocannabinoidi*

L’AEA è sintetizzata in due passaggi. Impiegando l’enzima N-aciltransferasi, il precursore fosfatidil-etanolamina, un lipide abbondantemente presente nella membrana cellulare, scambia il residuo di etanolamina con uno di acido arachidonico per formare l’N-arachidonoil fosfatidil-etanolamina (3). In seguito, l’AEA è definitivamente sintetizzata a partire da questo intermedio di reazione da una fosfolipasi D. Inoltre, AEA può anche essere sintetizzata a partire dall’N-arachidonoil fosfatidil-etanolamina attraverso un altro intermedio, l’N-arachidonoil fosfatidil-isoetanolamina (3).

Il secondo principale endocannabinoide, il 2-AG, è sintetizzato in due passaggi dal fosfatidil-inositolo, anch’esso un precursore lipidico abbondante nelle membrane. Tuttavia, sono state descritte due diverse vie sintetiche per il 2-AG. L’1,2-diacilglicerolo e il lisofosfatidil-inositolo sono i prodotti intermedi. Una fosfolipasi C e una fosfolipasi A<sub>1</sub>, rispettivamente, sono coinvolte nella generazione dei due composti intermedi (3). Due diacilglicerol-lipasi (DAGL $\alpha$  e DAGL $\beta$ ) sono in grado di promuovere la sintesi del 2-AG a partire dal 1,2-diacilglicerolo. Tutti gli altri enzimi non sono ancora stati identificati con chiarezza.

In generale, la sintesi degli EC è indotta da elevate concentrazioni intracellulari di Ca<sup>2+</sup>, per esempio durante la depolarizzazione della membrana postsinaptica (3). Tuttavia, sono stati proposti anche processi Ca<sup>2+</sup> indipendenti come induttori della sintesi degli EC, quali l’attivazione dei recettori metabotropici del glutammato e dell’acetilcolina (3).

La degradazione degli EC prevede l’idrolisi dell’AEA ad acido arachidonico ed etanolamina dall’enzima amide idrossilasi degli acidi grassi (FAAH) (21). Dato che FAAH è il principale enzima responsabile della degradazione di AEA, l’inibizione farmacologica di FAAH rappresenta un potente strumento di induzione e prolungamento dell’azione dell’AEA endogeno.

La degradazione del 2-AG sembra coinvolgere alme-

no due enzimi. La monoacilglicerol-lipasi (22) sembra essere responsabile di circa la metà dell’azione idrossilasica su 2-AG nei tessuti, suggerendo che possano esistere altri enzimi che idrolizzano il 2-AG.

Analogamente a quanto accade per i più classici neurotrasmettitori, è stato proposto che gli EC, dopo aver esercitato i loro effetti nello spazio extracellulare, siano recuperati all’interno della cellula (3–5): il trasporto non sarebbe guidato da gradienti ionici transmembranari come nel caso dei neurotrasmettitori, ma sembrerebbe essere facilitato dalla diffusione attraverso la membrana di questi composti lipofili (3–5). L’identità molecolare di tali trasportatori dei cannabinoidi non è ancora stata trovata.

### *Traduzione del segnale inter- e intra-cellulare mediato dagli endocannabinoidi*

Nel sistema nervoso centrale, gli EC possono agire come neurotrasmettitori di informazioni da un neurone all’altro. Qui, gli EC rilasciati nel versante postsinaptico, giungono al pre-sinaptico dove attivano i recettori CB<sub>1</sub>. Essi mediano quindi un segnale retrogrado (23). L’effetto complessivo è una diminuzione del rilascio di neurotrasmettitori quali il glutammato e il GABA. Tuttavia, gli EC in periferia potrebbero agire in modo paracrino ed autocrino, come si ipotizza a livello degli adipociti.

### *Cannabinoide-agonisti*

Basandosi su caratteristiche strutturali, i cannabinoidi derivati da piante e quelli sintetici sono divisi in diverse classi (14). In breve:

1. cannabinoidi “classici”, tra cui troviamo il più importante costituente psicoattivo della *Cannabis*, il THC, includono composti del tricyclo dibenzopirano che funge da struttura principale. Il THC è un agonista parziale di CB<sub>1</sub> e CB<sub>2</sub>;
2. cannabinoidi “non classici”, derivati sintetici di THC che mancano dell’anello diidropirano. Il più famoso è il composto CP-55,940, agonista di CB<sub>1</sub> e CB<sub>2</sub>, utilizzato per caratterizzare il recettore CB<sub>1</sub> (14);
3. aminoalchilindoli, rappresentati da R-(+)-WIN 55,212-2, sono composti strutturalmente non correlati a  $\Delta$ 9-THC, ma con forte attività cannabimimetica, essi legano sia CB<sub>1</sub> sia CB<sub>2</sub> (14);
4. gli EC che pertanto sono strutturalmente distinti dai cannabinoidi derivati dalle piante. Essi appartengono agli eicosanoidi, derivati degli acidi grassi che contengono una catena con 20 atomi di carbonio (14).

### *Antagonisti del recettore CB<sub>1</sub>*

La generazione di sostanze ad azione antagonista il recettore CB<sub>1</sub> ha rappresentato un avanzamento decisivo per comprendere il ruolo del sistema endocannabinoide nel controllo del metabolismo. Gli ultimi due anni hanno visto la nascita di un gran numero di composti ad azione CB<sub>1</sub> antagonista o ad azione di agonista inverso per lo stesso recettore (24); tuttavia, il primo CB<sub>1</sub> antagonista venne sintetizzato già 12 anni fa nei laboratori Sanofi-Synthelabo, e venne inizialmente identificato con la sigla SR141716 per poi assumere il nome con cui è attualmente conosciuto: rimonabant (25).

## **Il sistema endocannabinoide e la sua modulazione del bilancio energetico**

### *Cannabinoidi esogeni e apporto calorico*

Due concetti evidenziano l'importanza del sistema endocannabinoide nella regolazione dell'apporto calorico e del metabolismo energetico: da un lato, l'elevato grado di conservazione evolutiva del ruolo del sistema nella regolazione delle risposte nutritive (26); dall'altro, la presenza degli EC nel latte materno (27).

I modelli animali hanno rappresentato lo strumento ideale per chiarire i meccanismi d'azione alla base del controllo del metabolismo energetico da parte degli EC. Altri studi hanno analizzato le proprietà oressizzanti del THC con risultati, tuttavia, piuttosto contraddittori. I dati ambigui possono essere attribuiti a differenze nei modelli animali e nelle procedure sperimentali impiegate. Inoltre, nei primi approcci che utilizzavano estratti di marijuana, risultava estremamente difficile il confronto tra vari gruppi sperimentali a causa della grande variabilità nelle attività dei derivati della *Cannabis*, nel dosaggio e nelle vie di somministrazione (28).

Molti sono stati anche gli studi che hanno cercato di provare l'effetto stimolante della *Cannabis* sull'appetito nell'uomo. Questi studi pionieristici già suggerivano la limitazione nel tempo della capacità oressizzante dei cannabinoidi e un loro effetto metabolico più prolungato. Tuttavia, gli studi successivi non approfondirono tale intuizione circa la capacità dei cannabinoidi di interferire con processi metabolici periferici, preferendo concentrare l'interesse sulla capacità della *Cannabis* di stimolare a livello centrale l'iperfagia e il consumo eccessivo di cibo palatabile (28). L'effetto stimolatorio dei cannabinoidi sull'appetito incoraggiò la sperimentazione degli stessi per il trattamento nelle sindromi

cliniche che comportano diminuzione dell'appetito o del peso, quali l'anoressia associata all'AIDS, o come terapia adiuvante nel limitare i sintomi associati alla maggior parte dei farmaci chemioterapici, quali nausea e vomito (28). Da queste evidenze, nel 1985, derivò l'approvazione da parte della *Food and Drug Administration* per l'uso di THC (denominato Dronabinol) per il trattamento di nausea e vomito refrattari, indotti da chemioterapia con diversi farmaci. In seguito, il Dronabinol fu anche approvato per il trattamento di pazienti con sindrome cachettica causata dall'HIV (28). Mentre in tutti i lavori dopo somministrazione di Dronabinol venne dimostrato un modesto aumento dell'appetito, in alcuni di essi, a fronte di uno scarso aumento dell'importo calorico, si associò un significativo incremento della massa grassa corporea. Questi dati allora rimasero inspiegati mentre oggi, grazie all'attuale conoscenza dell'espressione di CB<sub>1</sub> a livello del tessuto adiposo, si potrebbe ipotizzare che l'aumento in massa grassa dei pazienti affetti da HIV possa essere causata da una diretta azione lipogenica da parte del THC.

### *Endocannabinoidi e apporto calorico*

Dopo la scoperta degli EC, in analogia a quanto sperimentato con le sostanze cannabinoidi esogene, venne ben presto validata la loro abilità a determinare uno stimolo oressizzante. Tale evidenza fu in seguito affiancata dalla dimostrazione che la concentrazione degli EC aumentava in coincidenza di stati di digiuno raggiungendo un livello critico in grado di promuovere la motivazione alla nutrizione e diminuiva in conseguenza del pasto (29). Tali variazioni delle concentrazioni degli EC in rapporto alle condizioni di nutrizione si riscontrano esclusivamente in aree cerebrali quali il mesolimbico e l'ipotalamo coinvolte nel controllo dell'apporto confermando ulteriormente il concetto che gli EC sono prodotti *in situ* e "su richiesta" (4).

### *Endocannabinoidi, sistema mesolimbico e controllo della gratificazione da parte del cibo*

Il sistema endocannabinoide partecipa alla modulazione dei cosiddetti circuiti del piacere e la manipolazione di questo sistema è in grado di influenzare i comportamenti legati alla gratificazione. L'elevata espressione di CB<sub>1</sub> in aree coinvolte nel piacere costituisce una forte indicazione del diretto coinvolgimento del sistema nelle diverse funzioni psicologiche, regolate da queste regioni del cervello, incluso l'appetito (14). Il circuito

del piacere nel cervello dei mammiferi consiste in una serie di interconnessioni sinaptiche, implicata nelle sensazioni prodotte dai gratificanti naturali come cibo, droghe e sesso. In tale contesto, il cibo ingerito agisce sulle fibre nervose della dopamina, degli oppioidi, della serotonina e della noradrenalina, le quali connettono rombencefalo e mesencefalo all'ipotalamo per modulare l'azione dei fattori dell'appetito e della sazietà.

La più rilevante via del piacere è rappresentata dal sistema mesolimbico dopaminergico. Lo studio di tale sistema dimostra l'esistenza di un incremento di livelli di dopamina extracellulare e dei suoi metaboliti all'interno del nucleo *accumbens* dopo l'ingestione di cibo altamente appetitoso. Farmaci psicoattivi quali la marijuana, l'etanolo ma anche stimoli piacevoli o cibi gustosi, sono noti indurre il rilascio di dopamina in specifiche regioni cerebrali. Si presume, quindi, che vi sia una forte correlazione tra i livelli limbici di EC e di dopamina e l'aumentato desiderio verso il cibo gustoso. In tale localizzazione è stata dimostrata l'esistenza di una relazione tra il sistema endocannabinoide e il sistema oppioide nella pulsione verso l'apporto nutrizionale (28). Anche l'interazione tra sistema endocannabinoide e sistema serotoninergico è stata oggetto di studio, dato il coinvolgimento della serotonina nel controllo del comportamento alimentare (28). Esistono studi che avvalorano l'ipotesi che i due sistemi agiscano tramite meccanismi d'azione indipendenti e questa idea è importante, poiché permette di escludere un effetto sinergico in un'eventuale, futura combinazione di farmaci anti-obesità come quelli che inibiscono il recupero della serotonina e gli antagonisti del CB<sub>1</sub>.

### *Endocannabinoidi, ipotalamo e controllo del senso di fame e di sazietà*

Ridondanti connessioni ipotalamiche riescono a fornire elevati livelli di adattabilità del comportamento alimentare a vari stimoli centrali e periferici. La abbondanza e sovrapponibilità dei segnali nella stimolazione dell'appetito è comprensibile in vista della vitale importanza della nutrizione per la sopravvivenza (30). Mentre difetti nelle vie dei segnali anoressigenici quasi sempre conducono all'obesità, la diminuzione di segnali oreessigenici raramente si manifesta in un fenotipo magro. Segnali provenienti da vari organi periferici quali il fegato, il tratto gastrointestinale ed il tessuto adiposo indirizzano segnali ormonali e biochimici a livello ipotalamico per notificare al sistema nervoso centrale relativamente allo stato nutrizionale (30). Un

esempio di questo controllo periferico è la leptina, ormone di produzione eminentemente adipocitaria in grado di interagire con specifici recettori localizzati nell'ipotalamo per convogliare un segnale anoressizzante (30). Anche il sistema endocannabinoide viene modulato dalla leptina (31). Infatti è stato dimostrato che un trattamento acuto a base di leptina riduce i livelli ipotalamici di AEA e 2-AG nei topi normali, ma soprattutto è stato evidenziato che, in topi resi obesi e iperfagici da un difetto del segnale leptinergico, i livelli ipotalamici di EC sono permanentemente e patologicamente elevati (31). Questi studi hanno aperto la strada alla formulazione dell'ipotesi che l'obesità si associ ad uno stato cronico e patologico di attivazione del sistema endocannabinoide (6, 32). Soltanto negli ultimi due anni l'interazione tra recettore CB<sub>1</sub> ed EC nelle vie di regolazione della nutrizione è stata chiarita in dettaglio. Un interessante sito di interazione tra leptina ed EC è l'area laterale dell'ipotalamo. Il nostro gruppo ha, in passato, dimostrato che il recettore CB<sub>1</sub> è presente in quest'area e che colocalizza con neuroni produttori *orexine* e *Melanin Concentrating Hormone* (MCH), neuropeptidi coinvolti nel comportamento alimentare (15). Da quest'area partono terminazioni nervose alle aree limbiche che sovrintendono agli aspetti edonistici legati al cibo. Ebbene, gli EC nell'area laterale dell'ipotalamo aumentano l'eccitabilità dei neuroni produttori MCH promuovendo ulteriormente l'apporto alimentare; d'altro lato, la leptina inibisce in tale area il rilascio di EC ed a sua volta viene ridotta l'eccitabilità dei neuroni MCH con un effetto finale anoressizzante (33). Quindi, gli EC rappresentano un segnale modulatore cruciale a livello dell'area laterale dell'ipotalamo, la quale rappresenta uno snodo di informazioni che legano la periferia ed i centri superiori preposti al controllo alimentare.

### *Modalità d'azione periferiche del sistema endocannabinoide*

Alcune evidenze sono attualmente convergenti nell'indicare che gli effetti del recettore CB<sub>1</sub> sull'apporto calorico e sul peso corporeo non sono limitati ad una modalità d'azione esclusivamente centrale.

Colombo e coll. furono i primi a dimostrare in ratti magri sottoposti a regime dietetico standard, l'instaurarsi di una rapida tolleranza verso gli effetti anoressizzanti del rimonabant. Tuttavia, la perdita di peso negli stessi animali perdurava per due settimane, ben oltre, quindi, l'effetto anoressizzante del farmaco (34). Tale

intuizione non venne perseguita per alcuni anni, fino a quando mediante l'utilizzo di modelli murini in cui il recettore CB<sub>1</sub> veniva ablato geneticamente (topi CB<sub>1</sub><sup>-/-</sup>), per spiegare la perdita di peso rispetto ai topi controllo *wild type* (WT) venne ipotizzato che la mancanza del recettore CB<sub>1</sub>, in aggiunta a un noto effetto anoressizzante, poteva produrre anche un effetto indipendente dall'apporto calorico (15). Differenze ancora maggiori in termini di riduzione del peso corporeo, sono state osservate quando topi adulti CB<sub>1</sub><sup>-/-</sup> e i loro fratelli WT sono stati sottoposti a diete ad alto contenuto lipidico inducenti obesità (dieta HFD) (35).

Negli ultimi tre anni, l'impiego di antagonisti del CB<sub>1</sub> ha confermato l'ipotesi che il blocco farmacologico di tale recettore possa giocare un ruolo rilevante nella perdita di peso. È stato osservato che un trattamento a lungo termine (40 giorni), con due dosi differenti di rimonabant (3 e 10 mg/kg) produceva una marcata ed acuta ipofagia in topi con obesità indotta da dieta solo nei primi giorni di trattamento, seguita dallo sviluppo di tolleranza agli effetti anoressigenici del farmaco. Purtroppo una continua riduzione del peso corporeo veniva notata per tutta la durata della sperimentazione (36). Dati simili che hanno descritto una rapida tolleranza verso l'azione anoressizzante, nonostante un sostenuto e prolungato effetto sulla diminuzione del grasso corporeo, sono stati ricavati in altri modelli animali di obesità ed anche utilizzando antagonisti specifici del recettore CB<sub>1</sub> differenti dal rimonabant (37, 38).

Studi *in vitro* hanno evidenziato che il recettore CB<sub>1</sub> è funzionalmente attivo negli adipociti bianchi dove stimola la lipogenesi. Infatti, la sua attivazione aumenta l'attività della lipoprotein lipasi e questo effetto può essere bloccato in modo specifico dal rimonabant (15). Inoltre, gli adipociti prelevati da topi obesi mostrano un aumento nell'espressione del CB<sub>1</sub> rispetto alle cellule adipose derivanti da topi magri (16), confermando il concetto secondo cui l'iperattivazione del sistema endocannabinoide si può associare alla condizione di obesità. Ancora più importante da un punto di vista metabolico è stata la dimostrazione che il rimonabant induce negli adipociti in coltura il rilascio di adiponectina (16). L'adiponectina, ormone circolante secreto esclusivamente dal tessuto adiposo, gioca un ruolo chiave dal punto di vista della regolazione del metabolismo del grasso e del glucosio. Tale proteina esibisce proprietà anti-aterogeniche e anti-diabetiche. L'adiponectina a livello epatico diminuisce la produzione di glucosio e regola il metabolismo degli acidi grassi liberi, tramite la

soppressione della lipogenesi e l'attivazione dell'ossidazione degli acidi grassi. Pertanto, il rimonabant potrebbe agire come un farmaco anti-obesità ad azione periferica influenzando direttamente il tessuto adiposo ed enzimi cardine coinvolti nella lipogenesi nonché stimolando la produzione di adiponectina.

Studi recenti, ottenuti mediante analisi di microarray, hanno evidenziato che un trattamento cronico con rimonabant in topi obesi induce l'espressione di *clusters* genici coinvolti nella β-ossidazione (39). Tale trattamento è stato anche visto essere in grado di indurre la trascrizione di geni che, legando il calcio, generano cicli futili (39). Ebbene, l'attivazione di questi *clusters* genici indotti da rimonabant produce un aumento del dispendio energetico con ridotto accumulo delle riserve caloriche. Inoltre, nello stesso modello sperimentale, il rimonabant si è mostrato in grado di indurre l'espressione di geni critici del metabolismo del glucosio, quale il GLUT<sub>4</sub>, e questo potrebbe spiegare gli effetti benefici sul metabolismo glucidico osservati dapprima in modelli animali e poi anche nei pazienti trattati con rimonabant (39). In aggiunta, il sistema endocannabinoide pare agire anche sul muscolo scheletrico; infatti il trattamento con rimonabant in topi ob/ob, rispetto agli animali trattati con placebo, ha portato un significativo aumento dell'incorporazione di glucosio da parte del muscolo scheletrico soleo (40). Tale incremento potrebbe contribuire in maniera significativa al miglioramento dell'iperglicemia osservata nell'animale e nell'uomo in trattamento con antagonisti del CB<sub>1</sub>.

A livello di epatociti murini è stato dimostrato che l'attivazione del CB<sub>1</sub> da parte di cannabinoido-agonisti è in grado di stimolare la lipogenesi inducendo l'espressione epatica di alcuni geni coinvolti in tale attività (18); al contrario, rimonabant è capace di bloccare tale attivazione. Pertanto, la funzione degli EC sembrerebbe essere quella di indurre la sintesi *de novo* di acidi grassi; quindi un ipertono cannabinoide potrebbe portare allo sviluppo di steatosi, mentre il blocco del recettore CB<sub>1</sub> potrebbe rallentare l'insorgenza (18).

Infine, molto recentemente è stata individuata anche una capacità del sistema endocannabinoide di influenzare la secrezione endocrino-pancreatica. Infatti gli EC, tramite l'attivazione di CB<sub>1</sub>, sembrerebbero essere in grado di modificare la secrezione del Ca<sup>2+</sup> e di quella dell'insulina (19). In ogni caso, gli studi sul ruolo del sistema endocannabinoide a livello del pancreas sono ancora agli albori e richiedono ulteriori conferme.

### *L'obesità è una condizione verosimilmente associata a una iperattivazione del sistema endocannabinoide*

L'ipotesi secondo cui l'iperattivazione del sistema endocannabinoide può essere associata all'obesità è recente e viene supportata da una serie di lavori svolti su modelli animali di obesità; tuttavia necessita di prove definitive nell'uomo. In ogni caso, è stato dimostrato che il recettore CB<sub>1</sub> è sovraespresso in tessuti che controllano in maniera cruciale il metabolismo energetico quali il fegato (18), i muscoli scheletrici (6) e il tessuto adiposo (15, 16) quando l'animale sia reso obeso da una dieta grassa. Inoltre una aumentata produzione di EC è stata dimostrata sia nell'ipotalamo sia nel fegato di animali obesi (18, 31). È stato, infine, osservato che i livelli degli EC plasmatici in pazienti obesi sono maggiormente elevati quando comparati ai livelli derivati da soggetti magri. È ancora troppo presto, comunque, per esprimere un giudizio sul significato clinico dei livelli circolanti di EC nell'uomo (17). Inoltre, non è ancora completamente chiarita la ragione dei meccanismi che porterebbe ad una iperattivazione del sistema endocannabinoide nell'obesità. Un recente studio ha però cominciato a far luce in proposito, dimostrando un polimorfismo in una popolazione di soggetti obesi, responsabile della sostituzione di un residuo di treonina con un residuo altamente conservato di prolina (P129T) a livello della sequenza della FAAH, l'enzima che degrada l'AEA (41). I pazienti con tale polimorfismo hanno dimezzate le capacità enzimatiche della proteina e tale diminuzione funzionale potrebbe influenzare la disponibilità degli EC, rendendo i loro livelli maggiormente presenti nei vari siti d'azione (41).

In conclusione, i siti di azione periferica del sistema endocannabinoide nel controllo del metabolismo sono posti a vari livelli. Una maggiore caratterizzazione del contributo di ciascun organo e lo studio delle reciproche interazioni tra gli stessi sono scopi mandatori di studi futuri su tale argomento.

### *Antagonisti di CB<sub>1</sub> nel trattamento dell'obesità nell'uomo: studi clinici*

I dati fin qui evidenziati mettono in luce il ruolo del sistema endocannabinoide nella regolazione del comportamento alimentare e del bilancio energetico. È stato perciò ipotizzato un ruolo terapeutico degli antagonisti dei cannabinoidi nel trattamento dell'obesità. Un'estesa fase sperimentale III denominata RIO (*Rimonabant In Obesity*) è stata iniziata nell'agosto 2001 su scala mondiale (42). Tale fase, conclusasi di

recente, ha incluso circa 6600 pazienti obesi o sovrappeso. L'insieme di queste sperimentazioni era composto da quattro studi separati volti ad identificare l'efficacia di rimonabant sul peso corporeo come end-point primario e sulle varie alterazioni metaboliche come end-point secondario. Il trattamento farmacologico era sempre associato ad una riduzione dell'apporto calorico di 600 calorie rispetto al fabbisogno calorico calcolato su base individuale. Veniva inoltre suggerito a tutti i partecipanti allo studio di aumentare l'attività fisica. Due di questi studi, denominati rispettivamente *RIO-North America* e *RIO-Europe*, prevedevano il reclutamento di pazienti obesi o sovrappeso, con o senza comorbidità associate, per un trattamento biennale con 5 mg oppure 20 mg di rimonabant vs. placebo. Lo studio *RIO-North America* differiva dal *RIO-Europe* non solo per le aree geografiche di reclutamento ma anche per lo schema sperimentale che prevedeva la ri-randomizzazione al termine del primo anno di studio, dopo la quale pazienti in trattamento con il farmaco venivano immessi nel braccio placebo, al fine di monitorare l'eventuale ripresa di peso corporeo al termine dell'impiego del farmaco. Gli altri due studi denominati *RIO-Lipids* e *RIO-Diabetes* sono stati programmati per indagare i miglioramenti susseguenti alla somministrazione di rimonabant in pazienti che associavano all'obesità o sovrappeso anche diabete e dislipidemia, rispettivamente.

Due sono gli studi pubblicati a tutt'oggi: l'analisi *ad interim* del primo anno di *RIO-Europe* ed il *Rio-Lipids* (43, 44). Entrambi gli studi hanno raggiunto risultati sovrapponibili sia per ciò che concerne gli end-point primari sia per quelli secondari e ciò depone per la consistenza dei dati (43, 44). Inoltre, il trattamento con rimonabant 20 mg ha prodotto risultati maggiormente significativi rispetto a quello con 5 mg; pertanto i risultati che verranno sotto sintetizzati verranno sempre riferiti al trattamento con 20 mg vs. placebo.

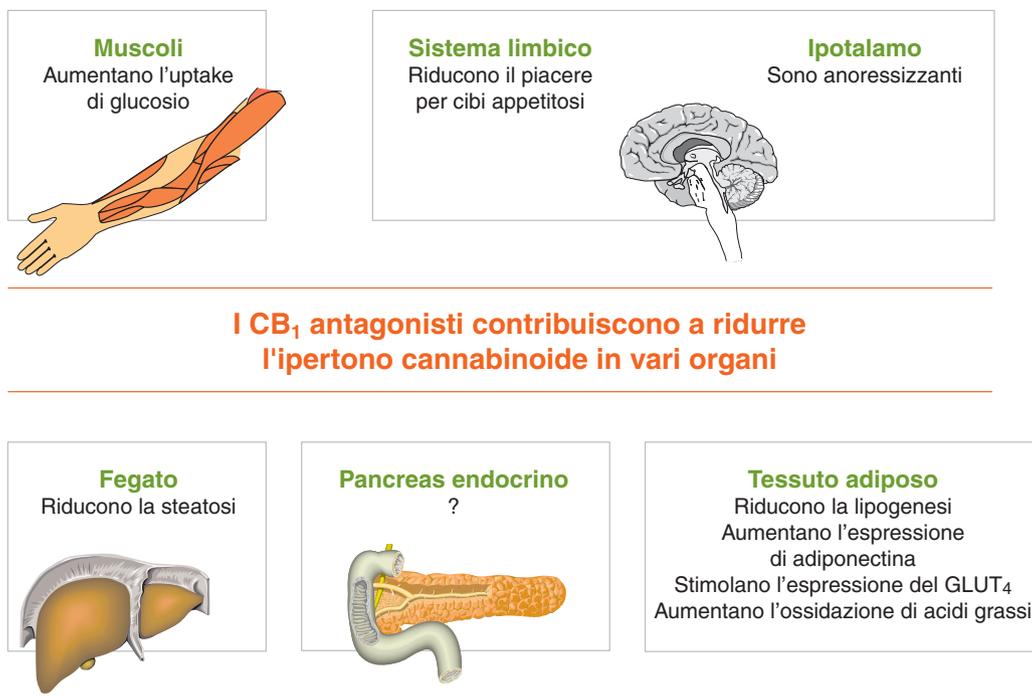
In entrambi gli studi, il trattamento con 20 mg ha prodotto una riduzione di peso corporeo di 8.6 kg quando comparati ai -3.6 kg riscontrati con placebo registrato nello studio *RIO-Europe* e ai -2.3 kg nel *RIO-Lipids* (43, 44). Uguale è pure risultata, in entrambi gli studi, la riduzione della circonferenza vita (9 cm) dopo rimonabant quando confrontata con la riduzione di 3 e 4 cm nei bracci placebo osservata rispettivamente nei due studi (43, 44). La riduzione di peso corporeo si è evidenziata durante le prime 36-40 settimane di trattamento ed è stata seguita da una fase di plateau in

entrambi gli studi. La proporzione di pazienti che hanno mostrato una perdita di peso uguale o maggiore al 10% rispetto al peso iniziale è stata del 39% nel protocollo *RIO-Europe* e del 32% nel *RIO-Lipids* nei soggetti in trattamento col farmaco, mentre nei soggetti che assumevano placebo era del 12% e del 7%, rispettivamente (43, 44). Un significativo miglioramento del profilo lipidico, caratterizzantesi per un incremento del colesterolo HDL e per un decremento della concentrazione dei trigliceridi (43, 44), è stato evidenziato in entrambi gli studi nei pazienti trattati con rimonabant. Negli stessi pazienti si è anche registrato un miglioramento sia del glucosio sia dell'insulina nel corso di curva da carico di glucosio (43, 44). Lo studio *RIO-Lipids* ha, inoltre, condotto un esame riguardo le variazioni di leptina e adiponectina evidenziando un decremento significativo di leptina e, di converso, un aumento dei livelli circolanti di adiponectina nei pazienti trattati con rimonabant (44). Come ci si sarebbe potuti aspettare dagli studi condotti sugli animali, anche nelle sperimentazioni sull'uomo è stato dimostrato, mediante analisi statistica, che il farmaco è in grado di aggiungere ad effetti positivi derivanti dalla

perdita di peso, un ulteriore, significativo, effetto - perdita di peso-indipendente - sui parametri lipidici e sull'aumento di adiponectina (43, 44). Infatti, mediante modelli statistici di regressione logistica utilizzando la perdita di peso come covariata, si è osservato nel *RIO-Europe* che circa il 50% delle variazioni di colesterolo HDL e di trigliceridi era indipendente dalla perdita di peso (43), come pure il 57% di aumento dell'adiponectina, nel *RIO-Lipids*, non è sembrato giustificabile sulla base della riduzione calorica, quanto da un effetto diretto del farmaco sugli organi bersaglio periferici (44). Questi ultimi risultati sono estremamente importanti perché confermano che i farmaci CB<sub>1</sub> antagonisti non hanno solo un meccanismo d'azione anoressizzante ma dispongono, come già suggerito negli studi pre-clinici, anche di un importante effetto metabolico a carico di vari organi periferici (vedi Figura 1).

Il farmaco è generalmente riportato come ben tollerato e gli effetti collaterali più frequentemente descritti risultano essere problemi gastrointestinali, quali nausea e diarrea e disturbi dell'umore come ansia e depressione. Tali effetti possono essere spiegati tenendo presente che CB<sub>1</sub> gioca un ruolo nella motilità gastrointe-

Figura 1 **Meccanismo d'azione degli antagonisti del recettore CB<sub>1</sub>**



Nei vari riquadri sono tratteggiati gli organi sui quali agiscono i farmaci antagonizzanti il recettore CB<sub>1</sub>, per contrastare lo sviluppo dell'obesità

stinale e nell'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisurrene (43, 44).

## Conclusioni

Le sperimentazioni di una nuova classe di farmaci quale quella degli antagonisti del recettore CB<sub>1</sub> volti a fronteggiare l'obesità e le comorbidità associate rappresentano una straordinaria novità per una serie di motivi. Innanzitutto, tali farmaci rappresentano l'avanguardia terapeutica di un costante avanzamento della ricerca scientifica susseguente alla comprensione della complessa integrazione di segnali a origine periferica e centrale nel controllo dell'apporto alimentare. Inoltre, tale classe di farmaci ha il merito scientifico di portare alla ribalta il sistema endocannabinoide, sistema in grado di interferire in maniera integrata con un gran numero di funzioni fisiologiche. È pertanto auspicabile che la conoscenza di tale sistema, fino ad oggi riservata ad un ristretto numero di scienziati, divenga patrimonio comune per coloro che si occupano di scienze mediche. Infine, nel caso in cui le sperimentazioni sull'uomo sopra menzionate fossero confermate dall'autorizzazione al commercio di tali farmaci, una nuova possibilità terapeutica sarebbe a disposizione dei medici per combattere con maggiore successo di quanto avuto finora una patologia che predispone allo sviluppo di rischio cardiovascolare. I CB<sub>1</sub> antagonisti, insieme a un auspicabile sempre maggiore numero di nuovi farmaci per l'obesità viscerale permetteranno, così, di caratterizzare in maniera migliore il fenotipo del paziente obeso consentendo di individualizzare con maggiore successo i trattamenti e di combattere con maggiore fortuna questa patologia che rappresenta una vera sfida negli anni a venire per l'intera classe medica.

## Bibliografia

1. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Bautista L, Franzosi MG, Commerford P, Lang CC, Rumboldt Z, Onen CL, Lisheng L, Tanomsup S, Wangai P Jr, Razak F, Sharma AM, Anand SS; INTERHEART Study Investigators. Obesity and the risk of myocardial infarction in 27,000 participants from 52 countries: a case-control study. *Lancet* 366:1640-1649, 2005.
2. Olshansky SJ, Passaro DJ, Hershov RC, Layden J, Carnes BA, Brody J, Hayflick L, Butler RN, Allison DB, Ludwig DS. A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. *N Engl J Med* 352:1138-1145, 2005.
3. Piomelli D. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci* 4:873-884, 2003.
4. De Petrocellis L, Cascio MG, Di Marzo V. The endocannabinoid system: a general view and latest additions. *Br J Pharmacol* 141:765-774, 2004.
5. Di Marzo V, Bifulco M, De Petrocellis L. The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nat Rev Drug Discov* 3:771-784, 2004.
6. Pagotto U, Marsicano G, Cota D, Lutz B, Pasquali R. The emerging role of the endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance. *Endocr Rev* 27:73-100, 2006.
7. Peters H, Nahas GG. A brief History of four millennia (B.C. 2000-A.D. 1974). In: Nahas GG, Sutin K, Harvey D, Agurel S, ed. *Marihuana and medicine*. Totowa (NJ): Humana Press Inc; 3-7, 1999.
8. Gaoni Y, Mechoulam R. Isolation, structure and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J Am Chem Soc* 1646-1647, 1964.
9. Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 346:561-564, 1990.
10. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 365:61-65, 1993.
11. Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R. Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 258:1946-1949, 1992.
12. Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, Gopher A, Almog S, Martin BR, Compton DR. Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 50:83-90, 1995.
13. Sugiyama T, Kondo S, Sukagawa A, Nakane S, Shinoda A, Itoh K, Yamashita A, Waku K. 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain. *Biochem Biophys Res Commun* 215:89-97, 1995.
14. Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, Felder CC, Herkenham M, Mackie K, Martin BR, Mechoulam R, Pertwee RG. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev* 54:161-202, 2002.
15. Cota D, Marsicano G, Tschoep M, Grubler Y, Flachskamm C, Schubert M, Auer D, Yassouridis A, Thone-Reineke C, Ortmann S, Tomassoni F, Cervino C, Nisoli E, Linthorst AC, Pasquali R, Lutz B, Stalla GK, Pagotto U. The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J Clin Invest* 112:423-431, 2003.
16. Bensaid M, Gary-Bobo M, Esclangon A, Maffrand JP, Le Fur G, Oury-Donat F, Soubrie P. The cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor antagonist SR141716 increases Acip30 mRNA expression in adipose tissue of obese fa/fa rats and in cultured adipocyte cells. *Mol Pharmacol* 63:908-914, 2003.
17. Engeli S, Bohnke J, Feldpausch M, Gorzelniak K, Janke J, Batkai S, Pacher P, Harvey-White J, Luft FC, Sharma AM, Jordan J. Activation of the peripheral endocannabinoid system in human obesity. *Diabetes* 54, 2838-2843, 2005.
18. Osei-Hyiaman D, DePetrillo M, Pacher P, Liu J, Radaeva S, Batkai S, Harvey-White J, Mackie K, Offertaler L, Wang L, Kunos

- G. Endocannabinoid activation at hepatic CB<sub>1</sub> receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *J Clin Invest* 115:1298-1305, 2005.
19. Juan-Pico P, Fuentes E, Javier Bermudez-Silva F, Javier Diaz-Molina F, Ripoll C, Rodriguez de Fonseca F, Nadal A. Cannabinoid receptors regulate Ca<sup>2+</sup> signals and insulin secretion in pancreatic beta-cell. *Cell Calcium* 39: 155-162, 2006.
  20. Gomez R, Navarro M, Ferrer B, Trigo JM, Bilbao A, Del Arco I, Cippitelli A, Nava F, Piomelli D, Rodriguez de Fonseca F. A peripheral mechanism for CB<sub>1</sub> cannabinoid receptor-dependent modulation of feeding. *J Neurosci* 22:9612-9617, 2002.
  21. Dinh TP, Carpenter D, Leslie FM, Freund TF, Katona I, Sensi SL, Kathuria S, Piomelli D. Brain monoglyceride lipase participating in endocannabinoid inactivation. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:10819-10824, 2002.
  22. Dinh TP, Kathuria S, Piomelli D. RNA interference suggests a primary role for monoacylglycerol lipase in the degradation of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol. *Mol Pharmacol* 66:1260-1264, 2004.
  23. Freund TF, Katona I, Piomelli D 2003 Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev* 83:1017-1066
  24. Pertwee RG. Inverse agonism and neutral antagonism at cannabinoid CB<sub>1</sub> receptors. *Life Sci* 76:1307-1324, 2005.
  25. Rinaldi-Carmona M, Barth F, Heaulme M, Shire D, Calandra B, Congy C, Martinez S, Maruani J, Neliat G, Caput D, Ferrara P, Soubrie P, Breliere JC, Le Fur G. SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Lett* 350:240-244, 1994.
  26. De Petrocellis L, Melck D, Bisogno T, Milone A, Di Marzo V. Finding of the endocannabinoid signalling system in Hydra, a very primitive organism: possible role in the feeding response. *Neuroscience* 92:377-387, 1999.
  27. Frider E, Ginzburg Y, Breuer A, Bisogno T, Di Marzo V, Mechoulam R. Critical role of the endogenous cannabinoid system in mouse pup suckling and growth. *Eur J Pharmacol* 419:207-214, 2001.
  28. Cota D, Marsicano G, Lutz B, Vicennati V, Stalla GK, Pasquali R, Pagotto U. Endogenous cannabinoid system as a modulator of food intake. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27:289-301, 2003.
  29. Kirkham TC, Williams CM, Fezza F, Di Marzo V. Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol. *Br J Pharmacol* 136:550-557, 2002.
  30. Flier JS. Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic. *Cell* 116:337-350, 2004.
  31. Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L, Liu J, Batkai S, Jarai Z, Fezza F, Miura GI, Palmiter RD, Sugiura T, Kunos G. Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature* 410:822-825, 2001.
  32. Di Marzo V, Matias I. Endocannabinoid control of food intake and energy balance. *Nat Neurosci* 8:585-589, 2005.
  33. Jo YH, Chen YJJ, Chua SC Jr, Talmage DA, Role LW. Integration of endocannabinoid and leptin signaling in an appetite-related neural circuit. *Neuron* 48 :1055-1066, 2005.
  34. Colombo G, Agabio R, Diaz G, Lobina C, Reali R, Gessa GL. Appetite suppression and weight loss after the cannabinoid antagonist SR 141716. *Life Sci* 63:L113-L117, 1998.
  35. Ravinet-Trillou C, Delgorge C, Menet C, Arnone M, Soubrié P. CB<sub>1</sub> cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 28:640-648, 2004.
  36. Ravinet-Trillou C, Arnone M, Delgorge C, Gonalons N, Keane P, Maffrand JP, Soubrié P. Anti-obesity effect of SR141716, a CB<sub>1</sub> receptor antagonist, in diet-induced obese mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 284:R345-R353, 2003.
  37. Vickers SP, Webster LJ, Wyatt A, Dourish CT, Kennett GA. Preferential effects of the cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor antagonist, SR 141716, on food intake and body weight gain of obese (fa/fa) compared to lean Zucker rats. *Psychopharmacology (Berl)* 167:103-111, 2003.
  38. Hildebrandt AL, Kelly-Sullivan DM, Black SC. Antiobesity effects of chronic cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor antagonist treatment in diet-induced obese mice. *Eur J Pharmacol* 462:125-132, 2003.
  39. Jbilo O, Ravinet-Trillou C, Arnone M, Buisson I, Bribes E, Peleraux A, Penarier G, Soubrié P, Le Fur G, Galiegue S, Casellas P. The CB<sub>1</sub> receptor antagonist rimonabant reverses the diet-induced obesity phenotype through the regulation of lipolysis and energy balance. *FASEB J* 19:1567-1569, 2005
  40. Liu YL, Connoley IP, Wilson CA, Stock MJ. Effects of the cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor antagonist SR141716 on oxygen consumption and soleus muscle glucose uptake in Lep(ob)/Lep(ob) mice. *Int J Obes Relat Metab Disord* 29:183-187, 2005.
  41. Sipe JC, Waalen J, Gerber A, Beutler E. Overweight and obesity associated with a missense polymorphism in fatty acid amide hydrolase (FAAH). *Int J Obes Relat Metab Disord* 29:755-759, 2005.
  42. Fernandez JR, Allison DB. Rimonabant Sanofi-Synthelabo. *Curr Opin Investig Drugs* 5:430-435, 2004.
  43. Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rossner S, for the RIO-Europe Study Group. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet* 365:1389-1397, 2005.
  44. Despres JP, Golay A, Sjostrom L, for the Rimonabant in Obesity-Lipids Study Group. Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *N Engl J Med* 353:2121-2134, 2005.

