

che cosa so di...
che cosa so di...

a cura del Comitato Scientifico
Nazionale di FeDerSerD

Il ruolo della Cannabis e dei Cannabinoidi nelle malattie del fegato: review della letteratura

E. De Vivo¹, M. Bellinato^{1,2}, D. Aguilar Marucco³, G. Desantis⁴, A. Gramoni⁵, F. Mancuso⁶, D. Pini⁷, D. Zeme⁴, E. Bignamini¹ (per il gruppo MInD)

SUMMARY

■ *In many States of USA and some Italian regions, marijuana has been legalized as medical drug. So, a process of cannabis decriminalization is in place throughout the West.*

The debate about cannabis goes on politically and socially with contrasting aspects.

Both as regards the recreational use, it should be recalled that is considered harmful (to a different extent) by virtually all the experts; both in terms of therapeutic use, considered promising by many researchers, but for which the results really sure still seem limited to a few ambit.

This paper provides a review to groped to shed light on this topic both on the legal peculiarities and medical prescribing, and especially regarding the many biological effects of cannabis and cannabinoids (the active ingredient of cannabis) on the liver. ■

Introduzione

L'utilizzo della cannabis a scopo terapeutico risale a migliaia di anni prima di Cristo, oggi il suo utilizzo è illegale in quasi tutti i paesi occidentali, ma da anni esiste un forte movimento, attivo soprattutto negli Stati Uniti, a favore della sua reintroduzione anche a scopo ricreativo.

Ad oggi, sono 20 Stati e il Distretto di Columbia, ad aver approvato regolamenti che hanno permesso di depenalizzare o legalizzare la produzione e l'uso della cannabis a fini terapeutici.

Secondo i dati pubblicati dall'International Narcotics Control Board (Narcotic Drugs: Estimated world requirements for 2015; statistics for 2013), i Paesi produttori di cannabis oltre gli Stati Uniti, sono: Canada, Regno Unito, Olanda, Danimarca, Francia, Romania, Repubblica Ceca e Israele.

1. S.C. 1 Ser.D. Torino, Asl TO2.

2. S.C.2 Ser.D. Torino.

3. S.C. Ser.D. Torino Asl TO1.

4. S.C. Ser.D. Sangone.

5. S.C. Ser.D. Pinerolo.

6. S.C. Ser.D. Vercelli.

7. S.C. Ser.D. Sangone.

In Italia con il decreto del 9 novembre 2015, il Ministro della Salute ha rilasciato la concessione delle autorizzazioni per la coltivazione, la produzione, la fabbricazione, l'impiego, il commercio, l'esportazione, l'importazione, il transito, l'acquisto, la vendita e la detenzione delle sostanze stupefacenti o psicotrope prestando particolare attenzione ai medicinali di origine vegetale a base di cannabis.

La rimborsabilità a carico del Servizio sanitario regionale prevede che la produzione nazionale di sostanze e preparazioni di origine vegetale a base di cannabis, avvenga presso lo Stabilimento chimico farmaceutico militare di Firenze e sia subordinata alle indicazioni emanate da parte delle Regioni o Province autonome.

Le regioni che attualmente hanno approvato l'utilizzo della cannabis a scopo terapeutico sono rappresentate da: Puglia, Toscana, Veneto, Liguria, Marche, Friuli Venezia Giulia, Abruzzo, Sicilia, Umbria, Basilicata, Emilia Romagna, Piemonte e Valle D'Aosta. La prescrizione medica di questi preparati non deve essere considerata una terapia propriamente detta, bensì un trattamento sintomatico di supporto ai trattamenti standard, quando questi ultimi non hanno prodotto gli effetti desiderati, hanno provocato effetti secondari non tollerabili, o necessitano di incrementi posologici che potrebbero determinare la comparsa di effetti collaterali.

Le indicazioni terapeutiche di preparati che contengono derivati della cannabis riguardano:

- l'analgesia in patologie che implicano spasticità associata a dolore resistente alle terapie convenzionali (sclerosi multipla, lesioni del midollo spinale);
- l'analgesia nel dolore cronico (con particolare riferimento al dolore neurogeno) in cui il trattamento con antinfiammatori non steroidei o con farmaci cortisonici o oppioidi si sia rivelato inefficace;
- l'effetto anticinetosico ed antiemetico nella nausea e vomito, causati da chemioterapia, radioterapia, terapie per HIV, che non può essere ottenuto con trattamenti tradizionali;
- l'effetto stimolante dell'appetito nella cachessia, anoressia, perdita dell'appetito in pazienti oncologici o affetti da AIDS e nell'anoressia nervosa, che non può essere ottenuto con trattamenti standard;
- l'effetto ipotensivo nel glaucoma resistente alle terapie convenzionali;
- la riduzione dei movimenti involontari del corpo e facciali nella sindrome di Gilles de la Tourette che non può essere ottenuta con trattamenti standard.

La prescrizione e somministrazione può essere fatta direttamente dai medici di base, con trattamento anche domiciliare.

Il medico prescrittore, deve comunque sempre tenere conto delle principali controindicazioni che riguardano i seguenti ambiti:

- a) adolescenti e giovani adulti a causa di alterazioni mentali che sono maggiori durante il completamento dello sviluppo cerebrale;
- b) individui con disturbi cardio-polmonari severi in quanto l'uso di cannabis può provocare ipotensione ma anche ipertensione, sincope e tachicardia;
- c) **individui con grave insufficienza epatica, renale e soggetti con epatite C cronica a causa di un aumentato rischio di sviluppare o peggiorare una steatosi epatica;**
- d) individui con una storia personale di disturbi psichiatrici e/o una storia familiare di schizofrenia in quanto la cannabis può provocare crisi psicotiche;
- e) individui con una storia pregressa di tossicodipendenza e/o abuso di sostanze psicotrope e/o alcol;
- f) individui con disturbi maniaco depressivi;
- g) individui in terapia con farmaci ipnotico sedativi, antidepressivi o in generale psicoattivi in quanto la cannabis può generare effetti additivi o sinergici;
- h) donne che stanno pianificando una gravidanza o sono in gravidanza o in allattamento.

Attualmente alla Camera è al vaglio l'esame della proposta di legge per legalizzare l'uso della Cannabis sul territorio italiano. Il testo della legge non è ancora definitivo, ma è molto verosimile che esso consentirà la detenzione personale di dosi di cannabis in quantità superiore a quella attualmente stabilita, la coltivazione in casa di un certo numero di piante, la creazione di "Cannabis Social Club", e l'autorizzazione alla vendita al dettaglio in negozi dedicati, con licenza dei Monopoli dello Stato.

Marijuana, Hashish

La canapa, in latino *Cannabis sativa*, è una pianta che appartiene all'ordine *Urticales*, famiglia delle *Cannabaceae*.

Il nome discenderebbe dall'assiro qunnubu o qunnabu (1).

Teoricamente, tutte le varietà di cannabis producono principi attivi, ma la potenza e la qualità degli effetti prodotti varia a

seconda della zona di crescita, del clima e del tipo di coltivazione.

Il clima torrido dell'India permette di raccogliere il tipo di cannabis più potente per cui, tra tutte le varietà di canapa, la sola *Cannabis sativa* sottospecie *Indica*, possiede le proprietà terapeutiche note e già sfruttate fin dall'antichità in medicina.

In Europa la diffusione della cannabis risale all'Ottocento, in occasione delle campagne militari di Napoleone in Egitto (2).

I primi studi sulla cannabis risalgono al 1839: O'Shaughnessy, un medico irlandese, la somministrava a soggetti affetti da varie patologie, dall'epilessia ai reumatismi, riscontrando un'efficacia anticonvulsivante, analgesica e antiemetica (3).

Durante il secolo diciannovesimo e nei primi decenni del ventesimo, la cannabis fu un medicinale di uso comune nella pratica clinica, anche italiana, finché la disponibilità di altri tipi di trattamento (non erano stati ancora scoperti i principi attivi, per cui non ci poteva essere standardizzazione della droga base né degli estratti) e, "in maniera importante, la pressione sociopolitica" (4), non portarono al suo declino.

Ancora nel 1962 Benigni *et al.*, nel loro storico trattato di fitoterapia, scrivevano: "I suoi impieghi terapeutici sono in relazione soprattutto con l'azione analgesica di questa droga, azione molto simile a quella dell'oppio, di cui la canapa indiana può essere considerata un succedaneo" (5).

Di lì a poco, nel 1964, il gruppo israeliano guidato da R. Mechoulam isolava il principio attivo più importante della pianta, ponendo le premesse per una sua rivalutazione scientifica.

Alla fine degli anni Novanta, uno dei padri della Terapia del Dolore, Patrick Wall, scriveva: "Si tratta di un altro rimedio vegetale con una pessima reputazione. Ma oggi sta subendo un'incredibile rivalutazione come analgesico terapeutico, che ripete a distanza di vent'anni la storia del passaggio degli oppiacei da droghe considerate un pericolo sociale a strumenti terapeutici con un fondamento scientifico" (6).

Tutte le parti costituenti la pianta *Cannabis sativa* sottospecie *Indica*, con l'eccezione dei semi, contengono principi attivi in varia concentrazione.

La massima concentrazione si trova nella infiorescenza femminile.

Alla cannabis sono stati dati vari nomi, tuttavia la denominazione più usata è *marijuana* o *marihuana*.

Tale termine ha origine spagnola e si riferisce ai preparati da fumare ottenuti da fiore, foglie e steli. Rappresenta anche il nome della pianta di canapa usata in America latina e si riferisce alle infiorescenze e alle foglie seccate e sminuzzate che contengono circa il 10% del principio attivo di tutta la pianta. *Hashish* deriva invece dalla parola araba che significa erba ed indica l'essudato, la resina secreta dalla sommità fiorita della cannabis femmina in cui si trova il 20-50% del principio attivo (7, 8).

Principi attivi

La pianta *Cannabis sativa Indica* contiene centinaia di sostanze a varia struttura chimica.

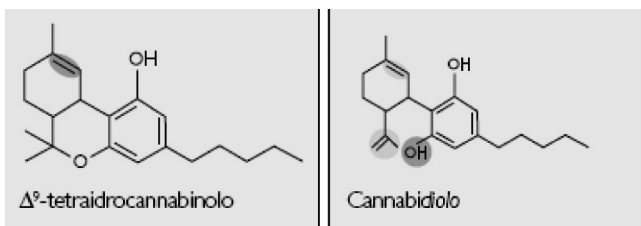
Di queste, fino ad oggi, sono stati identificati circa 66 composti appartenenti alla famiglia dei cannabinoidi, accomunati da una particolare struttura di 21 atomi di carbonio (9), raggruppati in una classe chimica, quella dei *terpenoidi*, idrocarburi aromatici contenenti ossigeno, non polari e con bassa solubilità in acqua. L'identificazione della struttura dei principi attivi della cannabis si è avuta, per prima, in due cannabinoidi: il **cannabinolo** (com-

posto chimico C₂₁ H₂₆ O₂, costituente l'essudato di resina dei fiori) e il **cannabidiolo** (composto chimico C₂₁ H₃₁ O₂) intorno agli anni 1940-42, da parte di scienziati americani e inglesi che ne hanno determinato la struttura chimica.

Il delta 9-tetraidrocannabinolo (9)"THC", è stato isolato come principio attivo della cannabis (10), successivamente, nell'anno 1964 (v. fig. 1).

La ricerca sul suo potenziale utilizzo in campo medico l'ha riconosciuto come responsabile principale delle proprietà farmacologiche della pianta (11), sebbene altri composti contribuiscano ad alcuni di questi effetti, in particolare il **cannabidiolo**, privo di effetti psicoattivi, ma dotato di attività antipsicotica, analgesica e antinfiammatoria.

Fig. 1



Recettori e Cannabinoidi endogeni

La dimostrazione dell'esistenza di un meccanismo recettore-mediato avvenne nel 1988.

Il recettore cerebrale per i cannabinoidi, denominato **CB₁** e che nel 1990 è stato clonato, si trova distribuito prevalentemente, ma non esclusivamente, nel sistema nervoso centrale e periferico, la sua attivazione giustifica molti degli effetti propri dei cannabinoidi.

I **CB₁** sono presenti anche in alcuni organi e tessuti, tra cui ghiandole endocrine, apparato riproduttivo, urinario, gastrointestinale (11, 12).

Nel 1993 è stato identificato il recettore **CB₂** sulle cellule immunocompetenti.

La sua distribuzione è centrale e periferica, in particolare nelle cellule dell'intestino, del fegato, della milza, nelle tonsille, nei linfociti e nei monociti e, in particolare, nelle mast-cellule (13). Alla scoperta di tali recettori ha fatto seguito nel 1992 l'identificazione delle sostanze endogene "ligandi" di questi recettori, denominate **endocannabinoidi**.

Tale termine, che è stato coniato dai ricercatori italiani nel 1995 (14), identifica una nuova classe di neuromediatori, accomunati dalla capacità di interagire con i recettori cannabinoidi.

Questi endocannabinoidi sono derivati dall'acido arachidonico, acido grasso polinsaturo di membrana.

Gli endocannabinoidi sino ad ora identificati sono sette, dei quali il primo è stato l'**anandamide** (N-arachidonoil etanolamide "AEA"), che deve il suo nome alla parola sanscrita "Ananda", che significa "stato di grazia"(15) (v. fig. 2).

Abbiamo inoltre il 2-arachidonoil glicerolo "2-AG", il 2-arachidonoil gliceril etere "**Noladin etere**", la O-arachidonoil-etanolamina "**Virodamina**", la diomo-linoiletanolamide "**HEA**" e la N-arachidonoil-dopamina "**NADA**"(16, 17) (v. fig. 3).

L'AEA e la NADA non si legano solo ai recettori **CB₁** e **CB₂** ma agiscono anche sul recettore vanilloide "PV1"(18) (un particolare tipo di proteine dette con la variante TRPV-1 (Transient Receptor Potential Vanilloid 1), in grado di **percepire**, e quindi

segnalare all'organismo, un determinato stimolo. provenienti dall'ambiente, dai segnali luminosi a quelli sonori, fino alla pressione meccanica).

Gli endocannabinoidi, al contrario di altri mediatori chimici, non sono prodotti e immagazzinati nelle microvescicole, ma vengono prodotti "su domanda" dai loro precursori e quindi rilasciati dal versante post-sinaptico al pre-sinaptico, dove attivano i recettori.

Essi quindi mediano un segnale retrogrado, che dal post-sinaptico va al pre-sinaptico.

Dopo il loro rilascio, vengono rapidamente disattivati per captazione ("reuptake"), nelle cellule e metabolizzati (19).

Fig. 2

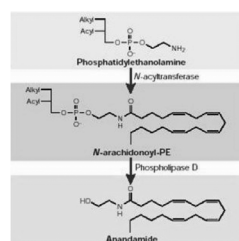
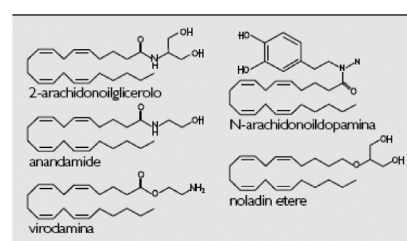


Fig. 3



Meccanismo di azione e farmacodinamica

I cannabinoidi esplicano la loro azione farmacologica con meccanismo metabotropo, tramite l'interazione con i due recettori **CB₁** e **CB₂**, ambedue appartenenti alla superfamiglia dei recettori trans-membrana che si accoppiano a proteine G, formando il complesso "GPCR".

Attraverso l'interazione con questi recettori i cannabinoidi modulano negativamente l'attività dell'adenilcicliasi e, quindi, inibendo la conversione di ATP ad AMP ciclico (c-AMP) (20).

Il recettore **CB₁** viene utilizzato un meccanismo ionotropo: quando viene attivato, è in grado di aprire i canali per il **K⁺** e chiudere quelli per il **Ca⁺⁺** (21) (v. fig. 4).

A seguito di assunzione abituale, la quota del principio attivo accumulata nei tessuti lipidici aumenta; di conseguenza, la sostanza viene rilevata nei liquidi organici anche per diverse settimane.

La lunga persistenza e il lento *release* del principio attivo hanno implicazioni ancora non chiare e che possono essere alla base del verificarsi di fenomeni dispercettivi anche a distanza dall'ultima assunzione (22).

L'uso della marijuana per un lungo periodo di tempo può causare **tolleranza**, e di conseguenza **astinenza** quando se ne interrompe l'assunzione.

L'astinenza da marijuana è riconosciuta ufficialmente come disturbo psichico.

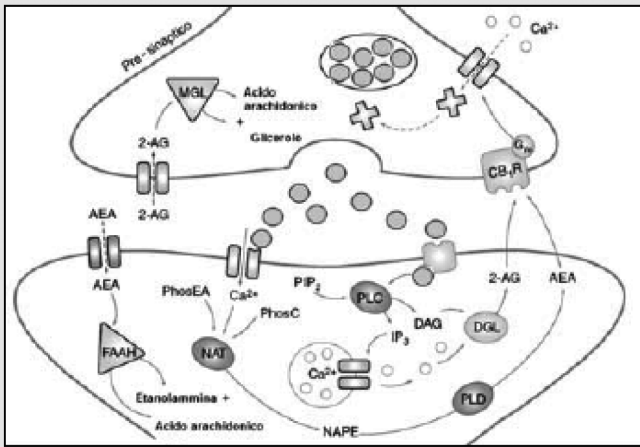
A livello molecolare, si verifica tolleranza quando il recettore **CB₁** è sovrastimolato e viene assorbito dalla cellula, perdendo in parte la sua funzione; di conseguenza anche l'effetto della droga, sia quello euforizzante che quello medico, si riducono nel tempo.

Per questo motivo la marijuana non è ritenuta efficace contro la schizofrenia, a causa, appunto, dell'insorgenza nel tempo della tolleranza.

La tolleranza non influenza invece significativamente il recettore **CB₂**, consentendo di sfruttarne più a lungo le proprietà antinfiammatorie.

Fig. 4

Diagramma della sinapsi cannabinergica. La depolarizzazione pre-sinaptica stimola la sintesi endocannabinoide (eBC) post-sinaptica. L'eCB in via retrograda iperpolarizza il terminale pre-sinaptico, così da ridurre il rilascio di ulteriore neurotrasmettitore. Ca^{2+} : ioni calcio, PIP_2 : fosfatidilinositolo 4, 5 bifosfato, PLC: fosfolipasi, IP_3 : inositolo trifosfato, DAG: diacilglicerolo, DGL: diacil glicerolipasi, 2-AG: 2-arachidonilglicerolo, phosEA: fosfatidil-etanolamina, phosC: fosfatidil-colina, NAT: N-acil trasferasi, NAPE: N-arachidonil-fosfatidil-etanolamina, PLD: fosfolipasi, AEA: anandamide, CB₁R: recettore 1 cannabinoidi, $G_{i/o}$: proteina G inibitore, MGL: monoacilglicerolipasi, FAAH: idrolasi ammidica degli acidi grassi.



Endocannabinoidi e alterazioni emodinamiche nella Cirrosi Epatica

Da molto tempo è noto il potente effetto ipotensivo del THC al punto che ne è stato proposto l'uso come antipertensivo (23). Questa azione, causata anche dagli analoghi cannabinoidi sintetici e dagli endocannabinoidi e mediata dai recettori CB₁ localizzati in parte nel sistema cardiovascolare periferico (24), svolge un ruolo patogenetico in varie forme di shock (25, 26), compreso quello endotossico (27).

La cirrosi epatica avanzata è associata ad endotossiemia e ipotensione, suggerendo il coinvolgimento del sistema endocannabinoide.

Infatti, nei ratti, la cirrosi viene accompagnata da un quadro ipotensivo ingravescente ma reversibile che regredisce antagonizzando o bloccando i recettori CB₁ (27), riducendosi anche l'ipertensione venosa portale e il flusso ematico mesenterico.

La probabile fonte di endocannabinoidi sono i macrofagi attivati, in cui l'LPS induce la sintesi CD14-dipendente di anandamide (AEA) (27, 28).

I livelli di AEA sono elevati nei macrofagi circolanti dei ratti come dei pazienti con cirrosi (29); questi macrofagi iniettati in ratti normali inducono effetti ipotensivi CB₁-mediati (27, 30).

La cirrosi incrementa l'espressione dei recettori CB₁ nelle cellule endoteliali dei vasi come anche nelle arterie mesenteriche (27, 29, 30), aumentando in questo modo il grado di vasodilatazione dell'AEA (28, 30, 32, 33, 34).

Nei pazienti con cirrosi, l'AEA circolante, ma non i livelli di 2-AG, è aumentato nel sangue periferico ma non nelle vene epatiche o nel fegato, suggerendo che il tessuto epatico non è la fonte principale di endocannabinoidi (35).

Questi risultati indicano che la vasodilatazione presente nella cirrosi epatica sia mediata dall'AEA.

Sebbene in uno studio condotto su pazienti cirrotici, l'aumento dei livelli circolanti di AEA non correla col grado di danno epatico e renale (36), in un altro caso di pazienti con cirrosi biliare primitiva, le espressioni dei CB₁ negli epatociti e nelle cellule dell'epitelio biliare e dei CB₂ negli epatociti e nei colangiociti, erano correlati positivamente col grading istologico (37).

La cirrosi è associata alla ritenzione renale di sodio, la quale è almeno in parte dovuta all'ipertensione portale secondaria alla fibrosi ed al danno epatico (38).

Nei ratti cirrotici, il rimonabant (antagonista selettivo CB₁) ha un effetto dose-dipendente (39) di riduzione della ritenzione di sodio e di conseguenza dell'ascite.

L'AEA induce la vasodilatazione del circolo mesenterico attraverso un meccanismo mediato dai recettori CB₁ ed indipendente dal sistema NO (40).

Esisterebbe, comunque, un'altra presunta via indipendente da quella CB₁/CB₂-mediata (resiste infatti al blocco recettoriale), indotta da alti dosaggi di AEA che, nella cirrosi contribuisce essa stessa alla vasodilatazione del circolo mesenterico (41).

L'iperdinamismo circolatorio negli stadi avanzati di cirrosi, è associato sia alla tachicardia che alla aumentata gettata cardiaca. Comunque, il cuore cirrotico (42), presenta una diminuzione basale nella contrattilità con una iposensibilità β-adrenergica, denominata "cardiomiopatia cirrotica" mediata dall'attivazione dei recettori endocannabinoidi cardiaci CB₁ (43).

Studi condotti in vivo, usando un sistema di misurazione intraventricolare di volume e pressione con micro cateterismo, dimostravano un significativo decremento basale della contrattilità cardiaca che era prontamente normalizzata attraverso il blocco dei CB₁ (44).

La soppressione della contrattilità cardiaca dovuta all'attivazione dei recettori CB₁ può coinvolgere l'inibizione dei canali del Ca⁺⁺ di tipo L (45) e/o la riduzione della quantità di cAMP presente nel miocardio.

Dei 2 principali endocannabinoidi, l'AEA è quello più probabilmente coinvolto, come suggerito dal riscontro di una sua aumentata concentrazione miocardica (ma non di 2-AG).

Questi dati permetterebbero di ipotizzare il blocco CB₁, come potenzialmente terapeutico delle anomalie emodinamiche presenti nella cirrosi epatica avanzata.

Poiché l'aumento del flusso ematico mesenterico potrebbe causare la rottura di varici e contribuire inoltre alla formazione di ascite, il blocco recettoriale CB₁ potrebbe evitare queste complicazioni, prolungando potenzialmente la sopravvivenza dei pazienti fino alla disponibilità un trapianto epatico.

Endocannabinoidi e fibrosi epatica

I recettori CB₂ che normalmente non sono osservabili nel fegato normale, vengono espressi in modo predominante nel fegato cirrotico umano e sono anche riscontrabili nelle cellule non parenchimali del fegato cirrotico del topo (47).

I THC sopprimono la proliferazione e inducono l'apoptosi dei miofibroblasti umani e delle cellule stellate attraverso la via recettoriale CB₂ (47) e, perciò, potrebbe avere effetto antifibrotico ed epatoprotettore (48). Di conseguenza, il topo CB₂^{-/-} presenta un'aumentata risposta agli stimoli fibrogenici (47).

L'attivazione del recettore CB₂ dovuto all'AEA inibisce anche la proliferazione dei colangiociti, una frequente conseguenza dell'ostruzione biliare extraepatica, della colestasi e del danno epatotossico.

Questo dato era associato all'aumentata produzione di radicali liberi dell'ossigeno (RLOs o ROS) e di morte cellulare, attraverso l'induzione del complesso AP-1 e thiorredoxin-1 (49). Nei ratti cirrotici, il trattamento cronico con un agonista selettivo dei CB₂, JWH-133, attenuava la fibrosi cellulare (50) e aumentava la risposta rigenerativa al danno epatico acuto.

Di conseguenza, nel topo CB₂^{-/-} si assisteva ad un ritardato processo rigenerativo epatico come risposta al danno indotto da CCl₄, mentre il trattamento con JWH-133 riduceva il danno ed accelerava la rigenerazione epatica (51).

Questi risultati indicano il potenziale terapeutico di agonisti CB₂ non psicoattivi nel trattamento della fibrosi epatica.

Paradossalmente, nei pazienti con infezione da HCV, l'uso quotidiano di cannabis, piuttosto che proteggere, aumentava la progressione della fibrosi (52).

Così, anche gli endocannabinoidi esercitavano un effetto profibrotico, forse mediato dai recettori CB₁.

Questa ipotesi sarebbe compatibile con il ritrovamento di una maggiore espressione dei recettori CB₁ nelle cellule stellate epatiche e nei miofibroblasti nel fegato umano cirrotico e nel fegato di topi con tre diversi modelli di fibrosi (53).

L'ablazione genetica o farmacologica dei recettori CB₁ proteggeva i topi contro i danni epatici, come conseguenza della ridotta espressione di α -actina nel muscolo liscio e del fattore di crescita trasformante β (TGF- β) (53).

2-AG sarebbe il probabile mediatore fibrogenetico di questo processo, visto che il suo livello epatico è selettivamente aumentato nei topi e nei ratti sottoposti a trattamento con CCl₄.

In vitro alte dosi di 2-AG inducevano apoptosi nelle cellule ematopoietiche (HSC) attivate, con meccanismo recettore-indipendente e mediato dal colesterolo di membrana; questo effetto attribuirebbe all'2-AG anche un'attività antifibrotica (54).

AEA aveva un effetto simile, sebbene l'eventuale morte cellulare era dovuto alla necrosi piuttosto che all'apoptosi (55).

Per entrambi gli endocannabinoidi, questi effetti si verificano ad una concentrazione tra 2-50 μ M.

La concentrazione epatica fisiologica di AEA è al di sotto di questi ordini di grandezza, mentre quella di 2-AG può raggiungere basse concentrazioni micromolecolari.

Dato che l'effetto pro-apoptotico di 2-AG è indipendente dai recettori dei cannabinoidi, esso potrebbe contribuire alla riduzione dell'attività fibrotica osservata dopo blocco recettoriale CB₁ (56).

Gli effetti profibrotici e quelli emodinamici negativi indotti dall'attivazione recettoriale CB₁ potrebbero fornire un razionale per l'uso terapeutico di CB₁ antagonisti nella gestione medica degli stadi avanzati di cirrosi epatica.

Endocannabinoidi e sindrome metabolica

L'effetto anoressizzante degli endocannabinoidi (57) è stato il principale elemento che ha catalizzato l'interesse per lo sviluppo di farmaci antagonisti recettoriali cerebrali CB₁, permeabili cioè alla barriera emato-encefalica (BEE), per il trattamento dell'obesità.

Il primo composto di questa classe, il *rimonabant*, causava perdita di peso e riduceva i fattori di rischio cardiometabolici associati, ma le collateralità neuropsichiatriche, incluse la depressione e l'ansia, impedivano la sua approvazione negli Stati Uniti e portavano al suo ritiro dal mercato di altri paesi (58). Esistono dati in evidente crescita che indicano, comunque, che gli effetti metabolici degli endocannabinoidi sono mediati, almeno in parte, dai recettori periferici CB₁, come successivamente discusso in dettaglio.

In effetti, un antagonista CB₁, non in grado di passare la BEE, è stato recentemente segnalato per mantenere gli effetti metabolici benefici di rimonabant (59), che possono ravvivare l'interesse per il potenziale terapeutico degli antagonisti CB₁ e senza produrre nell'uomo alterazioni comportamentali ed effetti collaterali neuropsichiatrici.

Il ridotto introito alimentare indotto dal blocco recettoriale CB₁ non rappresenta il motivo principale di dimagrimento nell'obesità.

Nel topo alimentato con dieta pro-obesità (DIO), la terapia cronica con rimonabant causava una transitoria riduzione degli introiti alimentari ma veniva registrata una perdita di peso sostenuta, indicando un effetto dimagrante indipendente dal bilancio energetico (60, 61).

L'aumento *de novo* della lipogenesi epatica, è stata documentata nel topo DIO (62, 63), così come nei soggetti con NAFLD (64, 65), e può essere mediata dagli endocannabinoidi.

Infatti, in studi condotti nei roditori, l'espressione del gene lipogenico e il tasso di lipogenesi epatica *de novo*, risultavano aumentati dagli agonisti CB₁ e diminuiti dagli antagonisti (66, 67, 68, 69).

Una dieta ricca di grassi aumenta l'espressione epatica dei CB₁ (70) e i livelli di AEA.

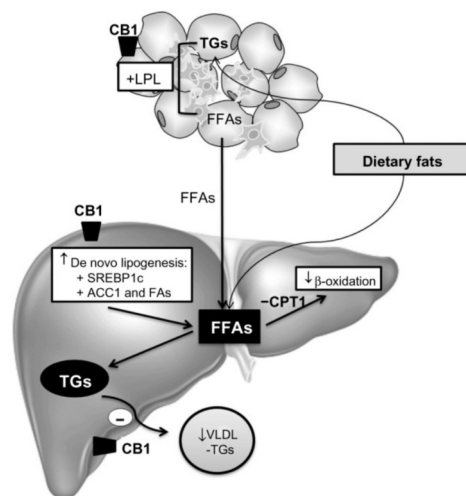
Così, l'AEA endogeno agendo attraverso i recettori CB₁ epatici contribuisce ad aumentare la lipogenesi *de novo* in modelli murini di obesità.

La lipogenesi CB₁-mediata può spiegare quanto dimostrato in studi condotti nei pazienti con infezione cronica da HCV, dove il fumo di cannabis ogni giorno era correlabile alla epatosteatosi ma non all'obesità (71).

Sebbene i CB₁ epatici possono contribuire all'induzione della lipogenesi e della steatosi, quelli extraepatici devono giocare un ruolo più importante, poiché il topo con CB₁^{-/-} epatico risulta solo parzialmente protetto dalla steatosi (72), mentre i topi resi transgenici per la selettiva ri-espressione di CB₁ epatici rimangono in gran parte resistenti all'effetto steatosico di una dieta ricca di grassi, simile ai loro fratellini CB₁-knockout. La fonte di grassi epatici può derivare dagli acidi grassi (poi convertiti nel fegato in trigliceridi) (73) rilasciati dal tessuto adiposo incrementato dalla lipogenesi indotta dall'attivazione recettoriale CB₁ negli adipociti (74).

D'altra parte, il rapido esaurimento dell'eccesso di trigliceridi epatici successivo al blocco recettoriale CB₁ può coinvolgere i recettori CB₁ epatici, come indicherebbe la maggiore velocità di secrezione dal fegato di trigliceridi ricchi in VLDL, in topi DIO *ob/ob*, dopo il trattamento con un antagonista periferico CB₁ (v. fig. 5).

Fig. 5 - Meccanismi CB₁ coinvolti nella epatosteatosi



Gli endocannabinoidi sono anche coinvolti nella riduzione, indotta dalla dieta, nell'ossidazione degli acidi grassi.

L'attività della carnitina-palmitoil-transferasi epatica-1 (CPT-1), il fattore enzimatico mitocondriale limitante la β -ossidazione degli acidi grassi, viene soppressa da una dieta ad alta percentuale di grassi o dal trattamento farmacologico con un agonista CB_1 , ed entrambi gli effetti sono prevenuti dal rimonabant (75).

Viceversa, l'attività epatica CPT-1 aumenta nel topo $CB_1^{-/-}$, e in quello DIO in cui è stato bloccato cronicamente il CB_1 (75).

L'adiponectina è uno stimolatore chiave della β -ossidazione degli acidi grassi, e il blocco recettoriale CB_1 aumenta la adiponectina plasmatica (75).

È stato dimostrato che l'aumento della sensibilità insulinica conseguente al blocco CB_1 , dipendeva da meccanismi correlati all'adiponectina (75, 76) ma anche indipendente da essa (75), sebbene il ruolo dell'adiponectina nel blocco del recettore CB_1 e della ossidazione mitocondriale epatocitaria degli acidi grassi, non è stata ancora completamente chiarito.

Nei ratti (76, 77, 78) e nei topi, l'aumento della spesa energetica, dovuta alla maggiore ossidazione dei grassi, conseguente al blocco CB_1 , è stato documentato utilizzando una calorimetria indiretta. Questi effetti probabilmente contribuiscono al calo ponderale indipendente dalla quantità di cibo introdotto con la dieta (79, 80), oltreché alla riduzione dell'epatosteatosi che avviene dopo il blocco CB_1 (80, 81, 82, 83).

L'ipertrigliceridemia correlata al DIO, era solo modicamente ridotta, mentre il conseguente aumento del colesterolo LDL e la diminuzione del colesterolo HDL nel plasma erano assenti sia nei topi $CB_1^{-/-}$ che in quelli $LCB_1^{-/-}$.

Ciò suggerisce che i CB_1 epatici mediano i cambiamenti nel metabolismo o nella secrezione delle lipoproteine epatiche indotti dalla dieta.

In un recente studio, il trattamento dei topi con un inibitore della lipasi monogliceride determinava un aumento dei livelli epatici di 2-AG, ed un incremento dell'espressione epatica di SREBP1c e FAS, un'ipertigliceridemia e l'accumulo nel plasma di apoE-impoverito, apolipoproteine ricche in trigliceridi. Questi cambiamenti erano assenti nei topi $CB_1^{-/-}$ or $ApoE^{-/-}$ e potevano essere prevenuti dal blocco recettoriale CB_1 .

Per di più, nonostante l'elevata espressione del gene lipogenico epatico, i tassi di secrezione di trigliceridi sono rimasti invariati, ma la clearance dei trigliceridi dal plasma è stato inibita.

Di contro nel topo DIO con up-regulation a lungo termine della ECS, il blocco recettoriale periferico incrementava la secrezione dei trigliceridi come già precedentemente riferito.

Diete ricche di grassi determinano anche livelli plasmatici di insulina e leptina elevati accompagnati da iperglicemia, indicando l'instaurarsi di un'insulino-resistenza (83), e di una resistenza alla leptina (84, 85).

È interessante notare come il topo $CB_1^{-/-}$ and $LCB_1^{-/-}$ rimaneva tollerante al glucosio e insulino-sensibile e non mostrava l'iperleptinemia associata a diete ricche di grassi.

Inoltre, la resistenza all'insulina e alla leptina dei topi DIO veniva normalizzata da un antagonista CB_1 periferico, l'AM 6545.

Ci sono anche evidenze per cui il THC induce nell'uomo e nei roditori intolleranza agli zuccheri, attraverso l'attivazione dei recettori CB_1 (86, 87).

Così, gli endocannabinoidi epatici giocano un ruolo importante nell'insulino e leptino-resistenze indotte dalla dieta alimentare. L'insulino-resistenza indotta dalla dieta coinvolge il tessuto adiposo, il muscolo scheletrico, il fegato e le interazioni tra questi tre tessuti attraverso fattori neurogenici (88) e/o umorali (89).

Nel topo, una dieta ricca di grassi induce l'espressione dei CB_1 nel muscolo scheletrico (90) e il blocco CB_1 nel topo obeso

aumenta la captazione e la fosforilazione del glucosio indotta dall'insulina.

Rimane ancora da esplorare la possibilità che l'attivazione dei CB_1 epatici possa influenzare la sensibilità dei tessuti periferici all'insulina, attraverso il rilascio di mediatori solubili.

I recettori CB_2 possono anche essere coinvolti nei cambiamenti ormonali e metabolici indotti dalla dieta.

Nei ratti, JWH-133, un agonista selettivo dei CB_2 , aumenta la tolleranza al glucosio mentre AM630, un CB_2 -antagonista, ha l'effetto opposto e previene inoltre quello di JWH-133 (91).

Questi effetti contrastano l'intolleranza al glucosio indotta dall'attivazione dei CB_1 e potrebbero minimizzare gli effetti sull'omeostasi del glucosio dovuta ad agonisti misti CB_1/CB_2 .

La ben nota insulino-sensibilità conseguente ad un costante blocco recettoriale CB_1 (92, 93), può essere dovuta al rovesciamento dell'effetto dell'AEA, che ha un effetto CB_2 molto scarso (94).

Ciò è anche coerente con i risultati di studi che dimostrano che l'intolleranza al glucosio e l'insulino-resistenza indotti da una dieta con alto contenuto lipidico, sono associati all'aumento dei livelli AEA, ma non di 2-AG.

In uno studio recente, l'espressione dei CB_2 era indotta fortemente sia dalla steatosi (NAFLD), che dalla steatoepatite non alcolica (NASH) (95), il che suggerisce il coinvolgimento dei CB_2 nel metabolismo del grasso epatico.

Inoltre, un incremento modesto nell'espressione dei CB_2 veniva segnalato negli epatociti di topi sia *ob/ob* che DIO.

D'altronde, i topi $CB_2^{-/-}$ erano resistenti alla NASH indotta dalla dieta lipogenica ed erano meno insulino-resistenti rispetto ai fratellini wild-type nutriti con la medesima dieta.

Inoltre, JWH-133 ha aumentato l'accumulo epatico di trigliceridi in topi DIO (96).

I risultati suggeriti da questi studi, sulla resistenza all'insulina indotta nei topi dai CB_2 , sono contrari al noto effetto nei ratti di sensibilizzazione all'insulina prodotto dagli agonisti CB_2 (91).

Sarebbero perciò necessari ulteriori studi per chiarire questa discrepanza.

Endocannabinoidi e steatosi epatica alcolica (AFLD)

L'alcolismo cronico può condurre alla steatosi epatica che a sua volta può evolvere in steatoepatite, cirrosi epatica ed epatocarcinoma.

L'etanolo aumenta la lipogenesi nel fegato (97, 98) e riduce l'ossidazione degli acidi grassi (99).

Meccanismi simili di steatosi indotta dalla dieta e dall'alcol, insieme alla capacità dell'etanolo di incrementare i livelli di endocannabinoidi, almeno nel cervello (100), suggeriscono il coinvolgimento del sistema endocannabinoide (ECS) nella steatosi epatica alcolica.

Inoltre, l'esposizione di topi maschi per quattro settimane ad una dieta liquida povera di grassi ed etanolo, aumentava l'espressione dei CB_1 epatici ed i livelli di 2-AG ma non quelli di AEA. 2-AG e l'espressione di diacilglicerol-lipasi- β (DAGL β) (suggestivo per un'aumentata biosintesi di 2-AG), risultavano incrementate nelle cellule epatiche stellate (HSC), ma non negli epatociti (101).

Il trattamento con Rimonabant riduceva la steatosi dovuta all'alcol senza alterare la quantità di alcol introdotto e i livelli di etanolemia, suggerendo un coinvolgimento dei recettori CB_1 .

Questa osservazione è stata ulteriormente supportata dalla resistenza alla steatosi etanolo-indotta sia nei topi $CB_1^{-/-}$ che $LCB_1^{-/-}$ (101).

Nei topi alimentati con etanolo l'espressione nucleare epatica di

SREBP1c e del suo target FAS risultavano aumentati, mentre la quantità e l'attività di CPT-1 erano diminuite, in accordo con quanto già precedentemente evidenziato (98).

Nei topi sia $CB_1^{-/-}$ che $LCB_1^{-/-}$, gli effetti dell'alcol etilico su SREBP1c, FAS e CPT-1 erano deboli o assenti.

Inoltre, nei ceppi CB_1 -knockout, l'attività di CPT-1 risultava incrementata e resistente alla soppressione dovuta all'etanolo (101).

Ciò supporta il dato che nei quadri di AFLD, attraverso l'attivazione recettoriale CB_1 aumenta la lipogenesi epatica e diminuisce l'ossidazione degli acidi grassi.

Gli epatociti $CB_1^{-/-}$ sono resistenti alla steatosi indotta dall'etanolo, mentre l'etanolo comunque aumenta il 2-AG esclusivamente nelle HSC.

Ciò suggerisce un meccanismo paracrino per cui il 2-AG derivato dagli HSC attiva i recettori CB_1 sugli epatociti adiacenti per stimolare in questi ultimi la lipogenesi e inibire l'ossidazione degli acidi grassi.

Inoltre, da epatociti derivati da controlli murini, in co-cultura con HSC estratte da topi alimentati con etanolo, si evidenzia un aumento dell'espressione del gene lipogenico.

L'effetto paracrino "innescato" dagli HSC dei topi alimentati con etanolo, veniva attenuato quando gli epatociti co-cultivati venivano estratti da topi $LCB_1^{-/-}$ a conferma del ruolo dei recettori CB_1 (101).

Questa interazione paracrina, insieme agli elevati livelli di acido retinoico riscontrati negli HSC e il suo ben noto ruolo nel controllo dell'espressione genica, ha promosso uno studio sul possibile ruolo dell'acido retinoico e dei suoi recettori, nella regolazione dell'espressione dei CB_1 nel fegato.

L'espressione dei CB_1 nel topo o negli epatociti umani isolati era up-regolata da RAR γ o da pan-RAR-agonisti, e gli effetti potevano essere attenuati dal silenziamento RAR γ con siRNA, ma non dagli altri sottotipi di RAR (102).

Sia CB_1 e RAR γ venivano up-regolati negli epatociti dei topi alimentati sia con cibi ad alto contenuto di grassi che con dieta liquida a base di alcool.

Inoltre, 2-AG up-regolava CB_1 negli epatociti normali ma non in quelli con deficit di retinaldeide deidrogenasi-1 (retinaldehyde dehydrogenase-1 $^{-/-}$) che risultavano carenti di acido retinoico.

Quindi, l'"autoinduzione" di CB_1 può anche coinvolgere l'acido retinoico (102).

È interessante notare che l'autoinduzione dei recettori CB_1 epatici è suggerito anche dalla constatazione che il trattamento cronico con rimonabant di topi DIO riesce a revertire la up-regolazione dei CB_1 epatici indotta dalla dieta (103).

I risultati sopra descritti suggerirebbero quindi che gli antagonisti CB_1 potrebbero essere efficaci nel trattamento di entrambi i quadri di AFLD che NAFLD.

Endocannabinoidi, encefalopatia epatica, epatite autoimmune

L'encefalopatia epatica è una sindrome neuropsichiatrica che può accompagnare l'insufficienza epatica acuta.

I meccanismi alla base non sono del tutto chiariti, anche se ci sono prove a favore del ruolo patogenetico dell'ammoniaca, di alterazioni nei vari sistemi di neurotrasmissione centrale e di un'alterata funzione cerebrovascolare.

I topi con insufficienza epatica fulminante indotta da tioacetamide, presentano un elevato livello cerebrale di 2-AG.

Il trattamento di questi topi con 2-AG o con un CB_2 agonista, HU-308, ha migliorato il punteggio neurologico e la funzione

cognitiva e questi effetti sono stati bloccati da un antagonista CB_2 .

Gli effetti benefici degli agonisti CB_2 potrebbero essere imitati dal trattamento con il rimonabant, antagonista CB_1 (104).

In un altro studio condotto dallo stesso gruppo di ricercatori, il trattamento con tioacetamide o BDL induceva l'espressione CB_2 nel cervello, e comportava anche l'attivazione della proteina chinasi AMP-attivata (AMPK).

L'assenza di entrambi questi effetti nei topi $CB_2^{-/-}$, indica il ruolo dei recettori CB_2 (105), sebbene ci sia anche l'evidenza di un coinvolgimento dei recettori TRPV $_1$ (106).

Il cannabidiolo (CBD) è un costituente della marijuana non-psi-coattivo senza attività significativa CB_1 o CB_2 .

È stato dimostrato che CBD migliora le funzioni cognitive e motorie come anche la neuro-infiammazione riscontrata nella encefalopatia epatica (107).

L'effetto infiammatorio nel cervello dei topi trattati con BDL, veniva ridotto dal trattamento con CBD, e l'effetto era attribuito all'attivazione indiretta dei recettori ippocampali adenosinici A $2A$.

È possibile che il trattamento combinato agonista CB_2 più CBD, possa offrire benefici terapeutici aggiuntivi nel trattamento dell'encefalopatia epatica.

Nel modello murino, di epatite autoimmune indotta dalla concanavalina A (ConA), il THC attenuava il quadro infiammatorio epatico, come indicato dal decremento dei livelli plasmatici degli enzimi epatici e delle citochine infiammatorie e riduceva il danno d'organo (108).

È interessante notare che i topi FAAH $^{-/-}$ presentavano un danno epatico da ConA ridotto, suggerendo un ruolo epatoprotettore dell'AEA endogeno (108).

Di contro, i risultati di un altro studio suggeriscono che l'effetto epatoprotettore può essere perseguito attraverso il blocco dei recettori CB_1 (109).

Osservazioni conclusive

Il sistema endocannabinoidale è presente nel fegato ed è coinvolto nel controllo di varie funzioni epatiche con importanti implicazioni terapeutiche.

L'aumento dell'**attività CB_1** contribuisce alle alterazioni emodinamiche e **promuove la fibrosi nel fegato** cirrotico, **mentre il blocco recettoriale CB_1 attenua e ritarda questi cambiamenti.**

Gli endocannabinoidi agendo attraverso l'attivazione dei recettori CB_1 epatici, hanno dimostrato un ruolo di mediatori importante sia nella NAFLD che nella AFLD, cause principali della maggior parte delle cirrosi nelle società occidentali.

Inoltre, **l'attivazione dei CB_1 epatici contribuisce alla obesità correlata alla insulino e leptino resistenze ed alle dislipidemie.**

Ciò rappresenta un forte razionale a sostegno **dell'uso terapeutico in queste condizioni, di antagonisti CB_1 .**

Sebbene le collateralità neuropsichiatriche limitino il potenziale terapeutico degli antagonisti CB_1 in grado di penetrare la BEE, la formulazione di preparati farmaceutici **di seconda generazione, esclusivamente periferici**, può ovviare a questo problema.

Inoltre, **gli agonisti CB_2 possono offrire benefici terapeutici nel ridurre il danno epatico e nel promuovere la riparazione tissutale nel fegato fibrotico.**

Nella pratica clinica quotidiana, il medico del Ser.D. dovrebbe quindi tener presente queste informazioni per poter meglio "condurre" in un quadro di *uso/dipendenza da cannabinoidi*, le proprie valutazioni cliniche, considerando certamente anche il fatto che la cannabis è la sostanza illegale più utilizzata e para-

dossalmente "meno considerata" nei Ser.D. dal punto di vista diagnostico e terapeutico tra i pazienti tossicodipendenti per altre sostanze.

Molto spesso, inoltre, questi pazienti, risultano portatori di una epatopatia correlabile, nella maggior parte dei casi, all'infezione da HCV e all'abuso/dipendenza da alcol e su cui l'uso di cannabis potrebbe certamente condizionare negativamente la prognosi.

Bibliografia

- Morgante A. (2004), "Notizie storiche sulla diffusione della 'Canapa Indiana' tratte dalla lettura dei testi antichi", *Acta Phytotherapeutica*, III, n. 3: 6-12.
- Russo E.B. (2007), "History of cannabis and its preparations in saga, science, and sobriquet", *Chemistry and Biodiversity*, 4: 1614-1648.
- Booth M. (2004), *Cannabis*, Bantam Books, New York.
- Baker D., Pryce G., Giovannoni G. et al. (2003), "The therapeutic potential of cannabis", *The Lancet Neurology*, 2(5): 291-298.
- Benigni R., Capra C., Cattorini P.E. (1962), *Piante medicinali. Chimica, farmacologia e terapia*, Inverni della Befia, Milano: 206-215.
- Wall P. (1999), *Perché proviamo dolore*, Einaudi, Torino: 131-132.
- De Mejer E.P.M., Van der Kamp H.J. (1992), "Characterisation of Cannabis accessions with regard to cannabinoid content in relation to other characters", *Euphytic*, 62: 187-200.
- Radzan R.K. (1986), "Structure-activity relationships in cannabinoids", *Pharmacol Rev*, 38(2): 75-149.
- Shoyama Y., Yagi M., Nishioka I. et al. (1975), "Biosynthesis of cannabinoid acids. Phytochemistry", 14: 2189-2297.
- Mechoulam R., Shvo Y. (1963), "The structure of cannabinoid", *Tetrahedron*, 19: 2073-2078.
- Matsuda L.A., Lolait S.J., Brownstein M.J. et al. (1990), "Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA", *Nature*, 346: 561-564.
- Howlett A.C., Barth F., Bonner T.I. et al. (2002), "International Union of Pharmacology XXVII. Classification of cannabinoid receptors", *Pharmacol Rev*, 54: 161-202.
- Munro S., Thomas K.L., Abu Shaar M. (1993), "Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids", *Nature*, 74: 129-180.
- Di Marzo V., Fontana A. (1995), "Anandamide, an endogenous cannabinomimetic eicosanoid: 'killing two birds with one stone'", *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 53(1): 1-11.
- Devane W.A., Hanus L., Breuer A. et al. (1992), "Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor", *Science*, 258: 1946-1949.
- Mechoulam R., Ben-Shabat S., Hanus L. et al. (1995), "Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptor", *Biochem Pharmacol*, 50: 83-90.
- Piomelli D. (2003), "The molecular logic of endocannabinoid signaling", *Nat Rev Neurosci*, 4: 873-884.
- Hogestatt E.D., Zygmunt P.M. (2002), "Cardiovascular pharmacology of anandamide", *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acid*, 66: 343-351.
- Di Marzo V., Bifulco M., De Petrocellis (2004), "The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation", *Nat Rev Drug Discov*, 3: 771-784.
- Compton D.R., Rice K.C., De Costa B.R. et al. (1993), "Cannabinoid structure-activity relationships: correlation of receptor binding and in vivo activities", *J Pharmacol Exp Ther*, 265: 218-226.
- Wilson R.L., Nicoll R.A. (2002), "Endocannabinoid signaling in the brain", *Science*, 296: 678-682.
- Huestis M.A. (2005), "Pharmacokinetic and metabolism of plant cannabinoids, Δ^9 -tetrahydrocannabinol, cannabidiol and cannabinol", *Handb Exp Pharmacol*, 168: 657-690.
- Zaugg H.E., Kyncl J. (1983), "New antihypertensive cannabinoids", *J Med Chem*, 26: 214-217. [PubMed]
- Lake K.D., Compton D.R., Varga K., Martin B.R., Kunos G. (1997), "Cannabinoid-induced hypotension and bradycardia in rats mediated by CB1-like cannabinoid receptors", *J Pharmacol Exp Ther*, 281: 1030-1037. [PubMed]
- Wagner J.A., Varga K., Ellis E.F., Rzigalinski B.A., Martin B.R., Kunos G. (1997), "Activation of peripheral CB1 cannabinoid receptors in haemorrhagic shock", *Nature*, 390: 518-521. [PubMed]
- Wagner J.A., Hu K., Bauersachs J., Karcher J., Wiesler M., Goparaju S.K., Kunos G. et al. (2001), "Endogenous cannabinoids mediate hypotension after experimental myocardial infarction", *J Am Coll Cardiol*, 38: 2048-2054. [PubMed]
- Varga K., Wagner J.A., Bridgen D.T., Kunos G. (1998), "Platelet- and macrophage-derived endogenous cannabinoids are involved in endotoxin-induced hypotension", *Faseb J*, 12: 1035-1044. [PubMed]
- Liu J., Batkai S., Pacher P., Harvey-White J., Wagner J.A., Cravatt B.F., Gao B. et al. (2001), "Lipopolysaccharide induces anandamide synthesis in macrophages via CD14/MAPK/phosphoinositide 3-kinase/NF-kappaB", *Nat Med*, 7: 827-832. [PubMed]
- Batkai S., Jarai Z., Wagner J.A., Goparaju S.K., Varga K., Liu J., Wang L. et al. (2001), "Endocannabinoids acting at vascular CB1 receptors mediate the vasodilated state in advanced liver cirrhosis", *Nat Med*, 7: 827-832. [PubMed]
- Ros J., Claria J., To-Figueras J., Planaguma A., Cejudo-Martin P., Fernandez-Varo G., Martin-Ruiz R. et al. (2002), "Endogenous cannabinoids: a new system involved in the homeostasis of arterial pressure in experimental cirrhosis in the rat", *Gastroenterology*, 122: 85-93. [PubMed]
- Biecker E., Sagesser H., Reichen J. (2004), "Vasodilator mRNA levels are increased in the livers of portal hypertensive NO-synthase 3-deficient mice", *Eur J Clin Invest*, 34: 283-289. [PubMed]
- Domenicali M., Ros J., Fernandez-Varo G., Cejudo-Martin P., Crespo M., Morales-Ruiz M., Briones A.M. et al. (2005), "Increased anandamide induced relaxation in mesenteric arteries of cirrhotic rats: role of cannabinoid and vanilloid receptors", *Gut*, 54: 522-527. [PMC free article] [PubMed]
- Moezi L., Gaskari S.A., Liu H., Baik S.K., Dehpour A.R., Lee S.S. (2006), "Anandamide mediates hyperdynamic circulation in cirrhotic rats via CB1 and VR1 receptors", *Br J Pharmacol*, 149: 898-908. [PMC free article] [PubMed]
- Yang Y.Y., Lin H.C., Huang Y.T., Lee T.Y., Hou M.C., Wang Y.W., Lee F.Y. et al. (2007), "Role of Ca²⁺-dependent potassium channels in in vitro anandamide-mediated mesenteric vasorelaxation in rats with biliary cirrhosis", *Liver Int*, 27: 1045-1055. [PubMed]
- Caraceni P., Viola A., Piscitelli F., Giannone F., Berzigotti A., Cescon M., Domenicali M. et al. (2010), "Circulating and hepatic endocannabinoids and endocannabinoid-related molecules in patients with cirrhosis", *Liver Int*, 30: 816-825. [PubMed]
- Fernandez-Rodriguez C.M., Romero J., Petros T.J., Bradshaw H., Gasalla J.M., Gutierrez M.L., Lledo J.L. et al. (2004), "Circulating endogenous cannabinoid anandamide and portal, systemic and renal hemodynamics in cirrhosis", *Liver Int*, 24: 477-483. [PubMed]
- Floreani A., Lazzari R., Macchi V., Porzionato A., Variola A., Colavito D., Leon A. et al. (2009), "Hepatic expression of endocannabinoid receptors and their novel polymorphisms in primary biliary cirrhosis", *J Gastroenterol*. [PubMed]
- Bernardi M. (2002), "Renal sodium retention in preascitic cirrhosis: expanding knowledge, enduring uncertainties", *Hepatology*, 35: 1544-1547. [PubMed]
- Domenicali M., Caraceni P., Giannone F., Pertosa A.M., Principe A., Zambruni A., Trevisani F. et al. (2009), "Cannabinoid type 1 receptor antagonism delays ascites formation in rats with cirrhosis", *Gastroenterology*, 137: 341-349. [PubMed]
- Garcia N. Jr, Jarai Z., Mirshahi F., Kunos G., Sanyal A.J. (2001), "Systemic and portal hemodynamic effects of anandamide", *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 280: G14-20. [PubMed]
- Jarai Z., Wagner J.A., Varga K., Lake K.D., Compton D.R., Martin B.R., Zimmer A.M. et al. (1999), "Cannabinoid-induced mesenteric vasodilation through an endothelial site distinct from CB1 or CB2 receptors", *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96: 14136-14141. [PMC free article] [PubMed]
- Gaskari S.A., Honar H., Lee S.S. (2006), "Therapy insight: Cirrhotic cardiomyopathy", *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 3: 329-337. [PubMed]
- Gaskari S.A., Liu H., Moezi L., Li Y., Baik S.K., Lee S.S. (2005), "Role of endocannabinoids in the pathogenesis of cirrhotic cardiomyopathy in bile duct-ligated rats", *Br J Pharmacol*, 146: 315-323. [PMC free article] [PubMed]
- Batkai S., Mukhopadhyay P., Harvey-White J., Kechrid R., Pacher P., Kunos G. (2007), "Endocannabinoids acting at CB1 receptors mediate the cardiac contractile dysfunction in vivo in cirrhotic rats", *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 293: H1689-1695. [PMC free article] [PubMed]
- Gebremedhin D., Lange A.R., Campbell W.B., Hillard C.J., Harder D.R. (1999), "Cannabinoid CB1 receptor of cat cerebral arterial muscle functions to inhibit L-type Ca²⁺ channel current", *Am J Physiol*, 276: H2085-2093. [PubMed]
- Howlett A.C. (2005), "Cannabinoid receptor signaling", *Handb Exp Pharmacol*: 53-79. [PubMed]
- Julien B., Grenard P., Teixeira-Clerc F., Van Nhieu J.T., Li L., Karsak M., Zimmer A. et al. (2005), "Antifibrogenic role of the cannabinoid receptor CB2 in the liver", *Gastroenterology*, 128: 742-755. [PubMed]
- DeMorrow S., Francis H., Gaudio E., Ueno Y., Venter J., Onori P., Franchitto A. et al. (2008), "Anandamide inhibits cholangiocyte hyperplastic proliferation via activation of thioredoxin 1/redox factor 1 and AP-1 activation", *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 294: G506-519. [PubMed]
- Munoz-Luque J., Ros J., Fernandez-Varo G., Tugues S., Morales-Ruiz M., Alvarez C.E., Friedman S.L. et al. (2008), "Regression of fibrosis after chronic stimulation of cannabinoid CB2 receptor in cirrhotic rats", *J Pharmacol Exp Ther*, 324: 475-483. [PMC free article] [PubMed]
- Teixeira-Clerc F., Belot M.P., Manin S., Deveaux V., Cadoudal T., Chobert M.N., Louvet A. et al. (2010), "Beneficial paracrine effects of cannabinoid receptor 2 on liver injury and regeneration", *Hepatology*. [PMC free article] [PubMed]
- Hezode C., Roudot-Thoraval F., Nguyen S., Grenard P., Julien B., Zafrani E.S., Pawlotsky J.M. et al. (2005), "Daily cannabis smoking as a risk factor for progression of fibrosis in chronic hepatitis C", *Hepatology*, 42: 63-71. [PubMed]
- Teixeira-Clerc F., Julien B., Grenard P., Tran Van Nhieu J., Deveaux V., Li L., Serriere-Lanneau V. et al. (2006), "CB1 cannabinoid receptor antagonism: a new strategy for the treatment of liver fibrosis", *Nat Med*, 12: 671-676. [PubMed]
- Siegmund S.V., Qian T., de Minicis S., Harvey-White J., Kunos G., Vinod K.Y., Hungund B. et al. (2007), "The endocannabinoid 2-arachidonoyl glycerol induces death of hepatic stellate cells via mitochondrial reactive oxygen species", *Faseb J*, 21: 2798-2806. [PubMed]
- Yang Q., Liu H.Y., Zhang Y.W., Wu W.J., Tang W.X. (2010), "Anandamide induces cell death through lipid rafts in hepatic stellate cells", *J Gastroenterol Hepatol*, 25: 991-1001. [PubMed]
- Lotersztajn S., Teixeira-Clerc F., Julien B., Deveaux V., Ichigotani Y., Manin S., Tran-Van-Nhieu J. et al. (2008), "CB2 receptors as new therapeutic targets for liver diseases", *Br J Pharmacol*, 153: 286-289. [PMC free article] [PubMed]
- Di Marzo V., Goparaju S.K., Wang L., Liu J., Batkai S., Jarai Z., Fezza F. et al. (2001), "Leptin-regulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake", *Nature*, 410: 822-825. [PubMed]
- Rosenson R.S. (2009), "Role of the endocannabinoid system in abdominal obesity and the implications for cardiovascular risk", *Cardiology*, 114: 212-225. [PubMed]
- Tam J., Vemuri V.K., Liu J., Batkai S., Mukhopadhyay B., Godlewski G., Osei-Hyiaman D. et al. (2010), "Peripheral CB1 cannabinoid receptor blockade improves cardiometabolic risk in mouse models of obesity", *J Clin Invest*, 120: 2953-2966. [PMC free article] [PubMed]
- Osei-Hyiaman D., DePetrillo M., Pacher P., Liu J., Radaeva S., Batkai S., Harvey-White J. et al. (2005), "Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity", *J Clin Invest*, 115: 1298-1305. [PMC free article] [PubMed]

61. Ravinet Trillou C., Delgorge C., Menet C., Arnone M., Soubrie P. (2004), "CB1 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. [PubMed]
62. Lin J., Yang R., Tarr P.T., Wu P.H., Handschin C., Li S., Yang W. *et al.* (2005), "Hyperlipidemic effects of dietary saturated fats mediated through PGC-1beta coactivation of SREBP", *Cell*, 120: 261-273. [PubMed]
63. Biddinger S.B., Almind K., Miyazaki M., Kokkotou E., Ntambi J.M., Kahn C.R. (2005), "Effects of diet and genetic background on sterol regulatory element-binding protein-1c, stearoyl-CoA desaturase 1, and the development of the metabolic syndrome", *Diabetes*, 54: 1314-1323. [PubMed]
64. Donnelly K.L., Smith C.I., Schwarzenberg S.J., Jessurun J., Boldt M.D., Parks E.J. (2005), "Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease", *J Clin Invest*, 115: 1343-1351. [PMC free article] [PubMed]
65. Westerbacka J., Kotronen A., Fielding B.A., Wahren J., Hodson L., Perttala J., Seppanen-Laakso T. *et al.* (2010), "Splanchnic Balance of Free Fatty Acids, Endocannabinoids, and Lipids in Subjects With Nonalcoholic Fatty Liver Disease", *Gastroenterology*. [PubMed]
66. Mukhopadhyay B., Liu J., Osei-Hyiaman D., Godlewski G., Mukhopadhyay P., Wang L., Jeong W.I. *et al.* (2010), "Transcriptional regulation of cannabinoid receptor-1 expression in the liver by retinoic acid acting via retinoic acid receptor-gamma", *J Biol Chem*, 285: 19002-19011. [PMC free article] [PubMed]
67. Ruby M.A., Nomura D.K., Hudak C.S., Mangravite L.M., Chiu S., Casida J.E., Krauss R.M. (2008), "Overactive endocannabinoid signaling impairs apolipoprotein E-mediated clearance of triglyceride-rich lipoproteins", *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105: 14561-14566. [PMC free article] [PubMed]
68. Jourdan T., Djaouti L., Demizieux L., Gresti J., Verges B., Degrae P. (2010), "CB1 antagonism exerts specific molecular effects on visceral and subcutaneous fat and reverses liver steatosis in diet-induced obese mice", *Diabetes*, 59: 926-934. [PMC free article] [PubMed]
69. Son M.H., Kim H.D., Chae Y.N., Kim M.K., Shin C.Y., Ahn G.J., Choi S.H. *et al.* (2010), "Peripherally acting CB1-receptor antagonist: the relative importance of central and peripheral CB1 receptors in adiposity control", *Int J Obes (Lond)*, 34: 547-556. [PubMed]
70. Quarta C., Bellocchio L., Mancini G., Mazza R., Cervino C., Braulke L.J., Fekete C. *et al.* (2010), "CB1(1) signaling in forebrain and sympathetic neurons is a key determinant of endocannabinoid actions on energy balance", *Cell Metab*, 11: 273-285. [PubMed]
71. Hezode C., Zafrani E.S., Roudot-Thoraval F., Costentin C., Hessami A., Bouvier-Alias M., Medkour F. *et al.* (2008), "Daily cannabis use: a novel risk factor of steatosis severity in patients with chronic hepatitis C", *Gastroenterology*, 134: 432-439. [PubMed]
72. Osei-Hyiaman D., Liu J., Zhou L., Godlewski G., Harvey-White J., Jeong W.I., Batkai S. *et al.* (2008), "Hepatic CB(1) receptor is required for development of diet-induced steatosis, dyslipidemia, and insulin and leptin resistance in mice", *J Clin Invest*, 118: 3160-3169. [PMC free article] [PubMed]
73. Cota D., Marsicano G., Tschop M., Grubler Y., Flachskamm C., Schubert M., Auer D. *et al.* (2003), "The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis", *J Clin Invest*, 112: 423-431. [PMC free article] [PubMed]
74. Jourdan T., Djaouti L., Demizieux L., Gresti J., Verges B., Degrae P., "CB1 antagonism exerts specific molecular effects on visceral and subcutaneous fat and reverses liver steatosis in diet-induced obese mice", *Diabetes*, 59: 926-934. [PMC free article] [PubMed]
75. Flamant M., Gueguen N., Wetterwald C., Simard G., Malthiery Y., Ducluzeau P.H. (2009), "Effects of the cannabinoid CB1 antagonist, rimonabant, on hepatic mitochondrial function in rats fed a high fat diet", *Am J Physiol Endocrinol Metab*. [PubMed]
75. Migrenne S., Lacombe A., Lefevre A.L., Pruniaux M.P., Guillot E., Galzin A.M., Magnan C. (2009), "Adiponectin is required to mediate rimonabant-induced improvement of insulin sensitivity but not body weight loss in diet-induced obese mice", *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 296: R929-935. [PubMed]
76. Watanabe T., Kubota N., Ohsugi M., Kubota T., Takamoto I., Iwabu M., Awazawa M. *et al.* (2009), "Rimonabant ameliorates insulin resistance via both adiponectin-dependent and adiponectin-independent pathways", *J Biol Chem*, 284: 1803-1812. [PubMed]
77. Watanabe T., Kubota N., Ohsugi M., Kubota T., Takamoto I., Iwabu M., Awazawa M. *et al.* (2009), "Rimonabant ameliorates insulin resistance via both adiponectin-dependent and adiponectin-independent pathways", *J Biol Chem*, 284: 1803-1812. [PubMed]
78. Herling A.W., Gossel M., Haschke G., Stengelin S., Kuhlmann J., Muller G., Schmolli D. *et al.* (2007), "CB1 receptor antagonist AVE1625 affects primarily metabolic parameters independently of reduced food intake in Wistar rats", *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 293: E826-832. [PubMed]
79. Kunz L., Meier M.K., Bourson A., Fisseha M., Schilling W. (2008), "Effects of rimonabant, a cannabinoid CB1 receptor ligand, on energy expenditure in lean rats", *Int J Obes (Lond)*, 32: 863-870. [PubMed]
80. Liu Y.L., Connoley I.P., Wilson C.A., Stock M.J. (2005), "Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 on oxygen consumption and soleus muscle glucose uptake in Lep(ob)/Lep(ob) mice", *Int J Obes (Lond)*, 29: 183-187. [PubMed]
81. Ravinet Trillou C., Arnone M., Delgorge C., Gonalons N., Keane P., Maffrand J.P., Soubrie P. (2003), "Anti-obesity effect of SR141716, a CB1 receptor antagonist, in diet-induced obese mice", *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 284: R345-353. [PubMed]
82. Gary-Bobo M., Elachouri G., Gallas J.F., Janiak P., Marini P., Ravinet-Trillou C., Chabbert M. *et al.* (2007), "Rimonabant reduces obesity-associated hepatic steatosis and features of metabolic syndrome in obese Zucker fa/fa rats", *Hepatology*, 46: 122-129. [PubMed]
83. DeLeve L.D., Wang X., Kanel G.C., Atkinson R.D., McCuskey R.S. (2008), "Prevention of hepatic fibrosis in a murine model of metabolic syndrome with nonalcoholic steatohepatitis", *Am J Pathol*, 173: 993-1001. [PMC free article] [PubMed]
84. Wang J., Obici S., Morgan K., Barzilay N., Feng Z., Rossetti L. (2001), "Overfeeding rapidly induces leptin and insulin resistance", *Diabetes*, 50: 2786-2791. [PubMed]
85. El-Hashimi K., Pierroz D.D., Hileman S.M., Bjorbaek C., Flier J.S. (2000), "Two defects contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet-induced obesity", *J Clin Invest*, 105: 1827-1832. [PMC free article] [PubMed]
86. Hollister L.E., Reaven G.M. (1974), "Delta-9-tetrahydrocannabinol and glucose tolerance", *Clin Pharmacol Ther*, 16: 297-302. [PubMed]
87. Bermudez-Siva F.J., Serrano A., Diaz-Molina F.J., Sanchez Vera I., Juan-Pico P., Nadal A., Fuentes E. *et al.* (2006), "Activation of cannabinoid CB1 receptors induces glucose intolerance in rats", *Eur J Pharmacol*, 531: 282-284. [PubMed]
88. Uno K., Katagiri H., Yamada T., Ishigaki Y., Ogihara T., Imai J., Hasegawa Y. *et al.* (2006), "Neuronal pathway from the liver modulates energy expenditure and systemic insulin sensitivity", *Science*, 312: 1656-1659. [PubMed]
89. Yang Q., Graham T.E., Mody N., Preitner F., Peroni O.D., Zabolotny J.M., Kotani K. *et al.* (2005), "Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes", *Nature*, 436: 356-362. [PubMed]
90. Pagotto U., Marsicano G., Cota D., Lutz B., Pasquali R. (2006), "The emerging role of the endocannabinoid system in endocrine regulation and energy balance", *Endocr Rev*, 27: 73-100. [PubMed]
91. Bermudez-Silva F.J., Sanchez-Vera I., Suarez J., Serrano A., Fuentes E., Juan-Pico P., Nadal A. *et al.* (2007), "Role of cannabinoid CB2 receptors in glucose homeostasis in rats", *Eur J Pharmacol*, 565: 207-211. [PubMed]
92. Doyon C., Denis R.G., Baraboi E.D., Samson P., Lalonde J., Deshaies Y., Richard D. (2006), "Effects of rimonabant (SR141716) on fasting-induced hypothalamic-pituitary-adrenal axis and neuronal activation in lean and obese Zucker rats", *Diabetes*, 55: 3403-3410. [PubMed]
93. Scheen A.J., Finer N., Hollander P., Jensen M.D., Van Gaal L.F. (2006), "Efficacy and tolerability of rimonabant in overweight or obese patients with type 2 diabetes: a randomised controlled study", *Lancet*, 368: 1660-1672. [PubMed]
94. Gonsiorek W., Lunn C., Fan X., Narula S., Lundell D., Hipkin R.W. (2005), "Endocannabinoid 2-arachidonoyl glycerol is a full agonist through human type 2 cannabinoid receptor: antagonism by anandamide", *Mol Pharmacol*, 67: 1045-1050. [PubMed]
95. Mendez-Sanchez N., Zamora-Valdes D., Pichardo-Bahena R., Barredo-Prieto B., Ponciano-Rodriguez G., Bermejo-Martinez L., Chavez-Tapia N.C. *et al.* (2007), "Endocannabinoid receptor CB2 in nonalcoholic fatty liver disease", *Liver Int*, 27: 215-219. [PubMed]
96. Deveaux V., Cadoudal T., Ichigotani Y., Teixeira-Clerc F., Louvet A., Manin S., Nhieu J.T. *et al.* (2009), "Cannabinoid CB2 receptor potentiates obesity-associated inflammation, insulin resistance and hepatic steatosis", *PLoS One*, 4: e5844. [PMC free article] [PubMed]
97. Lieber C.S., Schmid R. (1961), "The effect of ethanol on fatty acid metabolism; stimulation of hepatic fatty acid synthesis in vitro", *J Clin Invest*, 40: 394-399. [PMC free article] [PubMed]
98. You M., Fischer M., Deeg M.A., Crabb D.W. (2002), "Ethanol induces fatty acid synthesis pathways by activation of sterol regulatory element-binding protein (SREBP)", *J Biol Chem*, 277: 29342-29347. [PubMed]
99. You M., Matsumoto M., Pacold C.M., Cho W.K., Crabb D.W. (2004), "The role of AMP-activated protein kinase in the action of ethanol in the liver", *Gastroenterology*, 127: 1798-1808. [PubMed]
100. Basavarajappa B.S., Saito M., Cooper T.B., Hungund B.L. (2000), "Stimulation of cannabinoid receptor agonist 2-arachidonylglycerol by chronic ethanol and its modulation by specific neuromodulators in cerebellar granule neurons", *Biochim Biophys Acta*, 1535: 78-86. [PubMed]
101. Jeong W.I., Osei-Hyiaman D., Park O., Liu J., Batkai S., Mukhopadhyay P., Horiguchi N. *et al.* (2008), "Paracrine activation of hepatic CB1 receptors by stellate cell-derived endocannabinoids mediates alcoholic fatty liver", *Cell Metab*, 7: 227-235. [PubMed: 18316028]
102. Mukhopadhyay B., Liu J., Osei-Hyiaman D., Godlewski G., Mukhopadhyay P., Wang L., Jeong W.I. *et al.* (2010), "Transcriptional regulation of cannabinoid receptor-1 expression in the liver by retinoic acid acting via retinoic acid receptor-gamma", *J Biol Chem*, 285: 19002-19011. [PubMed: 20410309]
103. Jourdan T., Djaouti L., Demizieux L., Gresti J., Verges B., Degrae P., "CB1 antagonism exerts specific molecular effects on visceral and subcutaneous fat and reverses liver steatosis in diet-induced obese mice", *Diabetes*, 59: 926-934. [PubMed: 20110567]
104. Avraham Y., Israeli E., Gabbay E., Okun A., Zolotarev O., Silberman I., Ganzburg V. *et al.* (2006), "Endocannabinoids affect neurological and cognitive function in thioacetamide-induced hepatic encephalopathy in mice", *Neurobiol Dis*, 21: 237-245. [PubMed]
105. Dagon Y., Avraham Y., Ilan Y., Mechoulam R., Berry E.M. (2007), "Cannabinoids ameliorate cerebral dysfunction following liver failure via AMP-activated protein kinase", *Faseb J*, 21: 2431-2441. [PubMed]
106. Avraham Y., Zolotarev O., Grigoriadis N.C., Poutahidis T., Magen I., Vorobiev L., Zimmer A. *et al.* (2008), "Cannabinoids and capsaicin improve liver function following thioacetamide-induced acute injury in mice", *Am J Gastroenterol*, 103: 3047-3056. [PubMed]
107. Magen I., Avraham Y., Ackerman Z., Vorobiev L., Mechoulam R., Berry E.M. (2009), "Cannabinoid ameliorates cognitive and motor impairments in mice with bile duct ligation", *J Hepatol*, 51: 528-534. [PubMed]
108. Hegde V.L.H.S., Cravatt B.F., Hofseth L.J., Nagarkatti M., Nagarkatti P.S. (2008), "Attenuation of experimental autoimmune hepatitis by exogenous and endogenous cannabinoids: involvement of regulatory T cells", *Molecular Pharmacology*. [PMC free article] [PubMed]
109. Kojima M., Kato N., Hirano D., Ochi T., Nii A., Shinjo K., Eda H. (2009), "Selective CB1 cannabinoid receptor antagonist, SR141716A, attenuates liver injury induced by Concanavalin A", *Hepatol Res*, 39: 408-414. [PubMed]