

УДК 577.25

НЕКАНОНИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНДОКАННАБИНОИДОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ В ЦЕНТРАЛЬНЫХ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СИНАПСАХ

Обзор

© 2021 О.П. Балежина, Е.О. Тарасова, А.Е. Гайдуков*

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет,
119234 Москва, Россия; электронная почта: gaydukov@gmail.com

Поступила в редакцию 16.03.2021

После доработки 29.04.2021

Принята к публикации 29.04.2021

В обзоре рассмотрены новые аспекты активности и механизмов действия эндоканнабиноидов в центральных и периферических синапсах, отличные от их общеизвестной роли, как сигнальных молекул для ретроградного торможения секреции медиаторов с участием специфических пресинаптических рецепторов СВ1- и СВ2-типа. Описана способность эндогенных и синтетических каннабиноидов к смешённому агонизму, сопряжению СВ1 и СВ2 не только с каноническими G-белками G_i-типа, но и G_s-, G_q- и другими типами, а также с β-аррестинами, как триггерами дополнительных сигнальных каскадов в синапсах. Обсуждаются примеры неканонической тонической активности эндоканнабиноидов и их рецепторов и их роль в синапсах. Приводятся сведения об участии эндоканнабиноидов в процессах кратковременной и долговременной потенциации синаптической передачи в ЦНС, а также обнаруженные недавно облегчающие эффекты эндоканнабиноидов в периферических моторных синапсах млекопитающих в виде увеличения размера квантов ацетилхолина в нервных терминалях и других параметров передачи. Делается вывод, что эндоканнабиноидная сигнальная система имеет более широкий, чем представлялось ранее, диапазон модулирующих, причём разнонаправленных (тормозных и облегчающих), влияний на секрецию медиаторов. Переосмысление её потенциальных функциональных возможностей и механизмов действия с учётом неканонических свойств позволит более глубоко и разносторонне оценить и использовать эту систему как в норме, так и при патологиях нервной и других систем организма.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эндоканнабиноиды, рецепторы СВ1 и СВ2, β-аррестины, тонус эндоканнабиноидов, потенциация синаптической передачи.

DOI: 10.31857/S0320972521070010

ВВЕДЕНИЕ

Эндоканнабиноиды – специфическое семейство сигнальных молекул липидной природы (производных арахидоновой кислоты), образующихся в нейронах и других клетках благодаря активности специальных ферментов, синтезирующих эндоканнабиноиды из фосфолипидов клеточной мембраны. Согласно первоначальной парадигме, сформулированной вскоре после их открытия у животных в конце 80-х годов XX века (и общепризнанной до сих пор), ос-

новная роль эндоканнабиноидов, синтезируемых в постсинаптических структурах в ответ на активность центральных синапсов, заключается в последующем высвобождении и ретроградном пресинаптическом действии на эндоканнабиноидные рецепторы (СВ), что и приводит к торможению секреции медиаторов.

Наиболее известными и главными из числа синтезируемых в организме животных эндоканнабиноидов считаются арахидонилэтаноламин – анандамид (AEA) и 2-арахидоноил-глицерол (2-AG), хотя описан и ряд других эндо-

Принятые сокращения: АХ – ацетилхолин; ГАМК – гамма-аминомасляная кислота; МПКП – миниатюрные потенциалы концевой пластинки; АС – аденилатциклаза; АЕА – арахидонилэтаноламин (анандамид); 2-AG – 2-арахидоноил-глицерол; СВ – эндоканнабиноидные рецепторы; DAG – диацилглицерол; DAGLα – диацилглицерол-липаза альфа; DSE – индуцированное деполяризацией подавление возбуждения; DSI – индуцированное деполяризацией подавление торможения; LTD – долговременная депрессия; LTP – долговременная потенциация; MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа; PKA – протеинкиназа А; PLC – фосфолипаза С; THC – дельта-9-тетрагидроканнабинол; WIN – (R)-(+)-[2,3-дигидро-5-метил-3-(4-морфолинилметил) пирроло [1,2,3-де]-1,4-бензоксазин-6-ил]-1-нафтalenилметанон мезилат.

* Адресат для корреспонденции.

каннабиноидов, которые количественно менее представлены в ЦНС и роль которых остаётся пока менее изученной.

Важной особенностью двух основных эндоканнабиноидов (AEA и 2-AG) является то, что их предшественники всегда находятся непосредственно в составе клеточной мембраны. Это облегчает образование эндоканнабиноидов из определенных фосфолипидов мембраны с помощью специфических ферментов: синтез AEA обеспечивает N-ацилфосфатидилэтаноламин-специфическая фосфолипаза D (NAPE-PLD), а 2-AG – диацилглицерол-липаза альфа (DAGL α). Из нервной и других тканей выделены и идентифицированы специфические мембранные каннабиноидные рецепторы двух основных типов – CB1 и CB2. Оба типа принадлежат к семейству

рецепторов, сцепленных с G-белками и содержащих 7 трансмембранных доменов. При этом 2-AG является полным агонистом обоих типов рецепторов, тогда как AEA – их частичным агонистом. Недавно описаны потенциально новые типы эндоканнабиноидных рецепторов, сопряжённые с G-белками, роль которых остаётся малоизученной [1]. В ЦНС представлен в основном CB1, тогда как CB2 локализован преимущественно на периферии, хотя в последнее время его присутствие и специфическая активность выявлены и обсуждаются и в ЦНС [2, 3]. Наряду с активацией классических CB-рецепторов, эндоканнабиноиды способны модулировать ряд подтипов каналов транзитного рецепторного потенциала (TRP), а также ядерные рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами (PPAR) [4, 5].

Согласно канонической версии эндоканнабиноидной сигнализации, CB1 и CB2, являясь рецепторами с семью трансмембранными доменами, сопряжены с внутриклеточными тримерными периферическими G-белками с субъединицей G $\alpha_{i/o}$ -типа [6, 7]. Соответственно, при взаимодействии эндоканнабиноидов с CB-рецепторами сопряжённые G $_i$ -белки, активируясь, запускают сигнальные каскады, приводящие к ингибированию аденилатциклазы (AC), снижению уровня cAMP и активности протеинкиназы A (PKA) [8]. Одновременно при активации CB может происходить активация митоген-активируемых протеинкиназ (МАРК) нервных терминалей [9, 10]. В качестве конечных мишеней сигнальных каскадов, запускаемых при активации CB-рецепторов, описано снижение активности пресинаптических потенциал-зависимых Ca $^{2+}$ -каналов Ca $v_2.1$ и Ca $v_2.2$, обозначаемых также как P/Q- и N-тип соответственно, или увеличение пресинаптической калиевой проводимости за счёт усиления активности некоторых типов K $^+$ -каналов, в частности K $_A$ -типа или G-белок-связанных калиевых каналов входящего выпрямления [7, 11]. В обоих случаях реализация эффекта происходит вследствие взаимодействия $\beta\gamma$ -субъединиц активированного G $_i$ -белка с ионными каналами. Одновременно происходит снижение активности аденилатциклазы (AC) с участием α -субъединицы G $_i$ -белка [12]. Считается, что торможение пресинаптических кальциевых и/или активация калиевых каналов в конечном итоге и приводит к подавлению секреции медиатора в нервных терминалях синапсов в ответ на действие эндоканнабиноидов.

На рис. 1 суммированы механизмы образования и канонические сигнальные пути, обеспечивающие тормозные влияния эндоканнабиноидов на секрецию различных медиаторов – глутамата

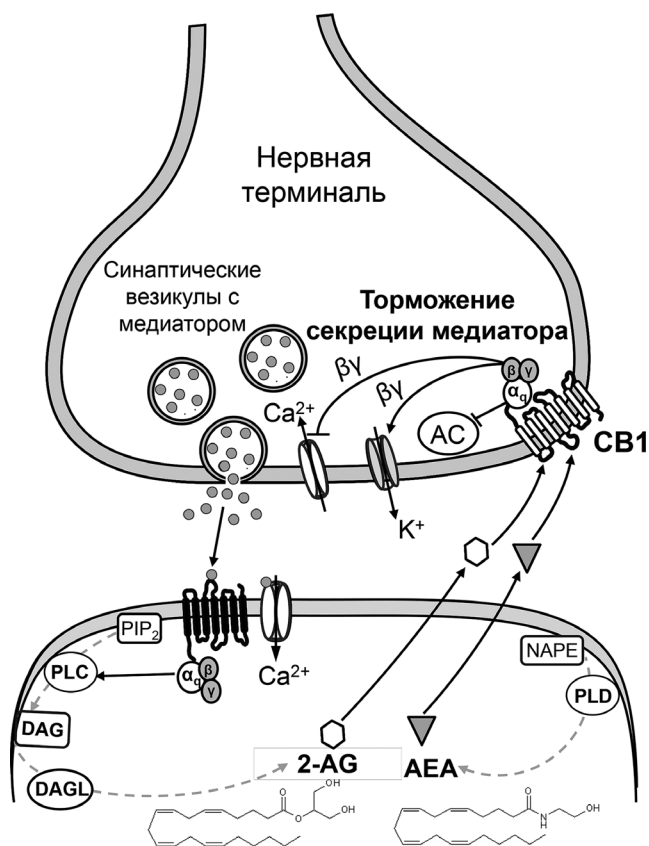


Рис. 1. Схема канонического тормозного действия эндоканнабиноидов в синапсах ЦНС. Обозначены пути синтеза 2-AG и AEA в постсинаптических структурах, высвобождение эндоканнабиноидов и действие на пресинаптические рецепторы CB1, запускающее сигнальные каскады, тормозящие секрецию медиаторов посредством модуляции пресинаптических потенциал-зависимых Ca $^{2+}$ - и K $^+$ -каналов и уменьшения активности AC. Условные обозначения: \leftarrow – активирующее влияние; \perp – тормозное влияние; α , β , γ – субъединицы G-белка; PIP $_2$ – фосфатидилинозитол 4,5-бисфосфат

тамата, дофамина, гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), ацетилхолина (АХ) – при активации пресинаптических СВ-рецепторов в разных синапсах.

ТОРМОЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНДОКАННАБИНОИДОВ В СИНАПСАХ ЦНС

Краеугольным камнем эффектов эндоканнабиноидов в ЦНС до сих пор считается способность 2-AG ингибировать ГАМКергическое торможение синаптической передачи в гиппокампе и мозжечке. Этот эффект получил название «индуцированное деполяризацией подавление торможения» (DSI). Было показано, что деполяризация постсинаптических нейронов в ЦНС под действием медиатора вызывает выделение эндоканнабиноидов и опосредованное ими кратковременное ингибирование секреции ГАМК из тормозных пресинаптических бутонов в гиппокампе и мозжечке [6, 8]. Впоследствии в возбуждающих синапсах также было выявлено ретроградное торможение выброса возбуждающего медиатора глутамата, опосредуемое эндоканнабиноидами, и это явление получило название «индуцированное деполяризацией подавление возбуждения» (DSE) [13]. Таким образом, эндоканнабиноиды в ЦНС опосредуют ретроградное торможение секреции медиаторов независимо от того, тормозный это синапс или возбуждающий.

Синаптические эффекты эндоканнабиноидов в ЦНС традиционно связывают с их синтезом строго «по требованию» – в ответ на срабатывание синаптической передачи и постсинаптическое действие медиатора. Оно может приводить, во-первых, к деполяризации постсинаптической мембраны, повышению внутриклеточного Ca^{2+} и стимулированию ферментов, синтезирующих эндоканнабиноиды, что приводит в конечном итоге к развитию DSI или DSE. Во-вторых, при активации постсинаптических рецепторов, сцепленных с $G_{q/11}$ -белками (метаботропных глутаматных рецепторов группы I или мускариновых ацетилхолиновых рецепторов) с последующей активацией фосфолипазы $C\beta$ происходит синтез диацилглицерола (DAG). DAG затем деацилируется DAGL с образованием 2-AG, который диффундирует к пресинаптическим СВ-рецепторам и тормозит синаптическую передачу. Образование анандамида также может стимулироваться за счёт активности метаботропных глутаматных рецепторов [14, 15]. Такой механизм опосредованной эндоканнабиноидами кратковременной синап-

тической пластичности получил название «метаботропно-индуцированное подавление торможения/возбуждения» – MSI/MSE [16–19]. Оба типа индукции синтеза эндоканнабиноидов – и деполяризационно-кальциевый, и кальций-независимый метаботропный – часто сосуществуют в синапсах и обеспечивают выраженность ретроградного тормозного действия эндоканнабиноидов [20–24].

Продолжительность опосредованного эндоканнабиноидами ретроградного торможения выброса медиатора, т.е. депрессии синаптической передачи, может быть краткосрочной (STD) и проявляться в диапазоне нескольких десятков секунд или же быть долговременной (LTD) и длиться в течение десятков минут и даже часов. Во втором случае предполагается, что для индукции LTD необходима продолжительная (до нескольких минут) активация СВ-рецепторов эндоканнабиноидами, сопровождающаяся запуском долговременных механизмов торможения секреции медиатора в синапсах [6, 25, 26].

Среди классических эффектов эндоканнабиноидов в ЦНС – участие в регуляции памяти, обучения, болевой и другой сенсорной чувствительности, нейромоторного контроля, пищевого поведения и ряд других [27].

Общепринятым является представление о специфической тормозной активности эндоканнабиноидов, как уникальной системе отрицательной обратной связи в синапсах ЦНС. Принято считать, что такой контур отрицательной обратной связи динамически модулирует надёжность синапса, позволяя постсинаптическим нейронам тонко настраивать чувствительность их синаптических входов в зависимости от интенсивности поступающего паттерна афферентной стимуляции [6, 28]. Учитывая критический вклад эндоканнабиноидной системы в многочисленные психические и нейропатологические процессы [2, 29], эту систему принято также характеризовать как регулятор гомеостаза организма [3, 27].

НЕКАНОНИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНДОКАННАБИНОИДОВ В СИНАПСАХ

Парадигма об уникальном ретроградном тормозном действии эндоканнабиноидов и их СВ-рецепторов в синапсах ЦНС в настоящее время претерпевает постепенную ревизию под натиском данных об атипичных, побочных или неканонических эндоканнабиноидных эффектах. В частности, недавно был введён новый термин эндоканнабиноидом, призванный отразить расширенную систему функционирования кан-

набиноидов в организме человека, которая включает, наряду с собственно каннабиноидами, несколько сигнальных молекул из числа N-ациламинов (N-ацилтаурин, N-ацилсеротонин, N-ацилдофамин и др.), биохимически связанных с эндоканнабиноидами, а также их рецепторы и ферменты метаболизма [29].

В данном обзоре мы ограничимся рассмотрением лишь некоторых из неканонических эффектов, а именно: примерами неканонической тонической активности эндоканнабиноидов в синапсах, наличием функциональной неоднозначности эффектов эндоканнабиноидов и многочисленных агонистов их рецепторов и, наконец, способности эндоканнабиноидов не тормозить, а облегчать синаптическую передачу, стимулируя выброс медиаторов в центральных и периферических синапсах. Более полное рассмотрение растущего спектра разнообразия неканонических проявлений активности эндоканнабиноидов и их рецепторов можно найти в ряде подробных обзоров последнего времени [3, 13, 27].

ТОНИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ЭНДОКАННАБИНОИДОВ И ИХ РЕЦЕПТОРОВ СВ1 И СВ2 В СИНАПСАХ ЦНС

Согласно классической парадигме, специфический принцип действия эндоканнабиноидов в синапсах — срабатывание «по требованию», только в ответ на импульсную синаптическую активность, сопровождающуюся либо деполяризацией постсинаптической мембраны с последующим входом ионов Ca^{2+} , либо активацией медиаторами определённых метаболитных рецепторов, сцепленных с $G_{q/11}$ -белками, либо комбинацией этих двух механизмов. Во всех случаях это приводит к быстрому синтезу и высвобождению эндоканнабиноидов с последующей активацией пресинаптических СВ-рецепторов, опосредующих торможение секреции медиаторов [7, 30]. Учитывая импульсный фазный характер сигналов в синапсах, были приложены усилия для доказательства фазного характера генерации эндоканнабиноидных сигналов. Было показано, что не только выброс, но и предшествующий ему синтез эндоканнабиноидов может происходить фазно. Типичный пример приведён в работе, проводившейся на срезах гиппокампа [31], где в ответ на импульсную активность нейронов и действие глутамата быстро (фазно) возрастал синтез 2-AG с участием активизирующегося в ответ на постсинаптический вход ионов Ca^{2+} DAGL α . Причём быстрая (в течение минут) преапликация ингибито-

ра DAGL α OMDM-188 предотвращала развитие DSI — чувствительного к деполяризации ингибирования выброса медиатора, обусловленного 2-AG. Эти и подобные опыты доказывают факт ответного (по требованию) синтеза эндоканнабиноидов с помощью быстро активизирующихся ферментов, последующего высвобождения эндоканнабиноидов и их быстрого пресинаптического действия.

В литературе на протяжении последних 20 лет накоплены данные о наличии в ЦНС тонической или конститутивной активности эндоканнабиноидов и их рецепторов СВ1 и СВ2, существующей при отсутствии импульсной активности нейронов [32–34]. Одним из первых доказательств стала обнаруженная у антагонистов СВ-рецепторов способность при их аппликации в покое на сенсорные нервные окончания или синапсы в ЦНС приводить к возрастанию спайковой активности или учащению спонтанной секреции медиатора соответственно. Таким образом, действие антагонистов СВ-рецепторов в покое сопровождалось облегчением выброса медиаторов/комедиаторов в синапсах ЦНС или в нервных окончаниях первичных афферентов. Это наблюдали под действием высокоизбирательного антагониста СВ1 (SR141716A) или антагониста СВ2 (SR144528) [32]. Способность антагонистов СВ, считавшихся высокоизбирательными и нейтральными, инициировать спонтанную либо вызванную секреторную активность синапсов, причём в покое, привело к необходимости постулировать наличие особой формы тонической активности у самих рецепторов СВ1 и СВ2 при отсутствии активности синапсов и влияний на них эндоканнабиноидов. При этом для многих антагонистов СВ-рецепторов пришлось также признать их способность при связывании с тонически активными СВ-рецепторами выступать в роли обратных агонистов, так как они в этом случае оказывают самостоятельное и противоположное ингибирующему (обратное) облегчающее действие на секрецию медиаторов в синапсах. Действительно, получены доказательства того, что тоническая активность СВ1 и СВ2 может быть следствием особой конститутивно активной конформации рецептора, которая сама спонтанно сигнализирует (поддерживает тормозный сигнальный путь) даже при отсутствии лиганда [35–37]. В таких случаях действие на них лигандов, функционирующих как обратные агонисты/антагонисты, будет ослаблять эту тоническую тормозную активность и вызывать либо ослабление торможения синаптической передачи, либо активацию синапсов [36]. На срезах гиппокампа показано, что определенная доля СВ1 может принимать

конститутивно активную конформацию при отсутствии эндоканнабиноидов и тем самым постоянно притормаживать близкорасположенные потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы и секрецию ГАМК [34]. При этом действие на такие рецепторы обратного агониста/антагониста AM 251 приводит к ослаблению торможения выброса ГАМК. Важно отметить, что конститутивная активность (при отсутствии импульсной активности нейронов) уже выявлена в ЦНС у обоих типов СВ-рецепторов благодаря широкому тестированию и обнаружению эффектов, вызываемых антагонистами СВ-рецепторов, работающими в таком случае как обратные агонисты.

Однако в литературе широко обсуждается и другой альтернативный вариант, когда тоническая активность эндоканнабиноидов является следствием базальной активности ферментов их синтеза, резервного накопления эндоканнабиноидов в постсинаптических структурах, мобилизации и тонической утечки эндоканнабиноидов с последующей тонической активацией СВ1 или СВ2 [38, 39]. В этом случае канонические СВ-рецепторы оказываются в состоянии непрерывной доступности для эндоканнабиноидов, т.е. в состоянии подпороговой тонической активации.

Наиболее известным примером тонической генерации 2-AG в ЦНС остаётся выявленное на срезах гиппокампа тоническое притормаживание активности ГАМКергических интернейронов [34]. Показано также, что стимулирование ферментов деградации 2-AG и АЕА (моноацилглицерол-липазы и гидролазы амидов жирных кислот соответственно) приводит к ослаблению тонического тормозного действия эндоканнабиноидов на ГАМКергическую систему, что подтверждает факт тонической активности этих ферментов, служащей для контроля базальной выработки эндоканнабиноидов в определенных зонах мозга [40].

Для выбора между двумя версиями тонической активности — со стороны тонически высвобождаемых эндоканнабиноидов или конститутивной (независимой от действия эндоканнабиноидов) тонической активности пресинаптических СВ1 — предпринимается использование животных с нокаутированными генами липаз, лимитирующих синтез эндоканнабиноидов, что исключает их тоническую выработку и высвобождение [41], или используется сравнительный анализ эффектов обратных агонистов/антагонистов СВ по сравнению с эффектами нейтральных антагонистов рецепторов (которые уже разработаны и не вызывают эффектов, связанных с обратным агонизмом, например, NESS 0327, O-2654, O-2050) [37, 42, 43]. Еще одним экспериментальным способом является тестирование

утечки эндоканнабиноидов из проб тканей мозга, где также был установлен высокий уровень базальной активности эндоканнабиноидов и возможности их конститутивного синтеза и тонического выделения [44]. Наконец, на экспериментальных моделях нейропатологий у животных возможность тонической утечки эндоканнабиноидов также уже подтверждена. Показано, что развитие целого ряда патологий мозга (аутизм, болезнь Хантингтона и др.) может быть связано с долговременными нарушениями именно тонического эндоканнабиноидного контроля над высвобождением в мозге ГАМК [45–47]. В частности, именно повышенный тонический ретроградный сигналинг эндоканнабиноидов, обнаруживаемый при болезни Хантингтона в стриатуме и тормозящий там секрецию ГАМК, является, по мнению авторов, патофизиологическим признаком развившегося заболевания [46]. В другом случае также утверждается, что именно тонический сигналинг эндоканнабиноидов может быть компонентом патогенеза аутизма [47]. Причём для его реализации в синапсах корзинчатых клеток гиппокампа необходимо обязательное участие нейролигина-3 — постсинаптического белка клеточной адгезии. В чём именно заключается его роль в тонической эндоканнабиноидной секреции, пока неясно. Предполагается, что нейролигин-3 может участвовать в реализации тонической ретроградной секреторной машинерии, действующей в синапсах в разных отделах мозга посредством трансинаптического взаимодействия нейролигина с пресинаптическими нейрексинами [48–50]. Возможно, что в синапсах больных аутизмом нейрексин, находясь в трансинаптической сцепке в нейролигинами, способен каким-то образом регулировать тонический синтез 2-AG в постсинаптической клетке и способствовать его утечке [51].

Таким образом, наличие обеих форм срабатывания эндоканнабиноидов — по требованию или в виде базальной тонической утечки — можно считать доказанными и равноправными способами высвобождения и действия эндоканнабиноидов в ЦНС (рис. 2).

Относительный вклад и реальная физиологическая значимость тонической утечки эндоканнабиноидов в разных отделах мозга остаются пока мало изученными. В недавнем обзоре отмечается, что, например, в гиппокампе АЕА является проводником тонической активности, тогда как 2-AG обеспечивает чисто фазные эффекты эндоканнабиноидов [13]. Однако в других отделах ЦНС это соотношение, очевидно, может быть иным. При нейропатологиях именно нарушение тонической утечки каннабиноидов

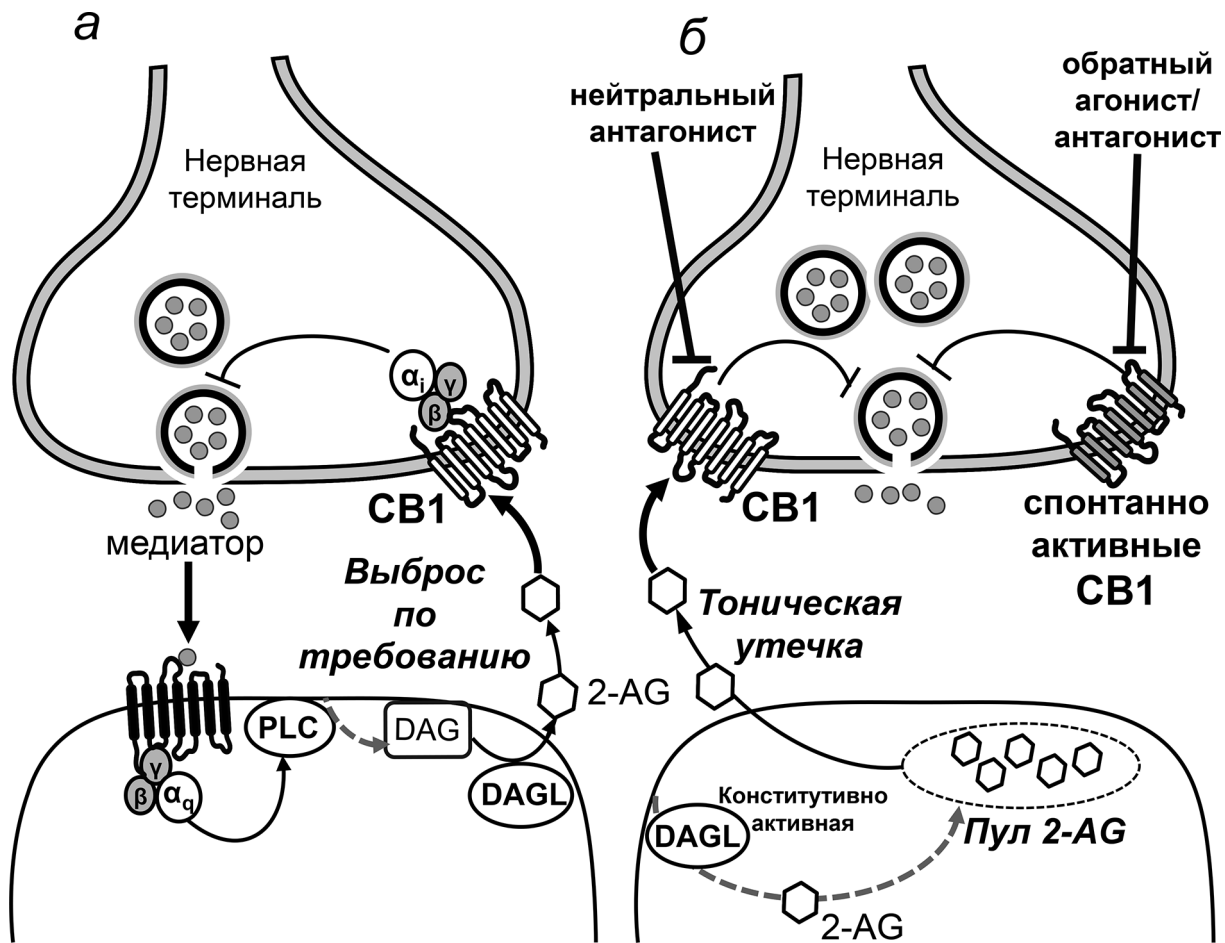


Рис. 2. Варианты активности эндоканнабиноидов: каноническая активность — в результате синтеза и действия эндоканнабиноидов строго по требованию, возникающая в ответ на постсинаптическое действие медиатора (а); неканоническая активность, подразумевающая утечку эндоканнабиноидов из предсуществующего пула и тоническую активацию СВ-рецепторов, или наличие спонтанной постоянной активности СВ-рецепторов при отсутствии их активации эндоканнабиноидом (б). Условные обозначения: ← — активирующее влияние, ⊥ — тормозное влияние, α, β, γ — субъединицы G-белка

дов может регулировать экспрессию СВ на пре-синаптических мембранах и, таким образом, влиять на фазные эффекты эндоканнабиноидов. Кроме того, высказывается мнение, что в случае уже описанной базальной утечки эндоканнабиноидов и тонической тормозной активности их рецепторов в области первичных болевых афферентов это может служить механизмом тонического контроля порога болевой чувствительности на периферии [32].

НЕКАНОНИЧЕСКОЕ СОПРЯЖЕНИЕ СВ-РЕЦЕПТОРОВ С G-БЕЛКАМИ, β-АРРЕСТИНАМИ И ГЕТЕРОРЕЦЕПТОРАМИ

В настоящее время возможность противоположно направленных и количественно широко

варьирующих влияний на секрецию медиатора при действии медиаторов/комедиаторов и других биологически активных молекул (гормонов, нейротрофинов и т.п.) считается их специфическим и характерным свойством. Эндоканнабиноиды, считавшиеся особой тормозной сигнальной системой, как оказалось, не являются исключением.

Взаимодействие СВ-рецепторов с разными типами G-белков. В литературе давно накапливаются сведения о том, что в некоторых синапсах ЦНС, обработанных коклюшным токсином (выключающим активность сцепленных с СВ1 канонических G_i -белков), стимуляция СВ1 может приводить к повышению уровня cAMP, что является (хотя и непрямым) доказательством возможной сцепки и активации эндоканнабиноидами G_s -белков и развития неканонических эффектов [52–55].

При исследовании широкого спектра эндогенных и экзогенных агонистов СВ-рецепторов на интактных животных и экспериментальных моделях нейропатологий установлено, что существует значительная функциональная селективность их действия, получившая название двойственного или смещённого агонизма [9, 56].

Смещённый агонизм был выявлен впервые у катехоламиновых G-белок-сцепленных рецепторов, но сейчас описан едва ли не у всех химических активных сигнальных систем, включая медиаторы и гормоны [57]. Эндоканнабиноиды, как оказалось, не являются исключением. В частности, выявлены определённые агонисты СВ1, эффекты которых свидетельствуют о возможной сцепке СВ1 не с G_i -белками (или не только с ними), но и с другими типами G-белков [58]. Широко применяемый в экспериментах синтетический агонист СВ-рецепторов WIN 55,212-2 (WIN) в случае его действия на СВ1 приводил к активации не $G_{i/0}$ -белка, а G_z -, $G_{q/11}$ - и $G_{12/13}$ -белков, что сопровождалось активацией изоформ фосфолипазы C (PLC) в кортикальных синапсах [59]. Аналогичный эффект описан недавно у WIN при его действии на моторные синапсы мыши, причём в таком случае это сопровождалось учащением спонтанной секреции медиатора [60]. Наконец, в недавней подробной работе, где тестировали 6 разных каннабиноидов – два эндогенных (2-AG и AEA) и 4 синтетических, включая WIN и CP55,940 – на культуре клеток, воспроизводивших активность нейронов стриатума и несущих на себе СВ-рецепторы, было показано, что разные агонисты, действуя на один и тот же СВ1, могут запускать в клетках разные каскады, активируя разные G-белки, включая G_s -белок [61]. Все это вынуждает постулировать функциональную неоднозначность как агонистов, так и самих СВ-рецепторов с точки зрения функциональных последствий их активации для нейрона. Это функциональное разнообразие эффектов, обозначаемое в литературе как смещённый агонизм, объясняется существованием разных конформационных состояний данного рецепторного белка, имеющего потенциальное сродство к разным G-белкам. Это, в свою очередь, означает, что в зависимости от химической природы действующего на СВ-рецептор агониста происходит стабилизация молекулы рецептора в определенном конформационном состоянии, имеющем сродство к пулу G-белков определенного субъединичного состава. Взаимодействие с определенным типом G-белков будет приводить к запуску последующего каскада, но не обязательно тормозящего секрецию медиатора. Сегодня считается, что срабатывание того или иного

G-белка и запуск определенного сигнального пути зависит, в первую очередь, от типа агониста, вызывающего стабилизацию рецептора в соответствующей конформации, и его последующее сопряжение с определенным типом G-белков [62–64] (рис. 3, а). Возможно, в такое комплексное проявление смещённого агонизма вносят вклад регуляторы G-белковой сигнализации (RGS) [65, 66].

В настоящее время лиганды, связывающиеся с СВ-рецепторами, принято подразделять на четыре химически разных класса. Это 1) эйкозаноиды (куда входят 2-AG и AEA), 2) выделенный из конопли рода *Sativa* классический фитоканнабиноид дельта-9-тетрагидроканнабинол (THC) и его производные, 3) неклассический синтетический агонист CP55,940 и 4) аминокилиндола WIN. В связи с обнаружившейся у лигандов СВ-рецепторов способности проявлять смещённый (функционально многозначный) агонизм в литературе высказывается мнение о возможности и необходимости поиска избирательно действующих лигандов (агонистов СВ-рецепторов) из числа уже известных синтетических каннабиноидов. Необходимо, чтобы такие лиганды вызывали бы только один, определенный желаемый эффект при связывании с СВ-рецепторами в ЦНС для их использования в определенных целях в клинике [67–70]. Продолжается активная разработка новых синтетических агонистов СВ-рецепторов. Недавно показано, что в присутствии коклюшного токсина, блокирующего сцепку $G_{i/0}$ -белков с рецепторами в клетках, высокие концентрации синтетических каннабиноидов WIN, CP55,940, JWH-018 и AV FUBINACA увеличивают концентрацию cAMP выше уровня, продуцируемого активатором AC форсколином [71, 72]. При этом THC, связываясь и действуя на те же СВ1 в аналогичных концентрациях, не вызывал подъёма уровня cAMP. Таким образом, представление о смещённом агонизме и разнообразии лигандов, способных, несмотря на связывание с одним и тем же типом СВ-рецепторов, индуцировать разнообразные сигнальные пути в клетках, включая активацию G_s -белков, получают все новые свидетельства.

Взаимодействие СВ-рецепторов с β -аррестинами. Анализ неоднозначных функциональных последствий при действии различных лигандов на СВ-рецепторы в ЦНС привёл к ещё одному неожиданному заключению, что СВ-рецепторы могут при их активации определёнными лигандами взаимодействовать не только с разными G-белками, но и с β -аррестинами. β -Аррестины – небольшое семейство цитоплазматических белков с молекулярной массой поряд-

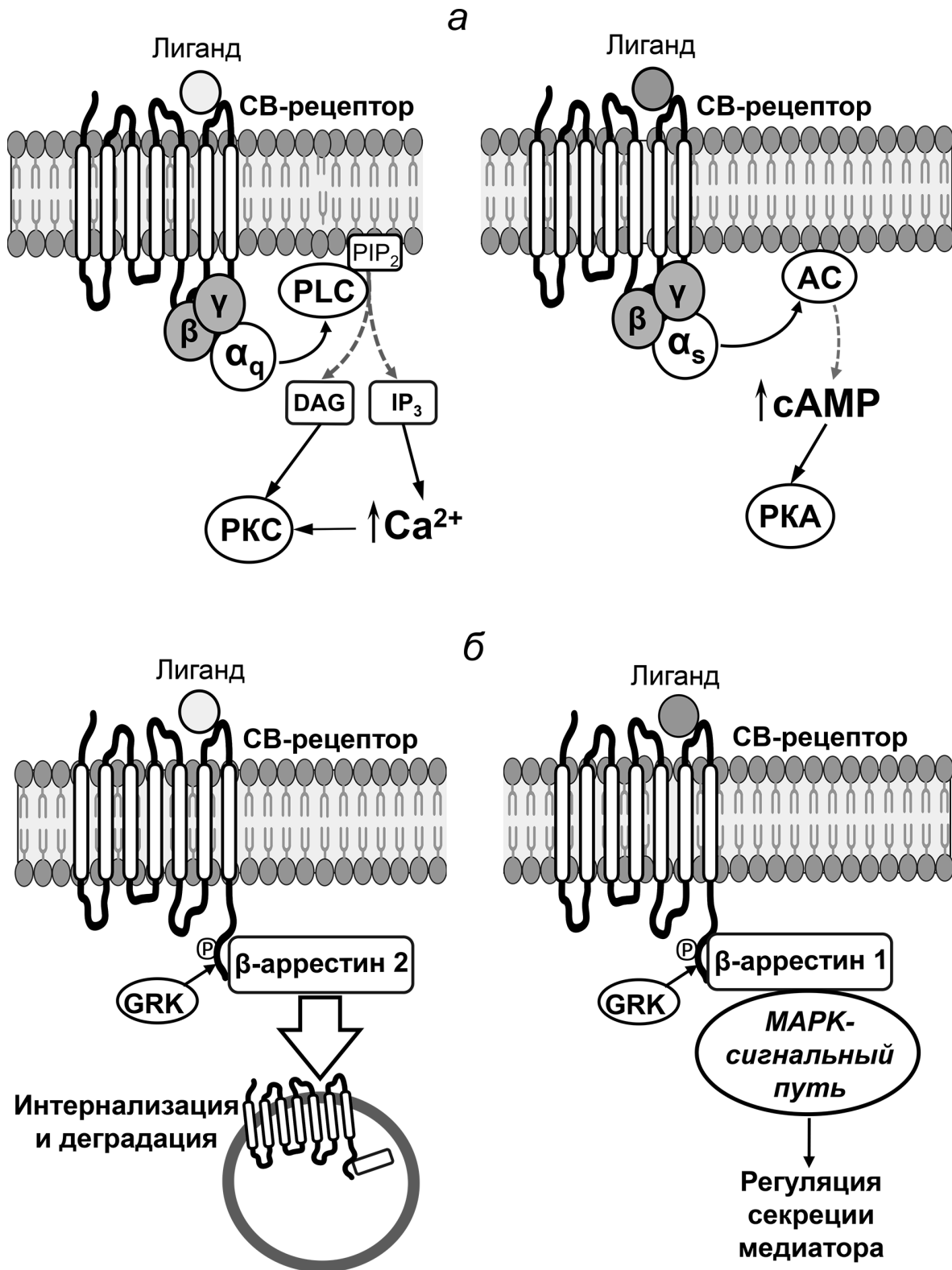


Рис. 3. Примеры возможных неканонических взаимодействий СВ-рецепторов: с G_q - или G_s -белками и запуском внутриклеточных каскадов, сопровождающихся атипичными ответами клеток на действие эндоканнабиноидов (а); с β -аррестинами 1 и 2 (б). Справа показана возможность взаимодействия СВ-рецепторов с β -аррестином 1, что приводит к запуску неканонических сигнальных каскадов. Условные обозначения: \leftarrow — активирующее влияние; \perp — тормозное влияние; α , β , γ — субъединицы G-белка; PIP_2 — фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат; IP_3 — инозитол-1,4,5-трисфосфат; GRK — киназа рецепторов, связанных с G-белками; P — фосфат

ка 50 кДа, способных связываться с цитоплазматическими участками G-белок-сцепленных рецепторов, что, во-первых, терминирует активацию G-белков за счёт инактивации рецептора, а во-вторых, может приводить к его дальнейшей интернализации. Как известно, в случае активации СВ-рецепторов агонистами происходит их последующее фосфорилирование киназами рецепторов, связанных с G-белками, что позволяет β -аррестинам – β -аррестину 1 и β -аррестину 2 – транслоцироваться к мембране и связываться с СВ-рецепторами на их цитоплазматических участках. В настоящее время известно, что оба типа β -аррестинов могут связываться с СВ1 и СВ2. При этом, видимо, связь с β -аррестином 2 приводит к десенситизации G-белок-сцепленных СВ-рецепторов и, возможно, их интернализации, т.е. удалению с поверхности мембраны, как это действительно показано в ряде случаев взаимодействия активированных СВ1 с β -аррестином [73] (рис. 3, б). Однако становится очевидно, что участие β -аррестинов в десенситизации и интернализации СВ – лишь одна из их функций в клетках [12, 70]. Обнаружилась способность β -аррестина 1 связываться с СВ1, опосредовать их дальнейшую активность, выступая в роли отдельного преобразователя сигнала, независимого от G-белков. В нейронах и нервных терминалях синапсов ЦНС β -аррестин 1 играет роль одного из каркасных белков, участвующих в создании мультибелковых примембранных комплексов, запускающих последующий сигналинг. Соответственно, прямое взаимодействие β -аррестина 1 с молекулой СВ1 может запускать сигнальный путь, связанный с активацией МАРК, и, в частности киназы, регулируемой экстраклеточным сигналом (Erk1/2), p38 и других [74–77] (рис. 3, б).

Более того, отмечается, что каннабиноидные лиганды, рекрутирующие присоединение β -аррестина 1 к СВ1, вызывают повышение активности G_s -белок-опосредованного сигнального каскада (на фоне коклюшного токсина) и возрастание уровня сАМР, действуя в концентрациях меньших на несколько порядков, чем когда эти же лиганды при связывании с СВ1 запускают активность G_i -белков [63]. Поэтому при рассмотрении последствий взаимодействия СВ-рецепторов с определенными лигандами в ЦНС необходимо учитывать ещё одно проявление смещённого агонизма – запуск независимых от активности G-белков сигнальных путей с участием β -аррестина 1 и последующей активацией МАРК (Erk1/2, p38) или системы АС/сАМР, приводящих к вариабельным функциональным последствиям [63, 73, 77]. Это, бесспорно, важ-

ное, но пока малоразработанное направление исследований неканонической активности эндоканнабиноидной системы тормозится отсутствием избирательных блокаторов связывания β -аррестинов 1 с СВ1, хотя в качестве претендента на эту роль уже обсуждается пептидный фрагмент одной из петель β -аррестина 1, у которого показано специфическое связывание с цитоплазматическим спиральным мотивом на С-конце белковой цепи молекулы СВ1 и способность разобщать связывание β -аррестина 1 с СВ1 [73].

Гетерорецепторные взаимодействия СВ-рецепторов. В добавление к набирающим популярность представлениям о присущем эндоканнабиноидным рецепторам и их агонистам многозначном смещённом агонизме, в последние годы стало очевидным ещё одно ярко выраженное у СВ-рецепторов свойство. Это тенденция к образованию гетерорецепторных комплексов с другими мембранными рецепторами, которые или также сцеплены с определёнными G-белками (опиоидные, аденозиновые, дофаминовые, серотониновые, рецепторы ангиотензина II и др.), или обладают киназной активностью (Trk-рецепторы нейротрофинов, рецепторы эпидермального фактора роста и др.) [3, 9].

Данные о коэкспрессии и взаимодействии СВ1 и других G-белок-сцепленных рецепторов на мембранах нейронов и терминалей синапсов демонстрируют неоднозначные функциональные последствия. В частности, при коэкспрессии СВ1 с μ -опиоидными рецепторами избирательная активация одного типа рецептора подавляла проявление избирательных эффектов активации другого [78]. В синапсах гиппокампа описано гетерорецепторное реципрокное взаимодействие между ГАМК_B-рецепторами и СВ1, когда уменьшение секреции медиатора при стимуляции одного рецептора подавлялось при подключении другого [79]. В дофаминергических терминалях выявили экспрессию СВ1 и дофаминовых D2-ауторецепторов. При этом раздельная избирательная активация СВ1 вызывала подавление выброса [³H]-дофамина, благодаря активации G_i -белка и угнетению активности АС. Однако при совместной активации с D2-ауторецепторами продемонстрировали сдвиг от активации G_i -белка и торможения выброса дофамина к доминированию активности G_s -белок-опосредованной сигнализации: подъём активности АС, возрастание уровня сАМР и увеличение активности РКА и усиление выброса секреции [³H]-дофамина на срезах мозга [55]. Обсуждается возможное участие RGS в реализации таких эффектов [66]. Говоря о гетерорецепторных взаимодействиях,

необходимо отметить, что растёт число примеров и трансактивации эндоканнабиноидов и СВ-рецепторов, когда в случае активации избирательными агонистами определённых постсинаптических рецепторных белков происходят изменения G_q -белок-опосредуемых сигнальных каскадов в постсинаптических структурах, увеличение постсинаптической концентрации ионов Ca^{2+} и параллельное повышение там синтеза эндоканнабиноидов и активности СВ-рецепторов [80]. Например, известна способность нейротрофического фактора мозга при действии на постсинаптические TrkB-рецепторы индуцировать высвобождение эндоканнабиноидов и их пресинаптическое действие [81]. В связи с этим фармакологический анализ неканонических эффектов агонистов СВ-рецепторов в синапсах ЦНС осложняется ещё и возможностью их не прямой активации и возможным параллельным соучастием других сигнализаторов в реализации наблюдаемых эффектов эндоканнабиноидов [12].

В случае взаимодействия между СВ1 и СВ2 в составе гетеродимерных комплексов обнаруживаются реципрокные антагонистические влияния СВ-рецепторов друг на друга. При тестировании связывания одного типа рецепторов со своим агонистом в составе комплекса СВ1–СВ2 наблюдалось сниженное связывание агониста за счёт влияний со стороны рецептора другого типа. Аналогично тормозилось связывание и второго рецептора с его агонистом. Такой двусторонний перекрестный антагонизм (взаимное подавление) активности в гетерорецепторных комплексах СВ1–СВ2 отражает существование дополнительного паттерна молекулярных взаимодействий СВ-рецепторов и возможности регуляции их активности [82, 83].

Внутриклеточные СВ-рецепторы и СВ-рецепторы астроцитов. К числу неканонических влияний каннабиноидов, бесспорно, относится и их возможность взаимодействовать и с внутриклеточными СВ1-рецепторами, выявленными на мембранах митохондрий [84–86], эндосом и лизосом нейронов [87]. В митохондриях СВ1-рецепторы сцеплены с G_i -белком, но поскольку этот каскад запускается не в цитоплазме, а в матриксе митохондрий, то он влияет на секрецию медиаторов опосредованно, через снижение продукции АТФ. В этом случае активация митохондриальных СВ1-рецепторов может проявляться в развитии краткосрочной депрессии передачи в гиппокампе, а при более длительной активности синапсов – в нарушении процессов формирования памяти [88, 89]. В эндосомах и лизосомах нейронов коры и гиппокампа удалось пока выявить только СВ2-рецепторы. При

их активации происходит опосредуемое IP_3 -рецепторами увеличение внутриклеточной концентрации ионов кальция, что свидетельствует об их неканоническом сопряжении с G_q -белками [90, 91]. Увеличение концентрации кальция в цитоплазме, в свою очередь, вызывает открытие Ca^{2+} -активируемых хлорных каналов, что снижает возбудимость нейронов [92]. Таким образом, уже известна возможность атипичной внутриклеточной локализации СВ-рецепторов, и их неканоническая активность специфически влияет на синаптическую передачу и нейрональную активность в ЦНС.

Наконец, следует упомянуть и о возможных последствиях активации астроцитарных СВ1-рецепторов, выявленных как на наружной [93, 94], так и на митохондриальной мембранах этих клеток [95–97]. Если в нервных терминалях активация СВ1 запускает G_i -белок-опосредованные сигнальные каскады, тормозящие секрецию медиатора, то активация выделяющимися нейрональными эндоканнабиноидами астроцитарных СВ1 повышает концентрацию ионов Ca^{2+} в цитоплазме астроцитов, что обеспечивает секрецию глутамата (глутамата, D-серина, аденозина), включая и эндоканнабиноиды [98, 99]. Предполагается, что, в отличие от относительно локализованного ретроградного действия эндоканнабиноидов в синапсах, пространственно-временной характер СВ1-индуцируемых кальциевых сигналов в астроцитах с последующим выбросом глутамата способен вызвать модулирование синаптической передачи в большом количестве синапсов, расположенных далеко от места изначального выделения эндоканнабиноидов [100]. Кроме того, под действием эндоканнабиноидов астроциты, в зависимости от выделяемых ими глутамата и их рецепторов на пре- и/или постсинаптической мембранах, могут опосредованно вовлекаться в реализацию различных форм синаптической пластичности, причём как тормозящих, так и усиливающих секрецию медиаторов [99–103].

ОБЛЕГЧАЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ЭНДОКАННАБИНОИДНОЙ СИСТЕМЫ НА СИНАПТИЧЕСКУЮ ПЕРЕДАЧУ В ЦЕНТРАЛЬНЫХ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ СИНАПСАХ

Центральные синапсы. Факты облегчающего, а не тормозного действия эндоканнабиноидов и их рецепторов на секрецию медиаторов в синапсах ЦНС известны давно. Однако они остаются малочисленными и, как правило, предполагают

дополнительные условия для своего проявления [104]. Такими условиями, в частности, считаются случаи гетерорецепторного взаимодействия СВ-рецепторов с дофаминовыми D2-рецепторами в синапсах стриатума, когда, наряду с хорошо известным эффектом активации G_i -белка в терминалях при действии экзогенных агонистов СВ-рецепторов и торможением секреции дофамина, совместная аппликация агонистов СВ-рецепторов и D2-рецепторов сопровождается сдвигом механизма внутриклеточной сигнализации (вызываемой агонистами СВ-рецепторов) от активации G_i -белков в сторону активации G_s -белков, повышения уровня активности АС-каскада и усиления выброса дофамина [105, 106]. Также в литературе часто встречается утверждение, что случаи участия эндоканнабиноидов в долговременной потенциации передачи (LTP) в гиппокампе или стриатуме есть не что иное, как растормаживание и облегчение передачи глутаматергических синапсов. Оно происходит вследствие подавления эндоканнабиноидами тормозного действия ГАМК на выброс глутамата при гетеросинаптических взаимодействиях, т.е. является результатом проявления DSI [107].

Однако имеются свидетельства настоящих облегчающих эффектов эндоканнабиноидов в синапсах ЦНС, когда эндоканнабиноиды, ретроградно действуя в синапсах, работающих в гомосинаптическом режиме, непосредственно облегчают в них выброс медиатора. Так, при анализе активности глутаматергических кортикостриарных синапсов на срезах мозга мышей применяли сдвоенную стимуляцию пост- и пресинаптических структур синапсов с регистрацией возбуждающих постсинаптических потенциалов. Варьирование числа, частоты и продолжительности сдвоенных стимулов позволило выявить условия развития синаптической пластичности в зависимости от временного интервала между пре- и постсинаптическими импульсами, когда синапсы работали в режиме или LTD, или LTP. Оказалось, что проявление разных типов синаптической пластичности зависело от уровня и паттерна синтезируемых и действующих в синапсах эндоканнабиноидов. Авторы показали, что при формировании кратковременных, но высококонцентрированных транзистентов эндоканнабиноидов, создаваемых в синапсах определёнными режимами стимуляции, наблюдается LTP. Тогда как при продолжительных, но умеренных уровнях повышения концентрации эндоканнабиноидов в синапсах наблюдается развитие LTD. Обнаруженная LTP действительно была обусловлена именно секрецией эндоканнабиноидов, поскольку индук-

ция LTP предотвращалась блокированием СВ1 и не наблюдалась у мышей с нокаутом генов СВ-рецепторов [108]. Было также показано, что случаи разнонаправленного действия эндоканнабиноидов (поддержка депрессии или потенциации передачи) могут быть связаны с балансом активности пресинаптических РКА и кальцийнейрина, регулируемых пресинаптическим действием соответствующих концентраций эндоканнабиноидов в терминалях, а также могут зависеть от паттерна активности DAGL α в постсинаптических структурах [108, 109].

Способность эндогенных каннабиноидов вызывать LTP описана и в синапсах гиппокампа [110]. На срезах гиппокампа использовали режимы высокочастотной стимуляции, приводящие к слабо- или сильно выраженной LTP. Оказалось, что выброс эндоканнабиноидов, происходящий в этих условиях в синапсах, может увеличивать сильную LTP и тормозить индукцию слабо выраженной LTP. По мнению авторов, выброс эндоканнабиноидов и их действие играет роль высокочастотных фильтров, контролирующих в сильно шумящих нейронных сетях ЦНС соотношение полезный сигнал/шум при интенсивной работе синапсов [111].

Таким образом, исследования последних лет показывают, что неканонические облегчающие эффекты эндоканнабиноидов в ЦНС, по-видимому, действительно проявляются и могут быть обнаружены экспериментально. Однако это требует использования определенных временных и частотных параметров активности синапсов, близких к нормальным физиологическим, обеспечивающих соответствующие паттерны синтеза и концентрационных профилей эндоканнабиноидов в синапсах [108,111]. В любом случае представление о присутствии неканонической активности эндоканнабиноидов, облегчающей синаптическую передачу и секрецию медиаторов в синапсах ЦНС, обретает в последнее время все больше доказательств и сторонников [13, 107, 108, 111].

Периферические синапсы. К числу периферических органов, обладающих эндоканнабиноидной системой, относится, среди прочих, и скелетная мускулатура. В скелетных мышцах описана экспрессия не только СВ1 и СВ2, но и ферментов, ответственных за синтез и деградацию эндоканнабиноидов [112–114]. Показано, что выброс из сокращающейся мышцы эндоканнабиноидов может приводить к присущим им локальным эффектам с участием СВ-рецепторов как на уровне самих мышечных волокон [115–117], так, возможно, и моторных синапсов [118, 119].

Первые попытки выявить роль эндоканнабиноидов в нервно-мышечных синапсах разных позвоночных датируются концом XX и началом XXI столетия [120–122]. Было выявлено традиционное, преимущественно тормозное действие этих сигнальных молекул на секрецию АХ в моторных синапсах холоднокровных [123, 124]. Однако уже в самой ранней работе отмечалось увеличение амплитуды спонтанных миниатюрных потенциалов концевой пластинки (МПКП) и их частоты без изменения вызванного выброса АХ при аппликации ТНС [120].

В последние годы добавились новые свидетельства неканонической активности каннабиноидов, облегчающей секрецию АХ в моторных синапсах. Так, при тестировании эффектов WIN на моторных синапсах диафрагмы мыши был обнаружен значительный (на 50% и более) прирост частоты МПКП [60]. Эффект был связан с активацией СВ1 и запуском пресинаптического сигнального каскада с участием PLC, протеинкиназы С и депонированного Ca^{2+} из рианодинчувствительных Ca^{2+} -депо. Облегчающие спонтанную секрецию эффекты WIN в моторных синапсах выглядят неожиданными, учитывая, что в синапсах ЦНС торможение экзогенными кан-

набиноидами вызванной активности обычно сопровождается также подавлением и их спонтанной активности [125, 126]. На том же классическом экспериментальном объекте – моторных синапсах диафрагмы мыши – также удалось обнаружить целый ряд неканонических облегчающих воздействий на параметры спонтанной секреции АХ при тонической аппликации двух эндоканнабиноидов – АЕА и 2-АГ. Выяснилось, что, несмотря на активацию одного и того же типа пресинаптических рецепторов, СВ1, АЕА и 2-АГ вызывали изменения разных параметров МПКП, отражающих спонтанную секрецию АХ: АЕА стимулировал возрастание частоты МПКП на 75%, предотвращаемое блокированием L-типа Ca^{2+} -каналов и ингибированием PKA, но не PLC. 2-АГ же вызывал прирост размера квантов АХ и амплитуды МПКП на 50%, предотвращавшийся везамиколом – ингибитором везикулярного транспортёра АХ [127]. По-видимому, не совпадающие по эффектам специфические рецепторные влияния АЕА и 2-АГ, направленные на разные параметры квантовой секреции АХ, предполагают вовлечение разных сигнальных путей и финальных мишеней этих путей в моторных нервных терминалях (рис. 4).

Такая двойственность эффектов при активации одних и тех же рецепторов при действии разных агонистов может быть проявлением смещённого агонизма при активации СВ1, возможность которого при действии эндоканнабиноидов сейчас активно обсуждается. Что касается увеличения размера квантов АХ при действии 2-АГ, то аналогичный эффект установлен и в работе, где длительная аппликация агонистов СВ1 на моторные синапсы диафрагмы мыши также приводила к значительному приросту амплитуды МПКП, который не наблюдался при предварительном блокировании везикулярного транспорта АХ. Было выявлено увеличение размеров холинергических везикул спустя 2–4 часа после начала нанесения каннабиноидов на мышцу [118]. Потенцирование размера квантов медиаторов на пресинаптическом уровне путём усиления накачки медиаторов в везикулу сегодня хорошо известно как в синапсах ЦНС, так и на периферии [128, 129]. Считается, что это один из специфических пресинаптических механизмов потенциации синаптической передачи, осуществляемый с участием различных нейромодуляторов. Однако участие эндоканнабиноидов в таком механизме облегчения передачи сигнала в синапсах является новым, ранее не известным неканоническим свойством этих сигнализаторов, заслуживающим дальнейшего изучения.

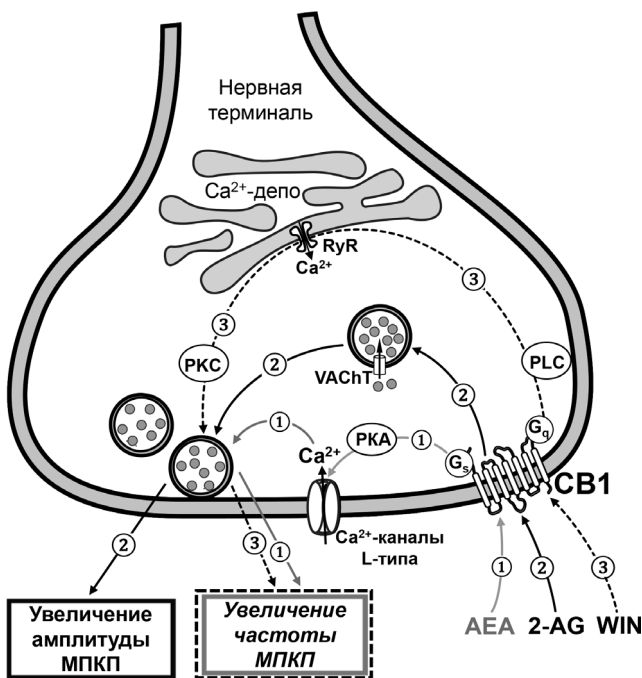


Рис. 4. Схема возможности запуска в моторных синапсах млекопитающих разных сигнальных каскадов при активации СВ1 тремя разными агонистами: АЕА – 1, 2-АГ – 2, и WIN – 3, что приводит к потенциации разных параметров спонтанной секреции квантов АХ. Условные обозначения: ← – активирующее влияние, RyR – рианодиновые рецепторы, VACHT – везикулярный ацетилхолиновый транспортёр

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ данных литературы свидетельствует о наличии большого разнообразия мишеней и сигнальных каскадов, запускаемых эндоканнабиноидами в синапсах ЦНС и на периферии. Характерный для эндоканнабиноидов и их рецепторов смещённый агонизм, а также функциональное и структурное взаимодействие с другими рецепторами значительно расширяет спектр активности эндоканнабиноидов и позволяет охарактеризовать их как плеiotропные сигнальные молекулы, способные оказывать разнообразные тормозные и облегчающие влияния на секрецию медиаторов. Способность к разнонаправленной вариабельной модуляции секреции медиаторов, обнаруживаемая у эндоканнабиноидов, демонстрирует принципиальное сходство этой, на первый взгляд, уникальной молекулярной сигнальной системы с другими системами химической модуляции секреции

в синапсах. Переосмысление потенциальных функциональных возможностей и механизмов действия эндоканнабиноидов с учётом их неканонических свойств позволит более глубоко и разносторонне понять и оценить роль этой сигнальной системы в норме и использовать направленные изменения ее модулирующего потенциала при патологиях нервной и других систем организма.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-04-00616a).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Morales, P., and Reggio, P. H. (2017) An update on Non-CB1, Non-CB2 cannabinoid related G-protein-coupled receptors, *Cannabis Cannabinoid Res.*, **2**, 265-273, doi: 10.1089/can.2017.0036.
- Zou, S., and Kumar, U. (2018) Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: signaling and function in the central nervous system, *Int. J. Mol. Sci.*, **19**, 833, doi: 10.3390/ijms19030833.
- Haspula, D., and Clark, M. A. (2020) Cannabinoid receptors: an update on cell signaling, pathophysiological roles and therapeutic opportunities in neurological, cardiovascular, and inflammatory diseases, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 7693, doi: 10.3390/ijms21207693.
- Muller, C., Morales, P., and Reggio, P. H. (2019) Cannabinoid ligands targeting TRP channels, *Front. Mol. Neurosci.*, **11**, 487, doi: 10.3389/fnmol.2018.00487.
- Lago-Fernandez, A., Zarzo-Arias, S., Jagerovic, N., and Morales, P. (2021) Relevance of peroxisome proliferator activated receptors in multitarget paradigm associated with the endocannabinoid system, *Int. J. Mol. Sci.*, **22**, 1001, doi: 10.3390/ijms22031001.
- Kano, M., Ohno-Shosaku, T., Hashimoto, Y., Uchigashima, M., and Watanabe, M. (2009) Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission, *Physiol. Rev.*, **89**, 309-380, doi: 10.1152/physrev.00019.2008.
- Castillo, P. E., Younts, T. J., Chávez, A. E., and Hashimoto, Y. (2012) Endocannabinoid signaling and synaptic function, *Neuron*, **76**, 70-81, doi: 10.1016/j.neuron.2012.09.020.
- Rozov, A. V., Valiullina, F. F., and Bolshakov, A. P. (2017) Mechanisms of long-term plasticity of hippocampal GABAergic synapses, *Biochemistry (Moscow)*, **82**, 257-263, doi: 10.1134/S0006297917030038.
- Turu, G., and Hunyady, L. (2010) Signal transduction of the CB1 cannabinoid receptor, *J. Mol. Endocrinol.*, **44**, 75-85, doi: 10.1677/JME-08-0190.
- Dalton, G. D., and Howlett, A. C. (2012) Cannabinoid CB1 receptors transactivate multiple receptor tyrosine kinases and regulate serine/threonine kinases to activate ERK in neuronal cells, *Br. J. Pharmacol.*, **165**, 2497-2511, doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01455.x.
- Kreitzer, A. C., and Regehr, W. G. (2001) Retrograde inhibition of presynaptic calcium influx by endogenous cannabinoids at excitatory synapses onto Purkinje cells, *Neuron*, **29**, 717-727, doi: 10.1016/S0896-6273(01)00246-X.
- Fletcher-Jones, A., Hildick, K. L., Evans, A. J., Nakamura, Y., Henley, J. M., and Wilkinson, K. A. (2020) Protein interactors and trafficking pathways that regulate the cannabinoid type1 receptor (CB1R), *Front. Mol. Neurosci.*, **13**, 108, doi: 10.3389/fnmol.2020.00108.
- Augustin, S. M., and Lovinger, D. M. (2018) Functional relevance of endocannabinoid-dependent synaptic plasticity in the central nervous system, *ACS Chem. Neurosci.*, **9**, 2146-2161, doi: 10.1021/acscchemneuro.7b00508.
- Huang, G. Z., and Woolley, C. S. (2012) Estradiol acutely suppresses inhibition in the hippocampus through a sex-specific endocannabinoid and mGluR-dependent mechanism, *Neuron*, **74**, 801-808, doi: 10.1016/j.neuron.2012.03.035.
- Tabatadze, N., Huang, G., May, R. M., Jain, A., and Woolley, C. S. (2015) Sex differences in molecular signaling at inhibitory synapses in the hippocampus, *J. Neurosci.*, **35**, 11252-11265, doi: 10.1523/JNEUROSCI.1067-15.2015.
- Maejima, T., Hashimoto, K., Yoshida, T., Aiba, A., and Kano, M. (2001) Presynaptic inhibition caused by retrograde signal from metabotropic glutamate to cannabinoid receptors, *Neuron*, **31**, 463-475, doi: 10.1016/S0896-6273(01)00375-0.
- Kim, J., Isokawa, M., Ledent, C., and Alger, B. E. (2002) Activation of muscarinic acetylcholine receptors enhances the release of endogenous cannabinoids in the hippocampus, *J. Neurosci.*, **22**, 10182-10191, doi: 10.1523/jneurosci.22-23-10182.2002.
- Straiker, A., and Mackie, K. (2007) Metabotropic suppression of excitation in murine autaptic hippocampal neurons, *J. Physiol.*, **578**, 773-785, doi: 10.1113/jphysiol.2006.117499.

19. Ohno-Shosaku, T., and Kano, M. (2014) Endocannabinoid-mediated retrograde modulation of synaptic transmission, *Curr. Opin. Neurobiol.*, **29**, 1-8, doi: 10.1016/j.conb.2014.03.017.
20. Varma, N., Carlson, G. C., Ledent, C., and Alger, B. E. (2001) Metabotropic glutamate receptors drive the endocannabinoid system in hippocampus, *J. Neurosci.*, **21**, RC188, doi: 10.1523/jneurosci.21-24-j0003.2001.
21. Ohno-Shosaku, T., Matsui, M., Fukudome, Y., Shosaku, J., Tsubokawa, H., Taketo, M. M., et al. (2003) Postsynaptic M1 and M3 receptors are responsible for the muscarinic enhancement of retrograde endocannabinoid signalling in the hippocampus, *Eur. J. Neurosci.*, **18**, 109-116, doi: 10.1046/j.1460-9568.2003.02732.x.
22. Hashimoto-dani, Y., Ohno-Shosaku, T., Watanabe, M., and Kano, M. (2007) Roles of phospholipase C β and NMDA receptor in activity-dependent endocannabinoid release, *J. Physiol.*, **584**, 373-380, doi: 10.1113/jphysiol.2007.137497.
23. Ramikie, T. S., Nyilas, R., Bluett, R. J., Gamble-George, J. C., Hartley, N. D., et al. (2014) Multiple mechanistically distinct modes of endocannabinoid mobilization at central amygdala glutamatergic synapses, *Neuron*, **81**, 1111-1125, doi: 10.1016/j.neuron.2014.01.012.
24. Colmers, P. L. W., and Bains, J. S. (2018) Presynaptic mGluRs control the duration of endocannabinoid-mediated DSI, *J. Neurosci.*, **38**, 10444-10453, doi: 10.1523/JNEUROSCI.1097-18.2018.
25. Ohno-Shosaku, T., Tanimura, A., Hashimoto-dani, Y., and Kano, M. (2012) Endocannabinoids and retrograde modulation of synaptic transmission, *Neuroscientist*, **18**, 119-132, doi: 10.1177/1073858410397377.
26. Chevalere, V., Takahashi, K. A., and Castillo, P. E. (2006) Endocannabinoid-mediated synaptic plasticity in the CNS, *Annu. Rev. Neurosci.*, **29**, 37-76, doi: 10.1146/annurev.neuro.29.051605.112834.
27. Lutz, B. (2020) Neurobiology of cannabinoid receptor signaling, *Dialogues Clin. Neurosci.*, **22**, 207-222, doi: 10.31887/DCNS.2020.22.3/blutz.
28. Katona, I., and Freund, T. F. (2008) Endocannabinoid signaling as a synaptic circuit breaker in neurological disease, *Nat. Med.*, **14**, 923-930, doi: 10.1038/nm.f1869.
29. Cristino, L., Bisogno, T., and Di Marzo, V. (2020) Cannabinoids and the expanded endocannabinoid system in neurological disorders, *Nat. Rev. Neurol.*, **16**, 9-29, doi: 10.1038/s41582-019-0284-z.
30. Piomelli, D. (2003) The molecular logic of endocannabinoid signalling, *Nat. Rev. Neurosci.*, **4**, 873-884, doi: 10.1038/nrn1247.
31. Hashimoto-dani, Y., Ohno-Shosaku, T., Tanimura, A., Kita, Y., Sano, Y., Shimizu, T., et al. (2013) Acute inhibition of diacylglycerol lipase blocks endocannabinoid-mediated retrograde signalling: evidence for on-demand biosynthesis of 2-arachidonoylglycerol, *J. Physiol.*, **591**, 4765-4776, doi: 10.1113/jphysiol.2013.254474.
32. Richardson, J. D. (2000) Cannabinoids modulate pain by multiple mechanisms of action, *J. Pain*, **1**, 2-14, doi: 10.1016/S1526-5900(00)90082-8.
33. Howlett, A. C., Reggio, P. H., Childers, S. R., Hampson, R. E., Ulloa, N. M., and Deutsch, D. G. (2011) Endocannabinoid tone versus constitutive activity of cannabinoid receptors, *Br. J. Pharmacol.*, **163**, 1329-1343, doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01364.x.
34. Lee, S. H., Ledri, M., Tóth, B., Marchionni, I., Henstridge, C. M., Dudok, B., et al. (2015) Multiple forms of endocannabinoid and endovanilloid signaling regulate the tonic control of GABA release, *J. Neurosci.*, **35**, 10039-10057, doi: 10.1523/JNEUROSCI.4112-14.2015.
35. Kenakin, T. P. (2004) Allosteric modulators: the new generation of receptor antagonist, *Mol. Interv.*, **4**, 222-229, doi: 10.1124/mi.4.4.6.
36. Szabó, G. G., Lenkey, N., Holderith, N., András, T., Nusser, Z., and Hájos, N. (2014) Presynaptic calcium channel inhibition underlies CB1 cannabinoid receptor-mediated suppression of GABA release, *J. Neurosci.*, **34**, 7958-7963, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0247-14.2014.
37. Pertwee, R. G. (2005) Inverse agonism and neutral antagonism at cannabinoid CB1 receptors, *Life Sci.*, **76**, 1307-1324, doi: 10.1016/j.lfs.2004.10.025.
38. Kim, J., and Alger, B. E. (2010) Reduction in endocannabinoid tone is a homeostatic mechanism for specific inhibitory synapses, *Nat. Neurosci.*, **13**, 592-600, doi: 10.1038/nn.2517.
39. Thibault, K., Carrel, D., Bonnard, D., Gallatz, K., Simon, A., Biard, M., et al. (2013) Activation-dependent subcellular distribution patterns of CB1 cannabinoid receptors in the rat forebrain, *Cereb. Cortex*, **23**, 2581-2591, doi: 10.1093/cercor/bhs240.
40. Manza, P., Yuan, K., Shokri-Kojori, E., Tomasi, D., and Volkow, N. D. (2020) Brain structural changes in cannabis dependence: association with MAGL, *Mol. Psychiatry*, **25**, 3256-3266, doi: 10.1038/s41380-019-0577-z.
41. Tanimura, A., Yamazaki, M., Hashimoto-dani, Y., Uchigashima, M., Kawata, S., Abe, M., et al. (2010) The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol produced by diacylglycerol lipase α mediates retrograde suppression of synaptic transmission, *Neuron*, **65**, 320-327, doi: 10.1016/j.neuron.2010.01.021.
42. Ruiu, S., Pinna, G. A., Marchese, G., Mussinu, J. M., Saba, P., Tambaro, S., et al. (2003) Synthesis and characterization of NESS 0327: a novel putative antagonist of the CB1 cannabinoid receptor, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **306**, 363-370, doi: 10.1124/jpet.103.049924.
43. Canals, M., and Milligan, G. (2008) Constitutive activity of the cannabinoid CB1 receptor regulates the function of co-expressed μ -opioid receptors, *J. Biol. Chem.*, **283**, 11424-11434, doi: 10.1074/jbc.M710300200.
44. Hillard, C. J. (2018) Circulating endocannabinoids: from whence do they come and where are they going? *Neuropsychopharmacology*, **43**, 155-172, doi: 10.1038/npp.2017.130.
45. Chen, K., Ratzliff, A., Hilgenberg, L., Gulyás, A., Freund, T. F., et al. (2003) Long-term plasticity of endocannabinoid signaling induced by developmental febrile seizures, *Neuron*, **39**, 599-611, doi: 10.1016/S0896-6273(03)00499-9.
46. Dvorzhak, A., Semtner, M., Faber, D. S., and Grantyn, R. (2013) Tonic mGluR5/CB1-dependent suppression of inhibition as a pathophysiological hallmark in the striatum of mice carrying a mutant form of huntingtin, *J. Physiol.*, **591**, 1145-1166, doi: 10.1113/jphysiol.2012.241018.
47. Földy, C., Malenka, R. C., and Südhof, T. C. (2013) Autism-associated neuroigin-3 mutations commonly disrupt tonic endocannabinoid signaling, *Neuron*, **78**, 498-509, doi: 10.1016/j.neuron.2013.02.036.
48. Alger, B. E., and Kim, J. (2011) Supply and demand for endocannabinoids, *Trends Neurosci.*, **34**, 304-315, doi: 10.1016/j.tins.2011.03.003.
49. Speed, H. E., Masiulis, I., Gibson, J. R., and Powell, C. M. (2015) Increased cortical inhibition in autism-linked neuroigin-3R451C mice is due in part to loss of endocannabinoid signaling, *PLoS One*, **10**, e0140638, doi: 10.1371/journal.pone.0140638.
50. Martella, G., Meringolo, M., Trobiani, L., De Jaco, A., Pisani, A., and Bonsi, P. (2018) The neurobiological bases of autism spectrum disorders: the R451C-neuroigin3 mutation hampers the expression of long-term synaptic depression in the dorsal striatum, *Eur. J. Neurosci.*, **47**, 701-708, doi: 10.1111/ejn.13705.
51. Anderson, G. R., Aoto, J., Tabuchi, K., Földy, C., Covy, J., et al. (2015) β -Neurexins control neural circuits

- by regulating synaptic endocannabinoid signaling, *Cell*, **162**, 593-606, doi: 10.1016/j.cell.2015.06.056.
52. Glass, M., and Felder, C. C. (1997) Concurrent stimulation of cannabinoid CB1 and dopamine D2 receptors augments cAMP accumulation in striatal neurons: evidence for a G(s) linkage to the CB1 receptor, *J. Neurosci.*, **17**, 5327-5333, doi: 10.1523/jneurosci.17-14-05327.1997.
 53. Abadji, V., Lucas-Lenard, J. M., Chin, C. N., and Kendall, D. A. (1999) Involvement of the carboxyl terminus of the third intracellular loop of the cannabinoid CB1 receptor in constitutive activation of G(s), *J. Neurochem.*, **72**, 2032-2038, doi: 10.1046/j.1471-4159.1999.0722032.x.
 54. Calandra, B., Portier, M., Kernéis, A., Delpech, M., Carillon, C., et al. (1999) Dual intracellular signaling pathways mediated by the human cannabinoid CB1 receptor, *Eur. J. Pharmacol.*, **374**, 445-455, doi: 10.1016/S0014-2999(99)00349-0.
 55. Kearn, C. S., Blake-Palmer, K., Daniel, E., Mackie, K., and Glass, M. (2005) Concurrent stimulation of cannabinoid CB1 and dopamine D2 receptors enhances heterodimer formation: a mechanism for receptor cross-talk? *Mol. Pharmacol.*, **67**, 1697-1704, doi: 10.1124/mol.104.006882.
 56. Glass, M., and Northup, J. K. (1999) Agonist selective regulation of Gproteins by cannabinoid CB1 and CB2 receptors, *Mol. Pharmacol.*, **56**, 1362-1369, doi: 10.1124/mol.56.6.1362.
 57. Wootten, D., Christopoulos, A., Marti-Solano, M., Babu, M. M., and Sexton, P. M. (2018) Mechanisms of signalling and biased agonism in Gprotein-coupled receptors, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **19**, 638-653, doi: 10.1038/s41580-018-0049-3.
 58. Varga, E., Georgieva, T., Tumati, S., Alves, I., Salamon, Z., et al. (2010) Functional selectivity in cannabinoid signaling, *Curr. Mol. Pharmacol.*, **1**, 273-284, doi: 10.2174/1874467210801030273.
 59. Diez-Alarcia, R., Ibarra-Lecue, I., Lopez-Cardona, Á. P., Meana, J., Gutierrez-Adán, A., et al. (2016) Biased agonism of three different cannabinoid receptor agonists in mouse brain cortex, *Front. Pharmacol.*, **7**, 415, doi: 10.3389/fphar.2016.00415.
 60. Gaydukov, A. E., Dzhahaloniya, I. Z., Tarasova, E. O., and Balezina, O. P. (2020) The participation of endocannabinoid receptors in the regulation of spontaneous synaptic activity at neuromuscular junctions of mice, *Biochemistry (Moscow) Suppl. Ser. A Membr. Cell Biol.*, **14**, 7-16, doi: 10.1134/S1990747819060059.
 61. Laprairie, R. B., Bagher, A. M., Kelly, M. E. M., Dupré, D. J., and Denovan-Wright, E. M. (2014) Type1 cannabinoid receptor ligands display functional selectivity in a cell culture model of striatal medium spiny projection neurons, *J. Biol. Chem.*, **289**, 24845-24862, doi: 10.1074/jbc.M114.557025.
 62. Kenakin, T., and Christopoulos, A. (2013) Signalling bias in new drug discovery: detection, quantification and therapeutic impact, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **12**, 205-216, doi: 10.1038/nrd3954.
 63. Finlay, D. B., Cawston, E. E., Grimsey, N. L., Hunter, M. R., Korde, A., et al. (2017) Gas signalling of the CB1 receptor and the influence of receptor number, *Br. J. Pharmacol.*, **174**, 2545-2562, doi: 10.1111/bph.13866.
 64. Di Marzo, V. (2018) New approaches and challenges to targeting the endocannabinoid system, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **17**, 623-639, doi: 10.1038/nrd.2018.115.
 65. Song, C., Anderson, G. R., Sutton, L. P., Dao, M., and Martemyanov, K. A. (2018) Selective role of RGS9-2 in regulating retrograde synaptic signaling of indirect pathway medium spiny neurons in dorsal striatum, *J. Neurosci.*, **38**, 7120-7131, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0493-18.2018.
 66. O'Brien, J. B., Wilkinson, J. C., and Roman, D. L. (2019) Regulator of G-protein signaling (RGS) proteins as drug targets: progress and future potentials, *J. Biol. Chem.*, **294**, 18571-18585, doi: 10.1074/jbc.REV119.007060.
 67. Ibsen, M. S., Connor, M., and Glass, M. (2017) Cannabinoid CB1 and CB2 receptor signaling and bias, *Cannabis Cannabinoid Res.*, **2**, 48-60, doi: 10.1089/can.2016.0037.
 68. Morales, P., Goya, P., and Jagerovic, N. (2018) Emerging strategies targeting CB2 cannabinoid receptor: biased agonism and allosterism, *Biochem. Pharmacol.*, **157**, 8-17, doi: 10.1016/j.bcp.2018.07.031.
 69. Wouters, E., Walraed, J., Banister, S. D., and Stove, C. P. (2019) Insights into biased signaling at cannabinoid receptors: synthetic cannabinoid receptor agonists, *Biochem. Pharmacol.*, **169**, 113623, doi: 10.1016/j.bcp.2019.08.025.
 70. Al-Zoubi, R., Morales, P., and Reggio, P. H. (2019) Structural insights into CB1 receptor biased signaling, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 1837, doi: 10.3390/ijms20081837.
 71. Sachdev, S., Banister, S. D., Santiago, M., Bladen, C., Kassiou, M., and Connor, M. (2020) Differential activation of Gprotein-mediated signaling by synthetic cannabinoid receptor agonists, *Pharmacol. Res. Perspect.*, **8**, e00566, doi: 10.1002/prp2.566.
 72. Patel, M., Finlay, D. B., and Glass, M. (2021) Biased agonism at the cannabinoid receptors – evidence from synthetic cannabinoid receptor agonists, *Cell. Signal.*, **78**, 109865, doi: 10.1016/j.cellsig.2020.109865.
 73. Ibsen, M. S., Finlay, D. B., Patel, M., Javitch, J. A., Glass, M., and Grimsey, N. L. (2019) Cannabinoid CB1 and CB2 receptor-mediated arrestin translocation: species, subtype, and agonist-dependence, *Front. Pharmacol.*, **10**, 350, doi: 10.3389/fphar.2019.00350.
 74. DeWire, S. M., Ahn, S., Lefkowitz, R. J., and Shenoy, S. K. (2007) β -Arrestins and cell signaling, *Annu. Rev. Physiol.*, **69**, 483-510, doi: 10.1146/annurev.physiol.69.022405.154749.
 75. Nobles, K. N., Xiao, K., Ahn, S., Shukla, A. K., Lam, C. M., et al. (2011) Distinct phosphorylation sites on the β 2-adrenergic receptor establish a barcode that encodes differential functions of β -arrestin, *Sci. Signal.*, **4**, ra51, doi: 10.1126/scisignal.2001707.
 76. Delgado-Peraza, F., Ahn, K. H., Noguera-Ortiz, C., Mungrue, I. N., Mackie, K., et al. (2016) Mechanisms of biased β -arrestin-mediated signaling downstream from the cannabinoid 1 receptor, *Mol. Pharmacol.*, **89**, 618-629, doi: 10.1124/mol.115.103176.
 77. Morales, P., Bruix, M., and Jiménez, M. A. (2020) Structural insights into β -arrestin/CB1 receptor interaction: Nmr and cd studies on model peptides, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 8111, doi: 10.3390/ijms21218111.
 78. Rios, C., Gomes, I., and Devi, L. A. (2006) μ opioid and CB1 cannabinoid receptor interactions: reciprocal inhibition of receptor signaling and neurogenesis, *Br. J. Pharmacol.*, **148**, 387-395, doi: 10.1038/sj.bjp.0706757.
 79. Cinar, R., Freund, T. F., Katona, I., Mackie, K., and Szucs, M. (2008) Reciprocal inhibition of G-protein signaling is induced by CB1 cannabinoid and GABAB receptor interactions in rat hippocampal membranes, *Neurochem. Int.*, **52**, 1402-1409, doi: 10.1016/j.neuint.2008.02.005.
 80. Turu, G., Várnal, P., Gyombolai, P., Szidonya, L., Offertaler, L., et al. (2009) Paracrine transactivation of the CB1 cannabinoid receptor by AT1 angiotensin and other Gq/11 protein-coupled receptors, *J. Biol. Chem.*, **284**, 16914-16921, doi: 10.1074/jbc.M109.003681.
 81. Wu, Y., Liu, Q., Guo, B., Ye, F., Ge, J., and Xue, L. (2020) BDNF activates postsynaptic TrkB receptors to induce endocannabinoid release and inhibit presynaptic calcium

- influx at a calyx-type synapse, *J. Neurosci.*, **40**, 8070-8087, doi: 10.1523/JNEUROSCI.2838-19.2020.
82. Callén, L., Moreno, E., Barroso-Chinea, P., Moreno-Delgado, D., Cortés, A., et al. (2012) Cannabinoid receptors CB 1 and CB 2 form functional heteromers in brain, *J. Biol. Chem.*, **287**, 20851-20865, doi: 10.1074/jbc.M111.335273.
 83. Navarro, G., Varani, K., Reyes-Resina, I., de Medina, V. S., Rivas-Santisteban, R., et al. (2018) Cannabigerol action at cannabinoid CB1 and CB2 receptors and at CB1-CB2 heteroreceptor complexes, *Front. Pharmacol.*, **9**, 632, doi: 10.3389/fphar.2018.00632.
 84. Bénard, G., Massa, F., Puente, N., Lourenço, J., Bellocchio, L., et al. (2012) Mitochondrial CB1 receptors regulate neuronal energy metabolism, *Nat. Neurosci.*, **15**, 558-564, doi: 10.1038/nn.3053.
 85. Hebert-Chatelain, E., Reguero, L., Puente, N., Lutz, B., Chaouloff, F., et al. (2014) Cannabinoid control of brain bioenergetics: exploring the subcellular localization of the CB1 receptor, *Mol. Metab.*, **3**, 495-504, doi: 10.1016/j.molmet.2014.03.007.
 86. Koch, M., Varela, L., Kim, J. G., Kim, J. D., Hernández-Nuño, F., et al. (2015) Hypothalamic POMC neurons promote cannabinoid-induced feeding, *Nature*, **519**, 45-50, doi: 10.1038/nature14260.
 87. Rozenfeld, R., and Devi, L. A. (2008) Regulation of CB1 cannabinoid receptor trafficking by the adaptor protein AP-3, *FASEB J.*, **22**, 2311-2322, doi: 10.1096/fj.07-102731.
 88. Hebert-Chatelain, E., Desprez, T., Serrat, R., Bellocchio, L., Soria-Gomez, E., et al. (2016) A cannabinoid link between mitochondria and memory, *Nature*, **539**, 555-559, doi: 10.1038/nature20127.
 89. Djeungoue-Petga, M. A., and Hebert-Chatelain, E. (2017) Linking mitochondria and synaptic transmission: the CB1 receptor, *BioEssays*, **39**, 1700126, doi: 10.1002/bies.201700126.
 90. Den Boon, F. S., Chameau, P., Schaafsma-Zhao, Q., Van Aken, W., Bari, M., et al. (2012) Excitability of prefrontal cortical pyramidal neurons is modulated by activation of intracellular type-2 cannabinoid receptors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 3534-3539, doi: 10.1073/pnas.1118167109.
 91. Brailoiu, G. C., Deliu, E., Marcu, J., Hoffman, N. E., Console-Bram, L., et al. (2014) Differential activation of intracellular versus plasmalemmal CB2 Cannabinoid receptors, *Biochemistry*, **53**, 4990-4999, doi: 10.1021/bi500632a.
 92. Jong, Y. J. I., Harmon, S. K., and O'Malley, K. L. (2018) Intracellular GPCRs play key roles in synaptic plasticity, *ACS Chem. Neurosci.*, **9**, 2162-2172, doi: 10.1021/acschemneuro.7b00516.
 93. Navarrete, M., and Araque, A. (2008) Endocannabinoids mediate neuron-astrocyte communication, *Neuron*, **57**, 883-893, doi: 10.1016/j.neuron.2008.01.029.
 94. Metna-Laurent, M., and Marsicano, G. (2015) Rising stars: modulation of brain functions by astroglial type-1 cannabinoid receptors, *Glia*, **63**, 353-364, doi: 10.1002/glia.22773.
 95. Stella, N. (2010) Cannabinoid and cannabinoid-like receptors in microglia, astrocytes, and astrocytomas, *Glia*, **58**, 1017-1030, doi: 10.1002/glia.20983.
 96. Gutiérrez-Rodríguez, A., Bonilla-Del Río, I., Puente, N., Gómez-Urquijo, S. M., Fontaine, C. J., et al. (2018) Localization of the cannabinoid type-1 receptor in subcellular astrocyte compartments of mutant mouse hippocampus, *Glia*, **66**, 1417-1431, doi: 10.1002/glia.23314.
 97. Jimenez-Blasco, D., Busquets-Garcia, A., Hebert-Chatelain, E., Serrat, R., Vicente-Gutierrez, C., et al. (2020) Glucose metabolism links astroglial mitochondria to cannabinoid effects, *Nature*, **583**, 603-608, doi: 10.1038/s41586-020-2470-y.
 98. Hegyi, Z., Oláh, T., Koszeghy, A., Pisticelli, F., Holló, K., et al. (2018) CB1 receptor activation induces intracellular Ca²⁺ mobilization and 2-arachidonoylglycerol release in rodent spinal cord astrocytes, *Sci. Rep.*, **8**, 10562, doi: 10.1038/s41598-018-28763-6.
 99. Smith, N. A., Bekar, L. K., and Nedergaard, M. (2020) Astrocytic endocannabinoids mediate hippocampal transient heterosynaptic depression, *Neurochem. Res.*, **45**, 100-108, doi: 10.1007/s11064-019-02834-0.
 100. Covelo, A., and Araque, A. (2016) Lateral regulation of synaptic transmission by astrocytes, *Neuroscience*, **323**, 62-66, doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.02.036.
 101. Navarrete, M., and Araque, A. (2010) Endocannabinoids potentiate synaptic transmission through stimulation of astrocytes, *Neuron*, **68**, 113-126, doi: 10.1016/j.neuron.2010.08.043.
 102. Robin, L. M., Oliveira da Cruz, J. F., Langlais, V. C., Martin-Fernandez, M., Metna-Laurent, M., et al. (2018) Astroglial CB1 receptors determine synaptic D-serine availability to enable recognition memory, *Neuron*, **98**, 935-944.e5, doi: 10.1016/j.neuron.2018.04.034.
 103. Carlsen, E. M. M., Falk, S., Skupio, U., Robin, L., Zottola, A. C. P., et al. (2021) Spinal astroglial cannabinoid receptors control pathological tremor, *Nat. Neurosci.*, **24**, 658-666, doi: 10.1038/s41593-021-00818-4.
 104. Busquets-Garcia, A., Bains, J., and Marsicano, G. (2018) CB1 receptor signaling in the brain: extracting specificity from ubiquity, *Neuropsychopharmacology*, **43**, 4-20, doi: 10.1038/npp.2017.206.
 105. Eldeeb, K., Leone-Kabler, S., and Howlett, A. C. (2016) CB1 cannabinoid receptor-mediated increases in cyclic AMP accumulation are correlated with reduced Gi/o function, *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.*, **27**, 311-322, doi: 10.1515/jbcpp-2015-0096.
 106. Bagher, A. M., Laprairie, R. B., Toguri, J. T., Kelly, M. E. M., and Denovan-Wright, E. M. (2017) Bidirectional allosteric interactions between cannabinoid receptor1 (CB1) and dopamine receptor2 long (D2L) heterotetramers, *Eur. J. Pharmacol.*, **813**, 66-83, doi: 10.1016/j.ejphar.2017.07.034.
 107. Piette, C., Cui, Y., Gervasi, N., and Venance, L. (2020) Lights on endocannabinoid-mediated synaptic potentiation, *Front. Mol. Neurosci.*, **13**, 132, doi: 10.3389/fnmol.2020.00132.
 108. Cui, Y., Prokin, I., Xu, H., Delord, B., Genet, S., et al. (2016) Endocannabinoid dynamics gate spike-timing dependent depression and potentiation, *ELife*, **5**, e13185, doi: 10.7554/eLife.13185.
 109. Shonesy, B. C., Wang, X., Rose, K. L., Ramikie, T. S., Cavener, V. S., et al. (2013) CaMKII regulates diacylglycerol lipase- α and striatal endocannabinoid signaling, *Nat. Neurosci.*, **16**, 456-463, doi: 10.1038/nn.3353.
 110. Xu, J. Y., Zhang, J., and Chen, C. (2012) Long-lasting potentiation of hippocampal synaptic transmission by direct cortical input is mediated via endocannabinoids, *J. Physiol.*, **590**, 2305-2315, doi: 10.1113/jphysiol.2011.223511.
 111. Silva-Cruz, A., Carlström, M., Ribeiro, J. A., and Sebastião, A. M. (2017) Dual influence of endocannabinoids on long-term potentiation of synaptic transmission, *Front. Pharmacol.*, **8**, 921, doi: 10.3389/fphar.2017.00921.
 112. Cavanaugh, P., McAinch, A. J., Hatzinikolas, G., Janovská, A., Game, P., and Wittert, G. A. (2007) The expression of receptors for endocannabinoids in human and rodent skeletal muscle, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **364**, 105-110, doi: 10.1016/j.bbrc.2007.09.099.
 113. Crespillo, A., Suárez, J., Bermúdez-Silva, F. J., Rivera, P., Vida, M., et al. (2011) Expression of the cannabinoid sys-

- tem in muscle: effects of a high-fat diet and CB1 receptor blockade, *Biochem. J.*, **433**, 175-185, doi: 10.1042/BJ20100751.
114. Hutchins-Wiese, H. L., Li, Y., Hannon, K., and Watkins, B. A. (2012) Hind limb suspension and long-chain omega-3 PUFA increase mRNA endocannabinoid system levels in skeletal muscle, *J. Nutr. Biochem.*, **23**, 986-993, doi: 10.1016/j.jnutbio.2011.05.005.
 115. Maccarrone, M., Bab, I., Bíró, T., Cabral, G. A., Dey, S. K., et al. (2015) Endocannabinoid signaling at the periphery: 50years after THC, *Trends Pharmacol. Sci.*, **36**, 277-296, doi: 10.1016/j.tips.2015.02.008.
 116. Oláh, T., Bodnár, D., Tóth, A., Vincze, J., Fodor, J., et al. (2016) Cannabinoid signalling inhibits sarcoplasmic Ca²⁺ release and regulates excitation-contraction coupling in mammalian skeletal muscle, *J. Physiol.*, **594**, 7381-7398, doi: 10.1113/JP272449.
 117. Heinitz, S., Basolo, A., Piomelli, D., Krakoff, J., and Piaggi, P. (2018) Endocannabinoid anandamide mediates the effect of skeletal muscle sphingomyelins on human energy expenditure, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **103**, 3757-3766, doi: 10.1210/jc.2018-00780.
 118. Morsch, M., Protti, D. A., Cheng, D., Braet, F., Chung, R. S., et al. (2018) Cannabinoid-induced increase of quantal size and enhanced neuromuscular transmission, *Sci. Rep.*, **8**, 4685, doi: 10.1038/s41598-018-22888-4.
 119. Ge, D., Odierna, G. L., and Phillips, W. D. (2020) Influence of cannabinoids upon nerve-evoked skeletal muscle contraction, *Neurosci. Lett.*, **725**, 134900, doi: 10.1016/j.neulet.2020.134900.
 120. Hoekman, T. B., Dettbarn, W. D., and Klausner, H. A. (1976) Actions of δ 9-tetrahydrocannabinol on neuromuscular transmission in the rat diaphragm, *Neuropharmacology*, **15**, 315-319, doi: 10.1016/0028-3908(76)90135-0.
 121. Kumbaraci, N. M., and Nastuk, W. L. (1980) Effects of Δ 9-tetrahydrocannabinol on excitable membranes and neuromuscular transmission, *Mol. Pharmacol.*, **17**, 344-349.
 122. Turkanis, S. A., and Karler, R. (1986) Effects of delta-9-tetrahydrocannabinol, 11-hydroxy-delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on neuromuscular transmission in the frog, *Neuropharmacology*, **25**, 1273-1278, doi: 10.1016/0028-3908(86)90147-4.
 123. Newman, Z., Malik, P., Wu, T. Y., Ochoa, C., Watsa, N., and Lindgren, C. (2007) Endocannabinoids mediate muscarine-induced synaptic depression at the vertebrate neuromuscular junction, *Eur. J. Neurosci.*, **25**, 1619-1630, doi: 10.1111/j.1460-9568.2007.05422.x.
 124. Silveira, P. E., Silveira, N. A., de Cássia Morini, V., Kushmerick, C., and Naves, L. A. (2010) Opposing effects of cannabinoids and vanilloids on evoked quantal release at the frog neuromuscular junction, *Neurosci. Lett.*, **473**, 97-101, doi: 10.1016/j.neulet.2010.02.026.
 125. Melis, M., Pistis, M., Perra, S., Muntoni, A. L., Pillolla, G., and Gessa, G. L. (2004) Endocannabinoids mediate presynaptic inhibition of glutamatergic transmission in rat ventral tegmental area dopamine neurons through activation of CB1 receptors, *J. Neurosci.*, **24**, 53-62, doi: 10.1523/JNEUROSCI.4503-03.2004.
 126. Zhu, P. J., and Lovinger, D. M. (2005) Retrograde endocannabinoid signaling in a postsynaptic neuron/synaptic bouton preparation from basolateral amygdala, *J. Neurosci.*, **25**, 6199-6207, doi: 10.1523/JNEUROSCI.1148-05.2005.
 127. Тарасова Е. О., Хоткина Н. А., Гайдуков А. Е., Балезина О. П. (2021) Потенциация спонтанной секреции ацетилхолина в моторных синапсах мыши под действием 2-арахидоноилглицерина и анандамида, *Вестник Московского Университета. Серия 16. Биология*, **76**, 3-9.
 128. Edwards, R. H. (2007) The neurotransmitter cycle and quantal size, *Neuron*, **55**, 835-858, doi: 10.1016/j.neuron.2007.09.001.
 129. Балезина О. П., Гайдуков А. Е. (2018) Пресинаптическая регуляция размера квантов медиатора, *Успехи физиологических наук*, **49**, 20-44, doi: 10.7868/s0301179818020029.

NONCANONICAL ACTIVITY OF ENDOCANNABINOIDS AND THEIR RECEPTORS IN CENTRAL AND PERIPHERAL SYNAPSES

Review

O. P. Balezina, E. O. Tarasova, and A. E. Gaydukov*

Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, 119234 Moscow, Russia; E-mail: gaydukov@gmail.com

This review focuses on new aspects of endocannabinoid functions and mechanisms of activity in central and peripheral synapses, different from the general viewpoint that endocannabinoids are retrograde signaling molecules, which inhibit neurotransmitter release by activating specific presynaptic endocannabinoid receptors CB1 and CB2. Biased agonism of the endogenous and synthetic cannabinoids as well as ability of the CB-receptors to couple not only with classical G_i-proteins, but also with G_s- and G_q-proteins and, moreover, with β -arrestins (thereby triggering additional signaling pathways in synapses) are described here in detail. Examples of noncanonical tonic activity of endocannabinoids and their receptors and their role in synaptic function are also presented. The role of endocannabinoids in short-term and long-term potentiation of neurotransmitter release in central synapses and their facilitating effect on quantal size and other parameters of acetylcholine release in mammalian neuromuscular junctions are highlighted in this review. In conclusion, it is stated that the endocannabinoid system has a wider range of various multidirectional modulating effects (both potentiating and inhibiting) on neurotransmitter release than initially recognized. Re-evaluation of the functions of endocannabinoid system with consideration of its noncanonical features will lead to better understanding of its role in the normal and pathological functioning of the nervous system and other systems of the body, which has an enormous practical value.

Keywords: endocannabinoids, CB1 and CB2-receptors, β -arrestin, endocannabinoid tonus, synaptic transmission facilitation