

**Univerzita Karlova v Praze**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Fyziologie živočichů



Mgr. Libor Uttl

**Vliv vybraných kanabinoidů na kvantitativní EEG, chování a jejich  
terapeutický potenciál**

**The effect of selected cannabinoids on quantitative EEG, behaviour, and  
their therapeutic potential**

Disertační práce

Pracoviště: Národní ústav duševního zdraví Klecany

Oddělení: VP1 Experimentální neurobiologie

Školitel: MUDr. Tomáš Páleníček, Ph.D.

Praha, 2023

## **Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, dne

---

Mgr. Libor Uttl

## **Poděkování:**

Rád bych zde na prvním místě poděkoval svému školiteli MUDr. Tomáši Páleníčkovi, Ph.D. za vedení mého postgraduálního studia a této disertační práce. Bez jeho pomoci a odborného vedení během mého působení v Národním Ústavu duševního zdraví v Klecanech by nebylo možné vypracovat předkládanou disertační práci. Dále bych rád poděkoval svému původnímu školiteli doc. MUDr. Jakubu Otáhalovi, Ph.D. za jeho podporu nejen v prvním roce doktorandského studia, ale také během bakalářského a magisterského studia, které mi dalo neocenitelný základ k mému dalšímu působení v neurovědách.

Nemohu také opomenout poděkovat všem svým kolegům z Národního ústavu duševního zdraví, a to zejména kolegům z operačního a behaviorálního týmu MUDr. Tomáše Páleníčka, Ph.D. (jmenovitě Mgr. Čestmíru Vejmolovi, MUDr. Filipu Tylšovi, Ph.D., MUDr. Lukáši Kadeřábekovi, Mgr. Nikole Leca, Ph.D., Mgr. Kláře Šíchové, Ph.D., Mgr. Kristýně Štefkové, Ph.D., Ing. Evě Lhotkové, RNDr. Vieře Kutné, Mgr. Jacques Leca, Dr. Vincenzu Micalemu, Ph.D., Dr. Rachel Horsley, Ph.D., a laboratorním asistentkám za spolupráci v průběhu experimentů, přípravě publikací, a hlavně za inspirativní prostředí a odborné rady, které přispěly k vytvoření předkládané práce. Děkuji také Mgr. Tomáši Hložkovi, Ph.D. z oddělení soudní a toxikologické analýzy, Ing. Martinu Kuchařovi, Ph.D. a jeho kolegům z oddělení Laboratoře forenzní analýzy biologicky aktivních látek, a Ing. Jakubu Rakovi, Ph.D. z analytické laboratoře NUDZ za provedení farmakokinetických studií, přípravu a stanovení čistoty u nových psychoaktivních substancí použitých v našich studiích.

V neposlední řadě bych zde také velmi rád poděkoval všem svým kolegům z oddělení Vývojové epileptologie, jmenovitě pak hlavně doc. PharmDr. Haně Kubové, DrSc, prof. MUDr Pavlu Marešovi, DrSc, Mgr. Grygoriyi Tsenovovi, Ph.D., RNDr. Anně Mikulecké, Ph.D. a laborantkám Blance Čejkové a Irině Neševě, se kterými spolupracuji po celou dobu studia. Bez jejich pomoci by nebylo možné provést experimenty zaměřené na antiepileptický potenciál CBD, uvedené v této disertační práci.

Dále bych rád poděkoval Mgr. Petře Tsenov za skvělou pomoc s formátováním a korekturou předkládaného textu.

Mé velké díky patří samozřejmě také mé rodině za neochvějnou podporu v průběhu celého studia a trpělivost při zdlouhavém sepisování předkládané disertační práce.

## ABSTRAKT

Kanabinoidy a zejména CBD jsou dnes velmi diskutované téma s obrovským přesahem do mediálního prostoru. Jejich schopnost interagovat nejen s kanabinoidními receptory, ale i dalšími drahami v kombinaci s výrazným „hypem“, vede k testování kanabinoidů ve velmi širokém spektru indikací i přes nepříliš silnou evidenci účinků v klinické praxi. Dnes máme již více než 150 izolovaných kanabinoidů, ale výzkum je zaměřen pouze na několik hlavních kanabinoidů jako jsou například THC, CBD, kanabigerol, kanabichromen, hexahydrokanabinol. My jsme pro náš výzkum zvolili dva nejznámější kanabinoidy THC a CBD a naší klíčovou otázkou bylo, jako roli mají tyto kanabinoidy nejen samostatně, ale také jak spolu interagují při společném podání, jak ovlivňují chování a jak společně interagují v závislosti na způsobu podání. Toto jsme souhrnně provedli v potkaních experimentech. Částečně překvapivě, jsme nepozorovali typickou kanabinoidní tetradu (sníženou citlivost na bolestivé podněty, hypotermii, katalepsii a celkové snížení motorické aktivity) po podání THC, a proto jsme si položili otázku, co se stane, pokud místo THC použijeme potentnější a selektivnější syntetické kanabinoidy JWH-073, JWH-210. Dále v průběhu řešení disertační práce došlo k registraci CBD (Epidolex) pro léčbu epilepsie, konkrétně syndromu Dravetové a Lennox\_Gaustova syndromu, a my jsme se rozhodli otestovat jeho účinek v různých modelech epileptických záchvatů. Vzhledem k tomu, že tyto syndromy jsou velmi často farmakorezistentní, vyznačují se těžkými epileptickými encefalopatiemi a manifestují se již v raném dětství, tak jsme provedli část experimentů u mláďat potkanů pro posouzení účinku CBD v nezralém mozku.

Na toto všechno v různé míře přináší odpovědi naše experimenty, kdy jsme zjistili a poprvé souborně popsali rozdíly mezi kinetikou u potkanů v závislosti na způsobu podání (subkutánní vs. inhalační vs. perorální). I přes naši snahu se nám s použitím námi zvolených behaviorálních testů se nám nepovedlo identifikovat kanabinoidní tetradu, a to ani po podání silně potentních syntetických kanabinoidů. Nicméně byly pozorovány silné sedativní účinky po perorálním podání THC nebo jeho kombinace s CBD. V nižší dávce THC po subkutánním podání byl pozorován anxiolytický účinek. Při testování antiepileptického účinku CBD byl pozorován antikonvulzivní účinek v modelu PTZ, kde vyšší dávka CBD byla schopna plně zabránit tonické fázi záchvatu. Oproti tomu CBD byl neúčinný v modelu NMDA indukovaných záchvatů. V modelu elektricky vyvolaných kortikálních následných výbojů jsme zaznamenali pouze trend ke snížení počtu a trvání následných výbojů. Při hodnocení účinku CBD na relativní výkon v jednotlivých EEG pásmech jsme pozorovali významné snížení v pásmu delta s potenciálně

antiepileptickým účinkem CBD. Zajímavým zjištěním byl vliv CBD na motorické učení mláďat, kdy po podání CBD bylo oproti kontrole zablokováno zlepšení po 24 hodinách v bar-holding testu, přičemž hodinu po podání CBD se tento efekt neprojevil. Tento náález si z důvodu užívání CBD jako léku pro dětské pacienty s epilepsií si zaslouží další výzkum pro vyloučení potenciálních vedlejších účinků.

Námi získané a prezentované výsledky rozšiřují poznatky o farmakokinetice kanabinoidů, a jejich účincích na chování a současně podporují antikonvulzivní účinky CBD. Nicméně komplexní povaha kanabinoidního systému, jež se projevuje vysokou variabilitou účinků kanabinoidů v celé řadě publikovaných studií, a odráží se i na námi získaných výsledcích a poukazuje na nutnost dalšího výzkumu.

**Klíčová slova:**

kanabinoidy,  $\Delta^9$ -THC, CBD, JWH-073, JWH-210, chování, farmakokinetika, kvantitativní EEG, epilepsie, syntetické kanabinoidy, model akutní psychózy,

## ABSTRACT

Cannabinoids and especially CBD are these days a highly discussed topic with a huge overlap in the media space. Their ability to interact not only with cannabinoid receptors, but also with other pathways, in combination with a huge “hype”, leads, despite the not very strong evidence of their effects in clinical practice, to the testing of cannabinoids in a broad spectrum of indications. Nowadays, we have more than 150 isolated cannabinoids, but the research is focused only on the main cannabinoids like for example THC, CBD, cannabigerol, cannabichromen or hexahydrocannabinol. For our research, we have chosen the two most well-known cannabinoids THC and CBD, and our key question was not only what is the role of these cannabinoids individually, but, also, how do they interact when administered together, how do they influence behaviour and how do they interact in dependence on the method of administration. All these questions were addressed within our rat experiments. Somewhat surprisingly, we did not observe the typical cannabinoid tetrad (decreased sensitivity to painful stimuli, hypothermia, catalepsy, and overall decrease in motor activity) after the THC administration, so we wondered what would happen if we used more potent and selective synthetic cannabinoids JWH-073, JWH-210, instead of THC. Furthermore, in the course of the dissertation, CBD (Epidolex) was registered for the treatment of epilepsy, specifically Dravet syndrome and Lennox Gaust syndrome. Therefore, we decided to test its effect within different models of epileptic seizures. Considering that these syndromes are very often pharmaco-resistant, characterized by severe epileptic encephalopathies and manifested already in early childhood, we performed part of the experiments with young rats to assess the effect of CBD on the immature brain.

Our experiments provide answers to all this to varying degrees, when we discovered and for the first time comprehensively described the differences between the kinetics in rats depending on the method of administration (subcutaneous vs. inhalation vs. oral). Despite our best efforts, we were unable to identify a cannabinoid tetrad using our chosen behavioral assays, even after administration of highly potent synthetic cannabinoids. However, strong sedative effects have been observed after oral administration of THC or its combination with CBD. After a subcutaneous administration of lower THC dose, an anxiolytic effect was observed. When testing the antiepileptic effect of CBD, an anticonvulsant effect was observed in the PTZ model, in which a higher dose of CBD was able to fully prevent the tonic phase of the seizure. In contrast, CBD was ineffective in the NMDA-induced seizure model. In the model of electrically evoked cortical aftershocks, we observed only a trend towards a decrease in the number and

duration of aftershocks. When evaluating the effect of CBD on relative performance in individual EEG bands, we observed a significant reduction in the delta band with the potential antiepileptic effect of CBD. An interesting finding was the effect of CBD on the motor learning of the pups, where the improvement after 24 hours in the bar-holding test was blocked compared to the control after the administration of CBD, while this effect was not manifested one hour after the administration of CBD. This finding, due to the use of CBD as a medicine for pediatric patients with epilepsy, deserves further research to rule out potential side effects.

Our results expand the knowledge about the pharmacokinetics of cannabinoids and their effects on behavior and at the same time support the anticonvulsant effects of CBD. However, the complex nature of the cannabinoid system, which is manifested by the high variability of the effects of cannabinoids in a number of published studies and is also reflected in our results, points out that further research is needed.

**Key words:**

Cannabinoids,  $\Delta^9$ -THC, CBD, JWH-073, JWH-210, pharmacokinetics, behavior, quantitative EEG, epilepsy, synthetic cannabinoids, model of acute psychosis

## Seznam zkratek

2-AG	2-arachidonylglycerol
5HT1A	Serotoninový receptor 1A
AEA	Anandamid
AED	Antiepileptic drug
AM	Skupina kanabinoidů nasyntetizovaná skupinou Dr.Alexandrosem Makriyannisem
ANOVA	Analýza rozptylu
ARRIVE	Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments
BPRS	Brief Psychiatric Rating Scale
CADSS	The Clinician-Administered Dissociative States <b>Scale</b>
CB1	Kanabinoidní receptor 1
CBD	Kanabidiol
CBDV	Kanabidivarin
CBG	Kanabigerol
CBN	Kanabinol
CFC	Contextual fear conditioning
COX 2	Cyklooxygenáza 2
CYP-450	Cytochrom P450
eCB	Endokanabinoid
EPM	Elevated plus maze
FABP	Fatty acid-binding protein
FDA	Úřad pro kontrolu potravin a léčiv USA
FDR	False Discovery Rate
FST	Test nuceného plavání
GABA	Kyselina $\gamma$ -aminomáselná
GAD	Generalizovaná úzkostná porucha
GIT	Gastrointestinální trakt
GTCS	Generalizované tonicko-klonické záchvaty
IL	Intralimbický
JNK	C-Jun N-terminální kináza
JWH	Skupina kanabinoidů nasyntetizovaných skupinou prof. Johnem Williamem Huffmanem
JWH-073	1-butyldol-3-yl naftalen-1-yl methanon
JWH-210	4-ethyl-1-naftaleny-L-fenyl-1H-indol-3-yl methanon
LDB	Light-Dark box
L-DOPA	Levodopa - prekurzor dopaminu
MAGL	Monoacylglycerol lipáza
MAPK	Mitogenem aktivovaná proteinkináza
MBT	Marble Burying Test
MES	Model maximálního elektrošoku
MK-801	Dizocilpin
mPFC	Mediální prefrontální kůra
NAPE	N-acetylfosfatidylethanolamin
NMDA	N-methyl-D-asparagová kyselina



NORT	Novel Object Recognition Test
NPS	Nové psychoaktivní substance
OCD	Obsedantně kompulzivní porucha
OFT	Open Field Test
PCP	Fencyklidin
PKC	Protein kináza C
PL	Prelimbické
PPAR	receptory aktivované peroxisomovým proliferátorem
PTZ	Pentylentetrazol
Sc.	Subkutánní
SHR	Spontánně hypertenzní potkani
THC	$\Delta$ -9-tetrahydrokanabinol
THCV	$\Delta$ -9-tetrahydrokanabivarin
TRPV	Receptory vanilloidního typu
TST	Tail Suspension Test
VCT	Vogelův konfliktní test
VEH	Vehikulum

# OBSAH

1. ÚVOD.....	12
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	15
2.1. Konopí a fytokanabinoidy .....	15
2.2. Historie konopí .....	16
2.3. Endokanabinoidní systém.....	19
2.4. Akutní účinky fytokanabinoidů u lidí a v animálních modelech .....	21
2.4.1. $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol (THC) .....	21
2.4.2. Kanabidiol (CBD).....	23
2.5. Antipsychotický účinek CBD .....	24
2.6. Anxiolytický a antidepresivní účinek CBD .....	27
2.7. Kanabinoidy a epilepsie .....	29
2.7.1. Epilepsie .....	29
2.7.2. Kanabinoidy a jejich ovlivnění záchvatů .....	30
2.8. Nové syntetické kanabinoidy.....	33
3. CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY .....	35
4. EXPERIMENTÁLNÍ POSTUPY .....	38
4.1. Zvířata.....	38
4.2. Aplikované látky.....	39
4.2.1. THC a CBD.....	39
4.2.2. JWH-073 a JWH 210 .....	40
4.3. Farmakokinetika .....	40
4.4. Behaviorální experimenty.....	41
4.4.1. Test otevřeného pole.....	41
4.4.2. Prepulzní inhibice úlekové reakce .....	42
4.4.3. Motorické testy u mláďat .....	42
4.5. Hodnocení závažnosti epileptických záchvatů u mláďat.....	43
4.6. Vliv CBD na excitabilitu mozku v modelu následných výbojů u potkana .....	44

4.6.1. Implantace elektrod .....	44
4.6.2. Nahrávání EEG a stimulační postupy .....	45
4.7. Statistické metody .....	46
5. VÝSLEDKY .....	49
5.1. Srovnání výsledků farmakokinetiky kanabinoidů .....	49
5.2. Srovnání výsledků behaviorálních experimentů po podání kanabinoidů .....	53
5.2.1. Test otevřeného pole.....	53
5.2.2. Test prepulzní inhibice (PPI) akustické úlekové reakce (ASR) .....	53
5.2.3. Motorické testy .....	53
5.2.4. Model PTZ a NMDA indukovaných záchvatů .....	61
5.2.5. CBD v modelu kortikálních následných výbojů – nepublikované výsledky připravované k publikaci.....	64
6. SOUHRNÁ DISKUZE.....	74
6.1. Farmakokinetika přírodních a syntetických kanabinoidů .....	74
6.2. Behaviorální účinky přírodních a syntetických kanabinoidů .....	75
6.4. Vliv CBD na excitabilitu mozku v modelu následných výbojů u potkana (Nepublikované výsledky).....	79
7. ZÁVĚR.....	82
8. Seznam obrázků .....	83
9. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	84
10. PUBLIKACE A PREZENTACE AUTORA.....	122
10.1. Seznam publikací in extenso, které jsou podkladem disertační práce .....	123
10.2. Seznam publikací in extenso, bez vztahu k disertační práci .....	123
10.2.1. Recenzované publikace bez IF .....	125
10.2.2. Popularizační články.....	125
11. PŘÍLOHA – ORIGINÁLY PLNÝCH TEXTŮ PUBLIKACÍ.....	126

## 1. ÚVOD

V současné době je z konopí izolováno již více než 150 různých kanabinoidů a společenský zájem o jejich studium a jejich využití v medicíně, tak i v komerční sféře velmi výrazně stoupá (Bhattacharyya et al., 2010; Englund et al., 2016; Hanuš et al., 2016; Mechoulam et al., 2014; Senn et al., 2020). Při identifikaci účinných látek v konopí také nelze opomenout terpeny, které jsou odpovědné za typické aroma konopí. Jedná se o obdobně jako u kanabinoidů o široké spektrum lipofilních látek, schopných dobře procházet hematoencefalickou bariérou. V současné době bylo v konopí izolováno více než 100 různých terpenů. Hladiny terpenů a kanabinoidů spolu pozitivně korelují a mohou společně sloužit jako chemotaxonomické markery jednotlivých typů konopí. Terpeny také mohou ovlivňovat celou řadu fyziologických funkcí a vykazovat řadu potenciálně terapeutických účinků a také dále modulovat účinky kanabinoidů. Terpeny také mohou ovlivňovat celou řadu fyziologických funkcí a vykazovat řadu potenciálně terapeutických účinků a také dále modulovat účinky kanabinoidů (Andre et al., 2016; Namdar et al., 2019). Nejvíce zastoupenými a také prozkoumanými kanabinoidy jsou delta-9-tetrahydrokanabinol ( $\Delta$ 9-THC) a kanabidiol (CBD), které mají výrazně odlišné až protichůdné účinky (Alexander, 2016; Schubart et al., 2014; Whiting et al., 2015; Zhornitsky & Potvin, 2012). Rekreačními uživateli jsou vyhledávány rostliny a výtažky z konopí s vysokým obsahem psychoaktivního  $\Delta$ 9-THC, pro navození euforických stavů. Oproti tomu CBD působí spíše jako protiva  $\Delta$ 9-THC, nevykazuje psychoaktivní účinky a je schopný částečně normalizovat psychotomimetické účinky  $\Delta$ 9-THC (Bhattacharyya et al., 2010; Englund et al., 2013). Díky zvyšujícímu se porozumění endokanabinoidnímu systému se terapeutický zájem o konopí rozšiřuje na celou řadu onemocnění. Oceňovány jsou zejména jeho protizánětlivé a analgetické účinky, schopnost potlačování nauzei a zvracení doprovázející léčbu rakoviny či AIDS, antikonvulzivní účinky konopí, modulace anxiety nebo zapojení kanabinoidního systému u psychiatrických onemocnění jako jsou schizofrenie, deprese či posttraumatický syndrom<sup>1</sup>. Nicméně klinická evidence účinnosti konopí je, až na výjimky, pro celou řadu indikací velmi omezená pro objektivní zhodnocení účinnosti. Mimo tyto veskrze pozitivní a také dosti medializované účinky konopí je důležité také zmínit i rizika spojená s užíváním konopí. Velmi intenzivním tématem výzkumu potenciálních rizik pro uživatele konopí je narušení endokanabinoidního systému s následným rozvojem či zhoršením psychiatrických onemocnění. Podávání agonistů CB1 receptoru je používáno v rámci experimentálních neurověd jako model kanabinoidní psychózy (Bhattacharyya et al., 2010; McLaughlin et al.,

---

<sup>1</sup> SUKL, 9.1.2023 - <https://www.sukl.cz/konopi-pro-lecebne-pouziti>

2013). U pacientů se schizofrenií bylo popsáno výrazné narušení počtu a distribuce kanabinoidních receptorů (Dean et al., 2001; Eggan et al., 2008; Newell et al., 2006; Zavitsanou et al., 2004). Dochází také ke změnám koncentrace jejich endogenních ligandů a podání agonistů CB1 receptoru zhoršuje symptomatiku pacientů se schizofrenií (Giuffrida et al., 2004; Koethe et al., 2009; Leweke et al., 2007). Navíc se ukazuje, že dlouhodobé užívání konopí s vysokým obsahem  $\Delta$ 9-THC nebo syntetických kanabinoidů v adolescentním věku výrazně zvyšuje pravděpodobnost rozvoje psychotické poruchy (Levine et al., 2017; Murray et al., 2016).

Pro lepší pochopení léčebného potenciálu a odhalení rizik užívání konopných preparátů je důležité charakterizovat nejen účinky jednotlivých kanabinoidů a dalších látek obsažených v konopí, ale také zaměřit se na interakce mezi jednotlivými kanabinoidy. Na tyto interakce se v posledních letech zaměřuje řada výzkumných studií pro definování ideálního poměru mezi  $\Delta$ 9-THC a CBD, které by odpovídalo konkrétní indikaci pacienta. Tyto interakce zatím nejsou plně pochopeny ani z hlediska farmakokinetiky kanabinoidů, ani z hlediska behaviorálních účinků, a jsou závislé na poměrech použitých kanabinoidů (McPartland et al., 2015; Todd et al., 2017; Zuardi et al., 2012). Často je také problematické srovnání výsledků preklinických studií s údaji zjištěnými u lidí z důvodu často odlišného způsobu podání kanabinoidů. Lidé typicky využívají inhalační podání (kouření, vaporizaci), perorální podání, nebo dermální aplikaci ve formě mastí. Oproti tomu v preklinickém výzkumu je z důvodu přesného dávkování kanabinoidů preferováno injekční podání.

Výzkum konopí sebou nese také výrazná společenská rizika, jako je fenomén výskytu SPICE, tedy rostlinných směsí s obsahem nových syntetických kanabinoidů, často původně designovaných pro studium endokanabinoidního systému, a jejich rekreačního užívání. Tyto látky mají často výrazně vyšší afinitu ke kanabinoidním receptorům (2-100 x) a oproti užívání konopí může po užití některých těchto látek docházet k těžkým otravám i úmrtím.

Běžně jsou pozorovány odlišné až protichůdné fyziologické účinky kanabinoidů v závislosti na zvoleném dávkování, jako příklad anxiolytické vs. anxiogenní účinky  $\Delta$ 9-THC. Výzkum konopí je stále ve středu zájmu celé řady nejen farmaceutických společností, ale také mezi jeho rekreačními uživateli, pacienty využívajícími jeho účinky formou sebemedikace, či celou řadou komerčních subjektů vyrábějících i prodávajících konopné výrobky, jako je kosmetika, výživové doplňky a potraviny. To vede k výrazným tlakům na uvolnění legislativních pravidel omezujících užívání konopí a produktů od něj odvozených.

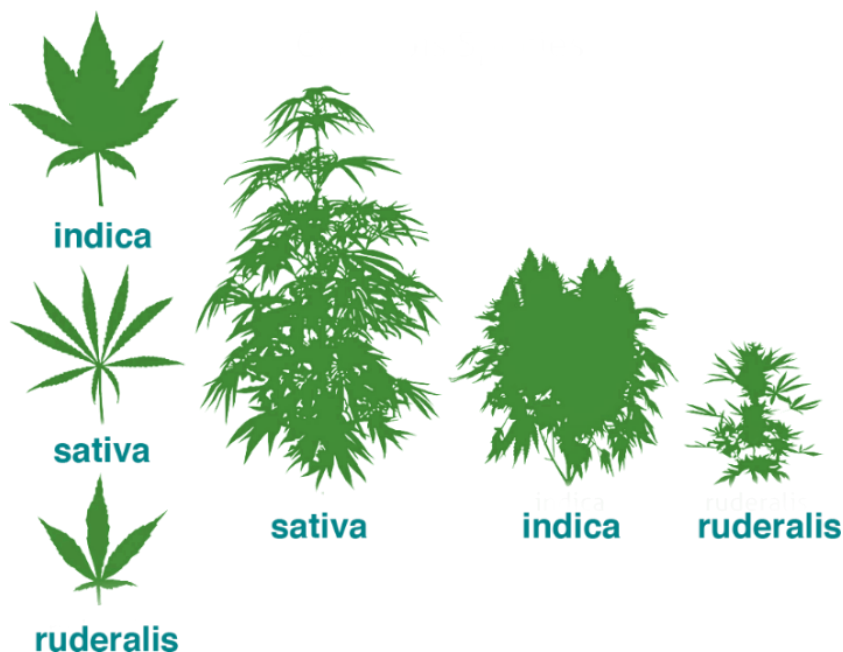
V rámci této disertační práce byly provedeny čtyři studie zabývající se akutními účinky THC, CBD a syntetickými agonisty CB1 receptoru JWH-073 a JWH-210, které jsou řazeny mezi Nové psychoaktivní substance (NPS). V první studii bylo provedeno ověření akutních propsychotických účinků THC po jednorázovém podání u dospělých zvířat, jako případný model kanabinoidní psychózy. V této studii jsme také souběžně hodnotili schopnost CBD zvrátit propsychotické účinky THC. Dále zde byl porovnán farmakokinetický profil THC, CBD a jejich kombinace ve třech různých způsobech podání pro zvýšení výpovědní hodnoty celé studie a lepší porovnání s běžně používanými způsoby podávání konopí mezi uživateli. V druhé studii jsme navázali na zaběhnuté metody pro stanovení propsychotického působení THC a rozhodli jsme se provést evaluaci nových syntetických kanabinoidů (JWH-073 a JWH-210), z důvodu jejich výskytu mezi rekreačními uživateli a s tím spojenými těžkými otravami. Provedené farmakokinetické analýzy kanabinoidů, ale také jejich stanovení a vyčištění v případě nových syntetických kanabinoidů by nebylo možno provést bez spolupráce s Ústavem soudního lékařství a toxikologie (ÚSLTOX), 1. lékařskou fakultou Univerzity Karlovy a Laboratoří forenzní analýzy biologicky aktivních látek (BAFA), Vysoké školy chemicko-technologické. Díky spolupráci s oddělením Vývojové epileptologie, Fyziologického ústavu AV ČR, se nám povedlo provést také dvě studie zaměřené na antiepileptický účinek CBD, a to jak v nezralém mozku ve dvou modelech chemicky indukovaných epileptických záchvatů, tak i u dospělých zvířat v modelu elektrickou stimulací vyvolaných následných výbojů. Zjištěné nálezy, mimo výsledky antiepileptického účinku CBD v modelu následných výbojů u dospělých zvířat, byly publikovány ve třech impaktovaných publikacích přiložených v disertační práci a přispěli tak k rozšíření dostupných poznatků ve výzkumu kanabinoidů.

## 2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1. Konopí a fytoKANABINOIDY

Rostliny konopí (*Cannabis*) jsou jednoleté dvouděložné rostliny, které jsou ve většině případů dvoudomé (lze odlišit samčí a samičí rostliny), nicméně se mohou vzácně objevovat jednodomé varianty rostlin s přítomností obou pohlaví na jedné rostlině. Velikost konopí může být velmi různorodá v závislosti na druhu a kultivaru rostliny a samozřejmě také v závislosti na environmentálních podmínkách. Běžně tyto rostliny dosahují vzrůstu v rozmezí 1-3 metrů, nicméně se mohou vyskytovat i výrazně vyšší rostliny. Konopí je z hlediska taxonomicky zařazeno do čeledi Konopovitých a samotné rozdělení rostlin na jednotlivé poddruhy je stále předmětem diskuse (Barcaccia et al., 2020; Gloss, 2015; Turner et al., 1980).

Konopí se běžně rozděluje na dva (v některých případech tři) samostatné poddruhy, a to konopí seté *Cannabis sativa* L., konopí indické (*Cannabis indica* Lam.) a případně konopí rumištní (*Cannabis ruderalis* Jan.), znázorněno viz. *Obrázek 1*. Při dělení konopí na dva poddruhy je konopí rumištní považováno za planou formu konopí setého, méně rozvětvenou rostlinou s nízkým vzrůstem do 50 cm, málo větveným stonkem a také s velmi nízkým obsahem kanabinoidů (Barcaccia et al., 2020; Gloss, 2015; Turner et al., 1980).



**Obrázek 1** Morfologické srovnání jednotlivých poddruhů konopí, převzato: MOCA: Modern Cannabis, CC0, prostřednictvím Wikimedia Commons, [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:The\\_Three\\_Cultivars\\_of\\_the\\_Cannabis\\_Plant.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:The_Three_Cultivars_of_the_Cannabis_Plant.png)

V lednu roku 2023 došlo k novelizaci evropské legislativy a ke zvýšení možného obsahu THC v tzv. technickém konopí.<sup>2</sup> Nově jsou za technické konopí považovány rostliny s obsahem nižším než 0,3 %  $\Delta$ 9-THC v sušině s apikální částí rostliny, ve většině případů tyto rostliny spadají pod konopí seté (*C. Sativa*) a odrůdy s obsahem  $\Delta$ 9-THC nad 0,3 %, kam spadají rostliny konopí pěstované pro jejich psychoaktivní účinky a také řada odrůd pro medicínální použití. Nicméně v současné době je v České republice možné pěstovat, skladovat a zpracovávat konopí s obsahem až do 1 %  $\Delta$ 9-THC, jako technické konopí (dle zákona č. 167/1998 Sb.). U rostlin pěstovaných pro psychoaktivní účinky a léčebné účely může být obsah  $\Delta$ 9-THC v sušině i více než 20 %. Dle nizozemské studie došlo k masivnímu nárůstu obsahu  $\Delta$ 9-THC ve velmi krátké době 5 let v rozmezí roku 1999-2004 (Pijlman et al., 2005). Obdobné nárůsty obsahu  $\Delta$ 9-THC byly také zaznamenány v další studii (Mehmedic et al., 2010). Nicméně byla také vyšlechtěna řada odrůd konopí využívaných pro léčebné účely s velmi výrazně potlačeným obsahem  $\Delta$ 9-THC ve prospěch CBD (Mehmedic et al., 2010). Příkladem těchto rostlin s vysokým obsahem CBD mohou být například odrůdy *Bediol*, *Cherry wine*, *Lifter*. Morfologicky se konopí seté odlišuje od konopí indického vyšší stavbou rostliny, s delšími úzkými listy, květy jsou oproti indickému konopí větší, nicméně méně kompaktní. Oproti tomu se indické konopí vyznačuje nižším růstem, avšak robustním větvením, s rozměrově menšími více přisedlými květy. Z důvodu širokého využití konopí v celé řadě oborů, je konopí v současné době rozšířené na všech kontinentech mimo subpolární a polární podnebný pás (Barcaccia et al., 2020; Gloss, 2015; Turner et al., 1980).

## 2.2. Historie konopí

Konopí provází člověka již od neolitických dob. Je popisováno v Číně již 6000 let př.n.l. jako zdroj potravy a 4000 př.n.l. jako textilní plodina a později také její využití v čínské medicíně (Crocq, 2020; Hand et al., 2017; Zuardi, 2006). Spalování konopí pro rituální účely je známé již 5000 let př.n.l. Využívání konopí pro psychoaktivní účely v Evropě je popsáno Hérododem z Řecka roku 440 př.n.l. v díle zabývajícím se životem Skythů. To podporují i nálezy rituálních nádob s obsahem konopí a opia ve skytských hrobkách (Crocq, 2020; Hand et al., 2017; Zuardi, 2006).

V římské říši bylo konopí považováno za lék již v 70 let po Kristu. O jeho psychoaktivních účincích se také zmiňuje Galén 170 let po Kristu (Crocq, 2020). Ve 12 století je již kanabis

---

<sup>2</sup> NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (EU) 2021/2115,  
COMMISSION DELEGATED REGULATION (EU) 2022/126



a z něj získaný hašiš velmi populární v celé oblasti středního východu a rozšiřuje se co Egypta (Crocq, 2020; Zuardi, 2006). V 17. století je konopí pěstováno jako textilní plodina v anglických a francouzských koloniích, ale také se spolu s užíváním opia objevuje v Konstantinopoli. Spolu s francouzskými vojáky byl také zvyk kouření konopí přivezen z oblasti Egypta do Francie.

Vzhledem k oblíbenosti užívání konopí pro jeho psychoaktivní účinky se také v historii také velmi často objevují restrikce užívání konopí. První dochované zmínky o zákazu užívání konopí pochází z oblasti Arábie, ze 13. století (Ballotta et al., 2008, Crocq, 2020). Ke konci 18. století a počátkem 19. století dochází k celé řadě zákazu držení konopí. S obdobím koloniální nadvlády také docházelo k zákazu konopí jak v oblastech, kde bylo historicky konopí užíváno, tak i v oblastech kde bylo importováno spolu s otroky. V roce 1798 v Egyptě vyhlásil Napoleon Bonaparte zákaz užívání konopí mezi francouzskými vojáky. Restrikce pro držení a užívání konopí jsou také známy z celé řady britských kolonií, jako je Indie (roky 1838, 1871, 1877), v roce 1840 bylo zakázáno držení konopí na Mauriciu a později v roce 1870 bylo konopí zakázáno indickým dělníkům v Singapuru a i v Jižní Africe (Ballotta et al., 2008).

V 1. polovině 20. století je konopí považováno v západní Evropě a v USA za spíše okrajový problém společnosti v porovnání s kokainem, opiáty, a s alkoholovou prohibicí v USA. Navíc je užívání konopí spojováno převážně s menšinami pocházejícími z koloniálních oblastí. Nicméně v roce 1925 je konopí poprvé přiřazeno na seznam drog pod mezinárodní kontrolou v rámci tzv. druhé mezinárodní úmluvy o opiu. V souvislosti s tímto zařazením konopí na seznam drog zakázala Velká Británie užívání konopí v roce 1928 a roce 1937 je konopí zakázáno v USA na federální úrovni (Collins, 2020; Pacula et al., 2002). Šedesátá léta 20. století jsou spojena s hnutím Hippies a masivním nárůstem obliby konopí mezi mladými lidmi v USA, Kanadě, Velké Británii, Austrálii a Novém Zélandu. Tento trend užívání konopí vedl k řadě restrikcí v 70. a 80. letech v rámci protidrogové kampaně, primárně vedenou USA. V roce 1961 byla v radě OSN schválena úmluva o celosvětovém omezení konopí pro jiné než léčebné účely. V roce 1970 USA novelizovaly zákon z roku 1937 a konopí bylo zařazeno do I. kategorie nebezpečných látek omezující i jejich terapeutické použití. V rámci boje proti drogám byla v řadě zemí omezena nebo zcela zastavena legální produkce konopí (Pacula et al., 2002).

Nicméně i přes restrikce je konopí a látky v konopí obsažené ve středu zájmu pro možné medicínální využití v moderní medicíně. Jako první byl izolován koncem 19. století, strukturně popsán počátkem 30. let kanabinol (CBN), sloužící jako prekurzor dalších kanabinoidů, jako je

CBD a  $\Delta^9$ -THC (Appendino, 2020; Cahn, 1933). Jeho chemické syntézy bylo dosaženo v roce 1940, téhož roku byl izolován z konopí kanabidiol a od dva roky později  $\Delta^9$ -THC (Adams et al., 1940; Appendino, 2020; Wollner et al., 1942). Struktura a stereochemie CBD a  $\Delta^9$ -THC byla popsána pro CBD v roce 1963 (Mechoulam & Shvo, 1963) na Hebrejské univerzitě v laboratoři Raphaela Mechoulama a o rok později bylo v téže laboratoři popsáno  $\Delta^9$ -THC (Gaoni & Mechoulam, 1964). Mezi další velmi důležité milníky výzkumu konopí a kanabinoidů je nutné zařadit identifikaci kanabinoidních receptorů. Kanabinoidní receptor CB1 byl popsán v roce 1990 ve spolupráci s laboratoří Raphaela Mechoulama (Devane et al., 1988; Matsuda et al., 1990) a v roce 1992 byl v téže laboratoři izolován a popsán, analytickým chemikem prof. Lumírem Hanušem, také jeho endogenní ligand arachidonylethanolamid (AEA), pojmenovaný anandamid (Devane et al., 1992; Hanus et al., 1993). V roce 1993 byl popsán v Cambridge v laboratoři Seana Munra druhý známý kanabinoidní receptor CB2 (Munro et al., 1993). Úvodní milníky výzkumu kanabinoidního výzkumu jsou přehledně shrnuty v (Appendino, 2020; Howlett et al., 2002; Pertwee, 2006). Tyto objevy velmi výrazně zvýšily zájem o konopí. Lze tak mluvit o objevu endokanabinoidního systému. V současné době je známo již více než 100 kanabinoidů obsažených v konopí (Bhattacharyya et al., 2010).

V návaznosti na některé terapeutické úspěchy podávání konopí došlo k povolení konopí pro lékařské účely v roce 1996 v Kalifornii, v rozporu s federálními zákony USA (Pacula et al., 2002). V Evropě jako první částečně dekriminalizovalo konopí Nizozemsko v roce 1972 rozdělením drog do dvou kategorií podle nebezpečnosti. V roce 2001 Portugalsko dekriminalizovalo držení drog pro vlastní potřebu a v řadě zemí postupně následovala dekriminalizace držení konopí pro vlastní potřebu (Česká republika v roce 2010) (zdroj EMCDDA<sup>3</sup>).

V současné době je užívání konopí pro léčebné účely v ČR možné v případě chronické neutišitelné bolesti (zejména bolest spojená s onkologickým onemocněním, degenerativními stavy pohybového systému, imunopatologickými stavy, neuropatické bolesti, či bolesti při glaukomu), při neurologických potížích jako jsou spasticity u roztroušené sklerózy, poranění míchy, úrazech mozku, neurologickém třesu, při Parkinsonově chorobě či mimovolných pohybech. Použití konopí je možné i pro další neurologické onemocnění dle zvážení ošetřujícího lékaře-specialisty. Dále je konopí možné předepsat pro nauzeu, zvracení, stimulace příjmu potravy v pacientů s HIV nebo u onkologických pacientů. Konopí lze také

---

<sup>3</sup> European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (2018), Cannabis legislation in Europe: an overview, Publications Office of the European Union, Luxembourg

předepsat na povrchovou léčbu dermatóz a slizničních lézí. Z hlediska psychiatrie je předepsání konopí možné na Gilles de la Tourettův syndrom<sup>4</sup>. V roce 2018 byl CBD schválen americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) pro léčbu pediatrické refrakterní epilepsie, tj. syndrom Dravetové a Lennox-Gastautův syndrom (Corroon & Kight, 2018).

### **2.3. Endokanabinoidní systém**

V rámci výzkumu kanabinoidů a snahy o porozumění jejich pleiotropních účinků byly vyvíjeny aktivity vedoucí k objevení fyziologických drah odpovědných za účinky izolovaných kanabinoidů (převážně THC) a lokalizování fyziologických cílů kanabinoidů v organismu.

Kanabinoidní receptory se řadí mezi receptory spřažené s G proteiny, jsou široce exprimovány v celé řadě tkání, moduluji řadu fyziologických procesů a podílejí se na udržování homeostázy v organismu. CB1 receptor je primárně exprimovaný v CNS a na periferních nervech, nicméně lze jej v nižších koncentracích lokalizovat také v gastrointestinálním traktu (GIT), kardiovaskulárním systému, tukové i svalové tkáni, reprodukčních tkáních, játrech a slinivce (Ligresti et al., 2016). V CNS jsou CB1 receptory nejvíce exprimovány v oblasti hipokampu, kortexu, bazálních ganglií a mozečku. V menší míře jsou také zastoupeny v amygdale, nucleus accumbens. Oproti tomu jsou jen velmi ojediněle exprimovány v oblasti mozkového kmene (Herkenham et al., 1990; Kendall & Yudowski, 2016; Mackie, 2005; Moldrich & Wenger, 2000). CB1 je v CNS lokalizován primárně v presynaptické části neuronů, a to jak na excitačních (glutamatergických), tak i inhibičních (GABAergických) neuronech. Ve výrazně nižší míře mohou být CB1 receptory exprimovány také na postsynaptické části neuronů (Herkenham et al., 1990; Kendall & Yudowski, 2016; Mackie, 2005) .

CB2 receptor je často označován jako periferní CB2 receptor lokalizovaný na buňkách imunitního systému a v kostní tkáni (Ofek et al., 2006; Onaivi et al., 2012). V CNS je CB2 receptor za fyziologických podmínek jen velmi těžko detekovatelný, ale může být silně exprimován na mikroglíích a astrocytech v případě probíhajícího zánětu. Nicméně byla prokázána exprese dvou různých izoform CB2 receptoru v nativním mozku (na neuronech, gliových i endoteliálních buňkách). V současné době se uvažuje o zapojení do modulace závislosti, poruch příjmu potravy a dalších neuropsychiatrických onemocnění i mimo jejich imunomodulační funkci (Onaivi et al., 2012). Při aktivaci CB1 receptoru asociovaného s G proteinem typu Gi/0 nebo méně obvykle s Gq dojde k aktivaci mitogenem aktivované

---

<sup>4</sup> SUKL, 9.1.2021 - <https://www.sukl.cz/konopi-pro-lecebne-pouziti>;

proteinové kinázy (MAPK) typu ERK1, ERK2, p38 MAPK nebo JNK, také dochází k inhibici adenylátcyklázy a tím také ke snížení cAMP a inhibici protein kinázy A. Dále dochází k inhibici napěťově řízených  $\text{Ca}_2^+$  kanálů typu L, N a P/Q, zvýšení intracelulární koncentrace  $\text{K}^+$  a snížení uvolňování neurotransmiterů do synaptické štěrby (Dalton et al., 2012). Samotné hledání endogenních ligandů kanabinoidních receptorů bylo ze začátku obtížné.

Jako pravděpodobné ligandy kanabinoidních receptorů se nejdříve hledaly hydrofilní látky analogické k endorfinům. Na základě lipidové povahy THC se začalo hledání ligandů zaměřovat na lipidové molekuly, což vedlo k zaměření na eikosanoidy, konkrétně na AEA a 2-AG (Fezza et al., 2014). Tyto dvě molekuly jsou dnes považovány za hlavní endokanabinoidy (eCB). V rámci výzkumu endokanabinoidního systému byla objevena celá řada dalších endokanabinoidů odvozených od kyseliny arachidonové (označované jako n-6-endokanabinoidy, např. virodhamin, noladin ether), ale také odvozených od n-3-polynenasycených mastných kyselin, např. od kyseliny eikosapentaenové nebo dokosahexaenové. Přehled těchto endokanabinoidů a jejich cílů je popsán v přehledném článku (Fezza et al., 2014). AEA je získáván hydrolyzou N-acetylfosfatidylethanolaminu (NAPE) pomocí NAPE specifické fosfolipázy D, nebo dalšími vícekrokovými cestami. 2-AG je získán hydrolyzou diacylglycerolu pomocí diacylglycerol lipázy DAG (DAGL $\alpha$  nebo DAGL $\beta$ , DAGL $\alpha$  je primární zdroj v dospělém mozku) (Di Marzo & Piscitelli, 2015; Tanimura et al., 2010). AEA se oproti 2-AG vyskytuje ve výrazně nižších koncentracích s vysokou afinitou k CB1 receptoru, kde účinkuje jako parciální agonista. U CB2 receptoru se AEA chová jako velmi slabý parciální agonista či přímo antagonist. 2-AG účinkuje jako plný agonista jak na CB1, tak i CB2 receptory. AEA má výrazně nižší afinitu k oběma CB receptorům než 2-AG (Di Marzo & Piscitelli, 2015; Fezza et al., 2014; Pertwee et al., 2010). Bylo prokázáno, že 2-AG je výrazně více zapojen do retrogradní regulace uvolňování neurotransmiterů než AEA, což podporuje presynaptická i postsynaptická distribuce DAGL $\alpha$ , respektive MAGL. Bylo také prokázáno, že signalizace CB1 receptoru je odlišná mezi inhibičními a excitačními neurony. AEA je také účinný jako ligand pro aktivaci vanniloidního kanálu TRPV1 (Zygmunt et al., 1999, 2013) nebo receptorů aktivovaných peroxisomovým proliferátorem PPAR $\gamma$  (Bouaboula et al., 2005; Pistis & Melis, 2010). Transmembránový transport endokanabinoidů a jejich intracelulární směřování k cílovým receptorům či enzymům není v současné době úplně objasněno. Je možné, že k transportu endokanabinoidů dochází pasivní difuzí, přenosem eCB v komplexu s cholesterolem, endocytózou. Specifické přenašeče nebyly dodnes objeveny. Nicméně se zdá, že pro transmembránový transport je nutná minimálně 1 dvojná vazba na

acylovém řetězci. V rámci intracelulárního transportu mohou být eCB skladovány v lipidových kapičkách nebo v adiposomech. Dále mohou být v intracelulárním prostoru přenášeny pomocí intracelulárních transportérů jako je hot shock protein 70(Hsp70), nebo pomocí proteinů vázajících mastné kyseliny (FABP) či případně ve vazbě na albumin (Fezza et al., 2014; Kaczocha et al., 2009; Oddi et al., 2008, 2009). Transport 2-AG je s největší pravděpodobností zajištěn stejnými mechanismy. eCB mohou pasivně difundovat přes membránu, nicméně jejich transport může být významně urychlen pomocí lipidových raftů. Endokanabinoidy jsou odstraňovány primárně pomocí hydrolýzy. AEA je degradován pomocí amidové hydrolázy mastných kyselin (FAAH-1), oproti tomu 2-AG je hydrolyzován pomocí monoacylglycerol lipázy (MAGL), FAAH-1, nebo serinovou hydrolázou  $\alpha$ ,  $\beta$ . Endokanabinoidy mohou být také odbourávány pomocí oxidace, zajišťované pomocí cyklooxygenázy 2 (COX 2)(Fezza et al., 2014).

## **2.4. Akutní účinky fytokanabinoidů u lidí a v animálních modelech**

V rámci tohoto literárního přehledu níže budou podrobněji popsány dva nejznámější a nejvíce popsané kanabinoidy THC a CBD, které byly využity v rámci experimentální části předkládané práce.

### **2.4.1. $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinol (THC)**

U lidí je nejčastější způsob podání THC inhalační, které se vyznačuje vysokou bio-dostupností THC s maximálními sérovými hladinami i subjektivními účinky v řádu minut po podání (Huestis et al., 1992), podobně rychlý nástup má také intravenózní podání THC, které však není běžnými uživateli používané a je specifické spíše pro preklinický a klinický výzkum (Bhattacharyya et al., 2010; Englund et al., 2016). Dalším častým způsobem užívání THC je perorální podání s obvykle opožděným nástupem subjektivních účinků o 30-120 minut a také se snížením a zpožděním maximálních koncentrací THC v séru o 1-6 hodin. Perorální podání THC může tvořit bifázický farmakokinetický profil, kvůli enterohepatálnímu oběhu a také zde díky významnému first-pass efektu dochází k detekci typicky vyšších hladin psychoaktivního metabolitu 11-OH-THC než u ostatních způsobů podání (Huestis, 2007). Psychoaktivní účinky THC jsou primárně způsobeny parciální vazbou THC na CB1 receptory, nicméně THC dále interaguje s řadou dalších nekanabinoidních receptorů (Campos et al., 2012; Mechoulam et al., 2014). THC, obdobně jako jiní CB1 agonisté vyvolává u myši typické účinky označované jako kanabinoidní tetráda. Kanabinoidní tetrádu lze pozorovat jako sníženou citlivost na bolestivé podněty, hypotermií, katalepsií a celkové snížení motorické aktivity (El-Alfy et al., 2010;

Katsidoni et al., 2013). Nicméně těchto účinků je dosahováno až ve vyšších dávkách THC nebo při použití potentnějších syntetických kanabinoidů. U nižších dávek THC může oproti tomu docházet i k mírným stimulačním účinkům a k navýšení motorické aktivity (Micale et al., 2013; Uttl et al., 2018). U lidí má THC celou škálu psychoaktivních účinků, do značné míry závislé na dávce. V nižších dávkách dochází ke snížení anxiety, zvýšení sociální interakce, narušení vnímání času, výskytu záchvatovitého smíchu, ke snížení napětí a ostražitosti. Naproti tomu ve vyšších dávkách THC, které mohou být velmi individuální, dochází k nárůstu psychotických jevů, jako jsou změny percepce, zvýšení impulzivního chování, silné narušení vnímání času (McDonald et al., 2003), rozvoji úzkostných a panických stavů, paranoidnímu chování. U chronických uživatelů THC dochází s vyšší prevalencí k nárůstu úzkostlivého chování, rozvoji panických stavů (Crippa et al., 2009) a neposlední řadě také dochází u uživatelů THC s vyšší pravděpodobností k rozvoji psychotického chování (Lamarine, 2012). Agonisté CB1 receptoru jsou používány jako jeden z modelů farmakologicky indukovaných psychotických stavů – označované jako kanabinoidní model psychózy. Po podání THC, ale i dalších agonistů CB1 receptoru dochází jak k nárůstu pozitivních příznaků, ale také k negativním příznakům a ke snížení kognitivních schopností jedince. V závislosti na dávce byly pozorovány různé psychotomimetické účinky: pozitivní příznaky psychózy jako je změněná percepce, podezřívavost, bludy, paranoidní stavy, dezorganizace myšlení, snížená schopnost filtrace nerelevantních informací, záchvaty euforie, depersonalizace, zkreslené vnímání času (zpomalení), ale také negativní příznaky jako je otupělost, snížení spontánnosti a emocionality, narušení psychomotorických schopností. Dále také kognitivní deficit jako je narušení verbálních schopností a vybavování si souvislostí, narušení krátkodobé pracovní paměti, snížená pozornost, narušení rozhodovacích procesů a motivace. Rozdíly mezi pozorovanými příznaky po požití konopí jsou velmi často pozorovány při porovnávání dobrovolníků, kteří jsou chronickými uživateli konopí a mezi dobrovolníky bez zkušenosti s konopím, či s jeho velmi nízkou frekvencí užívání. Bylo prokázáno, že psychotičtí pacienti jsou výrazně vnímavější k účinkům konopí, zejména k jeho psychotomimetickým účinkům, a to i pokud se nacházejí v remisi onemocnění (D'Souza et al., 2005). K nepříznivým účinkům konopí velmi výraznou měrou přispívá velmi markantní nárůst THC v dnes pěstovaných rostlinách. V 60. a 70. letech byl obsah THC v marihuaně v rozmezí 1-3 %, od 80. a 90. let se obsah THC v kultivarech konopí zvýšil na 6-20 %, přičemž se velké oblibě těší kultivary konopí označované jako „skunk“ s obsahem i přes 20 % THC (Ashton, 2001; Mehmedic et al., 2010; Pijlman et al., 2005). Užívání konopí má také velmi výrazný dopad na kardiovaskulární systém, kdy po užití THC dochází k velmi výraznému nárůstu tepové frekvence a výraznému kolísání

krevního tlaku (Pacher et al., 2018). To může vést u některých uživatelů hlavně syntetických kanabinoidů až k srdečnímu selhání, což odpovídá zvýšenému výskytu CB1 receptoru na stěnách cévního endotelu a v oblasti myokardu (Kaschina, 2016; Pacher et al., 2018). Dalšími typickými projevy po podání THC je zarudnutí v očích a výrazné sucho v ústech a zvýšená chuť k jídlu (ta může být paradoxně někdy s výhodou využívána). Oproti těmto vedlejším účinkům má THC také celou řadu terapeuticky prospěšných vlastností, jakými jsou antiemetické účinky, již zmíněná stimulace příjmu potravy (např. u onkologických pacientů či anorexie), imunomodulační a také výrazné analgetické účinky v léčbě zánětlivé a chronické bolesti. Tyto analgetické účinky THC mohou být zprostředkovány jak přímo desenzibilizací TRPV kanálů (Muller et al., 2019), tak i nepřímo synergickým působením v kombinaci s opiáty potvrzenými v preklinických studiích (Maguire & France, 2014; Nilges et al., 2020). Nicméně je nutné zmínit, že tento synergický efekt kombinace opiátů a THC snižující dávku opiátů potřebnou pro analgetický účinek nebyl v humánních studiích potvrzen (Babalonis & Walsh, 2020). THC působí jako ligand řady TRP kanálů, kdy působí jako účinný agonista TRPV2 kanálu a částečně také TRPV3 a TRPV4, TRPA1 a TRPM8. Pro analgetický účinek THC je důležitý jeho efekt (aktivace a desenzibilizace) na TRPV1 a TRPV2 kanály. Jako přímý agonista TRPV2 receptoru je THC schopný aktivovat a posléze desenzibilizovat tento kanál, ale v případě TRV1 nedochází k vzájemné vazbě s THC. Pravděpodobně THC může aktivovat TRPV1 receptor nepřímo, díky inhibici odbourávání endogenních kanabinoidů (Elmes et al., 2015), které jsou účinnými agonisty TRPV1 receptoru (Muller et al., 2019).

Výše zmíněné účinky THC se ukazují jako velmi cenné ke zmírnění obtíží provázejících léčbu rakoviny, AIDS, roztroušené sklerózy, či v rámci paliativní léčby (Fraguas-Sánchez & Torres-Suárez, 2018; Robson, 2014). Dále bývá také uváděno snížení nitroočního tlaku při léčbě glaukomu (zeleného zákalu), nicméně snížení nitroočního tlaku je jen krátkodobé a nelze potvrdit terapeutický přínos v této indikaci (Bilbao & Spanagel, 2022; Bowen & McRae-Clark, 2018).

#### **2.4.2. Kanabidiol (CBD)**

CBD na rozdíl od THC nevykazuje žádné známky kanabinoidní tetrády a jen minimálně ovlivňuje behaviorální testy na naivních zvířatech. V řadě klinických studií byla prokázána velmi dobrá snášenlivost CBD i ve vysokých dávkách jen s mírnými vedlejšími účinky, ze kterých se u pacientů nejčastěji vyskytuje ospalost, průjem, nechutenství, zvracení a možnost interakce s řadou léčiv působením CBD na jaterní metabolismus (Huestis et al., 2019). .Ve

velmi vysokých dávkách CBD jsou v animálních modelech popsány možné hepatotoxické účinky, narušení embryonálního vývoje, snížení spermatogeneze a s tím související snížení fertility, hypotenze (Carvalho et al., 2018, 2022; Huestis et al., 2019). Vzhledem k absenci psychoaktivních účinků a schopnosti interakce s celou řadou receptorů a modulací řady fyziologických funkcí je CBD jedním z velmi nadějných kanabinoidů pro terapeutické použití (Fraguas-Sánchez & Torres-Suárez, 2018; Pacher et al., 2020). Jako příklad může být schválení americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) k léčbě epileptických záchvatů provázejících syndrom Dravetové a Lennox- Gaustův syndrom (Corroon & Kight, 2018). CBD vykazuje terapeutický potenciál v celé řadě klinických indikací. Z hlediska neurologických onemocnění se jedná o již zmiňovaný antiepileptický účinek, neuroprotektivní, antipsychotický, anxiolytický a antidepressivní účinek. Tyto účinky budou později podrobněji popsány v samostatných kapitolách (Alexander, 2016; Bhattacharyya et al., 2010; Boggs et al., 2018; Englund et al., 2013; Friedman & Wongpravit, 2018; Long et al., 2010; Schubart et al., 2014; Zuardi et al., 2012). CBD nevykazuje účinky, typické pro CB1 agonisty (Ki  $\Delta^9$ -THC; Ki =  $41 \pm 2$  nM, Ki SC JWH-073 =  $12,9 \pm 3,4$  nM, Ki CBD =  $2210 \pm 2$  nM) (Breus et al., 2012; McPartland et al., 2007) a v závislosti na koncentraci ve fyziologických podmínkách funguje jako antagonist, či negativní alosterický modulátor CB1 receptorů a parciální agonista CB2 receptorů (An et al., 2020). CBD může pozitivně modulovat i CB1 aktivaci pomocí inhibice vychytávání a odstraňování endokanabinoidů ze synaptické štěrby (Elmes et al., 2015; Leweke et al., 2012) a ve vysokých intraperitoneálních dávkách také inhibuje mikrosomální metabolismus THC (Bornheim et al., 1995). CBD interaguje s celou řadou receptorů jako jsou receptory spřažené G-proteinem 5 $\alpha$  a 18 a opioidní receptory  $\mu$  a  $\delta$ . Moduluje aktivitu obousměrných nukleosidových transportérů, interaguje s GABA<sub>A</sub> receptory a Voltage-Gated Sodium Channel (VGSC). CBD je agonista 5-HT<sub>1A</sub> receptoru, glycinových receptorů A1 a A3, ve vyšších koncentracích také ankyrinových receptorů typu 1 a 6. CBD aktivuje PKC, receptory (kanály) vaniloidního typu 1 a 2 (TRPV1, TRPV2) a ovlivňují intracelulární koncentrace Ca<sub>2</sub><sup>+</sup> (pro přehled (Senn et al., 2020)). Níže budou rozepsány antipsychotické a anxiolytické účinky CBD.

## 2.5. Antipsychotický účinek CBD

Četné preklinické studie potvrzují srovnatelný antipsychotický účinek CBD s běžně používanými antipsychotiky (např. klopazinem, haloperidolem nebo amisulpridem), oproti kterým však vykazuje výrazně nižší vedlejší účinky (Moreira & Guimarães, 2005; Zuardi et al., 1991). CBD inhibuje hyperlokomoci vyvolanou psychotomimetiky, jako jsou ketamin či



amfetaminem u myši. Na rozdíl od haloperidolu a klozapinu CBD významně neovlivňuje lokomoční aktivitu myši ani při vysokých dávkách (Moreira & Guimarães, 2005; Zanelati et al., 2010). U potkanů může být v závislosti na dávce pozorováno zvýšení pohybové aktivity (Gururajan et al., 2011; Hložek et al., 2017). Dlouhodobé podávání CBD zvýšilo sociální interakci myši s mutací neuregulinu 1 (domnělý zvířecí model schizofrenie), ale nemělo žádný vliv na hyperlokomoci (Long et al., 2012). CBD byl také schopen účinně zvrátit katalepsii vyvolanou extrapyramidovými účinky (příznaky Parkinsonovi choroby jako jsou posturální rigidita, zpomalení pohybu, třes). CBD sám o sobě nicméně na rozdíl od haloperidolu neindukuje katalepsii ani při nejvyšších dávkách (Gomes et al., 2013; Moreira & Guimarães, 2005; Sonogo et al., 2016; Zuardi et al., 1991). Mimo to CBD zmírňuje nebo normalizuje katalepsii vyvolanou různými farmakologickými mechanismy (blokádu dopaminergního receptoru D2, inhibicí syntázy oxidu dusnatého a agonisty CB1, prostřednictvím aktivace 5-HT1A receptoru) (Gomes et al., 2013; Sonogo et al., 2016). CBD také snižuje výskyt stereotypního chování, jako je apomorfinem vyvolané kousání a čenichání a také zvyšuje hladinu prolaktinu v plazmě (Zuardi et al., 1991). Prepulzní inhibice (PPI) úlekové reakce je zvířecím modelem senzomotorického zpracování informací a je charakterizována redukcí akustické úlekové reakce na intenzivní akustický podnět (puls), kterému bezprostředně předchází akustický podnět s nižší intenzitou (Pedrazzi et al., 2015). Narušení senzomotorického zpracování informací se projevuje neschopností subjektu zpracovávat a filtrovat důležité podněty z okolního prostředí. K tomuto jevu dochází u pacientů v průběhu psychózy, nebo v případě intoxikace psychotomimetiky. Tohoto jevu se využívá při farmakologickém modelování psychóz. Příkladem mohou být níže zmíněné modely psychóz založené na interakci s jednotlivými neurotransmiterními systémy (*dopaminergní model* – vyvolané amfetaminem, metamfetaminem; *glutamatergní model* – vyvolaný dizocilpinem (MK-801), ketaminem či fencyklidinem (PCP); *serotonergní model* – vyvolaný LSD, mezkalinem, dimethyltryptaminem, psilocybinem; *kanabinooidní model* – vyvolaný THC, či syntetickými agonisty CB1 receptorů). U pacientů se specifickými neuropsychiatrickými poruchami je často pozorováno narušení tohoto procesu (Braff et al., 1978). Běžně je uváděno, že CBD nenarušuje PPI u hlodavců ani u subhumánních primátů (malpy) (Long et al., 2006; Pedrazzi et al., 2015; Saletti et al., 2017). Naše studie nicméně ukázala jisté snížení PPI po podání CBD, které je v rozporu s literaturou (Hložek et al., 2017). CBD je schopen zvrátit pozorované narušení PPI vyvolané amfetaminem (Pedrazzi et al., 2015), ale také u myši po podání dizocilpinu (MK-801) antagonisty NMDA receptorů (Gomes et al., 2014; Long et al., 2006), ale nevykázal ve stejném modelu žádný účinek u potkanů (Gururajan et al., 2011).

Oproti tomu po podání MK-801 bylo pozorováno u malp zvýšení PPI, které bylo zablokováno podáním CBD (Saletti et al., 2017). CBD normalizuje také deficit PPI u spontánně hypertenzních potkanů (SHR). Tyto potkani vykazují změny v chování, jako je bazální narušení PPI, které jsou spojeny se schizofrenií (Levin et al., 2014). Chronické podávání THC vede u dospělých potkanů ke krátkodobému narušení pracovní paměti, ale v případě podávání THC v adolescentním věku může docházet k dlouhodobému narušení pracovní paměti v testu rozlišování nových objektů (Novel Object Recognition Test, NORT). V případě souběžného podávání THC a CBD je negativní účinek THC zmírněn (Murphy et al., 2017). Podání MK-801 v glutamatergním modelu psychózy vede k narušení výkonu potkanů při testu sociální interakce, tak i v testu NORT (Gomes et al., 2014, 2015; Gururajan et al., 2012). Podání CBD je schopné nejen snížit behaviorální deficit ve výše zmíněných testech, ale také může snižovat míru aktivace mikroglíí a astrocytů a pokles počtu GABAergních parvalbumin pozitivních neuronů, který je popsán po podání MK-801 (Gomes et al., 2014, 2015; Gururajan et al., 2012). Tyto histologické změny pozorované po podání MK-801 jsou v souladu s pozorovaným narušením GABAergního systému (pokles parvalbumin pozitivních neuronů) a zvýšenými markery zánětu u *post mortem* získaných mozků pacientů s diagnostikovanou schizofrenií (Reynolds et al., 2002; Trépanier et al., 2016; Zhang & Reynolds, 2002).

V případě klinických studií zaměřených na hodnocení účinku CBD se opakovaně ukazuje, že CBD má schopnost blokovat některé psychotické stavy vyvolané THC u zdravých dobrovolníků (Bhattacharyya et al., 2010; Zuardi et al., 1982). CBD zvýšil aktivační účinky ketaminu dle aktivační subškály BPRS, ale nevykazoval žádnou účinnost na ketaminem indukovanou depersonalizaci, dle škály CADSS (Hallak et al., 2011). V dvojité zaslepené kontrolované klinické studii se 42 pacienti se schizofrenií a schizofreniformní psychózou prokázal CBD stejnou účinnost a snížil psychotické příznaky, jako jedno z běžných antipsychotik používaných k léčbě schizofrenie - amisulprid, ale s výrazně nižším výskytem nežádoucích účinků (Leweke et al., 2012; McGuire et al., 2018). Poruchy smyslového vnímání jsou jedním ze základních příznaků psychóz. Jako příklad lze uvést narušení vizuálního vnímání, které lze otestovat například pomocí tzv. binokulární hloubkové inverze obrazu (*binocular depth inversion of natural and artificial objects*) popsáno (Leweke et al., 1999), kdy iluzorní hloubka vnímání obrazu je narušena v průběhu psychózy. Toto narušení vnímání hloubky obrazu bylo popsáno po podání syntetického analogu THC (*Nabilonu*) (Leweke et al., 1999, 2000) a podání CBD bylo schopno částečně obnovit vnímání této optické iluze. Podání samotného CBD nemělo na vnímání obrazu žádný vliv (Leweke et al., 2000). Podání CBD také

doprovází významné zvýšení sérových hladin anandamidu (AEA), což je spojeno s klinickým zlepšením stavu pacientů (Leweke et al., 2012). CBD také snižuje psychotické příznaky u pacientů s Parkinsonovou chorobou při podávání levodopy (L-DOPA). CBD také snižuje psychotické příznaky vznikající u pacientů s Parkinsonovou chorobou po užívání prekurzoru dopaminu – levodopy (L-DOPA) bez narušení motorických funkcí (Zuardi et al., 2009). Nicméně je velmi důležité zmínit, že řada klinických studií neprokázala po podání CBD žádný terapeutický přínos na stav schizofrenních pacientů. (Boggs et al., 2018; Hallak et al., 2010; Zuardi, 2006).

## **2.6. Anxiolytický a antidepressivní účinek CBD**

Úzkostné poruchy jsou v současnosti nejčastějšími psychiatrickými chorobami v Evropě a v USA. Nejběžnějšími podtypy úzkostné poruchy jsou generalizovaná úzkostná porucha (GAD), panická porucha, specifická fobie, sociální fobie, obsedantně-kompulzivní porucha a posttraumatická stresová porucha (Cryan & Sweeney, 2011). Pro hodnocení anxiolytického/anxiogenního účinku u zvířat se používá řada testů, jako jsou vyvýšené bludiště (Elevated Plus Maze, EPM), test otevřeného pole (Open Field Test, OFT), Light-Dark box (LDB), test sociální interakce, Vogelův konfliktní test (VCT), test nuceného plavání (FST), tail suspension test (TST), při kterém je zvíře zavěšeno za ocas a je měřena doba, po které zvíře přestane vytvářet snahu o únik a přechází do pasivity, či test preference sacharózy. Pro lepší pochopení deprese a úzkostných poruch byla vytvořena řada animálních modelů. Ve většině případů se jedná o vystavení zvířete dlouhodobému většinou mírnému až střednímu stresu (opakovaná imobilizace zvířete, zavěšování zvířete za ocas, nucené plavání, odebírání vody či potravy, narušení režimu den-noc, opakované bolestivé podněty, vystavení sociálnímu stresu kontaktem s agresivními jedinci stejného nebo i jiného druhu), případně pomocí naučené bezmocnosti, kdy je zvíře vystaveno bolestivému nebo vysoce stresujícímu podnětu (typicky např. elektrický šok do nohou zvířete při pobytu v aréně, kterému se nemůže vyhnout a tuto naučenou bezmoc si přenáší i do prostředí, ve kterém je možnost úniku. Dále mohou být modelovány depresivní stavy chirurgicky odstraněním čichových bulbů, kdy dojde k výrazné smyslové deprivaci u potkana nebo chronickým podáváním kortikosteronu, případně chronickým podáváním reserpinu. (Hao et al., 2019). Anxiolytický účinek CBD u potkanů byl potvrzen celou řadou studií, nicméně některé studie ukazují neúčinnost CBD jako anxiolytika, zejména po chronické aplikaci nebo v malých nebo příliš vysokých dávkách (přehledně vizte (Campos et al., 2012). V testu sociální interakce je hodnoceno chování a měřen čas strávený experimentálním zvířetem v interakci s druhým zvířetem stejného pohlaví a druhu. Snížení této

normální sociální interakce může nastat v případě úzkosti zvířete, přičemž anxiolytika zvyšují míru sociální interakce (Cryan & Sweeney, 2011). Nízká dávka CBD zvýšila pasivní a celkovou sociální interakci potkanů (Almeida et al., 2013) a premedikace CBD částečně normalizovala snížení sociální interakce vyvolané podáním THC (Malone et al., 2009). CBD byl schopen inhibovat úzkostné chování indukované podáním THC (Todd & Arnold, 2016). Anxiolytický účinek CBD byl podobný podání diazepamu v VCT (Moreira et al., 2006) a modelu podmíněného strachu (Resstel et al., 2006). CBD byl schopen zmírnit úzkostné chování potkana a zmírnit stresem vyvolané zvýšení hladin glukokortikoidů, krevního tlaku a srdeční frekvence (Resstel et al., 2009). Akutní podání CBD má anxiolytický účinek a zvyšuje procento vstupů s otevřeným ramenem v EPM (Guimarães et al., 1994; Long et al., 2010; Schiavon et al., 2016). Mikroinjekce CBD do dorsolaterální periakvaduktální šedé hmoty ve středním mozku se projeví také anxiolytickým účinkem (Campos & Guimarães, 2008, 2009; Soares et al., 2010), ale stejná dávka CBD injikovaná do prelimbické mediální prefrontální kůry má opačný anxiogenní účinek v EPM (Fogaça et al., 2014). Mediální prefrontální kůra (mPFC) je spojena s mnoha procesy rozpoznávání a chování, a mimo jiné má důležitou roli ve stresových reakcích. CBD vykazoval opačné účinky mikroinjekcí prelimbické (PL) a infralimbické (IL) v modelu kontextové úpravy strachu (CFC). Injekce do prefrontální kůry PL mPFC sniží dobu ztuhnutí zvířete vyvolané opětovnému vystavení podmíněnému averzivnímu podnětu. Injekce CBD do prefrontální kůry IL mPFC má anxiogenní účinek (Lemos et al., 2010; Marinho et al., 2015), ale v případě opakovaného podávání (3 injekcích) Do Monte et al. pozorovali snížení trvání ztuhnutí potkana (Do Monte et al., 2013).

Marble Burying Test, (MBT) je zvířecí model používaný k testování úzkosti nebo chování obsedantně-kompulzivní poruchy (OCD). Je založen na pozorování, že potkani a myši mají sklon zahrabávat potenciálně škodlivé předměty. Jednorázové podání (15, 30, 60 mg/kg) i chronické (7denní) podávání CBD (30 mg/kg) snížilo počet zahrabaných kuliček v MBT u myši a v případě chronického podávání byl tento efekt pozorovatelný i 7 dní po poslední aplikaci CBD (Casarotto et al., 2010). Jednorázová subefektivní (nižší) dávka CBD (15 mg/kg) podaná spolu s inhibítorem zpětného vychytávání serotoninu fluoxetinem (3 mg/kg) má stejný účinek v MBT jako samotná účinná dávka CBD (30 mg/kg) nebo fluoxetinu (10 mg/kg) (Nardo et al., 2014). Chronické podávání CBD u myši, ale ne akutní podání, má mírné anxiolytické účinky v testu LDB a OFT (Long et al., 2010). Chronické podávání CBD má obdobné účinky i v modelu nepředvídatelného chronického stresu (Campos et al., 2013). Ojedinele může chronické podávání CBD vést paradoxně i k anxiogennímu účinku (ElBatsh et al., 2012).

V LDB testu ani akutní, nebo chronická (14 denní) expozice nízké dávky CBD (2,5mg/kg) nezměnila čas strávený v osvětlené části boxu (O'Brien et al., 2013). Test nuceného plavání (FST) se běžně používá na zvířecích modelech ke studiu depresi podobného chování u hlodavců. CBD snížil dobu imobility a prodloužil dobu plavání ve FST (El-Alfy et al., 2010; Réus et al., 2011; Sartim et al., 2016; Zanelati et al., 2010). Tyto účinky podobné antidepresivům jsou srovnatelné s tricyklickými antidepresivy, např. imipraminem (Zanelati et al., 2010). Antidepresivní účinky akutního a subchronického podávání CBD byly ukázány ve studii (Linge et al., 2016). U myši, kterým byla provedena bulbektomie, CBD vykazuje rychlý antidepresivní účinek již po prvním podání a jeho účinek se nemění ani při opakovaném podávání (Linge et al., 2016). Jednorázové a opakované podávání CBD snížilo dobu imobility v TST testu, který zahrnuje zavěšení zvířete (myši) nad zemí za ocas. Tento test je dobře validován pro hodnocení antidepresivního účinku léčiv (Schiavon et al., 2016). CBD také prokázal anxiolytické účinky podobné panikolytikům např. Fluoxetinu nebo imipraminu (Soares et al., 2010).

Akutní podávání CBD může snížit subjektivní úzkost u pacientů klinicky diagnostikovaných se sociální úzkostnou poruchou (Crippa et al., 2011) a také snižuje úzkost vyvolanou simulovaným veřejným projevem u pacientů se sociální fobií, kteří dosud nebyli léčeni (Bergamaschi et al., 2011). U zdravých dobrovolníků jednorázová dávka CBD neutlumila reakce na negativní emoční podněty (Arndt & de Wit, 2017), ale může snížit subjektivní úzkost (Fusar-Poli et al., 2009) a je schopen snížit úzkost pociťovanou při testu simulovaného mluvení na veřejnosti (Zuardi et al., 1993, 2017). Podobně jako u animálních studií, je anxiolytický účinek akutní dávky CBD u zdravých subjektů shodný s křivkou ve tvaru obráceného U v závislosti na dávce, kdy nízké nebo velmi vysoké dávky nevykazují účinek (Zuardi et al., 2017).

## **2.7. Kanabinoidy a epilepsie**

### **2.7.1. Epilepsie**

Podle WHO je epilepsie definovaná jako chronické onemocnění mozku, charakterizované opakovanými záchvaty, které je často spojeno se zvýšeným výskytem psychiatrických onemocnění, (deprese, kognitivní poruchy). Epileptický záchvat je výsledkem excesivní synchronizované aktivity skupiny neuronů. Přibližně 10 % populace prodělá alespoň jeden epileptický záchvat, ale epilepsie jako chronické onemocnění postihuje asi 1% celosvětové populace. To znamená, že epilepsií trpí přibližně 50 milionů lidí, což z ní činí nejčastější

neurologické onemocnění (Epilepsy (who.int<sup>5</sup>) přístupné 09.01.2023). U zhruba 50 % pacientů začíná epilepsie v dětském věku, přičemž první epileptický záchvat v životě se nejčastěji objeví v prvních dvou letech života. Léčba epilepsie je převážně farmakologická, omezuje se na potlačení epileptických záchvatů a psychiatrických komorbidit. Přes intenzivní vývoj nových protizáchvatových látek a rozvoj diagnostických metod, umožňujících cílenější výběr farmakoterapie, je odpověď zhruba 30 % pacientů na léčbu nedostatečná (Devinsky et al., 2018; Löscher et al., 2020; Mesraoua et al., 2019). Zejména epilepsie temporálního laloku a některé formy dětských epilepsií či věkově vázaných epileptických encefalopatií jsou spojeny s vysokým výskytem terapeutické rezistence. Překonání farmakologické rezistence a vývoj nových látek, účinných především proti refrakterním záchvatům, představuje jeden z hlavních cílů současného výzkumu v oblasti protizáchvatové medicíny (Löscher et al., 2020; Mesraoua et al., 2019; P. Perucca et al., 2018). Vzhledem k předpokládanému použití těchto látek u dětských pacientů je velký důraz kladen i na jejich bezpečnost pro nezralý mozek.

### **2.7.2. Kanabinoidy a jejich ovlivnění záchvatů**

Původní výzkumné práce zabývající se vlivem kanabinoidů na neuronální excitabilitu započaly již počátkem 80. let. Původně byly účinky THC a CBD testovány pomocí modelu maximálního elektrošoku (MES), který je považován za jeden ze standardních testů pro testování potenciálně účinných antiepileptik (Karler et al., 1973; Turkanis et al., 1974). Výsledky těchto studií stimulovaly další preklinický výzkum kanabinoidů (převážně THC), který ovšem vykazoval nepřesvědčivé až protichůdné výsledky (Chiu et al., 1979; Karler et al., 1974; Turkanis et al., 1977, 1991; Turkanis & Karler, 1975, 1981). Po této sérii experimentů došlo k přechodnému snížení zájmu o výzkum antiepileptických účinků kanabinoidů. K obnovení zájmu o výzkum a využití kanabinoidů k léčbě epilepsie přišel v návaznosti na identifikaci endokanabinoidního systému a rozšíření testování kanabinoidů v *in vivo* modelech epileptiformní aktivity (Whalley et al., 2004; Wilkinson et al., 2003). Výrazná variabilita účinků  $\Delta^9$ -THC na průběh záchvatu pozorovaná již v původních pracích (Boggan et al., 1973; Chiu et al., 1979; Karler et al., 1974; Lutz, 2004; Turkanis et al., 1977, 1991; Turkanis & Karler, 1975, 1981) může být způsobena rozdílnou farmakologickou citlivostí použitých modelů záchvatu, způsobem podání kanabinoidů a v neposlední řadě také použitými dávkami. Endokanabinoidní systém může velmi výrazně zpětnově inhibovat excitabilitu neuronů, kdy po depolarizaci postsynaptických neuronů dochází k *de-novo* syntéze endokanabinoidů (2-AG, AEA) a k jejich

---

<sup>5</sup> <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/epilepsy>

retrográdnímu transportu na presynaptický terminál a jejich vazbu na CB1 receptory, což snižuje pravděpodobnost dalšího uvolnění neurotransmiterů (Piomelli, 2003; Senn et al., 2020; Wilson et al., 2001). V souvislosti se zapojením endokanabinoidního systému do regulování excitability mozku je pozorováno jeho narušení u pacientů s diagnostikovanou epilepsií. *Post-mortem* odebrané vzorky hipokampu ukázaly významné snížení výskytu CB1 receptorů a zároveň také sníženou hladinu diacylglycerollipázy *a* zodpovědnou za syntézu 2-AG (Ludányi et al., 2008). Narušení koncentrace endokanabinoidů bylo také prokázáno v mozkomíšním moku pacientů s temporální epilepsií (Romigi et al., 2010). Zvýšení extracelulární koncentrace endokanabinoidů (anandamidu a 2-AG) vykazuje antikonvulzivní účinky v modelu pentylenetetrazolem (PTZ) indukovaného záchvatu (Zareie et al., 2018), ale ve vysokých dávkách po intracerebroventikulární aplikaci naopak může přes TRPV1 receptory působit prokonvulzivně (Manna & Umathe, 2012).

Účinek  $\Delta$ 9-THC je primárně dán jeho aktivací CB1 receptoru a schopností ovlivnit hladiny endokanabinoidů (Leweke et al., 2007; Thieme et al., 2014), nicméně se ukazuje, že může také inhibovat zpětné vychytávání cholinu v hipokampu a hypothalamu. Naproti tomu po podání CBD k této inhibici nedochází (Lindamood & Colasanti, 1980). Jak bylo řečeno výše, aktivace CB1 receptorů umožňuje zpětnovazebně snižovat excitabilitu neuronů, ale díky lokalizaci CB1 receptorů na inhibičních neuronech, kde inhibují výlev kyseliny GABA (Alger, 2002; Freund et al., 2003), tak i v glutamatergních kortikostriálních neuronech a glutamatergních neuronech hipokampu a amygdaly (Gerdeman et al., 2002; Marsicano & Lutz, 1999; Robbe et al., 2002) mohou vykazovat jak prokonvulzivní, tak i antikonvulzivní účinek (Lutz, 2004). Konvulzivní účinky agonistů CB1 byly popsány u myší po podání THC, ale i SC JWH-018, kdy docházelo k nárůstu specifické hrotové aktivity v EEG záznamu a tento jev byl zablokovan podáním antagonisty CB1 receptoru AM-251 (Malyshevskaya et al., 2017). Variabilitu účinků kanabinoidů odráží i přehledová studie (Rosenberg et al., 2015), která ukazuje, že agonisté CB1 receptoru (13 studií) vykazovaly antikonvulzivní vlastnosti v 68 %, prokonvulzivní ve 3 %, smíšený účinek v 7 % a ve 22 % byly neúčinné. Oproti tomu antagonisté CB1 receptoru (18 studií) vykazovali antikonvulzivní účinky v 6 %, prokonvulzivní 39 % a v 55 % neměly vliv na průběh záchvatu. Pokud se v rámci tohoto přehledu podíváme čistě na THC, tak ze 34 studií jich 62 % mělo antikonvulzivní účinek, 3 % prokonvulzivní a 3 % smíšený účinek a ve 32 % nevykázal žádný účinek na záchvat (Rosenberg et al., 2015). Celková variabilita účinků (jak antikonvulzivních, tak i v některých případech prokonvulzivních)  $\Delta$ 9-THC a v neposlední řadě jeho psychoaktivní účinky představovaly hlavní důvody pro zaměření výzkumu na

nepsychoaktivní CBD a později také CBDV nebo CBDG (Russo, 2011), kdy CBD a jeho analog CBDV v 41 studiích vykazují antikonvulzivní účinek v 81 % a v 19 % nemají žádný účinek na záchvat. Nicméně u žádné studie nebyl prokázán prokonvulzivní účinek (Rosenberg et al., 2015).

Přesný mechanismus antikonvulzivního účinku CBD zatím není plně pochopen. CBD interaguje s velkým počtem receptorů a biologických systémů, jak bylo již naznačeno výše, z nichž mnohé regulují excitabilitu neuronů. CBD inhibuje vychytávání a degradaci anandamidu (Leweke et al., 2012). Mimo to jsou známé antiapoptické, neuroprotektivní a protizánětlivé účinky (Izzo et al., 2009). Již v roce 1977 byly zkoumány účinky CBD na záchvaty u zvířat pomocí MES a audiogenních záchvatů a srovnávány se standardními antiepileptiky (AED), jako jsou fenytoin, fenobarbital, karbamazepin nebo ethosuximid (Consroe & Wolkin, 1977a). CBD v dávce (100 mg/kg) byl u potkana účinným antikonvulzivem, pokud byl podáván samotně v obou modelech epileptických záchvatů, ale měl rozdílné účinky, pokud byl současně podáván se standardními antiepileptiky, tj. posílení antikonvulzivních účinků fenytoinu a fenobarbitalu, ale snížení účinků chlordiazepoxidu, clonazepamu, trimethadionu nebo ethosuximidu (Consroe & Wolkin, 1977a, 1977b). Tyto interakce CBD s AED nabývají na významu z důvodu využití CBD jako doplňkové léčby záchvatů. Nejčastěji jsou popisovány změny farmakokinetiky podaných léčiv způsobené inhibicí některých izoforem CYP-450. Nicméně byly již popsány i změny farmakodynamiky a farmakokinetiky nezávislé na tomto mechanismu (Gaston et al., 2017; Gilmartin et al., 2021). Účinnost samotného CBD byla srovnatelná s používaným fenobarbitalem (Karler & Turkanis, 1981). V modelu chronické epilepsie po kortikální implantaci kobaltu neměl CBD (60 mg/kg) žádný patrný účinek (Colasanti et al., 1982), přičemž kobaltem indukované záchvaty sdílejí mnoho společných rysů s epileptickými záchvaty u pacientů (Löscher, 1997). Specifické účinky CBD byly pozorovány u akutních modelů záchvatů vyvolaných MES, kyselinou 3-mercaptopropionic, pikrotoxinem, hydrazinem isonikotinové kyseliny, bikulinem, pentylentetrazolem (Consroe et al., 1982). Byly popsány také výrazné antiepileptické účinky na chemicky indukovanou epileptiformní aktivitu na hipokampálních řezech, kde CBD výrazně snížil spontánní epileptiformní aktivitu indukovanou použitím media s nízkým obsahem  $Mg_2^+$  nebo 4-aminopyridinem (Jones et al., 2010). CBD vykazuje účinnost u léčby generalizovaných tonicko-klonických záchvatů a fokálních kortikálních záchvatů, ale není účinný při absencích (Jones et al., 2012). Výhodou CBD na rozdíl od ostatních běžně používaných antiepileptik jsou jen velmi mírné vedlejší účinky, bez neurotoxických účinků, s dobrou snášenlivostí i u vysokých



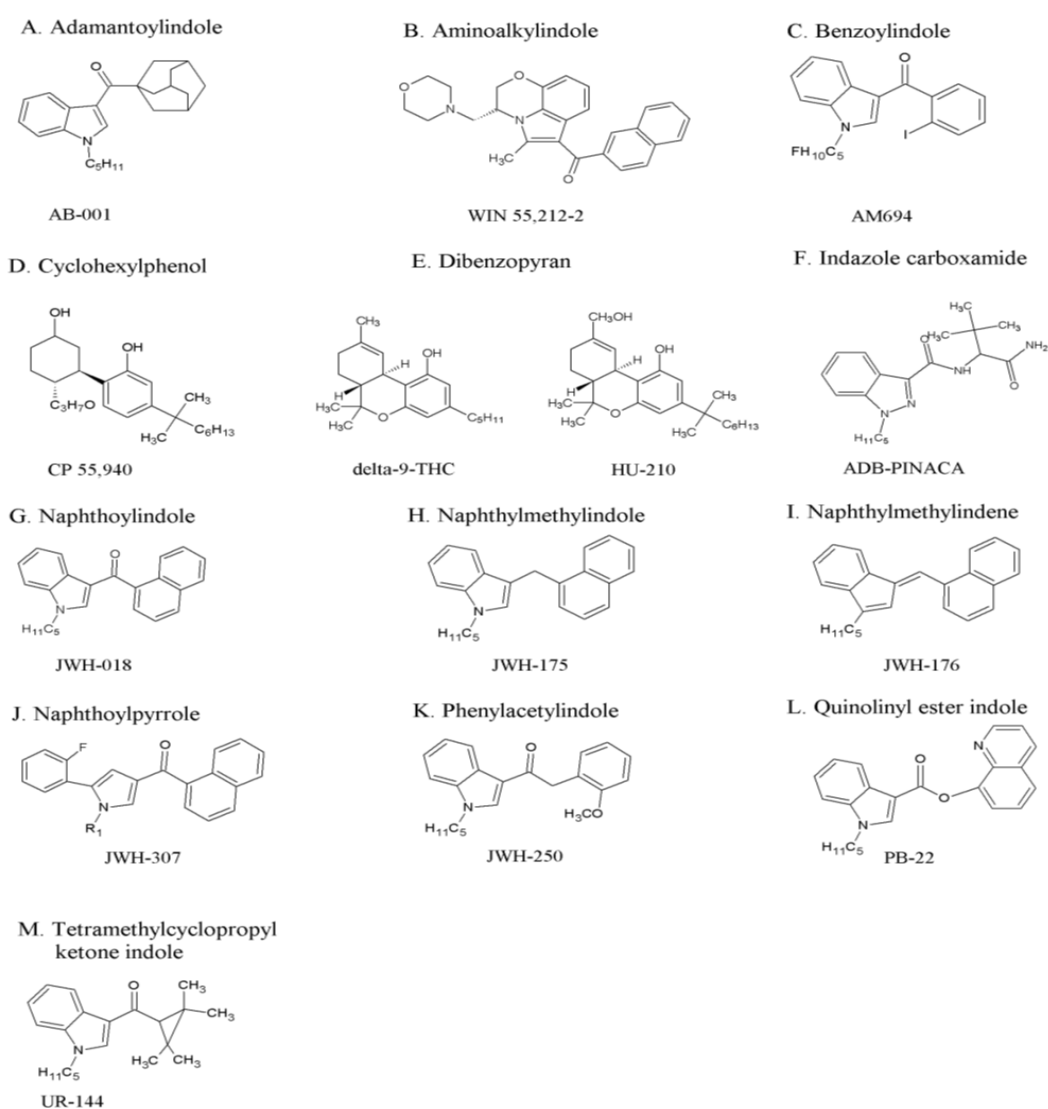
dávek a bez výrazného narušení motorických schopností. V některých případech může docházet k interakci s dalšími léky z důvodu ovlivnění jaterního metabolismu (Carvalho et al., 2018, 2022; Huestis et al., 2019). V klinických studiích bylo prokázáno, že CBD účinně snižuje frekvenci záchvatů u pacientů se syndromem Dravetové nebo Lennox-Gastautovým syndromem (Devinsky et al., 2017, 2018). Od roku 2018 je jako Epidiolex schválen americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) pro léčbu těchto dvou typů dětské farmakorezistentní epilepsie (Corroon & Kight, 2018).

## 2.8. Nové syntetické kanabinoidy

Jako první syntetické kanabinoidy byly syntetizovány cyklohexylfenoly v rozmezí 1970 až 1980 pro lokalizaci kanabinoidních receptorů (CP55,940 – (Devane et al., 1988). Následovala syntéza HU-210, silného CB1 a CB2 agonisty. Tato látka byla vytvořena v laboratoři Dr. Mechoulama na Hebrejské Univerzitě (HU), podle které je tato látka označena jako HU-210. V 90. letech byl nasyntetizován kanabinoid ze skupiny aminoalkylindolů WIN55,212. Poté následovala velká skupina syntetických kanabinoidů, vytvořených Johnem W. Huffmanem, označovaných jako JWH. Syntetické kanabinoidy z této skupiny byly použity i v rámci této disertační práce. S jistým časovým odstupem se objevily kolem roku 2000 syntetické kanabinoidy ze série AM (vytvořené Alexandrosem Makriyannisem) a deriváty indazol karboxamidu, z této skupiny např. AB-FUBINACA (Castaneto et al., 2014). Syntetické kanabinoidy lze rozdělit dle chemické struktury do 13 skupin, vizte převzaté schéma *Obrázek 2*, ze souhrnného článku (Castaneto et al., 2014).

Celá řada syntetických kanabinoidů navržených jako agonisti CB1 se stala velmi oblíbenými v rámci obchodu s omamnými látkami. Tyto látky se objevili na trhu přibližně kolem roku 2000 pod obchodními názvy např. „*Spice*“, „*Jamaican Spirits*“ nebo „*K2*“. Název *Spice* se vžil i jako obecné označení pro prodávané syntetické kanabinoidy. Tyto látky se staly velmi oblíbenými z několika důvodů: pro obdobné psychoaktivní účinky jako 9-THC, díky vysoké afinitě k CB1 receptoru, jako silnější náhražka  $\Delta$ 9-THC a v neposlední řadě také pro možnost legálního nákupu těchto látek před jejich legislativním omezením. Další „výhodou“ těchto látek a obecně nových psychoaktivních substancí je jejich schopnost uniknout detekci pomocí konvenčních setů na testování přítomnosti drog. Syntetické kanabinoidy jsou většinou obdobně jako jejich rostlinné protějšky silně lipofilní látky, které dobře procházejí hematoencefalickou bariérou, kumulují se v tukové tkáni a obvykle vykazují řádově vyšší afinitu pro kanabinoidní receptory než  $\Delta$ 9-THC. Mezi jejich typické účinky můžeme zahrnout kanabinoidní tetradu,

kognitivní poruchy, změněné smyslové vnímání až po psychotické chování (Fattore, 2016; Huffman et al., 2005; Kucerova et al., 2014; Tait et al., 2016). Oproti užívání konopí, které také ve vysokých dávkách může vyvolat výše zmíněné příznaky, jsou SC spojovány i se systémovými otravami provázenými infarkty myokardu (Schwartz et al., 2015), záchvaty (Schneir & Baumbacher, 2012; Schwartz et al., 2015), cévními mozkovými příhodami (Freeman et al., 2013; Takematsu et al., 2014), akutním selháním ledvin (Buser et al., 2014) a následnými úmrtími. Rozšiřování syntetických kanabinoidů mezi uživateli se tak stalo vážným společenským i zdravotním problémem (Behonick et al., 2014; Castaneto et al., 2014; Tai & Fantegrossi, 2014).



Obrázek 2 Rozdělení syntetických kanabinoidů dle přehledného článku Castaneto et. al 2014

### 3. CÍLE PRÁCE A HYPOTÉZY

**Cílem disertační práce je detailní popis účinků přírodních a syntetických kanabinoidů v animálním modelu se závislostí na způsobu aplikace a tím související farmakokinetice kanabinoidů, a studium antiepileptického účinku CBD. Experimentální část předkládané disertační práce je členěna do čtyř částí, které jsou popsány níže.**

V první části experimentů publikovaných (Hložek et al., 2017) jsme se zaměřili na zhodnocení farmakokinetiky a behaviorálních účinků THC a CBD podaných jak samostatně, tak v jejich kombinaci. Z důvodu zvýšení translační validity tohoto výzkumu byly kanabinoidy podány třemi odlišnými způsoby administrace (tj. subkutánně, perorálně a inhalačně). Porovnali jsme subkutánní podání kanabinoidů, které je běžně užívané v řadě animálních studiích, ale není obvyklé pro uživatele konopí a pouze částečně imituje transdermální aplikaci pomocí mastí či náplastí, s perorálním a inhalačním podáním kanabinoidů, které jsou naopak pro užívání kanabinoidů mezi uživateli typické. Stanovili jsme 24hodinové farmakokinetické profily v mozkové tkáni a séru, porovnali jsme lokomoční aktivitu v testu otevřeného pole a také sensorimotorické zpracování informací pomocí prepulzní úlekové reakce. Z důvodu popsaných psychotomimetických účinků THC jsme předpokládali snížení lokomoční aktivity a narušení inhibice úlekové reakce po podání THC a zmírnění nebo vymizení těchto účinků při souběžném podání CBD z důvodu jeho popisovaných antipsychotických účinků. Předpokládali jsme také, že perorální podání THC může vyvolat v chování potkana výraznější změny z důvodu tvorby silně psychoaktivního metabolitu 11-OH-THC (Huestis, 2007). Z důvodu chemické podobnosti THC a CBD byla v literatuře popsána možnost konverze CBD na THC v kyselém prostředí *in-vitro*, částečná cyklizace CBD na THC, jež byla také popsána při kouření CBD ve směsi s tabákem (Merrick et al., 2016; Quarles et al., 1973; Watanabe et al., 2007). Proto jsme se zaměřili na tuto důležitou otázku a ověřili, zda podání samotného CBD může vést k detekci THC v séru, popřípadě zda tyto hladiny mohou mít nějaké účinky na chování potkana.

V druhé části experimentů jsme provedli srovnání, v té době nejčastěji zachycených syntetických kanabinoidů mezi uživateli, a to skupinu aminoalkylindolů řady JWH (Carroll et al., 2012; Uchiyama et al., 2011), s cílem rozšířit poznání o těchto nových a neprobádaných kanabinoidech. Zvolili jsme dva zástupce této řady a to JWH-073 (1-butylyndol-3-yl naftalen-1-yl methanon) a JWH-210 (4-ethyl-1-naftalenyl-L-fenyl-1H-indol-3-yl methanon). Obě látky jsou silní agonisté CB1 receptoru, dříve popsané JWH-073 má přibližně 4x vyšší afinitu k CB1 ( $K_i=8,9\pm 1,8$  do  $12,9\pm 3,4$  nM) receptoru než THC (9-THC;  $K_i=41\pm 2$  nM) (Aung et al., 2000;

Brents et al., 2012; Huffman et al., 2005; J L Wiley et al., 1998). JWH-210 je novější zástupce skupiny JWH, také detekovaný v komerčně prodávaných náhražkách marihuany. Jeho vazebná afinita k CB1 receptoru ( $K_i = 0,46 \pm 0,03$  nM) je oproti THC přibližně 100x vyšší (Dogan et al., 2016; Hermanns-Clausen et al., 2016; Tait et al., 2016). *In-vivo* studie na zvířatech ukazují, že JWH-073 vyvolává tetradové účinky (Brents et al., 2012; Marshall et al., 2014; J L Wiley et al., 1998), narušuje sensorimotorické zpracování vjemů a zvyšuje agresivitu (Ossato et al., 2016). U lidí byly navíc popsány halucinace, agitovanost a narušení kognitivních schopností (Papanti et al., 2013; Zawilska & Wojcieszak, 2014). U JWH-210 bylo proveden nižší počet studií, nicméně vzhledem k vysoké afinitě na CB1 receptor vykazuje silnější tetradové účinky u myši než JWH-073 a u rekreačních uživatelů byly zaznamenány případy nevolnosti, záchvatů i kardiovaskulární poruchy i (Dogan et al., 2016; Hermanns-Clausen et al., 2016; Tait et al., 2016). Pro zvýšení validity naší studie jsme zvolili THC jako referenční látku k účinkům testovaných syntetických kanabinoidů a provedli jsme sérii behaviorálních testů a stanovili jsme jejich 24hodinový profil v séru a mozku potkanů. V případě behaviorálních úloh jsme předpokládali narušení lokomoční aktivity, ovlivnění anxiety a narušení sensorimotorického zpracování informací. Výsledky této části experimentů jsou publikovány (Uttl et al., 2018).

Ve třetí části experimentů předkládané disertační práce jsme se rozhodli zaměřit na zhodnocení antiepileptického potenciálu CBD. Přestože je aktuálně CBD ve formě Epidiolexu registrován pro použití léčbě syndromu Dravetové a Lennox-Gastautova syndromu, existuje pouze minimální množství studií o efektivitě CBD v nezralém mozku. Proto jsme se rozhodli otestovat antiepileptický potenciál CBD ve dvou modelech epileptických záchvatů modelovaných na 12denních mláďatech potkana, tj. v modelu pentylentetrazolem (PTZ) indukovaných křečí a modelu N-methyl-D-asparagovou kyselinou (NMDA) indukovaných spasmů. Předpokládali jsme, vzhledem k publikovaným nálezům u dospělých zvířat, že CBD sníží závažnost pozorovaných epileptických záchvatů a prodlouží latenci záchvatů po podání PTZ. V rámci experimentu byl také stanoven 24hodinový farmakokinetický profil CBD. Oproti známým hladinám CBD u dospělých zvířat, jsme očekávali nález vyšších hladin CBD u mláďat, z důvodu nižší kumulace CBD v tukové tkáni a hypoteticky pomalejšímu odbourávání z důvodu věkově vázané aktivity jaterních mikrosomálních cytochromů CYP-450, snížené velikosti jater v poměru k tělesnému objemu (McPhail et al., 2016; Palou et al., 1983). Nálezy této experimentální části byly publikovány (Uttl et al. 2022).

Ve čtvrté části předkládané práce jsme se zaměřili na ovlivnění excitability mozku dospělého potkana po podání CBD v modelu kortikálních následných výbojů, charakterizovaný tvorbou

hrot-vlna artefaktů generovanými kortikothalamickými dráhami (Avanzini et al., 1992; Pohl et al., 1986) V rámci této studie byla hodnocena doba trvání následných výbojů vyvolaných 15 sekundovou bifázickou stimulací kortexu, počet následných výbojů, výskyt rekurentních záchvatů a případné změny ve spektrálním výkonu v definovaných frekvenčních pásmech. Předpokládali jsme, že CBD bude schopen významně zkrátit trvání následných výbojů, dojde ke snížení počtu hrotů a hrot-vlna komplexů v souladu s literárními údaji o antiepileptických účincích v modelu elektrickou stimulací vyvolaných následných výbojů nebo v modelu maximálního elektrošoku (Goerl et al., 2021; Patra et al., 2019; Turkanis et al., 1979). Získané výsledky této části nejsou v současné době publikovány a budou popsány podrobněji níže.

## 4. EXPERIMENÁTLNÍ POSTUPY

### 4.1. Zvířata

Všechny postupy zahrnující zvířata a jejich péči byly prováděny v souladu s 3R (refinement, reduction, replacement) dle pokynů ARRIVE<sup>6</sup> v souladu s vnitrostátními (zákon č. 246/1992 Sb.) a mezinárodními zákony a politikou (směrnice EU 2010 / 63 / EU pro pokusy na zvířatech a Průvodce národními instituty zdraví pro péči a používání laboratorních zvířat – publikace NIH č. 8023, revidované v roce 1978). Jako modelové zvíře byl zvolen pro všechny experimenty nutné pro tuto disertační práci potkan kmene Wistar (Velaz, Česká republika). Dospělá zvířata byla ustájena ve dvojicích. Pouze u zvířat použitých pro nahrávání EEG bylo nutné zvířata po operaci umístit samostatně z důvodu ochrany implantovaných kabelů pro nahrávání EEG. Klece byly umístěny v klimatizované místnosti s kontrolovanou teplotou 22 °C ± 2 °C a vzdušnou vlhkostí 30 až 70 % s pravidelným světelným režimem 12 hod. světlo / 12 hod. tma (světelná část dne 6:00-18:00). Zvířatům byl umožněn volný přístup k potravě a vodě. Před samotným testováním byla zvířata minimálně 7 dní aklimatizována v podmínkách chovu. Pro experimenty byly použity zvířata ve váhovém rozmezí 280 – 320 g (podrobněji viz příložené publikace (Hložek et al., 2017; Uttl et al., 2018)). Studie č. 3 (Uttl et al., 2021) byla provedena na 12denních mláďatech potkanů, kdy den porodu byl definován jako den 0 (PD0). Hmotnost mláďat se v době experimentu pohybovala v rozmezí 28–32 g. V PD5 byla zvířata náhodně rozdělena a každý vrh byl upraven na 10 samců. V PD12 byla zvířata označena pro identifikaci a rozdělena do skupin (tj. do jednotlivých skupin byla vybrána zvířata z různých vrhů), aby byl vyloučen efekt vrhu. Veškeré behaviorální experimenty byly prováděny v dopoledních hodinách mezi 7:00-13:00. Všechny experimenty prováděné na Národním ústavu duševního zdraví v Klecanech byly v souladu s pokyny Evropské unie (86/609 / EU) a směrnicemi Českého národního výboru pro péči o zvířata a jejich používání a etické schválení studií bylo získáno od Ministerstva zdravotnictví ČR. Experimenty na Fyziologickém ústavu akademie věd byly schváleny Etickým výborem Akademie věd ČR (schválení č.15/2018, 04.06.2018).

---

<sup>6</sup> <https://www.nc3rs.org.uk/arrive-guidelines>

## 4.2. Aplikované látky

### 4.2.1. THC a CBD

THC ve formě pryskyřice a CBD v práškové formě byly zakoupeny od firmy THC-Pharm GmbH. Ve studii zaměřené na porovnání jednotlivých způsobů podání kanabinoidů, publikováno (Hložek et al., 2017), jsme porovnávali subkutánní, perorální a inhalační podání THC, CBD a jejich kombinace (THC a CBD v poměru 1:1). Pro inhalační podání bylo rozpuštěno 20 mg THC, CBD nebo jejich kombinace ve 200  $\mu$ l 98 % ethanolu a nanášeno pomocí pipety na drátěné sítko pro extrakty a nanášený roztok se nechal 1 minutu zaschnout Obrázek 3. Poté byly kanabinoidy pomocí hermeticky uzavřené sestavy odpařeny při teplotě 226 °C do inhalačního boxu o objemu 9,5 l. Doba odpařování kanabinoidů byla 45 sekund a pro každou aplikaci byly použity nové nosiče. Během inhalace trvající 5 minut byla v boxu umístěna vždy 4 zvířata společně. Kontrolní zvířata byla umístěna v boxu po stejnou dobu bez odpařování kanabinoidů. Pro subkutánní a perorální podání bylo THC, CBD a jejich kombinace rozpuštěna ve slunečnicovém oleji farmaceutické čistoty (oleum helianthi). Použitá dávka pro perorální a subkutánní podání byla 10 mg/kg THC, CBD, nebo jejich kombinace (10 mg/kg THC + 10 mg CBD) rozpuštěné v objemu 0,5 ml/kg. V případě perorálního podání byly kanabinoidy podány přímo do žaludku pomocí orální sondy. Z důvodu možného ovlivnění absorpce perorálně podaných kanabinoidů množstvím přijaté potravy v žaludku bylo přistoupeno k odebrání potravy zvířatům 12 hodin před samotnou aplikací (Hložek et al., 2017).



**Obrázek 3** Inhalační box s vapoizérem Volcano s drátěným sítkem

Pro srovnání účinků THC se syntetickými kanabinoidy JWH-073 a JWH-210 bylo THC podáno subkutánně v dávkách 1 a 3 mg/kg v oleum helianthi v objemu 0,5ml/kg (Uttl et al., 2018). V experimentu pro zjištění vlivu CBD na excitabilitu mozku v modelu následných výbojů byl CBD subkutánně podán v dávkách 10 a 100 mg/kg rozpuštěný taktéž v oleum helianthi

v objemu 0,5 ml/kg. Kontrolním skupinám bylo stejným způsobem podáno odpovídající množství oleum helianthi.

Pro posouzení antiepileptického účinku CBD v nezralém mozku byl CBD podán intraperitoneálně v dávce 10 a 60 mg/kg v objemu 10 ml/kg ve 2% roztoku Tweenu 20 (Bio-Rad) rozpuštěném ve fosfátovém pufru (0,001M, pH 7,4). Pro zlepšení rozpustnosti CBD byl roztok sonifikován po dobu 45 minut při teplotě 50 °C. Roztok CBD ve 2% roztoku tweenu byl připravován vždy čerstvý těsně před podáním. Jako kontrolní vehikulum bylo podáno intraperitoneálně odpovídající množství 2% roztoku tweenu ve fosfátovém pufru (Uttl et al., 2021).

Pro zjištění vlivu CBD na excitabilitu mozku bylo CBD podáno subkutánně, rozpuštěné v oleum heliantii ve dvou koncentracích 10 a 100 mg/kg. Objem aplikované látky byl 0,5 ml/kg. V kontrolní skupině byl zvířatům podán samotný slunečnicový olej.

#### **4.2.2. JWH-073 a JWH 210**

Syntetické kanabinoidy JWH-073 (1-butylyndol-3-yl naftalen-1-yl methanon) a JWH-210 (4-ethyl-1-naftalenylyl – L-fenyl-1H-indol-3-yl methanon) byly zakoupeny přes internet. Poté byly získané látky přečištěny a byla stanovena jejich čistota pomocí infračervené spektroskopie (Alfarma s.r.o., Česká republika). Výsledná čistota látek byla pro JWH-073 99,48 % a pro JWH-210 97,84 %. Vyčištěné syntetické kanabinoidy sloužili také jako výchozí standard pro farmakokinetickou analýzu. Získané syntetické kanabinoidy byly rozpuštěny v oleum helianthi a subkutánně injikovány. Pro naše experimenty jsme zvolili dávky 0,1, 0,5 a 5,0 mg/kg rozpuštěné v oleji o objemu 0,5 ml/kg. Pro stanovení farmakokinetického profilu byla zvolena střední dávka 0,5 mg/kg. Kontrolním skupinám bylo vždy subkutánně podáno odpovídající množství oleum helianthi. Metodika podrobně popsána viz. (Uttl et al., 2018).

#### **4.3. Farmakokinetika**

Pro minimalizování počtu pokusných zvířat, byla zvířata z behaviorálních experimentů následně použita pro určení farmakokinetiky látek. Pro srovnání farmakokinetických profilů THC, CBD u různých způsobů administrace a pro stanovení farmakokinetiky syntetických kanabinoidů JWH-073 a JWH-210 byla zvířata usmrcena v intervalech 0,5, 1, 2, 4, 8 a 24 hodin po subkutánním a perorálním podání. Pro zjištění farmakokinetického profilu THC a CBD u inhalačního podání byly tyto intervaly, z důvodu rychlého vstřebávání kanabinoidů doplněny o interval 0 a 15 minut po opuštění inhalačního boxu. Farmakokinetický profil CBD u mláďat



byl proveden ve dvou dávkách 10 a 60 mg/kg v intervalech 0,5, 1, 2, 4, a 24 hodin. Pro každý časový interval bylo u všech experimentů použito minimálně 6 zvířat ve skupině. Pro intervaly kratší než jedna hodina, byla využita zvířata z kontrolních skupin. Odebrané séra a mozky byly zmrazeny a uchovávány při -20 °C až do provedení toxikologické analýzy. Analýza odebraných vzorků byla provedena pomocí hmotnostní spektrometrie spojené s plynovou chromatografií (GC-MS). Analýza THC, CBD a jejich metabolitů byla provedena interně vyvinutou a validovanou metodou a certifikovanou metodou (certifikováno Policejním prezidiem ČR, referenční číslo: PPR-31123-7/CJ-2015-990530/evidenční číslo: 16/2015). Analytické metody jsou podrobně popsány v příložených publikacích (Hložek et al., 2017; Uttl et al., 2018, 2021) a byly použity spolu s výsledky farmakokinetických studií v disertační práci Mgr. Tomáše Hložka, Ph.D. (Hložek 2019, disertační práce<sup>7</sup>).

#### **4.4. Behaviorální experimenty**

##### **4.4.1. Test otevřeného pole**

Test otevřeného pole (OFT) probíhal ve čtvercové aréně o rozměrech 68 x 68 x 30 cm. Aparatura byla umístěna v odhlučněné místnosti s tlumeným světlem. Pohybová aktivita potkana byla nahrávána pomocí kamery umístěné přímo nad středem arény. Pohybová aktivita byla nahrávána po dobu 30minut od umístění zvířete do arény. Zvolený interval mezi aplikací testované látky a umístěním zvířete do aparatury byl určen na základě výsledků farmakokinetiky. Během nahrávání byla pohybová aktivita (lokomoce a distribuce pohybu v aréně) průběžně hodnocena pomocí programu Ethovision Color, (Pro v.3.1.1.1, Noldus, Nizozemsko) a analyzována v 5minutových intervalech. Prostorová distribuce pohybu byla rozdělena na 25 (5x5) virtuálních čtverců, kde 16 čtverců bylo označených jako periferní oblast a 9 čtverců jako centrální oblast. Hodnocenými parametry byly čas strávený v centrální oblasti, thigmotaxe, frekvence výskytu v jednotlivých oblastech a celková lokomoce (cm) zobrazená v 5-ti minutových intervalech. Aréna byla mezi jednotlivými zvířaty vždy vymyta 50% roztokem ethanolu, pro zabránění ovlivnění testu pachovými stopami předchozího zvířete. Metodika je popsána v příložených publikacích (Hložek et al., 2017; Uttl et al., 2018) a rutinně využívána na našem pracovišti (Páleníček et al., 2016; Šichová et al., 2018; Štefková et al., 2017).

---

<sup>7</sup> HLOŽEK, Tomáš. *Dispozice a metabolismus kanabinoidů*. Praha, 2019. Dizertační práce. Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Ústav soudního lékařství a toxikologie 1. LF UK a VFN. Vedoucí práce Balíková, Marie.

#### 4.4.2. Prepulzní inhibice úlekové reakce

Prepulzní inhibice úlekové reakce (PPI-ASR) byla testována pomocí dvou úlekových komor (SR-LAB, San Diego Instruments, Kalifornie, USA). Uvnitř komor byly umístěny imobilizační válce o vnitřním průměru 8,7 cm. Pro možnost srovnání výsledků mezi komorami byly komory před začátkem experimentu kalibrovány. Experimentální design studií byl převzatý z předcházejících prací provedených na našem pracovišti (Páleníček et al., 2016; Štefková et al., 2017). Zvířata byla navykána na pobyt v úlekové komoře 2 dny před samotným experimentem, kdy absolvovala 6 úlekových pulzů (115db/20ms), jako zvukové pozadí pro potlačení zvuků z okolí sloužil bílý šum o hlasitosti 75 db. V den samotného experimentu byla zvířata opět umístěna do úlekových komor a absolvovala celkem 72 zvukových impulsů. Nejdříve byla zvířata aklimatizována v boxech po dobu 5 minut jen s bílým šumem na pozadí, poté následovalo 6 pulsů 125db/40ms pro stanovení základní akustické odezvy (ASR) pro následný výpočet prepulzní inhibice. Poté byla spuštěna pseudonáhodná sekvence: (A) samotný puls: 40 ms 125 dB; (B) prepulzní impulz: 20 ms 83 dB nebo 91 dB, s variabilním intervalem (30, 60 nebo 120 ms) s interstimulačním intervalem (ISI: průměr 70 ms), poté 40 ms 125 dB puls; (C) 60 ms bez podnětu. Celou sérii zakončilo opět 6 pulsů (125db/40ms). Habituační byla vypočtena jako procentuální snížení odpovědi mezi úvodní a závěrečnou šesticí pulsů (125db/40ms). Výpočet PPI byl dle následujícího vzorce:  $[100 - (\text{průměrná odpověď na prepulz-pulz} / \text{průměrná odpověď na úlekový pulz}) \times 100]$ . Průměrná akustická úleková reakce (ASR) v arbitrárních jednotkách byla vypočítána jako plocha pod křivkou (AVG) z odpovědi na úlekové pulzy (125 dB). Zvířata s ASR AVG odpovědí nižší než 10 byla vyloučena z další analýzy jako nereagující. Podrobně popsáno (Hložek et al., 2017; Uttl et al., 2018).

#### 4.4.3. Motorické testy u mláďat

Pro posouzení vlivu CBD na motorické schopnosti mláďat jsme zvolili test vzpřimovacího reflexu a bar-holding test. K těmto testům jsme z důvodu snížení počtu použitých zvířat pro experimenty využili zvířata plánovaná pro interval 24 h farmakokinetické studie od podání CBD. Účelem těchto testů bylo zhodnocení akutních účinků CBD na motorické schopnosti mláďat a také k detekci možných účinků expozice CBD na normální motorický vývoj. Pro testování jsme zvolili 3 intervaly, a to čas těsně před podáním CBD, 1 hodina po aplikaci CBD a 24 hodin po podání CBD. Použitá metodika je popsána v (Uttl et al., 2021).

V rámci vzpřimovacího testu byla mláďata potkanů položena zády na podložku a byl měřen čas, který mládě potřebuje k otočení zpět do vzpřimované pozice. Tento test byl v rámci jednoho

sezení u mláděte opakovan třikrát a ze zjištěných hodnot byla vypočítána průměrná doba vzpřímení.

V rámci bar-holding testu je testována doba, po kterou je mládě schopné se udržet zavěšené za přední končetiny na dřevěné tyčce ve výšce 50 cm nad deskou stolu. Maximální doba testu, po kterou se mládě drží na hrazdě, je 120 sekund. Zlepšení mezi testy je dáno jako procentuální nárůst času mezi jednotlivými testy (čas strávený na hrazdě v 1. sezení je brán jako 100 %).

#### **4.5. Hodnocení závažnosti epileptických záchvatů u mlád'at**

Pro testování antikonvulzivního účinku CBD u mlád'at potkanů byly zvoleny dva modely vyvolání epileptických záchvatů. Výsledky farmakologické studie ukázaly nejvyšší hladiny u mlád'at po jedné hodině od intraperitoneálního podání CBD. Z tohoto důvodu byla zvířata premedikována ip. injekcí 60 minut před aplikací konvulzivní látky. Prvním námi testovaným modelem epileptického záchvatu byl pentylentetrazolem (PTZ) vyvolaný záchvat. PTZ byl podáván subkutánně v dávce 100 mg/kg dle metodiky uvedené v práci (Velíšek & Mareš, 1995). Po aplikaci PTZ byla zvířata umístěna jednotlivě do plastových boxů umístěných na vyhřívané desce (34 °C) a jejich chování bylo hodnoceno po dobu 30 minut od aplikace PTZ. U zvířat byl hodnocen výskyt dvou typů záchvatů tzv. minimálního záchvatu zahrnujícího převážně klonické záškuby hlavy a předních končetin bez ztráty vyrovnávacích reflexů a vážnější generalizované tonicko-klonické záchvaty (GTCS) začínající krátkou běžeckou fází doprovázenou ztrátou vyrovnávacích reflexů. Výskyt úplné tonicko-klonické fáze na všech končetinách nebo částečné tonické fáze pouze na předních končetinách byl hodnocen samostatně. Dále byly pozorovány abnormality chování a izolované myoklonické záškuby, jako další projevy epileptické aktivity. Pro porovnání závažnosti epileptických záchvatů byla zvířata ohodnocena dle závažnosti pozorovaných jevů dle metodiky publikované (Pohl & Mares, 1987), vizte příloženou *Tabulka 1*.

Druhém případě byly záchvaty u mlád'at potkanů vyvolány intraperitoneálním podáním N-methyl-D-aspartátu (NMDA, Sigma, St. Louis, MO) rozpuštěným ve fyziologickém roztoku v dávce 60 mg/kg. Z důvodu vyšší farmakorezistence zvoleného modelu byla testována pouze vyšší dávka CBD 60 mg/kg. Zvířata byla opět pozorována 30 minut v plastových boxech umístěných na vyhřívaných podložkách (34 °C). Závažnost projevů byla hodnocena dle výskytu flexních záchvatů celého těla, hlavně tonických tzv. emprostotonus se ztrátou vyrovnávacích reflexů (podrobněji (Kábová et al., 1999; Mares & Velisek, 1992)) a s následným výskytem tonicko-klonických záchvatů, které byly hodnoceny jako u předchozího

modelu. U obou modelů epileptických záchvatů byl hodnocen výskyt jednotlivých typů záchvatu, latence záchvatu a mortalita záchvatu po dobu 30 minut.

**Tabulka 1** Hodnocení závažnosti záchvatů vyvolaných PTZ dle modifikované Racinovi škály<sup>8</sup>

Závažnost	popis záchvatů
0	žádné změny
0,5	abnormální chování (např. automatismy, zvýšená reakce na okolí)
1	izolované myoklonické trhnutí
2	atypické nebo neúplné minimální záchvaty
3	minimální záchvaty
4	generalizované záchvaty bez tonické fáze
5	generalizované tonicko-klonické záchvaty

## 4.6. Vliv CBD na excitabilitu mozku v modelu následných výbojů u potkana

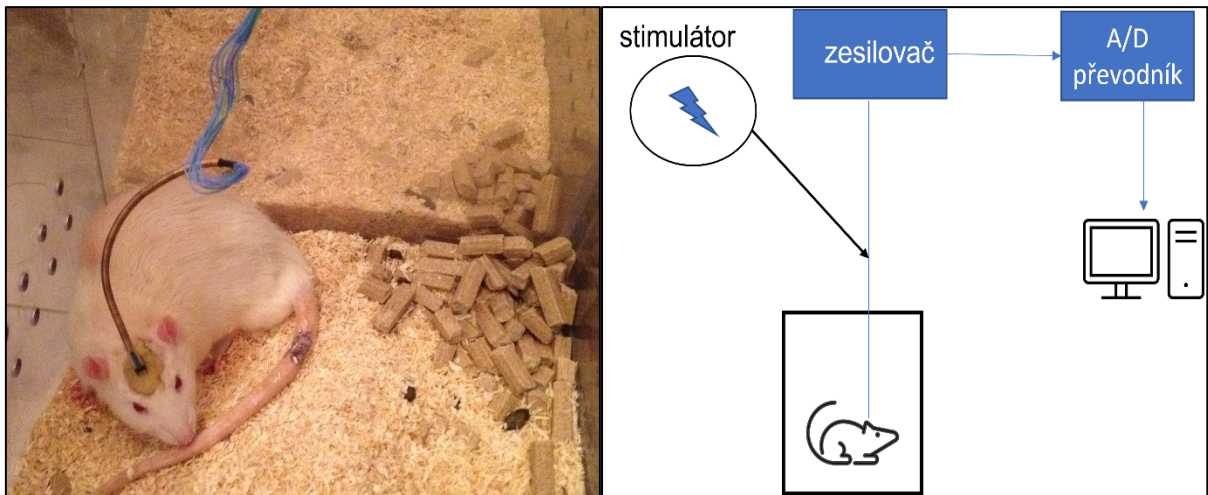
### 4.6.1. Implantace elektrod

V celkové isofluranové anestezii byly implantovány epidurálně kortikální stimulační a registrační elektrody. Stimulační elektrody byly umístěny nad pravou senzomotorickou kůrou (určeno jako vzdálenost od křížení koronárního a sagitálního švu tj. bregmy, A = anteriorně, P = posteriorně, L = laterálně, konkrétní koordináty: AP+1 a-1; L=2 mm), registrační elektrody byly umístěny nad kontralaterální hemisférou v senzomotorické oblasti (konkrétní koordináty: AP=0, L=2 mm) a levou asociační temporální oblasti (AP=3; L=3 mm) dle stereotaktického atlasu (Paxinos & Watson 2007). Dále byly umístěny elektrody nad pravou i levou hemisférou v okcipitální vizuální oblasti (AP=6; L=4 mm). Zemnicí a referenční elektrody byly umístěny nad mozečkem. Pro umístění elektrod skrz lebku byla použita dentální vrtačka. Všechny elektrody byly uchyceny k lebce pomocí rychle tuhajícího dentálního akrylátu (Duracrol® Dental, Praha). Celková doba implantace elektrod nepřesáhla 15 minut. Po ukončení operace byla zvířata umístěna samostatně do plastových boxů, z důvodu ochrany implantovaných elektrod. Zvířata byla po dobu rekonvalescence pečlivě kontrolována a k samotným experimentům byla použita po minimálně 7denní rekonvalescenci.

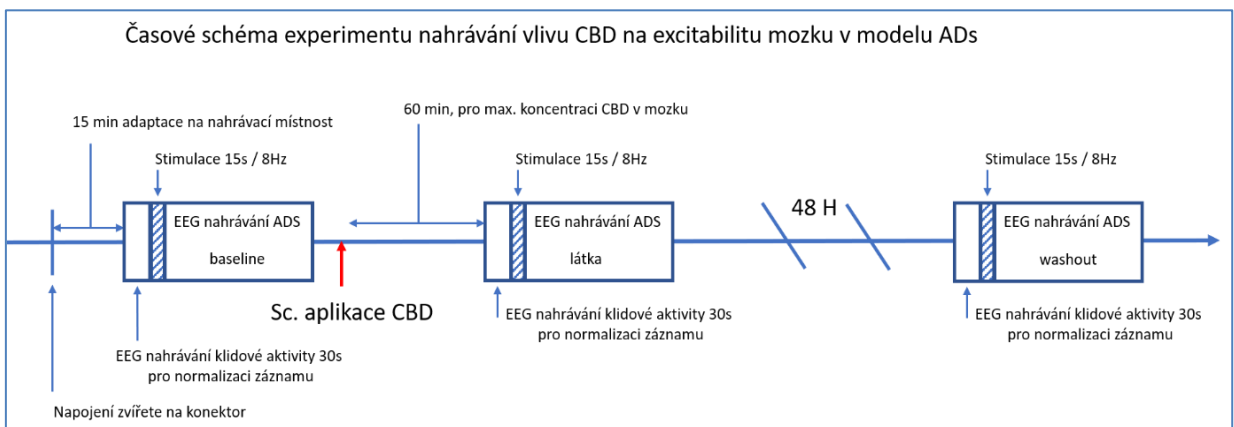
<sup>8</sup> převzato (Pohl & Mares, 1987)

#### 4.6.2. Nahrávání EEG a stimulační postupy

Pro samotné nahrávání EEG byla zvířata umístěna samostatně do plastových boxů a připojena k EEG systému (vysoko impedanční zesilovač RA16 (TDT), Pentusa station (TDT), PC, A-M systems isolated pulse stimulator 2100). Po připojení k EEG systému bylo zvířatům ponecháno 15 minut pro aklimatizaci v nahrávací místnosti *Obrázek 4*. Před začátkem stimulace byl nahrán několikaminutový záznam klidového EEG (baseline). Zvířata byla poté stimulována konstantním proudovým stimulatorem (série 15s bifázickými obdélníkovými pulsy 1ms, s frekvencí 8 Hz = celkem 120 pulzů). Intenzita stimulačního proudu byla u jednotlivých zvířat individuální, vybrána na základě evokovaného potenciálu. Nejběžnější intenzita stimulace byla 4 mA, s rozsahem 3 mA-8 mA. Zvířata byla stimulována opakovaně viz schéma *Obrázek 5*. Pro nahrávání EEG byla použita vzorkovací frekvence 2048 Hz. EEG bylo registrováno před, v průběhu stimulace a minimálně 2 minuty po skončení stimulace. V případě, že nedošlo k vyvolání následných výbojů v délce trvání minimálně 3 s, tak byla zvířata vyřazena ze studie. Získaný EEG záznam byl filtrován pomocí NOTCH filtru – 50 Hz a ohraničen pomocí pásmového filtru se spodní hranicí 1,2 Hz a vrchní hranicí 70 Hz. V EEG záznamu byl hodnocen výskyt následných výbojů (počet hrot-vlna artefaktů), trvání následných výbojů, výskyt rekurentních následných výbojů a latence mezi koncem následných výbojů a výskytem rekurentních výbojů. Dále byl hodnocen 15s úsek EEG před začátkem stimulace (baseline). a 120sekundový úsek po skončení stimulace (post-stimulační) pro zjištění změn v jednotlivých frekvenčních pásmech (power spectral density – PSD). Tento 120s záznam byl nejprve hodnocen v celé svojí délce a poté byl ještě separátně hodnocen první 15s úsek po skončení stimulace (oblast s nejvyšším výskytem následných výbojů. EEG pásma byla definována následovně: delta 0,5-4 Hz, theta 4–8 Hz, alfa 8-12 Hz, beta 12-25 Hz, gama 25-70 Hz. PSD vyhodnocování probíhalo vždy s krokem časového okna 3 s a FFT (rychlá Fourierova transformace) délkou 1024 vzorků bez překrytí. Za účelem snížení rozdílů mezi jednotlivými zvířaty z důvodu individuálních rozdílů v EEG byl záznam vždy normalizovaný průměrnou hodnotou odpovídajícího EEG pásma (delta, theta, alfa, beta, gamma) získanou s baseline (obdobně jako (Mares et al., 2021)).



**Obrázek 4** Ukázka zapojení potkana



**Obrázek 5** Časové schéma experimentu č.4

#### 4.7. Statistické metody

Počet zvířat ve skupině byl předem stanoven na základě předchozích zkušeností a podle zásad 3R (Replacement, Reduction a Refinement; <https://www.nc3rs.org.uk/the-3rs> (přístup 10. ledna 2023)). Před každým provedeným experimentem byla jednotlivá zvířata náhodně rozdělena do konkrétních skupin. Bylo vynaloženo veškeré úsilí k minimalizaci celkového počtu použitých zvířat a jejich utrpení. Sběr dat a jejich analýza byla vždy provedena bez ohledu na konkrétní skupinu. Jako statisticky významné byly vždy považovány dvoustranné rozdíly nad 5 % hladiny významnosti ( $p < 0,05$ ).

Pro jednotlivé experimenty byly použity odlišné statistické metody.

### **Experiment č.1 (Hložek et al., 2017)**

Pro analýzu lokomoce rozdělené do 5minutových úseků byla použita více faktorová ANOVA s opakovaným měřením. Analýza byla provedena v softwarovém systému IBM SPSS verze 22. Hodnocení lokomoce v 5minutových úsecích byla provedeno srovnáním lokomočních křivek pomocí kontrastní analýzy (popsáno (Abelson & Prentice, 1997)). Data byla následně testována pomocí Mauchlyho testu sféricity pro zjištění normálního rozložení dat. Pro data, u kterých nebylo zjištěno normální rozložení, byl použit Leveneův test (nezávislý t-test). Z důvodu smíšeného designu a použití Abelsonovi analýzy kontrastu byly spočítány stupně volnosti a zaokrouhleny na celá čísla z důvodu prezentace dat.

Celková délka trajektorie přes 30 minut, thigmotaxe a čas ve středu arény, ASR, habituace a PPI byly analyzovány jednocestnou analýzou ANOVA. Následné srovnání bylo provedeno pomocí Tukeyho post-hoc testu.

### **Experiment č.2 (Uttl et al., 2018)**

Pro analýzu lokomoce rozdělené do 5minutových úseků v testu otevřeného pole byla použita dvoucestná ANOVA s opakovaným měřením (faktor 1: lék; faktor 2: časové intervaly). Analýza byla provedena v softwarovém systému IBM SPSS verze 22. Významné hlavní účinky a interakce byly následně analyzovány pomocí nezávislého t-testu. U opakovaných měření ANOVA, kde byl Mauchlyho test sféricity významný, se uvádí Greenhouse-Geisserův odhad [Greenhouse-Geisserův odhad sféricity ( $\epsilon$ )<0,75 nebo Huynh-Feldt ( $\epsilon$ )>0,75]. Pro prezentační účely byly stupně volnosti zaokrouhleny na celé číslo. Pro nezávislý t-test, kde byl Leveneův test pro rovnost rozptylů významný, byla statistika korigovaná na nestejně rozptyly dána  $p < 0,05$  (dvoustranné) bylo považováno za minimální kritérium pro statistickou významnost. Pro vícenásobné srovnání byl použit t-test s Bonferroniho korekcí.

Celková délka trajektorie za dobu 30-ti minut, thigmotaxe a čas ve středu, ASR, habituace a PPI byly analyzovány jednocestnou analýzou ANOVA pomocí softwaru STATISTICA verze 9.0. Následné srovnání bylo provedeno pomocí Tukeyho post-hoc testu.

### **Experiment č.3 (Uttl et al., 2021)**

Experimentální data byla analyzována pomocí softwaru GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Nejprve bylo pomocí D'Agostino-Pearsonova testu normality zjištěno, zda mají data normální rozložení. Soubory dat, které nesplňovali normální rozložení,

byly analyzovány pomocí Kruskal-Wallisova testu. Pro zjištění statistické významnosti účinku CBD byla použita jednocestná ANOVA a dvoucestná ANOVA s opakovanými měřeními. V případě zjištění statisticky významné interakce byla provedena následná analýza pomocí Tukeyho post-hoc testu.

V modelu s NMDA byly rozdíly mezi dvěma skupinami analyzovány pomocí Mann-Whitneyho testu, z důvodu nesplnění normálního rozložení analyzovaných dat. Incidence jednotlivých záchvatů a mortalita porovnána pomocí  $\chi^2$  testu pro identifikaci trendů a následně byly jednotlivé skupiny analyzovány separátně pomocí Fisherova exaktního testu.

Čas strávený na tyči v Bar-holding testu byl porovnán pomocí dvoucestné ANOVA s opakovanými měřeními, následné srovnání bylo provedeno s korekcí pomocí (cz falešná míra objevu) False Discovery Rate (FDR). Analýza koncentrace CBD v mozku a séru byla provedena z důvodu chybějících hodnot pomocí mixed-effect analýzy. Maximální koncentrace CBD byla hodnocena jako plocha pod křivkou (AUC).

#### **Experiment č. 4 (nepublikovaná data)**

Získaná data byla analyzována pomocí softwaru LabChart (AD Instruments) a vlastního skriptu v programu Matlab (Mathworks). Výsledky byly následně zpracovány pomocí programu GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA). Pro hodnocení délky trvání následných výbojů a porovnání počtu epileptiformních jevů mezi jednotlivými skupinami byla použita dvoucestná ANOVA pro opakovaná měření (1. faktor: léčba, 2.faktor: čas stimulace) s Greenhouse-Geisserovou korekcí. Pro prezentační účely byly stupně volnosti zaokrouhleny na celé číslo. Data byla vyjádřena jak pro získané absolutní hodnoty, tak také jako procentuální změna oproti 1.stimulaci zvířete. Zjištěné významné hlavní účinky a interakce byly následně analyzovány pomocí Tukey post-hoc testu s požadovanou významností  $p < 0,05$ .

Pro analýzu významnosti změn v proudové hustotě (power spectral density) v námi zvolených pásmech byla použita jednocestná ANOVA pro opakovaná měření s Greenhouse-Geisserovou korekcí. Pro prezentační účely byly stupně volnosti zaokrouhleny na celé číslo. V případě zjištění statisticky významné interakce byla provedena následná analýza pomocí Tukeyho post-hoc testu s požadovanou významností  $p < 0,05$ .



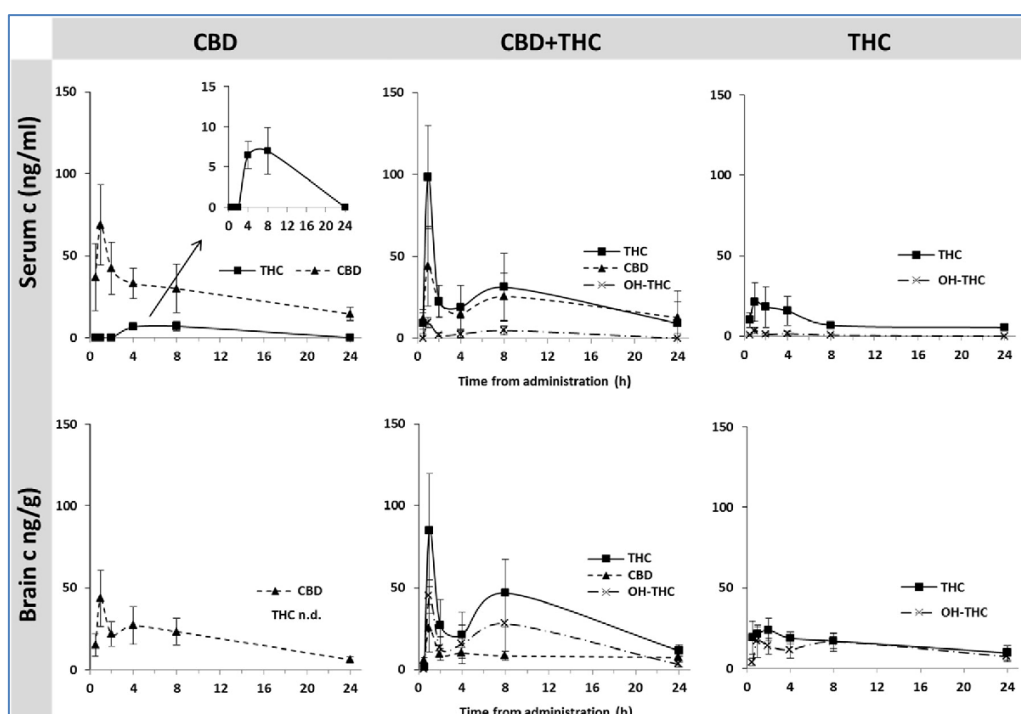
## 5. VÝSLEDKY

V této části disertační práce jsou prezentována publikovaná data formou krátkých komentářů, která odpovídají řešeným experimentům 1-3 a dále jsou zde prezentována nepublikovaná data experimentu č.4, kde byl hodnocen účinek CBD na excitabilitu mozku v modelu následných výbojů u potkana. Tyto data jsou připravovány k publikaci a jsou zde prezentována podrobněji.

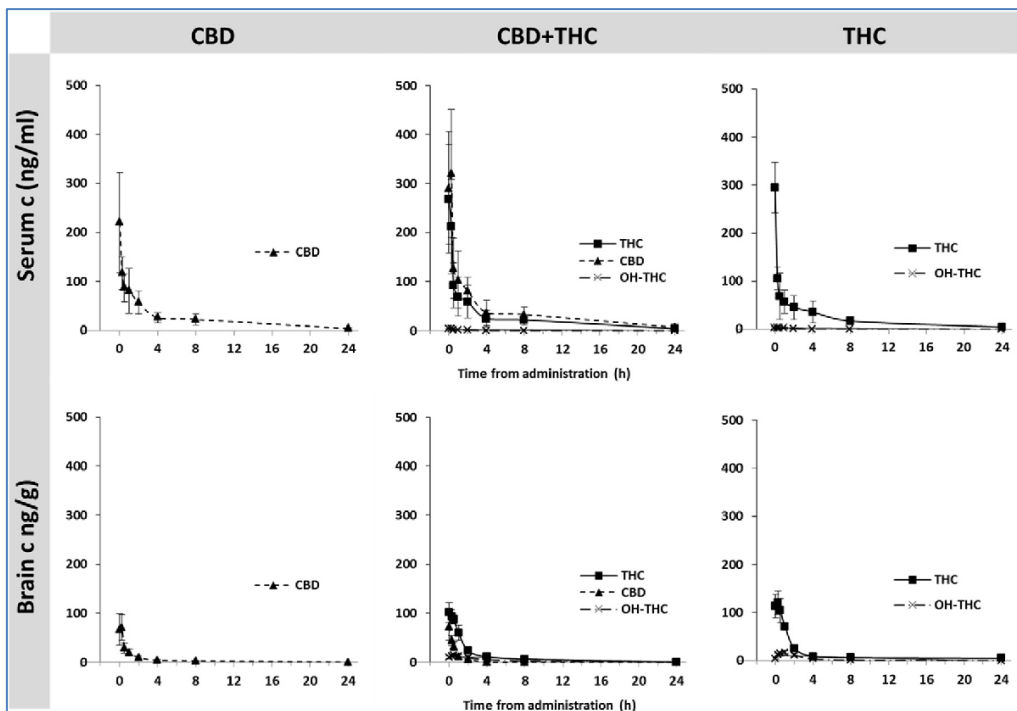
### 5.1. Srovnání výsledků farmakokinetiky kanabinoidů

Naše výsledky ukázali výrazný vliv způsobu podání kanabinoidů nejen na časový profil, ale také na dosažení výrazně odlišných hladin. Nejnižších hladin bylo u kanabinoidů dosaženo po sc. podání *Obrázek 6*. Pro tento způsob administrace se projevil u THC (3 a 10 mg/kg) a JWH-210 (0,5 mg/kg) specifickým bifázickým profilem, kde nejvyšších hladin bylo dosaženo 1 h po podání a druhý nižší vrchol se objevil po 4 resp. 8 hodinách. Oproti tomu při sc. podání JWH-073 jsme nepozorovali bifázický profil, ale došlo ke zpoždění maximální koncentrace, která byla pozorována až 4 hodiny po podání a docházelo jen k pomalému poklesu zjištěných hladin *Obrázek 9*. Inhalační podání vykazovalo nejrychlejší nárůst plasmatických koncentrací kanabinoidů (v rámci minut), po kterém následoval rychlý pokles plasmatických hladin a následná akumulace kanabinoidů v mozku *Obrázek 7*. Nejvyšší hladiny kanabinoidů jsme zjistili po perorálním podání, kdy bylo dosaženo maximálních koncentrací 2 hodiny po podání a tyto hladiny oproti inhalačnímu podání byly výrazně stabilnější *Obrázek 8*. Pokud bylo THC a CBD podáno souběžně, tak jsme detekovali vyšší hladiny THC a nižší hladiny CBD než v případě samostatného podání. Při srovnávání jednotlivých způsobů podání byly také změřeny koncentrace metabolitů THC, a to konkrétně psychoaktivní 11-OH-THC a nep psychoaktivní THC-COOH. 11-OH-THC byl detekován u všech způsobů podání THC a v případě perorálního podání jeho hladiny v mozku (150 ng/g) byly srovnatelné s hladinami THC nalezenými po inhalačním podání. THC-COOH oproti 11-OH-THC vykazoval výrazně nižší hladiny se zpožděným nástupem 4-8 hodin po podání a byl detekovatelný po celý 24hodinový interval. Po inhalačním a sc. podání nebyl THC-COOH detekovaný v mozkové tkáni. V rámci této studie jsme také byli upozorněni na možnost konverze CBD na THC v kyselém prostředí žaludku. Při analýze vzorků se nám povedlo detekovat THC po podání samotného CBD. Tyto hladiny byly detekovány jak po sc. tak i po perorální podání. Tyto nálezy jsou popsány v článku (Hložek et al., 2017). V návaznosti na toto kontroverzní téma došlo, po upozornění (Vacek et al., 2021) na možný metodický problém, k prověření metodiky a byla zjištěna konverze CBD na THC v rozmezí 0-10 % průběhu analýzy vzorků na SPE discích. Tento nálezy byl zmíněn v naší

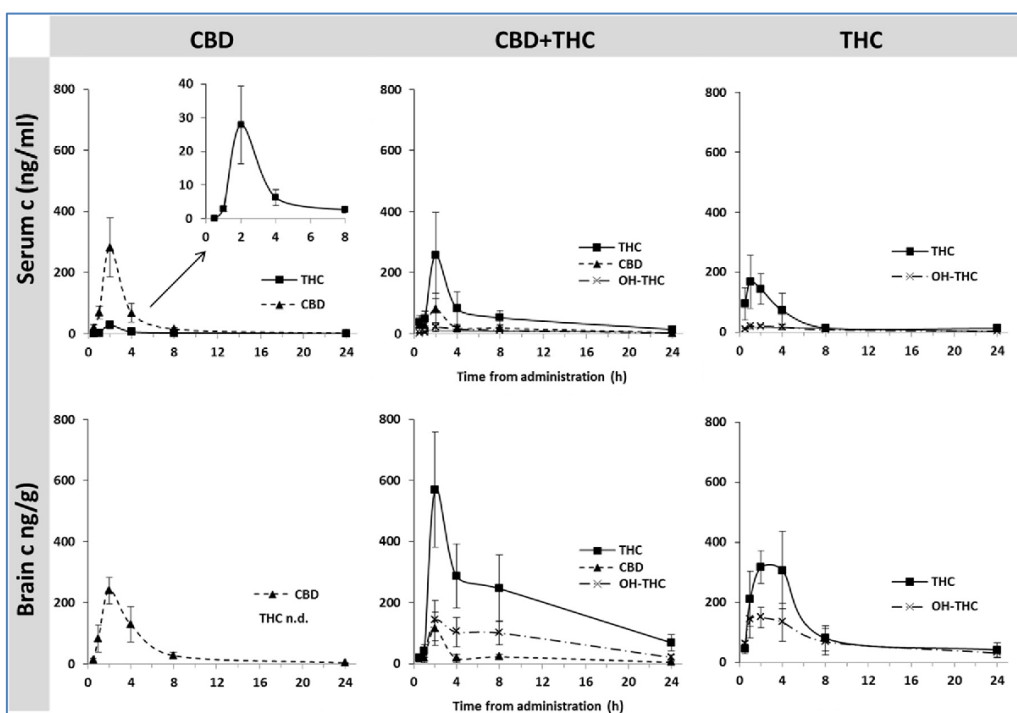
publikaci (Uttl et al., 2021). Ve studii zaměřené na antikonvulzivní účinek CBD u mláďat byl stanoven farmakokinetický profil CBD po ip. podání. Při vyšší dávce CBD 60 mg/kg byly pozorovány stabilní hladiny CBD v mozku po dobu 4 hodin s maximální koncentrací v mozku i séru 2 hodiny podání *Obrázek 10*. Farmakokinetické výsledky srovnávající různé způsoby podání jsou publikovány (Hložek et al., 2017), farmakokinetický profil syntetických kanabinoidů byl publikován (Uttl et al., 2018), výsledek farmakokinetiky CBD u 12denních mláďat byl publikován (Uttl et al., 2021).



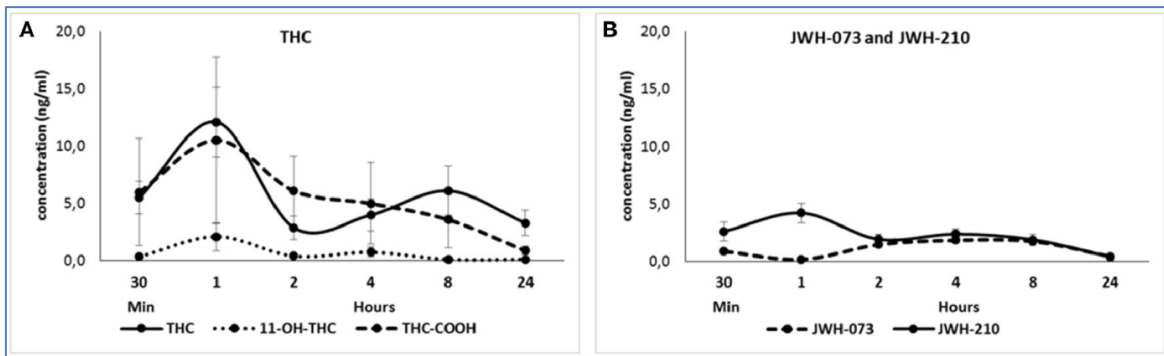
**Obrázek 6** Farmakokinetické profily CBD, CBD + THC a THC v krevním séru a mozkové tkáni po subkutánním podání v dávce 10 mg/kg, 6 zvířat pro každý časový interval, n.d. - nedetekováno



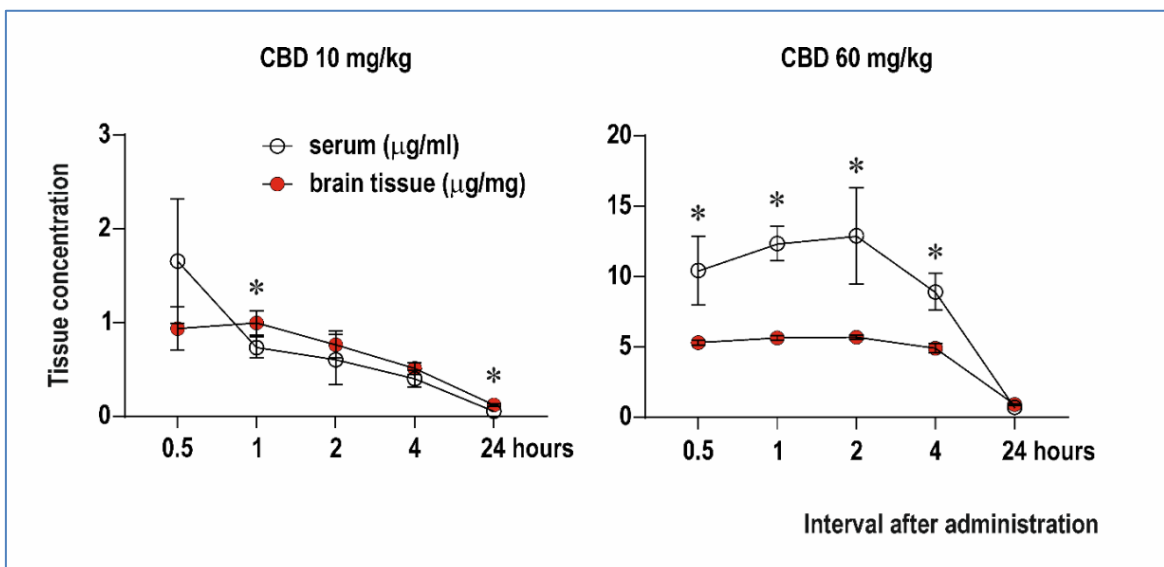
**Obrázek 7** Farmakokinetické profily CBD, CBD + THC a THC v krevním séru a mozkové tkáni po inhalačním podání. Podáno pomocí vaporizéru 20 mg/4 zvířata v boxu/ doba inhalace 5 minut, 6 zvířat pro každý časový interval



**Obrázek 8** Farmakokinetické profily CBD, CBD + THC a THC v krevním séru a mozkové tkáni po perorálním podání, podáno 10 mg/kg, 6 zvířat pro každý časový interval, n.d. – nedetekováno



**Obrázek 9** Farmakokinetický profil  $\Delta^9$ -THC (3 mg/kg, sc.) a jeho metabolitů 11-OH-THC a THC-COOH v různých časových bodech (30 minut, 1, 2, 4, 8 nebo 24 hodin po podání). Data jsou uvedena jako průměr  $\pm$  SEM ( $n=6$  zvířat na skupinu), sérové hladiny jsou vyjádřeny v ng/ml. (B) Farmakokinetický profil JWH-073 (0,5 mg/kg, sc.) a JWH-210 (0,5 mg/kg, sc.) v různých časových bodech (30 minut, 1, 2, 4, 8 nebo 24 hodin po podání). Data jsou uvedena jako průměr  $\pm$  SEM ( $n=8$  zvířat na skupinu) sérové hladiny vyjádřeny v ng/ml



**Obrázek 10** Koncentrace CBD v séru ( $\mu\text{g/ml}$  plazmy, prázdný kruh) a mozkové tkáni ( $\mu\text{g/mg}$  tkáň, červená kolečka) u mláďat, hodnocen v 5 časových intervalech po intraperitoneálním podání (osa x, 0,5 až 24 h). Použité dávky 10 mg/kg (vlevo) a 60 mg/kg (napravo). Data jsou vyjádřena jako průměr  $\pm$  SD. Hvězdičky označují významný rozdíl mezi hladinami v plazmě v mozku

## 5.2. Srovnání výsledků behaviorálních experimentů po podání kanabinoidů

### 5.2.1. Test otevřeného pole

Naše výsledky v testu otevřeného pole ukázaly signifikantní mírný pokles lokomoce po inhalačním podání kanabinoidů. Zvířata, kterým byly podány kanabinoidy perorálně, vykazovaly v případě THC a jeho kombinace s CBD výrazný sedativní účinek. Samotné CBD po perorální podání vedlo k mírnému nárůstu lokomoce zvířat. Oproti tomu subkutánní podání THC, CBD nemělo žádný vliv délku trajektorie *Obrázek 11, Obrázek 13, Obrázek 15*. Nicméně při sc. podání THC (3mg/kg) byla pozorována změna v distribuci pohybu s nárůstem výskytu zvířat v centrální části arény, což může poukazovat na anxiolytický účinek THC v této dávce. Syntetické kanabinoidy byly podány pouze subkutánně. Pouze JWH-073 měl vliv na lokomoční aktivitu, kdy po podání 0,5 mg/kg JWH-073 došlo k signifikantnímu zvýšení délky trajektorie *Obrázek 12, Obrázek 14, Obrázek 16*.

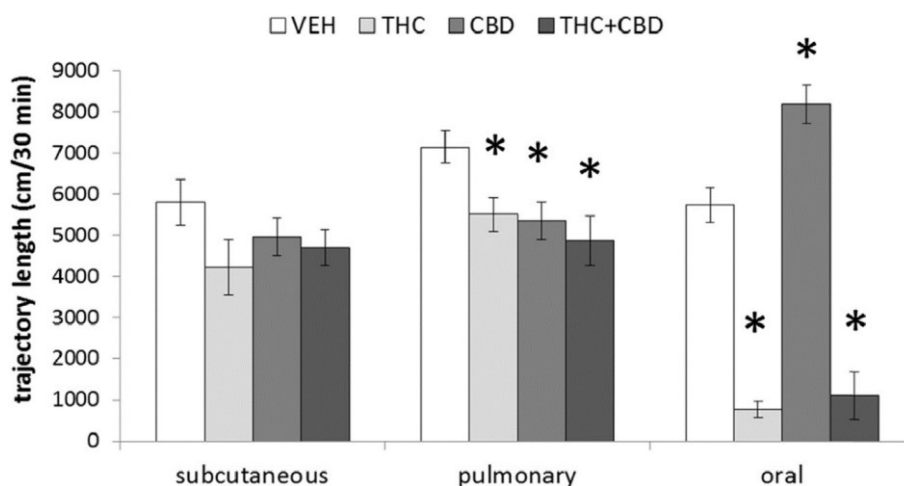
### 5.2.2. Test prepulzní inhibice (PPI) akustické úlekové reakce (ASR)

Pro samotnou analýzu dat byla z jednotlivých skupin vyřazena zvířata, která vykazovala  $ASR < 10$ , nejčastěji po perorálním podání THC. S ohledem na snížený práh odpovědi by případný pokles ASR vlivem habituace či prepulzní inhibice nebyl zjištělný. Vzhledem k velkému množství vyloučených zvířat byl perorální způsob podání z následné faktoriální analýzy vyloučen. Následná analýza neprokázala narušení ASR, habituace. Při analýze PPI-ASR bylo zjištěno signifikantní snížení PPI po podání CBD oproti kontrolní skupině *Tabulka 2, Obrázek 17*. Syntetické kanabinoidy v námi použitém dávkování neměly žádný vliv na úlekový stimul, habituaci zvířat ani neovlivnily významně PPI-ASR. Oproti tomu THC, které bylo v této studii použito jako referenční látka v dávce 1 mg/kg vykazovalo trend snížení PPI ( $p=0,06$ ) *Obrázek 18*.

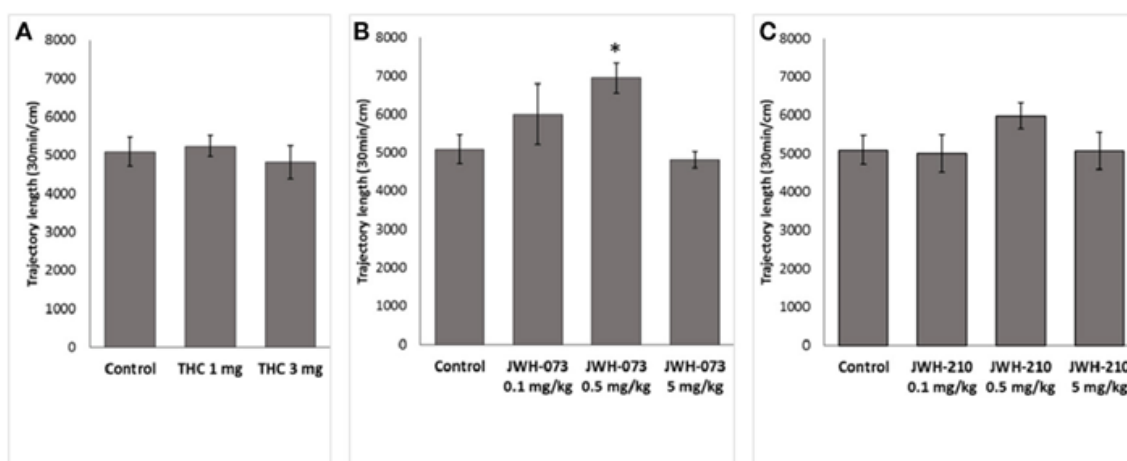
### 5.2.3. Motorické testy

Pro zjištění možných účinků CBD u mláďat byly zvoleny 2 testy zaměřené na motoriku a motorické učení u mláďat, které se výrazně lišili svojí obtížností. Při testování schopnosti návratu mláďat do normální vzpřímené polohy nebyl pozorován žádný vliv CBD a všechna zvířata se vrátila do vzpřímené polohy za méně než 1 s. V Bar-holding testu nebyl u zvířat pozorován žádný rozdíl v latenci k pádu z tyče mezi testovanými skupinami před podáním CBD nebo vehikula, ani 1 hodinu po podání těchto látek. Oproti tomu podání CBD (10 mg/kg i 60

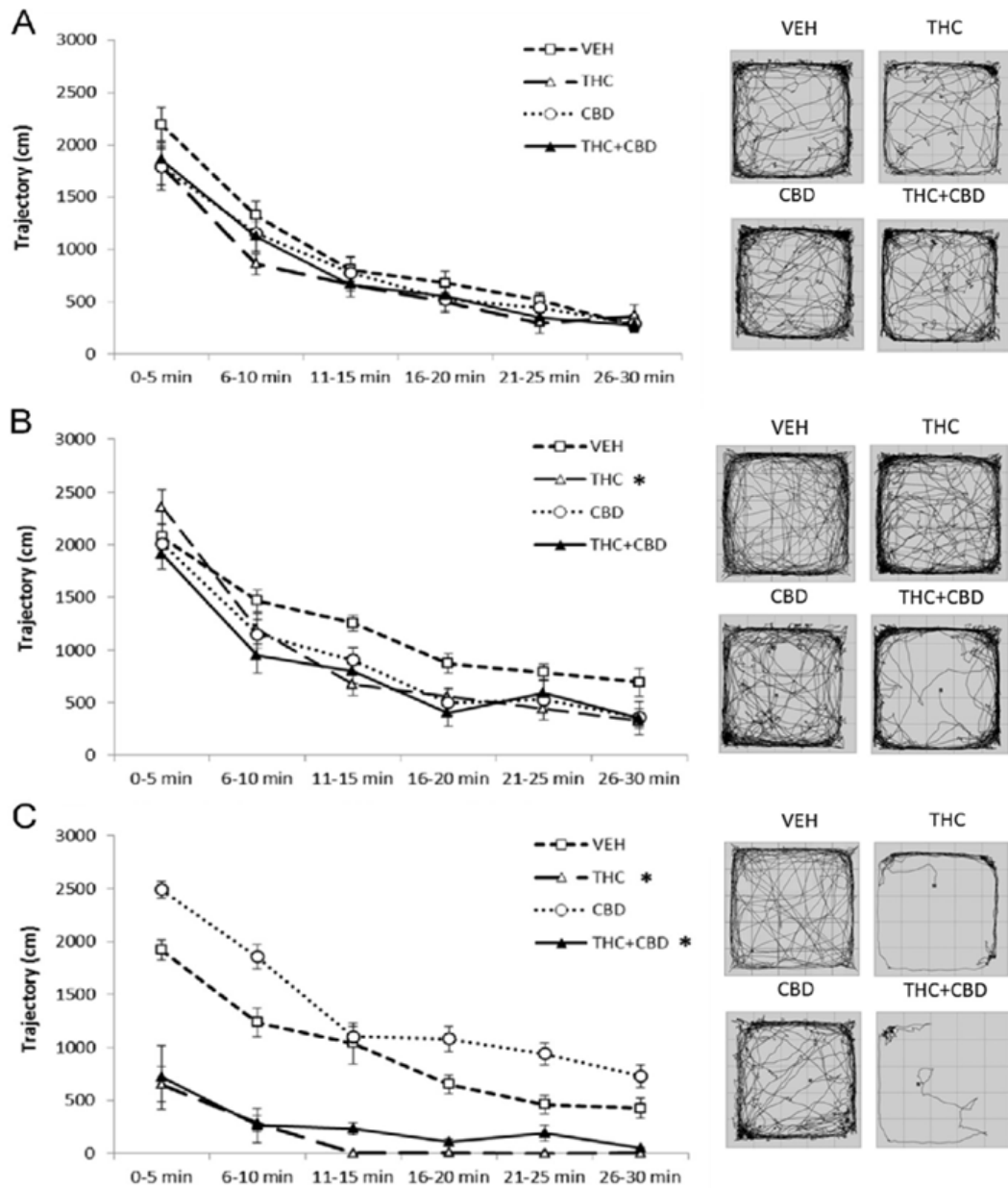
mg/kg) vedlo u zvířat k významnému zkrácení času stráveného na tyči ve srovnání s kontrolami při 3. testu tj. 24 hodin po podání látky *Obrázek 19*.



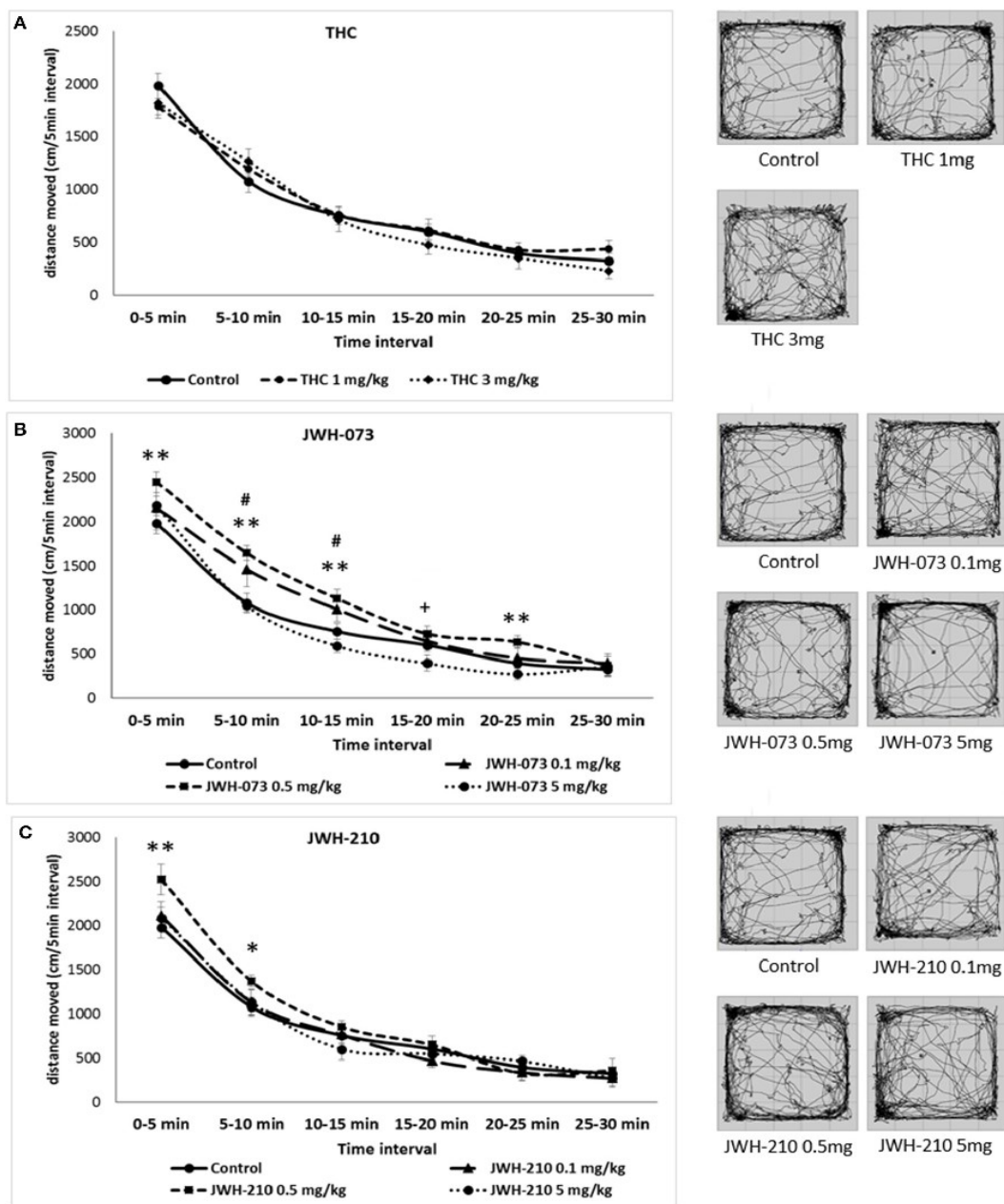
**Obrázek 11** Srovnání celkové trajektorie po subkutánním, inhalačním a perorálním podání vehikula, THC, CBD a THC + CBD v dávce 10 mg/kg, v případě inhalačního podání 20 mg/box/4 zvířata. Směrodatné odchylky zobrazují  $\pm 1$  SEM, hvězdičky označují signifikantní rozdíly oproti odpovídající kontrolní skupině  $p < 0,05$



**Obrázek 12** Celková lokomoce (cm) po podání (A)  $\Delta$  9-THC (1 a 3 mg/kg, sc.), (B) JWH-073 (0,1, 0,5 a 5 mg/kg, sc.) A (C) JWH-210 (0,1, 0,5, a 5 mg/kg, sc.). Data jsou prezentovány jako průměr  $\pm$  SEM trajektorie vyjádřené v cm za celou dobu 30minutového testu. \*  $p < 0,05$  vs. kontrolní skupina.

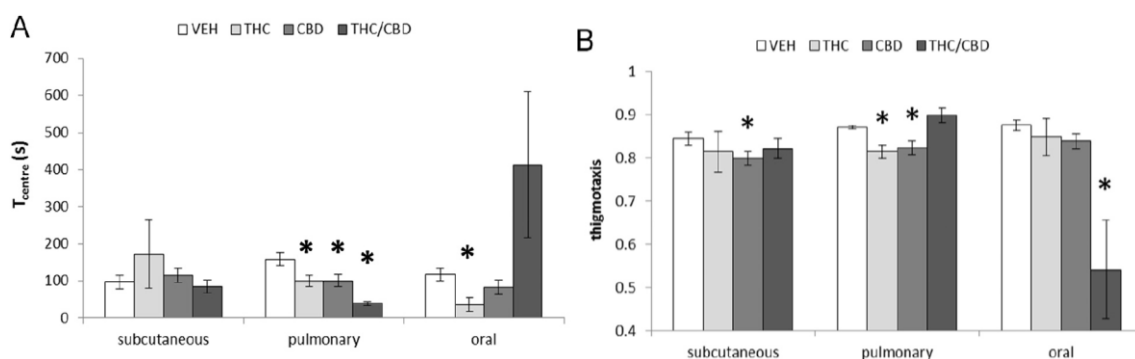


**Obrázek 13** Průměrná délka trajektorie rozdělená do 5minutových bloků po subkutánním (10 mg/kg), inhalačním (20 mg/box/4 zvířata) a perorálním (10 mg/kg) podání (VEH, THC, CBD, THC+CBD) s charakteristickými trajektoriemi zvířat (A) subkutánní, (B) inhalační, (C) perorální podání. Směrodatné odchylky zobrazují  $\pm 1$  SEM, hvězdičky označují signifikantní rozdíly oproti odpovídající kontrolní skupině  $p < 0,05$

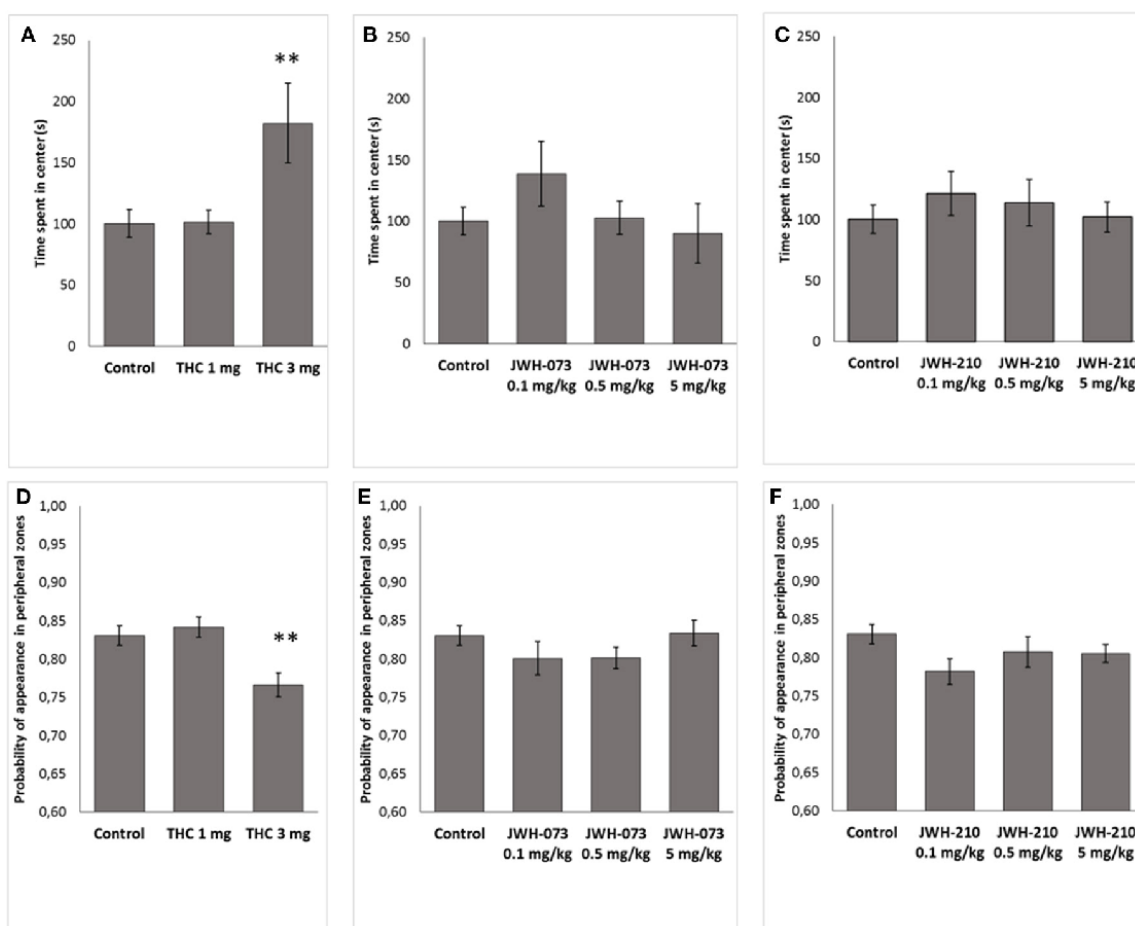


**Obrázek 14** Test otevřeného pole (OFT): Délka trajektorie (rozdělená do 5minutových bloků) a charakteristické trajektorie. (A)  $\Delta^9$ -THC (1 a 3 mg/kg, sc.). (B) JWH-073 (0,1, 0,5 nebo 5 mg/kg, sc.). (C) JWH-210 (0,1, 0,5 a 5 mg/kg, sc.), Chybové úsečky zobrazují  $\pm 1$  SEM,  $p < 0,05 = *$ ,  $p < 0,01 = **$ .





**Obrázek 15** (A) Čas strávený v centru arény ( $T_{\text{centre}}$ ) a (B) pravděpodobnost výskytu v periferních oblastech (tigmotaxe) pro subkutánní, inhalační a perorální podání vehikula (VEH), THC, CBD, THC+CBD (10 mg/kg, resp. pro inhalační podání 20 mg/box/4 zvířata). Data jsou uvedena jako průměr  $\pm$  SEM. \*  $p < 0,0$  vs. odpovídající kontrolní skupina



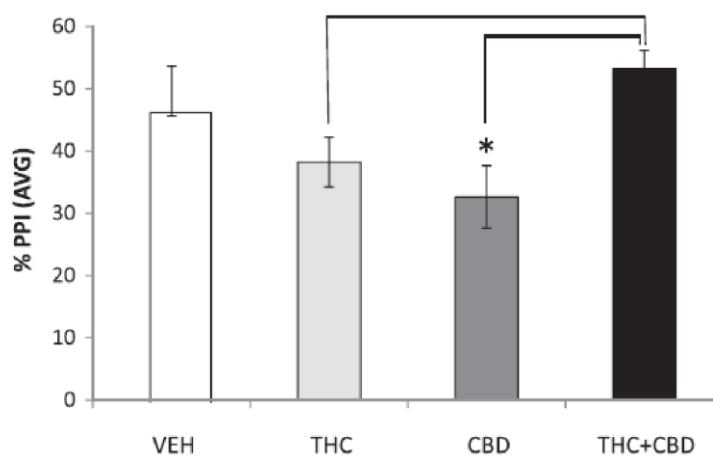
**Obrázek 16** Čas strávený ve středu arény. (A)  $\Delta^9$ -THC (1 a 3 mg/kg, sc.), (B) JWH-073 (0,1, 0,5 a 5 mg/kg, sc.) A (C) JWH-210 (0,1, 0,5, a 5 mg/kg, sc.). Pravděpodobnost výskytu v periferních zónách (tigmotaxe). (D)  $\Delta^9$ -THC (1 a 3 mg/kg, sc.), (E) JWH-073 (0,1, 0,5 a 5 mg/kg, sc.) a (F) JWH-210 (0,1, 0,5 a 5 mg/kg, sc.). Data jsou uvedena jako průměr  $\pm$  SEM. \*\*  $p < 0,01$  vs. kontrolní skupina

**Tabulka 2** ASR, Habituační, PPI pro subkutánní, inhalační a perorální podání kanabinoidů

(Hložek et al., 2017)

Table 2 ASR, habituation and PPI: Means (S.E.M.s are shown in italics) for the cannabinoid (THC, CBD, THC+CBD) by route (subcutaneous, pulmonary, oral). Values reflect AVG amplitude, after exclusions where ASR < 10 arbitrary units. The values presented under THC and THC+CBD oral administration (bold and underlined) correspond to reduced number of animals after exclusion of ASR non-responders; remaining subjects were:  $n = 5$  for THC group and  $n = 1$  for THC+CBD group.

Measure	Route	Drug Treatment			
		Vehicle	THC	CBD	THC+CBD
ASR (arbitrary units)	Subcutaneous	162.57 (36.22)	189.73 (43.51)	132.37 (16.76)	231.33 (57.35)
	Pulmonary	112.28 (25.79)	213.06 (47.70)	155.83 (31.25)	146.95 (21.85)
	Oral	185.00 (39.75)	<b>35.45 (9.47)</b>	126.33 (22.23)	<b>27.46 (3.63)</b>
Percentage Habituation	Subcutaneous	59.93 (7.28)	58.67 (10.13)	60.53 (6.28)	52.65 (1.99)
	Pulmonary	60.68 (6.17)	55.96 (6.39)	57.68 (6.50)	64.01 (7.48)
	Oral	51.71 (10.79)	<b>71.11 (12.01)</b>	44.31 (11.13)	<b>29.07 (32.64)</b>
Percentage PPI	Subcutaneous	51.91 (6.61)	39.13 (7.09)	30.23 (8.70)	51.31 (4.74)
	Pulmonary	47.36 (6.25)	37.33 (4.54)	35.06 (7.60)	55.05 (5.42)
	Oral	30.03 (5.39)	<b>39.37 (18.07)</b>	34.81 (8.12)	<b>19.28 (17.57)</b>

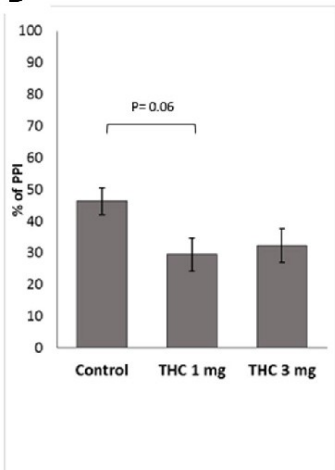


**Obrázek 17** Procentuální změna PPI-ASR prepulzní inhibice úlekové reakce pro srovnání podání vehikula (VEH), THC, CBD a THC+CBD společně pro subkutánní (10 mg/kg) a inhalační podání (20 mg/box/4 zvířata). Směrodatné odchylnka  $\pm 1$  SEM, statistická významnost vyznačena \* oproti kontrolní skupině, lineární čáry ukazují intrakanabinoidní signifikance  $p < 0,05$ .

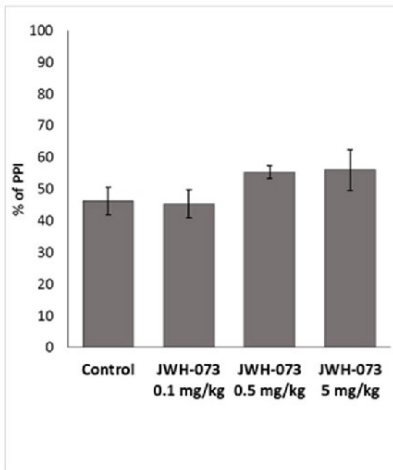
A

Measure		Vehicle	THC		JWH-073			JWH-210		
		-----	1 mg/kg	3 mg/kg	0.1 mg/kg	0.5 mg/kg	5 mg/kg	0.1 mg/kg	0.5 mg/kg	5 mg/kg
ASR (arbitrary units)	Mean	195,01	120,28	222,49	105,56	179,94	119,31	124,09	202,13	340,69
	SEM	34,70	34,11	73,65	23,86	71,24	28,19	21,19	46,06	98,73
Percentage habituation	Mean	46,99	55,68	34,63	49,20	21,66	54,19	42,85	41,71	37,55
	SEM	8,88	7,40	11,50	7,36	12,85	8,30	5,94	9,53	16,29

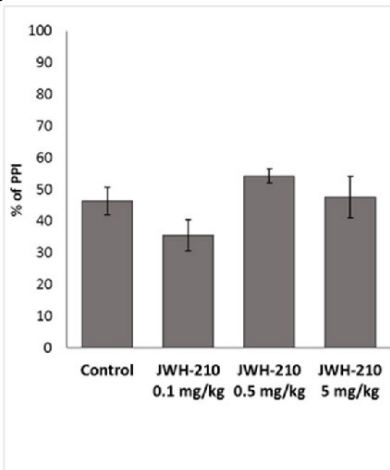
B



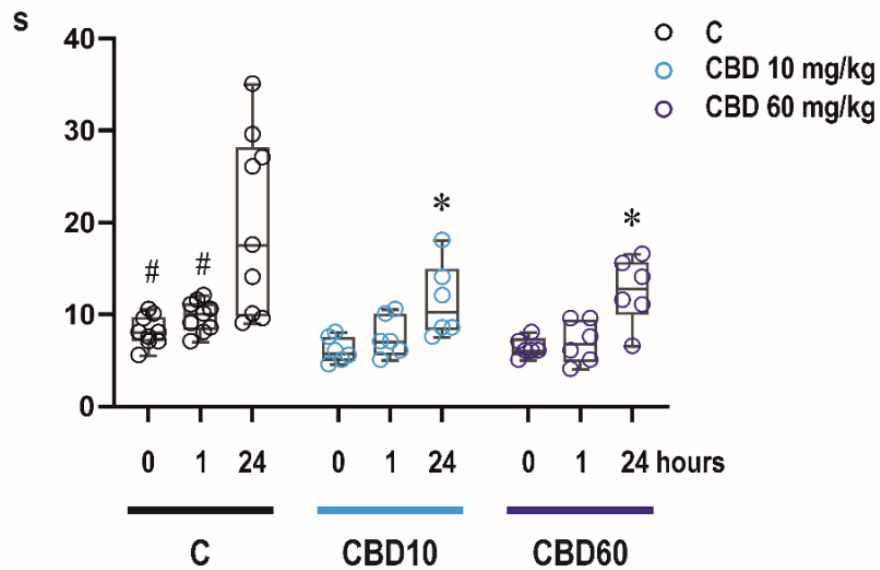
C



D



**Obrázek 18** Účinek (A)  $\Delta^9$ -THC (1 nebo 3 mg / kg, sc.), JWH-073 (0,1; 0,5 a 5 mg / kg, sc.) a JWH-210 (0,1; 0,5 nebo 5 mg/kg, sc.) na úlekový akustický impuls (ASR) a habituaci. Účinek (B)  $\Delta^9$ -THC (1 nebo 3 mg/kg, sc.), (C) JWH-073 (0,1, 0,5 nebo 5 mg/kg, sc.) a (D) JWH-210 (0,1, 0,5 nebo 5 mg/kg, sc.) na prepulzní inhibici úlekové reakce. Data jsou zobrazena jako průměr  $\pm$  SEM procent prepulzní inhibice úlekové reakce



**Obrázek 19** Účinky CBD na motorické učení v Bar-holding testu – tj. čas mláděte strávený na tyči. CBD významně neovlivnil čas strávený na tyč v tomto testu (osa y v sekundách) jednu hodinu po podání CBD. U kontrolních zvířat byl čas na liště významně delší 24 hodin po první expozici tomuto testu. Naproti tomu zvířata vystavená jedné z dávek CBD (10 nebo 60 mg/kg) měla tendenci zlepšovat svůj výkon v tomto testu pouze mezi 1. a 3. testem a strávila kratší dobu na tyči ve srovnání s kontrolami. Poprvé byla zvířata testována před podáním CBD nebo vehikula. Další testy byly provedeny o 1 hodinu a 24 hodin později. # označuje statisticky významný rozdíl mezi časem stráveným na liště při porovnání 3. testu s předchozími testy v rámci jedné skupiny. \* označuje statisticky významný rozdíl ve srovnání s kontrolami.

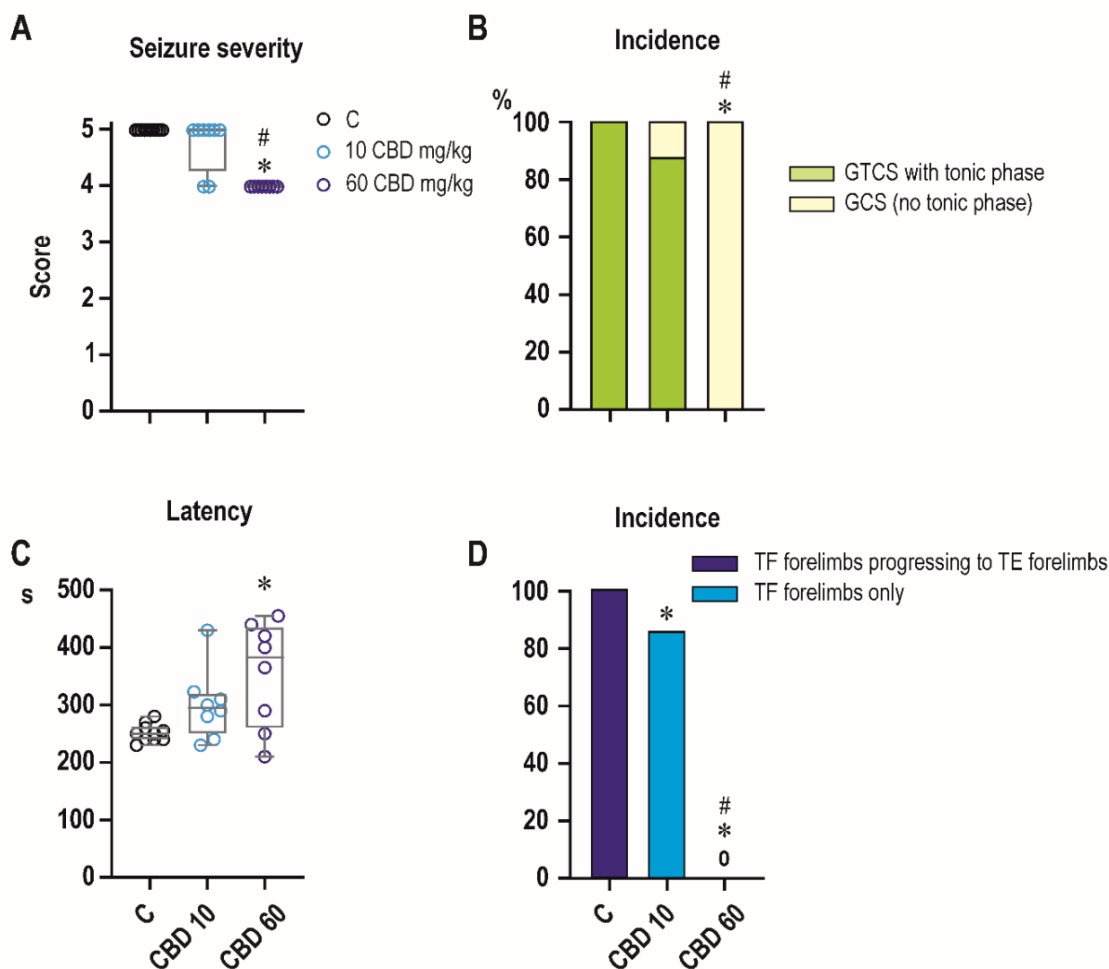
## Srovnání antikonvulzivních účinků CBD

### 5.2.4. Model PTZ a NMDA indukovaných záchvatů

V modelu PTZ indukovaných záchvatů v souladu s předchozími studiemi nebyl pozorován u mláďat výskyt minimálních záchvatů (odpovídající 3. stupni modifikované Racinovi škály<sup>9</sup>) a zvířata vykazovala záchvaty odpovídající 4. a 5. stupni škály s projevy klonických a tonicko-klonických křečí. V kontrolní skupině došlo u všech zvířat k GTCS odpovídající 5. stupni Racinovi škály. Po podání CBD (60 mg/kg) bylo pozorováno snížení závažnosti záchvatů, jak v porovnání s kontrolní, tak i s nižší dávkou CBD (10 mg/kg) *Obrázek 20*. Dále jsme zjistili významné ovlivnění tonické fáze generalizovaných záchvatů. Nižší dávka CBD zabránila progresi záchvatu do extenze předních končetin, ale nebyl ovlivněn výskyt flexní části tonického záchvatu. Po podání vyšší dávky CBD došlo k úplnému vymizení tonické fáze generalizovaných záchvatů. Ve skupině kontrolních zvířat se přitom tonická fáze záchvatu vyskytovala v 100 % na předních končetinách a v 50 % na zadních končetinách s rozvojem tonické flexe na předních končetinách a gradováním do tonické extenze předních končetin. U kontrolní skupiny zvířat byla průměrná latence ke generalizovaným záchvatům (skóre 4–5) 251 vteřin. Podání CBD 60 mg/kg vedlo k významnému zvýšení latence (354 vteřin). Mortalita zvířat byla v průběhu 30. minutového intervalu po podání PTZ velmi nízká a nevykázala žádné statisticky významné rozdíly (kontrolní skupina 1 z 10; v obou skupinách po podání CBD 0 z 8). V modelu věkově vázaných spasmů vyvolaných podáním NMDA byla testována pouze vyšší dávka 60 mg/kg CBD, která neovlivnila sledované parametry záchvatu, jako jsou latence nebo závažnost záchvatů *Obrázek 21*.

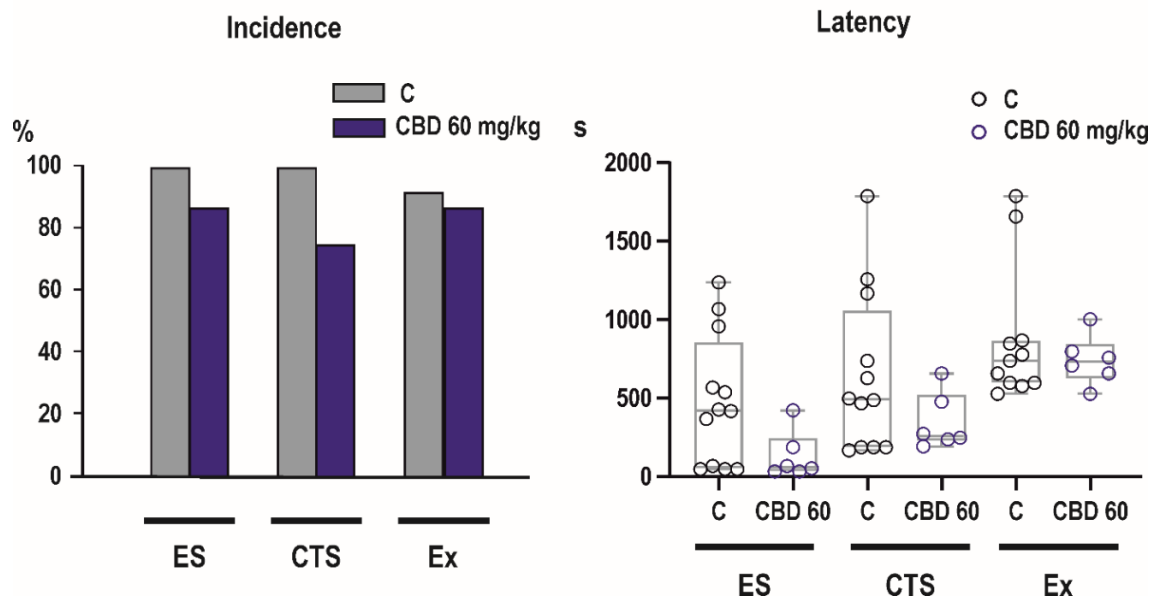
---

<sup>9</sup> Modifikovaná Racinova škála, viz Tabulka 1. Pro minimální záchvat jsou u potkanů typické samovolné záškuby předních končetin.



**Obrázek 20** Účinky CBD ve dvou dávkách (10 a 60 mg/kg) na záchvaty vyvolané PTZ. CB v dávce 60 mg/kg významně snížil závažnost záchvatů (A) a tento účinek byl řízen především specifickou supresí tonické složky generalizovaných tonicko-klonických záchvatů (B). Procento zvířat vykazujících kompletní generalizované tonicko-klonické záchvaty (zelená) a generalizované záchvaty bez tonické fáze, tj. generalizované klonické záchvaty (žluté), je zobrazeno na ose y V této dávce CBD vedl ke zvýšení latence ke generalizovaným záchvatům (C). V nižší dávce 10 mg/kg blokovalo CBD přechod z tonické flexe (světle modré; pouze přední končetiny TF) do tonické extenze na předních končetinách (tmavě modré; přední končetiny TF progradující do TE předních končetin) (D). Hvězdičky označují významný rozdíl ve srovnání s kontrolami, # označují významný rozdíl ve srovnání mezi různými dávkami CBD. Osa x ve všech třech grafech představuje kontrolu a dvě skupiny s různými dávkami (10 a 60 mg/kg) CBD. Dat v grafech (A, C) jsou prezentována jako krabicové grafy (medián vzorku a první a třetí kvartil s whiskery (min a max). Kroužky označují jednotlivé hodnoty.

## Effects of CBD in NMDA model



**Obrázek 21** Účinky CBD v modelu NMDA. Předběžná léčba 60 mg/kg CBD neovlivnila incidenci (levý panel) žádných hodnocených parametrů NMDA-indukovaných záchvatů – emprostotonických (flexních) záchvatů (ES), generalizovaných klonických tonických záchvatů (CTS) nebo mortality (Ex). Latence (pravý panel) jednotlivých parametrů se nelišily od kontrol. Další podrobnosti jako na obrázku 2

### 5.2.5. CBD v modelu kortikálních následných výbojů – nepublikované výsledky připravované k publikaci

V rámci toho experimentu jsme se rozhodli využít model následných výbojů vyvolaných kortikální stimulací u dospělého potkana. Zvířata byla stimulována opakovaně: (1. stimulace: tj. před podáním látky, 2. stimulace: látka (1 h) tj. 1 h po podání vehikula nebo CBD, 3. stimulace: washout (48 h), kdy by dle našich výsledků farmakokinetiky neměl být přítomen CBD v detekovatelných koncentracích. U zvířat bylo hodnoceno trvání následných výbojů, počet epileptoformních jevů (hrotová aktivita, hrot – vlna komplexy, výskyt rekurentních následných výbojů) a změny v hustotě výkonových spekter (power spectral density) v námi zvolených pásmech (delta 0,5-4 Hz, theta 4–8 Hz, alfa 8-12 Hz, beta 12-18 Hz, gama 18-70 Hz).

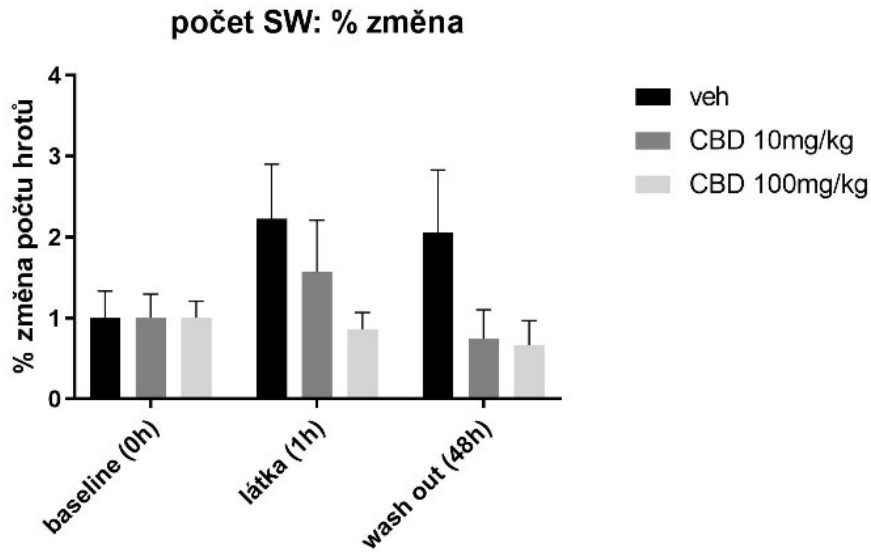
Změny v hustotě výkonových spekter byly separátně hodnoceny ve dvou časových úsecích, a to v časech: a) 0-15 s po skončení elektrické stimulace, zaznamenávající změny v úseku pokrývajícím trvání následných výbojů, b) analýza změn ve spektrální densitě v průběhu celého 120s záznamu.

#### **Hodnocení délky trvání následných výbojů a počtu epileptoformních jevů:**

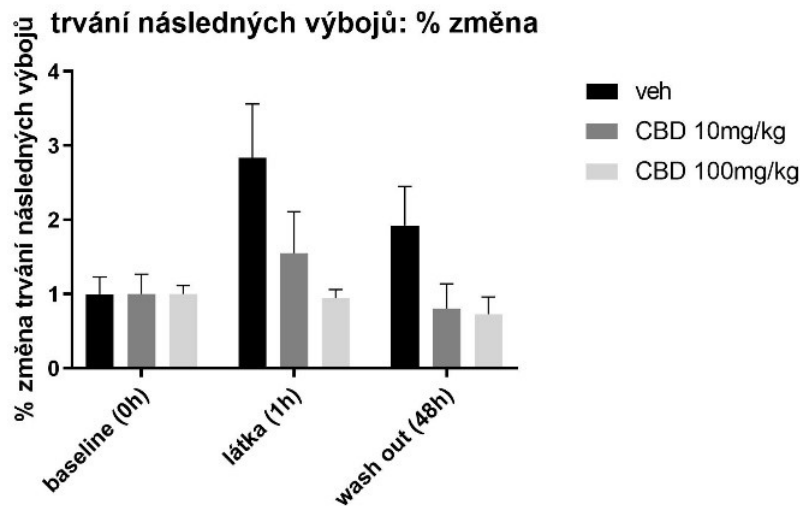
Při analýze počtu následných výbojů vyjádřených jako procentuální změna oproti 1. stimulaci (kdy výsledek po 1. stimulaci byl pro každou skupinu = 100%) nedošlo k prokázání žádných signifikantních účinků léčby [ $F(2, 15) = 1,359, p > 0,05$ ], ale byl pozorován trend času stimulace [ $F(2, 30) = 3,037, p = 0,06$ ] a jejich interakce [ $F(4, 30) = 2,526, p = 0,06$ ]. Následný post-hoc test neodhalil žádné signifikantní změny mezi porovnávanými skupinami *Obrázek 22*.

Analýza délky trvání následných výbojů vyjádřená jako procentuální změna oproti 1. stimulaci prokázala signifikantní vliv času stimulace [ $F(2, 26) = 7,264, p < 0,01$ ], nesignifikantní účinek léčby [ $F(2, 15) = 2,590, p < 0,05$ ], a významnou interakci u jejich interakce [ $F(4, 30) = 3,598, p = 0,0164$ ]. Následný post-hoc test ukázal nesignifikantní zvýšení v kontrolní skupině 1 h po podání oleje oproti 1. stimulaci ( $p = 0,0875$ ) *Obrázek 23*.





**Obrázek 22** Srovnání počtu detekovaných následných kortikálních výbojů vyjádřených v % oproti 1. stimulaci zvířat – baseline (0 h) = 100 %. Na ose X jsou zobrazeny tři časové intervaly (tj. baseline (0 h) – interval před podáním testovaných látek, látka (1 h) -1 hodina po sc. podání vehikula, CBD 10 mg/kg a 100 mg/kg odpovídající předpokládaným nejvyšším koncentracím CBD v mozku a intervalu 48 h po podání testovaných látek s předpokládaným. Data jsou zobrazena jako průměr ± SEM.



**Obrázek 23** Srovnání změny trvání následných kortikálních výbojů vyjádřených v % oproti 1. stimulaci zvířat – baseline (0 h) = 100 %. Na ose X jsou zobrazeny tři časové intervaly (tj. baseline (0 h) – interval před podáním testovaných látek, látka (1 h) -1 hodina po sc. podání vehikula, CBD 10 mg/kg a 100 mg/kg odpovídající předpokládaným nejvyšším koncentracím CBD v mozku a intervalu 48 h po podání testovaných látek s předpokládaným. Data jsou zobrazena jako průměr ± SEM

## **Analýza spektrálního výkonu**

Analýza změn v pásmu delta *Obrázek 24* po skončení elektrické stimulace neprokázala signifikantní změny po podání vehikula v testovaných intervalech: (interval 0–15 s [F (2, 27) = 0,977,  $p > 0,05$ ], interval 0-120 s [F (2, 227) = 0,349,  $p > 0,05$ ]). Proti tomu po podání CBD v obou dávkách byly zaznamenány signifikantní změny výkonu, pro CBD 10 mg/kg interval 0-15 s [F (2, 22)=4,27,  $p < 0,05$ ], interval 0-120 s [F(2, 190)=22,4,  $p < 0,001$ ], pro CBD 100 mg/kg interval 0-15s [F (2, 21)=24,89,  $p < 0,001$ ] resp. 0-120 s [F(2, 166)=12,53,  $p < 0,001$ ]. Následná post-hoc analýza pomocí Tukey testu ukázala v případě nižší dávky pokles výkonu v pásmu delta po 3. stimulaci (wash-out) v obou vyhodnocených úsecích (interval 0-15 s,  $p < 0,01$ ; interval 0-120s,  $p < 0,001$ ). V případě vyšší dávky CBD 100 mg/kg signifikantně snížil výkon při 2. i 3. stimulaci v obou analyzovaných úsecích (0-15 s,  $p < 0,01$ ; 0-120s,  $p < 0,001$ ) resp. (0-15 s,  $p < 0,001$ ; 0-120s,  $p < 0,01$ ).

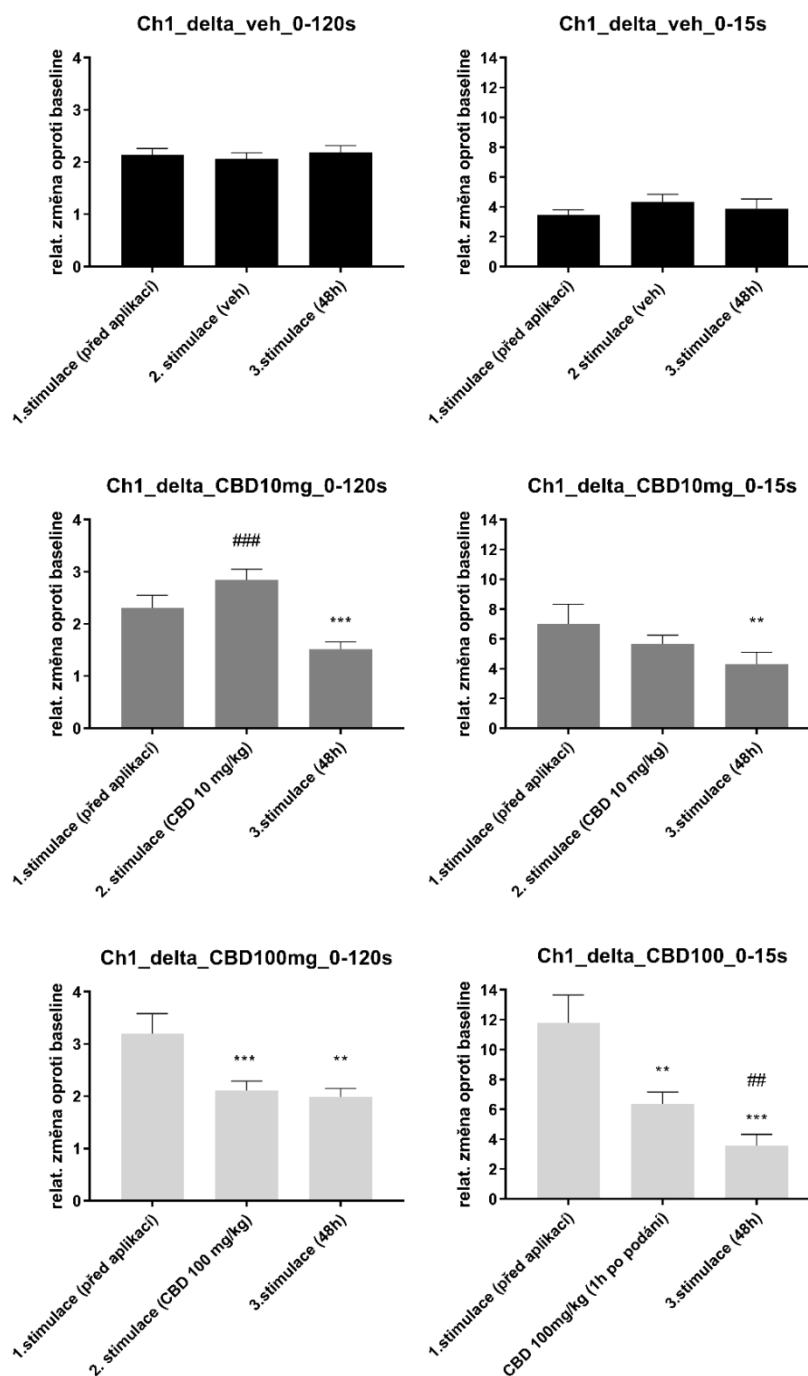
Analýza změn v pásmu theta *Obrázek 25* prokázala nárůst výkonu po podání vehikula v obou hodnocených intervalech 0-15 s [F(2, 27)=19,00,  $p < 0,001$ ] resp. 0-120 s [F(2, 196)=30,9,  $p < 0,0015$ ]. Následná post-hoc analýza pomocí Tukey testu ukázala signifikantní zvýšení výkonu v analyzovaném úseku 0-120 s po 2. i 3. stimulaci (oba,  $p < 0,001$ ). Při analýze intervalu 0-15s byl pomocí Tukey testu odhalen nárůst výkonu u 3. stimulace ( $p < 0,001$ ). V případě podání CBD v dávce 10 mg/kg odhalila analýza signifikantní změny výkonu v obou hodnocených intervalech 0-15 s [F(2, 21)= 23,6,  $p < 0,001$ ], 0-120 s [F(2, 164)=67,5,  $p < 0,05$ ]. Následná analýza pomocí Tukey testu ukázala signifikantní nárůst v obou intervalech v případě 2. stimulace (0-15 s,  $p < 0,01$ ; 0-120s,  $p < 0,001$ ) a poté následovaný poklesem při 3. stimulaci (0-15 s,  $p < 0,01$ ; 0-120s,  $p < 0,001$ ). Vyšší dávka CBD 100 mg/kg při analýze intervalu 0-120s neprokázala žádný účinek na výkon v pásmu theta [F(2, 183)=0,7008,  $p > 0,05$ ], nicméně v intervalu 0-15s byla pozorována změna výkonu v pásmu theta [F(2, 22)=10,85,  $p < 0,01$ ]. Následný post-hoc test Tukey odhalil nárůst výkonu po 2. stimulaci ( $p < 0,05$ ), který byl následovaný poklesem při 3 stimulaci ( $p < 0,05$ ). x

Analýza změn v pásmu alfa *Obrázek 26* neprokázala signifikantní změny po podání vehikula v analyzovaném intervalu 0-15s [F(2, 21)=2,41,  $p > 0,05$ ], v případě analýzy úseku 0-120 s byl odhalen signifikantní změna výkonu [F(2, 229)=7,08,  $p < 0,001$ ]. Následná post-hoc analýza ukázala nárůst výkonu v pásmu alfa mezi 2. a 3. stimulací ( $p > 0,001$ ). Podání CBD vedlo k signifikantním změnám při dávce 10 mg/kg v obou analyzovaných intervalech 0-15 s [F(2, 20)=16,0,  $p > 0,001$ ], 0-120s [F(2, 181)=19,6,  $p < 0,001$ ] a v dávce 100 mg/kg v intervalu 0-120

s [F(2, 184)=3,925, p<0,05]. Následná post-hoc analýza prokázala nárůst výkonu v pásmu alfa při 2. stimulaci v hodnoceném intervalu 0-15s po podání CBD 10 mg/kg (p<0,001). Oproti tomu byl také zjištěn pokles výkonu v pásmu alfa v intervalu 0-120 s po podání CBD 100 mg/kg při 2. stimulaci (p<0,001) a v tomtéž intervalu také po podání CBD 10 mg/kg při 3. stimulaci (p<0,001).

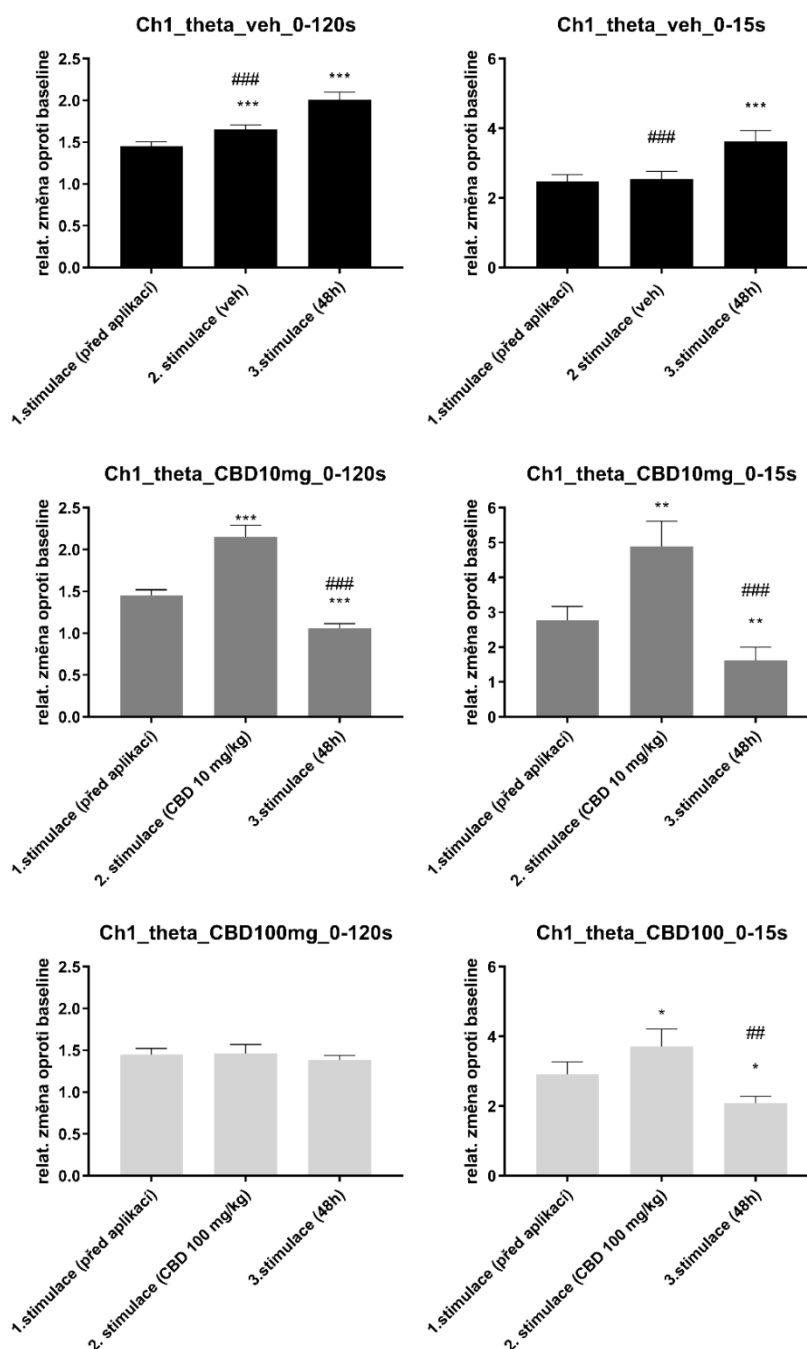
Analýza změn v pásmu beta *Obrázek 27* po podání vehikula prokázala signifikantní nárůst výkonu v obou analyzovaných intervalech 0-15 s [F (2, 19)=6,04, p<0,05], 0-120 s [F (2, 215)=15,4, p<0,001]. Post-hoc analýza prokázala v intervalu 0 -120 s zvýšení výkonu během 2. stimulace (p<0,001) i 3. stimulace (p<0,001). V intervalu 0-15 s došlo k signifikantnímu zvýšení výkonu pouze při 2. stimulaci (p<0,001). Po podání obou hodnocených dávek CBD byly pozorovány signifikantní změny výkonu v pásmu beta, které se projevíly v obou hodnocených intervalech, CBD 10 mg/kg 0-15 s [F (2, 24)=30,2, p<0,001], 0-120 s [F (2, 168)=39,8, p<0,001]; CBD 100mg/kg 0-15 s [F (2, 24)=3,793, p<0,05], 0-120 s [F (2, 207)=5,244, p<0,01]. Post-hoc analýza prokázala nárůst výkonu v pásmu beta pro CBD 10 mg/kg v obou časových intervalech po 2. stimulaci (0-15 s, p<0,001; 0-120 s, p<0,001) a pokles při 3. stimulaci v hodnoceném intervalu 0-120 s (p<0,05). Po podání CBD 100 mg/kg došlo k poklesu výkonu u 2. stimulace v obou intervalech 0-15 s, p<0,05; 0-120 s, p<0,05).

Statistická analýza EEG záznamů v pásmu gamma *Obrázek 28* prokázala signifikantní změny, jak po podání vehikula v hodnocených intervalech 0-15 s [F (2, 25)=69,7, p<0,001] a 0-120 s [[F (2, 143)=55,80, p<0,001], tak i po podání CBD: CBD 10 mg/kg 0-15 s [F (2, 22)=26,7, p<0,001], 0-120 s [[F (2, 206)=70,2, p<0,001]; CBD 100 mg/kg 0-15 s [F (2, 22)=4,436, p<0,05], 0-120 s [F (2, 184)=13,80, p<0,001]. Následná post- hoc analýza prokázala po podání vehikula zvýšení výkonu v pásmu gamma při 2. stimulaci v obou hodnocených úsecích záznamu (0-15 s, p<0,001; 0-120 s, p<0,001). Po podání CBD 10 mg/kg došlo k nárůstu výkonu v pásmu gamma při 2. stimulaci (0-15 s, p<0,001; 0-120 s, p<0,001) i 3. stimulaci (0-15 s, p<0,05; 0-120 s, p<0,001). Při podání CBD 100 mg/kg došlo v intervalu 0-120 s ke zvýšení výkonu v pásmu gamma při 2. i 3. stimulaci (obě, p<0,001). Oproti tomu v analyzovaném úseku 0-15 s byl zaznamenán nárůst pouze při druhé stimulaci (p<0,05).



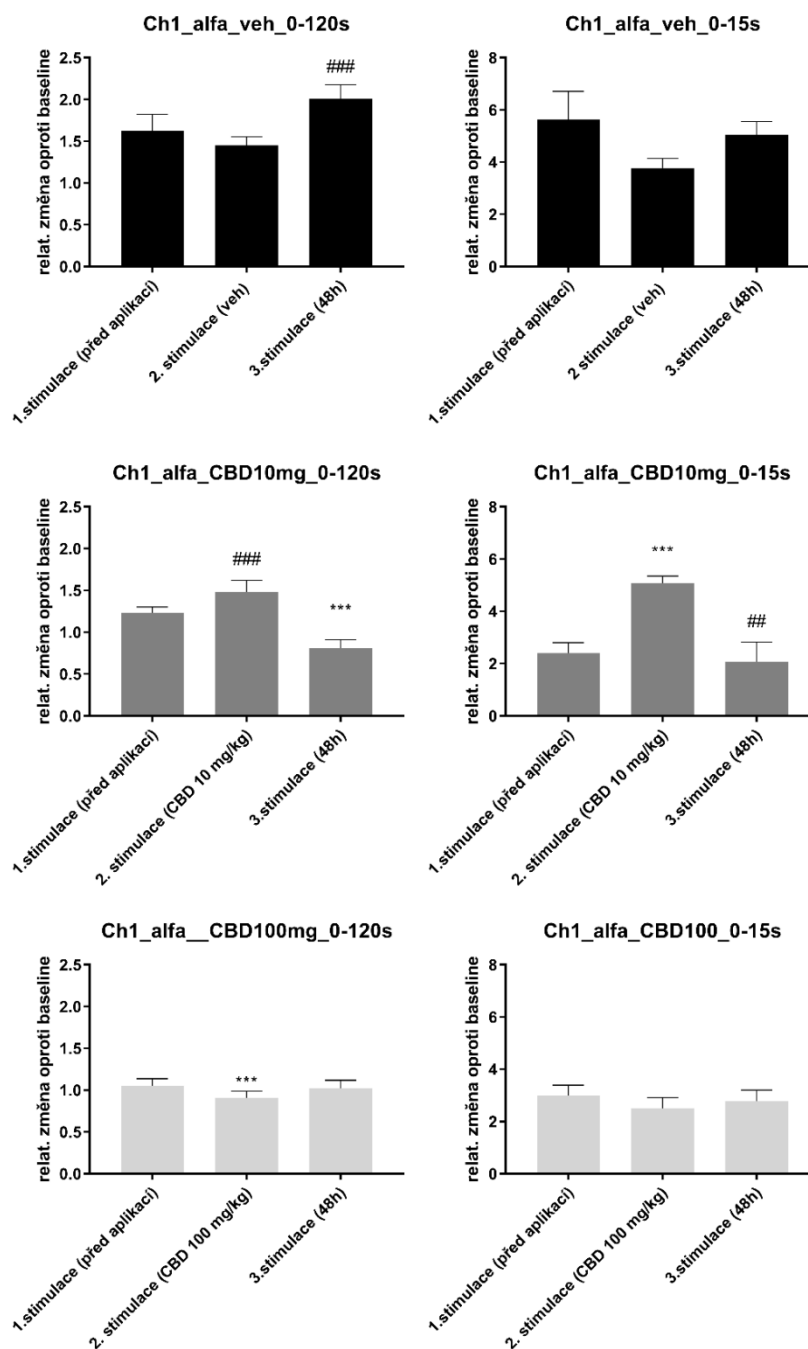
**Obrázek 24** Srovnání průměrných hodnot relativního výkonu v pásmu delta po podání vehikula (horní řada – ozn. černou), CBD 10 mg/kg (prostřední řada – ozn. tmavě šedou) a CBD 100 mg/kg (spodní řada – ozn. světle šedou). Analyzovány byly 2 časové intervaly, tj. 0-15 s ihned po skončení stimulace (nejvyšší míra výskytu kortikálních následných výbojů) a celý časový úsek 0-120 s. Na ose X jsou vyznačeny 3 stimule (1. stimulace = před podáním látky – slouží jako kontrola, 2. stimulace = 1 hod po podání látky (předpokládáné max. koncentrace CBD v mozku), 3. stimulace = 48 h po podání látky (wash-out). Na ose Y – relativní výkon v analyzovaném pásmu – bezrozměrná veličiny (podíl rozdílu absolutního výkonu cílového pásma v hodnoceném úseku vs. průměrná hodnota odpovídajícího EEG pásma získaného z baseline (15 s) před stimulací). Data jsou zobrazena jako průměr ± SEM, \* označují významný rozdíl ve srovnání s kontrolou (1. stimulací) značena  $p < 0,05$  = \*,  $p < 0,01$  = \*\*,  $p < 0,001$  = \*\*\*

\*\*\*, # označují významný rozdíl ve srovnání 2. a 3. stimulace  $p < 0,05 = \#$ ,  $p < 0,01 = \#\#$ ,  $p < 0,001 = \#\#\#$

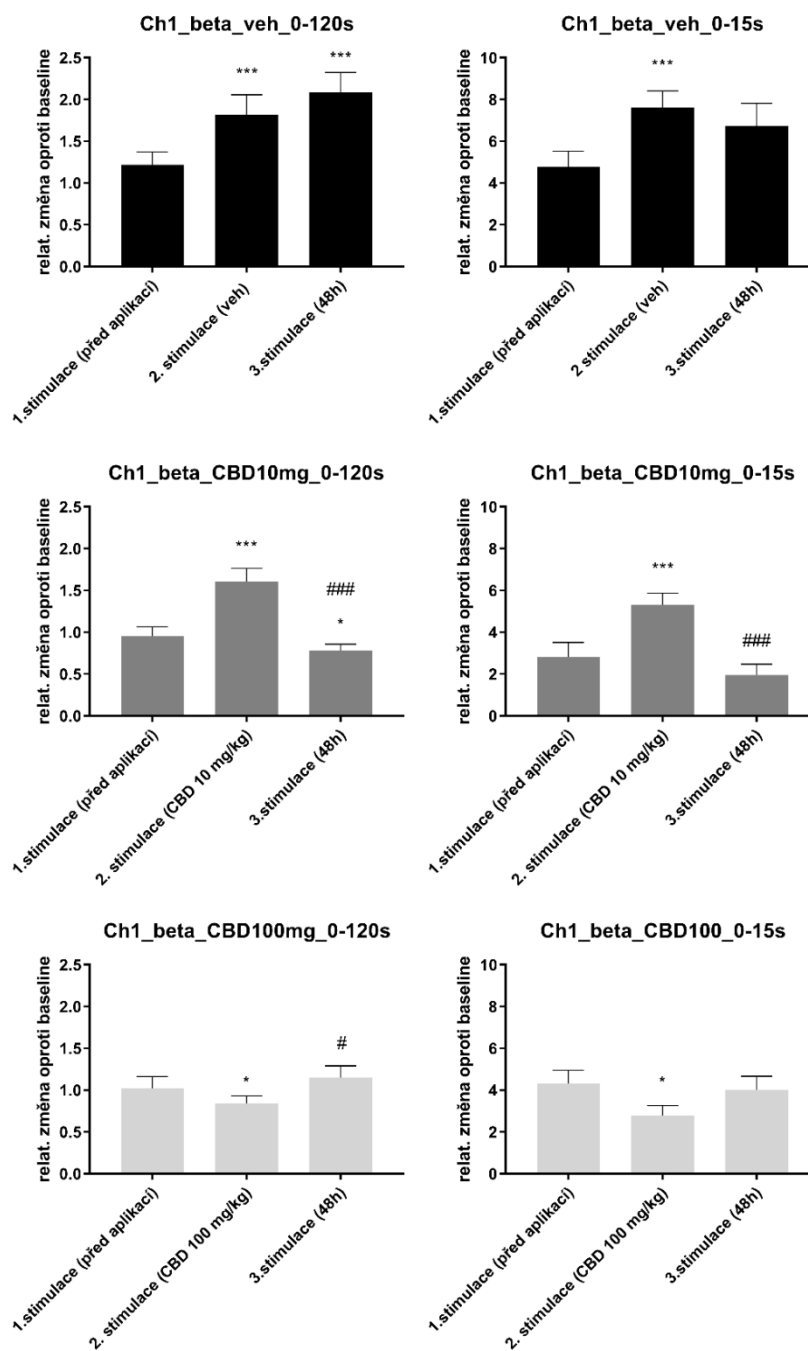


**Obrázek 25** Srovnání průměrných hodnot relativního výkonu v pásmu theta po podání vehikula (horní řada – ozn. černou), CBD 10 mg/kg (prostřední řada – ozn. tmavě šedou) a CBD 100 mg/kg (spodní řada – ozn. světle šedou). Analyzovány byly 2 časové intervaly, tj. 0-15 s ihned po skončení stimulace (nejvyšší míra výskytu kortikálních následných výbojů) a celý časový úsek 0-120 s. Na ose X jsou vyznačeny 3 stimule (1. stimulace = před podáním látky – slouží jako kontrola, 2. stimulace = 1 hod po podání látky (předpokládané max. koncentrace CBD v mozku), 3. stimulace = 48 h po podání látky (wash-out). Na ose Y – relativní výkon v analyzovaném pásmu – bezrozměrná veličiny (podíl rozdílu absolutního výkonu cílového pásma v hodnoceném úseku vs. průměrná hodnota odpovídajícího EEG pásma získaného z baseline (15 s) před stimulací). Data jsou zobrazena jako průměr ± SEM, \* označují

významný rozdíl ve srovnání s kontrolou (1. stimulací) značena  $p < 0,05 = *$ ,  $p < 0,01 = **$ ,  $p < 0,001 = ***$ , # označují významný rozdíl ve srovnání 2. a 3. stimulační p  $p < 0,05 = \#$ ,  $p < 0,01 = \#\#$ ,  $p < 0,001 = \#\#\#$

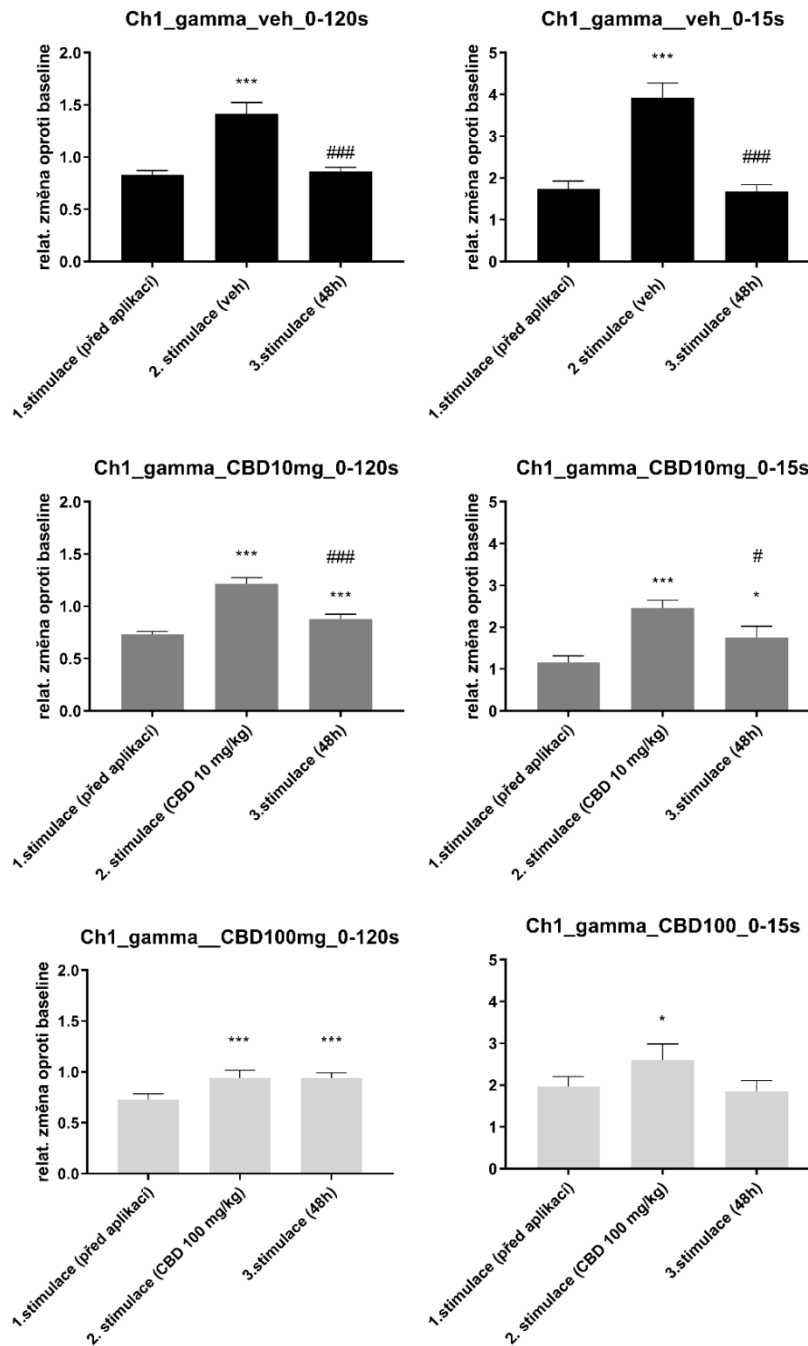


**Obrázek 26** Srovnání průměrných hodnot relativního výkonu v pásmu alfa po podání vehikula (horní řada – ozn. černou), CBD 10 mg/kg (prostřední řada – ozn. tmavě šedou) a CBD 100 mg/kg (spodní řada – ozn. světle šedou). Analyzovány byly 2 časové intervaly, tj. 0-15 s ihned po skončení stimulace (nejvyšší míra výskytu kortikálních následných výbojů) a celý časový úsek 0-120 s. Na ose X jsou vyznačeny 3 stimule (1. stimulace = před podáním látky – slouží jako kontrola, 2. stimulace = 1 hod po podání látky (předpokládané max. koncentrace CBD v mozku), 3. stimulace = 48 h po podání látky (wash-out). Na ose Y – relativní výkon v analyzovaném pásmu – bezrozměrná veličiny (podíl rozdílu absolutního výkonu cílového pásma v hodnoceném úseku vs. průměrná hodnota odpovídajícího EEG pásma získaného z baseline (15 s) před stimulací). Data jsou zobrazena jako průměr ± SEM, \* označují významný rozdíl ve srovnání s kontrolou (1. stimulací) značena  $p < 0,05 = *$ ,  $p < 0,01 = **$ ,  $p < 0,001 = ***$ , # označují významný rozdíl ve srovnání 2. a 3. stimulace  $p < 0,05 = \#$ ,  $p < 0,01 = ##$ ,  $p < 0,001 = ###$



**Obrázek 27** Srovnání průměrných hodnot relativního výkonu v pásmu beta po podání vehikula (horní řada – ozn. černou), CBD 10 mg/kg (prostřední řada – ozn. tmavě šedou) a CBD 100 mg/kg (spodní řada – ozn. světle šedou). Analyzovány byly 2 časové intervaly, tj. 0-15 s ihned po skončení stimulace (nejvyšší míra výskytu kortikálních následných výbojů) a celý časový úsek 0-120 s. Na ose X jsou vyznačeny 3 stimule (1. stimulace = před podáním látky – slouží jako kontrola, 2. stimulace = 1 hod po podání látky (předpokládané max. koncentrace CBD v mozku), 3. stimulace = 48 h po podání látky (wash-out). Na ose Y – relativní výkon v analyzovaném pásmu – bezrozměrná veličiny (podíl rozdílu absolutního výkonu cílového pásma v hodnoceném úseku vs. průměrná hodnota odpovídajícího EEG pásma získaného z baseline (15 s) před stimulací). Data jsou zobrazena jako průměr ± SEM, \* označují významný rozdíl ve srovnání s kontrolou (1. stimulací) značena  $p < 0,05 = *$ ,  $p < 0,01 = **$ ,  $p < 0,001 = ***$ , # označují významný rozdíl ve srovnání 2. a 3. stimule  $p < 0,05 = \#$ ,  $p < 0,01 = ##$ ,  $p < 0,001 = ###$





**Obrázek 28** Srovnání průměrných hodnot relativního výkonu v pásmu gamma po podání vehikula (horní řada – ozn. černou), CBD 10 mg/kg (prostřední řada – ozn. tmavě šedou) a CBD 100 mg/kg (spodní řada – ozn. světle šedou). Analyzovány byly 2 časové intervaly, tj. 0-15 s ihned po skončení stimulace (nejvyšší míra výskytu kortikálních následných výbojů) a celý časový úsek 0-120 s. Na ose X jsou vyznačeny 3 stimule (1. stimulace = před podáním látky – slouží jako kontrola, 2. stimulace = 1 hod po podání látky (předpokládané max. koncentrace CBD v mozku), 3. stimulace = 48 h po podání látky (wash-out). Na ose Y – relativní výkon v analyzovaném pásmu – bezrozměrná veličiny (podíl rozdílu absolutního výkonu cílového pásma v hodnoceném úseku vs. průměrná hodnota odpovídajícího EEG pásma získaného z baseline (15 s) před stimulací). Data jsou zobrazena jako průměr ± SEM, \* označují významný rozdíl ve srovnání s kontrolou (1. stimulací) značena  $p < 0,05 = *$ ,  $p < 0,01 = **$ ,  $p < 0,001 = ***$ , # označují významný rozdíl ve srovnání 2. a 3. stimule  $p < 0,05 = \#$ ,  $p < 0,01 = ##$ ,  $p < 0,001 = ###$

## 6. SOUHRNÁ DISKUZE

### 6.1. Farmakokinetika přírodních a syntetických kanabinoidů

Naše farmakokinetické nálezy potvrdily velmi výrazný vliv způsobu podání kanabinoidů na jejich farmakokinetický profil. V souladu s literaturou bylo po inhalačním podání, jako nejtypičtějším způsobu konzumace konopí, dosaženo maximálních plazmatických koncentrací kanabinoidů již v několika minutách po inhalaci. Poté dochází k rychlému poklesu plazmatických hladin kanabinoidů a dochází k jejich kumulaci v mozku. Toto zpoždění maximálních mozkových hladin kanabinoidů odpovídá zpoždění maximálních behaviorálních/kognitivních účinků oproti sérovým hladinám pozorovaným v klinických studiích (Huestis, 2007; Manwell, Charchoglyan, et al., 2014; Manwell, Ford, et al., 2014). CBD vykazoval při inhalačním podání nižší biologickou dostupnost než THC, což může být teoreticky způsobeno i mírně odlišnými teplotami varu obou sloučenin (McPartland & Russo, 2001). Při souběžném podání CBD a THC jsme pozorovali pokles CBD a nárůst detekovaných hladin THC oproti koncentracím, kterých bylo dosaženo při podání jednotlivých kanabinoidů samostatně. Tento nálezy byl pozorován i po perorálním a sc. podání a je v souladu s publikovanými studiemi (Guy & Robson, 2004; Huestis, 2007; Nidadavolu et al., 2021). Předpokládáme, že námi pozorovaný nárůst hladin THC je způsoben inhibičním účinkem CBD na jaterní metabolismus THC. CBD působí jako inhibitor CYP-450 (převážně pro izoformy CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2D6 a CYP3A4) (Zhornitsky & Potvin, 2012). Oproti tomu, lze jen spekulovat o možné interakci CBD a THC, která je zodpovědná za pozorování snížených hladin CBD. Teoreticky lze tento jev přisuzovat indukci metabolismu CBD pomocí THC. Je prokázáno, že THC je schopen aktivovat CYP2C9 (Qian et al., 2019), který účinně metabolizuje pomocí hydroxylace CBD na aktivní metabolit 7-OH-CBD (Beers et al., 2021). Perorální způsob podání se v naší studii ukázal jako nejúčinnější způsob aplikace z hlediska dosažených hladin v mozku a jejich stabilitě. Tento nálezy byl v rozporu z literatury hlášenou nízkou biologickou dostupností kanabinoidů po perorálním podání (Huestis, 2007; Zhornitsky & Potvin, 2012) a mohl být způsoben rozpuštěním podaných kanabinoidů v oleji a vystavením zvířat 12. hodinovému půstu. Subkutánní. podání oproti perorálnímu a inhalačnímu podání vykazovalo specifický bifázický profil kanabinoidů s maximálním vrcholem 1 hodinu po podání a s druhým vrcholem 4 resp. 8 hodin po podání. Vysvětlením tohoto druhého vrcholu může být model kompartmentu, kdy v první fázi po sc. podání dochází k uvolnění části kanabinoidů do krevního řečiště a část kanabinoidů se deponuje do podkožní tukové tkáně v okolí. Poté dochází k postupnému uvolňování kanabinoidů a jejich redistribuci v závislosti na

prokrvení orgánů a rozložení tuků (Huestis, 2007; Lucas et al., 2018). Obdobně jako přírodní kanabinoidy byl stanoven farmakokinetický profil SC po sc. podání. JWH-210 vykazoval podobný bifázický profil, jako jsme pozorovali u THC a CBD. JWH-073 dosáhlo maximálních hladin až 4 hodiny po podání, což naznačuje vyšší lipofilnost JWH-073 a jeho pomalejší uvolňování z podkoží do krve (Malyshevskaya et al., 2017; Schaefer et al., 2014). U obou SC byly jejich hladiny detekovatelné v séru i po 24 hodinách od podání, což odpovídá pomalejšímu odbourávání kanabinoidů, vzhledem k jejich akumulaci v tukové tkáni (Malyshevskaya et al., 2017; Schaefer et al., 2014).

U mláďat jsme zvolily intraperitoneální podání CBD. Oproti literárním údajům u dospělých zvířat, kde bylo dosaženo účinné antikonvulzivní dávky po podání 120 mg/kg, jsme stejných hladin CBD v mozku dosáhli při podání poloviční dávky CBD (Deiana et al., 2012; Klein et al., 2017). Oproti dospělým potkanům naše výsledky u mláďat ukázaly výrazně vyšší poměr hladiny CBD v séru v porovnání s hladinami v mozku. Tyto nálezy jsou pravděpodobně způsobeny nezralostí metabolických drah, které jsou odpovědné za odbourávání CBD (McPhail et al., 2016). Nicméně pro vhodné porovnání našich farmakokinetických dat u mláďat není dostatek studií zaměřených na vyvíjející se potkany. Celkově naše farmakokinetické nálezy ukazují u přírodních i syntetických kanabinoidů možnost jejich detekce i po 24 hodinách od podání, dané jejich lipofilní povahou a schopností interakce s metabolickými dráhami odpovědnými za jejich odbourávání. Dále jsme prokázali odlišné farmakokinetické profily pro jednotlivé způsoby podání kanabinoidů s výrazným vlivem podání na detekované hladiny kanabinoidů i jejich metabolitů.

## **6.2. Behaviorální účinky přírodních a syntetických kanabinoidů**

V částečném rozporu s literaturou jsme v našich experimentech nepozorovali typickou kanabinoidní tetradu (sníženou citlivost na bolestivé podněty, hypotermií, katalepsií a celkové snížení motorické aktivity (El-Alfy et al., 2010; Katsidoni et al., 2013; Marshall et al., 2014). Pouze při perorální podání THC a THC v kombinaci s CBD došlo k velmi výrazné inhibici pohybové aktivity potkanů, což odpovídá také námi nejvyšším naměřeným hladinám THC a jeho metabolitu 11-OH-THC u testovaných zvířat v našich experimentech. Překvapujícím zjištěním byla absence tetrády, nebo alespoň výraznějšího poklesu lokomoce po podání syntetických kanabinoidů. Při srovnatelných dávkách, jako byly použity v naší studii byl přitom pokles lokomoce popsán u obou testovaných syntetických kanabinoidů (Gatch & Forster, 2016; Marshall et al., 2014).

V souladu s literaturou jsme pozorovali dávkově specifický účinek na lokomoční aktivitu v testu otevřeného pole. V případě inhalačního podání kanabinoidů jsme zaznamenali pokles lokomoce jak u THC, CBD tak i jejich kombinace. Inhalační a perorální podání THC nebo jeho kombinace s CBD vedla k vyšším hladinám THC v mozku zvířat a následně k poklesu lokomoční aktivity. Oproti tomu, po sc. podání (10 mg/kg) jsme nepozorovali ovlivnění délky trajektorie, ale v nižší dávce 3 mg/kg byla změněna distribuce pohybu zvířat s nárůstem výskytu zvířete ve středu arény, což odpovídá popisovanému anxiolytickému účinku THC v nižších dávkách. Tento náleží je v souladu s anxiolytickými účinky CB1 agonisty v nízkých dávkách, oproti anxiogenním účinkům popisovaných po podání vysokých dávek (Moreira & Wotjak, 2010). Anxiolytické účinky CB1 agonistů byly popsány v celé řadě dalších behaviorálních testů (Berrendero & Maldonado, 2002; Patel & Hillard, 2006; Rubino et al., 2008). Naopak u vyšší dávky  $\Delta^9$ -THC došlo k nárůstu anxiety u zvířat (Patel & Hillard, 2006; Rubino et al., 2008). Pozorované signifikantní snížení lokomoční aktivity po perorálním a inhalačním podání velmi pravděpodobně souvisí se zjištěnými hladinami THC v mozku. V případě perorálního podání (kde bylo v rámci naší studie dosaženo nejvyšších hladin) došlo u zvířat ke katalepsii. Tato pozitivní korelace mezi hladinami podaného THC a pozorovanými sedativními účinky je v literatuře popsána (Shi et al., 2005; Jenny L Wiley & Martin, 2003). Důležitost způsobu podání kanabinoidů na chování publikoval Marshall a kolektiv, v jejichž studii inhalační podání THC a syntetických kanabinoidů (JWH-018, JWH-073) způsobilo jen mírné snížení lokomoční aktivity, v porovnání s intraperitoneálním podáním, které vyvolalo silný kataleptogenní účinek (Marshall et al., 2014). Dle údajů z literatury THC může mít v závislosti na dávce také opačné účinky na lokomoci, tj. v nízkých dávkách může vyvolávat zvýšení lokomoce a až ve vyšších dávkách začne mít sedativní účinky (El-Alfy et al., 2010; Katsidoni et al., 2013). V případě našich studií jsme nepozorovali u žádného způsobu podání THC zvýšenou lokomoční aktivitu zvířat i přes výrazně odlišné hladiny THC v mozku zvířat. Oproti tomu po sc. podání JWH-073 (pouze v dávce 0,5mg/kg) došlo k prodloužení zjištěné trajektorie zvířat. Podání JWH-210 v žádné dávce nevedlo ke změně pohybové aktivity. Tyto výsledky nejsou v souladu s dříve popsaným snížením pohybové aktivity u JWH-210 (0,5–5 mg/kg; (Gatch & Forster, 2016)) nebo u JWH-073 (3–30 mg/kg; (Marshall et al., 2014)). V naší studii nebyl CBD schopen normalizovat účinek THC na lokomoci i přesto, že bylo pozorováno mírné zvýšení lokomoce po podání samotného CBD. Obdobný nárůst lokomoce po podání CBD byl pozorován i u potkanů Sprague-Dawley (Britch et al., 2017). Nicméně vzhledem ke zjištěným trajektoriím nepředpokládáme, že tento nárůst pohybu zvířete byl dán pouze potenciálně anxiolytickými účinky CBD.

V testu PPI-ASR jsme museli vyřadit velké množství zvířat po perorálním podání THC a THC + CBD z důvodu výrazné sedace. Daná zvířata prakticky nereagovala na úlekový stimul. To ukazuje, že snížená lokomoce zvířat byla daná spíše silnou inhibicí pohybové aktivity, než sníženým zájmem o průzkum prostředí nebo zvýšenou anxiétou zvířat. V našich studiích nebyl zaznamenán významný účinek THC, THC+CBD, ani syntetických kanabinoidů. Výsledky studií o účinku kanabinoidů jsou v současné době dosti nekonzistentní. V některých studiích  $\Delta$ 9-THC a syntetické kanabinoidy (tj. JWH-073, JWH-18, JWH-250 nebo WIN55212,2) vyvolaly snížení úlekové reakce v závislosti na použité dávce (Levin et al., 2014; Ossato et al., 2016), oproti tomu v některých dalších studiích  $\Delta$ 9-THC neovlivnilo PPI-ASR (Boucher et al., 2007; Long et al., 2010; Malone & Taylor, 2006). Pozorované rozdíly jsou pravděpodobně způsobeny citlivostí použitých druhů zvířat ke kanabinoidům (myš vs. potkan), stejně tak citlivostí na stres a působení kanabinoidů jednotlivých kmenů Sprague-Dawley x Wistar x SHR (spontánně hypertenzní potkani), mírou agonismu či antagonismu kanabinoidů k CB1 receptoru a použitými dávkami (Gururajan et al., 2011; Levin et al., 2014; Malone & Taylor, 2006). V naší studii jsme překvapivě zjistili narušení PPI-ASR po podání samotného CBD bez ohledu na způsob podání, což je částečně v rozporu s literaturou, která ukazuje schopnost CBD normalizovat narušení PPI-ASR v řadě různých modelů psychóz (Gomes et al., 2014; Gururajan et al., 2011; Levin et al., 2014; Pedrazzi et al., 2015).

Řada studií prokázala, že CBD je u pacientů velmi dobře snášen a nebyly hlášeny žádné významné vedlejší účinky. Nicméně samotné preklinické údaje o bezpečnosti CBD u mláďat jsou výrazně omezené. Podávání CBD v terapeutických dávkách u 7denních potkanů (vývojová maximální citlivost k neuronální apoptóze vyvolané antiepileptiky) vede ke zvýšené neuronální apoptóze (Bittigau et al., 2002). Nicméně tento účinek je méně výrazný v porovnání s dalšími protizáchvatovými léčivými, které se používají v léčbě neonatálních záchvatů (Ikonomidou & Turski, 2010). Protože vedlejší účinky AED a o to více CBD nebývají rutinně testovány u mláďat laboratorních zvířat, tak byla přidána jednoduchá baterie testů k posouzení účinku CBD na motorické schopnosti zvířat. Testy byly zvoleny na základě úrovně zrání sensorimotorického systému mláďat a podstatně se lišily svojí obtížností (Altman & Sudarshan, 1975). Zatímco vzpřimovací reflexy dozrávají krátce po narození zvířete a představují jednoduchou reakci ke korekci orientace těla při jeho vychýlení z normální vzpřimované polohy, test držení na tyči (Barholding test) je pro mláďata nejnáročnějším testem (Jänicke et al., 1983). Výkon v těchto motorických testech nebyl ovlivněn hodinu po podání CBD, což podporuje předchozí studie u dospělých zvířat, které neprokázaly narušení motorických schopností zvířat (Klein et al., 2017).

Na rozdíl od kontrolních zvířat však nedošlo u zvířat po podání CBD ke zlepšení výkonu při opakovaném testu držení tyče 24 hodin po podání CBD. Zlepšení s opakováním je známkou motorického učení a běžně se vyskytuje u mnoha pohybových úkolů u vyvíjejících se zvířat (Altman & Sudarshan, 1975). Možné negativní účinky CBD na schopnost motorického učení je vhodné dále přezkoumat z důvodu omezeného počtu behaviorálních testů použitých v naší studii.

### **6.3. Antikonvulzivní účinek v modelech záchvatů PTZ a NMDA**

CBD byl v souladu s literaturou schopen zablokovat tonickou fázi záchvatů vyvolaných u mláďat podáním PTZ. Námi zjištěné blokování tonické fáze záchvatu (tj. mozkovým kmenem generovaných záchvatů (Mares & Velisek, 1992) bylo popsáno u dospělých potkanů v modelu maximálního elektrošoku (MES) (Izquierdo & Tannhauser, 1973; Klein et al., 2017). Tento účinek byl pozorován také u jeho derivátu kanabidivarinu (CBDV), kde CBDV byl schopen zablokovat tonickou fázi záchvatů u 10. denních mláďat potkanů (Huizenga et al., 2019). Zablokování tonické fáze záchvatu lze velmi dobře modelovat v modelu maximálního elektrošoku a je specifickým účinkem řady antikonvulzivních léků přehledně v rev. (Löscher, 2011). Oproti tomu CBD nebyl schopen zablokovat věkově vázané flexní záchvaty vyvolané systémovým podáním NMDA. Tento typ záchvatu se dá spolehlivě indukovat pouze u zvířat do 3 týdnů věku (Mares & Velisek, 1992) a lze ho použít jako model infantilních křečí pro screening léků (Kábová et al., 1999). Nicméně tento model vykazuje vysoce farmakorezistentní záchvaty a jen velmi nízký počet léčiv je schopen tlumit tento typ záchvatu, příkladem může být vigabantin či valproát (Kábová et al., 1999; Kubová & Mares, 2010)(Kábová et al., 1999). Pouze jedna studie u myši prokázala, že CBD může snižovat závažnost generalizovaných záchvatů vyvolaných NMDA (Rodríguez-Muñoz et al., 2018). Rozdílný výsledek naší a jejich studie může být způsoben odlišnými způsoby podání intraperitoneální vs. intracerebroventrikulární NMDA a CBD, myš vs. potkan a různými vývojovými stádii zvířat. I přes neúčinnost CBD ve farmakorezistentním modelu flexních záchvatů vykázal CBD schopnost snížit závažnost generalizovaných záchvatů vyvolaných pomocí PTZ. V souladu s našimi nálezy je CBD povolen pro léčbu syndromu Dravetové, Lennox-Gaustův syndrom (Corroon & Kight, 2018) a ukazuje se, že může být vhodným doplňkem k léčbě záchvatů u řady standardních antiepileptik (E. Perucca, 2017; Silvestro et al., 2019). Detailnější diskuze našich výsledků je publikována v článku (Uttl et al., 2021).

#### **6.4. Vliv CBD na excitabilitu mozku v modelu následných výbojů u potkana (Nepublikované výsledky)**

Analýza EEG záznamů ukazuje změny v excitabilitě mozku po podání CBD u dospělého potkana s možným terapeutickým potenciálem a doplňuje výsledky antikonvulzivního účinku CBD u mláďat, které jsou výše uvedené v předkládané disertační práci a také v publikaci (Uttl et al., 2021). V této studii jsme zvolili kortikální nízkofrekvenční elektrickou stimulaci 8 Hz, vyvolávající kortikální následné výboje pomocí stimulace kortikothalamokortikální dráhy (Makal et al., 1993). Získané výsledky ukazují pouze trend snížení počtu a trvání následných výbojů. Snížení počtu následných výbojů a jejich trvání je v souladu s účinky CBD pozorovaných v celé řadě modelů záchvatu, jako jsou MES, nízkofrekvenční stimulace (6 a 8 Hz), pentylentetrazol, kainát a další (Goerl et al., 2021; Gray et al., 2020; Grayson et al., 2021; Klein et al., 2017; Lazarini-Lopes et al., 2020; Patra et al., 2019). Nicméně účinek CBD je výrazně závislý na použité dávce a způsobu podání CBD. Nesignifikantní výsledky naší studie mohly být způsobeny i zvolením subkutánního podání CBD, po kterém jsou hladiny CBD výrazně nižší než po perorálním či intraperitoneálním podání (Deiana et al., 2012; Hložek et al., 2017; Klein et al., 2017) a nemusejí být dostatečné k vyvolání robustního antiepileptického účinku CBD v námi použitém modelu následných výbojů. Důležitost způsobu podání ukazuje i přehledový článek (Patra et al., 2019), kdy jako účinné způsoby podání jsou uvedeny intraperitoneální, perorální a intravenózní podání CBD z důvodu dosažení vysokých hladin v mozku (Patra et al., 2019). I přes nesignifikantní antiepileptický účinek CBD byla provedena analýza EEG záznamů pro zjištění vlivu CBD na výkon v jednotlivých frekvenčních pásmech. Zde již byly pozorovány signifikantní změny výkonu v jednotlivých pásmech. V souladu s literaturou zde bylo pozorováno signifikantní snížení výkonu v pásmu delta, zabránění nárůstu výkonu v pásmu théta po 48 hodinách a také zvýšení výkonu v pásmu gamma po 3. stimulaci.

Pozorované snížení pomalé aktivity v pásmu delta může poukazovat na možný antiepileptický účinek CBD. Nárůst pomalé aktivity v pásmu delta je popisován například u spontánně hypertenzních potkanů (SHR) a je spojován se zvýšenou excitabilitou mozku tohoto kmene (Tchekalarova et al., 2016; Vorobyov et al., 2011). Pomalé vlny delta jsou generovány thalamokortikálním okruhem a poukazují na zvýšenou hyperpolarizaci thalamo-kortikálních neuronů (Llinás & Steriade, 2006; Steriade et al., 1993). Nárůst v pásmu delta byl také pozorován po podání NMDA jak u SHR potkanů, tak i u potkanů kmene Wistar (Vorobyov et

al., 2011). Obdobně je nárůst v pásmu delta a théta popisován u potkanů podstupujících kindling (opakovanou podprahovou stimulaci) vedoucí k rozvoji záchvatové aktivity (Jalilifar et al., 2016). Toto zvýšení výkonu ve frekvenčním rozmezí pásem delta a theta bylo také popsáno u pacientů s idiopatickými generalizovanými záchvaty (Clemens et al., 2000; Clemens, 2004). Zvýšený výkon v pásmu delta a théta byl pozorován také u myšího modelu Angelmanova syndromu (Gu et al., 2019). U pacientů s touto vrozenou genetickou vadou dochází k výrazné mentální retardaci, opožděnému psychomotorickému vývoji, strnulosti, poruchám řeči a velmi často toto onemocnění doprovází epileptické záchvaty s častou lékovou rezistencí. V souladu našimi nálezy CBD byl schopen v této studii velmi významně snižovat/normalizovat výkon v pásmech delta. Oproti tomu u kontrolních zvířat nedošlo k významnému ovlivnění spektrálního výkonu po podání CBD (Gu et al., 2019).

V pásmu théta u kontrolní skupiny bylo pozorováno zvýšení výkonu po 2. stimulaci a také po 48 hodinách u 3. stimulace. Při podání CBD 10 mg/kg došlo ke zvýšení výkonu v pásmu théta 1 hodinu po podání (2. stimulace) a následně po 48 h (3. stimulace) zde byl pozorován signifikantní pokles výkonu. Po podání CBD 100 mg/kg nebyla pozorován žádná změna při hodnocení celého 120 s intervalu, ale při analýze prvních 15 s záznamu po skončení stimulace zde byl pozorován nárůst výkonu v případě 2. stimulace a pokles při 3. stimulaci. Obdobně jako u pásma delta, je zvýšený výkon v pásmu théta pozorován u celé řady epileptických pacientů (Adebimpe et al., 2015; Clemens et al., 2000; Clemens, 2004; Douw et al., 2010; Scherer et al., 2020). Bylo prokázáno, že CBD je schopen normalizovat zvýšený výkon v pásmu théta (Gu et al., 2019). Zvýšený výkon v pásmu théta pozitivně koreluje s rychlejším rozvojem epilepsie v průběhu epileptogeneze (Milikovsky et al., 2017).

V pásmu alfa byl pozorován pokles výkonu po podání CBD 10 mg/kg v hodnoceném intervalu 120 s při 3. stimulaci po 48 h. Při hodnocení intervalů 0-15 s po skončení stimulace byl pozorován nárůst v pásmu alfa 1 h po podání CBD. Po podání vyšší dávky CBD 100 mg/kg byl pozorován pokles výkonu v pásmu alfa při 2. stimulaci. U kontrolní skupiny nedošlo k signifikantním změnám v tomto pásmu. Snížený výkon v pásmu alfa byl pozorován u pacientů s idiopatickými generalizovanými záchvaty (Clemens, 2004). Nicméně oproti tomu bylo zvýšení výkonu alfa pozorováno v případě epileptických záchvatů typu grand mal v průběhu probouzení (EGMA)(Clemens et al., 2000). Významné snížení v pásmu alfa bylo také popsáno u pacientů s epilepsií oproti zdravým kontrolám. Nicméně toto snížení v pásmu alfa (zpomalení záznamu) je u pacientů doprovázeno nárůstem výkonu v nižších frekvencích



(Miyachi et al., 1991; Pyrzowski et al., 2015) . V našem případě se ovšem po podání CBD toto snížení výkonu alfa neprojevovalo nárůstem výkonu nižších frekvencích.

V pásmu beta jsme pozorovali u kontrolní skupiny významný nárůst výkonu po 2. a také po 3. stimulaci. Po podání CBD 10 mg/kg byl pozorován signifikantní nárůst výkonu u 2. stimulace a jeho snížení při hodnocení 120 s úseku při 3. stimulaci. Vyšší dávka CBD 100 mg/kg se projevila signifikantním snížením výkonu v pásmu beta po 2. stimulaci. Změny v pásmu beta, respektive pokles výkonu v pásmu beta je popisovaný v průběhu epileptogeneze vyvolané kindlingem (Jalilifar et al., 2016) nebo v případě idiopatických generalizovaných záchvatů (Clemens et al., 2000, 2004). Změny v pásmu beta mohou korelovat s nižším výskytem záchvatů, kdy v případě benigní epilepsie s centrotemporálními hroty (BETCS) dochází k poklesu v pásmu beta v období remise (Song et al., 2019). V souladu s námi pozorovaným nárůstem v pásmu beta po podání nižší dávky CBD je studie zaměřena na vliv CBD na EEG u pacientů s refrakterní epilepsií. Tato studie ukázala, že CBD u pacientů neměnil většinu sledovaných parametrů v EEG. Nicméně byl pozorován nárůst v relativním výkonu v pásmu beta, který byl více výrazný u pacientů reagujících na léčbu CBD (Armstrong et al., 2022).

Pozorovaný nárůst v pásmu gamma byl pozorován jak u kontrolní skupiny, tak i u léčených skupin. V kontrolní skupině došlo k nárůstu výkonu v pásmu gamma pouze v případě 2. stimulace. Oproti tomu v obou dávkách CBD byl pozorován zvýšený výkon v pásmu gamma nejen po 2. ale i po 3. stimulaci. Dle literatury je pozorována souvislost se snížením rychlých frekvencí a zvýšenou predispozicí k epileptické aktivitě (Aydin-Abidin et al., 2011; Darbin et al., 2004; Jinde et al., 2009). Obdobně je pokles v pásmu beta a gamma popisován u potkanů podstupujících kindling (opakovanou podprahovou stimulaci) v porovnání s kontrolními zvířaty (Jalilifar et al., 2016). Výskyt rychlých oscilací v EEG pravděpodobně souvisí s nutností adekvátně silné GABAergní inhibice (Marrosu et al., 2006; Whittington et al., 1995). Zvýšená citlivost k záchvatům byla pozorována u zvířat se sníženým výkonem v gamma pásmu. Toto snížení výkonu bylo pozorováno např. při porovnání EEG spontánně hypertenzních potkanů vs. potkanů kmene Wistar, kdy hypertenzní zvířata vykazovala zvýšenou náchylnost k záchvatům (Tchekalarova et al., 2016), nebo v případě myši kmene BALB, které vykazovaly zvýšenou citlivost na penicilinem indukované záchvaty, ve srovnání s C57 myšmi (Aydin-Abidin et al., 2011). U těchto myši byly pozorovány i další změny výkonu v jednotlivých spektrech asociovanými s vyšší citlivostí k záchvatům, jako je zvýšený výkon v pásmech delta, théta a snížený výkon v pásmu beta (Aydin-Abidin et al., 2011).

## 7. ZÁVĚR

Na základě poznatků získaných během řešení disertační práce lze říci, že naše nálezy mohou sloužit jako vodítko pro volbu účinného způsobu podávání kanabinoidů, souborně popisují rozdílné účinky jednotlivých způsobů podání na kinetiku kanabinoidů a zpřesňují časový rámec sérových a mozkových hladin kanabinoidů u dospělých potkanů i jejich mláďat pro navrhování další *in vivo* experimentů. I přes provedení celé řady behaviorálních testů jsme nepozorovali typické projevy kanabinoidní tetrády po podání THC, nebo syntetických kanabinoidů. I přes výraznou podporu v literatuře o účincích CBD v celé řadě klinických indikací, byl CBD schopen jen velmi slabě normalizovat psychoaktivní účinky THC. Navíc naše výsledky ukázaly, že CBD je sám schopen narušovat sensorimotorické zpracování informací. V souladu s literaturou jsme potvrdili antikonvulzivní účinky CBD, závisující na zvoleném modelu záchvatu. Zajímavým zjištěním bylo, že CBD v dávkách schopných potlačovat záchvaty nenarušuje motorické schopnosti mláďat, ale může narušit jejich schopnost motorického učení. Tento nález by měl být podrobněji prozkoumán. Naše výsledky odrážejí vysokou variabilitu účinků kanabinoidů popisovaných v literatuře a poukazují na nutnost dalšího výzkumu pro lepší pochopení endokanabinoidního systému.

## 8. Seznam obrázků

<i>Obrázek 1 Morfologické srovnání jednotlivých poddruhů konopí, .....</i>	15
<i>Obrázek 2 Rozdělení syntetických kanabinoidů .....</i>	34
<i>Obrázek 3 Inhalační box s vapoizérem Volcano s drátěným sítkem .....</i>	39
<i>Obrázek 4 Ukázka zapojení potkana .....</i>	46
<i>Obrázek 5 Časové schéma experimentu č.4 .....</i>	46
<i>Obrázek 6 Farmakokinetické profily CBD, CBD + THC a THC po sc. podání .....</i>	50
<i>Obrázek 7 Farmakokinetické profily CBD, CBD + THC a THC po inhalačním podání. ....</i>	51
<i>Obrázek 8 Farmakokinetické profily CBD, CBD + THC a THC po perorálním podání,.....</i>	51
<i>Obrázek 9 Farmakokinetický profil <math>\Delta</math>9-THC, JWH-073, JWH-210.....</i>	52
<i>Obrázek 10 Koncentrace CBD v séru a mozkové tkáni u mláďa .....</i>	52
<i>Obrázek 11 Srovnání celkové trajektorie po subkutánním, inhalačním a perorálním podání. ....</i>	54
<i>Obrázek 12 Celková lokomoce (cm) po podání (A) <math>\Delta</math> 9-THC, (B) JWH-073 (C) JWH-210 ....</i>	54
<i>Obrázek 13 Průměrná délka trajektorie (5minutové bloky) po sc., inhal. a po. podání (VEH, THC, CBD, THC+CBD) s charakteristickými trajektoriemi zvířat .....</i>	55
<i>Obrázek 14 Délka trajektorie (5minutové bloky) a charekteristické trajektorie (A) <math>\Delta</math>9-THC (B) JWH-073 (C)JWH-210 .....</i>	56
<i>Obrázek 15 Čas strávený v centru arény (Tcentre) a tigmataxe pro sc., inhal. a po. podání vehikula (VEH), THC, CBD, THC+CBD .....</i>	57
<i>Obrázek 16 Čas strávený ve středu arény. (A) <math>\Delta</math>9-THC, (B) JWH-073) a (C) JWH-210. a(tigmataxe). (D) <math>\Delta</math>9-THC, (E) JWH-073 a (F) JWH-210. ....</i>	57
<i>Obrázek 17 Procentuální změna PPI-ASR srovnání podání vehikula (VEH), THC, CBD a THC+CBD společně pro subkutánní (10 mg/kg) a inhalační podání . ....</i>	58
<i>Obrázek 18 Účinek <math>\Delta</math>9-THC, JWH-073 a JWH-210 na (A) úlekový akustický impuls (ASR) a habituaci.(B) na prepulzní inhibici úlekové reakce (PPI-ASR).....</i>	59
<i>Obrázek 19 Účinky CBD na motorické učení v Bar-holding testu.....</i>	60
<i>Obrázek 20 Účinky CBD ve dvou dávkách (10 a 60 mg/kg) na záchvaty vyvolané PTZ. ....</i>	62
<i>Obrázek 21 Účinky CBD v modelu NMDA .....</i>	63
<i>Obrázek 22 Srovnání počtu detekovaných následných kortikálních výbojů.....</i>	65
<i>Obrázek 23 Srovnání změny trvání následných kortikálních výbojů.....</i>	65
<i>Obrázek 24 Srovnání průměrných hodnot relativního výkonu v pásmu delta.....</i>	68
<i>Obrázek 25 Srovnání průměrných hodnot relativního výkonu v pásmu theta.....</i>	69
<i>Obrázek 26 Srovnání průměrných hodnot relativního výkonu v pásmu alfa .....</i>	71
<i>Obrázek 27 Srovnání průměrných hodnot relativního výkonu v pásmu beta.....</i>	72
<i>Obrázek 28 Srovnání průměrných hodnot relativního výkonu v pásmu gamma .....</i>	73

## Seznam tabulek

<i>Tabulka 1 Hodnocení závažnosti záchvatů vyvolaných PTZ dle modifikované Racinovi škály .....</i>	44
<i>Tabulka 2 ASR, Habituaace, PPI pro subkutánní, inhalační a perorální podání kanabinoidů (Hložek et al., 2017) .....</i>	58

## 9. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Abelson, R. P., & Prentice, D. A. (1997). Contrast tests of interaction hypothesis. *Psychological Methods*, 2(4), 315–328. <https://doi.org/10.1037/1082-989X.2.4.315>
- Adams, R., Pease, D. C., & Clark, J. H. (1940). Isolation of Cannabinol, Cannabidiol and Quebrachitol from Red Oil of Minnesota Wild Hemp. *Journal of the American Chemical Society*, 62(8), 2194–2196. <https://doi.org/10.1021/ja01865a080>
- Adebimpe, A., Aarabi, A., Bourel-Ponchel, E., Mahmoudzadeh, M., & Wallois, F. (2015). EEG resting state analysis of cortical sources in patients with benign epilepsy with centrotemporal spikes. *NeuroImage: Clinical*, 9, 275–282. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.nicl.2015.08.014>
- Alexander, S. P. H. (2016). Therapeutic potential of cannabis-related drugs. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 64, 157–166. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.07.001>
- Alger, B. E. (2002). Retrograde signaling in the regulation of synaptic transmission: focus on endocannabinoids. *Progress in Neurobiology*, 68(4), 247–286. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(02\)00080-1](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(02)00080-1)
- Almeida, V., Levin, R., Peres, F. F., Niigaki, S. T., Calzavara, M. B., Zuardi, A. W., Hallak, J. E., Crippa, J. A., & Abílio, V. C. (2013). Cannabidiol exhibits anxiolytic but not antipsychotic property evaluated in the social interaction test. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 41, 30–35. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.10.024>
- Altman, J., & Sudarshan, K. (1975). Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. *Animal Behaviour*, 23(PART 4), 896–920. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(75\)90114-1](https://doi.org/10.1016/0003-3472(75)90114-1)
- An, D., Peigneur, S., Hendrickx, L. A., & Tytgat, J. (2020). Targeting cannabinoid receptors: Current status and prospects of natural products. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(14), 1–33. <https://doi.org/10.3390/ijms21145064>
- Andre, C. M., Hausman, J. F., & Guerriero, G. (2016). Cannabis sativa: The plant of the thousand and one molecules. *Frontiers in Plant Science*, 7(FEB2016), 1–17.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00019>

Appendino, G. (2020). The early history of cannabinoid research. *Rendiconti Lincei*, 31(4), 919–929. <https://doi.org/10.1007/s12210-020-00956-0>

Armstrong, C., Zavez, A., Mulcahey, P. J., Sogawa, Y., Gotoff, J. M., Hagopian, S., Minnick, J., & Marsh, E. D. (2022). Quantitative electroencephalographic analysis as a potential biomarker of response to treatment with cannabidiol. *Epilepsy Research*, 185, 106996. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2022.106996>

Arndt, D. L., & de Wit, H. (2017). Cannabidiol Does Not Dampen Responses to Emotional Stimuli in Healthy Adults. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 2(1), 105–113. <https://doi.org/10.1089/can.2017.0014>

Ashton, C. H. (2001). Pharmacology and effects of cannabis: a brief review. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 178, 101–106. <https://doi.org/10.1192/bjp.178.2.101>

Avanzini, G., de Curtis, M., Marescaux, C., Panzica, F., Spreafico, R., & Vergnes, M. (1992). Role of the thalamic reticular nucleus in the generation of rhythmic thalamo-cortical activities subserving spike and waves. *Journal of Neural Transmission. Supplementum*, 35, 85–95. [https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9206-1\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-9206-1_6)

Aydin-Abidin, S., Yildirim, M., Abidin, İ., Akca, M., & Cansu, A. (2011). Comparison of focally induced epileptiform activities in C57BL/6 and BALB/c mice by using in vivo EEG recording. *Neuroscience Letters*, 504(2), 165–169. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.09.030>

Babalonis, S., & Walsh, S. L. (2020). Therapeutic potential of opioid/cannabinoid combinations in humans: Review of the evidence. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 36, 206–216. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2020.03.002>

Ballotta, D., Bergeron, H.i., & Hughes B. (2008), ‘Cannabis control in Europe’, in: A cannabis reader: global issues and local experiences, Monograph series 8, Volume 1, European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, Lisbon

- Barcaccia, G., Palumbo, F., Scariolo, F., Vannozzi, A., Borin, M., & Bona, S. (2020). Potentials and Challenges of Genomics for Breeding Cannabis Cultivars. *Frontiers in Plant Science, 11*, 573299. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.573299>
- Beers, J. L., Fu, D., & Jackson, K. D. (2021). Cytochrome P450-Catalyzed Metabolism of Cannabidiol to the Active Metabolite 7-Hydroxy-Cannabidiol. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals, 49*(10), 882–891. <https://doi.org/10.1124/dmd.120.000350>
- Behonick, G., Shanks, K. G., Firchau, D. J., Mathur, G., Lynch, C. F., Nashelsky, M., Jaskierny, D. J., & Meroueh, C. (2014). Four Postmortem Case Reports with Quantitative Detection of the Synthetic Cannabinoid, 5F-PB-22. *Journal of Analytical Toxicology, 38*(8), 559–562. <https://doi.org/10.1093/jat/bku048>
- Bergamaschi, M. M., Queiroz, R. H. C., Chagas, M. H. N., de Oliveira, D. C. G., De Martinis, B. S., Kapczinski, F., Quevedo, J., Roesler, R., Schröder, N., Nardi, A. E., Martín-Santos, R., Hallak, J. E. C., Zuardi, A. W., & Crippa, J. A. S. (2011). Cannabidiol reduces the anxiety induced by simulated public speaking in treatment-naïve social phobia patients. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology, 36*(6), 1219–1226. <https://doi.org/10.1038/npp.2011.6>
- Berrendero, F., & Maldonado, R. (2002). Involvement of the opioid system in the anxiolytic-like effects induced by Delta(9)-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology, 163*(1), 111–117. <https://doi.org/10.1007/s00213-002-1144-9>
- Bhattacharyya, S., Morrison, P. D., Fusar-Poli, P., Martin-Santos, R., Borgwardt, S., Winton-Brown, T., Nosarti, C., O'Carroll, C. M., Seal, M., Allen, P., Mehta, M. A., Stone, J. M., Tunstall, N., Giampietro, V., Kapur, S., Murray, R. M., Zuardi, A. W., Crippa, J. A., Atakan, Z., & McGuire, P. K. (2010). Opposite effects of  $\delta$ -9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on human brain function and psychopathology. *Neuropsychopharmacology, 35*(3), 764–774. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.184>
- Bilbao, A., & Spanagel, R. (2022). Medical cannabinoids: a pharmacology-based systematic review and meta-analysis for all relevant medical indications. *BMC Medicine, 20*(1), 259. <https://doi.org/10.1186/s12916-022-02459-1>

- Bittigau, P., Sifringer, M., Genz, K., Reith, E., Pospischil, D., Govindarajalu, S., Dzierko, M., Pesditschek, S., Mai, I., Dikranian, K., Olney, J. W., & Ikonomidou, C. (2002). Antiepileptic drugs and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*(23), 15089–15094. <https://doi.org/10.1073/pnas.222550499>
- Boggan, W. O., Steele, R. A., & Freedman, D. X. (1973). 9-Tetrahydrocannabinol effect on audiogenic seizure susceptibility. *Psychopharmacologia*, *29*(2), 101–106. <https://doi.org/10.1007/BF00422641>
- Boggs, D. L., Nguyen, J. D., Morgenson, D., Taffe, M. A., & Ranganathan, M. (2018). Clinical and Preclinical Evidence for Functional Interactions of Cannabidiol and  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol. *Neuropsychopharmacology*, *43*(1), 142–154. <https://doi.org/10.1038/npp.2017.209>
- Bornheim, L. M., Kim, K. Y., Li, J., Perotti, B. Y., & Benet, L. Z. (1995). Effect of cannabidiol pretreatment on the kinetics of tetrahydrocannabinol metabolites in mouse brain. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, *23*(8), 825–831.
- Bouaboula, M., Hilairet, S., Marchand, J., Fajas, L., Le Fur, G., & Casellas, P. (2005). Anandamide induced PPAR $\gamma$  transcriptional activation and 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *European Journal of Pharmacology*, *517*(3), 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.05.032>
- Boucher, A. A., Arnold, J. C., Duffy, L., Schofield, P. R., Micheau, J., & Karl, T. (2007). Heterozygous neuregulin 1 mice are more sensitive to the behavioural effects of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology*, *192*(3), 325–336. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-0721-3>
- Bowen, L. L., & McRae-Clark, A. L. (2018). Therapeutic Benefit of Smoked Cannabis in Randomized Placebo-Controlled Studies. *Pharmacotherapy*, *38*(1), 80–85. <https://doi.org/10.1002/phar.2064>
- Braff, D., Stone, C., Callaway, E., Geyer, M., Glick, I., & Bali, L. (1978). Prestimulus effects on human startle reflex in normals and schizophrenics. *Psychophysiology*, *15*(4), 339–343. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.1978.tb01390.x>

- Brents, L. K., Gallus-Zawada, A., Radominska-Pandya, A., Vasiljevik, T., Prisinzano, T. E., Fantegrossi, W. E., Moran, J. H., & Prather, P. L. (2012). Monohydroxylated metabolites of the K2 synthetic cannabinoid JWH-073 retain intermediate to high cannabinoid 1 receptor (CB1R) affinity and exhibit neutral antagonist to partial agonist activity. *Biochemical Pharmacology*, *83*(7), 952–961. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.01.004>
- Britch, S. C., Wiley, J. L., Yu, Z., Clowers, B. H., & Craft, R. M. (2017). Cannabidiol- $\Delta$ (9)-tetrahydrocannabinol interactions on acute pain and locomotor activity. *Drug and Alcohol Dependence*, *175*, 187–197. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2017.01.046>
- Buser, G. L., Gerona, R. R., Horowitz, B. Z., Vian, K. P., Troxell, M. L., Hendrickson, R. G., Houghton, D. C., Rozansky, D., Su, S. W., & Leman, R. F. (2014). Acute kidney injury associated with smoking synthetic cannabinoid. *Clinical Toxicology*, *52*(7), 664–673. <https://doi.org/10.3109/15563650.2014.932365>
- Cahn, R. S. (1933). 326. Cannabis indica resin. Part IV. The synthesis of some 2 : 2-dimethyldibenzopyrans, and confirmation of the structure of cannabinol. *Journal of the Chemical Society (Resumed)*, *0*, 1400–1405. <https://doi.org/10.1039/JR9330001400>
- Campos, A. C., & Guimarães, F. S. (2008). Involvement of 5HT1A receptors in the anxiolytic-like effects of cannabidiol injected into the dorsolateral periaqueductal gray of rats. *Psychopharmacology*, *199*(2), 223–230. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1168-x>
- Campos, A. C., & Guimarães, F. S. (2009). Evidence for a potential role for TRPV1 receptors in the dorsolateral periaqueductal gray in the attenuation of the anxiolytic effects of cannabinoids. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *33*(8), 1517–1521. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.08.017>
- Campos, A. C., Moreira, F. A., Gomes, F. V., Del Bel, E. A., & Guimarães, F. S. (2012). Multiple mechanisms involved in the large-spectrum therapeutic potential of cannabidiol in psychiatric disorders. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *367*(1607), 3364–3378. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0389>
- Carvalho, R. K., Rocha, T. L., Fernandes, F. H., Gonçalves, B. B., Souza, M. R., Araújo, A. A., Barbosa, C. C., Silva, D. M., Campos, H. M., Tomazett, M. V., Ghedini, P. C.,



- Guimarães, F. S., Andersen, M. L., Santos, F. C. A., & Mazaro-Costa, R. (2022). Decreasing sperm quality in mice subjected to chronic cannabidiol exposure: New insights of cannabidiol-mediated male reproductive toxicity. *Chemico-Biological Interactions*, 351, 109743. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109743>
- Carvalho, R. K., Santos, M. L., Souza, M. R., Rocha, T. L., Guimarães, F. S., Anselmo-Franci, J. A., & Mazaro-Costa, R. (2018). Chronic exposure to cannabidiol induces reproductive toxicity in male Swiss mice. *Journal of Applied Toxicology*, 38(9), 1215–1223. <https://doi.org/10.1002/jat.3631>
- Casarotto, P. C., Gomes, F. V., Resstel, L. B. M., & Guimarães, F. S. (2010). Cannabidiol inhibitory effect on marble-burying behaviour: involvement of CB1 receptors. *Behavioural Pharmacology*, 21(4), 353–358. <https://doi.org/10.1097/fbp.0b013e32833b33c5>
- Castaneto, M. S., Gorelick, D. A., Desrosiers, N. A., Hartman, R. L., Pirard, S., & Huestis, M. A. (2014). Synthetic cannabinoids: epidemiology, pharmacodynamics, and clinical implications. *Drug and Alcohol Dependence*, 144, 12–41. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2014.08.005>
- Chiu, P., Olsen, D. M., Borys, H. K., Karler, R., & Turkanis, S. A. (1979). The Influence of Cannabidiol and  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol on Cobalt Epilepsy in Rats. *Epilepsia*, 20(4), 365–375. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1979.tb04816.x>
- Clemens, B. (2004). Pathological theta oscillations in idiopathic generalised epilepsy. *Clinical Neurophysiology : Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 115(6), 1436–1441. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2004.01.018>
- Clemens, B., Ménes, A., & Nagy, Z. (2004). Objective assessment of neurotoxicity while shifting from carbamazepine to oxcarbazepine. *Acta Neurologica Scandinavica*, 109(5), 324–329. <https://doi.org/10.1046/j.1600-0404.2003.00234.x>
- Clemens, B., Szigeti, G., & Barta, Z. (2000). EEG frequency profiles of idiopathic generalised epilepsy syndromes. *Epilepsy Research*, 42(2–3), 105–115. [https://doi.org/10.1016/s0920-1211\(00\)00167-4](https://doi.org/10.1016/s0920-1211(00)00167-4)
- Colasanti, B. K., Lindamood, C. 3rd, & Craig, C. R. (1982). Effects of marihuana cannabinoids on seizure activity in cobalt-epileptic rats. *Pharmacology, Biochemistry,*

- and Behavior*, 16(4), 573–578. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(82\)90418-x](https://doi.org/10.1016/0091-3057(82)90418-x)
- Collins, J. (2020). A Brief History of Cannabis and the Drug Conventions. *AJIL Unbound*, 114, 279–284. [https://doi.org/DOI: 10.1017/aju.2020.55](https://doi.org/DOI:10.1017/aju.2020.55)
- Consroe, P. F., Benedito, M. A. C., Leite, J. R., Carlini, E. A., & Mechoulam, R. (1982). Effects of cannabidiol on behavioral seizures caused by convulsant drugs or current in mice. *European Journal of Pharmacology*, 83(3–4), 293–298. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(82\)90264-3](https://doi.org/10.1016/0014-2999(82)90264-3)
- Consroe, P. F., & Wolkin, A. L. (1977a). Cannabidiol--antiepileptic drug comparisons and interactions in experimentally induced seizures in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 201(1), 26–32.
- Consroe, P. F., & Wolkin, A. L. (1977b). Anticonvulsant interaction of cannabidiol and ethosuximide in rats. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 29(8), 500–501. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1977.tb11378.x>
- Corroon, J., & Kight, R. (2018). Regulatory Status of Cannabidiol in the United States: A Perspective. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 3(1), 190–194. <https://doi.org/10.1089/can.2018.0030>
- Crippa, J. A., Derenusson, G. N., Ferrari, T. B., Wichert-Ana, L., Duran, F. L. S., Martín-Santos, R., Simões, M. V., Bhattacharyya, S., Fusar-Poli, P., Atakan, Z., Santos Filho, A., Freitas-Ferrari, M. C., McGuire, P. K., Zuardi, A. W., Busatto, G. F., & Hallak, J. E. C. (2011). Neural basis of anxiolytic effects of cannabidiol (CBD) in generalized social anxiety disorder: a preliminary report. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 25(1), 121–130. <https://doi.org/10.1177/0269881110379283>
- Crippa, J. A., Zuardi, A. W., Martín-Santos, R., Bhattacharyya, S., Atakan, Z., McGuire, P., & Fusar-Poli, P. (2009). Cannabis and anxiety: a critical review of the evidence. *Human Psychopharmacology*, 24(7), 515–523. <https://doi.org/10.1002/hup.1048>
- Crocq, M. A. (2020). History of cannabis and the endocannabinoid system. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 22(3), 223–228. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2020.22.3/MCROCQ>
- Cryan, J. F., & Sweeney, F. F. (2011). The age of anxiety: role of animal models of anxiolytic

- action in drug discovery. *British Journal of Pharmacology*, 164(4), 1129–1161.  
<https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01362.x>
- D'Souza, D. C., Abi-Saab, W. M., Madonick, S., Forselius-Bielen, K., Doersch, A., Braley, G., Gueorguieva, R., Cooper, T. B., & Krystal, J. H. (2005). Delta-9-tetrahydrocannabinol effects in schizophrenia: implications for cognition, psychosis, and addiction. *Biological Psychiatry*, 57(6), 594–608.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.12.006>
- Dalton, G., Bass, C., Van Horn, C., & Howlett, A. (2012). Signal Transduction via Cannabinoid Receptors. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 8(6), 422–431.  
<https://doi.org/10.2174/187152709789824615>
- Darbin, O., Naritoku, D., & Patrylo, P. R. (2004). Aging alters electroencephalographic and clinical manifestations of kainate-induced status epilepticus. *Epilepsia*, 45(10), 1219–1227. <https://doi.org/10.1111/j.0013-9580.2004.66103.x>
- Dean, B., Sundram, S., Bradbury, R., Scarr, E., & Copolov, D. (2001). Studies on [3H]CP-55940 binding in the human central nervous system: regional specific changes in density of cannabinoid-1 receptors associated with schizophrenia and cannabis use. *Neuroscience*, 103(1), 9–15. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(00\)00552-2](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(00)00552-2)
- Deiana, S., Watanabe, A., Yamasaki, Y., Amada, N., Arthur, M., Fleming, S., Woodcock, H., Dorward, P., Pigliacampo, B., Close, S., Platt, B., & Riedel, G. (2012). Plasma and brain pharmacokinetic profile of cannabidiol (CBD), cannabidivarin (CBDV), Δ 9-tetrahydrocannabivarin (THCV) and cannabigerol (CBG) in rats and mice following oral and intraperitoneal administration and CBD action on obsessive-compulsive behav. *Psychopharmacology*, 219(3), 859–873. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2415-0>
- Devane, W. A., Dysarz, F. A. 3rd, Johnson, M. R., Melvin, L. S., & Howlett, A. C. (1988). Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Molecular Pharmacology*, 34(5), 605–613.
- Devane, W. A., Hanus, L., Breuer, A., Pertwee, R. G., Stevenson, L. A., Griffin, G., Gibson, D., Mandelbaum, A., Etinger, A., & Mechoulam, R. (1992). Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science (New York, N.Y.)*, 258(5090), 1946–1949. <https://doi.org/10.1126/science.1470919>

- Devinsky, O., Cross, J. H., Laux, L., Marsh, E., Miller, I., Nabbout, R., Scheffer, I. E., Thiele, E. A., & Wright, S. (2017). Trial of Cannabidiol for Drug-Resistant Seizures in the Dravet Syndrome. *New England Journal of Medicine*, *376*(21), 2011–2020.  
<https://doi.org/10.1056/nejmoa1611618>
- Devinsky, O., Vezzani, A., O'Brien, T. J., Jette, N., Scheffer, I. E., De Curtis, M., & Perucca, P. (2018). Epilepsy. *Nature Reviews Disease Primers*, *4*(May).  
<https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.24>
- Di Marzo, V., & Piscitelli, F. (2015). The Endocannabinoid System and its Modulation by Phytocannabinoids. *Neurotherapeutics*, *12*(4), 692–698. <https://doi.org/10.1007/s13311-015-0374-6>
- Do Monte, F. H., Souza, R. R., Bitencourt, R. M., Kroon, J. A., & Takahashi, R. N. (2013). Infusion of cannabidiol into infralimbic cortex facilitates fear extinction via CB1 receptors. *Behavioural Brain Research*, *250*, 23–27.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.04.045>
- Dogan, B., Dogru, H., Gungor, L., & Balci, K. (2016). Stroke due to Bonzai use: two patients. *World Journal of Emergency Medicine*, *7*(4), 310–312.  
<https://doi.org/10.5847/wjem.j.1920-8642.2016.04.014>
- Douw, L., van Dellen, E., de Groot, M., Heimans, J. J., Klein, M., Stam, C. J., & Reijneveld, J. C. (2010). Epilepsy is related to theta band brain connectivity and network topology in brain tumor patients. *BMC Neuroscience*, *11*, 103. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-11-103>
- Eggan, S. M., Hashimoto, T., & Lewis, D. A. (2008). Reduced cortical cannabinoid 1 receptor messenger RNA and protein expression in schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*, *65*(7), 772–784. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.65.7.772>
- El-Alfy, A. T., Ivey, K., Robinson, K., Ahmed, S., Radwan, M., Slade, D., Khan, I., ElSohly, M., & Ross, S. (2010). Antidepressant-like effect of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and other cannabinoids isolated from *Cannabis sativa* L. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *95*(4), 434–442. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.03.004>
- ElBatsh, M. M., Assareh, N., Marsden, C. A., & Kendall, D. A. (2012). Anxiogenic-like effects of chronic cannabidiol administration in rats. *Psychopharmacology*, *221*(2), 239–

247. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2566-z>

Elmes, M. W., Kaczocha, M., Berger, W. T., Leung, K. N., Ralph, B. P., Wang, L., Sweeney, J. M., Miyauchi, J. T., Tsirka, S. E., Ojima, I., & Deutsch, D. G. (2015). Fatty acid-binding proteins (FABPs) are intracellular carriers for  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD). *Journal of Biological Chemistry*, *290*(14), 8711–8721. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.618447>

Englund, A., Atakan, Z., Kralj, A., Tunstall, N., Murray, R., & Morrison, P. (2016). The effect of five day dosing with THCv on THC-induced cognitive, psychological and physiological effects in healthy male human volunteers: A placebo-controlled, double-blind, crossover pilot trial. *Journal of Psychopharmacology*, *30*(2), 140–151. <https://doi.org/10.1177/0269881115615104>

Englund, A., Morrison, P. D., Nottage, J., Hague, D., Kane, F., Bonaccorso, S., Stone, J. M., Reichenberg, A., Brenneisen, R., Holt, D., Feilding, A., Walker, L., Murray, R. M., & Kapur, S. (2013). Cannabidiol inhibits THC-elicited paranoid symptoms and hippocampal-dependent memory impairment. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, *27*(1), 19–27. <https://doi.org/10.1177/0269881112460109>

Fattore, L. (2016). Synthetic Cannabinoids; Further Evidence Supporting the Relationship Between Cannabinoids and Psychosis. *Biological Psychiatry*, *79*(7), 539–548. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.02.001>

Fezza, F., Bari, M., Florio, R., Talamonti, E., Feole, M., & Maccarrone, M. (2014). Endocannabinoids, related compounds and their metabolic routes. *Molecules*, *19*(11), 17078–17106. <https://doi.org/10.3390/molecules191117078>

Fogaça, M. V, Reis, F. M. C. V, Campos, A. C., & Guimarães, F. S. (2014). Effects of intra-prelimbic prefrontal cortex injection of cannabidiol on anxiety-like behavior: involvement of 5HT1A receptors and previous stressful experience. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, *24*(3), 410–419. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.10.012>

Fraguas-Sánchez, A. I., & Torres-Suárez, A. I. (2018). Medical Use of Cannabinoids. *Drugs*, *78*(16), 1665–1703. <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0996-1>

- Freeman, M. J., Rose, D. Z., Myers, M. A., Gooch, C. L., Bozeman, A. C., & Burgin, W. S. (2013). Ischemic stroke after use of the synthetic marijuana “spice.” *Neurology*, *81*(24), 2090 LP – 2093. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000437297.05570.a2>
- Freund, T. F., Katona, I., & Piomelli, D. (2003). Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiological Reviews*, *83*(3), 1017–1066. <https://doi.org/10.1152/physrev.00004.2003>
- Friedman, L. K., & Wongvavit, J. P. (2018). Anticonvulsant and neuroprotective effects of cannabidiol during the juvenile period. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, *77*(10), 904–919. <https://doi.org/10.1093/jnen/nly069>
- Fusar-Poli, P., Crippa, J. A., Bhattacharyya, S., Borgwardt, S. J., Allen, P., Martin-Santos, R., Seal, M., Surguladze, S. A., O’Carroll, C., Atakan, Z., Zuardi, A. W., & McGuire, P. K. (2009). Distinct effects of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and cannabidiol on neural activation during emotional processing. *Archives of General Psychiatry*, *66*(1), 95–105. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2008.519>
- Gaoni, Y., & Mechoulam, R. (1964). Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. *Journal of the American Chemical Society*, *86*(8), 1646–1647. <https://doi.org/10.1021/ja01062a046>
- Gaston, T. E., Bebin, E. M., Cutter, G. R., Liu, Y., & Szaflarski, J. P. (2017). Interactions between cannabidiol and commonly used antiepileptic drugs. *Epilepsia*, *58*(9), 1586–1592. <https://doi.org/10.1111/epi.13852>
- Gatch, M. B., & Forster, M. J. (2016).  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol-like effects of novel synthetic cannabinoids in mice and rats. *Psychopharmacology*, *233*(10), 1901–1910. <https://doi.org/10.1007/s00213-016-4237-6>
- Gerdeman, G. L., Ronesi, J., & Lovinger, D. M. (2002). Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. *Nature Neuroscience*, *5*(5), 446–451. <https://doi.org/10.1038/nn832>
- Gilmartin, C. G. S., Dowd, Z., Parker, A. P. J., & Harijan, P. (2021). Interaction of cannabidiol with other antiseizure medications: A narrative review. *Seizure*, *86*, 189–196. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.seizure.2020.09.010>

- Giuffrida, A., Leweke, F. M., Gerth, C. W., Schreiber, D., Koethe, D., Faulhaber, J., Klosterkötter, J., & Piomelli, D. (2004). Cerebrospinal anandamide levels are elevated in acute schizophrenia and are inversely correlated with psychotic symptoms. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 29(11), 2108–2114. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300558>
- Gloss, D. (2015). An Overview of Products and Bias in Research. *Neurotherapeutics*, 12(4), 731–734. <https://doi.org/10.1007/s13311-015-0370-x>
- Goerl, B., Watkins, S., Metcalf, C., Smith, M., & Beenhakker, M. (2021). Cannabidiolic acid exhibits entourage-like improvements of anticonvulsant activity in an acute rat model of seizures. *Epilepsy Research*, 169, 106525. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2020.106525>
- Gomes, F. V., Del Bel, E. A., & Guimarães, F. S. (2013). Cannabidiol attenuates catalepsy induced by distinct pharmacological mechanisms via 5-HT1A receptor activation in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 46, 43–47. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.06.005>
- Gomes, F. V., Issy, A. C., Ferreira, F. R., Viveros, M.-P., Del Bel, E. A., & Guimarães, F. S. (2014). Cannabidiol attenuates sensorimotor gating disruption and molecular changes induced by chronic antagonism of NMDA receptors in mice. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 18(5). <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyu041>
- Gomes, F. V., Llorente, R., Del Bel, E. A., Viveros, M.-P., López-Gallardo, M., & Guimarães, F. S. (2015). Decreased glial reactivity could be involved in the antipsychotic-like effect of cannabidiol. *Schizophrenia Research*, 164(1–3), 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2015.01.015>
- Gray, R. A., Stott, C. G., Jones, N. A., Di Marzo, V., & Whalley, B. J. (2020). Anticonvulsive Properties of Cannabidiol in a Model of Generalized Seizure Are Transient Receptor Potential Vanilloid 1 Dependent. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 5(2), 145–149. <https://doi.org/10.1089/can.2019.0028>
- Grayson, L., Ampah, S., Hernando, K., Kankirawatana, P., Gaston, T., Cutter, G., Szaflarski, J. P., & Martina Bebin, E. (2021). Longitudinal impact of cannabidiol on EEG measures in subjects with treatment-resistant epilepsy. *Epilepsy and Behavior*, 122, 108190.

<https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2021.108190>

- Gu, B., Zhu, M., Glass, M. R., Rougié, M., Nikolova, V. D., Moy, S. S., Carney, P. R., & Philpot, B. D. (2019). Cannabidiol attenuates seizures and EEG abnormalities in Angelman syndrome model mice. *The Journal of Clinical Investigation*, *129*(12), 5462–5467. <https://doi.org/10.1172/JCI130419>
- Guimarães, F. S., de Aguiar, J. C., Mechoulam, R., & Breuer, A. (1994). Anxiolytic effect of cannabidiol derivatives in the elevated plus-maze. *General Pharmacology*, *25*(1), 161–164. [https://doi.org/10.1016/0306-3623\(94\)90027-2](https://doi.org/10.1016/0306-3623(94)90027-2)
- Gururajan, A., Taylor, D. A., & Malone, D. T. (2011). Effect of cannabidiol in a MK-801-rodent model of aspects of schizophrenia. *Behavioural Brain Research*, *222*(2), 299–308. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.03.053>
- Gururajan, A., Taylor, D. A., & Malone, D. T. (2012). Cannabidiol and clozapine reverse MK-801-induced deficits in social interaction and hyperactivity in Sprague-Dawley rats. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, *26*(10), 1317–1332. <https://doi.org/10.1177/0269881112441865>
- Guy, G. W., & Robson, P. J. (2004). A Phase I, Open Label, Four-Way Crossover Study to Compare the Pharmacokinetic Profiles of a Single Dose of 20 mg of a Cannabis Based Medicine Extract (CBME) Administered on 3 Different Areas of the Buccal Mucosa and to Investigate the Pharmacokinetics of. *Journal of Cannabis Therapeutics*, *3*(4), 79–120. [https://doi.org/10.1300/J175v03n04\\_01](https://doi.org/10.1300/J175v03n04_01)
- Hallak, J. E. C., Dursun, S. M., Bosi, D. C., de Macedo, L. R. H., Machado-de-Sousa, J. P., Abrão, J., Crippa, J. A. S., McGuire, P., Krystal, J. H., Baker, G. B., & Zuardi, A. W. (2011). The interplay of cannabinoid and NMDA glutamate receptor systems in humans: preliminary evidence of interactive effects of cannabidiol and ketamine in healthy human subjects. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *35*(1), 198–202. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.11.002>
- Hallak, J. E. C., Machado-de-Sousa, J. P., Crippa, J. A. S., Sanches, R. F., Trzesniak, C., Chaves, C., Bernardo, S. A., Regalo, S. C., & Zuardi, A. W. (2010). Performance of schizophrenic patients in the Stroop Color Word Test and electrodermal responsiveness after acute administration of cannabidiol (CBD). *Revista Brasileira de Psiquiatria (Sao*



- Paulo, Brazil : 1999*), 32(1), 56–61. <https://doi.org/10.1590/s1516-44462010000100011>
- Hand, A., Blake, A., Kerrigan, P., Samuel, P., & Friedberg, J. (2017). History of medical cannabis. *Cannabis: Medical Aspects, December*, 17–26.
- Hanus, L., Gopher, A., Almog, S., & Mechoulam, R. (1993). Two new unsaturated fatty acid ethanolamides in brain that bind to the cannabinoid receptor. *Journal of Medicinal Chemistry*, 36(20), 3032–3034. <https://doi.org/10.1021/jm00072a026>
- Hanuš, L. O., Meyer, S. M., Muñoz, E., Tagliatela-Scafati, O., & Appendino, G. (2016). Phytocannabinoids: A unified critical inventory. In *Natural Product Reports* (Vol. 33, Issue 12). <https://doi.org/10.1039/c6np00074f>
- Hao, Y., Ge, H., Sun, M., & Gao, Y. (2019). Selecting an Appropriate Animal Model of Depression. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(19). <https://doi.org/10.3390/ijms20194827>
- Herkenham, M., Lynn, A. B., Little, M. D., Johnson, M. R., Melvin, L. S., de Costa, B. R., & Rice, K. C. (1990). Cannabinoid receptor localization in brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(5), 1932–1936. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.5.1932>
- Hermanns-Clausen, M., Kithinji, J., Spehl, M., Angerer, V., Franz, F., Eyer, F., & Auwärter, V. (2016). Adverse effects after the use of JWH-210 – a case series from the EU Spice II plus project. *Drug Testing and Analysis*, 8(10), 1030–1038. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/dta.1936>
- Hložek, T., Uttl, L., Kadeřábek, L., Balíková, M., Lhotková, E., Horsley, R. R., Nováková, P., Šichová, K., Štefková, K., Tylš, F., Kuchař, M., & Páleníček, T. (2017). Pharmacokinetic and behavioural profile of THC, CBD, and THC+CBD combination after pulmonary, oral, and subcutaneous administration in rats and confirmation of conversion in vivo of CBD to THC. *European Neuropsychopharmacology*, 27(12), 1223–1237. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2017.10.037>
- Howlett, A. C., Barth, F., Bonner, T. I., Cabral, G., Casellas, P., Devane, W. A., Felder, C. C., Herkenham, M., Mackie, K., Martin, B. R., Mechoulam, R., & Pertwee, R. G. (2002). International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of Cannabinoid Receptors. *Pharmacological Reviews*, 54(2), 161 LP – 202. <https://doi.org/10.1124/pr.54.2.161>

- Huestis, M. A. (2007). Human cannabinoid pharmacokinetics. *Chemistry and Biodiversity*, 4(8), 1770–1804. <https://doi.org/10.1002/cbdv.200790152>
- Huestis, M. A., Henningfield, J. E., & Cone, E. J. (1992). Blood cannabinoids. i. absorption of the and formation of 11-oh-the and thcooh during and after smoking marijuana. *Journal of Analytical Toxicology*, 16(5), 276–282. <https://doi.org/10.1093/jat/16.5.276>
- Huestis, M. A., Solimini, R., Pichini, S., Pacifici, R., Carlier, J., & Busardò, F. P. (2019). Cannabidiol Adverse Effects and Toxicity. *Current Neuropharmacology*, 17(10), 974–989. <https://doi.org/10.2174/1570159X17666190603171901>
- Huffman, J. W., Zengin, G., Wu, M.-J., Lu, J., Hynd, G., Bushell, K., Thompson, A. L. S., Bushell, S., Tartal, C., Hurst, D. P., Reggio, P. H., Selley, D. E., Cassidy, M. P., Wiley, J. L., & Martin, B. R. (2005). Structure–activity relationships for 1-alkyl-3-(1-naphthoyl)indoles at the cannabinoid CB1 and CB2 receptors: steric and electronic effects of naphthoyl substituents. New highly selective CB2 receptor agonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 13(1), 89–112. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.09.050>
- Huizenga, M. N., Sepulveda-Rodriguez, A., & Forcelli, P. A. (2019). Preclinical safety and efficacy of cannabidivarin for early life seizures. *Neuropharmacology*, 148, 189–198. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.01.002>
- Ikonomidou, C., & Turski, L. (2010). Antiepileptic drugs and brain development. *Epilepsy Research*, 88(1), 11–22. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2009.09.019>
- Izquierdo, I., & Tannhauser, M. (1973). Letter: The effect of cannabidiol on maximal electroshock seizures in rats. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 25(11), 916–917. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1973.tb09976.x>
- Izzo, A. A., Borrelli, F., Capasso, R., Di Marzo, V., & Mechoulam, R. (2009). Non-psychoactive plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends in Pharmacological Sciences*, 30(10), 515–527. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2009.07.006>
- Jalilifar, M., Yadollahpour, A., Moazedi, A. A., & Ghotbeddin, Z. (2016). Classifying amygdala kindling stages using quantitative assessments of extracellular recording of EEG in rats. *Brain Research Bulletin*, 127, 148–155.

<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.09.012>

- Jänicke, B., Schulze, G., & Coper, H. (1983). Motor performance achievements in rats of different ages. *Experimental Gerontology*, *18*(5), 393–407. [https://doi.org/10.1016/0531-5565\(83\)90018-9](https://doi.org/10.1016/0531-5565(83)90018-9)
- Jinde, S., Belforte, J. E., Yamamoto, J., Wilson, M. A., Tonegawa, S., & Nakazawa, K. (2009). Lack of kainic acid-induced gamma oscillations predicts subsequent CA1 excitotoxic cell death. *The European Journal of Neuroscience*, *30*(6), 1036–1055. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06896.x>
- Jones, N. A., Glyn, S. E., Akiyama, S., Hill, T. D. M., Hill, A. J., Weston, S. E., Burnett, M. D. A., Yamasaki, Y., Stephens, G. J., Whalley, B. J., & Williams, C. M. (2012). Cannabidiol exerts anti-convulsant effects in animal models of temporal lobe and partial seizures. *Seizure*, *21*(5), 344–352. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2012.03.001>
- Jones, N. A., Hill, A. J., Smith, I., Bevan, S. A., Williams, C. M., Whalley, B. J., & Stephens, G. J. (2010). Cannabidiol Displays Antiepileptiform and Antiseizure Properties In Vitro and In Vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *332*(2), 569 LP – 577. <https://doi.org/10.1124/jpet.109.159145>
- Kábová, R., Liptáková, S., Slamberová, R., Pometlová, M., & Velísek, L. (1999). Age-specific N-methyl-D-aspartate-induced seizures: perspectives for the West syndrome model. *Epilepsia*, *40*(10), 1357–1369. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1999.tb02006.x>
- Kaczocha, M., Glaser, S. T., & Deutsch, D. G. (2009). Identification of intracellular carriers for the endocannabinoid anandamide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *106*(15), 6375–6380. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901515106>
- Karler, R., Cely, W., & Turkanis, S. A. (1973). The anticonvulsant activity of cannabidiol and cannabinol. *Life Sciences*, *13*(11), 1527–1531. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(73\)90141-0](https://doi.org/10.1016/0024-3205(73)90141-0)
- Karler, R., Cely, W., & Turkanis, S. A. (1974). Anticonvulsant activity of delta9-tetrahydrocannabinol and its 11-hydroxy and 8alpha, 11-dihydroxy metabolites in the frog. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, *9*(3), 441–

- Karler, R., & Turkanis, S. A. (1981). The cannabinoids as potential antiepileptics. *Journal of Clinical Pharmacology*, *21*(S1), 437S-448S. <https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1981.tb02624.x>
- Kaschina, E. (2016). *Cannabinoid CB1/CB2 Receptors in the Heart: Expression, Regulation, and Function* (R. Meccariello & R. Chianese (eds.); p. Ch. 8). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/62822>
- Katsidoni, V., Kastellakis, A., & Panagis, G. (2013). Biphasic effects of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol on brain stimulation reward and motor activity. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, *16*(10), 2273–2284. <https://doi.org/10.1017/S1461145713000709>
- Kendall, D. A., & Yudowski, G. A. (2016). Cannabinoid Receptors in the Central Nervous System: Their Signaling and Roles in Disease. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *10*, 294. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00294>
- Klein, B. D., Jacobson, C. A., Metcalf, C. S., Smith, M. D., Wilcox, K. S., Hampson, A. J., & Kehne, J. H. (2017). Evaluation of Cannabidiol in Animal Seizure Models by the Epilepsy Therapy Screening Program (ETSP). *Neurochemical Research*, *42*(7), 1939–1948. <https://doi.org/10.1007/s11064-017-2287-8>
- Koethe, D., Hoyer, C., & Leweke, F. M. (2009). The endocannabinoid system as a target for modelling psychosis. *Psychopharmacology*, *206*(4), 551–561. <https://doi.org/10.1007/s00213-009-1591-7>
- Kubová, H., & Mares, P. (2010). Vigabatrin but not valproate prevents development of age-specific flexion seizures induced by N-methyl-D-aspartate (NMDA) in immature rats. *Epilepsia*, *51*(3), 469–472. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02305.x>
- Kucerova, J., Tabiova, K., Drago, F., & Micale, V. (2014). Therapeutic Potential of Cannabinoids in Schizophrenia. In *Recent Patents on CNS Drug Discovery (Discontinued)* (Vol. 9, Issue 1, pp. 13–25). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2174/1574889809666140307115532>
- Lamarine, R. J. (2012). Marijuana: Modern medical chimaera. *Journal of Drug Education*,

42(1), 1–11. <https://doi.org/10.2190/DE.42.1.a>

Lazarini-Lopes, W., Do Val-da Silva, R. A., da Silva-Júnior, R. M. P., Leite, J. P., & Garcia-Cairasco, N. (2020). The anticonvulsant effects of cannabidiol in experimental models of epileptic seizures: From behavior and mechanisms to clinical insights. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *111*(November 2019), 166–182.  
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.01.014>

Lemos, J. I., Resstel, L. B., & Guimarães, F. S. (2010). Involvement of the prelimbic prefrontal cortex on cannabidiol-induced attenuation of contextual conditioned fear in rats. *Behavioural Brain Research*, *207*(1), 105–111.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.09.045>

Levin, R., Peres, F. F., Almeida, V., Calzavara, M. B., Zuardi, A. W., Hallak, J. E. C., Crippa, J. A. S., & Abílio, V. C. (2014). Effects of cannabinoid drugs on the deficit of prepulse inhibition of startle in an animal model of schizophrenia: the SHR strain. *Frontiers in Pharmacology*, *5*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00010>

Levine, A., Clemenza, K., Rynn, M., & Lieberman, J. (2017). Evidence for the Risks and Consequences of Adolescent Cannabis Exposure. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*, *56*(3), 214–225.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jaac.2016.12.014>

Leweke, F. M., Giuffrida, A., Koethe, D., Schreiber, D., Nolden, B. M., Kranaster, L., Neatby, M. A., Schneider, M., Gerth, C. W., Hellmich, M., Klosterkötter, J., & Piomelli, D. (2007). Anandamide levels in cerebrospinal fluid of first-episode schizophrenic patients: impact of cannabis use. *Schizophrenia Research*, *94*(1–3), 29–36.  
<https://doi.org/10.1016/j.schres.2007.04.025>

Leweke, F. M., Piomelli, D., Pahlisch, F., Muhl, D., Gerth, C. W., Hoyer, C., Klosterkötter, J., Hellmich, M., & Koethe, D. (2012). Cannabidiol enhances anandamide signaling and alleviates psychotic symptoms of schizophrenia. *Translational Psychiatry*, *2*(3), e94.  
<https://doi.org/10.1038/tp.2012.15>

Leweke, F. M., Schneider, U., Radwan, M., Schmidt, E., & Emrich, H. M. (2000). Different effects of nabilone and cannabidiol on binocular depth inversion in Man. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *66*(1), 175–181. <https://doi.org/10.1016/s0091->

- Leweke, F. M., Schneider, U., Thies, M., Münte, T. F., & Emrich, H. M. (1999). Effects of synthetic  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol on binocular depth inversion of natural and artificial objects in man. *Psychopharmacology*, *142*(3), 230–235.  
<https://doi.org/10.1007/s002130050884>
- Ligresti, A., De Petrocellis, L., & Di Marzo, V. (2016). From phytocannabinoids to cannabinoid receptors and endocannabinoids: Pleiotropic physiological and pathological roles through complex pharmacology. *Physiological Reviews*, *96*(4), 1593–1659.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2016>
- Lindamood, C. 3rd, & Colasanti, B. K. (1980). Effects of delta 9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on sodium-dependent high affinity choline uptake in the rat hippocampus. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *213*(2), 216–221.
- Linge, R., Jiménez-Sánchez, L., Campa, L., Pilar-Cuéllar, F., Vidal, R., Pazos, A., Adell, A., & Díaz, Á. (2016). Cannabidiol induces rapid-acting antidepressant-like effects and enhances cortical 5-HT/glutamate neurotransmission: role of 5-HT<sub>1A</sub> receptors. *Neuropharmacology*, *103*, 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.12.017>
- Llinás, R. R., & Steriade, M. (2006). Bursting of thalamic neurons and states of vigilance. *Journal of Neurophysiology*, *95*(6), 3297–3308. <https://doi.org/10.1152/jn.00166.2006>
- Long, L. E., Chesworth, R., Huang, X.-F., McGregor, I. S., Arnold, J. C., & Karl, T. (2010). A behavioural comparison of acute and chronic  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and cannabidiol in C57BL/6JArc mice. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, *13*(7), 861–876.  
<https://doi.org/10.1017/S1461145709990605>
- Long, L. E., Chesworth, R., Huang, X.-F., Wong, A., Spiro, A., McGregor, I. S., Arnold, J. C., & Karl, T. (2012). Distinct neurobehavioural effects of cannabidiol in transmembrane domain neuregulin 1 mutant mice. *PloS One*, *7*(4), e34129.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034129>
- Long, L. E., Malone, D. T., & Taylor, D. A. (2006). Cannabidiol reverses MK-801-induced disruption of prepulse inhibition in mice. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *31*(4), 795–803.

<https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300838>

Löscher, W. (1997). Animal models of intractable epilepsy. *Progress in Neurobiology*, 53(2), 239–258. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(97\)00035-x](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(97)00035-x)

Löscher, W. (2011). Critical review of current animal models of seizures and epilepsy used in the discovery and development of new antiepileptic drugs. *Seizure*, 20(5), 359–368. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2011.01.003>

Löscher, W., Potschka, H., Sisodiya, S. M., & Vezzani, A. (2020). Drug resistance in epilepsy: Clinical impact, potential mechanisms, and new innovative treatment options. *Pharmacological Reviews*, 72(3), 606–638. <https://doi.org/10.1124/pr.120.019539>

Lucas, C. J., Galettis, P., & Schneider, J. (2018). The pharmacokinetics and the pharmacodynamics of cannabinoids. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 84(11), 2477–2482. <https://doi.org/10.1111/bcp.13710>

Ludányi, A., Eross, L., Czirják, S., Vajda, J., Halász, P., Watanabe, M., Palkovits, M., Maglóczy, Z., Freund, T. F., & Katona, I. (2008). Downregulation of the CB1 cannabinoid receptor and related molecular elements of the endocannabinoid system in epileptic human hippocampus. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 28(12), 2976–2990. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4465-07.2008>

Lutz, B. (2004). On-demand activation of the endocannabinoid system in the control of neuronal excitability and epileptiform seizures. *Biochemical Pharmacology*, 68(9), 1691–1698. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.07.007>

Mackie, K. (2005). Distribution of cannabinoid receptors in the central and peripheral nervous system. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 168, 299–325. [https://doi.org/10.1007/3-540-26573-2\\_10](https://doi.org/10.1007/3-540-26573-2_10)

Maguire, D. R., & France, C. P. (2014). Impact of efficacy at the  $\mu$ -opioid receptor on antinociceptive effects of combinations of  $\mu$ -opioid receptor agonists and cannabinoid receptor agonists. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 351(2), 383–389. <https://doi.org/10.1124/jpet.114.216648>

Makal, V., Minová, M., Kubová, H., & Mares, P. (1993). Developmental changes of

- thresholds for cortical epileptic afterdischarges. *Physiological Research*, 42(1), 49–52.
- Malone, D. T., Jongejan, D., & Taylor, D. A. (2009). Cannabidiol reverses the reduction in social interaction produced by low dose  $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabinol in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 93(2), 91–96.  
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2009.04.010>
- Malone, D. T., & Taylor, D. A. (2006). The effect of  $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabinol on sensorimotor gating in socially isolated rats. *Behavioural Brain Research*, 166(1), 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.07.009>
- Malyshevskaya, O., Aritake, K., Kaushik, M. K., Uchiyama, N., Cherasse, Y., Kikura-Hanajiri, R., & Urade, Y. (2017). Natural ( $\Delta(9)$ -THC) and synthetic (JWH-018) cannabinoids induce seizures by acting through the cannabinoid CB(1) receptor. *Scientific Reports*, 7(1), 10516. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10447-2>
- Manna, S. S. S., & Umathe, S. N. (2012). Involvement of transient receptor potential vanilloid type 1 channels in the pro-convulsant effect of anandamide in pentylenetetrazole-induced seizures. *Epilepsy Research*, 100(1–2), 113–124.  
<https://doi.org/10.1016/j.eplesyres.2012.02.003>
- Manwell, L. A., Charchoglyan, A., Brewer, D., Matthews, B. A., Heipel, H., & Mallet, P. E. (2014). A vapourized  $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta(9)$ -THC) delivery system part I: development and validation of a pulmonary cannabinoid route of exposure for experimental pharmacology studies in rodents. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 70(1), 120–127. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2014.06.006>
- Manwell, L. A., Ford, B., Matthews, B. A., Heipel, H., & Mallet, P. E. (2014). A vapourized  $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabinol ( $\Delta(9)$ -THC) delivery system part II: comparison of behavioural effects of pulmonary versus parenteral cannabinoid exposure in rodents. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 70(1), 112–119.  
<https://doi.org/10.1016/j.vascn.2014.06.004>
- Mares, P., Tsenov, G., & Kubova, H. (2021). Anticonvulsant Action of GluN2A-Preferring Antagonist PEAQX in Developing Rats. *Pharmaceutics*, 13(3).  
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030415>
- Mares, P., & Velisek, L. (1992). N-methyl-D-aspartate (NMDA)-induced seizures in



- developing rats. *Brain Research. Developmental Brain Research*, 65(2), 185–189.  
[https://doi.org/10.1016/0165-3806\(92\)90178-y](https://doi.org/10.1016/0165-3806(92)90178-y)
- Marinho, A. L. Z., Vila-Verde, C., Fogaça, M. V., & Guimarães, F. S. (2015). Effects of intra-infralimbic prefrontal cortex injections of cannabidiol in the modulation of emotional behaviors in rats: contribution of 5HT<sub>1A</sub> receptors and stressful experiences. *Behavioural Brain Research*, 286, 49–56. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.02.023>
- Marrosu, F., Santoni, F., Fà, M., Puligheddu, M., Barberini, L., Genugu, F., Frau, R., Manunta, M., & Mereu, G. (2006). Beta and gamma range EEG power-spectrum correlation with spiking discharges in DBA/2J mice absence model: role of GABA receptors. *Epilepsia*, 47(3), 489–494. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2006.00456.x>
- Marshall, R., Kearney-Ramos, T., Brents, L. K., Hyatt, W. S., Tai, S., Prather, P. L., & Fantegrossi, W. E. (2014). In vivo effects of synthetic cannabinoids JWH-018 and JWH-073 and phytocannabinoid Δ<sup>9</sup>-THC in mice: Inhalation versus intraperitoneal injection. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 124, 40–47.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbb.2014.05.010>
- Marsicano, G., & Lutz, B. (1999). Expression of the cannabinoid receptor CB1 in distinct neuronal subpopulations in the adult mouse forebrain. *The European Journal of Neuroscience*, 11(12), 4213–4225. <https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1999.00847.x>
- Matsuda, L. A., Lolait, S. J., Brownstein, M. J., Young, A. C., & Bonner, T. I. (1990). Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature*, 346(6284), 561–564. <https://doi.org/10.1038/346561a0>
- McDonald, J., Schleifer, L., Richards, J. B., & De Wit, H. (2003). Effects of THC on behavioral measures of impulsivity in humans. *Neuropsychopharmacology*, 28(7), 1356–1365. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300176>
- McGuire, P., Robson, P., Cubala, W. J., Vasile, D., Morrison, P. D., Barron, R., Taylor, A., & Wright, S. (2018). Cannabidiol (CBD) as an Adjunctive Therapy in Schizophrenia: A Multicenter Randomized Controlled Trial. *The American Journal of Psychiatry*, 175(3), 225–231. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2017.17030325>
- McLaughlin, P. J., Thakur, G. A., Vemuri, V. K., McClure, E. D., Brown, C. M., Winston, K. M., Wood, J. T., Makriyannis, A., & Salamone, J. D. (2013). Behavioral effects of the

- novel potent cannabinoid CB1 agonist AM 4054. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 109, 16–22. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.04.011>
- McPartland, J. M., Duncan, M., Di Marzo, V., & Pertwee, R. G. (2015). Are cannabidiol and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabivarin negative modulators of the endocannabinoid system? A systematic review. *British Journal of Pharmacology*, 172(3), 737–753. <https://doi.org/10.1111/bph.12944>
- McPartland, J. M., Glass, M., & Pertwee, R. G. (2007). Meta-analysis of cannabinoid ligand binding affinity and receptor distribution: interspecies differences. *British Journal of Pharmacology*, 152(5), 583–593. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707399>
- McPartland, J. M., & Russo, E. B. (2001). Cannabis and Cannabis Extracts. *Journal of Cannabis Therapeutics*, 1(3–4), 103–132. [https://doi.org/10.1300/J175v01n03\\_08](https://doi.org/10.1300/J175v01n03_08)
- McPhail, B. T., White, C. A., Cummings, B. S., Muralidhara, S., Wilson, J. T., & Bruckner, J. V. (2016). The immature rat as a potential model for chemical risks to children: Ontogeny of selected hepatic P450s. *Chemico-Biological Interactions*, 256, 167–177. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.07.005>
- Mechoulam, R., Hanuš, L. O., Pertwee, R., & Howlett, A. C. (2014). Early phytocannabinoid chemistry to endocannabinoids and beyond. *Nature Reviews Neuroscience*, 15(11), 757–764. <https://doi.org/10.1038/nrn3811>
- Mechoulam, R., & Shvo, Y. (1963). Hashish—I: The structure of Cannabidiol. *Tetrahedron*, 19(12), 2073–2078. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0040-4020\(63\)85022-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0040-4020(63)85022-X)
- Mehmedic, Z., Chandra, S., Slade, D., Denham, H., Foster, S., Patel, A. S., Ross, S. A., Khan, I. A., & ElSohly, M. A. (2010). Potency trends of  $\Delta^9$ -THC and other cannabinoids in confiscated cannabis preparations from 1993 to 2008. *Journal of Forensic Sciences*, 55(5), 1209–1217. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2010.01441.x>
- Merrick, J., Lane, B., Sebree, T., Yaksh, T., O'Neill, C., & Banks, S. L. (2016). Identification of Psychoactive Degradants of Cannabidiol in Simulated Gastric and Physiological Fluid. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 1(1), 102–112. <https://doi.org/10.1089/can.2015.0004>
- Mesraoua, B., Deleu, D., Kullmann, D. M., Shetty, A. K., Boon, P., Perucca, E., Mikati, M.

- A., & Asadi-Pooya, A. A. (2019). Novel therapies for epilepsy in the pipeline. *Epilepsy and Behavior*, *97*, 282–290. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.04.042>
- Micale, V., Di Marzo, V., Sulcova, A., Wotjak, C. T., & Drago, F. (2013). Endocannabinoid system and mood disorders: Priming a target for new therapies. *Pharmacology & Therapeutics*, *138*(1), 18–37. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2012.12.002>
- Milikovskiy, D. Z., Weissberg, I., Kamintsky, L., Lippmann, K., Schefenbauer, O., Frigerio, F., Rizzi, M., Sheintuch, L., Zelig, D., Ofer, J., Vezzani, A., & Friedman, A. (2017). Electroencephalographic Dynamics as a Novel Biomarker in Five Models of Epileptogenesis. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *37*(17), 4450–4461. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2446-16.2017>
- Miyauchi, T., Endo, K., Yamaguchi, T., & Hagimoto, H. (1991). Computerized Analysis of EEG Background Activity in Epileptic Patients. *Epilepsia*, *32*(6), 870–881. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1991.tb05544.x>
- Moldrich, G., & Wenger, T. (2000). Localization of the CB1 cannabinoid receptor in the rat brain. An immunohistochemical study☆. *Peptides*, *21*(11), 1735–1742. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0196-9781\(00\)00324-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0196-9781(00)00324-7)
- Moreira, F. A., Aguiar, D. C., & Guimarães, F. S. (2006). Anxiolytic-like effect of cannabidiol in the rat Vogel conflict test. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *30*(8), 1466–1471. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2006.06.004>
- Moreira, F. A., & Guimarães, F. S. (2005). Cannabidiol inhibits the hyperlocomotion induced by psychotomimetic drugs in mice. *European Journal of Pharmacology*, *512*(2–3), 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.02.040>
- Moreira, F. A., & Wotjak, C. T. (2010). Cannabinoids and anxiety. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, *2*, 429–450. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2009\\_16](https://doi.org/10.1007/7854_2009_16)
- Muller, C., Morales, P., & Reggio, P. H. (2019). Cannabinoid ligands targeting TRP channels. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, *11*(January), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00487>
- Munro, S., Thomas, K. L., & Abu-Shaar, M. (1993). Molecular characterization of a

peripheral receptor for cannabinoids. *Nature*, 365(6441), 61–65.

<https://doi.org/10.1038/365061a0>

- Murphy, M., Mills, S., Winstone, J., Leishman, E., Wager-Miller, J., Bradshaw, H., & Mackie, K. (2017). Chronic Adolescent  $\Delta(9)$ -Tetrahydrocannabinol Treatment of Male Mice Leads to Long-Term Cognitive and Behavioral Dysfunction, Which Are Prevented by Concurrent Cannabidiol Treatment. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 2(1), 235–246. <https://doi.org/10.1089/can.2017.0034>
- Murray, R. M., Quigley, H., Quattrone, D., Englund, A., & Di Forti, M. (2016). Traditional marijuana, high-potency cannabis and synthetic cannabinoids: increasing risk for psychosis. *World Psychiatry*, 15(3), 195–204. <https://doi.org/10.1002/wps.20341>
- Namdar, D., Voet, H., Ajjampura, V., Nadarajan, S., Mayzlish-Gati, E., Mazuz, M., Shalev, N., & Koltai, H. (2019). Terpenoids and phytocannabinoids co-produced in cannabis sativa strains show specific interaction for cell cytotoxic activity. *Molecules*, 24(17). <https://doi.org/10.3390/molecules24173031>
- Nardo, M., Casarotto, P. C., Gomes, F. V., & Guimarães, F. S. (2014). Cannabidiol reverses the mCPP-induced increase in marble-burying behavior. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 28(5), 544–550. <https://doi.org/10.1111/fcp.12051>
- Newell, K. A., Deng, C., & Huang, X.-F. (2006). Increased cannabinoid receptor density in the posterior cingulate cortex in schizophrenia. *Experimental Brain Research*, 172(4), 556–560. <https://doi.org/10.1007/s00221-006-0503-x>
- Nidadavolu, P., Bilkei-Gorzo, A., Krämer, M., Schürmann, B., Palmisano, M., Beins, E. C., Madea, B., & Zimmer, A. (2021). Efficacy of  $\Delta 9$  -Tetrahydrocannabinol (THC) Alone or in Combination With a 1:1 Ratio of Cannabidiol (CBD) in Reversing the Spatial Learning Deficits in Old Mice. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 13(August), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.718850>
- Nilges, M. R., Bondy, Z. B., Grace, J. A., & Winsauer, P. J. (2020). Opioid-enhancing antinociceptive effects of delta-9-tetrahydrocannabinol and amitriptyline in rhesus macaques. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 28(3), 355–364. <https://doi.org/10.1037/pha0000313>
- O'Brien, L. D., Wills, K. L., Segsworth, B., Dashney, B., Rock, E. M., Limebeer, C. L., &

- Parker, L. A. (2013). Effect of chronic exposure to rimonabant and phytocannabinoids on anxiety-like behavior and saccharin palatability. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *103*(3), 597–602. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.10.008>
- Oddi, S., Fezza, F., Pasquariello, N., D'Agostino, A., Catanzaro, G., De Simone, C., Rapino, C., Finazzi-Agrò, A., & Maccarrone, M. (2009). Molecular identification of albumin and Hsp70 as cytosolic anandamide-binding proteins. *Chemistry & Biology*, *16*(6), 624–632. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2009.05.004>
- Oddi, S., Fezza, F., Pasquariello, N., De Simone, C., Rapino, C., Dainese, E., Finazzi-Agrò, A., & Maccarrone, M. (2008). Evidence for the intracellular accumulation of anandamide in adiposomes. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, *65*(5), 840–850. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-7494-7>
- Ofek, O., Karsak, M., Leclerc, N., Fogel, M., Frenkel, B., Wright, K., Tam, J., Attar-Namdar, M., Kram, V., Shohami, E., Mechoulam, R., Zimmer, A., & Bab, I. (2006). Peripheral cannabinoid receptor, CB2, regulates bone mass. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *103*(3), 696–701. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504187103>
- Onaivi, E. S., Ishiguro, H., Gu, S., & Liu, Q.-R. (2012). CNS effects of CB2 cannabinoid receptors: beyond neuro-immuno-cannabinoid activity. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, *26*(1), 92–103. <https://doi.org/10.1177/0269881111400652>
- Ossato, A., Canazza, I., Trapella, C., Vincenzi, F., De Luca, M. A., Rimondo, C., Varani, K., Borea, P. A., Serpelloni, G., & Marti, M. (2016). Effect of JWH-250, JWH-073 and their interaction on “tetrad”, sensorimotor, neurological and neurochemical responses in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *67*, 31–50. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2016.01.007>
- Pacher, P., Kogan, N. M., & Mechoulam, R. (2020). Beyond THC and Endocannabinoids. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *60*, 637–659. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010818-021441>
- Pacher, P., Steffens, S., Haskó, G., Schindler, T. H., & Kunos, G. (2018). Cardiovascular effects of marijuana and synthetic cannabinoids: The good, the bad, and the ugly. *Nature Reviews Cardiology*, *15*(3), 151–166. <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2017.130>

- Pacula, R. L., Chriqui, J. F., Reichmann, D. A., & Terry-McElrath, Y. M. (2002). State medical marijuana laws: Understanding the laws and their limitations. *Journal of Public Health Policy*, 23(4), 413–439. <https://doi.org/10.2307/3343240>
- Páleníček, T., Lhotková, E., Židková, M., Balíková, M., Kuchař, M., Himl, M., Mikšátková, P., Čegan, M., Valeš, K., Tylš, F., & Horsley, R. R. (2016). Emerging toxicity of 5,6-methylenedioxy-2-aminoindane (MDAI): Pharmacokinetics, behaviour, thermoregulation and LD50 in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 69, 49–59. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2016.04.004>
- Palou, A., Remesar, X., Arola, L., & Alemany, M. (1983). Body and organ size and composition during late foetal and postnatal development of rat. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part A: Physiology*, 75(4), 597–601. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(83\)90426-7](https://doi.org/10.1016/0300-9629(83)90426-7)
- Papanti, D., Schifano, F., Botteon, G., Bertossi, F., Mannix, J., Vidoni, D., Impagnatiello, M., Pascolo-Fabrizi, E., & Bonavigo, T. (2013). “Spicephrenia”: a systematic overview of “Spice”-related psychopathological issues and a case report. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 28(4), 379–389. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/hup.2312>
- Patel, S., & Hillard, C. J. (2006). Pharmacological evaluation of cannabinoid receptor ligands in a mouse model of anxiety: further evidence for an anxiolytic role for endogenous cannabinoid signaling. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 318(1), 304–311. <https://doi.org/10.1124/jpet.106.101287>
- Patra, P. H., Barker-Haliski, M., White, H. S., Whalley, B. J., Glyn, S., Sandhu, H., Jones, N., Bazelot, M., Williams, C. M., & McNeish, A. J. (2019). Cannabidiol reduces seizures and associated behavioral comorbidities in a range of animal seizure and epilepsy models. *Epilepsia*, 60(2), 303–314. <https://doi.org/10.1111/epi.14629>
- Paxinos, G., & Watson, C. (2007). THE RAT BRAIN in stereotaxic coordinates (6th ed.): Elsevier Inc, ISBN: 9780080475158
- Pedrazzi, J. F. C., Issy, A. C., Gomes, F. V., Guimarães, F. S., & Del-Bel, E. A. (2015). Cannabidiol effects in the prepulse inhibition disruption induced by amphetamine. *Psychopharmacology*, 232(16), 3057–3065. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-3945-7>

- Pertwee, R. G. (2006). Cannabinoid pharmacology: the first 66 years. *British Journal of Pharmacology*, *147 Suppl*(Suppl 1), S163–S171. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706406>
- Pertwee, R. G., Howlett, A. C., Abood, M. E., Alexander, S. P. H., Di Marzo, V., Elphick, M. R., Greasley, P. J., Hansen, H. S., Kunos, G., Mackie, K., Mechoulam, R., & Ross, R. A. (2010). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub>. *Pharmacological Reviews*, *62*(4), 588–631. <https://doi.org/10.1124/pr.110.003004>
- Perucca, E. (2017). Cannabinoids in the Treatment of Epilepsy: Hard Evidence at Last? *Journal of Epilepsy Research*, *7*(2), 61–76. <https://doi.org/10.14581/jer.17012>
- Perucca, P., Scheffer, I. E., & Kiley, M. (2018). The management of epilepsy in children and adults. *Medical Journal of Australia*, *208*(5), 226–233. <https://doi.org/10.5694/mja17.00951>
- Pijlman, F. T. A., Rigter, S. M., Hoek, J., Goldschmidt, H. M. J., & Niesink, R. J. M. (2005). Strong increase in total delta-THC in cannabis preparations sold in Dutch coffee shops. *Addiction Biology*, *10*(2), 171–180. <https://doi.org/10.1080/13556210500123217>
- Piomelli, D. (2003). The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nature Reviews. Neuroscience*, *4*(11), 873–884. <https://doi.org/10.1038/nrn1247>
- Pistis, M., & Melis, M. (2010). From surface to nuclear receptors: the endocannabinoid family extends its assets. *Current Medicinal Chemistry*, *17*(14), 1450–1467. <https://doi.org/10.2174/092986710790980014>
- Pohl, M., & Mares, P. (1987). Effects of flunarizine on Metrazol-induced seizures in developing rats. *Epilepsy Research*, *1*(5), 302–305. [https://doi.org/10.1016/0920-1211\(87\)90006-4](https://doi.org/10.1016/0920-1211(87)90006-4)
- Pohl, M., Mares, P., & Langmeier, M. (1986). Localization of the origin of self-sustained afterdischarges (SSADs) in the rat: I. The spike-and-wave type of SSAD. *Epilepsia*, *27*(5), 516–522. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1986.tb03577.x>
- Pyrzowski, J., Sieminski, M., Sarnowska, A., Jedrzejczak, J., & Nyka, W. M. (2015). Interval analysis of interictal EEG: Pathology of the alpha rhythm in focal epilepsy. *Scientific Reports*, *5*, 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep16230>

- Qian, Y., Gurley, B. J., & Markowitz, J. S. (2019). The Potential for Pharmacokinetic Interactions Between Cannabis Products and Conventional Medications. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, *39*(5), 462–471.  
<https://doi.org/10.1097/JCP.0000000000001089>
- Quarles, W., Ellman, G., & Jones, R. (1973). Toxicology of marijuana: Conditions for conversion of cannabidiol to THC upon smoking. *Clinical Toxicology*, *6*(2), 211–216.  
<https://doi.org/10.3109/15563657308990520>
- Resstel, L. B. M., Joca, S. R. L., Moreira, F. A., Correa, F. M. A., & Guimaraes, F. S. (2006). Effects of cannabidiol and diazepam on behavioral and cardiovascular responses induced by contextual conditioned fear in rats. *Behavioural Brain Research*, *172*(2), 294–298.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.05.016>
- Resstel, L. B. M., Tavares, R. F., Lisboa, S. F. S., Joca, S. R. L., Corrêa, F. M. A., & Guimarães, F. S. (2009). 5-HT<sub>1A</sub> receptors are involved in the cannabidiol-induced attenuation of behavioural and cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. *British Journal of Pharmacology*, *156*(1), 181–188. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2008.00046.x>
- Réus, G. Z., Stringari, R. B., Ribeiro, K. F., Luft, T., Abelaira, H. M., Fries, G. R., Aguiar, B. W., Kapczinski, F., Hallak, J. E., Zuardi, A. W., Crippa, J. A., & Quevedo, J. (2011). Administration of cannabidiol and imipramine induces antidepressant-like effects in the forced swimming test and increases brain-derived neurotrophic factor levels in the rat amygdala. *Acta Neuropsychiatrica*, *23*(5), 241–248. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5215.2011.00579.x>
- Reynolds, G. P., Beasley, C. L., & Zhang, Z. J. (2002). Understanding the neurotransmitter pathology of schizophrenia: selective deficits of subtypes of cortical GABAergic neurons. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria : 1996)*, *109*(5–6), 881–889.  
<https://doi.org/10.1007/s007020200072>
- Robbe, D., Kopf, M., Remaury, A., Bockaert, J., & Manzoni, O. J. (2002). Endogenous cannabinoids mediate long-term synaptic depression in the nucleus accumbens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*(12), 8384–8388. <https://doi.org/10.1073/pnas.122149199>



- Robson, P. J. (2014). Therapeutic potential of cannabinoid medicines. *Drug Testing and Analysis*, 6(1–2), 24–30. <https://doi.org/10.1002/dta.1529>
- Rodríguez-Muñoz, M., Onetti, Y., Cortés-Montero, E., Garzón, J., & Sánchez-Blázquez, P. (2018). Cannabidiol enhances morphine antinociception, diminishes NMDA-mediated seizures and reduces stroke damage via the sigma 1 receptor. *Medical and Health Sciences 1109 Neurosciences 11 Medical and Health Sciences 1115 Pharmacology and Pharmaceutical Scien. Molecular Brain*, 11(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s13041-018-0395-2>
- Romigi, A., Bari, M., Placidi, F., Marciani, M. G., Malaponti, M., Torelli, F., Izzi, F., Prosperetti, C., Zannino, S., Corte, F., Chiaramonte, C., & Maccarrone, M. (2010). Cerebrospinal fluid levels of the endocannabinoid anandamide are reduced in patients with untreated newly diagnosed temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*, 51(5), 768–772. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02334.x>
- Rosenberg, E. C., Tsien, R. W., Whalley, B. J., & Devinsky, O. (2015). Cannabinoids and Epilepsy. *Neurotherapeutics*, 12(4), 747–768. <https://doi.org/10.1007/s13311-015-0375-5>
- Rubino, T., Realini, N., Castiglioni, C., Guidali, C., Viganó, D., Marras, E., Petrosino, S., Perletti, G., Maccarrone, M., Di Marzo, V., & Parolaro, D. (2008). Role in anxiety behavior of the endocannabinoid system in the prefrontal cortex. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 18(6), 1292–1301. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhm161>
- Russo, E. B. (2011). Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology*, 163(7), 1344–1364. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01238.x>
- Saletti, P. G., Maior, R. S., Barros, M., Nishijo, H., & Tomaz, C. (2017). Cannabidiol Affects MK-801-Induced Changes in the PPI Learned Response of Capuchin Monkeys (*Sapajus spp.*). *Frontiers in Pharmacology*, 8, 93. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00093>
- Sartim, A. G., Guimarães, F. S., & Joca, S. R. L. (2016). Antidepressant-like effect of cannabidiol injection into the ventral medial prefrontal cortex-Possible involvement of 5-HT1A and CB1 receptors. *Behavioural Brain Research*, 303, 218–227. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.01.033>

- Schaefer, N., Peters, B., Bregel, D., Maurer, H. H., Schmidt, P. H., & Ewald, A. H. (2014). Can JWH-210 and JWH-122 be detected in adipose tissue four weeks after single oral drug administration to rats? *Biomedical Chromatography : BMC*, *28*(8), 1043–1047. <https://doi.org/10.1002/bmc.3137>
- Scherer, M., Milosevic, L., Guggenberger, R., Maus, V., Naros, G., Grimm, F., Bucurenciu, I., Steinhoff, B. J., Weber, Y. G., Lerche, H., Weiss, D., Rona, S., & Gharabaghi, A. (2020). Desynchronization of temporal lobe theta-band activity during effective anterior thalamus deep brain stimulation in epilepsy. *NeuroImage*, *218*, 116967. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.116967>
- Schiavon, A. P., Bonato, J. M., Milani, H., Guimaraes, F. S., & Weffort de Oliveira, R. M. (2016). Influence of single and repeated cannabidiol administration on emotional behavior and markers of cell proliferation and neurogenesis in non-stressed mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *64*, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.06.017>
- Schneir, A. B., & Baumbacher, T. (2012). Convulsions Associated with the Use of a Synthetic Cannabinoid Product. *Journal of Medical Toxicology*, *8*(1), 62–64. <https://doi.org/10.1007/s13181-011-0182-2>
- Schubart, C. D., Sommer, I. E. C., Fusar-Poli, P., de Witte, L., Kahn, R. S., & Boks, M. P. M. (2014). Cannabidiol as a potential treatment for psychosis. *European Neuropsychopharmacology*, *24*(1), 51–64. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.11.002>
- Schwartz, M. D., Trecki, J., Edison, L. A., Steck, A. R., Arnold, J. K., & Gerona, R. R. (2015). A Common Source Outbreak of Severe Delirium Associated with Exposure to the Novel Synthetic Cannabinoid ADB-PINACA. *Journal of Emergency Medicine*, *48*(5), 573–580. <https://doi.org/10.1016/j.jemermed.2014.12.038>
- Senn, L., Cannazza, G., & Biagini, G. (2020). Receptors and channels possibly mediating the effects of phytocannabinoids on seizures and epilepsy. *Pharmaceuticals*, *13*(8), 1–22. <https://doi.org/10.3390/ph13080174>
- Shi, L. H., Luo, F., Woodward, D. J., & Chang, J. Y. (2005). Dose and behavioral context dependent inhibition of movement and basal ganglia neural activity by Delta-9-

- tetrahydrocannabinol during spontaneous and treadmill locomotion tasks in rats. *Synapse (New York, N.Y.)*, 55(1), 1–16. <https://doi.org/10.1002/syn.20088>
- Šíchová, K., Pinterová, N., Židková, M., Horsley, R. R., Lhotková, E., Štefková, K., Vejmla, C., Uttl, L., Balíková, M., Kuchar, M., & Páleníček, T. (2018). Mephedrone (4-Methylmethcathinone): Acute behavioral effects, hyperthermic, and pharmacokinetic profile in rats. *Frontiers in Psychiatry*, 8(JAN), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2017.00306>
- Silvestro, S., Mammana, S., Cavalli, E., Bramanti, P., & Mazzon, E. (2019). Use of Cannabidiol in the Treatment of Epilepsy: Efficacy and Security in Clinical Trials. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(8). <https://doi.org/10.3390/molecules24081459>
- Soares, V. de P., Campos, A. C., Bortoli, V. C. de, Zangrossi, H. J., Guimarães, F. S., & Zuardi, A. W. (2010). Intra-dorsal periaqueductal gray administration of cannabidiol blocks panic-like response by activating 5-HT1A receptors. *Behavioural Brain Research*, 213(2), 225–229. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.05.004>
- Sonego, A. B., Gomes, F. V., Del Bel, E. A., & Guimaraes, F. S. (2016). Cannabidiol attenuates haloperidol-induced catalepsy and c-Fos protein expression in the dorsolateral striatum via 5-HT1A receptors in mice. *Behavioural Brain Research*, 309, 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.04.042>
- Song, D. Y., Stoyell, S. M., Ross, E. E., Ostrowski, L. M., Thorn, E. L., Stufflebeam, S. M., Morgan, A. K., Emerton, B. C., Kramer, M. A., & Chu, C. J. (2019). Beta oscillations in the sensorimotor cortex correlate with disease and remission in benign epilepsy with centrotemporal spikes. *Brain and Behavior*, 9(3), e01237. <https://doi.org/10.1002/brb3.1237>
- Štefková, K., Židková, M., Horsley, R. R., Pinterová, N., Šíchová, K., Uttl, L., Balíková, M., Danda, H., Kuchar, M., & Páleníček, T. (2017). Pharmacokinetic, ambulatory, and hyperthermic effects of 3,4-methylenedioxy-n-methylcathinone (Methylone) in rats. *Frontiers in Psychiatry*, 8(NOV), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2017.00232>
- Steriade, M., McCormick, D. A., & Sejnowski, T. J. (1993). Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain. *Science (New York, N.Y.)*, 262(5134), 679–685. <https://doi.org/10.1126/science.8235588>

- Tai, S., & Fantegrossi, W. E. (2014). Synthetic Cannabinoids: Pharmacology, Behavioral Effects, and Abuse Potential. *Current Addiction Reports, 1*(2), 129–136. <https://doi.org/10.1007/s40429-014-0014-y>
- Tait, R. J., Caldicott, D., Mountain, D., Hill, S. L., & Lenton, S. (2016). A systematic review of adverse events arising from the use of synthetic cannabinoids and their associated treatment. *Clinical Toxicology, 54*(1), 1–13. <https://doi.org/10.3109/15563650.2015.11110590>
- Takematsu, M., Hoffman, R. S., Nelson, L. S., Schechter, J. M., Moran, J. H., & Wiener, S. W. (2014). A case of acute cerebral ischemia following inhalation of a synthetic cannabinoid. *Clinical Toxicology, 52*(9), 973–975. <https://doi.org/10.3109/15563650.2014.958614>
- Tanimura, A., Yamazaki, M., Hashimotodani, Y., Uchigashima, M., Kawata, S., Abe, M., Kita, Y., Hashimoto, K., Shimizu, T., Watanabe, M., Sakimura, K., & Kano, M. (2010). The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol produced by diacylglycerol lipase alpha mediates retrograde suppression of synaptic transmission. *Neuron, 65*(3), 320–327. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.01.021>
- Tchekalarova, J., Kortenska, L., Marinov, P., & Boyanov, K. (2016). Comparative power spectrum analysis of EEG activity in spontaneously hypertensive and Wistar rats in kainate model of temporal model of epilepsy. *Brain Research Bulletin, 124*, 62–75. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.03.021>
- Thieme, U., Schelling, G., Hauer, D., Greif, R., Dame, T., Laubender, R. P., Bernhard, W., Thieme, D., Campolongo, P., & Theiler, L. (2014). Quantification of anandamide and 2-arachidonoylglycerol plasma levels to examine potential influences of tetrahydrocannabinol application on the endocannabinoid system in humans. *Drug Testing and Analysis, 6*(1–2), 17–23. <https://doi.org/10.1002/dta.1561>
- Todd, S. M., & Arnold, J. C. (2016). Neural correlates of interactions between cannabidiol and  $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabinol in mice: implications for medical cannabis. *British Journal of Pharmacology, 173*(1), 53–65. <https://doi.org/10.1111/bph.13333>
- Todd, S. M., Zhou, C., Clarke, D. J., Chohan, T. W., Bahceci, D., & Arnold, J. C. (2017). Interactions between cannabidiol and  $\Delta 9$ -THC following acute and repeated dosing:

Rebound hyperactivity, sensorimotor gating and epigenetic and neuroadaptive changes in the mesolimbic pathway. *European Neuropsychopharmacology*, 27(2), 132–145.

<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2016.12.004>

Trépanier, M. O., Hopperton, K. E., Mizrahi, R., Mechawar, N., & Bazinet, R. P. (2016). Postmortem evidence of cerebral inflammation in schizophrenia: A systematic review. *Molecular Psychiatry*, 21(8), 1009–1026. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.90>

Turkanis, S. A., Cely, W., Olsen, D. M., & Karler, R. (1974). Anticonvulsant properties of cannabidiol. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, 8(2), 231–246.

Turkanis, S. A., Chiu, P., Borys, H. K., & Karler, R. (1977). Influence of delta9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on photically evoked after-discharge potentials. *Psychopharmacology*, 52(2), 207–212. <https://doi.org/10.1007/BF00439112>

Turkanis, S. A., & Karler, R. (1975). Influence of anticonvulsant cannabinoids on posttetanic potentiation at isolated bullfrog ganglia. *Life Sciences*, 17(4), 569–578. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(75\)90092-2](https://doi.org/10.1016/0024-3205(75)90092-2)

Turkanis, S. A., & Karler, R. (1981). Electrophysiologic properties of the cannabinoids. *Journal of Clinical Pharmacology*, 21(S1), 449S-463S. <https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1981.tb02625.x>

Turkanis, S. A., Karler, R., & Partlow, L. M. (1991). Differential effects of delta-9-tetrahydrocannabinol and its 11-hydroxy metabolite on sodium current in neuroblastoma cells. *Brain Research*, 560(1–2), 245–250. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)91239-w](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)91239-w)

Turkanis, S. A., Smiley, K. A., Borys, H. K., Olsen, D. M., & Karler, R. (1979). An electrophysiological analysis of the anticonvulsant action of cannabidiol on limbic seizures in conscious rats. *Epilepsia*, 20(4), 351–363. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1979.tb04815.x>

Turner, C. E., Elsohly, M. A., & Boeren, E. G. (1980). Constituents of *Cannabis sativa* L. XVII. A review of the natural constituents. *Journal of Natural Products*, 43(2), 169–234. <https://doi.org/10.1021/np50008a001>

- Uttl, L., Hložek, T., Mareš, P., Páleníček, T., & Kubová, H. (2021). Anticonvulsive Effects and Pharmacokinetic Profile of Cannabidiol (CBD) in the Pentylenetetrazol (PTZ) or N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) Models of Seizures in Infantile Rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 94. <https://doi.org/10.3390/ijms23010094>
- Uttl, L., Szczurowska, E., Hájková, K., Horsley, R. R., Štefková, K., Hložek, T., Šíchová, K., Balíková, M., Kuchař, M., Micale, V., & Páleníček, T. (2018). Behavioral and pharmacokinetic profile of indole-derived synthetic cannabinoids JWH-073 and JWH-210 as compared to the phytocannabinoid 19-THC in rats. *Frontiers in Neuroscience*, 12(October), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00703>
- Vacek, J., Papouskova, B., Polanska, H., Hönigova, K., Storch, J., Babula, P., & Masarik, M. (2021). CBD is not converted to THC in rats: A framework interpretation and discussion. *European Neuropsychopharmacology*, 50, 135–136. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2021.04.003>
- Velíšek, L., & Mareš, P. (1995). Age-dependent anticonvulsant action of clonazepam in the N-Methyl-D-Aspartate model of seizures. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 52(2), 291–296. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0091-3057\(95\)00115-D](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0091-3057(95)00115-D)
- Vorobyov, V., Schibaev, N., Kaptsov, V., Kovalev, G., & Sengpiel, F. (2011). Cortical and hippocampal EEG effects of neurotransmitter agonists in spontaneously hypertensive vs. kainate-treated rats. *Brain Research*, 1383, 154–168. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.01.107>
- Watanabe, K., Itokawa, Y., Yamaori, S., Funahashi, T., Kimura, T., Kaji, T., Usami, N., & Yamamoto, I. (2007). Conversion of cannabidiol to  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol and related cannabinoids in artificial gastric juice, and their pharmacological effects in mice. *Forensic Toxicology*, 25(1), 16–21. <https://doi.org/10.1007/s11419-007-0021-y>
- Whalley, B. J., Wilkinson, J. D., Williamson, E. M., & Constanti, A. (2004). A novel component of cannabis extract potentiates excitatory synaptic transmission in rat olfactory cortex in vitro. *Neuroscience Letters*, 365(1), 58–63. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.04.044>
- Whiting, P. F., Wolff, R. F., Deshpande, S., Di Nisio, M., Duffy, S., Hernandez, A. V., Keurentjes, J. C., Lang, S., Misso, K., Ryder, S., Schmidlkofer, S., Westwood, M., &

- Kleijnen, J. (2015). Cannabinoids for medical use: A systematic review and meta-analysis. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, *313*(24), 2456–2473. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.6358>
- Whittington, M. A., Traub, R. D., & Jefferys, J. G. (1995). Synchronized oscillations in interneuron networks driven by metabotropic glutamate receptor activation. *Nature*, *373*(6515), 612–615. <https://doi.org/10.1038/373612a0>
- Wiley, J L, Compton, D. R., Dai, D., Lainton, J. A., Phillips, M., Huffman, J. W., & Martin, B. R. (1998). Structure-activity relationships of indole- and pyrrole-derived cannabinoids. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *285*(3), 995–1004.
- Wiley, Jenny L, & Martin, B. R. (2003). Cannabinoid pharmacological properties common to other centrally acting drugs. *European Journal of Pharmacology*, *471*(3), 185–193. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(03\)01856-9](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(03)01856-9)
- Wilkinson, J. D., Whalley, B. J., Baker, D., Pryce, G., Constanti, A., Gibbons, S., & Williamson, E. M. (2003). Medicinal cannabis: is delta9-tetrahydrocannabinol necessary for all its effects? *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *55*(12), 1687–1694. <https://doi.org/10.1211/0022357022304>
- Wilson, R. I., Kunos, G., & Nicoll, R. A. (2001). Presynaptic specificity of endocannabinoid signaling in the hippocampus. *Neuron*, *31*(3), 453–462. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00372-5](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00372-5)
- Wollner, H. J., Matchett, J. R., Levine, J., & Loewe, S. (1942). Isolation of a Physiologically Active Tetrahydrocannabinol from Cannabis Sativa Resin. *Journal of the American Chemical Society*, *64*(1), 26–29. <https://doi.org/10.1021/ja01253a008>
- Zanelati, T. V, Biojone, C., Moreira, F. A., Guimarães, F. S., & Joca, S. R. L. (2010). Antidepressant-like effects of cannabidiol in mice: possible involvement of 5-HT1A receptors. *British Journal of Pharmacology*, *159*(1), 122–128. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00521.x>
- Zareie, P., Sadegh, M., Palizvan, M. R., & Moradi-Chameh, H. (2018). Anticonvulsive effects of endocannabinoids; an investigation to determine the role of regulatory components of endocannabinoid metabolism in the Pentylentetrazol induced tonic-clonic seizures.

- Metabolic Brain Disease*, 33(3), 939–948. <https://doi.org/10.1007/s11011-018-0195-5>
- Zavitsanou, K., Garrick, T., & Huang, X. F. (2004). Selective antagonist [3H]SR141716A binding to cannabinoid CB1 receptors is increased in the anterior cingulate cortex in schizophrenia. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 28(2), 355–360. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2003.11.005>
- Zawilska, J. B., & Wojcieszak, J. (2014). Spice/K2 drugs – more than innocent substitutes for marijuana. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 17(3), 509–525. <https://doi.org/10.1017/S1461145713001247>
- Zhang, Z. J., & Reynolds, G. P. (2002). A selective decrease in the relative density of parvalbumin-immunoreactive neurons in the hippocampus in schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 55(1–2), 1–10. [https://doi.org/10.1016/S0920-9964\(01\)00188-8](https://doi.org/10.1016/S0920-9964(01)00188-8)
- Zhornitsky, S., & Potvin, S. (2012). Cannabidiol in humans-The quest for therapeutic targets. *Pharmaceuticals*, 5(5), 529–552. <https://doi.org/10.3390/ph5050529>
- Zuardi, A. W. (2006). History of cannabis as a medicine: A review. *Revista Brasileira de Psiquiatria*, 28(2), 153–157. <https://doi.org/10.1590/S1516-44462006000200015>
- Zuardi, A. W., Alexandre S. Crippa, J., E.C. Hallak, J., Bhattacharyya, S., Atakan, Z., Martin-Santos, R., K. McGuire, P., & Silveira Guimaraes, F. (2012). A Critical Review of the Antipsychotic Effects of Cannabidiol: 30 Years of a Translational Investigation. *Current Pharmaceutical Design*, 18(32), 5131–5140. <https://doi.org/10.2174/138161212802884681>
- Zuardi, A. W., Cosme, R. A., Graeff, F. G., & Guimarães, F. S. (1993). Effects of ipsapirone and cannabidiol on human experimental anxiety. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 7(1 Suppl), 82–88. <https://doi.org/10.1177/026988119300700112>
- Zuardi, A. W., Crippa, J. A. S., Hallak, J. E. C., Pinto, J. P., Chagas, M. H. N., Rodrigues, G. G. R., Dursun, S. M., & Tumas, V. (2009). Cannabidiol for the treatment of psychosis in Parkinson's disease. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 23(8), 979–983. <https://doi.org/10.1177/0269881108096519>
- Zuardi, A. W., Rodrigues, J. A., & Cunha, J. M. (1991). Effects of cannabidiol in animal models predictive of antipsychotic activity. *Psychopharmacology*, 104(2), 260–264.



<https://doi.org/10.1007/BF02244189>

Zuardi, A. W., Rodrigues, N. P., Silva, A. L., Bernardo, S. A., Hallak, J. E. C., Guimarães, F. S., & Crippa, J. A. S. (2017). Inverted U-Shaped Dose-Response Curve of the Anxiolytic Effect of Cannabidiol during Public Speaking in Real Life. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 259. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00259>

Zuardi, A. W., Shirakawa, I., Finkelfarb, E., & Karniol, I. G. (1982). Action of cannabidiol on the anxiety and other effects produced by delta 9-THC in normal subjects. *Psychopharmacology*, 76(3), 245–250. <https://doi.org/10.1007/BF00432554>

Zygmunt, P. M., Ermund, A., Movahed, P., Andersson, D. A., Simonsen, C., Jönsson, B. A. G., Blomgren, A., Birnir, B., Bevan, S., Eschalier, A., Mallet, C., Gomis, A., & Högestätt, E. D. (2013). Monoacylglycerols activate TRPV1--a link between phospholipase C and TRPV1. *PloS One*, 8(12), e81618. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081618>

Zygmunt, P. M., Petersson, J., Andersson, D. A., Chuang, H., Sörgård, M., Di Marzo, V., Julius, D., & Högestätt, E. D. (1999). Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature*, 400(6743), 452–457. <https://doi.org/10.1038/22761>

## 10. PUBLIKACE A PREZENTACE AUTORA

### VZDĚLÁNÍ:

- 2013 – doposud: Ph.D. student, Přírodovědecká fakulta UK Praha, Postgraduální studium: Fyziologie živočichů, Disertační práce: *Vliv vybraných kanabinoidů na kvantitativní EEG, chování a jejich terapeutický potenciál*
- 2011-2013: Přírodovědecká fakulta UK Praha, Magisterský program: Imunologie, DP: *Aktivace neuroglíí po epileptickém statu vyvolaném intracerebroventrikulární aplikací 4-aminopyridinu u potkana*
- 2008-2011: Přírodovědecká fakulta UK Praha, Bakalářský program: Molekulární biologie a biochemie organismů, BP: *Role oxidu dusnatého při patologii CNS*

### PRAXE:

- 8/2018 – doposud PRONATAL Spa, Karlovy Vary, Centrum asistované reprodukce, pozice VŠ pracovník IVF laboratoře - embryolog
- 8/2014-12/2020 Národní ústav duševního zdraví, Klecany, VP-1 Experimentální neurobiologie, Klecany, pozice výzkumný a vývojový pracovník
- 2011-2014 a 2016-2018 Fyziologický ústav AV ČR v.v.i., oddělení Vývojové epileptologie, Praha

### ČLENSTVÍ V PROFESNÍCH ORGANIZACÍCH:

- 2021–doposud European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE)
- 2015–2021 Československá mikroskopická společnost
- 2016 –doposud Česká neuropsychofarmakologická společnost

### KURZY A CERTIFIKACE:

- 7/2016 Catania International Summer School of Neuroscience 11-15 July 2016, Catania, Sicily (*Cannabinoid receptors: their role in physiology and pathology*)
- 2/2015 Kurz EEG a epileptologie (Dr. Ing. S. Petránek CSc. MBA)
- 1/2015 Osvědčení o odborné způsobilosti k navrhování pokusů a projektů pokusů podle § 15d odst. 3 zákona č. 246/1992 Sb., na ochranu zvířat proti týrání, ve znění pozdějších předpisů (Člen odborné komise pro ochranu pokusných zvířat v NUDZ od 2015-8/2018)

### OCENĚNÍ:

- 1/2018: Cena České neuropsychofarmakologické společnosti za nejlepší ústní sdělení – Nový výzkum (přednáška *Cannabidiol, nové výsledky preklinického výzkumu*)

### 10.1. Seznam publikací in extenso, které jsou podkladem disertační práce

Hložek T, Uttl L, Kadeřábek L, Balíková M, Lhotková E, Horsley RR, Nováková P, Šíchová K, Štefková K, Tylš F, Kuchař M, Páleníček T (2017) Pharmacokinetic and behavioural profile of THC, CBD, and THC+CBD combination after pulmonary, oral, and subcutaneous administration in rats and confirmation of conversion in vivo of CBD to THC. *Eur Neuropsychopharmacol.* pii: S0924-977X (17)30983-5. doi: 10.1016/j.euroneuro.2017.10.037 (IF- 4,11/2017, 94 citací)

*(LU – podílel se na provedení behaviorálních experimentů, jejich vyhodnocení, na přípravě materiálu pro farmakokinetickou studii, sepisování publikace a jejím přijetím)*

Uttl L, Szczurowska E, Hájková K, Horsley RR, Štefková K, Hložek T, Šíchová K, Balíková M, Kuchař M, Micalc V and Páleníček T (2018) Behavioral and Pharmacokinetic Profile of Indole-Derived Synthetic Cannabinoids JWH-073 and JWH-210 as Compared to the Phytocannabinoid  $\Delta^9$ -THC in Rats. *Front. Neurosci.* 12:703. doi: 10.3389/fnins.2018.00703 (IF-3,87/2018, 15 citací)

*(LU – podílel se vyhodnocení behaviorálních experimentů, interpretaci výsledků, sepsání publikace a jejím přijetím)*

Uttl, L., Hložek, T., Mareš, P., Páleníček, T., & Kubová, H. (2021). Anticonvulsive Effects and Pharmacokinetic Profile of Cannabidiol (CBD) in the Pentylentetrazol (PTZ) or N-Methyl-D-Aspartate (NMDA) Models of Seizures in Infantile Rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 94. <https://doi.org/10.3390/ijms23010094> (IF-6,208/2021, 5 citací)

*(LU – podílel se na provedení experimentů, na přípravě materiálu pro farmakokinetickou studii, na sepisování publikace a jejím přijetím)*

### 10.2. Seznam publikací in extenso, bez vztahu k disertační práci

Fábera P, Uttl L, Kubová H, Tsenov G, Mareš P. Adenosine Kinase Isoforms in the Developing Rat Hippocampus after LiCl/Pilocarpine Status Epilepticus. *Int J Mol Sci.* 2022 Feb 24;23(5):2510. doi: 10.3390/ijms23052510. PMID: 35269653; PMCID: PMC8910300 (IF:6,208/2022, 0 citací)

Kútna, V; Uttl, L; Waltereit, R; Krištofiková, Z; Kaping, D; Petrásek, T; Hoschl, C; Ovsepian, S V. (2019). Tuberous Sclerosis (*tsc2*<sup>+/-</sup>) Model Eker Rats Reveals Extensive Neuronal

Loss with Microglial Invasion and Vascular Remodeling Related to Brain Neoplasia. *Neurotherapeutics*, (), -. doi:10.1007/s13311-019-00812-6 (IF: 7,62/2020, 8 citací)

Zach P, Mrzilková J, Pala J, **Uttl L**, Kútina V, Musil V, Sommerová B, Tůma P (2019) New Design of the Electrophoretic Part of CLARITY Technology for Confocal Light Microscopy of Rat and Human Brains *Brain Sci.* 2019 Aug 29;9(9):218. doi: 10.3390/brainsci9090218 (IF: 3,4/2019 1 citace)

Fabera P, Parizkova M, **Uttl L**, Vondrakova K, Kubova H, Tsenov G and Mares P (2019) Adenosine A1 Receptor Agonist 2-chloro- N6-cyclopentyladenosine and Hippocampal Excitability During Brain Development in Rats. *Front. Pharmacol.* 10:656. doi: 10.3389/fphar.2019.00656 (IF:4,225/2019, 5 citací)

**Uttl L**, Petrásek T, Sengul H, Svojanovská M, Lobellová L, Tsenov G, Valeš K, Kubová H, Mikulecká A, Svoboda J, and Stuchlík A (2018) Chronic MK-801 Application in Adolescence and Early Adulthood: A Spatial Working Memory Deficit in Adult Long-Evans Rats but No Changes in the Hippocampal NMDA Receptor Subunits. *Front. Pharmacol.* 9:42. doi:10.3389/fphar.2018.00042 (IF:3,845/2018, 24 citací)

Šíchová K, Pinterová N, Židková M, Horsley RR, Lhotková E, Štefková K, Vejmla Č, **Uttl L**, Balíková M, Kuchař M and Páleníček T (2018) Mephedrone (4-Methylmethcathinone): Acute Behavioral Effects, Hyperthermic, and Pharmacokinetic Profile in Rats. *Front. Psychiatry* 8:306. doi: 10.3389/fpsy.2017.00306 (IF: 3,12/2018, 19 citací)

Štefková K, Židková M, Horsley RR, Pinterová N, Šíchová K, **Uttl L**, Balíková M, Danda H, Kuchař M and Páleníček T (2017) Pharmacokinetic, Ambulatory, and Hyperthermic Effects of 3,4-Methylenedioxy-N-Methylcathinone (Methylone) in Rats. *Front. Psychiatry* 8:232. doi: 10.3389/fpsy.2017.00232 (IF: 2,74/2017, 23 citací)

Vondráková, K., **Uttl, L.**, Kubova, H., Tsenov, G., Kačer, P. Mikrodialýza a hmotnostní spektrometrie jako klíč k monitorování metabolitů v nezralém mozku. *Chemické listy.* 2017, 111(1), 66-69. ISSN 0009-2770. (IF: 0,25/2017, 0 citací)

### **10.2.1. Recenzované publikace bez IF**

**Uttl, L.**, Vondráková, K., Zlámalová, E., Tsenov, G., Kačer, P. Metabolomické mapování jako nástroj k porozumění molekulární podstaty závislosti a ke zjištění adiktologického potenciálu nových syntetických drog. *Bioprospect*. 2016, 26(4), 84-87. ISSN 1210-1737.

### **10.2.2. Popularizační články**

**Uttl, L.**, Kútna, V. Srovnání vývoje potkana a člověka. *Vesmír*. 2016, 95 (146) (5), 285. ISSN 0042-4544

Rydziková T., Tylš, F., **Uttl, L.** Jak může jediný „trip“ změnit osobnost. *Vesmír*, on-line články. 2016 link: <https://vesmir.cz/cz/on-line-clanky/2016/05/jak-muze-jediny-trip-zmenit-osobnost.htm>

## **11.PŘÍLOHA – ORIGINÁLY PLNÝCH TEXTŮ PUBLIKACÍ**