

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2023

Lenka Prachařová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Terapeutické účinky kanabinoidů
Lenka Prachařová

Bakalářská práce
2023

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Ing. Lenka Prachařová**
Osobní číslo: **C18601**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Terapeutické účinky kanabinoidů**
Téma práce anglicky: **Therapeutic Effects Of Cannabinoids**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Na základě informací z literatury uspořádejte základní informace o kanabinoidech.
2. Podrobněji se zaměřte na jejich terapeutické účinky.
3. Věnujte pozornost také vlastním mechanismům jejich terapeutických účinků.
4. Zpracujte současné poznatky o stanovení kanabinoidů v lidském biologickém materiálu, včetně podmínek pro odběr, transport a uchování vzorku.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Pavla Žáková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **23. prosince 2022**

Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem **Terapeutické účinky kanabinoidů** jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 30. 6. 2023

Lenka Prachařová v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala své školitelce paní Mgr. Pavle Královcové, Ph.D. za zadání zajímavého tématu práce, za vstřícný přístup a cenné rady, které mi byly inspirací při tvorbě bakalářské práce. A zároveň jí děkuji za trpělivost a pomoc s touto prací.

ANOTACE

Předkládaná práce se zabývá vlastnostmi a syntézou účinných látek s triviálním názvem kanabinoidy, které byly v minulosti intenzivně studovány především pro psychotropní účinky drogy v souvislosti s léčbou neurodegenerativních onemocnění. Důraz však tato práce klade na ostatní látky mimo THC, které se vyskytují v pryskyřičné živici rostlin čeledi konopovitých (*Cannabaceae*). Jedná se hlavně o CBD a ostatní metabolity.

KLÍČOVÁ SLOVA

kanabinoidy, CB1,2 receptory, agonista, antagonist, neurodegenerativní choroby

ANNOTATION

The presented thesis deals with the properties and synthesis of active substances with the trivial name cannabinoids, which have been intensively studied in the past mainly for the psychotropic effects of the drug in the context of the treatment of neurodegenerative diseases. However, the emphasis of this thesis is on substances other than THC that are found in the resinous bitumen of plants of the Cannabaceae family. These are mainly CBD and other metabolites..

KEYWORDS

Cannabinoids, CB1,2 receptors, agonist, antagonist, neurodegenerative disease

OBSAH

Úvod.....	11
1 Historie a odrůdy Cannabis.....	13
2 Obecná charakteristika kanabinoidů.....	17
2.1 Receptory CB1, CB2	20
2.2 Rozdělení kanabinoidů	21
2.2.1 Charakteristika fyto-kanabinoidů.....	22
2.2.2 Charakteristika endo-kanabinoidů	26
2.2.3 Charakteristika syntetických kanabinoidů	27
3 Terapeutické účinky kanabinoidů.....	29
3.1 Funkce kanabinoidů v lidském organismu	31
3.1.1 Poruchy – smrt CNS buněk	33
3.1.2 Neurozánět a hematoencefalická bariéra s inhibicí 2-AG metabolismu.....	34
3.1.3 Traumatická poškození mozku (TPM)	35
3.1.4 Nádorová onemocnění	40
3.1.5 Alzheimerova choroba (AD)	49
3.1.6 Deprese a CBD	52
3.1.7 Schizofrenie	52
3.2 Nežádoucí účinky kanabinoidů.....	53
3.3 Využití kanabinoidů v medicíně.....	54
3.3.1 Primární fyto-kanabinoidy	55
4 Metody analýzy fyto-kanabinoidů	57
4.1 Rozpustnost fyto-kanabinoidů	57
4.1.1 Ztráty oxidací.....	57
4.1.2 Dekarboxylace	58
4.1.3 Izomerizace.....	58

4.1.4	Všeobecná příprava vzorku fytoKANabinoidů:	58
4.2	Laboratorní analýza fytoKANabinoidů	59
4.3	Klinické analytické metody	59
4.4	Stanovení ve vlasech.....	60
4.5	Stanovení v krvi	61
4.6	Stanovení v moči	61
4.6.1	Zásady odběru.....	62
4.6.2	Podmínky transportu a uchování vzorků	62
5	Závěr	64
6	Použitá literatura	65

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1 Konopí indické (Širl, 2016).....	13
Obrázek 2 Účinky kanabinoidů na synapsích (vytvořeno dle Jensen, 2023)	18
Obrázek 3 Mechanismus účinku endokanabinoidů v synaptické štěrbině (upraveno autorem dle Kim a Fishman, 2017)	19
Obrázek 4 Rozdělení reprezentativních ligandů CBR podle chemické struktury (Michalec, 2018).....	21
Obrázek 5 Fytokanabinoidy a jejich metabolity (Cannapedia, 2023)	25
Obrázek 6 Hlavní cesty syntézy 2-AG a metabolismu (Zhu a kol., 2021)	26
Obrázek 7 Přehled působnosti fytokanabinoidů (upraveno autorem, Izzo a kol., 2009).....	29
Obrázek 8 Přehled produkce a metabolismu AEA a 2-AG (Cairns a kol., 2016)	30

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Nejčastější popisy odrůd Cannabis sativa a indica (upraveno dle Tejkalová, 2015 a doplněno dle McPartland, 2017).....	14
Tabulka 2 Přehled funkčních aspektů nejvýznamnějších ligandů CBR a jejich selektivita (Michalec, 2018).....	22
Tabulka 3 Rozdělení neurotransmiterů (upraveno dle Habásko, 2015; Maďa a Fontana, 2014)	31

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

Δ9-THC	Δ9-tetrahydrokanabinol
Aβ	amyloid β protein
APP	amyloidní prekurzorový protein
2-AG	2-arachidonoylglycerol
AC	adenylylcykláza
AD	Alzheimerova choroba
AEA	arachidonyletanolamid - Anandamid
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CBR	kanabinoidní receptory
CB1	kanabinoidní receptor 1
CB2	kanabinoidní receptor 2
CBC	kanabichromen
CBD	kanabidiol
CBG	kanabigerol
CBN	kanabinol
COX-2	cyklooxygenáza
CNS	centrální nervová soustava
CYP	cytochrom P450, jaderný enzym
DAG	diacylglycerol
DAGL	diacylglycerol lipáza
ECS	endokanabinoidní systém
FAAH	amid hydroláza mastných kyselin
GPCR	receptor spřažený s G-proteinem (GPR55, GPR18)
HEB	hematoencefalitická bariéra
ICAM	intracelulární adhezivní molekula, glykoprotein
JZL 184	ireverzibilní inhibitor MAGL
JZL 195	ireverzibilní inhibitor FAAH
KA	arachidonová kyselina
MAGL	monoacylglycerol lipáza
MAPK	mitogenem aktivovaná protein kináza
NAPE	N-arachidonoyl fosfatidyletanolamin 9
NAPE-PLD	N-arachidonoyl fosfatidyletanolamin specifická fosfolipáza D
NAT	N-acyl-tranferáza
NMDA	receptor pro N-metyl-D-asparát
PAK	protein kináza A
PLC	fosfolipáza C
PPARs	receptory aktivované peroxizomovými proliferátory
PPARγ	jaderný receptor odpovídající za metabolismus sacharidů a tuků
PTX	toxin z bakterie rodu <i>Pertussis</i>
ROS	reaktivní forma kyslíku
TPM	traumatické poškození mozku
THCV	tetrahydrokanabivarin
TRPV1	tranzientní receptor vaniloidního typu 1, tzv. capsaicinový receptor

Úvod

Úvodem bych chtěla předložit problematiku léčebného konopí, jak pro jeho název, tak pro jeho účinky. Pro mnohé z nás může znít spojení slov *léčebné* a *konopí* protichůdně, protože konopí je ve společnosti tradičně spojováno se závislostí. Situaci kolem léčebného konopí nastíním na konkrétních příkladech v USA, kde historicky vznikala legislativa k používání konopí v léčbě nemocí.

Historicky legalizaci konopí v USA zabránil zákon The Marijuana Tax Act (1937). Tyto vládní intervence vedly v roce 1940 k odstranění konopí z US Pharmacopeia, což zamezilo výzkumu a využívání medicínského konopí. K obratu dochází v roce 1970, kdy vznikl zákon Controlles Substance Act, který legalizuje používání konopí v léčbě. V roce 2003 federální vláda USA udělila patent na používání kanabinoidů jako antioxidantů a neuroprotektiv. V roce 2017 bylo evidováno už 23 států se zákony o konopí pro medicínské účely (Furlow, 2017).

Na konopí můžeme nahlížet jako na možnou náhražku opiátů a ilegálních návykových látek pro jeho dobrou toleranci lidským organismem. Jen v USA byla u milionů lidí diagnostikována závislost na opioidech. Každý den zemře 80 Američanů na předávkování. Většina nových uživatelů heroinu začíná svou závislost s léky na předpis, opioidovými léky proti bolesti. To je důležité vědět, protože v USA se každodenně ještě stále předepisuje 200 milionů receptů na bolest. Mohlo by se zdát, že povzbuzovat lidi k tomu, aby kouřili marihuanu, je nesmysl. Ale postavíme-li problém tak, že vstupní bránou drogové závislosti, mohou být opioidy k tišení bolesti (zejména ty vypsané na recept), pak konopí nabízí bezpečnější management v léčbě lidské bolesti (Hurd, 2017).

Na druhou stranu se může stát, že to bude fungovat opačně. Konopí se stane vstupní bránou k závislostem. Nebo dokonce předstupněm k tvrdším drogám. A tím by se opioidová epidemie zhoršila. Takže: Funguje vůbec konopí? Je to skutečně účinný lék na bolest? Anebo je jen kriminalizováno a stigmatizováno? Nebo snad neposkytuje žádný zdravotní přínos a jeho obhájci se jen schovávají za kouřovou clonou falešného soucitu s nemocnými?

Existují názory, že marihuana nemá v současné době přijatelné, lékařsky využitelné výsledky v prevenci nebo v léčbě jakýchkoli chorob. A přesto lidé pro vlastní účely hojně konopí využívají pro jeho účinky. Například klinické studie dokazují stejný účinek konopí na úlevu od bolesti dávkami ekvivalentními dávkám kodeinu. Toto je jeden z mnoha příkladů účinné substituce opioidu konopím. Konopí by mohlo ponížít dávky opiátů, aniž by došlo k návratu bolesti. (Bachhuber a kol., 2014).

Oblast Nová Anglie, zatížená nadužíváním drog, při průzkumech zjistila, že užívání opioidů bylo sníženo od doby, kdy se začalo užívat lékařské konopí. Stejně tak se snížilo množství užívaných opiátů. Čtyřicet procent respondentů se závislostí uvedlo, že je schopno svou spotřebu opioidů významně snížit. Dále uvedli, že mohou dokonce snížit užívání cracku. To by znamenalo, že lze přejít od silnější drogy k méně silné droze díky lékařskému konopí. Celková závislost na drogách v těchto výzkumech klesla. Došlo k poklesu úmrtnosti z předávkování asi o 25 %. Z toho plyne, že zákony legalizující léčivé konopí mohou významně ovlivnit (snížit) spotřebu opioidů a návykových látek (Hurd, 2017).

Je-li to pravda, pak toto zjištění narušuje, nejen naše konvenční představy o důsledcích legalizace marihuany na veřejné zdraví, ale i pochybnosti o její lékařské užitečnosti. Posledním příkladem Po přijetí zákonů o legalizaci léčivé marihuany, klesla předepisovanost léků proti bolesti, léků proti úzkosti, léků proti nevolnosti, antipsychotik a antidepresiv, protizánětlivých léků a prášků na spaní. Pokud konopí lidem přináší tolik užitek, že mohou omezit léky na předpis, pak je tedy dobře s marihuanou pracovat, studovat ji a léčit s ní (Furlow, 2017).

Cílem práce je prezentovat terapeutický účinek konopí (kanabinooidů) a podpořit informovanost o výzkumech a vědeckých studiích léčebného konopí.

1 Historie a odrůdy Cannabis

Konopí (rod *Cannabis*) je unikátní rostlina pro tvorbu opioidů, kanabinoidů, jenž působí na psychiku specifickým způsobem, který přivádí konzumenty do stavu opojení.

Předkové rodu *Cannabis* pocházejí z Asie, pravděpodobně z mírných svahů himálajských hor a Altaje. Nevíme, kdy se konopí a člověk poprvé setkali. Lze však předpokládat, že to bylo v neolitu, mladší době kamenné. Tlupy neolitického člověka si v souvislosti se svými zemědělskými aktivitami začaly budovat trvalejší sídla a je pravděpodobné, že přišli s konopím do styku, když tato rostlina zaplevelovala úrodnější plochy tábořišť, okolí stezek, polí či rumišť.



Obrázek 1 Konopí indické (Širl, 2016)

Objevování konopí člověkem můžeme shrnout do čtyř etap. „Divoce pobíhající člověk“ a divoce rostoucí konopí; člověk trvale osídlující a plenící konopí zatím coby plevele z divočiny na lidských sídlištích; čas sblížení obyvatel se stále ještě plevelným konopím a čas zušlechťování konopí člověkem (poznámka autora). Po poznané zkušenosti při pletí, že konopí má houževnatá pletiva stonků, odolávající plísním a houbám, se začalo konopí používat ke tkaní a snování. Další poznaná zkušenost byla při pálení konopí, kdy pouhým vdechováním poznali lidé opojnost marihuany (Puškárová, 2019).

Nejstarší údaje o používání konopí, pocházejí z doby před sedmi tisíci lety ve staré Babylonii. Šaty, které lidé nosili, sítě, jimiž lovíli ryby i zvěř, lana, kterých používali u nejranějších strojů, vše bylo vyrobeno z dlouhých, pevných a životných vláken konopí. Cenné vlákno se ze stonku konopí uvolňovalo poměrně jednoduchými, postupně se vyvíjejícími technologiemi, při nichž se stvol za máčení rozložil (Puškárová, 2019).

V Indii se árijské náboženství předávalo ústní tradicí, do čtyř véd, kompilovaných mezi roky 1400 a 1000 př. n. l. V této tradici bylo konopí posvátné. „Dar bohů“ snižoval horečku, posiloval spánek, léčil úplavici, dále mimo jiné povzbuzoval chuť k jídlu, prodlužoval život, zbystřoval myšlení a úsudek (Miovský, 2008).

Medicínské užívání konopí je dokumentováno už ve starém Řecku a Číně. Nejčastěji užívané odrůdy byly konopí seté a konopí indické. Každá odrůda má jiné složení a relativní koncentraci aktivních sloučenin, včetně dvou nejčastějších fytoKANABINOIDŮ THC (Δ^9 -tetrahydroKANABINOL) a CBD (KANABIDIOL), jak je uvedeno v tabulce 1. (Kim a Fishman, 2017).

Tabulka 1 Nejčastější popisy odrůd *Cannabis sativa* a *indica* (upraveno dle Tejkalová, 2015 a doplněno dle McPartland, 2017).

	<i>sativa</i> (S)	<i>indica</i> (I)
habitus	vyšší, štíhlá, prostorné větvení	nižší než S, robustní
stonek	vláknitý	Dřevnatý
listy	dlouhé, štíhlé, světlejší	široké, tmavěji zelené než S
samičí květenství	prostorově větší, s menší hustotou než I	kompaktní, přisedlé, husté
vegetační doba do kvetení	60-90 dní	45-60 dní
vůně	lehčí než I	těžká, intenzivní
kanabinoidy	vyšší obsah THC než CBD	THC a CBD 1:1 vyšší obsah CBD než v S
účinky	stimulační, energetizující	uklidňující, sedativní
domnělý původ	jihovýchodní Asie, střední a jižní Amerika	Střední východ – území dnešního Afghánistánu, Pakistánu, Tibetu
využití	jako “technické konopí” - hospodářství, zemědělství, technické využití	jako “léčebné konopí” - medicínské využití

Odrůdy *Cannabis*

Taxonomicky se zatím otázku konopí nepodařilo vyřešit. Je to vysoce variabilní rod. A není jednotné, zda je monotypický nebo se dělí na 4 specifické odrůdy (*Cannabis sativa*, *Cannabis indica*, *Cannabis ruderalis*, *Cannabis afghanica*). Nejvyužívanější jsou *Indica* a *Sativa*, *Ruderalis* je využíván hlavně ke šlechtění samonakvétacích odrůd. Tyto tři odrůdy jsou charakterizovány níže.

Cannabis Sativa

Konopí seté je typické svou výškou, která se může blížit až k 5 metrům. Vzhledově je rostlina štíhlá a málo hustá. Listy jsou spíše užší a delší. Květy se objevují neuspořádaně. Obsah kanabinoidů je různorodý a odvíjí se od dané genetiky. Nicméně platí, že odrůda *Sativa* produkuje méně CBN (KANABINOL) či CBD, a naopak více THC (McPartland, 2017).

Cannabis Indica

Konopí indické je charakteristické podsaditějším vzhledem a výškou maximálně 2 metry. Větvení je husté s velkým množstvím listů a bohatým květenstvím. Rostliny mají pevný, široký a silný stonek. Odrůdy se základem *Indica* mívají vyšší obsah kanabinoidů CBD, CBN i CBG (kanabigerol) (McPartland, 2017).

Cannabis Ruderalis

Konopí rumištní je menší odrůda konopí, které obsahuje také výrazně menší množství účinných látek. Využívá se zejména ke šlechtění kvůli svým vlastnostem – kupříkladu odolnost a houževnatost. Najdeme ho v genetikách autoflowering odrůd konopí.

Pro farmakologické účely se vžil pojem lékařské konopí, který směřuje k pojmenování nejvhodnějších odrůd zejména *ssp. Cannabis sativa.* a *ssp. Cannabis indica* pro terapeutické účinky (Kis a kol., 2019).

V posledních dvou stoletích bylo konopí používáno a doporučováno různými lékaři s vysokými hodnoceními úspěšnosti na revmatismus, vzteklinu, cholera, tetanus, křeče a deliria. Dr. William Osler představil benefity konopí pro různé okolnosti včetně migrén a menstruačních křečí (Kim a Fishman, 2017).

Výzkumy týkající se kanabinoidů a medicínského konopí, následují podobnou cestu jako jiné výzkumy rostlinné léčby. *Mák setý (Papaver Somniferum)* vedl k rozvoji standardního analgetika – morfinu. Morfinový alkaloid vedl k rozvoji mnoha syntetických derivátů a objevení endogenních endorfinových systémů (Jandová, 2011). Podobně jako morfin, byl v roce 1964 stanoven a identifikován Δ^9 -tetrahydrokanabinol (THC) doktorem Raphaellem Mechoulamem z hašiše (Hanuš a kol., 2016). Hašiš je zelenohnědá konopná pryskyřice (Národní zdravotnický informační portál, 2023). Slovo "Hashish" pochází z arabštiny a v hrubém překladu znamená tráva. Podle dostupných informací se dá předpokládat, že hašiš se stal populární kolem roku 900 před naším letopočtem (Pacientský spolek pro léčbu konopím, 2019).

Marihuana byla používána jak ve zdravotnictví, tak i rekreačně od dávných časů a zájem o její směs pro úlevu od bolesti v posledních letech stoupl. Identifikací našeho vlastního, vnitřního, endokanabinoidního systému byl položen základ pro bližší výzkum.

V Kongu je prý dosud dodržován starobylý obřad Riamba. Podle něj je marihuana božstvo, jež chrání před fyzickou i duševní újmou. Leckde v Africe je zvykem pečtit smlouvy a obchodní dojednání bafem z dlouhé dýmky (Magazín Konopí, 2023).

O dobovém zpracování konopí na semeno na našem území se dozvídáme z encyklopedií. Tehdy používané technologické postupy vedly k tomu, že lidé spolu s konopným semenem běžně konzumovali i konopnou pryskyřici, a tedy fytoKANABINOIDY.

Na území dnešní ČR byly po staletí fytoKANABINOIDY konzumovány v podobě tradičních extraktů z konopí jako běžná potravina, a tudíž je nelze považovat za tzv. novou potravinu (Tejkalová, 2015).

V současnosti v ČR proběhl v tomto roce první sněm zástupců hlavních českých konopných organizací a tradičních konopářů, kam byli pozváni i zástupci Ministerstva zemědělství kvůli chystanému zákazu CBD a dalších KANABINOIDŮ v potravinách. Je nezbytné zavést dočasný rámec s registrací subjektů a vymezením parametrů produktů pro zajištění ochrany spotřebitele. Ze strany Ministerstva zemědělství bylo přislíbeno, „že se pokusí navrhnout řešení, které nepovede k likvidaci českého konopného průmyslu a přechodu stovek tisíc uživatelů CBD produktů z oblasti potravin na trh se „suvenýry“ či dokonce na černý trh“ (Asociace bezpečného konopí, 2023).

Pro zajímavost: Nejbližším příbuzným konopí je *Humulus lupulus* – *Chmel otáčivý*, čeleď konopovité. (Tejkalová, 2015).

2 Obecná charakteristika kanabinoidů

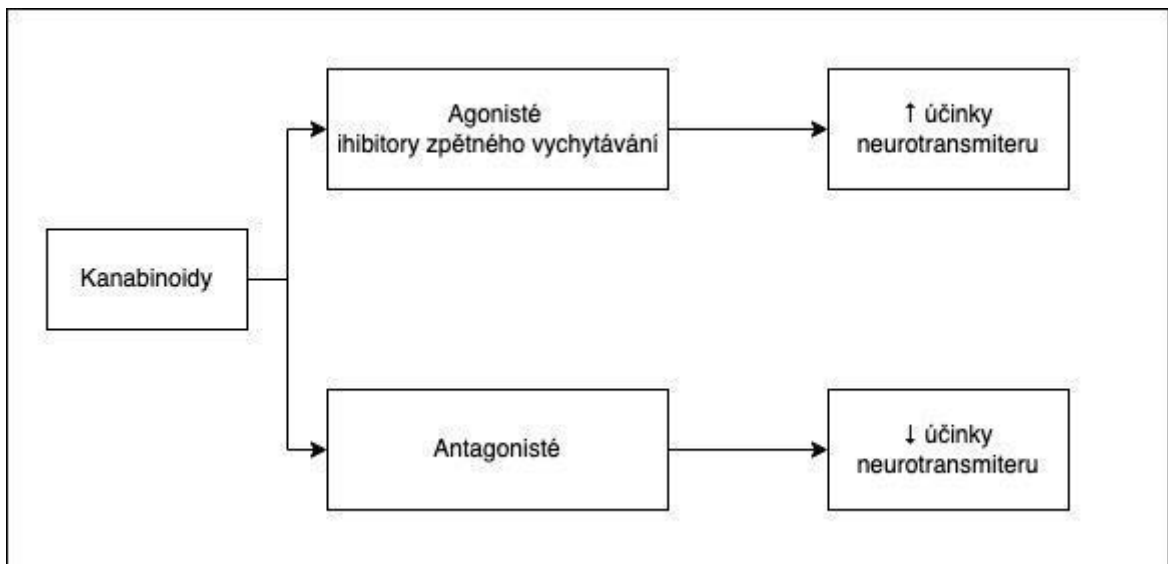
Původně byl „kanabinoid“ společným názvem popisující skupinu přírodně se vyskytujících aromatických hydrokarbonových kyselin v rostlinách rodu *Cannabis sativa*.

Endokanabinoid všeobecně více poukazuje na širokou škálu chemikálií různé struktury, které mají farmakologickou činnost, nebo strukturu podobající se rostlinným kanabinoidům. Dnes se rozdělují na fytoKANABINOIDY, endokanabinoidy a syntetické kanabinoidy.

Mezi produkty a metabolity konopí patří kanabinoidy, terpeny, flavonoidy, stilbenoidy, alkaloidy, lignany a další z hlavních i vedlejších metabolických produktů. Kanabinoidy a terpeny jsou hlavními složkami esenciálních konopných těkavých olejů, které využíváme pro léčivé účinky. Tyto látky jsou v rostlině zastoupeny především v neutrální formě karboxylových kyselin s 22 uhlíky, které užívá rostlina jako insekticid, jejichž aktivní formy s 21 uhlíky vznikají působením tepla nebo ozáření (Elsohly a Gul, 2014.) Na rozdíl od psychoaktivních látek, které produkují jiné rostliny, kanabinoidy nepatří do skupiny alkaloidů, a v tomto směru je rostlina rodu *Cannabis* ojedinelá (Fišar, 2006).

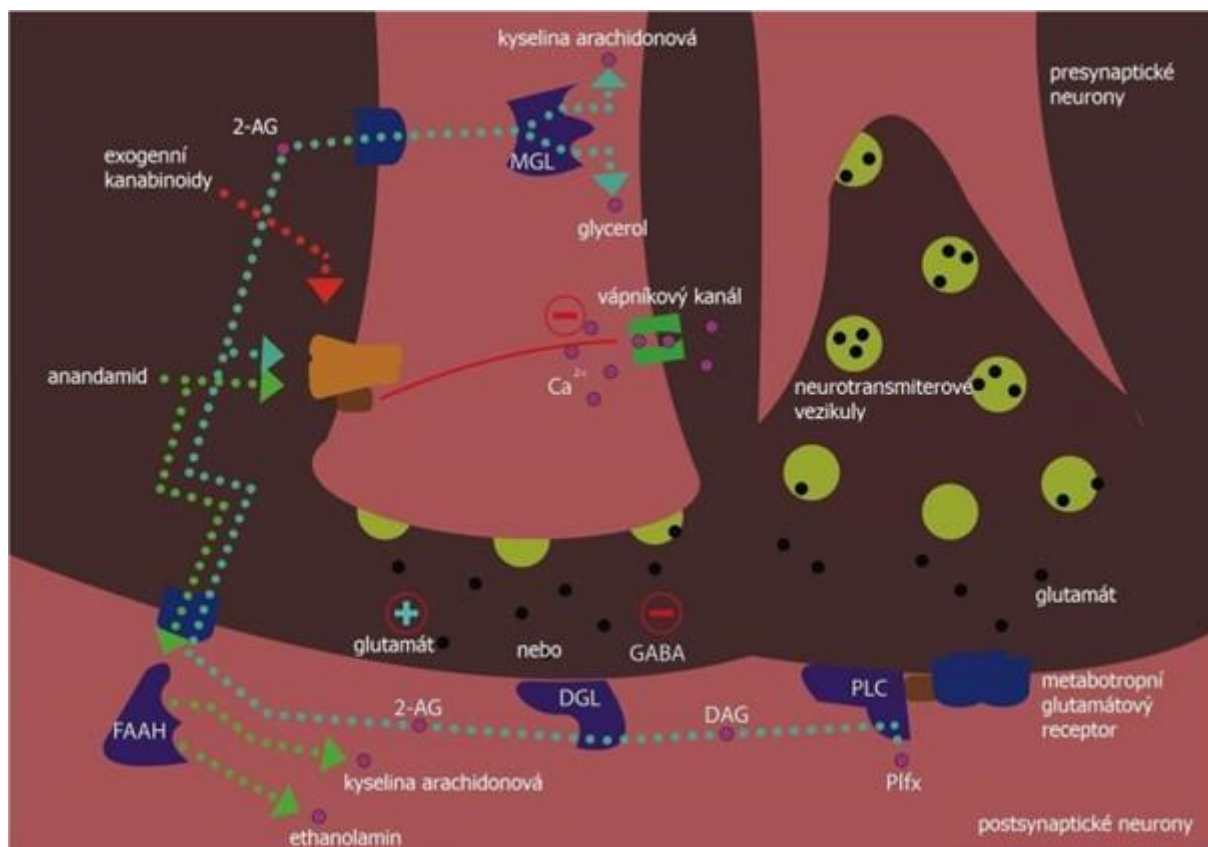
Kanabinoidy jsou terpeno-fenolické sloučeniny s psychotropním, myorelaxačním, analgetickým, fungicidním a baktericidním, antiemetickým a orexigenním účinkem, nacházející stále více uplatnění v onkologickém lékařství a určitě paliativky v neurologii při léčení degenerativních chorob periferní i centrální nervové soustavy. Dále v kožní medicíně pro antiseptický dermatický účinek (Fišar, 2006).

V 90. letech byl dokázán soubor specifických endokanabinoidních receptorů na lidské buněčné membráně, které spouští agonistickou či antagonistickou reakci vůči účinkům příslušného neurotransmiteru, jak dokládá obrázek 2 a blíže vysvětluje obrázek 3. (Hradec, 2005).



Obrázek 2 Účinky kanabinoidů na synapsích (vytvoreno dle Jensen, 2023)

ECS má velký význam v lidském organismu na vedení nervového vzruchu, neboť umožňuje nervové soustavě vést signál pouze ke specifickým oblastem. Impulsy tak mohou být velmi účinné a specializované. Synapse, jako místo kontaktu neuronů pro přenos vzruchů v organismu, jsou z převážné části lipofilní molekuly, deriváty hlavně kyseliny arachidonové, které ovlivňují neurotransmitery, chemické působky, jež jsou syntetizovány v presynaptickém vrcholu axonu a synaptické štěrbině a vyvolávají změny v postsynaptické membráně neuronů specificky závislé na druhu receptoru. V našem nervovém systému jsou receptory CB1,2. (kanabinoidní receptory, CBR) a další. (Miovský, 2008).



Obrázek 3 Mechanismus účinku endokanabinoidů v synaptické štěrbině (upraveno autorem dle Kim a Fishman, 2017)

CBR při aktivaci endokanabinoidy 2-AG (2-arachidonoylglycerol) či AEA (anandamid), jež jsou i retrográdními synaptickými posly spíše blokující (eventuelně uvolňujícími) neurotransmitery (např. GABA, glycin). Dorazí-li na presynaptickou membránu signál, dojde k její depolarizaci a uvolnění vápenatých iontů, což má za následek uvolnění neurotransmiteru do synaptické štěrbině. Uvolňující se neurotransmiter zvyšuje koncentraci vápenatých iontů v postsynaptickém neuronu a indukuje biosyntézu a uvolnění 2 AG nebo AEA ze synapse. 2 AG se syntetizuje z membránových fosfolipidů přes diacylglycerol (DAG) za pomoci aktivovaných lipáz fosfolipázy C a diacylglycerol lipázy (PCL, DAGL). Endokanabinoidy zpětně působí na presynaptický neuron, kde snižují množství neurotransmiteru, který přenos vyvolal. 2-AG se na presynaptické membráně metabolizuje monoacylglycerol lipázou (MAGL) na kyselinu arachidonovou (KA) a glycerol. AEA se hydrolyzuje enzymem amidhydrolázy mastné kyseliny (FAAH) na KA a ethanolamin v postsynaptickém neuronu.

Aktivací CB1 endokanabinoidy se potlačuje uvolnění i dalších neurotransmiterů (glutamátu, acetylcholinu, serotoninu a noradrenalinu) (Wilson a Nicoll, 2001)

Mechanismus tvorby 2-AG v postsynaptické štěrbině v důsledku uvolněných neurotransmiterů (glutamát či GABA), účinky endokanabinoidů (2-AG a anandamidu) v presynaptickém neuronu vedoucí ke snížení uvolňování neurotransmiterů a metabolické cesty přeměny obou endokanabinoidů. Oranžově na presynaptickém neuronu je znázorněn kanabinoidní receptor, Plfx (membránové fosfolipidy), DGL (diacylglycerol lipáza), MGL (monoacylglycerol lipáza) (upraveno dle Kim a Fishman, 2017)

2.1 Receptory CB1, CB2

Dva podtypy kanabinoidních receptorů CB1 a CB2 jsou rodopsinového typu. CBR se liší sekvencí aminokyselin (shoda je 48 %) a také distribucí v organismu (Morales a Reggio, 2017).

Denzita CB1 receptorů je největší na centrálních i periferních neuronech. Receptory CB1 jsou vysoce exprimovány na neuronech v centrálním nervovém systému (CNS) v oblastech, jako je mozková kůra, hippocampus s vlivem na učení a krátkodobou paměť. Dále se vyskytuje v caudate-putamen, bazálních gangliích a mozečku, ovlivňuje motorické funkce a pohyb. CB1 receptor je prostřednictvím G-proteinů spjat také s několika typy vápníkových a draslíkových kanálů. CB1 receptory byly prokázány také na periferních aferentních sensorických nervových vláknech, kde mohou mít význam pro kontrolu zejména zánětu a bolesti.

Naproti tomu CB2 receptory jsou převážně exprimovány na imunitních buňkách, mikroglíích v CNS a makrofázích, monocytech, CD4 + a CD8 + T buňkách a B buňkách na periferiích. Tedy CB2 receptory se nacházejí především na imunokompetentních buňkách (Cabral a Griffin-Thomas, 2009).

Oba receptory aktivují G proteiny, které inhibují AC (adenylylcykláza) a stimulují mitogenem aktivované MAPK (mitogenem aktivované proteinkinázy), což způsobuje inhibici cAMP (cyklický adenosinmonofosfát) a zároveň snížení emise neurotransmiterů (Schurman a Lichtman, 2017). Hlavní význam kanabinoidních receptorů je v modulaci synaptické plasticity. (Svízenská a kol., 2008).

ECS a non CB1 a CB2 receptory

Důležitým krokem v porozumění role endokanabinoidního systému v patologii, je nejen úplná charakteristika ligandů a kanabinoidních receptorů a endokanabinoidů, regulujících další enzymy, ale taky změny v kanabinoidních receptorech a změny hladin endokanabinoidů a jejich metabolických dráh.

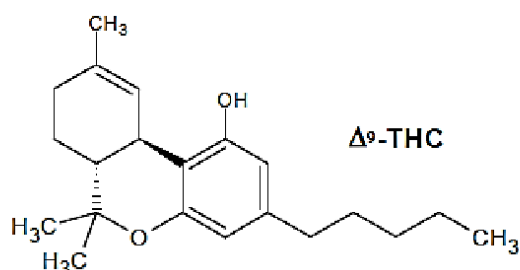
Do budoucna jsou další oblasti terapeutického zájmu non-CB1 a non-CB2 receptory. Patří k nim receptory např. GPR18, GPR55, TRPV1 (tranzistentní receptor vaniloidního typu 1), které vykazují nízkou sekvenční identitu s CB1 a CB2. Pouze okolo 13 % či 14 % (GPR55, vysoce exprimován v mozku). Některé fyto-, endo-, a syntetické kanabinoidní ligandy na těchto receptorech vykazovaly měřitelné aktivity, stejně jako u opioidních a adenosinových, serotoninových a dopaminových receptorů. Fyziologický význam non-CBR je dále zkoumán při modulaci ECS a jejich potenciálního přínosu k ochranným účinkům na organismus.

Dále jsou zkoumány alternativní (specifická i nespecifická) aktivace CB1/CB2 receptorů, jinými deriváty mastných kyselin nebo antagonismem, ale i agonismem/úvod různých ligandů, anebo alosterickou modulací. Tyto další alternativní cesty by mohly mít vliv na funkční selektivitu receptorů (Morales a Reggio, 2017; Schurman a Lichtman, 2017).

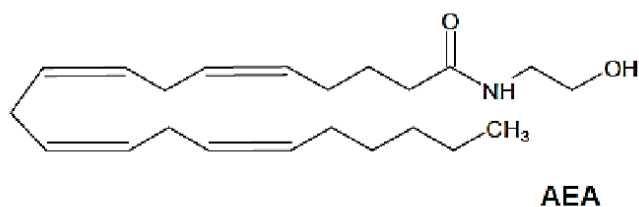
2.2 Rozdělení kanabinoidů

- rostlinné kanabinoidy (fyto-kanabinoidy)
- endogenní kanabinoidy (endokanabinoidy)
- syntetické kanabinoidy

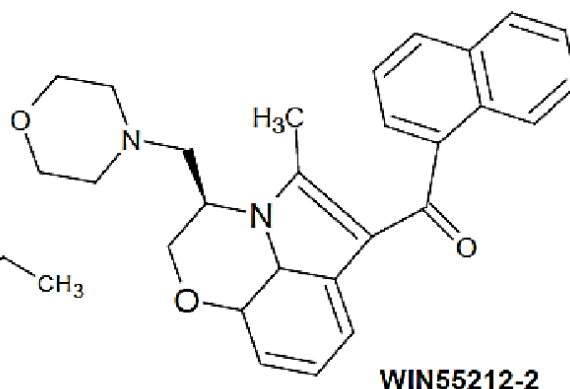
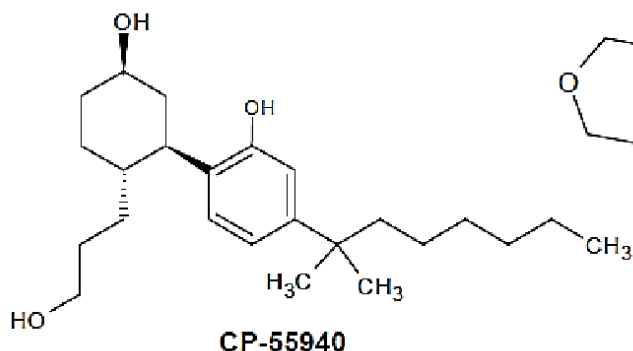
1) Fyto-kanabinoidy



2) Eikosanoidy (endokanabinoidy)



3) Syntetické kanabinoidy



Obrázek 4 Rozdělení reprezentativních ligandů CBR podle chemické struktury (Michalec, 2018)

Někteří autoři rozlišují pravé kanabinoidy se strukturou odvozenou od endogenní KA nebo od fytoKANABINOIDŮ. A dále syntetické kanabinoidy, což jsou sloučeniny různých struktur s přímými nebo nepřímými kanabimimetickými účinky, viz tabulka č.2.

Někteří autoři navíc považují za kanabinoidy i endogenní molekuly s podobnou strukturou, ale bez schopnosti vázat se na CB receptory. Tyto endokanabinoidům podobné sloučeniny mohou interferovat s aktivitou skutečných endokanabinoidů, protože jsou v několika případech syntetizovány a biotransformovány prostřednictvím stejných cest (Zendulka a kol., 2016).

Tabulka 2 Přehled funkčních aspektů nejvýznamnějších ligandů CBR a jejich selektivita (Michalec, 2018)

<i>Ligand</i>	CB1	CB2	Selektivita
<i>AEA</i>	parciální agonista	parciální agonista/antagonista	CB1 >> CB2
<i>2-AG</i>	plný agonista	plný agonista	CB1 ~ CB2
<i>Δ⁹-THC</i>	parciální agonista	parciální agonista	CB1 ~ CB2
<i>CBD</i>	antagonista	antagonista/inverzní agonista	CB1 ~ CB2
<i>CP-55940</i>	plný agonista	plný agonista	CB1 ~ CB2
<i>WIN55212-2</i>	plný agonista	plný agonista	CB1 ~ CB2
<i>SR141716A</i>	inverzní agonista	-	CB1 >> CB2

2.2.1 Charakteristika fytoKANABINOIDŮ

V konopí bylo rozpoznáno přes 60 odlišných fytoKANABINOIDŮ. Hlavním, kanabinoidem je THC a CBD. Další kanabinoidy s potenciální léčebnou hodnotou zahrnují CBG, CBN (kanabinol), CBC (kanabichromen) a THCv (tetrahydrokanabivarin).

THC

Sumární vzorec: C₂₁H₃₀O₂

Racionální název:

(6aR,10aR) -6,6,9- trimethyl-3- pentyl-6a,7,8,10a-tetrahydro-6H-benzo[c]chromen-1-ol

Systematický název: Delta-9- trans-tetrahydrokanabinol

Kvalitní a dobře připravená droga může obsahovat až 12 % THC v sušině.

Hlavní účinná a halucinogenní látka konopí. THC je jediný fytoKANABINOID, který vykazuje úplnou aktivitu ve všech 4 experimentech tzv. „myši tetrády“ s nejsilnějšími centrálními

účinky. Mohou indukovat kate katalepsii. To je nepohyblivost a svalová rigidita. Snížení rektální teploty, snížení vnímání bolesti (Pertwee, 1988).

CBD

Sumární vzorec: $C_{21}H_{30}O_2$

Racionální název:

2-[(1R,6R) -6-isopropenyl-3-methylcyklohex-2-en-1-yl] -5-pentylbenzen-1,3-diol)

Systematický název: Kanabidiol

CBD je druhým nejdůležitějším z metabolitů konopí. Výzkum CBD a jeho léčebného potenciálu byl v minulosti neprávem opomíjen na rozdíl od THC. V posledních letech ale vychází najevo, že má velmi zajímavé farmakologické účinky. Chemicky jsou látky CBD a THC blízce příbuzné, CBD ale není pryskyřičná tekutina, nýbrž pevná látka. CBD není psychoaktivní, působí na lidské kanabinoidní receptory a funguje jako inhibitor řady účinků THC (Milfortová, 2010).

CBD se taktéž vyskytuje téměř ve všech odrůdách, opět od téměř nulových hodnot po zhruba 95 % přítomných kanabinoidů.

Nemá psychoaktivní účinky, ale projevuje sedativní, analgetické a také antibiotické vlastnosti. CBD obsazuje kompetitivně CBR vůči THC, a tím působí tlumivě oproti povzbudivým účinkům THC. CBD tedy i posouvá počátek působení THC (Dupal, 2010).

Poměrově vysoký obsah THC ku nízkému obsahu CBD, vyvolává stav opojení. Naopak vyšší obsah CBD k nižšímu obsahu THC působí útlum, pocit slabosti a otupělost tělesnou i duševní (Dupal, 2010).

CBD je bioprekurzorem tetrahydrokanabinolu, tzn., že při biosyntéze v buňkách rostlin je CBD mezistupněm při tvorbě THC. Tuto reakci lze ovlivnit prostředím při pěstování nebo umělým zásahem při zpracování sklizně marihuany a získat rostlinný materiál s vysokým obsahem THC na úkor mezistupně CBD. V marihuanových produktech lze uměle vyvolat reakci, tzv. izomerizaci, při níž se CBD transformuje na delta-9-THC, resp. delta-8-THC (Hanuš a kol., 2016).

U CBD se vyskytla aktivita i u jiných iontových kanálů (GPR55, vyskytující se hlavně v CNS, v tenkém, střevě a kostech.), receptorů (5-HT_{1A}) vyskytuje se v CNS a pomáhá potlačit závislosti, opioidní μ a δ receptory, vyskytující se v CNS. s relaxačním a sedativním účinkem). Preklinické studie podpořily jeho protizánětlivou, analgetickou, antiemetickou,

antipsychotickou, antiischemickou, anxiolytickou a antiepileptiformní aktivitu (Milfortová, 2010).

CBG je produktem oxidace CBGA, působením tepla a UV záření, a má inhibiční schopnost pro zpětné vychytávání GABA a modulaci A2 fosfolipázy.

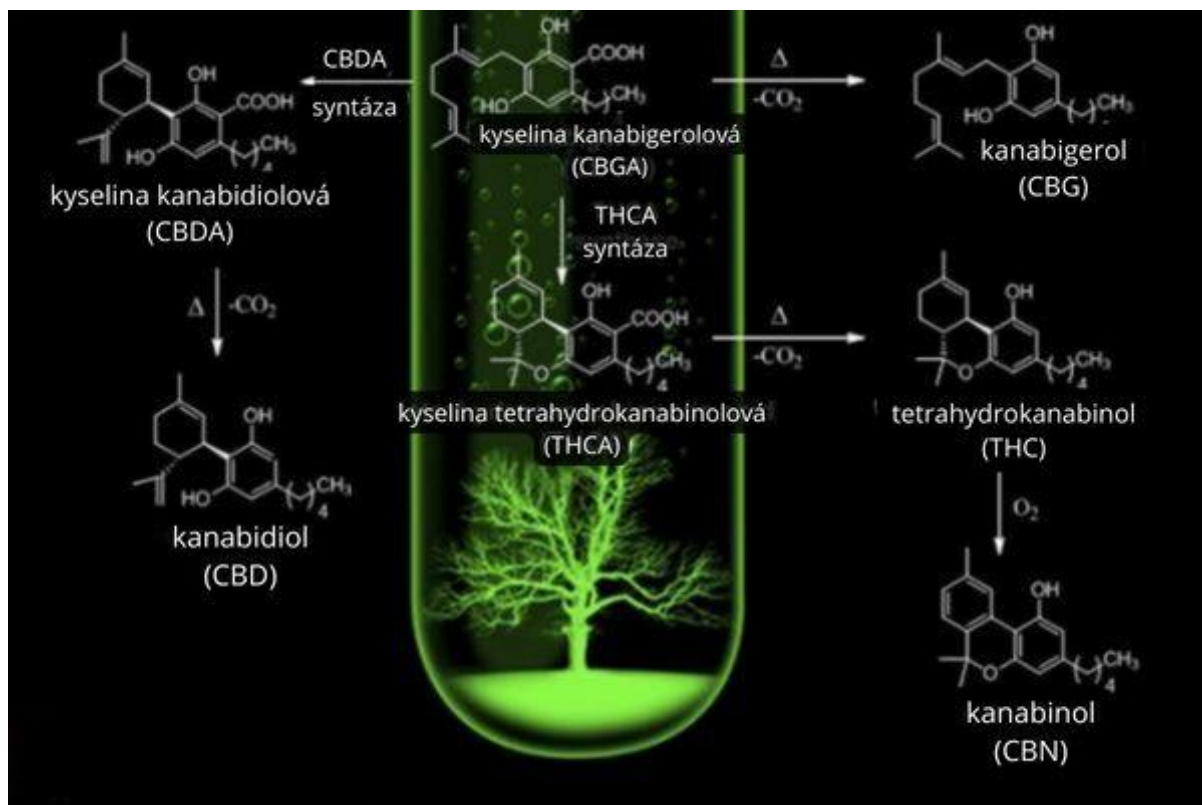
THCV působí jako antagonist CB1 receptoru a jako částečný agonista CB2 receptoru, preklinické studie poukazují na jeho antiepileptiformní a antikonvulzivní vlastnosti (léčba neuropatické bolesti, migrény, bipolární poruchy) (Pertwee, 2008).

V živých rostlinách konopí existují 104 terpeno-fenolických sloučenin s asi 545 identifikovanými sekundárními metabolity (terpenoidy, flavonoidy, stilbenoidy, steroidy, lignany a alkaloidy). Fytokanabinoidy jako inaktivní neutrální formy monokarboxylových kyselin s 22 uhlíky, (sloužící rostlinám jako insekticid), a současně jako aktivní dekarboxylované formy s 21 uhlíky, zahřátím nad 120 °C. Což podporuje dekarboxylaci a izomerizaci a výslednou biologickou aktivaci. Vznikají působením tepla nebo ozářením. Psychotropní Δ^9 -THC vzniká dekarboxylací z kyseliny tetrahydrokanabinolové, která postrádá centrální aktivitu a je nestálá na světle (Elsohly a Gul, 2014).

Jiné složky v konopí s potenciálními léčebnými výhodami jsou: terpeny, nekanabinoidní fenoly, flavonoidy a vitamíny. Další odlišnosti chemických složek jsou zaznamenány u různých odrůd konopí a extrakčních technik. Terpeny a flavonoidy zatím nejsou dobře charakterizovány, ale věří se, že by mohly mít potenciálně široké využití pro jejich protizánětlivé, antibakteriální, antioxidační a antineoplastické působení. Příkladem je myrcen, terpenoid s protizánětlivou aktivitou skrz PGE-2 (prostaglandin, derivát KA) a opioid s analgetickými účinky a je dokázáno, že spolu jsou terpeny a kanabinoidy účinnější. Naloxon (je lék používaný k zastavení účinků opioidů a to zejména při předávkování. Naloxon může být spojen s druhým opioidem, aby se snížilo riziko zneužití samotného opioidu (Hakl, 2017).

Vědecká a farmaceutická identifikace jednotlivých složek konopí, oproti jedné sloučenině, jako je THC, by měla nabídnout úplný polyterapeutický efekt konopí. Mnoho složek může pracovat různými mechanismy pro zlepšení léčebné aktivity buď aditivním nebo synergickým způsobem a jejich převládající, aktivní přísady by pak mohly zmírnit vedlejší účinky. Příkladem je souběžné podávání CBD a THC, které může způsobit útlum nebo potencovat některé z účinků THC skrz farmakodynamické mechanismy. Poměr CBD a THC nejméně 8:1 tlumí účinky THC, zatímco poměr 2:1 je navozuje. Potence THC může být způsobena inhibicí metabolismu THC v játrech (Kim a Fishman, 2017).

THC a i CBD a ostatní metabolity jsou neenzymaticky získány dekarboxylací karboxylové kyseliny CBDA a THCA. Avšak jejich prekurzorem je CBGA, která vzniká oxidativní katalýzou enzymem syntázou. (Fišar, 2006). Viz schéma níž.



Obrázek 5 Fytokanabinoidy a jejich metabolity (Cannapedia, 2023)

Chemotypy marihuany:

Dle technického hlediska můžeme dělit konopí na „chemotyp vlákno“ s obsahem THC < 0,3 % a CBD > 0,5 %. Dál na „chemotyp střední droga“, obsah THC > 0,3 % a CBD > 0,5 %. A „chemotyp droga“, kde je obsah THC > 0,3 % a CBD < 0,5 % (Petrů, 2008).

1. typ-vysoké THC x nízké CBN. Obvykle pochází tropických oblastí od 30 rovnoběžky směrem k rovníku. Nejžádanější kultivary, co se týče psychotropních účinků.
2. typ-vysoké CBD x střední až vysoké THC. Většinou Maroko, Afghánistán, Pákistán.
3. typ-vysoké CBD x nízké THC. Kultivary pěstované na vlákno a semeno. Používá se na přípravu koncentrátů-haše, oleje připravených izomerací nebo acetylací. Nad 30 rovnoběžkou.
4. typ-střední až vysoké THC i CBD + THCV přes 5 % (propylderiváty kanabinoidů). Původně z Jižní Afriky, Nigérie, Afghánistánu, Nepálu, Indie. Kultivary vhodné pro medicínální použití
5. typ-psychoaktivní kanabinoidy do 0,3 % v sušině, tzv. legální lékařské nebo technické konopí (Dupal, 2010).

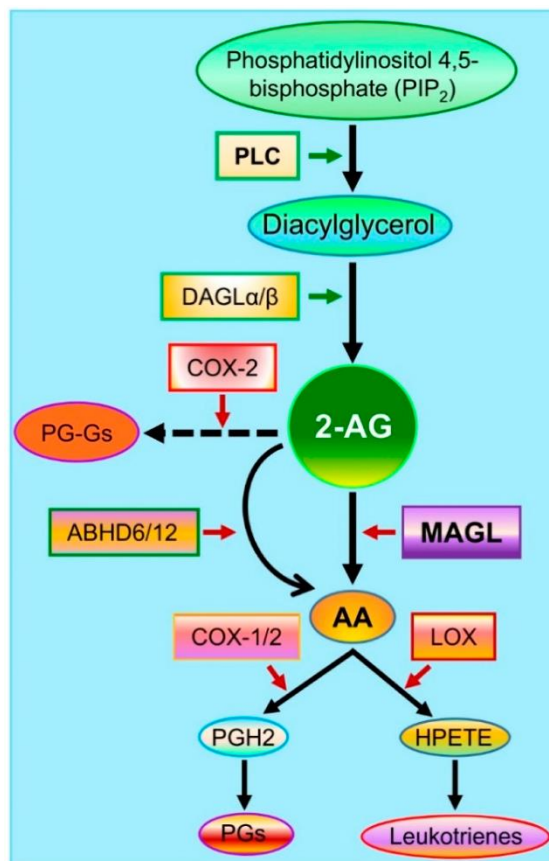
2.2.2 Charakteristika endokannabinoidů

Unikátní vlastností systému lidského těla a kanabinoidů, je jeho funkční selektivita produkována jeho endogenními ligandy anandamidem (AEA) a 2-AG.

Po objevení AEA a 2-AG byly identifikovány další molekuly lipidové povahy, především amidy kyseliny arachidonové, jejich deriváty (etanol amidy, glycerol estery a další) a metabolity, z nichž nejvýznamnější jsou: noladin éter, virodhamin, N-arachidonoyldopamin.

AEA se hydrolyzuje enzymem amidhydrolázy mastné kyseliny (FAAH) na kyselinu arachidonovou a ethanolamin.

2-AG, je metabolizován monoacylglycerol-lipázou (MAGL) na kyselinu arachidonovou a glycerol (Fišar, 2006).



Obrázek 6 Hlavní cesty syntézy 2-AG a metabolismu (Zhu a kol., 2021)

Hlavní cesty syntézy 2-AG a metabolismu, AA (kyselina arachidonová), LOX (lipoxygenáza), COX-1/2 (cyklooxygenáza-1/2), DAGLα/b - diacylglycerol lipáza a/b, HPETE (5-hydroperoxyeicosatetraenová kyselina), PGH2 (prostaglandin H2), PGs (prostaglandiny), ABHD6/12 (Zhu a et al, 2021)

MAGL je pravděpodobně ideálním terapeutickým cílem pro léčbu neurodegenerativních onemocnění. Inaktivace 2-AG primárně skrz MAGL na presynaptických koncích axonů je nejčastější v oblastech jako thalamus, hippocampus, kortex a mozeček.

Inaktivace anandamidu se vyskytuje především skrz FAAH, je lokalizována v intracelulárních membránách postsynaptických těl dendritů v oblastech jako neokortex, mozečkový kortex a hippocampus (Zhu a kol., 2021).

Dostupnost farmakologických inhibitorů pro endokanabinoidní katabolické enzymy dovoluje selektivní rozšíření hladin anandamidu a 2-AG po úrazech mozku, což je klíčová strategie ke zlepšení endokanabinoidní signalizace a zkoumání neuroprotektivních efektů (Schurman a Lichtman, 2017).

AEA je parciálním agonistou CBR s vyšší afinitou a aktivitou u CB1.

2-AG vykazuje vyšší aktivitu a vazebnou afinitu než AEA u obou CBR a je považován za plného agonistu.

Stimulace CB1 na presynaptické membráně vede obvykle k inhibici uvolnění neurotransmiteru. Ale endokanabinoidy jsou indukovány na postsynaptické membráně, jejich působení je tedy zpětné, a proto jsou nazývány retrográdními synaptickými posly (Šulcová, 2003).

Endokanabinoidy při vazbě na CB1 receptory vyvolávají analgetické působení vhodné u farmakorezistentních bolestí, a to zejména neuropatických (při poškození nervů u nemocí nebo zranění míchy) a fantomových.

Výzkumy ukazují, že endokanabinoidy uvolňují endogenní opioidy a společně navyšují analgezii. Kanabinoidy a opioidy využívají stejný analgetický okruh v mozku, ale mají jiný farmakologický mechanismus účinku (Šulcová, 2003).

2.2.3 Charakteristika syntetických kanabinoidů

Fyziologické funkce endokanabinoidního systému jsou: komplexní; neuroprotektivní, pohybově koordinační, humorální, udržování homeostázy, podporování chuti k jídlu, modulace bolesti, imunomodulace. Proto vznikají syntetické kanabinoidy. První byly vyvinuty pro napodobení THC. Nejsou ani rostlinného ani endogenního původu, jsou to vysoce účinné syntetické ligandy kanabinoidních receptorů CB v lidském organismu (1,5diarylpyrazoly, chinoliny, arylsulfonamidy, atd.) (Maida a Daeninck, 2016).

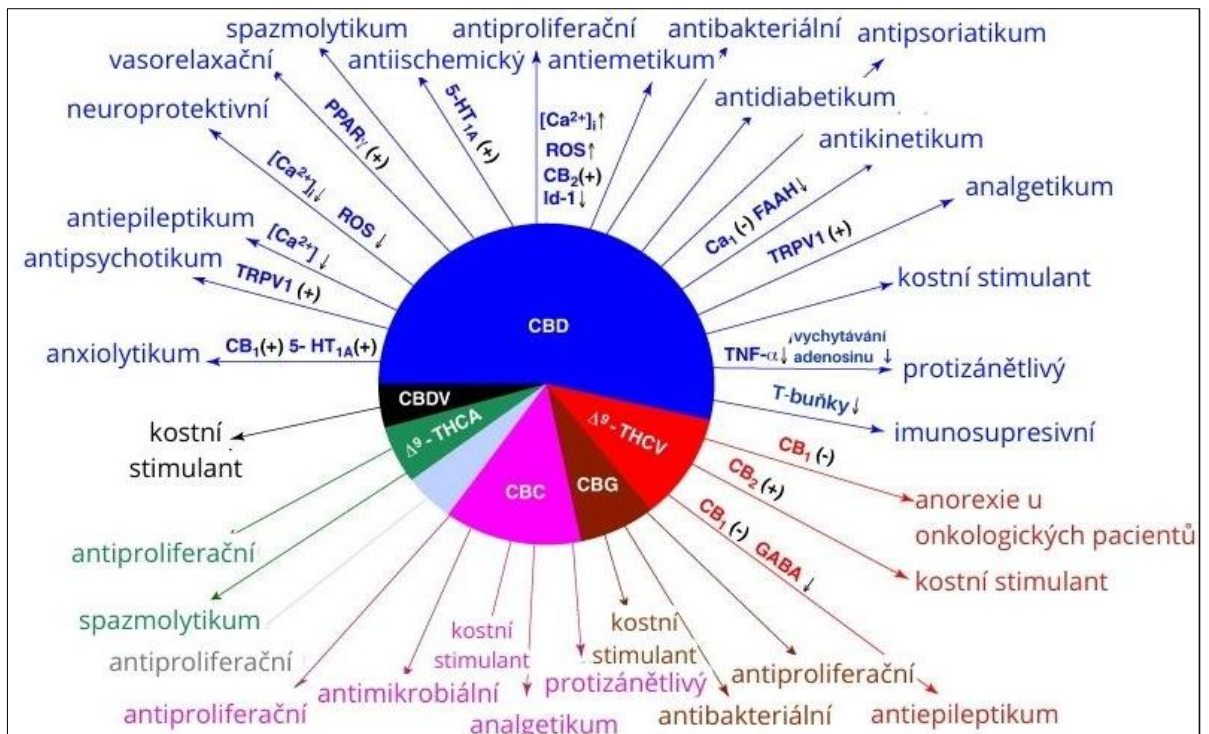
Příklady syntetických kanabinoidů (Lužný a Povová, 2013; Doležal, 2012):

- CP 55,940 – neklasický kanabinoid
- Win 55,212-2
- rimonabant – první selektivní antagonist CB1 receptoru k léčbě psychotických poruch a obezity. Rimonabant byl schválen v Evropě, v USA byl zamítnut vzhledem k tomu, že systém s neuromodulační funkcí v mnoha oblastech mozku bude mít pravděpodobně vedlejší účinky. V roce 2009 byly publikovány studie, kde se u některých pacientů objevily příznaky deprese. Došlo tedy ke stažení léčiva z trhu a byl pozastaven vývoj podobných analogů
- dronabinol – postupně vstoupil do klinické praxe jako licencované léčivo pro cytostatiky indukované zvracení a nevolnost a později jako prostředek ke zvýšení chuti k jídlu (např. při podvýživě, anorexii, kachexii a nechutenství u pacientů s AIDS)
- nabilonu – pro potlačení nevolnosti a zvracení
- nabiximol – orální sprej s extraktem z *Cannabis*, který obsahuje Δ^9 -THC a CBD v poměru 1:1 a také další v menším množství zastoupené fytkanabinoidy. Jde o alkoholový extrakt, který byl poprvé licencován v roce 2005 v Kanadě k mírnění bolesti a svalových křečí u pacientů trpících roztroušenou sklerózou a proti bolesti v pokročilém stádiu rakoviny

Orální dronabinol (THC) je dostupný jako Marinol pro nauzeu spojenou s chemoterapií a pro stimulaci chuti při HIV/AIDS. V USA je klasifikován jako lék III. řádu. Nový kapalný dronabinol, zvaný Syndros, byl nedávno schválen pro stejné indikace. Nabilon je jinou formou syntetického THC označované pod názvem Cesamet a je dostupné jako antiemetikum pro nauzeu spojenou s chemoterapií a je látkou II. řádu. Je desetkrát silnější než dronabinol. Kyselina ajumelová (CT3) je syntetické THC, které je momentálně zkoumané při periferní neuropatické bolesti. Jiné syntetické kanabinoidy jsou zatím ve vývoji (Kim a Fishman, 2017; Zhu a kol., 2021).

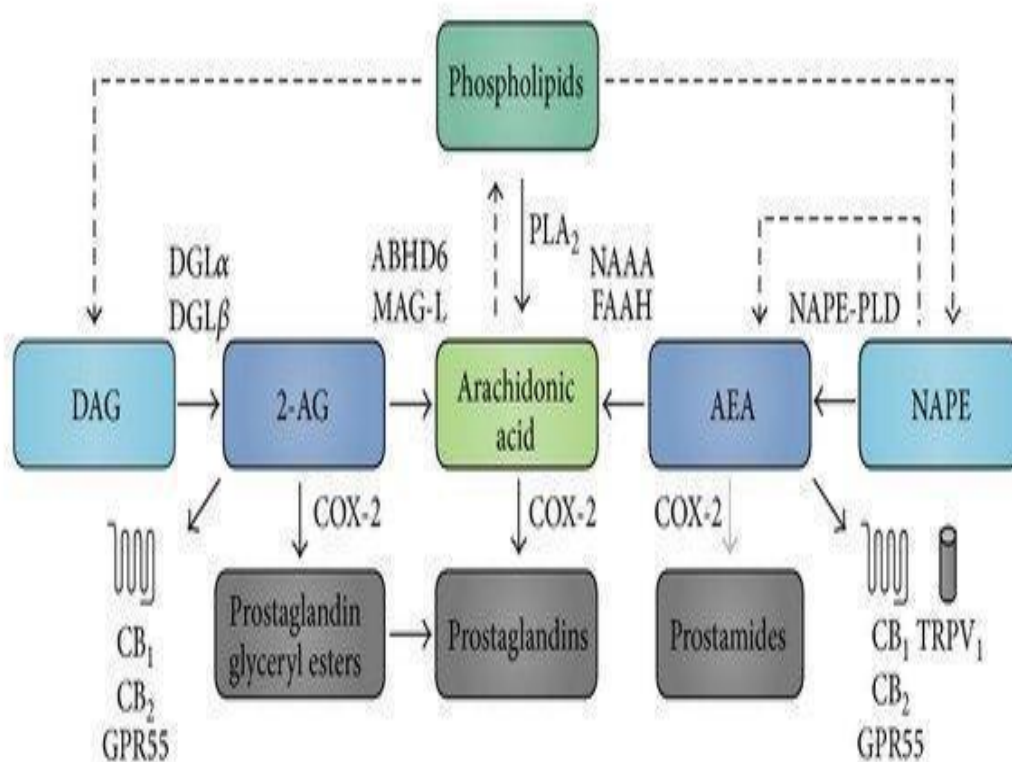
3 Terapeutické účinky kanabinoidů

V této kapitole stručně prezentuji účinky tří skupin kanabinoidů. Výzkum ukazuje, že fytokanabinoidy mají širokou škálu pro léčebné využití. Na obrázku vidíme, jak fytokanabinoidy dokáží modulovat děje v lidském organismu. Účinku dosahují koordinací s receptory a metabolickými drahami. Terapeuticky je nejhojněji využíváno CBD, které se jeví pro člověka jako bezpečné (Izzo a kol., 2009).



Obrázek 7 Přehled působnosti fytokanabinoidů (upraveno autorem, Izzo a kol., 2009)

Dále je možné se v rámci léčby zaměřit na endokannabinoidní systém, jehož nejkoumanějšími komponentami jsou endokannabinoidy 2-AG, AEA, jejich receptory a metabolismus.



Obrázek 8 Přehled produkce a metabolismu AEA a 2-AG (Cairns a kol., 2016)

Na schématu vidíme hlavní dráhu z fosfolipidové membrány k KA přes hydrolyzu. Oxidativním metabolismem z KA vznikají prostaglandiny. Dále je vidět, že hlavním prekurzorem KA jsou 2-AG (z DAG) a AEA z *N*-acylfosfatidylethanolaminu (NAPE) pomocí *N*-acylfosfatidylethanolaminem se specifickou fosfolipazou D (NAPE-PLD) A z AEA za účasti *N*-acylethanolamin-hydrolyzující kyselou amidázou (NAAA) vzniká KA.

Z membránových fosfolipidů přímo může vznikat DAK. nebo NAPE.

2-AG se váže na receptory CB₁, CB₂, GPR55. AEA komunikuje se svými receptory CB₁, CB₂, GPR55 a TRPV₁. KA se může reverzně syntetizovat na fosfolipid membrány (Cairns a kol., 2016).

V neposlední řadě jsou využívány i syntetické kanabinoidy. Využívají se například při léčbě nauzey, zvracení a bolestí spojených s rakovinou a její terapií, léčbě glaukomu, roztroušené sklerózy, v terapii deprese, pro tlumení bolesti (včetně migrén) zánětlivých onemocnění a dalších onemocněních (Doležal, 2012). Bohužel je třeba stále počítat s nežádoucími účinky syntetických kanabinoidů. Mohou způsobovat psychomotorické a kognitivní dysfunkce, vyvolávat anxietu a panické ataky či akutní psychózu a paranoi. Může docházet i k rozvoji závislosti, a vzniku vedlejších nežádoucích somatických příznaků, jako sucho v ústech, rozmazané vidění, palpitace, tachykardie a posturální hypotenze (Šulcová, 2003). Hrozí také zneužití substancí agonistů CB1, které jsou pro své euforizující vlastnosti zneužívány. Tento efekt může být důvodem pro ilegální výrobu syntetických kanabinoidů (Doležal, 2012).

3.1 Funkce kanabinoidů v lidském organismu

Endokanabinoidní systém je lokalizován napříč celým tělem (v mozku, orgánech, tkáních, žlázách, imunitních buňkách) a hraje klíčovou roli ve významných fyziologických funkcích jako je vnímání bolesti, odpověď na stresové podněty, nálada, paměť, imunita, reprodukční systém, metabolismus a chuť k jídlu (Tejkalová, 2015).

Neurotransmitery jsou molekuly, které přenáší informace mezi neurony a cílovými buňkami chemickými synapsemi, viz tabulka 3 a další její popis níže.

Tabulka 3 Rozdělení neurotransmiterů (upraveno dle Habásko, 2015; Maďa a Fontana, 2014)

Chemická látka	Příklad
Malomolekulové neurotransmitery	
Aminokyseliny	glycin, glutamát, aspartát
Deriváty aminokyselin (biogenní aminy)	GABA, katecholaminy (noradrenalin, adrenalin dopamin), serotonin, histamin
Acetylcholin	acetylcholin
Plynné látky	NO
Puriny	ATP, ADP, adenosin
Velkomolekulové neurotransmitery	
Neuropeptidy	substance P, endorfin, leu-enkefalin
Endogenní kanabinoidy	anandamid, 2-AG

Glutamát je nejrozšířenější excitační neurotransmitter nervové soustavy. Excituje cílovou buňku nejvíc. U cílových buněk vyvolává depolarizaci, takže cílovou buňku aktivuje.

GABA a glycin jsou zase nejrozšířenější inhibiční neurotransmitery neuronového systému. Způsobují hyperpolarizaci cílové buňky a inhibují ji. Nejrozšířenější inhibiční neurotransmitter v mozku je GABA, v míše glycin (Maďa a Fontana, 2014).

Dopamin, adrenalin a noradrenalin jsou katecholaminy. Mají důležitou nervovou funkci. Zprostředkovávají vědomí, pozornost, kognici, myšlení, emoce a pocity. Noradrenalin uvolňuje některé neurony autonomního nervového systému v periferní nervové soustavě. Abnormality těchto monoaminových neurotransmiterů zapříčiňují nervové poruchy.

Acetylcholin má mnoho funkcí. V periferní nervové soustavě je neurotransmiterem na nervosvalových ploténkách, v centrální nervové soustavě má vliv na řadu dějů například na bdění a spánek, na paměť a učení. V autonomním nervovém systému je přítomen na všech presynaptických neuronech (Maďa a Fontana, 2014).

Základní funkcí endokanabinoidního systému je modulace senzitivity k neurotransmiterům skrz receptory v centrální nervové soustavě (Kim a Fishman, 2017).

Lidský prožitek bolesti a odpověď na stres zahrnuje interakci fyto-, endo-, a syntetických kanabinoidů skrz uvolňování endorfinů a kortizolu a mnoha dalších. Nárůst hladin endokanabidních látek v mozku u traumatických a patogenetických událostí, naznačuje roli endokanabinoidního systému při kompenzačních a reparačních mechanismech (Schurman a Lichtman, 2017).

ECS je komplexní systém obsahující endogenní ligandy a kanabinoidní receptory CB1 a CB2 s biosyntetickými a degradujícími enzymy a působí na citlivost synapsí a na mnoho dalších neurotransmiterů, jako jsou dopamin a serotonin atd. v centrální nervové soustavě (Helliwell a kol., 2004).

Nejvíce studované komponenty ECS jsou anandamid a 2-AG a CB 1,2; dále TRPV1; GABA a GABA receptory.

2-AG hladiny v mozku jsou o 3 řády rozsáhlejší než hladiny anandamidu. Navíc, jejich receptorová afinita a účinnost se liší, 2-AG působí jako vysoce účinný agonista CB1 a CB2 receptorů, zatímco anandamid se chová jako parciální agonista. 2-AG funguje nejen jako hlavní signální molekula kanabinoidních receptorů, ale slouží taky jako hlavní prekursor pro kyselinu arachidonovou, proto hraje roli v zánětlivých reakcích. KA je degradativní produkt jak 2-AG tak anandamidu.

2-AG funguje taky jako imunomodulátor, protože je prekurzorem pro produkci KA. To ho činí univerzálním cílem pro léčbu prozánětlivých patologií. Syntéza 2-AG je známa, ale

mechanismus zprostředkující produkci anandamidu ještě nebyl zcela objasněn (Schurman a Lichtman, 2017; Miovský, 2008).

TRPV1 je místo, na které se jako první látka váže anandamid. TRPV1 reguluje tělesnou teplotu, pocit tepla a bolesti při opaření.

GABA je hlavní inhibiční neurotransmitter. Na GABA receptory se váže 2-AG při protizánětlivých reakcích.

Různé skupiny enzymů regulují biosyntézu a degradaci endokanabinoidů. Vlastní odlišná anatomická struktura a distribuce CB1 a CB2 receptorů, je kontrolou nad mnoha fyziologickými i patologickými procesy (Schurmann a Lichtman, 2017; McDonald a kol., 2016).

3.1.1 Poruchy – smrt CNS buněk

Neurodegenerace, běžně měřena redukcí neuronálního markeru fluoro-jodidu C, byla u agonistů CB2 receptorů myši snížena, podobně jako u inhibitorů FAAH a MAGL. Navíc FAAH inhibitory dokáží redukovat objem léze a zvýšit produkci Hsp 70 (proteinu teplotního šoku), známého svou strukturální protektivitou, a Hsp 72 (proteinu teplotního šoku), negativního regulátoru apoptózy. Ukázalo se, že inhibice FAAH zvyšuje expresi anti-apoptických proteinů. 2-AG snižuje objem léze a snižuje neurodegeneraci. Z myších pokusů bylo zjištěno, že několik enzymů hydrolyzuje 2-AG, jako např. MAGL. Ten se podílí přibližně z 85 % na celkové hydrolýze 2-AG (Schurman a Lichtman, 2017).

Antagonisté CB1 receptoru snižují ochranné účinky v oblastech lézí. CB1 a CB2 agonisté zabraňují zánětu a neurotoxicitě, ale i celkové neurodegeneraci. Tyto důkazy naznačují, že inhibitory endokanabinoidní hydrolýzy nabízí ochranu proti indukované buněčné smrti, která zahrnuje i CB1 a CB2 receptory. Avšak rozdíl mezi nimi je potřeba objasnit. Dosavadní výzkum hodnotil interakce mezi anandamidem a 2-AG na laboratorních modelech TPM. Například na modelu cerebrální fokální ischemie, bylo shledáno, že exogenně podaná kombinace anandamidu a 2-AG, redukuje velikost infarktu mozku u krys. Pokud byl podán pouze samotný anandamid nebo samotný 2-AG, nebyl žádný pozitivní efekt na velikost léze mozku (Wang a kol., 2009).

Nedávný objev a dostupnost duálních inhibitorů FAAH/MAGL současně s bloádou apoptotických enzymů následující po TPM či neurodegenerativním poškození mozku, může

dále poodhalit určitý náhled do vztahu mezi anandamidem a 2-AG a buněčnou smrtí (McDonald a kol., 2016; Schurman a Lichtman, 2017).

3.1.2 Neurozánět a hematoencefalická bariéra s inhibicí 2-AG metabolismu

Neurozánět vyvolaný TPM je komplexní imunitní proces vyplývající z mechanického poškození a otřesu mozku. Je jedním z neuropatologických rysů TPM a i neurodegenerativních onemocnění. Neurozánětlivé reakce se objevují bezprostředně po TPM, a proto jsou důležitým spouštěčem progresivního poškození mozku. Bohužel u neurodegenerativních nemocí probíhá neurozánět skrytě. Tyto zánětlivé procesy jsou charakterizovány vstupem periferních monocytů, v důsledku zvýšené permeability hematoencefalické bariéry (HEB), a zároveň aktivací mikroglíí a uvolňování zánětlivých cytokinů, chemokinů a prostaglandinů. Monocyt-makrofágový systém, chovající se jako makrofágy, jsou hlavními rezidentními imunitními buňkami v mozku. Klidová mikroglie se po TPM transformuje na aktivované buňky a uvolňuje prozánětlivé a protizánětlivé cytokiny. Mikroglie se transformují na M1 prozánětlivé buňky bezprostředně po TPM nebo protizánětlivé buňky M2, které mohou uvolnit trofické faktory včetně růstového faktoru podobného inzulínu (Suh a kol., 2013).

Mikroglie čistí buněčný odpad a mrtvé buňky, ale zároveň aktivované mikroglie přispívají k patologii po TPM svou nadprodukcí prozánětlivých cytokinů. Neurozánětlivé astrocyty po TPM mohou být inhibovány, dojde-li k inaktivaci MAGL. Výzkumy na myších s TPM poukázaly na tuto skutečnost: exprese cytokinů (např. IL-1 β , IL-6, TNF α), reaktivita astrocytů a mikroglíí a hladiny nikotinadeninindinukleotidfosfát oxidázy (NOX2) a COX-2 jsou sníženy u myší s TPM léčených JZL184, silným inhibitorem MAGL. Narušení funkce MAGL inhibitorem JZL148 zabraňuje degradaci 2-AG a zvyšuje hladiny 2-AG v mozku. Inaktivace MAGL dále také snižuje 2-AG metabolity (např. prostaglandiny). Zejména velká část prostaglandinů v mozku je odvozena od 2-AG. Zvýšení 2-AG a snížení prostaglandinů inaktivací MAGL, přispívá k eliminaci neurozánětu mozku (Zhang a kol., 2015).

Protizánětlivé účinky mají i lipoxiny (LX) vázané na svůj vlastní receptor FPR2. Lipoxiny inhibují cytokiny (IL1 β , IL6 a TNF), které mohou být sníženy i inaktivací MAGL. Tyto reakce mají u pokusných myší protizánětlivé a neuroprotektivní účinky. Zároveň zvýšení 2-AG a

inaktivace MAGL vede ke zmírnění neuropatologie synaptických a kognitivních deficitů po TPM (Zhang a kol., 2015).

TPM má za následek rozpad HEB a následný vstup periferních imunitních buněk a plazmatických proteinů do mozku. Tyto periferní složky mohou zhoršit neurozánět, excitotoxicitu a neurodegeneraci. Při pokusech na myších bylo dokázáno, že exogenní podání 2-AG chrání HEB, protože potlačuje expresi zánětlivých cytokinů TPM. Zvýšení endogenních hladin 2-AG s inhibicí metabolismu 2-AG pomocí WWL70 (selektivního inhibitoru) zabránilo dysfunkci HEB po TPM. Zachování integrity HEB inhibicí degradace 2-AG, bylo dále potvrzeno inaktivací MAGL inhibitorem JZL184. Zvířata měla zlepšení neurologické i behaviorální a zlepšenou integritu HEB. Aktivované astrocyty a mikroglie byly také sníženy u zvířat s TPM léčených JZL184. Pokusy poskytují důkaz, že inhibice metabolismu 2-AG zabraňuje dysfunkci HEB a tlumí neurozánět po TPM, což je klíčem k prevenci poškození mozku a neuropatologických následků (Zhu a kol., 2021).

3.1.3 Traumatická poškození mozku (TPM)

Traumatická poškození mozku jsou heterogenní etiologie, klinické prezentace závažnosti a patologie. Reakce, které následují po zevním mechanickém poškození, produkují akutní a opožděné patologie, popsané jako primární a sekundární zranění (Zhu a kol., 2021).

Primární poranění mozku

Vyvolá bezprostřední narušení mozkové tkáně. Primární poranění zahrnují: kontuzi, porušení cév, otok mozku, nekrotické buňky, difuzní axonální poranění, degeneraci bílé hmoty mozku. Poškození bývá nevratné.

Sekundární poranění mozku

Začíná v průběhu minut, pokračuje v čase kvůli nekrotickým buňkám a buňkám v apoptóze v místech kontuze a penumbry. Bývá alespoň částečně reverzibilní. Neuronální poškození excitujících aminokyseliny do intersticia, produkuje excitotoxicitu zprostředkovanou glutamátem. Nadměrný přísun Ca^{2+} do buněk působí mitochondriální dysfunkci a uvolnění reaktivních forem kyslíku a vede k dalším apoptózám. Aktivace gliových buněk, mikroglíí, cirkulujících zánětlivých buněk v CNS i makrofágů indukuje sekreci zánětlivých mediátorů, cytokinů a chemokinů zvyšujících zánět. Zvýšený intrakraniální tlak

vede k redukci průtoku krve mozkem, zatímco defekt cerebrovaskulárního endotelia přispívá k dysfunkci hematoencefalické bariéry mozku.

Preklinická evaluace kanabinoidů k léčení TPM

Zatímco základní hladiny anandamidu a 2-AG se v různých strukturách CNS liší, hladiny vzrůstají jako odpověď na určitý stimul (nauzea, stavy bolesti). Endokanabinoidy jsou lipidoví poslové, které nejsou ukládány v synaptických váčcích (pro jejich hydrofobii), ale syntetizují se v závislosti na aktivitě prekurzorů fosfolipidové membrány. Nárůst endokanabinoidů je spuštěn stimulační reakcí mechanismu syntézy a uvolňování. Hladiny endokanabinoidů vzrůstají při neuronálním poškození ve vybraných oblastech CNS, což může poukazovat na vlastní neuroprotektivní odpověď. Excitotoxicita N-methyl-D-aspartátu spouští nárůst endokanabinoidů v ipsilaterálním kortexu. U myši až čtyřnásobně ve 4 hodinách a čtrnáctinásobně ve 24 hodinách (Hillard, 2008).

Hyperfosforylovaný tau protein, jeho zvýšený výskyt a agregace jsou neuropatologické důsledky TPM. Hyperfosforylovaný tau protein je jedním z neuropatologických charakteristických znaků Alzheimerovy choroby (AD) a Parkinsonovy choroby (PD) a je hlavní složkou neurofibrilárních spletců (NFT). V nervovém systému se tau proteiny hojně nacházejí v neuronálních axonech, ale jsou také exprimovány v somatodendritických kompartmentech a v oligodendrocytech. Obecně je vazba tau na mikrotubuly modulována fosforylací a defosforylací. Abnormální fosforylace však vede k uvolnění tau proteinu vázaného na mikrotubuly a vzniku neurofibrilárních spletců (NFT). Zvýšená fosforylace tau proteinu byla prokázána na modelech mírném a těžkém TPM. V nedávné studii Edwards a kol. (2020) uvedli, že bylo pozorováno již jeden den po počátečním poranění zvýšení akumulace tau proteinu v mozkové kůře, amygdale, oblasti hipokampu a mozkového kmene, s robustním ukládáním na ipsilaterální straně úrazu. Robustní ukládání tau proteinu na kontralaterální straně mozku se objevilo o týden později. To naznačuje TPM jako rizikový faktor pro tauopatie. Hyperfosforylovaný tau protein podporuje akumulaci NFT v axonech, což vede k narušení synaptické aktivity a indukci smrti buněk, což může zhoršit sekundární poškození po TPM. Například pokusné myši očkované mozkovými homogenáty od TPM myši, vykazovaly deficitory paměti a rozšířené fosforylované tau proteiny v mozku 4, 8 a 12 měsíců po inokulaci. Prokázala se synaptická ztráta a snížení postsynaptické hustoty v hipokampu (Edwards a kol., 2020).

Omezení fosforylace tau proteinu podporuje zotavení z TPM. Studie prokázala, že farmakologická inhibice MAGL snížila hladiny fosforylovaného tau proteinu, stejně jako jeho

prekurzoru (amyloidní prekurzorový protein, APP). Inhibice MAGL specifickým inhibitorem JZL184 je zásadní ve fosforylaci tau proteinu 8 a 30 dní po TPM. A současná inhibice metabolismu 2-AG rovněž potlačuje fosforylaci tau proteinu. Eliminace hyperfosforilace tau proteinu zlepšuje koordinaci, prostorové učení a uchovávání paměti u myší (Zhang a kol., 2015).

DNA a TPM

DNA vázající protein 43 (TAR-43), který je exprimován ve většině tkání, reguluje transkripci a sestřih exonu vazbou na DNA i RNA. Při amyotrofické laterální skleróze (ALS) je TAR-43 hyperfosforylován, ubikvitinován, štěpen na fragmenty (25 a 35 kDa) a chybně lokalizován v cytoplazmě neuronů a gliových buněk. Bylo prokázáno, že TAR-43 je spojen s amyotrofickou laterální sklerózou (ALS) a frontotemporální lobární degenerací. Je také identifikován jako důležitý charakteristický rys u několika neurodegenerativních onemocnění, včetně AD a PD. Studie ukazují, že TAR-43 je klíčovým proteinem spojeným s onemocněním při TPM. Zvýšené fragmenty rozpadu TAR-43 (35, 33 a 12 kDa) a redistribuované TAR-43 z jádra do cytoplazmy jsou pozorovány v modelech TPM. Zvýšené hladiny TAR-43 a jeho 35 kDa fragmentu jsou také přítomny v mozkomíšním moku pacientů s těžkým TPM. Klinická studie uvádí, že u pacientů s chronickou traumatickou encefalopatií, neurodegenerativním onemocněním vyvolaným TPM došlo k rozsáhlé akumulaci TAR-43. Abnormalita TAR-43 vyvolaná TPM zhoršila poranění mozku. TPM zhoršilo buněčnou smrt, abnormalitu TAR-43 a kognitivní poruchy u myší. Předchozí studie také zjistila, že exprese TAR-43 byla trvale zvýšena v kůře a hipokampu u myšího modelu opakovaného poranění hlavy. Důležité je, že tato studie odhalila, že farmakologická inaktivace MAGL výrazně snížila produkci TAR-43, což poskytuje první důkaz, že inhibice metabolismu 2-AG zabraňuje nadměrné tvorbě TAR-43 vyvolané TPM a podporuje zotavení ze sekundárního poškození mozku, čímž zabraňuje prohloubení kognitivního deficitu (Zhang a kol., 2015).

Amyloidní β peptidy ($A\beta$ peptidy) jsou misfoldní (špatně prostorově složené) peptidy, tvořené 36–43 aminokyselinami a hlavní složkou amyloidních plaků v mozku pacientů s AD. Několik důkazů z preklinických a klinických studií naznačuje, že akumulace $A\beta$ peptidů nastává během několika hodin po poranění mozku, a že $A\beta$ se šíří po celé mozkové kůře. Exprese APP, β -sekretázy a nicstrinu, stejně jako tvorba $A\beta$ peptidů jsou významně zvýšeny v myším modelu poranění hlavy. Rychlá koakumulace APP s jeho štěpnými enzymy a produkce $A\beta$ peptidů se také vyskytuje u pacientů umírajících během několika týdnů po traumatu mozku.

Produkovaný A β peptid je agregován do plaků/oligomerů, což způsobuje smrt buněk, chronický zánět a kognitivní poruchy. Potlačení akumulace a ukládání A β peptidů tedy zmírní neuropatologické změny, podobné AD, vyvolané TPM (Zhang a kol., 2015).

Inhibice metabolismu 2-AG farmakologickou inaktivací MAGL, potlačila expresi APP s jeho štěpnými enzymy a produkci A β peptidů. Při TPM dochází k vyvolání neurozánětu, produkci patologického TAR-43, hyperfosforylaci tau proteinu a tvorbě A β peptidů, což jsou hlavní neuropatologické rysy neurodegenerativních onemocnění. Inaktivace MAGL společně s inhibicí metabolismu 2-AG, se podílí na ochraně signálních drah v mozku po prodělání TPM (Zhu a kol., 2021).

Zlepšení synaptických a kognitivních funkcí inaktivací MAGL u TPM

Dlouhodobá synaptická plasticita ve smyslu dlouhodobé potenciace (LTP) je biologický proces odkazující na schopnost synapsí trvale posilovat synaptický přenos, který může být základem učení a paměti. Studie ukázaly, že TPM narušuje dlouhodobou synaptickou plasticitu. Bazální synaptický přenos z hlediska funkce vstup-výstup a LTP byly narušeny na synapsích v mozkových centrech (CA3-CA1) 30 dní po poranění hlavy. Výsledky z jiných studií ukázaly, že TPM významně snížila amplitudu encefalografu v oblasti hipokampu CA1. Kromě toho TPM robustně potlačila post-tetanickou potenciaci (PTP), vznik paměťové stopy. Jeden z mechanismů učení. Po předchozí, opakované a dlouhotrvající stimulaci se na synaptickém spojení uvolňuje glutamát pro otevření iontových kanálů Na⁺ a Ca⁺. Párový pulzní poměr (PPR) byl snížen v krátkodobé plasticitě v myším modelu trombem (blastem) vyvolaného traumatického poranění mozku. TPM vyvolané poruchy krátkodobé a dlouhodobé synaptické plasticity jsou pravděpodobně spojeny se snížením exprese a funkce glutamátových receptorů. Zjistilo se, že exprese podjednotek glutamátových receptorů, byla významně snížena 8 a 30 dní po TPM. Je zajímavé, že farmakologická inhibice MAGL byla schopna obnovit traumatem sníženou expresi těchto podjednotek glutamátových receptorů a zlepšit bazální synaptický přenos a LTP. Navíc farmakologická inhibice MAGL snížila u neuronů synaptickou hyperexcitabilitu vyvolanou TPM 5 a 10 dní po poranění. Inhibice metabolismu 2-AG také zmírnila zvýšenou frekvenci a amplitudu malých excitačních postsynaptických proudů (mEPSC) ve vrstvách pyramidálních neuronů u potkanů po TPM. Tyto studie poskytují důležité informace, že inhibice metabolismu 2-AG zabráňuje narušení mozkové homeostázy a synaptické dysfunkci způsobené TPM (Zhang a kol., 2015).

Neurokognitivní pokles a demence jsou hlavními důsledky TPM. Vzhledem k tomu, že inaktivace MAGL zlepšuje neuropatologii vyvolanou TPM, udržuje integritu synapsí a zlepšuje dlouhodobou synaptickou plasticitu, je pravděpodobné, že inhibice metabolismu 2-AG by zabránila kognitivnímu poklesu vyvolanému TPM. Studie poskytují důkaz, že deficity vyvolané TPM v prostorovém učení a paměti jsou sníženy farmakologickou inaktivací MAGL, což naznačuje, že omezení degradace 2-AG po TPM je slibným přístupem k prevenci nebo snížení neuropatologických a neurokognitivních následků (Zhang a kol., 2015).

Potenciální mechanismy neuroprotektivních účinků inaktivace MAGL u TPM

Dřívější studie poskytly důkazy, že inhibice metabolismu 2-AG vyvolává neuroprotektivní účinky. Molekulární mechanismy zodpovědné za tyto neuroprotektivní účinky však stále nejsou jasné. Vzhledem k tomu, že receptory CB1 a CB2 jsou cílem 2-AG, je pravděpodobné, že tyto receptory mohou hrát roli v neuroprotektivních účincích a inaktivaci MAGL. Již dříve bylo prokázáno, že 2-AG a inhibitory MAGL (URB602 a JZL184), vykazují neuroprotektivní účinky proti cytokinům nebo amyloidním β peptidům poškozením v hipokampálních neuronech. Neuroprotektivní účinky se zdají být zprostředkovány inhibicí COX-1, ERK2/1 a NF- κ B závislou na receptoru CB2. V rozporu s výsledky těchto studií existují zprávy o neuroprotektivních účincích nezávislých na receptoru CB1 nebo CB2 pouhou inhibicí MAGL. Farmakologická nebo genetická inaktivace MAGL snížila zánětlivé cytokiny indukované lipopolysacharidy (LPS) a chránila neurony před degenerací na zvířecím modelu Parkinsonovy nemoci i v přítomnosti blokády receptorů CB1 nebo CB2 nebo jejich genetické delece. Podobně farmakologická nebo genetická inaktivace MAGL snížila hladiny eikosanoidů, A β peptidů a zánětlivých cytokinů v mozku myši. Jeví se, že protizánětlivé a neuroprotektivní účinky inhibice MAGL jsou primárně zprostředkovány redukcí metabolitů 2-AG (KA a prostaglandinů), spíše než zvýšením endokanabinoidní signalizace (Zhu a kol., 2021).

Také bylo zjištěno, že JZL184 snížil expresi APP a celkového A β , stejně jako neurozáněť u transgenních myši s APP postrádajících CB2 receptor. Mechanismy podílející se na anti-neurozánětlivých a neuroprotektivních účincích inaktivace MAGL jsou složité a zdá se, že další signální dráhy mohou také přispět k neuroprotektivním účinkům vyvolaných inhibicí metabolismu 2-AG (Chen, 2016).

Studie ukázaly, že podávání 2-AG vyvolalo neuroprotektivní účinky na zvířecím modelu TPM a účinky byly zprostředkovány receptory CB1. Dále se ukázalo, že aplikací 2-AG nebo inhibitorů MAGL došlo k oslabení projevů neurozánětu, neurodegenerace a neurotoxicity

vyvolané cytokiny, A β nebo glutamátem. To naznačuje, že 2-AG je důležitým mediátorem signalizace chránícím neurony před patologiemi. Bylo však provedeno jen málo studií, které by prozkoumaly následné signální dráhy 2-AG při zprostředkování těchto neuroprotektivních účinků (Chen, 2016).

Další studie ukázala, že indukce 2-AG a potlačení interleukinu-2 (IL-2) nebylo zprostředkováno CB1 receptorem, ale prostřednictvím signalizace peroxisomu (PPAR γ , člen rodiny jaderných receptorů fungujících jako transkripční faktor regulující expresi genu v buňce). Tedy že 2-AG může přímo aktivovat PPAR γ v T buňkách.

V kultivovaných hipokampálních neuronech byly protizánětlivé a neuroprotektivní účinky, závislé na CB2 receptoru, potlačeny inhibitory JZL184 či JZL 195 (antagonistou PPAR γ) a ochranné účinky byly napodobeny agonistou PPAR γ . Bylo potvrzeno, že PPAR γ se podílí na snížení A β a neurozánětu. A zároveň došlo ke zlepšení prostorového učení a paměti vyvolané inhibicí MAGL u myšího modelu AD (Chen, 2016).

Protizánětlivé a neuroprotektivní účinky zprostředkované PPAR γ se vyskytují pravděpodobně potlačením transkripční aktivity NF-kB (transkripční faktory, promotory RNA pro imunitu, zánět, buněčný růst a apoptózu). Aktivace PPAR γ může zlepšit několik aspektů neuropatologie po TPM (Zhu a kol., 2021).

3.1.4 Nádorová onemocnění

Poprvé byly protirakovinné účinky Δ 9-THC demonstrovány na gliomových buňkách. Δ 9-THC indukoval apoptózu nádorových buněk mechanismem nezávislým na aktivaci CB1, došlo ke stimulaci hydrolýzy sfingomyelinu a indukci DNA fragmentace nádorových buněk. Účinnost Δ 9-THC a dalších kanabinoidů v protinádorové terapii byla dokázána u mnoha modelů zvířecích nádorů. Nicméně existuje mnoho prací, které dokazují zvýšenou expresi CBR a endokanabinoidů nádorové tkáně v porovnání se zdravou tkání. Jednoznačný vliv ECS na nádorová onemocnění ještě nelze zhodnotit, pro protichůdnost výsledků studií (Kis a kol., 2019).

Bylo dokázáno, že selektivní agonisté CB2 mají schopnost zastavit růst gliomu *in vivo*. Některé studie spojují zvýšenou expresi ECS komponent s agresivitou nádoru a předpokládají, že nadměrná aktivace ECS je spojena s rozvojem nádoru. Například na zvířecím modelu genetická inaktivace CBR snižuje rozvoj kožního nádoru po indukci UV zářením. Bylo

dokázáno, že nadměrná exprese CB2 zvyšuje predispozici k rozvoji leukémie po infekci myší virem Moloney Murine Leukemia Virus (MuLV).

Naopak existují důkazy pro podporu hypotézy, že aktivace CBR signalizace je spojena se zpomalením růstu nádoru. Jedním z nich je studie na myším modelu nádoru tlustého střeva, u kterého delece CB1 zrychluje růst nádoru. V další studii potlačení exprese MAGL (zvýšení hladiny 2-AG) snižuje růst nádoru. Výsledky některých účinků kanabinoidů na rozvoj nádorů jsou konfliktní a není zcela jasné, v jakých souvislostech je role ECS protinádorová nebo onkogenní. Nicméně jsou známy některé molekulární mechanismy CBR signalizace, které indukují autofágii a apoptózu nádorových buněk. Obecně CBR agonisté aktivují *de novo* syntézu ceramidu, který indukuje se stresem spojenou odpověď endoplasmatického retikula a v důsledku toho dochází k inhibici kinázy AKT (proteinkináza), což vede k autofágii buňky (Śledziński, 2021).

Vedle aktivace apoptické dráhy kanabinoidy také inhibují proliferaci nádorových buněk. Alespoň jeden z těchto dvou mechanismů byl demonstrován téměř u všech testovaných rakovinných buněčných typů *in vitro*, avšak strategie léčby (stimulace nebo potlačení aktivity ECS) se může lišit mezi různými typy rakoviny. Bylo zjištěno, že kanabinoidní agonista WIN55212-2 vyvolává apoptózu *in vitro* u nádorových buněk plic, varlat a neuroblastomu. Ošetření buněk různými koncentracemi WIN55212-2 vedlo k redukci přežívání buněk v závislosti na dávkování. V případě kolorektálního nádoru byla indukována apoptóza kanabinoidním antagonistou rimonabantem na 3D kultuře primárních buněk nádoru. Navíc rimonabant neprojevil žádné toxické účinky u normálních epiteliálních buněk tlustého střeva, což poukazuje na možnou selektivitu pro nádorové buňky (Rodriguez-Almaraz a Butowski, 2023).

Na klinické úrovni je k dispozici mnohem méně testů, které demonstrují potenciál kanabinoidů v terapii nádorových onemocnění. Byla realizována první fáze klinického testování intravenózně aplikovaného $\Delta 9$ -THC u devíti pacientů s rostoucím glioblastomem, u kterých konvenční léčba nedosáhla pozitivních efektů. Statisticky není možné vyvodit důsledky této studie vzhledem k nízkému počtu subjektů, avšak u některých pacientů byla pozorována pozitivní reakce na tuto léčbu, což se týče zpomalení růstu nádoru hodnoceného magnetickou rezonancí. Důležitý je však výsledek analýzy vzorků od dvou pacientů před a po podání $\Delta 9$ -THC. Hladiny různých signálních proteinů potvrzují molekulární mechanismus autofágie, což dokazuje, že kanabinoidní terapie nádorových onemocnění může přinést slibné klinické výsledky (Guzmán a kol., 2006).

Protirakovinné účinky CBD

CBD patří do rodiny kanabinoidů, která se váže na specifické receptory spojené s G-proteinem. CBD je zejména schopné zasahovat do různých fází nádorového procesu, může inhibovat migraci a adhezi rakovinných buněk a má antiproliferativní, proapoptotické a antiinvazivní účinky. Od 1975 byl potvrzen antiproliferační potenciál CBD *in vitro* a *in vivo* a jeho klinické použití rostlo (Kis a kol., 2019).

Kanabidiol má chemopreventivní účinky u některých typů rakoviny, jako je rakovina prsu, plic, tlustého střeva, prostaty, kůže a mozku. CBD v různých formách a koncentracích má vliv na proteiny, enzymy, signální dráhy a expresi různých genů. Dále hraje klíčovou roli v komplexních mechanismech, jejichž konečným výsledkem je blokování iniciace, progresu a metastázování různých typů rakoviny (Kis a kol., 2019).

Rakovina plic

Rakovina plic je jednou z nejčastějších příčin úmrtí na rakovinu. Podle World Cancer Research Fund International byly v roce 2018 celosvětově zjištěny dva miliony nových případů rakoviny plic. V Evropě bylo toto nádorové onemocnění s nejvyšším výskytem v Maďarsku, Srbsku a Francii. Nejčastějším rizikovým faktorem rakoviny plic je kouření tabáku, které je příčinou 90 % karcinomů plic. CBD způsobilo inhibici buněčné invaze adenokarcinomické lidské alveolární bazální epiteliální buňky (A549). Byl zkoumán mechanismus účinku CBD na inhibitor plazminogenového aktivátoru (PAI-1, plazmatická bílkovina, fibrinolytického systému). PAI-1 je ukazatelem pro nádorovou invazi a metastázy, jeho vysoká koncentrace je považována za špatnou. U mnoha typů rakoviny (plic, prsu, tlustého střeva, žaludku) slouží PAI-1 jako prognostický faktor. Pomocí CBD došlo ke snížení sekrece PAI-1, což vede ke snížení invazivních účinků rakovinných buněk (Ramer a kol., 2010).

Výzkumy popsaly, že ovlivnění PAI-1 skrz CBD má potenciál při léčbě metastáz. Antiinvazivní účinek CBD byl stanoven modifikovaným testem Boydenovy komůrky a exprese PAI-1 pomocí RT-PCR. Antiinvazivní účinek CBD byl dále zjištěn i u intracelulární adhezivní molekuly 1 (ICAM-1), která hraje důležitou roli v interakci mezi lymfokiny (aktivovanými zabíjáckými buňkami) a rakovinnými buňkami (Ramer a kol., 2010).

U rakoviny plic vedla aplikace CBD k expresi ICAM-1 a přímo koreluje s prevencí metastázování nádorů do zdravé tkáně. Ramer a kol. prokázali, že 10 mg/kg/den CBD snižuje vitalitu buněčných linií (A549 a H460) karcinomu plic *in vivo* na zvířecím modelu. Mechanismy indukované CBD předpokládají *in vitro* i *in vivo* zvýšení cyklooxygenázy (COX-

2) a PPAR γ s účinky na proliferaci/apoptózu, genovou expresi, oxidační stres, růst nádoru. Z těchto poznatků plyne, že CBD má antimetastatický potenciál i antiinvazivní účinek (Kis a kol., 2019).

Melanom

Počet případů melanomu se v posledních několika letech, ve srovnání s jinými typy rakoviny, trvale zvyšuje. Studie CBD představuje potenciálně nový terapeutický prostředek pro maligní melanom. Například při léčbě pokusných myší: jedna skupina myší byla léčena cisplatinou (5 mg/kg/týden), druhá skupina CBD (5 mg/kg/2x týdně). Obě skupiny měly srovnatelné výsledky, léčba CBD významně snížila růst melanomového nádoru a prodloužila dobu přežití podobně jako léčba tradičním protirakovinným lékem cisplatinou (Simmermanem a kol., 2019).

Karcinom prsu

Toto rakovinné onemocnění je primární příčinou úmrtí u žen a celkově je druhým nejčastějším zhoubným nádorem. Existuje mnoho rizikových faktorů, jako je věk, pozitivní rodinná anamnéza, genetika, antikoncepce a kojení. Genetická predispozice pro karcinom prsu je přenášena genem BRCA1, BRCA2 a geny pro nádorový protein p53 (TP53) (Kis a kol., 2019).

Shrivastava a kol. (2011) vysvětlili, že CBD indukuje buněčnou smrt v buněčných liniích nádoru prsu. Mezi navržené mechanismy patří indukce stresu endoplazmatického retikula pomocí CBD a tím vyvolaná apoptóza, inhibicí enzymu AKT (proteinkináza), jehož specifickým inhibitorem je rapamycin, což vede k apoptóze rakovinné buňky. CBD zvýšilo účinnost apoptózy a zvyšuje tvorbu reaktivních druhů kyslíku (ROS) u rakovinných buněk prsu.

Jiné studie prokázaly, že CBD inhibuje růst a indukuje apoptózu různých buněčných linií nádoru prsu a vykazuje významně nižší účinnost v nerakovinných buňkách. Navíc léčba CBD vedla k interakci mezi PPAR γ , mTOR (kináza pro fosforylaci proteinu) a cyklinem D1 (molekulární marker) s indukcí apoptózy. CBD má protinádorový účinek a inhibuje proliferaci vyvolanou epidermálním růstovým faktorem. Studie dospěla k závěru, že CBD lze použít jako novou možnost k inhibici růstu a metastáz agresivních buněk rakoviny prsu. Účinnost CBD byla ověřena pomocí testů buněčné proliferace a invazivnosti, průtokovou cytometrií a Western blot analýzou při testování *in vivo* i *in vitro* u metastáz rakoviny prsu (McAllister a kol., 2011).

Rakovina tlustého střeva

Je druhou nejčastější příčinou úmrtí pacientů s rakovinou na celém světě. Kolorektální karcinom je navíc třetí nejsmrtelejší rakovinou ve Spojených státech. CBD má významný antiproliferativní účinek u dvou buněčných linií kolorektálního karcinomu (Caco-2 a HCT116). Experimenty *in vivo* účinku CBD na rakovinné buňky tlustého střeva samce myši měly pozitivní efekt (Institute of Cancer Research). Léčba CBD významně redukovala polypy a nádory aberantních ložisek myši. Ochranný účinek na rakovinu tlustého střeva byl spojen s up-regulací kaspázy-3 (Aviello a kol). GPR55 se podílí na migračním chování buněk rakoviny tlustého střeva a jeho inhibice hraje důležitou roli v prevenci metastáz. Pro toto tvrzení použili testy adheze a migrace. CID16020046 blokuje receptor, GPR55, (antagonista GPR55, agonista CBD) a CBD (domnělý antagonist GPR55), malá interferující RNA GPR55 (siRNA) byly použity k blokování aktivity GPR55 buněk rakoviny tlustého střeva (Kargl a kol., 2016).

Další studie prokázala, že buněčné kultury kolorektálního karcinomu ošetřené různými koncentracemi CBD vykazují fenomén apoptózy. Mechanismus se týká regulace mnoha proteinů, z nichž Noxa (kódující proapoptotické proteiny) vykazovala významně vyšší expresi s CBD. Na zvířecím modelu výsledky ukázaly, že 1-5 mg/kg CBD snižuje růst rakoviny tlustého střeva a zmenšuje velikost nádoru. Kromě toho výsledky ukázaly, že od této dávky představuje CBD optimální chemo-preventivní účinek. Tyto příznivé účinky mohou být způsobeny rostoucí aktivitou antioxidantních enzymů superoxiddismutázy (SOD) a glutathionperoxidázy (GPX) (Kis a kol., 2019).

Karcinom prostaty

CBD je novým modulátorem exozomů a mikrovezikul (EMV), které redukuje a které hrají důležitou roli při růstu nádoru. V několika rakovinných buněčných liniích studie ukázala, že 1-5 μ M CBD významně snížilo růst buněk rakoviny prostaty (Kis a kol., 2019).

Testování *in vitro* i *in vivo* účinku CBD proti buňkám rakoviny prostaty naznačuje, že protirakovinný mechanismus zahrnuje stimulaci vnitřních drah apoptózy. Proapoptotická aktivita CBD je mimo jiné závislá na fosfatáze. Bylo také vyzkoumáno, že protinádorové účinky mnoha kanabinoidů zahrnují modulaci intracelulární kinázy. *In vivo* CBD významně inhibovalo životaschopnost buněk rakoviny prostaty u myši. Účinek CBD se hodnotí testem ELISA a průtokovou cytometrií (Petrocellis a kol., 2013).

Rakovina mozku

Je identifikována jako jedna z nejstrašnějších forem rakoviny. CBD, v závislosti na koncentraci, vedlo k inhibici životaschopnosti implantovaných buněk lidského gliomu u myši. Prokázalo se, že CID 16020046 inhibuje životaschopnost rakovinných linií gliomových kmenových buněk skrz blokování GPR55 a indukuje apoptózu produkcí ROS. Kromě toho *in vivo* léčba intrakraniálních nádorů pomocí CBD inhibovala proliferaci nádorových buněk, aktivovala proapoptotickou kaspázu a významně prodloužila přežití myši. I když se rakovinné gliomové kmenové buňky adaptovaly na léčbu CBD, tato adaptace byla potlačena terapií kombinující CBD s vitamínem E (modulátor ROS). To může představovat slibný terapeutický model pro léčbu glioblastomu (Singer a kol., 2015).

Úlohou kanálu přechodného receptorového potenciálu (TRP) je regulace buněčné proliferace a diferenciací. CBD představuje specifický ligand pro receptor TRPV2; funguje tedy jako aktivátor selektivní pro TRPV2, zesiluje tak příliv Ca^{2+} do rakovinných buněk glioblastomové linie a indukuje jejich apoptózu. CBD by tak mohlo být použito jako látka proti buněčným liniím glioblastomu (Nabissi a kol., 2013).

Další pokusy ukázaly, že CBD indukuje apoptózu v buněčných liniích neuroblastomu prostřednictvím aktivace serotoninových a vaniloidních receptorů, což také významně snižuje migraci a invazi rakovinných buněk *in vitro*. K ověření efektu léčby CBD se využívá testů ELISA a sady angiogenesis array (Kis a kol., 2019).

Imunomodulační účinky CBD

Jeden z bojů léčby rakoviny spočívá v možnosti aktivace imunitního systému proti nádoru. Imunoterapie je považována za odlišnou kategorii od klasických cytotoxických terapií používaných k léčbě rakoviny. Mezi různými terapeutickými účinky má CBD také imunomodulační potenciál. Stimulace kanabinoidních receptorů (CBR) může vést imunitní buňky k regulaci vazeb různých jaderných faktorů na DNA, což je účinek spouštěný zejména snižováním tvorby cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP) (Kis a kol., 2019).

Cyklické adenosinmonofosfátové analogy mohou způsobovat inhibici nebo stimulaci imunitních odpovědí v závislosti na jejich dávce. Dál mohou ovlivnit účinky kanabinoidů na produkci protilátek T-buněk. Na rozdíl od THC má CBD nízkou afinitu k CBR. K hodnocení účinků CBD na T-buňky a makrofágy byly použity modely *in vitro* i *in vivo*. Výsledky ukázaly, že CBD má schopnost měnit reaktivitu buněk imunitního systému. CBD snižuje produkci cytokinů pomocnými T2 lymfocyty, např., IL-10, který má důležitou roli v humorální imunitě.

Dále se potvrdilo, že podávání CBD myším, snížilo tumor nekrotizující faktor (TNF α) a také snížilo produkci interferonu gama (IFN- γ). IFN- γ zvyšuje expresi antiapoptotických molekul v rakovinných buňkách, což způsobuje rezistenci nádorových buněk vůči chemoterapiím. Snížení exprese TNF α a IL-10 v makrofázích pomocí CBD naznačuje jeho terapeutický protirakovinný potenciál. (Sudhakaran a kol., 2019).

Makrofágy mají důležitou roli ve vrozené a adaptivní imunitě a jsou jedním z hlavních producentů IL-12. Ukázalo se, že jak *in vitro*, tak *in vivo* podávání CBD vyvolalo zvýšení produkce IL-12 a snížení IL-10. Silný protinádorový cytokin IL-12, je schopen vyvolat regresi nádoru a snížit tvorbu vzdálených metastáz po systémovém nebo peritumorálním podání.

Další studie, provedená na splenocytech a CB receptorech myši ukázala, že podávání CBD způsobilo potlačení exprese a proliferace IL-2 a IFN- γ (cytokiny humorální imunity), což naznačuje inhibiči funkce T-buněk (Kis a kol., 2019).

CBD má imunosupresivní účinky prostřednictvím zesílení endogenní adenosinové signalizace. Bylo prokázáno, že CBD působí jako inhibitor vychytávání adenosinu a thiaminu (vit. B1), protože CBD inhibuje ekvilibrační nukleosidový transportér-1. Díky těmto účinkům působí CBD jako zajímavá sloučenina v terapii pacientů s rakovinou. Během patogeneze nádoru je purinový nukleosid, adenosin, secernován rakovinnými a imunitními buňkami pod metabolickým stresem a hypoxií. Vazba adenosinu na receptor A2A stimuluje uvolňování IL-4 a IL-10, což zvyšuje růst nádorových buněk potlačením protinádorové imunitní odpovědi (Kumar, 2013). Ve studii provedené na splenocytech vyvolala léčba CBD snížení produkce IL-2, IL-4 a IFN- γ . Testování myši před senzibilizací, CBD vyvolalo významnou inhibiči produkce antigen-specifických protilátek, což ukazuje na účinek na potlačení humorální imunity (Kis a kol., 2019).

Jensen a kol. (2018) hodnotili expresi imunitního genu po léčbě CBD. Autoři dospěli k závěru, že CBD moduluje imunitní geny odlišně, zvyšuje IL1B a IL17A/F2 a snižuje transformační růstový faktor beta, alfa. Ukázalo se, že CBD, má modulační účinek i na nádorovou imunitu, proto je potenciálním terapeutickým cílem při léčbě rakoviny. Sloučenina je považována za složku přípravku známého jako „léčebné konopí“, které se v současné době používá v některých zemích. K úplnému pochopení všech mechanismů podílejících se na protinádorové aktivitě CBD jsou zapotřebí další studie.

CBD v karcinogenezi spojené se zánětem

Ačkoli pro všechny vyšší organismy je zánět nejkompetentnější obrannou reakcí vrozeného a adaptivního imunitního systému, stane-li se zánět chronickým, může nakonec způsobit orgánovou dysfunkci a strukturální poškození. Různé studie ukázaly, že sfingolipidy se podílejí na strukturálním zachování buněčných membrán a specificky zprostředkovávají buněčné funkce: migraci, proliferaci a apoptózu. Proto jsou náchylné k regulaci buňky a následnému nástupu zánětu a rakovině. Sfingosin-1-fosfát je extracelulární ligand pro G protein spřažený receptor sfingosin-1-fosfátový receptor 1 (S1PR1) a může aktivovat transkripci 3 (STAT-3), což je dráha zapojená do přeměny zánětu na onkogenezi. Buněčné, extracelulární a tkáňové koncentrace S1P jsou regulovány jeho nevratnou degradací sfingosin-1-fosfát lyázou (SGPL1). Tento klíčový enzym je lékovým cílem pro návrh imunopresiv. Schwiebs a kol. (2019) prokázali, že na základě iniciačního buněčného zdroje S1P se patofyziologie zánětem indukované rakoviny a rakovinou indukovaného zánětu vyvíjí prostřednictvím samostatných, pozorovatelných molekulárních stádií. Přítomnost dvou různých mechanismů produkce karcinogeneze byla pozorována v modelu kompartmentově specifické deplece v kompartmentu imunitních buněk a kompartmentu tkáňových buněk. V sekci tkáňových buněk zaznamenali rychlý růst nádoru se zvláštní modulací okolí nádoru s chronickým komplexním zánětem, ale relativně opožděná karcinogeneze byla v sekci imunitních buněk. Teorie, že zánět může vést ke vzniku rakoviny a rakovina vede k zánětu, je opodstatněná kvůli společným jevům zvýšenému poškození genomu a syntéze DNA, buněčné multiplikaci, narušení obnovy DNA, podpoře angiogeneze a inhibici apoptózy. Proto může mít potenciálně protizánětlivá sloučenina chemopreventivní účinek (Schwiebs a kol., 2019).

Shrneme-li tyto aspekty, chronický zánět zvyšuje pravděpodobnost různých typů rakoviny, dá se tedy předpokládat, že odstranění zánětu může představovat prevenci a terapii rakoviny. Protizánětlivé působení CBD je potenciální protirakovinný prostředek vhodný klinického zvažení pro léčbu rakoviny. Kombinace protizánětlivých látek a konvenčních protinádorových léků může zlepšit prognózu pacienta (Kis a kol., 2019).

Antiangienní účinky CBD

Účinek CBD zahrnuje antiproliferativní a proapoptotické aktivity a antiangienní vlastnosti. Angiogeneze je tvorba nových krevních cév z již existujících. Tento proces provází růst a invazi rakovinných buněk a metastáz. Karcinogenezi lze modulovat skrz tyto faktory: inhibice růstových faktorů, jako je vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF), integriny,

angiopoetiny, nebo aktivace inhibičních efektorů (trombospondiny a interferony) (Solinas a kol., 2012)

Dosud jen málo studií zkoumalo účinky CBD jako modulátoru angiogeneze. Bylo zjištěno, že kanabinoidy snižují VEGF receptory u různých typů rakoviny. Aktivací CB receptorů byla spuštěna apoptóza endoteliálních buněk. Solinas a kol. (2012) objevili silné antiangiogenní účinky CBD, a to jak *in vitro*, snižující růst, migraci a invazi buněk HUVEC (lidské kmenové endoteliální buňky z pupečnickové žíly), tak *in vivo* u myši. Bylo pozorováno několik změn angiogenních faktorů souvisejících s narušenou angiogenezí. Zajímavým rozdílem ve srovnání s výsledky získanými pro kanabinoidy obecně bylo, že *in vitro* CBD neindukovalo ani apoptózu, ani nekrózu na buňkách ale indukovalo migraci endoteliálních buněk. CBD spouští řadu reakcí, které narušují buněčnou motilitu a invazi, podílí se na degradaci extracelulární matrix. Snižují mikro hustotu cév a hladinu vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (Kis a kol., 2019).

Jiná studie naznačila, že CBD také inhibuje regulační podjednotku, hypoxií indukovaný faktor 1 transkripčního faktoru v buňkách gliomu, což naznačuje jeho zapojení do buněčného přežití, motility a angiogeneze v hypoxickém prostředí. Novější publikace zkoumala, jak by CBD mohlo inhibovat angiogenezi u rakoviny tlustého střeva, a bylo prokázáno, že významně snižuje hladinu prozánětlivých cytokinů IL-6 a IL-8 a zvyšuje aktivitu malonaldehydu, antioxidantního enzymu. CBD snižuje hladiny substrátu mTOR a STAT5 (protein a signální transkripční faktor cytokinového receptoru pro gama řetězec), indukuje vazorelaxaci, čímž přispívá k základnímu mechanismu antiangiogenního účinku v lidských endoteliálních buňkách (Kis a kol., 2019).

Léčba kolorektálního karcinomu a aberantních ložisek s polypy je zaměřená skrz CBD na snížení enzymů kaspázy-3, snížení fosfo-AKT, snížení iNOS a COX-2. Účinek CBD chránil DNA v buňkách před oxidačním poškozením. Zvyšoval hladiny endokanabinoidů a snižoval proliferaci buněk rakoviny pomocí antagonistů těchto receptorů CB1, TRPV 1 a IFN- γ (Aviello a kol. 2012)

Další nedávná studie hodnotila účinek CBD na rakovinu prsu a zjistila, že může modulovat mikroprostředí nádoru snížením aktivace makrofágů, což vede k angiogenní inhibici. Kromě nízké toxicity a nepsychoaktivní aktivity, antiangiogenní vlastnosti má CBD víceúčinné protinádorové účinky (Kis a kol., 2019).

Klinické důkazy protirakovinných účinků CBD

Dnes se CBD stalo mimořádně populární po celém světě. Existuje mnoho typů doplňků stravy, jako jsou kapsle, gummy, tinktury a oleje. Pro topické podávání se často používají krémy, pleťové vody a masti, ale nejběžnějším je CBD olej. Olej se stal preferovaným způsobem podávání pro mnoho uživatelů CBD pro velmi snadné podávání a také umožňuje konzumaci vysoké dávky CBD v lehce požitelné formě. Abychom odhalili plný rozsah jeho pozitivních účinků na rakovinu, je zapotřebí více studií na lidech, které by zkoumaly toxikologické parametry. Rizika účinků dlouhodobého podávání nejsou známa ani u dětí (Kis a kol., 2019).

3.1.5 Alzheimerova choroba (AD)

Neurodegenerativní porucha je charakterizovaná ztrátou paměti, kognitivním poklesem a neuropsychiatrickými příznaky, které narušují běžné denní aktivity člověka. Tato porucha je spojena s přítomností senilních plaků obsahujících amyloid β ($A\beta$). $A\beta$ je bílkovina intracelulárních agregátů tau proteinu v neurofibrilárních zakončeních s progresivní ztrátou neuronů v amygdale, diencephalonu a bazálních ganglií. Amyloidní hypotéza předpokládá, že nadprodukce $A\beta$ proteinu nebo selhání jeho odstraňování v synapsích, způsobuje Alzheimerovu chorobu. A to kvůli agregaci monomerních $A\beta$ druhů do oligomerů s vyšší molekulovou hmotností ($A\beta$ Tau protein), které vedou ke ztrátě neuronálních buněk. V těžkých případech se $A\beta$ nachází také ve středním mozku, dolním mozkovém kmeni a cerebelární kůře, což ukazuje, že akumulace $A\beta$ plaků pozitivně koreluje s průběhem AD (Li a kol., 2023).

Vysoké koncentrace $A\beta$ způsobují, že kinázy hyperfosforylují a aktivují tau proteiny spojené s mikrotubuly, což způsobuje agregaci tau proteinů do nerozpustných NFT (neurotrofni faktory), neuronálních smotků. Po nahromadění proteinů a neuronálních smotků se kolem plaků shromažďují mikroglie. Mikroglie se aktivují a lokální zánět zhoršuje neurotoxicitu, což nakonec vede k poklesu kognitivních funkcí. Důležité je, že AD je spojena s časnou ztrátou synaptických proteinů a bylo zjištěno, že hladiny a distribuce některých synaptických proteinů jsou spojeny se závažností demence (Li a kol., 2023).

Následné studie odhalily, že histopatologie AD zahrnují akumulaci β -amyloidu ($A\beta$) a intracelulární agregace neurofibrilárních klubek (NFT) se ztrátou specifických podskupin neuronů a neurozáněty, vyplývající z gliální aktivity. $A\beta$ a NFT jsou považovány za hlavní příčiny progresu onemocnění. Produkce amyloidu začíná štěpením APP na plazmatické membráně za vzniku nerozpustných $A\beta$ fibril. Poté nerozpustné $A\beta$ fibrily tvoří oligomery,

difundují do synaptické štěrby a interferují se synaptickou signalizací. Narušení neurotrofické podpory a poruchy metabolismu glukózy se podílejí na cholinergní neuronální ztrátě a AD. Chronická expozice mozku vysokými hladinami A β senzibilizuje některé neuronové sítě k hyperexcitaci. U zvířat, která nadměrně exprimují A β , se zjistilo, že vysoké hladiny A β peptidu způsobují epileptiformní aktivitu.

Důkazy naznačují, že A β indukuje neuronální hyperexcitaci a snížení této hyperexcitace může hrát roli v prevenci/zlepšování patogeneze AD (Li a kol., 2023).

Ačkoli existující důkazy odhalují škodlivé účinky A β na buněčnou homeostázu Ca $^{2+}$, neurotransmisi, neuronální signalizaci a funkci receptorů (iontových kanálů), přesné mechanismy A β toxicity jsou stále nejasné. Zejména to, které cíle specificky zprostředkovávají A β toxicitu. Kromě amyloidních plaků a neurofibrinálních klubek je ztráta cholinergních neuronů dalším projevem AD. V kortikálních oblastech mozku cholinergní ztráta přispívá ke kognitivním poruchám. Ztrátě pozornosti a ztrátě koncentrace a poruchám a chování.

Nízké koncentrace THC mohou snížit hladinu A β v buňkách a APP a inhibovat agregaci A β přímou interakcí s A β peptidem. THC zeslabuje akumulaci A β v modelu lidské CNS, kdy indukovatelný protein A β projevuje toxicitu prostřednictvím zánětlivé reakce. THC může kompetitivně inhibovat enzym acetylcholinesterázu (AChE) vazbou na jeho periferní aniontová místa, čímž zvyšuje hladiny acetylcholinu (ACh) a snižuje agregaci A β peptidu indukovaného AChE. Dále bylo zjištěno, že CBD může inhibovat expresi proteinů podílejících se na fosforylaci tau proteinu a produkci A β v mezenchymálních kmenových buňkách. AD se léčí přes inhibitory acetylcholinesterázy. Z důvodu přirozenějšího uvolňování acetylcholinu. Na rozdíl od celkové tonické stimulace jiných receptorů (nikotinových a muskarinových). A tedy i léčba CBD (inhibitorem acetylcholinesterázy) je pacientem lépe snášena (Pidrman a kol., 2003).

V současné době jsou skutečné příčiny AD stále nejasné. Od 2002 nebyl schválen nový lék na AD. Dosud existují 2 typy léků schválených americkým FDA pro léčbu AD na bázi inhibitorů acetylcholinesterázy (donepezil, galantamin a rivastigmin) a antagonistů NMDA (ionotropní glutamátový receptor). Budoucí přístup k léčení AD bude komplexní, nejen terapií jednoho proteinu. AD bude léčena kombinací léčiv s různým mechanismem účinku. Zatím je možné kombinovat pouze inhibitory cholinesterázy s léky na blokády NMDA receptorů.. Všechna tato léčiva jsou pouze symptomatickou léčbou a žádná nemůže zabránit nebo oddálit progresi AD natož vyléčit AD (Hroudová, 2017).

Imunoterapie by mohla snížit agregaci a depozici A β Tau proteinu v mozku. Aducanumab je prvním příkladem protilátky vyvinuté výběrem klonů lidských buněk, které byly vyvolány neo-epitopy přítomnými v rozpustných oligomerech a nerozpustných fibrilátech. To znamená, že jsou postiženy pouze patogenní formy amyloid β (A β . Tau) bez zásahu do monomerů A β proteinu, které hrají rozhodující roli při udržování, přežívání a fyziologické funkčnosti neuronů. Bylo zjištěno, že aducanumab vstupuje do mozku a klinicky měřitelným hodnocením ovlivňuje snížení demence. Klinická účinnost aducanumabu musí být potvrzena v dlouhodobé fázi. Ačkoli Aduhelm (aducanumab) byl nedávno schválen evropskou EDA, jeho účinnost je stále sporná (Beshir a kol. 2022).

Předchozí studie naznačovaly, že CBR byly nejprve objeveny v mozku (1990). A až později, v roce 1993 byl objeven receptor CB2 ve slezině. CB2 je plazmatický membránový receptor sprážený s G-proteinem. Na základě těchto zjištění byly CB2 klasicky považovány za periferní kanabinoidní receptory, později byly identifikovány v CNS, zejména v mikroglialních buňkách. Ale i když jsou exprimovány v mozku v nižších hustotách než CB1, ve srovnání s CB1 vykazují CB2 v CNS následující jedinečné vlastnosti: nižší hladiny exprese, což naznačuje, že receptory za normálních fyziologických podmínek nemusí zprostředkovávat účinek konopí, jsou vysoce indukovatelné, což znamená, že za určitých patologických stavů (např. závislost, zánět, mrtvice, schizofrenie, stres, úzkost atd.) je exprese CB2 zesílena, což naznačuje úzký vztah mezi změnou exprese/funkce CB2 a různými psychiatrickými a neurologickými onemocněními, a dále vykazují zvláštní distribuci, protože že CB2 jsou exprimovány v neuronálních somatodendritických oblastech především postsynapticky, ale CB1 v CNS jsou převážně na neuronových zakončeních, zejména na GABAergních zakončeních presynapticky, což vede k určitým protichůdným účinkům po aktivaci těmito dvěma podtypy receptoru (Li a kol., 2023).

CBR souvisejí s mnoha neurologickými onemocněními a CB2 jsou exprimovány hlavně v postsynaptické soma-dendritické oblasti, takže aktivace CB2 má důležitý ochranný účinek na neurony. CB2 zprostředkovávají řadu důležitých modulací v chování souvisejícím s AD včetně příjmu potravy, tělesné hmotnosti, deprese, úzkosti, schizofrenii a podobné chování. (Nedávné zprávy z několika laboratoří, ukázaly, že mozkové CB2 hrají klíčovou roli při eliminaci závislosti na kokainu, alkoholu a nikotinu) (Šulcová a kol., 2003).

Souhrnně tyto důkazy silně naznačují důležitý dopad CBR na mezokortikolimbický systém, stejně jako v různých funkcích mozku, včetně psychiatrické, kognitivní a neurobiologické aktivity.

Pokud jde o Alzheimerovu chorobu, mohly by se látky podobné terapeutickým účinkům aducanumabu využít jako možný prostředek modifikující chorobu, který by mohl zpomalit nebo zastavit progresivní fáze nemoci. Jednou z problémů při testování těchto sloučenin je nedostatek spolehlivých biomarkerů, které identifikují počáteční fáze onemocnění (Beshir a kol. 2022).

3.1.6 Deprese a CBD

CBD interaguje s několika receptory v mozku (CB1, 5-HT1A, TRPV1), ale ovlivňuje i GPR55. A tím reguluje lidské chování, jako je strach a úzkost (Blessing a kol., 2015).

Jako antidepresivum lze využít CBD, protože je mírný afinitní agonista na lidském receptoru (5-HT1A). Russo a kol. (2005) předpokládá se, že dochází k blokování receptorů na GABAergních neuronech a tedy stimulaci produkce serotoninu přes aktivaci jeho receptoru (5-HT1A) a glutamátu, který je pod vlivem kanabidiolu (CBD). Nastává zvýšení extracelulárního glutamátu v prefrontální kůře mozku.

Obecně lze za účinná antidepresiva považovat selektivní inhibitory zpětného vychytávání serotoninu a inhibitory zpětného vychytávání noradrenalinu, je nutné ale podotknout, že přibližně 30 % pacientů s těžkou depresivní poruchou na tyto látky nereaguje (Linge a kol., 2016).

Mozkové CB2 hrají klíčovou roli při eliminaci závislosti na kokainu, alkoholu a nikotinu (Šulcová a kol., 2003).

3.1.7 Schizofrenie

Schizofrenie je závažné heterogenní onemocnění mozku se složitou povahou. Dysregulace několika neurotransmitterových systémů jako je dopaminergní, glutamatergní, serotonergní a GABAergní hraje roli v rozvoji typických symptomů halucinace, mylné představy, neuspořádané přemýšlení a paranoia, poruchy sociálních interakcí, vyjádření emocí, motivace a kognitivní deficity (Guillin a kol., 2007).

Je potvrzena hypotéza schizofrenijních receptorů N-methyl-D-aspartát (NMDA) u preklinických zvířecích modelů a lidí. Podle této teorie je nadměrné uvolňování dopaminu v mezolimbické cestě a pokles uvolňování dopaminu z mezokortikální dráhy v prefrontální kůře zodpovědné za některé příznaky schizofrenie. Dále se terapie zaměřuje na snížení inhibice NMDA receptorů GABAergních neuronů. Žádné léky schopné selektivně zvyšovat NMDA receptorovou aktivitu v této klíčové oblasti mozku dosud nebyly schváleny pro humánní použití. Studie naznačují, že prodromální a schizofrenní pacienti s raným onemocněním, mají zvýšené hladiny glutamátu v mozku, který je pod vlivem schizofrenie, ve srovnání se zdravými kontrolními osobami (Guillin a kol., 2007).

Zvláštní důraz by mohl být kladen na ty, kteří jsou také těžkými uživateli konopí, protože existuje zvýšené riziko schizofrenie u těch, kteří zneužívají vysoce účinné přípravky konopí, obsahující vysoké procento delta-9- Tetrahydrokanabinol (THC) (asi 15 %) s nedostatkem kanabidiolu (CBD 0-1 %), který jako negativní alosterický modulátor receptoru CB1. CBD zmírňuje psychotogenní účinek THC a může mít antipsychotické vlastnosti.

CBD by tedy mohla být první molekula třídy antipsychotik, která interaguje jak s CB1, tak s D2R (receptor dopaminu). V současné době probíhají tři různé klinické studie fáze II s cílem posoudit klinickou účinnost monoterapie kanabidiolu u nově diagnostikovaných schizofrenních pacientů a jako adjuvantní terapii s konvenčními antipsychotiky druhé generace (Linge a kol., 2016).

3.2 Nežádoucí účinky kanabinoidů

THC, hlavní psychotropní látka, která snižuje tělesnou teplotu, podílí se na tachypnoe, vazodilataci a hypotenzi. Dále způsobuje zarudnutí očí, útlum slzotoku a nitroočního tlaku, bronchodilataci, hyposalivaci, sucho v ústech, štiplavý pocit na patře a imunitní i hormonální změny. Narušuje krátkodobou paměť, psychomotorické funkce podobně jako alkohol. Ale naopak vnímání času je opačné čili zpomalené. Toxicita THC je nízká. Akutní účinky jsou vratné (Tejkalová, 2015).

CBD, má i několik málo vedlejších účinků. Jako jsou únava. Změna chuti k jídlu. Průjem a změny schopnosti jater metabolizovat jiné látky, například cytochrom (P 450).

Vědecké výzkumy však prokázaly, že kanabidiol chrání nervové buňky proti nedostatku kyslíku a proti různým jedům, včetně otravy alkoholem, jelikož zpomaluje buněčné stárnutí. CBD by mohl být velmi cenné pro léčbu cévní mozkové příhody a nitrolebních traumatických

poškození mozku. Prokázal svou účinnost při léčbě neurodegenerativních poruch způsobených priony. Vykazuje protizánětlivé, anxiolytické a antipsychotické účinky. Další oblasti léčebného využití kanabidiolu jsou epilepsie, cukrovka, úzkostná porucha, bipolární afektivní porucha, schizofrenie, roztroušená skleróza, nauzea a také jako alternativa nebo podpora při léčbě rakoviny (Maida a Daeninck, 2016).

THC:CBD, poměr účinných látek je zásadní pro léčebné záměry. Potlačení psychomimetických a anoxigenních účinků ve prospěch myorelaxačních, analgetických, antiemetických, antidepressivních, anxiolytických a dalších příznivých účinků. V současnosti na trhu jsou farmaceutika v obsahovém poměru 1:1 (Tejkalová, 2015).

Kvantitativně můžeme rostliny konopí rozdělit dle obsahů kanabinoidů (Petřů, 2008):

- terapeutické (obsah THC < CBD).
- vysoko obsahové (obsah THC > CBD), viz kapitola 3.2.1

Více relevantní pro určení vztahu mezi jednotlivými taxony je poměr THC/CBD. Je stabilní monogenní znak, předáván z generace na generaci (v ideální Hardy-Weinbergově populaci), je teoretické rovnovážné rozložení alel v populaci a je nezávislý na biotických a abiotických faktorech, které jinak ovlivňují výsledky kvantitativních analýz kanabinoidů (Kubáčková 2018).

3.3 Využití kanabinoidů v medicíně

Fyziologické účinky fytoKANABINOIDŮ jsou dosahovány specifickou senzibilizací CBR. Proto jejich vedlejší nežádoucí účinky nejsou prokazatelně škodlivější než u běžných neselektivních farmak. FytoKANABINOIDY jsou také méně adiktivní. CBD neselektivně obsazuje CB1 i CB2 jako úplný receptorový antagonist, čímž vylučuje vazbu THC na CB1 v mozku (THC je parciální agonista CB1).

Například kyselina kanabidiolová (CBDA) je mnohem účinnější v blokování COX-2 oproti jiným kanabinoidům či nesteroidním antiflogistikům (NSA), které neselektivně zabírají oba enzymy COX-1 i COX-2. Z toho je patrné, že nežádoucí účinky kanabinoidů nejsou škodlivější než nežádoucí účinky běžných farmak. Farmaka kombinující kanabinoidy extrahované za studena s kanabinoidy extrahovanými zahřátím zvyšují svůj protizánětlivý efekt oproti běžným léčivům. Samotné pití za studena lisované konopné šťávy pomáhá snížit dávkování NSA. Ukazuje se, že konopné extrakty a tedy směs kanabinoidů a terpenoidů, ale i

flavonových kyselin, stilbenů, alkaloidů a dalších, mají vyšší účinnost než klasická farmaka a syntetické kanabinoidy (Grinspoon and Bakalar, 1995).

Největší profit má lidský organismus z čistých fytoakanabinoidů v celém jejich spektru. Avšak i kombinace fytoakanabinoidů a syntetických kanabinoidů se jeví jako druhá nejlepší varianta pro uživatele, pro menší množství nežádoucích účinků. Fytoakanabinoidy lze přidávat i ke klasickým léčivům, kde opět pomáhají redukovat vedlejší nežádoucí účinky klasických léčiv.

Mezi již ve světě používaná léčiva s obsahem fytoakanabinoidů patří: Cibidol (4% CBD olej - konopný extrakt), Sativex (oromuconasal sprej), Acomplia (antiobezikum), Namisol (proti refrakterní neuropatické a chronické bolesti), Cesamet (antiemetikum při nádorovém onemocnění), Marino (při kachexii a anorexii) (Lužný a Povová, 2013).

CBD je obsaženo v léčivech: Sativex (THC:CBD je 1:1), Epidiolex (čisté CBD), Arvisol (čisté CBD) (Kis a kol., 2019). Fytoakanabinoidy účinkují na svalovou spasticitu (při RS nebo míšních lézích), při poruchách pohybu (Parkinsonova choroba, dystonie, dyskinézy). Jejich účinek je využíván pro tišení neurogenních bolestí, při léčbě glaukomu, astmatu a dalších onemocněních (Amerongen a kol., 2018).

3.3.1 Primární fytoakanabinoidy

I když v současné době je přes sto kanabinoidů, které byly objasněny z rostliny *Cannabis sativa*, nejrozšířeněji studované jsou z nich THC a kanabidiol (CBD). Zkoumání fytoakanabinoidů na patologii TPM má nejen aktuální význam, ale taky je slibnou potenciální léčbou pro TPM a jiné poruchy. Klinické a preklinické nálezy prokázaly, že primární psychoaktivní složka *Cannabis sativa*, THC, je neuroprotektivní když je podáváno před traumatickým poškozením. Ve tříleté retrospektivní studii u pacientů, kteří přežili TPM, výsledky urino toxikologického vyšetření ukázaly snížení úmrtnosti u jedinců s pozitivním THC vyšetřením. U dvou myších modelů úrazu CNS, který způsobil kognitivní deficit, pentylenetetrazol (excitotoxické činidlo) a oxid uhelnatý indukovaný hypoxickým poraněním, předchozí podání THC prokázalo ochranu před poškozením. Mimořádně nízká dávka THC (0,002 mg.kg⁻¹) redukuje s úrazem spojené kognitivní deficity u myši. Autoři vysvětlují tento efekt skrz známý dvoufázový účinek THC navozující analgezii, akutní hypotermii a sníženou lokomoci u vysokých dávek (10 mg.kg⁻¹), a produkci hyperalgie, hypertermie a zvýšené lokomoce u nižších dávek (0,002 mg.kg⁻¹). Nízké dávky THC ovlivňují vstup vápníku do buněk

in vitro, zvyšování uvolnění glutamátu by mohlo být mírně neurotoxické. Předpokládá se, že nízká dávka THC před léčbou produkuje podmiňovací účinek, kde se mírně škodlivý stimul stává protektivní proti více závažným následným poškozením, jež se vyskytuje v kardiologii, stejně jako u ischemie mozku. Navíc molekulární signální kaskáda za kardiální a cerebrální ischemií zahrnuje aktivaci ERK a Akt. (řetězec proteinů v buňce, který vydává signál z receptoru na povrchu buňky do jádra buňky) (pozn. autor). Za současné inhibice MAGL (Morales a Reggio, 2017).

Přestože 80-90 % expozice THC se u jedinců vylučuje během 5 dnů od podání, pomalé uvolňování lipofilního THC z úložiště lipidů (ústí v jeho dlouhý poločas rozpadu v plazmě), tato expozice může být zodpovědná, že jedinci mohou zažívat stavy velmi nízké koncentrace THC v plazmě. A to v prodloužené periodě po každém podání. Ačkoli klinické studie TPM indukované mortality nepodávají žádná data ke kvantifikaci hladiny THC u THC pozitivních jedinců, nízká dávka THC v poraněném CNS myši může imitovat farmakokinetiku THC u lidí. Tato předpokládaná prodloužená expozice THC vzhledem k jeho farmakokinetice, stejně jako i k dalším potenciálně neuroprotektivním kanabinoidům, jako je CBD, může být zodpovědný za účinky přežití objevené u pacientů s TPM exponovaných konopí. Zjištění zvýšeného klinického významu je, že podmínění (když mírně škodlivý stimul je aplikován po zranění) nízkou dávkou THC jsou šetrící účinky na kognici mozku u myši. Ať už jsou tato zjištění jakkoli kontroverzní, je potřeba je ověřit na zvířecích modelech TPM. Fytokanabinoid CBD, který je v současné době vyšetřován v klinických studiích pro jeho potenciál při snižování záchvatů u Komplexu tuberozní sklerozy, je známý svými protizánětlivými vlastnostmi. Ačkoli CBD se neváže na CB1 a CB2 receptory, aktivuje receptor GPR55 spřažený s G-proteinem, inhibuje nukleosidový transporter 1, inhibuje sodíkové kanály, a produkuje zvýšení koncentrace extracelulárního adenosinu A2A receptoru. Zatímco v současnosti nejsou žádné studie, které by zkoumaly protizánětlivý účinek CBD po TPM, CBD snížilo expresi FosB (protein) po kryogenním působení na poranění míchy a snížil expresi iNos u myších modelů tauopatie (neurodegenerativní onemocnění). CBD by mělo být vyšetřováno ve studii neuroinfekce v reakci na poranění mozku (Morales a Reggio, 2017).

4 Metody analýzy fytoKANabinoidů

Marihuana je droga, která vzniká usušením květenství samičích rostlin konopí (palice) s obsahem nad 0,3 % THC. Nejpodstatnější chemickou složkou marihuany nejsou alkaloidy, jako u jiných rostlin, ale kanabinoidy. Konopí je produkuje jako jediná rostlina na světě.

Běžně se používají následující chromatografické metody: chromatografie na tenké vrstvě (TLC), plynová chromatografie (GC) a vysoce výkonné kapalinové chromatografie (HPLC). Pro kvantitativní určení THC, stejně jako další aktivní komponenty, jako kanabinoidy a terpeny, se používá HPGC (vysoce výkonná plynová chromatografie), metoda s vhodným rozpouštědlem, kde lze úspěšně extrakci kombinovat s použitím ultrazvuku (Šubrtová, 2021).

4.1 Rozpustnost fytoKANabinoidů

Kanabinoidy jsou při pokojových teplotách tuhé krystalické látky špatně rozpustné ve vodě, ale dobře rozpustné v tucích (oleje), alkoholech (etylalkohol/ethanol, isopropylalkohol, glycerin, ...), ketonech (aceton, ...), inertních nepolárních rozpouštědlech (butan, hexan, pentan, ...) a dalších organických rozpouštědlech (chloroform, dimethylsulfoxid, dimethylformamid, aj.).

Zvýšení obsahu fytoKANabinoidů můžeme dosáhnout dekarboxylací a izomerizací (Dupal, 2010).

Jedná se o tzv. prekoncentraci detekovatelné látky. Z důvodu nízké koncentrace detekovaného vzorku (Kurfířt, 2019).

Klíčovou otázkou je způsob podávání cílového léčiva. Nejvhodnějším základem je olej pro zažívací trakt, pro absorpci pokožkou je nejefektivnější olejový, tukový nebo alkoholový základ (Miovský, 2008).

4.1.1 Ztráty oxidací

THCA metabolity jsou obvykle výsledkem oxidace. Lze tomu zamezit vzduchotěsným skladováním ve tmě. Téměř nulový je proces oxidace v mrazicím boxu. Při pokojové teplotě se množství účinných látek může snížit během několika prvních měsíců po sklizni o deset procent. (Droga Marihuany se skládá ze sušených květů listů a lodyh samičí rostliny konopí. To je

nejvíce používaná podoba drogy a obsahuje přibližně 3 % až 20 % THC. Konkrétní a vysoce výkonné formy marihuany dosáhnout obsah THC vyšší než 30 % (Šubrtová, 2021).

4.1.2 Dekarboxylace

Základem syntézy kanabinoidů je reakce terpenových sloučenin. Známa je reakce kdy geranylpyrofosfát reaguje s kyselinou olivetovou a vzniklý metaprodukt se štěpí na kyselé formy CBD a CBC (kanabichromen). Z CBD pak vzniká THC v kyselé formě. Kyselé formy kanabinoidů však nejsou psychoaktivní. Psychoaktivními se kanabinoidy stávají teprve přechodem na neutrální formu, dekarboxylací, odstraněním funkční karboxylové skupiny – COOH za vzniku oxidu uhličitého. Tato dekarboxylace probíhá až při teplotách od 95 °C. Lze tedy říci, že materiál získaný z konopí musí projít po určitou dobu teplotami nad 95 °C, aby vykazoval psychotropní účinky (Myšíková, 2007; Fišar 2006).

4.1.3 Izomerizace

Tato reakce nastává v kyselém prostředí zahřátím na teplotu +105 °C na dobu 15 minut. Konopný olej se rozpustí v etanolu či metanolu (1:1) a po kapkách se přidává koncentrovaná kyselina sírová. Směs se chladí a destiluje. Teploty varu THC a CBD jsou nad +190 °C, a tak jejich zničení při dekarboxylaci nehrozí.

Některé novější marihuanové produkty, hašišový olej, medový olej, mohou být psychoaktivní i bez uvedení na tuto teplotu, dekarboxylace u nich probíhá chemicky při výrobě (Myšíková, 2007; Dupal 2010).

4.1.4 Všeobecná příprava vzorku fyto-kanabinoidů:

- V lihovodním roztoku nebo alkoholu můžeme extrahovat za studena, za tepla i varem.
- V olejích a tucích můžeme rovněž extrahovat za tepla, za studena i smažením.
- V olejnato-vodní emulzi za tepla i za studena. jsou-li rozpuštěny v alkoholu.

Moderní technika zvaná izomerizace, také dekarboxylace, může dále účinnost haš-oleje ještě zvýšit, aniž by se přitom snížil jeho objem. Tento proces přeměňuje jednu z neúčinných složek oleje na aktivní THC, přičemž přeskupením atomů souběžně přetváří nízkorotační

molekulu THC na vysokorotační a silnější izomer. Tato přeměna může zvýšit sílu haš-oleje až šestkrát a zlepšit některé parametry účinku. (Fišar, 2006).

Charakterizace konopného oleje je dána tukovými čísly; peroxidovým číslem, antiseptickým číslem, barbiturátovým číslem, číslem kyselosti, číslem zmýdelnění a jodovým číslem (Bočanová, 2021).

Olejnate a tukové přípravky s kanabinoidy chráníme před přístupem vzduchu, teplem a žluknutím (hrozí zejména u másla). Žluklé přípravky jsou zdraví škodlivé (Petrů, 2008).

4.2 Laboratorní analýza fytoKANABINOIDŮ

PŘÍPRAVA ROSTLINNÉHO VZORKU, HOMOGENIZACE

Odebereme suché samičí květenství. Vzorky skladujeme ve vzduchotěsných plastových sáčcích v mrazu a temnu, aby se předešlo vypařování těkavých látek zájmu. Suchý materiál musí být drcen na homogenní prášek (Petrů, 2008).

EXTRAKCE

Ultrazvukové extrakce:

Prášek rostli konopí a směs metanolu a chloroformu smícháme. Odebereme vzorek, použijeme ultrazvuk, sonikujeme a současná kavitace způsobuje destrukci rostlinných buněk, takže se uvolňuje bioaktivní látky. Následuje diluce zředěného čistého supernatanu v extrakční směsi (Šubrtová, 2021).

Extrakce rozpouštědlem:

Vzorek ve zkumavce smícháme s etanolem, po uzavření protřepeme. Po třepání slijeme čistý supernatan (THC přelijeme z povrchu centrifugovaného roztoku, na kterém THC plave) do odměrné baňky (Uhlířová, 2022).

4.3 Klinické analytické metody

Základními typy klinických analytických metod jsou metody screeningové, které nám podávají kvalitativní informace o přítomnosti kanabinoиду ve vzorku a nepostradatelné jsou pak potvrzovací metody výsledku screeningových metod, které je kvantifikují.

Imunologická analýza látek

Imunologickou analýzu látek řadíme do skupiny screeningových metod a využívá se pro stanovení látek v biologických matricích (vlasy, sliny, krev, moč). Hlavním funkčním mechanismem této metody je navázání protilátky na antigen. Jako následnou metodu lze použít GC.

Tato metoda poskytuje přesné a spolehlivé výsledky, které lze navíc získat snadno a rychle, bez vysokých finančních nákladů. Bohužel ale nelze detekovat více látek najednou.

Nejpřesnější poznatky o analyzované látce můžeme získat použitím radioimunoanalýzy (RIA), která dokáže detekovat i látky o velice nízkých koncentracích. Další jsou enzymatická imunologická analýza (ELISA) nebo fluorescenční homogenní polarizační technika (FPIA). (Kubáčková, 2018)

Chromatografická analýza látek

K analýze je využíváno plynové chromatografie (GC) nebo kapalinové chromatografie (LC) s detekcí hmotnostní spektrometrie (MS). Konkrétní metody jsou například GC-MS, kterou lze uplatnit při detekci kanabinoidů ve vlasech nebo v krvi, dále také HPLC, jejíž předností je velice dobrá schopnost detekce, a to až 7 typů kanabinoidů (Tejkalová, 2015).

Analýza látek iontovou mobilní spektrometrií

Iontovou mobilní spektrometrií můžeme stanovovat výskyt látek i stopového množství, a to navíc z různých materiálů, které mohou být biologického ale i nebiologického původu (např. oblečení). Pro tuto metodu je třeba pouze minimálních úprav analyzovaného vzorku, který následně musí projít procesem odpaření a ionizace v elektromagnetickém poli. Finální výsledky jsou pak k dispozici poměrně rychle (Scharodová, 2014; Podzimková, 2012).

4.4 Stanovení ve vlasech

Ve vlasech se kanabinoidy udrží velice dlouhou dobu řádově týdny až rok po užití. Ukládání kanabinoidů může být ovlivněno vlastnostmi ukládané látky nebo vlastnostmi vlasu. Uchování látky ve vlasu ovlivňuje její lipofilní charakter nebo zásaditost, přičemž nezanedbatelným faktorem je i množství vlasového pigmentu melaninu, délka a struktura vlasu. Pokud je struktura vlasu pórovitá a jemná, budou se do něj kanabinoidy ukládat snadněji, takové vlastnosti vykazuje dětský vlas.

Pro stanovení kanabinoidů ve vlasech se využívá segmentační analýzy, kdy se provádí rozbor jednotlivých úseků vlasu, díky čemuž můžeme získat i relativně dobrou časovou orientaci v užívání kanabinoidů. Vzorek vlasu lze snadno získat a také uchovat, protože nepodléhá rychlým hnilobným procesům (Kurfírt, 2019).

K analýze ustříháme pramen vlasů o průměru tužky, stříh provádíme na temeni hlavy těsně u pokožky. Získané vlasy pak zvážíme a změříme. přičemž pamatujeme na to, že k rozboru je nutné mít alespoň 30-50 mg vlasů, které následně promyjeme organickým rozpouštědlem (chlormetanem), což napomáhá odstranění tuků. Vlasový vzorek je pak rozdělen na segmenty a rozstříhán na asi milimetrové úseky. Kanabinoidy se z vlasů získají alkalickou hydrolyzou. Která trvá 2 hodiny při teplotě 55°C. Nebo kyselou hydrolyzou. HCl 1 hodinu při 100°C. Dále extrahujeme. Následně získané extrakty analyzujeme pomocí GC-MS (Kubáčková, 2018).

4.5 Stanovení v krvi

Stanovení kanabinoidů se provádí GC-MS,. Vzorek krve se odstředí na centrifuze, odebereme 0,5-1 ml séra, které je pak analyzováno.

V organismu v 1. fázi po požití kanabinoidů, vznikají oxidativní metabolity, které v 2. fázi vytvářejí konjugáty vylučované močí. Akutní konzumace kanabinoidů a stav ovlivnění se prokáže analýzou krevního vzorku a průkazem přítomnosti aktivní komponenty THC, nikoliv průkazem inaktivních metabolitů. Zisk přesných výsledků je ztížen rychlým poklesem koncentrace kanabinoidů v krvi člověka (Schardová, 2014)

4.6 Stanovení v moči

IMUNOCHEMICKÉ TESTY

Tyto testy jsou nejrychlejší a nejjednodušší metodou pro stanovení kanabinoidů v moči. Testy fungují na principu blokování vazby testovaným analytem nebo kompeticí testovaného analytu a analytu testovacího setu pro navázání na protilátku.

CHROMATOGRAFICKÉ METODY

Rozlišujeme chromatografii na tenké vrstvě (TLC), při které rozdělujeme látky vzorku moči mezi stacionární a mobilní fázi na základě rozdílné pohyblivosti.

Další metodou je plynová chromatografie (GC-MS), kdy nastává dělení látky vzorku moči mezi stacionární a mobilní fází na základě rozdílné tenze jejich par a poté jsou detekovány hmotnostní spektrometrií (MS) (Miovský 2008, Podzimková 2012).

4.6.1 Zásady odběru

Pro správný odběr musíme přesně a jednoznačně identifikovat odebíraný materiál a jeho vzorek označit nejlépe štítkem nebo čárovým kódem, pro prevenci záměny. Dbáme také specifity odběrů pro jednotlivé typy materiálů. Pacienta musíme před odběrem vždy poučit. Faktory, které mohou ovlivnit finální výsledky jsou doba provedení odběru (cirkadiánní rytmus, lačnění), poloha pacienta (vsedě, vleže), typ odběrových zkumavek nebo technika odběru. Pro identifikaci noxů potřebujeme u různých látek různé hodnoty objemů. Dostatečné množství odebrané moči je alespoň 100 ml, vzorek uchováme ve skleněné nádobě. Při vyšetření žaludečního obsahu se prvního výplachu odebírá asi 50 ml. Při odběru krve postačí objem o hodnotě 10 ml. Vlasy odebíráme pramen vlasů o průměru tužky, stříh provádíme na temeni hlavy těsně u pokožky 30-50 mg (Kalina, 2008; Schardová, 2014).

4.6.2 Podmínky transportu a uchování vzorků

Nejčastěji odebíráme pro analýzu krev venózní venepunkcí v loketní žíle. Před odběrem je nutné pacienta poučit, musí přijít nalačno, tzn. že 10-12 hodin před odběrem nejedl a byl v relativním klidu. Odběr provádíme ráno. Oblast odběru dezinfikujeme prostředky bez obsahu alkoholu, po dezinfekci místa se přikládá turniket, jehož použití nepřesahuje 1 minutu a pacientova paže zůstává nehnutě. Odběr se provádí do čisté a suché zkumavky, která neobsahuje separátor. Pro zjištění výskytu kanabinoidů se používají zkumavky pro odběry na stopové prvky. Pokud by byl vzorek využit pro soudní analýzu, musí se odebrat do dvou zkumavek. Chceme-li provést rozbor plazmy, odebíráme ji do zkumavek bez separačního gelu s protisrážlivým činidlem, pro rozbor séra využijeme k odběru zkumavku bez přídavných látek a separačního gelu. Za nevhodné jsou považovány zkumavky se silikonovým uzávěrem. Pakliže chceme vzorek skladovat delší dobu, použijeme zkumavku s konzervační látkou (např. fluorid sodný). Transport odebrané krve do laboratoře je nejlepší provést ihned a například na ledu, pokud tak učinit nelze, je nutné zkumavku s krví uchovat v chladničce při teplotě asi 4 °C.

Pokud vzorek zamrazíme na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ lze jeho stabilitu a neměnnost zajistit až na dalších 72 hodin (Kalina, 2008; Schardová, 2014).

V porovnání s jednomolekulárními protizánětlivými léčivy mají vyvážené a netoxické léčebné účinky. Rozšiřování kultivarů v co možná největším množství a rozmanitosti rodu *Cannabis sativa* je výrazně komplikován, neboť léčebný účinek je synergií velkého množství sloučenin. Tento problém je možné vyřešit komplexním přístupem: současně identifikovat a kvantifikovat veškeré hlavní sloučeniny v kultivarech a analyzovat je pomocí multivariantní analýzy, jako je PCA. Jedná se o vědecký a matematický přístup pro identifikování vzorců v datech a jejich vyjádření zvýrazněním jejich podobností a rozdílů. Umožňuje klasifikovat rozmanité kultivary do menšího množství chemicky odlišných skupin (Tejkalová, 2015).

5 Závěr

Teprve na přelomu století 20. a 21. bylo objeveno, jak CBD a THC ovlivňuje funkce lidského těla. Tato práce aspoň částečně informovala o aktuální fytochemii CBD a zdůraznila vliv farmakokinetiky a farmakodynamiky. Ale i toxikologii fytokanabinoidů i syntetických kanabinoidů. Cesty podání a dávkování. Tato bioaktivní molekula, CBD, má velmi složitý mechanismus účinku a je potřeba ji více zkoumat.

Endokanabinoidní systém je jakýmsi kontrolním článkem našeho těla a pomáhá udržovat ostatní fyziologické procesy v rovnováze, čehož využívá moderní medicína při léčbě mnoha onemocnění. V této práci byl popsán mechanismus účinků ECS u některých nemocí a patologických stavů.

6 Použitá literatura

1. ŠIRL, Marek. Konopí indické. In: INDICA VERSUS SATIVA: Využití biotechnologických metod při pěstování technického konopí (*Cannabis sativa* L.). [online]. ČR: Marijanka, 2016 [cit. 2017-06-07]. Dostupné z: <http://marijanka.cz/wp-content/uploads/2013/11/sativa-854x1024.jpg>
2. PUŠKÁROVÁ, Radka. Potravinářské a kosmetické využití technického konopí [online]. Brno, 2019 [cit. 2023-06-27]. Dostupné z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/113474>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně.
3. TEJKALOVÁ, Kateřina. Cannabis sativa – objasnění vztahu mezi domnělými poddruhy [online]. Brno, 2015 [cit. 2023-05-24]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/th/slmth/>. Diplomová práce. Masarykova Univerzita.
4. AMERONGEN G., KANHAI, K. a kol. Effects on Spasticity and Neuropathic Pain of an Oral Formulation of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in Patients With Progressive Multiple Sclerosis. *Clinical Therapeutics* [online]. 2018, 40(9), 1467-1482 [cit. 2023-06-28]. ISSN 01492918. Dostupné z: [doi:10.1016/j.clinthera.2017.01.016](https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2017.01.016)
5. FIŠAR, Zdeněk. Fytokanabinoidy. *Chem. Listy*. Praha, 2006, 2006(100), 233-242.
6. MIOVSKÝ, Michal. Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium. I. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-0865-2.
7. Dekarboxylace. In: Cannapedia: Encyklopedie konopných odrůd [online]. Praha: Cannapedia, 2023 [cit. 2023-06-28]. Dostupné z: <http://www.cannapedia.cz/cs/slovník-konopnych-pojmu/dekarboxylace>
8. MICHALEC, Lukáš. Endokanabinoidní systém jako farmakoterapeutický cíl [online]. Brno, 2018 [cit. 2023-06-28]. Dostupné z: <https://is.muni.cz/th/fynn6/>. Bakalářská práce. Masarykova Univerzita.
9. DUPAL, Libor. Kniha o marihuaně. 3., dopl. vyd. Praha: Mat'a, 2010. Matamata. ISBN 978-80-7287-136-0.
10. TAYLOR, A.H., ANG, C. a kol. The role of the endocannabinoid system in gametogenesis, implantation and early pregnancy. In: *Human Reprod Update* [online]. GB: Oxford university press, 2007, s. 501-513 [cit. 2017-06-08]. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmm018>. ISSN 1355-4786. Dostupné z: <https://academic.oup.com/humupd/article-lookup/doi/10.1093/humupd/dmm018>

11. LI, A.-L., CAREY, L. M. a kol. Cannabinoid CB 2 Agonist GW405833 Suppresses Inflammatory and Neuropathic Pain through a CB 1 Mechanism that is Independent of CB 2 Receptors in Mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* [online]. 2017, 362(2), 296-305 [cit. 2023-06-29]. ISSN 0022-3565. Dostupné z: doi:10.1124/jpet.117.241901
12. KIM, P. S., FISHMAN, M. A. Cannabis for Pain and Headaches: Primer. *Current Pain and Headache Reports* [online]. 21. Springer, 2017, 21(4), 19 [cit. 2017-06-06]. ISSN 1534-3081. Dostupné z: doi:10.1007/s11916-017-0619-7.
13. HELLIWELL, R. J. A., CHAMLEY, L. W. a kol. Characterization of the Endocannabinoid System in Early Human Pregnancy. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* [online]. 2004, 89(10), 5168-5174 [cit. 2019-06-27]. ISSN 0021-972X. Dostupné z: doi:10.1210/jc.2004-0388
14. IZZO, A. A., BORRELLI, F. a kol. Non-psychotropic plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends in Pharmacological Sciences* [online]. 2009, 30(10), 515-527 [cit. 2023-06-29]. ISSN 01656147. Dostupné z: doi:10.1016/j.tips.2009.07.006
15. HABÁSKO, Jan. Neurotransmitery. Praha, 2015. Středoškolská odborná činnost. Gymnázium Jana Nerudy v Praze.
16. CARACI, F., LEGGIO, G.M. a kol. New drugs in psychiatry: focus on new pharmacological targets. *F1000Research* [online]. 2017, 6(397), 1-10 [cit. 2019-06-27]. DOI: 10.12688/f1000research.10233.1. ISSN 2046-1402. Dostupné z: <https://f1000research.com/articles/6-397/v1>
17. YOO, K.-Y., PARK S.-Y.. Terpenoids as Potential Anti-Alzheimer's Disease Therapeutics. *Molecules*[online]. 2012, 17(3), 3524-3538 [cit. 2019-06-27]. DOI: 10.3390/molecules17033524. ISSN 1420-3049. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1420-3049/17/3/3524>
18. LINGE, R., JIMÉNEZ-SÁNCHEZ, L. a kol. Cannabidiol induces rapid-acting antidepressant-like effects and enhances cortical 5-HT/glutamate neurotransmission: role of 5-HT1A receptors. *Neuropharmacology*[online]. 2016, 103, 16-26 [cit. 2019-06-27]. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2015.12.017. ISSN 00283908. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0028390815302136>

19. MAIDA, V, DAENINCK, P.J. A User's Guide to Cannabinoid Therapies in Oncology. *Current Oncology* [online]. 2016, 23(6), 398-406 [cit. 2023-06-29]. ISSN 1718-7729. Dostupné z: doi:10.3747/co.23.3487
20. COUFALOVÁ, Pavlína. CBD/CBG a účinky na tělo [online]. Univerzita Pardubice, 2022 [cit. 2023-06-29]. Dostupné z: <https://dk.upce.cz/handle/10195/80322>. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice.
21. SCHARDOVÁ, Petra. Stanovení THC v krvi metodou GC- MS na základě pozitivního imunochemického záchytu [online]. Brno, 2014 [cit. 2023-06-29]. Dostupné z: https://is.muni.cz/th/106810/lf_b/Cannabis-_word.pdf. Bakalářská práce. Masarykova Univerzita.
22. PODZIMKOVÁ, Lucie. Stanovení omamných a psychotropních látek v netradičních matricích [online]. Pardubice, 2012 [cit. 2023-06-29]. Dostupné z: https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/47619/PodzimkovaL_StanoveniOmamnych_PB_2012.pdf?sequence=2&isAllowed=y. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice.
23. KALINA, Kamil. Základy klinické adiktologie [online]. Praha: Grada Publishing, 2008 [cit. 2023-06-29]. ISBN 9788024770109. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=prc-VADT_KkC&printsec=frontcover&hl=cs#v=onepage&q&f=false
24. SCHURMAN, L. D., LICHTMAN, A. H. Endocannabinoids: A Promising Impact for Traumatic Brain Injury. *Frontiers in Pharmacology* [online]. USA: Carolina University, 2017, 8, 17 [cit. 2019-06-03]. ISSN 1663-9812. Dostupné z: doi:10.3389/fphar.2017.00069
25. GELDENHUYS, W. J., VAN DER SCHYF, C. J. Designing drugs with multi-target activity: the next step in the treatment of neurodegenerative disorders. *Expert Opinion on Drug Discovery* [online]. 2013, 8(2), 115-129 [cit. 2019-06-03]. ISSN 1746-0441. Dostupné z: doi:10.1517/17460441.2013.744746
26. MALFAIT, A. M., GALLILY R. a kol. The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritic therapeutic in murine collagen-induced arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2000, 97(17), 9561-9566 [cit. 2019-06-03]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.160105897
27. GRINSPOON, Lester. Marijuana as Medicine. *JAMA* [online]. 1995, 273(23), 1875-1876 [cit. 2019-06-27]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.1995.03520470083037

28. ZHU, D., GAO, F. a kol. Endocannabinoid Metabolism and Traumatic Brain Injury. Cells [online]. 2021, 10(11), 2979 [cit. 2023-06-25]. ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells10112979
29. MIOVSKÝ, Michal. Konopí a konopné drogy: Adiktologické kompendium. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-0865-2.
30. CAIRNS, E. A., BALDRIDGE W. H. a kol. The Endocannabinoid System as a Therapeutic Target in Glaucoma. Neural Plasticity [online]. 2016, 2016, 1-10 [cit. 2023-06-27]. ISSN 2090-5904. Dostupné z: doi:10.1155/2016/9364091
31. MCDONALD, S. J., SUN. M. a kol. The effect of concomitant peripheral injury on traumatic brain injury pathobiology and outcome. Journal of Neuroinflammation [online]. 2016, 13(1) [cit. 2023-06-27]. ISSN 1742-2094. Dostupné z: doi:10.1186/s12974-016-0555-1
32. MILFORTOVÁ, Lenka. Kanabinoidy. Kontakt [online]. 2010, 12(3), 343-351 [cit. 2023-06-28]. ISSN 12124117. Dostupné z: doi:10.32725/kont.2010.047
33. LUŽNÝ, J., POVOVÁ, J. Teoretické předpoklady pro léčbu kanabinoidy u neurodegenerativních chorob. Čes a slov Psychiat [online]. 2013, 103(5), 232-238 [cit. 2023-06-28]. Dostupné z: <http://www.cspychiatr.cz/detail.php?stat=908>
34. ZOU, S., KUMAR, U. Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. International Journal of Molecular Sciences [online]. 2018, 19(3), 1-23 [cit. 2023-06-29]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms19030833
35. ŠULCOVÁ, Alexandra. Úloha endokanabinoidního systému v projevech postižení nervového systému. Neurologie pro praxi [online]. 2003, 2003(3), 144-147 [cit. 2023-06-29]. Dostupné z: https://www.neurologiepropraxi.cz/artkey/neu-200303-0009_Uloha_endokanabinoidniho_systemu_v_projevech_postizeni_nervoveho_systemu.php
36. DOLEŽAL, Martin. Perspektivy ve skupině návykových látek. Praktické lékařství [online]. 2012, 8(4), 170-174 [cit. 2023-06-29]. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/lek-201204-0006_Perspektivy_ve_skupine_navykovych_latek.php
37. MAĎA, P., FONTANA J. 4. Neurotransmisní systémy. Funkce buněk a lidského těla: Multimediální skripta se cvičebnicí [online]. Praha: 3. lékařská fakulta, Univerzita

- Karlova, 2014 [cit. 2023-06-29]. Dostupné z: <http://fblt.cz/skripta/regulacni-mechanismy-2-nervova-regulace/5-neurotransmisni-systemy/>
38. MCPARTLAND, J. M. Cannabis sativa and Cannabis indica versus “Sativa” and “Indica.” Cannabis sativa L. - Botany and Biotechnology [online]. Cham: Springer International Publishing, 2017, 2017-05-24, 101-121 [cit. 2023-06-27]. ISBN 978-3-319-54563-9. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-54564-6_4
39. KIS, B., IFRIM F. C. a kol. Cannabidiol—from Plant to Human Body: A Promising Bioactive Molecule with Multi-Target Effects in Cancer. International Journal of Molecular Sciences [online]. Basilej, Švýcarsko: MDPI AG, St. Alban-Anlage 66, 2019, 20(23), 24 [cit. 2023-06-21]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20235905
40. FURLOW, Bryant. Recreational cannabis legalisation in the USA outpaces research into health effects. The Lancet Respiratory Medicine [online]. 2017, 5(5), 385-386 [cit. 2023-05-30]. ISSN 22132600. Dostupné z: doi:10.1016/S2213-2600(17)30107-8
41. BACHHUBER, M. A., SALONER B. a kol. Medical Cannabis Laws and Opioid Analgesic Overdose Mortality in the United States, 1999-2010. JAMA Internal Medicine [online]. 2014, 174(10), 124-127 [cit. 2023-05-30]. ISSN 2168-6106. Dostupné z: doi:10.1001/jamainternmed.2014.4005
42. HURD, Yasmine. Cannabidiol: Swinging the Marijuana Pendulum From ‘Weed’ to Medication to Treat the Opioid Epidemic. Trends in Neurosciences [online]. 2017, 40(3), 124-127 [cit. 2023-05-30]. ISSN 01662236. Dostupné z: doi:10.1016/j.tins.2016.12.006
43. Konopné drogy, marihuana, hašiš. Národní zdravotnický informační portál [online]. Praha: Ministerstvo zdravotnictví ČR a Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, 2023 [cit. 2023-07-02]. Dostupné z: <https://www.nzip.cz/clanek/304-konopne-drogy-marihuana-hasis>
44. Názvosloví zeli: jak se trávě říká kolem světa. KOPAC: Pacientský spolek pro léčbu konopím [online]. Praha: KOPAC, 2019 [cit. 2023-07-02]. Dostupné z: <https://kopac.cz/nazvoslovi-zeli-jak-se-trave-rika-kolem-sveta/>
45. ELSOHLY, M. A., GUL, W. Constituents of Cannabis Sativa. In: PERTWEE, Roger. Handbook of Cannabis [online]. Oxford: Oxford University Press, 2014, s. 3-22 [cit. 2023-06-30]. ISBN 9780191787560. Dostupné z:

<https://academic.oup.com/book/27329/chapter-abstract/197023611?redirectedFrom=fulltext>

46. HRADEC, Jaromír. Endokannabinoidní systém - nový léčebný cíl u multirizikových nemocných. *Remedia*. 2005, 15(2), 163-168.
47. SVÍZENSKÁ, I., DUBOVÝ, P. a kol. Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures — A short review. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* [online]. 2008, 90(4), 501-511 [cit. 2023-06-30]. ISSN 00913057. Dostupné z: doi:10.1016/j.pbb.2008.05.010
48. MORALES, P., REGGIO, P. H. An Update on Non-CB 1 , Non-CB 2 Cannabinoid Related G-Protein-Coupled Receptors. *Cannabis and Cannabinoid Research* [online]. 2017, 2(1), 265-273 [cit. 2023-06-30]. ISSN 2378-8763. Dostupné z: doi:10.1089/can.2017.0036
49. PERTWEE, Roger. The central neuropharmacology of psychotropic cannabinoids. *Pharmacology & therapeutics* [online]. 1988, 36(2-3), 189-261 [cit. 2023-06-30]. ISSN 01637258. Dostupné z: doi:10.1016/0163-7258(88)90106-4
50. HANUŠ, L. O., MEYER, S. M. a kol. Phytocannabinoids: a unified critical inventory. *Natural Product Reports* [online]. 2016, 33(12), 1357-1392 [cit. 2023-06-30]. ISSN 0265-0568. Dostupné z: doi:10.1039/C6NP00074F
51. HAKL, Marek. Léčba kombinovaným přípravkem oxycodon/naloxon. *Farmakologická revue*. 2017, roč. 5, s. 309-312. ISSN 2533-6878
52. PETRŮ, Klára. Fytokannabinoidy [online]. Hradec Králové, 2008 [cit. 2023-06-30]. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/16286>. Diplomová práce. Univerzita Karlova.
53. WANG, Q., PENG, Y. a kol. Pretreatment With Electroacupuncture Induces Rapid Tolerance to Focal Cerebral Ischemia Through Regulation of Endocannabinoid System. *Stroke* [online]. 2009, 40(6), 2157-2164 [cit. 2023-07-02]. ISSN 0039-2499. Dostupné z: doi:10.1161/STROKEAHA.108.541490
54. PERTWEE, Roger. The diverse CB 1 and CB 2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: Δ^9 -tetrahydrocannabinol, cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabivarin. *British Journal of Pharmacology* [online]. 2008, 153(2), 199-215 [cit. 2023-07-02]. ISSN 00071188. Dostupné z: doi:10.1038/sj.bjp.0707442
55. CABRAL, G. A., GRIFFIN-THOMAS, L. Emerging role of the cannabinoid receptor CB 2 in immune regulation: therapeutic prospects for neuroinflammation. *Expert*

- Reviews in Molecular Medicine [online]. 2009, 11(e3), 1-31 [cit. 2023-07-02]. ISSN 1462-3994. Dostupné z: doi:10.1017/S1462399409000957
56. ZENDULKA, O., DOVRTĚLOVÁ, G. a kol. Cannabinoids and Cytochrome P450 Interactions. *Current Drug Metabolism* [online]. 2016, 17(3), 206-226 [cit. 2023-07-02]. ISSN 13892002. Dostupné z: doi:10.2174/1389200217666151210142051
57. WILSON, R. I., NICOLL, R. A. Endogenous cannabinoids mediate retrograde signalling at hippocampal synapses. *Nature* [online]. 2001, 410(6828), 588-592 [cit. 2023-07-02]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/35069076
58. JENSEN, Matthew Barry. Neuroplasticity. Khan Academy [online]. USA: Khan Academy, 2023 [cit. 2023-07-02]. Dostupné z: <https://www.khanacademy.org/science/health-and-medicine/nervous-system-and-sensory-infor/nervous-system-introduction-ddp/v/neuroplasticity>
59. SUH, H.-S., ZHAO, M.-L. a kol. Insulin-like growth factor 1 and 2 (IGF1, IGF2) expression in human microglia: differential regulation by inflammatory mediators. *Journal of Neuroinflammation* [online]. 2013, 10(1) [cit. 2023-07-02]. ISSN 1742-2094. Dostupné z: doi:10.1186/1742-2094-10-37
60. ZHANG, J., TENG, Z. a kol. Inhibition of Monoacylglycerol Lipase Prevents Chronic Traumatic Encephalopathy-like Neuropathology in a Mouse Model of Repetitive Mild Closed Head Injury. *The Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* [online]. 2015, 35(3), 443-453 [cit. 2023-07-02]. ISSN 0271-678X. Dostupné z: doi:10.1038/jcbfm.2014.216
61. EDWARDS, G., ZHAO, J. a kol. Traumatic Brain Injury Induces Tau Aggregation and Spreading. *Journal of Neurotrauma* [online]. 2020, 37(1), 80-92 [cit. 2023-07-02]. ISSN 0897-7151. Dostupné z: doi:10.1089/neu.2018.6348
62. HILLARD, Cecilia. Role of Cannabinoids and Endocannabinoids in Cerebral Ischemia. *Current Pharmaceutical Design* [online]. 2008, 14(23), 2347-2361 [cit. 2023-07-02]. ISSN 13816128. Dostupné z: doi:10.2174/138161208785740054
63. CHEN, Chu. Endocannabinoid metabolism in neurodegenerative diseases. *Neuroimmunology and Neuroinflammation* [online]. 2016, 3(12), 268-270 [cit. 2023-07-02]. ISSN 2349-6142. Dostupné z: doi:10.20517/2347-8659.2016.46
64. RODRIGUEZ-ALMARAZ, J. E., BUTOWSKI, N. Therapeutic and Supportive Effects of Cannabinoids in Patients with Brain Tumors (CBD Oil and Cannabis). *Current*

- Treatment Options in Oncology [online]. 2023, 24(1), 30-44 [cit. 2023-07-03]. ISSN 1527-2729. Dostupné z: doi:10.1007/s11864-022-01047-y
65. GUZMÁN, M., DUARTE, M. J. a kol. A pilot clinical study of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in patients with recurrent glioblastoma multiforme. *British Journal of Cancer* [online]. 2006, 95(2), 197-203 [cit. 2023-07-03]. ISSN 0007-0920. Dostupné z: doi:10.1038/sj.bjc.6603236
 66. RAMER, R., ROHDE R. a kol. Decrease of Plasminogen Activator Inhibitor-1 May Contribute to the Anti-Invasive Action of Cannabidiol on Human Lung Cancer Cells. *Pharmaceutical Research* [online]. 2010, 27(10), 2162-2174 [cit. 2023-07-03]. ISSN 0724-8741. Dostupné z: doi:10.1007/s11095-010-0219-2
 67. SIMMERMAN, E., QIN, X. a kol. Cannabinoids as a Potential New and Novel Treatment for Melanoma: A Pilot Study in a Murine Model. *Journal of Surgical Research* [online]. 2019, 235, 210-215 [cit. 2023-07-03]. ISSN 00224804. Dostupné z: doi:10.1016/j.jss.2018.08.055
 68. SHRIVASTAVA, A., KUZONTKOSKI, P. M. a kol. Cannabidiol Induces Programmed Cell Death in Breast Cancer Cells by Coordinating the Cross-talk between Apoptosis and Autophagy. *Molecular Cancer Therapeutics* [online]. 2011, 10(7), 1161-1172 [cit. 2023-07-03]. ISSN 1535-7163. Dostupné z: doi:10.1158/1535-7163.MCT-10-1100
 69. MCALLISTER, S. D., MURASE, R. a kol. Pathways mediating the effects of cannabidiol on the reduction of breast cancer cell proliferation, invasion, and metastasis. *Breast Cancer Research and Treatment* [online]. 2011, 129(1), 37-47 [cit. 2023-07-03]. ISSN 0167-6806. Dostupné z: doi:10.1007/s10549-010-1177-4
 70. KARGL, J., ANDERSEN, L. a kol. GPR55 promotes migration and adhesion of colon cancer cells indicating a role in metastasis. *British Journal of Pharmacology* [online]. 2016, 173(1), 142-154 [cit. 2023-07-03]. ISSN 00071188. Dostupné z: doi:10.1111/bph.13345
 71. PETROCELLIS, L., LIGRESTI, A. a kol. Non-THC cannabinoids inhibit prostate carcinoma growth in vitro and in vivo: pro-apoptotic effects and underlying mechanisms. *British Journal of Pharmacology* [online]. 2013, 168(1), 79-102 [cit. 2023-07-03]. ISSN 00071188. Dostupné z: doi:10.1111/j.1476-5381.2012.02027.x
 72. SINGER, E., JUDKINS, J. a kol. Reactive oxygen species-mediated therapeutic response and resistance in glioblastoma. *Cell Death and Disease* [online]. 2015, 6(1),

- e1601-e1601 [cit. 2023-07-03]. ISSN 2041-4889. Dostupné z: doi:10.1038/cddis.2014.566
73. NABISSI, M., MORELLI, M. B. a kol. Triggering of the TRPV2 channel by cannabidiol sensitizes glioblastoma cells to cytotoxic chemotherapeutic agents. *Carcinogenesis* [online]. 2013, 34(1), 48-57 [cit. 2023-07-03]. ISSN 1460-2180. Dostupné z: doi:10.1093/carcin/bgs328
74. MALFAIT, A. M., GALLILY, R. a kol. The nonpsychoactive cannabis constituent cannabidiol is an oral anti-arthritic therapeutic in murine collagen-induced arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2000, 97(17), 9561-9566 [cit. 2023-07-03]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.160105897
75. SUDHAKARAN, M., SARDESAI, S. a kol. Flavonoids: New Frontier for Immuno-Regulation and Breast Cancer Control. *Antioxidants* [online]. 2019, 8(4) [cit. 2023-07-03]. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox8040103
76. KUMAR, V. Adenosine as an endogenous immunoregulator in cancer pathogenesis: where to go?. *Purinergic Signalling* [online]. 2013, 9(2), 145-165 [cit. 2023-07-03]. ISSN 1573-9538. Dostupné z: doi:10.1007/s11302-012-9349-9
77. JENSEN, H. M., KORBUT, R. a kol. Cannabidiol effects on behaviour and immune gene expression in zebrafish (*Danio rerio*). *Plos One* [online]. 2018, 13(7) [cit. 2023-07-03]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0200016
78. SCHWIEBS, A., HERRERO SAN JUAN, M. a kol. Cancer-induced inflammation and inflammation-induced cancer in colon: a role for S1P lyase: a role for S1P lyase. *Oncogene* [online]. 2019, 38(24), 4788-4803 [cit. 2023-07-03]. ISSN 0950-9232. Dostupné z: doi:10.1038/s41388-019-0758-x
79. SOLINAS, M., MASSI, P. a kol. Cannabidiol inhibits angiogenesis by multiple mechanisms. *British Journal of Pharmacology* [online]. 2012, 167(6), 1218-1231 [cit. 2023-07-03]. ISSN 00071188. Dostupné z: doi:10.1111/j.1476-5381.2012.02050.x
80. AVIELLO, G., ROMANO, B. a kol. Chemopreventive effect of the non-psychotropic phytocannabinoid cannabidiol on experimental colon cancer. *Journal of Molecular Medicine* [online]. 2012, 90(8), 925-934 [cit. 2023-07-03]. ISSN 0946-2716. Dostupné z: doi:10.1007/s00109-011-0856-x
81. ŚLEDZIŃSKI, P., NOWAK-TERPIŁOWSKA, A. a kol. Cannabinoids in Medicine: Cancer, Immunity, and Microbial Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*

- [online]. 2021, 22(1) [cit. 2023-07-03]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22010263
82. LI, S., HUANG, Y. a kol. Impact of the Cannabinoid System in Alzheimer's Disease. *Current Neuropharmacology* [online]. 2023, 21(3), 715-726 [cit. 2023-07-03]. ISSN 1570159X. Dostupné z: doi:10.2174/1570159X20666220201091006
83. PIDRMAN, V., BOUČEK J. a kol. Léčba demence inhibitory cholinesteráz - bezpečnost a snášenlivost v praxi. *Neurologie pro praxi* [online]. 2003, 2003(5), 258-262 [cit. 2023-07-03]. Dostupné z: https://www.solen.cz/artkey/neu-200305-0008_Lecba_demence_inhibitory_cholinesteraz-bezpecnost_a_snasenlivost_v_praxi.php
84. HROUDOVÁ, Jana. Výzkum nových léčiv u Alzheimerovy choroby. *Psychiatrie pro praxi* [online]. 2017, 18(1), 7-10 [cit. 2023-07-03]. ISSN 12130508. Dostupné z: doi:10.36290/psy.2017.002
85. BESHIR, S. A., AADITHSOORYA, A. M. a kol. Aducanumab Therapy to Treat Alzheimer's Disease: A Narrative Review. *International Journal of Alzheimer's Disease* [online]. 2022, 2022, 1-10 [cit. 2023-07-03]. ISSN 2090-0252. Dostupné z: doi:10.1155/2022/9343514
86. ŠULCOVÁ, A., NOVÁKOVÁ J. a kol. Úloha kanabinoidních receptorů CB1 a CB2 v regulaci chování a fagocytární imunitní funkce leukocytů. In *Súčasný trendy v liečbe drogových závislostí a využitie akupunktúry v ich liečbe*. Bratislava, Slovenská republika: Spoločnosť akupunktúry Slovenskej lekárskej spoločnosti, 2003. s. 45-47. ISBN 80-968685-2-7.
87. BLESSING, E. M., STEENKAMP, M. M. a kol. Cannabidiol as a Potential Treatment for Anxiety Disorders. *Neurotherapeutics* [online]. 2015, 12(4), 825-836 [cit. 2023-07-03]. ISSN 1933-7213. Dostupné z: doi:10.1007/s13311-015-0387-1
88. RUSSO, E. B., BURNETT, A. a kol. Agonistic Properties of Cannabidiol at 5-HT1a Receptors. *Neurochemical Research* [online]. 2005, 30(8), 1037-1043 [cit. 2023-07-03]. ISSN 0364-3190. Dostupné z: doi:10.1007/s11064-005-6978-1
89. GUILLIN, O., ABI-DARGHAM, A. a kol. Neurobiology of Dopamine in Schizophrenia. *Integrating the Neurobiology of Schizophrenia* [online]. Elsevier, 2007, 2007, (78), 1-39 [cit. 2023-07-03]. *International Review of Neurobiology*. ISBN 9780123737373. Dostupné z: doi:10.1016/S0074-7742(06)78001-1

90. KUBÁČKOVÁ, Eliška. Aktivní látky technického konopí a jejich využití v kosmetice [online]. Brno, 2018 [cit. 2023-07-03]. Dostupné z: <https://dspace.vutbr.cz/handle/11012/81800>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně.
91. KURFIŘT, David. Identifikace a stanovení omamných a psychotropních látek ve vlasech [online]. Pardubice, 2019 [cit. 2023-07-03]. Dostupné z: https://theses.cz/id/mh82u1/?lang=en;zoomy_is=1. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice.
92. MYŠÍKOVÁ, Jitka. Analytické vlastnosti vybraných fytoKANABINOIDŮ [online]. Hradec Králové, 2007 [cit. 2023-07-03]. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/10681>. Diplomová práce. Univerzita Karlova.
93. BOČÁNOVÁ, Alžběta. Chemické vlastnosti konopných olejů [online]. Zlín, 2021 [cit. 2023-07-03]. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/46912>. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
94. UHLÍŘOVÁ, Renata. Využití komplexních extraktů z rostlin a mikroorganismů v potravinářství a kosmetice [online]. Brno, 2022 [cit. 2023-07-03]. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/11012/208593>. Disertační práce. Vysoké učení technické v Brně.
95. JANDOVÁ, Gabriela. Endogenní opioidy a jejich fyziologický význam [online]. Praha, 2011 [cit. 2023-07-03]. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/36558>. Bakalářská práce. Univerzita Karlova.
96. První setkání Konopného sněmu v České republice. Asociace bezpečného konopí [online]. Ústí nad Labem: Asociace bezpečného konopí, 2023, 11.5.2023 [cit. 2023-07-03]. Dostupné z: <https://www.bezpecnekonopi.cz/blog/prvni-setkani-konopneho-snemu-v-ceske-republice/>
97. Český konopný klastr CzeeHemp se vymezuje proti chystanému zákazu CBD. Magazín Konopí [online]. Praha: Green Publishing, 2023, 27.4.2023 [cit. 2023-07-02]. Dostupné z: <https://magazin-konopi.cz/cesky-konopny-klastr-czeehemp-se-vymezuje-proti-chystanemu-zakazu-cbd/>
98. ŠUBRTOVÁ, Veronika. Fyziologické účinky kanabinoidů a jejich analytické stanovení [online]. Pardubice, 2021 [cit. 2023-07-02]. Dostupné z: <https://dk.upce.cz/handle/10195/78161>. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice.