

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Studijní program: Biologie
Studijní obor: Fyziologie živočichů



Bc. Pavlína Nováková

**ROLE KANABINOIDNÍHO SYSTÉMU V NEUROBIOLOGII A LÉČBĚ
PSYCHOTICKÝCH ONEMOCNĚNÍ - EXPERIMENTÁLNÍ STUDIE V
ANIMÁLNÍCH MODELECH PSYCHÓZ**

THE ROLE OF CANNABINOID SYSTEM IN NEUROBIOLOGY AND THERAPY OF
PSYCHOTIC DISORDERS – AN EXPERIMENTAL STUDY
IN ANIMAL MODELS OF PSYCHOSIS

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: MUDr. Tomáš Páleníček, PhD.

Praha, 2014

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

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

V Praze dne 2014

.....
Bc. Pavlína Nováková

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě děkuji vedoucímu mé práce MUDr. Tomášovi Páleníčkovi, PhD. za čas, který obětoval korekci textu, analýze a statistickému zpracování EEG dat ze svého nabitého programu a vedoucí laboratoře RNDr. Daniele Řípové, CSc., že mi umožnila v laboratoři pracovat. Dále bych chtěla zejména vyjádřit vděčnost svému kolegovi, MUDr. Filipovi Tylšovi, který mi po vědomostní, metodické i lidské stránce pomohl stát se plnohodnotným členem týmu Laboratoře biochemie a patofyziologie mozku Psychiatrického centra Praha a který se spolu s MUDr. Michaelou Fujákovou a Lukášem Kadeřábkem podílel na operacích a odečítání pro EEG experimenty.

Chci též vyjádřit vděčnost docentce Balíkové a Mgr. Tomáši Hložkovi z Ústavu soudního lékařství a toxikologie 1. LF UK za analytické zpracování farmakokinetických vzorků.

Za pomoc děkuji emeritnímu profesorovi zoologie Tel Avivské Univerzity Ilanu Golanovi a zejména jeho studentovi Yairmu Wexlerovi, bez něhož si komponentovou analýzu chování v testu otevřeného pole nedokážu představit.

Děkuji též MUDr. Tomáši Novákovi, PhD. za pomoc se statistickou analýzou dat. Data z testu otevřeného pole, prepulzní inhibice, odečítání EEG a farmakokinetiky byla získána za přispění laboratorních pracovníků PCP, jmenovitě Ing. Evy Lhotkové, Věry Vernerové, Dany Budínové a Kateřiny Horníkové. Tato práce byla podpořena granty VG20122015075, VG20122015080, NT/13897 a RVO-PCP/2012.

Nemohu opomenout vyjádřit vděk rodině a přátelům za jejich emocionální a ekonomickou pomoc, bez které si své studium ani vznik této práce nedovedu představit.

ABSTRAKT

Ve světě je téma užívání kanabisu a jeho vztahu k psychóze velmi žhavou a intenzivní oblastí výzkumu. Vzhledem k faktu, že ČR patří mezi země s nejvyšší prevalencí užívání konopí (kanabisu) na světě, je tato otázka velmi citlivou záležitostí i v našich podmínkách. V teoretické části této práce jsme se pokusili shrnout současné poznatky týkající se vztahu mezi kanabinoidním systémem, užíváním konopí a psychózou a současně poukázat na budoucí možné terapeutické využití kanabinoidů v léčbě psychotických onemocnění. V praktické části práce jsme se zaměřili na ověření propsychotických vlastností THC v animálním modelu s důrazem na otázku, zda akutní subkutánní podání této látky může sloužit jako nový kanabinoidní model psychózy. Současně jsme také zjišťovali, zda v tomto modelu CBD vykazuje antipsychotické účinky. Dané hypotézy jsme ověřovali ve dvou behaviorálních testech (test otevřeného pole, PPI ASR) a pomocí elektrofyziologické metody (kvantitativní EEG). Celá analýza byla doplněna o farmakokinetiku kanabinoidů po subkutánním a perorálním podání.

KLÍČOVÁ SLOVA: kanabis; THC; CBD; psychóza; endokanabinoidní systém; test otevřeného pole; PPI ASR; kvantitativní EEG; farmakokinetika

ABSTRACT

Throughout the scientific world the topic of cannabis usage and its link with psychosis seems to be discussed intensively. Considering the fact that the Czech Republic is a country with one of the highest prevalence of cannabis usage in the world it becomes a sensitive issue even in our circumstances. In the theoretical part of the work we attempted to review current knowledge of a link between cannabinoid system, cannabis usage and psychosis and to point out possible future therapeutic potential of cannabinoids in the treatment of psychotic diseases. In the practical part of the work we focused on verification of propsychotic features of THC in animal model with particular attention to validation of acute subcutaneous administration of this drug as a novel cannabinoid model of psychosis. At the same time we tried to elucidate antipsychotic effect of CBD in this model. We tested these hypotheses in two behavioral tests (open field test, PPI ASR) and electrophysiologically (quantitative EEG). The whole analysis is enriched with pharmacokinetic data from subcutaneous and oral administration of cannabinoids.

KEY WORDS: cannabis; THC; CBD; psychosis; endocannabinoid system; open field test, PPI ASR; quantitative EEG; pharmacokinetics

1	ÚVOD	6
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	8
2.1	Neurobiologie psychotických onemocnění	8
2.1.1	Etiologie	8
2.1.2	Klinické příznaky	10
2.1.3	Léčba	12
2.2	Modely schizofrenie	13
2.2.1	Vývojové modely psychóz	13
2.2.2	Genetické modely psychóz	14
2.2.3	Farmakologické modely psychóz	14
2.3	Kanabis, farmakokinetika a dynamika kanabinoidů, endokanabinoidní systém	20
2.4	Neurobiologie kanabisové psychózy	22
2.4.1	Má kanabis propsychotické účinky?	22
2.4.2	Jakými mechanismy způsobuje akutní a chronické psychotické příznaky?	27
2.5	Role kanabinoidního systému v léčbě psychotických onemocnění	28
2.5.1	Kanabidiol	28
2.5.2	Rimonabant	32
2.5.3	Mechanismus antipsychotického působení kanabinoidů	33
3	CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE	36
4	MATERIÁL A METODY	36
4.1	Experimentální zvířata	36
4.2	Experimentální látky	36
4.3	Experimentální postupy	37
4.3.1	Farmakokinetické experimenty	37
4.3.2	Behaviorální experimenty	38
4.3.3	EEG experimenty	40
4.3.4	Statistika	42
5	VÝSLEDKY	44
5.1	Farmakokinetika	44
5.2	Behaviorální experimenty	46
5.2.1	Test otevřeného pole	46
5.2.2	Prepulzní inhibice akustické úlekové reakce	48
5.3	EEG experimenty	50
5.3.1	Srovnání s baseline za použití párového t-testu	50
5.3.2	Srovnání v rámci skupin použitých látek pomocí ANCOVA	51
5.3.3	EEG koherence	51
6	DISKUZE	53
7	ZÁVĚR	57
8	LITERATURA	58

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

CB ₁ R; CB ₂ R	kanabinoidní receptor 1 a 2
EEG	elektroencefalogram
APG	antipsychotika první generace
ADG	antipsychotika druhé generace
LSD	diethylamid kyseliny lysergové
THC	delta-9-tetrahydrokanabinol
PPI ASR	prepulzní inhibice akustické úlekové reakce
PCP	fencyklidin
MK-801	dizocilpin
CBD	kanabidiol
CNS	centrální nervová soustava
PANSS	Positive and Negative Syndrome Scale ¹
CADSS	Clinician Administered Dissociative States Scale ²
CAPE	Community Assessment of Psychic Experiences ³
BPRS	Brief Psychiatric Rating Scale ⁴
RR	relative risk
OR	odds ratio
CSF	cerebrospinální tekutina
FAAH	amidohydroláza mastných kyselin

¹ příklad: http://www.emotionalwellbeing.southcentral.nhs.uk/resources/doc_download/62-panss-positive-and-negative-syndrome-scale-pdf-document

² příklad: http://www.psychiatry.emory.edu/documents/research/CADSS_Instructions.pdf.

³ příklad: <https://www.ontrack.org.au/site/quiz/psychosis/weird-stuff>

⁴ příklad: http://www.public-health.uiowa.edu/icmha/outreach/documents/bprs_expanded.pdf

1 ÚVOD

Díky své specifčnosti patří schizofrenie k vůbec prvním popsaným duševním poruchám. Mezi první ustálený název moderní medicíny pro toto onemocnění patří *dementia praecox* (předčasná demence), poprvé použitý doktorem Emilem Kraepelinem v roce 1896. Samotný termín *schizofrenie* je více než 100 let starý – formulován byl v roce 1911 švýcarským psychiatrem Eugenem Bleulerem, který nesouhlasil s Kraepelinem v tom, že onemocnění je demence v klasickém slova smyslu a že se objevuje pouze v adolescenci. Dával přitom důraz na rozvolnění asociací a rozvrat mezi kognitivními funkcemi a emocemi (Peralta and Cuesta 2011).

V moderním pojetí s přesně definovanými diagnostickými kritérii bylo možné stanovit základní epidemiologické parametry této choroby. Incidence schizofrenie je přibližně 15 nových případů na sto tisíc obyvatel za rok s celoživotní prevalencí 4 případů na tisíc osob (Tandon et al. 2008). Vzhledem k vysokému podílu dědičnosti, zvýšené mortalitě, sníženým reprodukčním schopnostem a celkové redukci zdatnosti jedince je zajímavé klást si otázku, jak je možné, že se rizikové geny v populaci stále udržují – otázku, která je známá jako evoluční paradox. Řešením by mohly být nedávné poznatky, že geny asociované se zvýšeným rizikem vzniku choroby prošly nedávno intenzivní pozitivní selekcí, takže schizofrenie by mohla být vedlejší produkt selekce na zlepšení lidských kognitivních schopností (Crespi et al. 2007).

Schizofrenie je onemocnění, na jehož etiopatogenezi existuje více úhlů pohledu (vývojový, genetický, neurochemický, funkční konektivita). Z neurochemického hlediska se nejčastěji hovoří o dysfunkci v neurotransmiterových systémech dopaminergním, serotonergním a glutamatergním (Hirvonen and Hietala 2011). V poslední době je v souvislosti s tímto onemocněním ovšem pozornost věnována též systému kanabinoidnímu, jenž je jedním z hlavních zpětnovazebných regulátorů dějů na synapsi. Bylo prokázáno, že u schizofreniků je narušena fyziologická distribuce kanabinoidních receptorů CB₁ a CB₂ v mozku (CB₁ R a CB₂ R) a hladiny endokanabinoidů, endogenních ligandů těchto receptorů, jsou pozměněny. Navíc exogenní modulace tohoto systému pomocí fytokanabinoidů a syntetických kanabinoidů s agonistickým účinkem na kanabinoidních receptorech vede k indukci experimentální psychózy u lidí a k indukci psychóze podobných příznaků u zvířat (Nováková et al. 2014). V tomto ohledu jsou kanabinoidy velmi podobné halucinogenům, disociativním anestetikům a stimulantům, které se používají jako ustavené farmakologické modely schizofrenie opírající se právě především o fenomenologickou podobnost akutní intoxikace u lidí (experimentální psychóza) se schizofrenní symptomatologií (Horáček et al. 2013; Tyls et al. 2014). U nemocných

schizofrenií pak kanabinoidní agonisté zhoršují symptomatiku. Současně se z epidemiologického hlediska ukazuje, že dlouhodobé užívání kanabisu zejména u adolescentů několikanásobně zvyšuje pravděpodobnost vzniku psychotické poruchy včetně schizofrenie v pozdějším věku (Nováková et al. 2014).

Zatímco ve studiích s lidskými dobrovolníky jsme při modelování psychóz významně omezeni z hlediska použití různých metodických přístupů a farmakologických intervencí, animální modely nám umožňují mnohem širší škálu experimentů. Ačkoliv je schizofrenie typicky lidské onemocnění, lze hledat paralely mezi některými měřitelnými parametry i v animálních modelech psychóz. Jeden z těchto parametrů je funkční konektivita mozku. Na schizofrenii se v poslední době nahlíží jako na diskonekční syndrom (Friston and Frith 1995), tedy stav kdy různé oblasti mozku mají narušenou vzájemnou funkční konektivitu. Tato diskonekce je hodnotitelná různými funkčně zobrazovacími metodami, mezi jinými i pomocí elektrofyziologických metod. Tato práce bude zaměřena právě na změny ve funkčních vztazích a v propojení kortikálních oblastí po aplikaci kanabinoidů. Tyto změny budou studovány pomocí spektrální a koherenční analýzy elektroencefalografických (EEG) záznamů a budou doplněny analýzou behaviorálních parametrů.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 NEUROBIOLOGIE PSYCHOTICKÝCH ONEMOCNĚNÍ

2.1.1 Etiologie

Přes velký technologický pokrok v posledních 20 letech etiologii schizofrenie neznáme. Neexistuje jedna dostačující a nezbytná příčina onemocnění. Neobejdeme se bez předpokladu multifaktoriální etiologie a mnohočetných patogenetických vlivů. Byly zformovány etiologické hypotézy infekční, genetické, biochemické, hypotézy, které se týkají metabolismu lipidů, imunitní odpovědi, nebo takové, které vidí ve schizofrenii selhání psychologických obranných procesů a zhroucení mezilidské komunikace (Tandon et al. 2008). Samotný proces vzniku onemocnění chápeme od poloviny 70. let jako důsledek vzájemného působení dvou faktorů: dispozice („vulnerability“) a zátěže („stress“). Podle této teorie dědičná a/nebo získaná vloha disponuje k selhání adaptivních funkcí duševního života pod vlivem zátěže (Lieberman 1998).

2.1.1.1 GENETICKÉ VLIVY

Pro roli genetické vlohy při vzniku schizofrenie svědčí nahromadění výskytu schizofrenie v rodinách, data ze studií na dvojčatech, data z adopčních studií a některé výsledky studia genetické vazby. Přestože genetický základ choroby je široce uznávaným faktem, přesný mechanismus dědičnosti zůstává neodhalen.

Do 60. let 20. století se agregace choroby v rodinách vysvětlovala rodinnou dynamikou a interakcí, přestože byl již dlouho navržen genetický základ tohoto onemocnění. K definitivnímu vysvětlení přispěli studie rizika schizofrenie u adoptovaných potomků, kdy výsledky ukázaly, že riziko schizofrenie pro potomky bylo spojeno s přítomností choroby u biologických rodičů, ale ne u adoptivních (Heston 1966; Kety 1968). Ze studií na dvojčatech konzistentně vyplývá, že konkordance pro sledovanou chorobu u monozygotních dvojčat byla více než třikrát větší (40 – 50 %) než u dizygotních dvojčat a příbuzných prvního stupně (10 – 15 %) (Sullivan et al. 2003) (viz. *Tabulka 1*).

Tabulka 1: Odhady relativního rizika schizofrenie v důsledku působení genetických faktorů (Sullivan et al., 2003).

rizikový faktor	průměrné relativní riziko (%)
pozitivní rodinná anamnéza	2 – 70
monozygotní dvojčata	50 – 70
oba rodiče postižení	40 – 60
dizygotní dvojčata, příbuzní prvního stupně	9 – 18
příbuzní druhého stupně (např. prarodiče)	3 – 6

Vazebné analýzy, které se zaměřují na identifikaci oblastí genomu, jež jsou sdíleny výhradně mezi postiženými členy rodin s vysokým výskytem choroby, odhalily více než 20 chromozomových segmentů obsahujících geny, které podmiňují náchylnost ke schizofrenii (Lewis et al. 2003). Nevýhodou vazebných analýz je fakt, že neidentifikuje konkrétní geny – v chromozomových segmentech, které jsou zmíněny výše, je obsaženo přibližně 4000 genů. V současné době největší přesnosti v určování kandidátních genů dosahují celogenomové asociační studie (GWAS = Genome-Wide Association Studies), které se za pomoci sekvenačních technik nové generace na vzorcích obrovských kohort snaží hodnotit vztah mezi specifickými genovými variantami (zejména jednonukleotidovými polymorfizmy, SNP = single nucleotide polymorphism) a rizikem vzniku schizofrenie. Mezi takto zjištěné kandidátní geny, u kterých byla prokázána větší či menší asociace se schizofrenií, patří geny pro proteiny účastníci se buněčné signalizace (gen *DISC1*, *DISC2*, *FOXP2*, *RELN*, *NRG1* a jiné) a udržování struktury synapsí (gen *DTNBP1*, *NPTN* a další), pro receptory (gen *DRD2/3/4*, *GRIN1/2A/2B*, *HTR7* a jiné) a enzymy metabolismu neurotransmiterů (gen *COMT*, *MAOB*, *GADI* a další). S výjimkou genu *NRG1* zůstává interpretace většiny zbývajících nálezů nejednoznačná až kontroverzní (Šťastný and Balcar 2008). Mnohem spolehlivější snadno replikovatelné asociace přináší série studií z posledních čtyř let, v nichž celogenomový práh signifikance překročilo hned několik SNP v oblasti genů pro proteiny účastníci se neurální vápníkové signalizace, v MHC oblasti na chromozomu 6, v genu pro miRNA *MIR137* a v genu *TCR4* pro transkripční faktor 4 účastníci se regulace vývoje nervové soustavy (Schwab and Wildenauer 2013). Bioinformatická analýza protein-proteinových interakcí produktů těchto genů ukázala, že tvoří vysoce propojenou interakční síť ve středu obohacenou zejména o proteiny účastníci se skládání nukleozomů, zpracování a prezentace antigenu a imunitní odpovědi jako celku (Luo et al. 2013). Podíl imunitní složky potvrzují i transkriptomické studie z posledních let, které detekovaly diferenciální expresi v genech, jejichž produkty se účastní (mimo jiné) zánětu, autoimunitních reakcí a obrany proti infekčním chorobám (Mistry et al. 2013; Sanders et al. 2013).

V současné době dominuje názor, že schizofrenie je z genetického hlediska heterogenní, polygenní/multifaktoriální choroba podmíněná mnohými běžnými genetickými polymorfizmy, z nichž každý přispívá malou měrou k celkové náchylnosti k rozvoji onemocnění. Posledním trendem současnosti je snaha integrovat do tohoto pohledu abnormální epigenetické stavy superponované na zmíněný model, které vznikají v důsledku interakce genů s prostředím a

poskytují tak mechanistický rámec pro integraci faktorů prostředí do vysvětlení rizika vzniku schizofrenie (Svrakic et al. 2013).

2.1.1.2 VLIVY PROSTŘEDÍ

Vzhledem k tomu, že výskyt schizofrenie ani u monozygotních dvojčat nedosahuje 100 % shody, je nutno do genetických modelů inkorporovat vliv prostředí. Zahrnuje biologické i psychosociální rizikové faktory působící v kritických vývojových periodách prenatálního a perinatálního období, v dětství, adolescenci a rané dospělosti.

V prvním a raném období druhého trimestru se jedná zejména o infekce (např. toxoplazma, rubella, chřipka a jiné), autoimunitní reakce (např. inkompatibilita Rh faktoru), nerovnováhu živin (např. podvýživa, moc/málo vitamínu D) a výskyt toxických látek (např. olovo, vysoká hladina homocysteinu) u matky. Stejně tak přispívají i porodní a perinatální komplikace asociované zejména s hypoxií. Krom maternálních vlivů existuje i asociace zvýšeného rizika s vysokým věkem otce (Svrakic et al. 2013).

Byla navržena řada faktorů působících v dětství a adolescenci, které přispívají ke zvýšení rizika vzniku schizofrenie – trauma, úraz hlavy, separace či rozvod rodičů, smrt blízkého, přísná výchova, infekce, konzumace drog a jiné (Tandon et al. 2008). Skutečný kauzální vliv těchto faktorů je ale omezen diskrepancemi mezi studiemi a metodologickými omezeními. Existuje však velmi silná asociace s vyrůstáním ve městě, migrací a etnicitou. Všechny tři faktory souvisí s tím, do jaké míry je osoba součástí minority ve vztahu k širšímu sociálnímu kontextu, čímž může být vystavena diskriminaci, sociální marginalizaci, stavu podřízenosti a jinému chronickému sociálnímu stresu (van Os et al. 2010).

2.1.2 Klinické příznaky

Konsensus v oblasti nezbytných kritérií, které musí být splněny pro definitivní diagnózu schizofrenie, byl dosažen v podobě diagnostických manuálů a existuje široce pojatá shoda v oblasti jejich obecných klinických rysů. Tento velmi různorodý soubor je klasifikován do klastrů – pozitivní, negativní, kognitivní a afektivní symptomy. Jednotlivé příznaky mohou být různě prominentní v odlišných fázích choroby a u jednotlivých forem onemocnění.

2.1.2.1 POZITIVNÍ SYMPTOMY

Zahrnují skupinu projevů, která je znakem výrazné distorze vnímání a prožívání reality. Patří sem bludy, což jsou pevná přesvědčení vznikající na chorobném podkladě, která nelze vyvrátit ani kontradiktorními důkazy. Jedná se především o tři kategorie: makromanické (velikášské) –

megalomanické (zvláštní význam vlastní osoby), extrapotenční (nadpřirozené schopnosti), originární (vznešený původ), inventorní (sestrojení či objev mimořádného vynálezu), religiózní (spasitel, příkazy od Boha); mikromanické (pocit malosti) – insuficientní (přesvědčení o neschopnosti), autoakuzační (sebeobviňování), úkorné (pocit zbytečnosti), hypochondrické (přítomnost choroby), dysmorfofobické (znetvoření části těla); paranoidní – paranoidně-perzekuční (pronásledování, posměch), referenční (gesta, komentáře, značky, písně a jiné součásti prostředí mají speciální význam), emulační (nevěra partnera). Krom bludů se jedná též o halucinace, nejčastěji pak sluchové – pacient slyší hlasy, které si mezi sebou povídají, komentují jeho jednání, případně vyhrožují, obviňují nebo příkazují. Zjevná je též dezorganizace myšlení (rozvolnění asociací, myšlenky nenásledují logicky, ztráta obsahové souvislosti, roztržité) s myšlenkovými zárazy, jež je podkladem dezorganizace slovního projevu (přeskakování z tématu na téma bez zjevné souvislosti, neologismy, rozpad koherence, zárazy) a chování (Tandon et al. 2009). Z neurobiologického hlediska jsou tyto symptomy vysvětlovány jako hyperaktivita mezolimbických dopaminergních drah (Keshavan et al. 2008).

2.1.2.2 NEGATIVNÍ SYMPTOMY

Jsou charakterizovány jako oploštěný afekt (redukováná intenzita a rozsah emočního výrazu vyjádřeného jako neverbální komunikační kanály zahrnující intonaci, výraz tváře, gesta rukou a pohyby těla), alogie (snížená kvantita, spontánnost a plynulost hlasového projevu), abulie (deficity v započítání a pokračování v cílené aktivitě jako práce, studium, sport, osobní hygiena a denní úkony, které vyžadují kognitivní či fyzickou snahu a organizaci), anhedonie (anticipační – chybí schopnost těšit se na příjemný zážitek, konzumační – neschopnost prožít příjemný pocit při zážitku) a sociální stažení (snížený zájem, motivace a ocenění sociálního kontaktu, absence potřeby navazovat intimní vztahy) (Millan et al. 2014). Podstata těchto deficitů není známa, pravděpodobně je vznik podmíněn multifaktoriálně.

2.1.2.3 KOGNITIVNÍ SYMPTOMY

Identifikováno bylo sedm kognitivních domén obvykle narušených u pacientů se schizofrenií. Jedná se o pozornost, pracovní paměť, hledání kauzálních vztahů a řešení problémů, rychlost zpracování informací, vizuální a verbální učení a paměť a sociální kognice (Nuechterlein et al. 2004). Patofyziologie těchto deficitů není objasněna.

2.1.2.4 AFEKTIVNÍ SYMPTOMY

Kromě pozitivních, negativních a kognitivních symptomů se u pacientů se schizofrenií projevují i afektivní. Uvádí se, že deprese ve formě diagnózy či v subklinických projevech je přítomná v 80 % případů, zatímco mánie pouze u 20 %. Depresivní komponenta se po odeznění psychotické symptomatologie dostává více do popředí ve formě postpsychotické deprese. Častým doprovodným jevem iniciálních stádií choroby je též úzkost se znaky sociální fobie, obsedantně kompulzivní choroby či panické poruchy. Pacienti s afektivními symptomy mají vyšší riziko relapsu psychózy, hospitalizace a sebevraždy. Z neurochemického hlediska se pravděpodobně jedná o podobný deficit noradrenalinu, dopaminu a/nebo serotoninu v oblasti prefrontálního kortexu jako u klasické depresivní poruchy (Harvey 2011).

2.1.3 Léčba

Jeden z největších úspěchů praktické aplikace poznatků neurobiologie byl objev chlorpromazinu v 50. letech 20. století jako vůbec prvního léku schopného efektivně léčit příznaky schizofrenie a vytvořit tak podmínky k částečné deinstitucionalizaci péče. Druhým průlomem byl objev klopazinu v 60. letech jako vůbec prvního zástupce lépe tolerované skupiny antipsychotik druhé generace (ADG). Tyto dvě události se staly hlavními milníky ve farmakoterapii schizofrenie jak z hlediska přímého klinického užití, tak jako inspirační zdroj ve vývoji podobných preparátů a jako zdroj poznatků o neurobiologii tohoto onemocnění.

Antipsychotika první generace (APG), také nazývaná typická, vykazují vysokou afinitu k D₂ receptoru v mesolimbickém systému, na kterém působí jako plní antagonisté. Jejich užívání je spojeno s vysokým výskytem extrapyramidových příznaků (např. dystonie, akatizie, tarditivní dyskineze aj.) a hyperprolaktinémie (provázená sexuální dysfunkcí a gynekomastií). Schopnost APG redukovat pozitivní příznaky a riziko relapsu výrazně zlepšila klinické vyhlídky mnoha pacientů se schizofrenií. Avšak přibližně 30 % procent pacientů v akutní fázi onemocnění na podání APG neodpovídá vůbec a až 50 % pouze částečně. Navíc APG mají pouze omezený účinek na negativní a kognitivní symptomy (Miyamoto et al. 2012).

ADG jsou tzv. atypická antipsychotika, u nichž se dříve zdálo, že jsou charakterizována nejen širším spektrem klinické účinnosti, ale i lepší snášenlivostí. V současné době je prokázaným faktem, že ADG se příliš neliší od APG v oblasti compliance, kvality života a efektivity (Naber and Lambert 2009). Koncept jejich atypičnosti se promítá do jejich odlišného chování na dopaminovém receptoru, jejich širšího farmakodynamického profilu a výrazně místně specifitější vazby, která omezuje výskyt nežádoucích účinků spojených s užíváním APG. Druhou významnou odlišností je i vysoká afinita k serotoninovým receptorům, zejména pak k 5-HT_{2A} receptorům, na kterých působí antagonisticky. Dle klasifikačních kritérií se takovéto

látky nazývají serotoninoví a dopaminoví antagonisté (SDA). Kromě toho však některá ADG vykazují výraznou afinitu též k cholinergním, histaminergním a jiným receptorům – ty pak nazýváme multireceptoroví antagonisté (MARTA). Naopak úzkým farmakodynamickým profilem se vyznačují selektivní D₂/D₃ antagonisté. Novým farmakologickým faktorem, který může zajistit vyšší bezpečnost i efektivitu léčebného ovlivnění schizofrenie a dalších psychóz, se zdá být parciální D₂ receptorová agonistická aktivita vykazovaná aripiprazolem, který je někdy proto nazýván antipsychotikum třetí generace (Horacek et al. 2006).

Avšak ani ADG bohužel uspokojivě nepřispívají k úlevě od perzistujících negativních a především kognitivních symptomů. K řešení těchto problémů je zaměřen současný intenzivní výzkumný zájem, přičemž testováno bylo mnoho různých přístupů s větší či menší úspěšností a případná úspěšná látka má potenciál do budoucna jako adjuvans ke klasické monoterapii schizofrenie (Citrome 2014).

2.2 MODEL Y SCHIZOFRENIE

Všechny modely by měly mít příslušnou triádu fenomenologické (homologie symptomů), konstrukční (schopnost replikovat předpokládanou etiopatogenezi choroby) a prediktivní (schopnost poskytovat nové informace ve vztahu k onemocnění, např. účinnost látek jako potenciálních antipsychotik) validity (Jones et al. 2011). Je zjevné, že čím více typů validity model splňuje, tím větší je jeho hodnota, užitečnost a relevance ve vztahu k symptomům pacientů. Většinou nelze zajistit všechny validity v jednom modelu, je ovšem nezbytné vyjádřit, jakou má daný model platnost a za jakým účelem byl vytvořen a použit.

Nedávno bylo odhadnuto, že bylo celkem vytvořeno 20 různých animálních modelů schizofrenie. Všechny lze zařadit do tří různých indukčních kategorií: vývojové, genetické a farmakologické (viz. kapitola 2.2.3). U lidí se setkáváme pouze s využíváním farmakologických modelů psychóz vyvolaných použitím psychotropně působících látek.

2.2.1 Vývojové modely psychóz

Vývojové animální modely schizofrenie využívají k vytvoření ireverzibilních změn ve vývoji centrální nervové soustavy manipulace s faktory prostředí a podávání látek během senzitivní periody, např.: narušení neurogeneze během kritického gestačního období, léze ventrálního hipokampu v neonatálním období, sociální izolace po narození a perinatální či mateřská imunitní aktivace apod. Dlouhodobé behaviorální změny se obvykle projeví v období pozdní

adolescence, čímž zachovávají chronologii vzniku symptomatologie pozorované u schizofrenie (Lewis and Levitt 2002).

2.2.2 Genetické modely psychóz

Genetické modely jsou založeny na transgenních myších, jimž byly knock-outovány geny, jejichž význam v souvislosti s rizikem a genezí schizofrenie byl prokázán v celogenomových asociačních studiích. Zvláštní důraz je kladen na vytvoření modelů, které vykazují jednotlivé specifické endofenotypy choroby, což jsou stabilní a měřitelné znaky, jež přemost'ují mezeru mezi geny a vnějšími projevy nemoci. Mezi hlavní genetické modely, které významně přispěly k pochopení patofyziologie schizofrenie patří myši, jimž byl knock-outován gen *DISC1*, *NRG1*, *DTNBP1* a *RLN* (O'Tuathaigh and Waddington 2010).

2.2.3 Farmakologické modely psychóz

2.2.3.1 HUMÁNNÍ MODELY

Psychoaktivní látky, jejichž účinky vyvolávají příznaky podobné psychóze u zdravých dobrovolníků a vedou obvykle k exacerbaci symptomů i u jinak zaléčených schizofreniků, jsou využívány v humánním farmakologickém výzkumu. Počátky výzkumu účinku psychomimetických látek na lidské subjekty leží již v 19. století, kdy si francouzský psychiatr Jacques-Joseph Moreau uvědomil fenomenologickou podobnost projevů intoxikace hašišem s endogenní psychózou a využil tento potenciál k modelování psychotických stavů na zdravých dobrovolnících i pacientech (Russo 2001). Na počátku 40. let 20. století, kdy Albert Hofmann náhodně objevil halucinogenní účinky diethylamidu kyseliny lysergové (LSD) a okamžitě si také uvědomil jejich význam pro použití v psychiatrii jako adjuvans psychoterapie, pro účely autodidaktické intoxikace a k výzkumnému modelování psychózy, došlo k explozivnímu nárůstu zájmu o psychedelika (Winkler and Csemy 2014). Objev endokanabinoidních receptorů a jejich endogenních ligandů spolu s objasněním fungování kanabinoidního systému na přelomu století vzkřísilo zájem o podstatu psychotomimetického potenciálu kanabinoidů (Bossong and Niesink 2010).

V současnosti jsou k modelování psychózy ve výzkumu u lidí využívány především amfetamin a kokain (model dopaminergní), disociativní anestetikum ketamin (model glutamatergní) a psilocybin (model serotonergní), v posledním desetiletí roste zájem i o delta-9-tetrahydrokanabinol (THC) (viz. kapitola 2.2.3.2.5). Akutní podání ketaminu vede k projevům pozitivních, negativních i kognitivních symptomů, v čemž se ukazuje jeho výhoda

oproti modelům dopaminergním a serotoninergním, kde negativní a kognitivní symptomy nejsou prominentní (Young et al. 2010). U stimulantů se jedná zejména o euforii, zvýšení energie, vitality a blaženosti, zvýšení pozornosti, hovornost, emoční labilitu, agresivitu až paranoii (O'Daly et al. 2014). Charakteristické účinky intoxikace serotoninergními halucinogeny (LSD, psilocybin) zahrnují změny smyslového vnímání (stavy podobné snu, iluze, halucinace, synestázie) a vnímání vlastního já, derealizace, depersonalizace, narušené vnímání času a prostoru, neobvyklé obsahy myšlení, změny nálady, symptomy úzkosti a nervozity (Tyls et al. 2014). V porovnání s tím disociativní anestetikum ketamin vyvolává vizuální halucinace v menší míře, zatímco pocit ztráty fyzické integrity je naopak posílen (Javitt et al. 2012). Na rozdíl od animálních modelů a výsledků měření u pacientů se schizofrenií aplikace většiny psychedelik, stimulantů a disociativních anestetik nevede v humánních modelech k narušení senzomotorického zpracování informací měřeného v testu PPI, což vyvolává otázky o validitě tohoto parametru (Heekeren et al. 2007; Riba et al. 2002; Talledo et al. 2009; Vollenweider et al. 2007). Co se týče EEG, tak v modelech humánních po podání psilocybinu (Muthukumaraswamy et al. 2013) i ayahuascy (Stuckey et al. 2005) dochází ke globálnímu snížení EEG výkonu a koherencí. Po podání ketaminu u lidí je prominentní zejména vzestup gama oscilací, který koreluje s akutně psychotickým stavem u pacientů (Kocsis et al. 2013). Stimulanty kokain i amfetamin způsobily významné zvýšení EEG výkonu v pásmu alfa a beta (Herning et al. 1985; Lukas et al. 1989; Slattum et al. 1996).

2.2.3.2 ANIMÁLNÍ MODEL Y

Jak již bylo řečeno výše, schizofrenie reprezentuje pravděpodobně nejheterogennější duševní onemocnění, což komplikuje vývoj vhodných animálních modelů. Jejich nesporná výhoda spočívá v tom, že umožňují provádět invazivní monitorování strukturních a molekulárních změn kauzálně spojených se vznikem choroby, které se u lidských jedinců nedají hodnotit buďto vůbec nebo jen nepřímými metodami (např. farmakokinetika a dynamika látek přímo v mozkové tkáni, měření změn hladin neurotransmiterů in vivo, modelování deficitu s použitím toxických nox, cílené poškození mozkových struktur, genetické manipulace apod.) (Jones et al. 2011). Při modelování některých hlavních symptomů týkajících se tak unikátně lidských rysů jako je myšlení, učení a paměť nám nezbyvá než monitorovat výkon zvířat v určitých úlohách, které jsou navrženy tak, aby výsledky měření byly při použití translačního přístupu relevantní vůči hlavním symptomům. Můžeme hodnotit například elektrofyziologické parametry, dezorganizaci chování, senzomotorické zpracování informací, některé kognitivní funkce jako

například orientace v prostoru, krátkodobá a dlouhodobá paměť, schopnost úspěšně řešit logické úlohy a jiné (Young et al. 2010).

2.2.3.2.1 Behaviorální a elektrofyziologické parametry měřené v animálních modelech

2.2.3.2.1.1 Lokomoce měřená v testu otevřeného pole

Za normálních okolností potkani vykazují charakteristickou strukturu chování v otevřeném poli. Po umístění do arény se začnou pohybovat podél stěn a explorují čenicháním a vztyčováním se. Když jsou s prostorem více obeznámeni, vydávají se i do středu otevřeného pole, kde se cítí nejméně bezpečně. Po uplynutí několika minut jsou s prostorem na tolik obeznámeni, že se uchýlí do nejtemnější části prostoru, kde pak setrvávají po většinu času a začnou se čistit, což je známka habituace (Eilam and Golani 1989). V prostoru je místo, kde potkan zastavuje nejčastěji a tráví tam nejdelší kumulativní čas, které se nazývá základna. Ze základny podniká potkan tzv. exkurze do prostoru, které se skládají z fáze progresu a fáze prodlevy, kdy potkan skenuje okolí. Počet, délka a rychlost v rámci jednotlivých fází je charakteristická pro různé kmeny (Drai et al. 2001). Po experimentální manipulaci dojde z mnoha různých úhlů k narušení tohoto normálního chování. V modelech psychóz nejčastěji pozorujeme naprostou dezorganizaci všech těchto prvků, která se nejčastěji projevuje jako hyperlokomoce a dezorganizace pohybu v čase a prostoru, úbytek exploračních aktivit, vymizení habituace a výskyt stereotypních prvků. Tyto projevy je možné do značné míry považovat za modely pozitivních příznaků psychóz.

2.2.3.2.1.2 Senzorimotorické zpracování informací měřené v prepulzní inhibici

Narušení sensorimotorické zpracování informací je jedním z charakteristických symptomů popisovaných u schizofrenie. Jde ve své podstatě o narušení schopnosti filtrovat relevantní informace z prostředí. Dochází proto k přehlacení nevýznamnými podněty, převáží šum nad signálem (Braff 2001). Dá se hodnotit pomocí prepulzní inhibice akustické úlekové reakce (PPI ASR), což je evolučně velmi starý mechanismus měřitelný napříč různými druhy. Velikost úlekové reakce na neočekávaný intenzivní podnět, která je měřena jako motorická odpověď, je za normálních okolností zmenšena v případě, že je před hlavním podnětem (pulzem) předřazen v těsné časové blízkosti (milisekundách) lehce nadprahový podnět (prepulz). Toto zmenšení nazýváme prepulzní inhibice (Geyer et al. 2001).

Primární neuronální okruh regulující prepulzní inhibici se skládá ze struktur středního mozku (nucleus tegmentalis pedunculopontinus, colliculi superiores a inferiores) a mozkového kmene

(nucleus reticularis pontis caudalis). Na jádro středního mozku senapojuje okruh sekundární, který má hlavně regulační funkci. Zahrnuje zejména oblast bazálních ganglií (ventrální tegmentální oblast, nucleus accumbens, ventrální pallidum), která je pod vlivem mediálního prefrontálního kortexu, amygdaly, hipokampu a rafeálních jader. Hlavními neurotransmitery, které hrají důležitou roli v tomto okruhu, jsou glutamát a dopamin. Jistou roli má též acetylcholin a serotonin (Dissanayake et al. 2013).

2.2.3.2.1.3 Elektrická aktivita mozku měřená pomocí kvantitativního elektroencefalogramu

Kvantitativní EEG může poskytnout nový a zásadní pohled na elektrofyziologické změny indukované podáním farmakologických látek. Zatímco spektrální EEG analýza popisuje distribuci napětí/výkonu v jednotlivých frekvenčních pásmech pro každou elektrodu, EEG koherence představuje kvantitativní míru korelace mezi dvěma EEG signály ve frekvenční doméně, přičemž tím poukazuje na anatomické a/nebo funkční spojení mezi různými oblastmi mozku pod elektrodami. EEG koherence je tím pádem mírou funkční konektivity mezi dvěma oblastmi. U schizofrenie byla prokázána řada abnormalit – ve spektrální analýze je poměrně často popisován nárůst pomalovlnných aktivit (delta, theta), především ve frontální oblasti, což nedávná souhrnná studie navrhla jako spolehlivý diagnostický indikátor schopný nejen rozlišit pacienty od kontrolních subjektů, ale i od jiných psychiatrických diagnóz (Boutros et al. 2008). Výsledky koherenčních analýz nejsou zdaleka jednotné, nachází se jak zvýšení koherencí, tak snížení napříč spektrem a intra- i interhemisferálně (Brunovský 2004). Roli hraje řada faktorů – nejednotnost designu studií, vliv medikace, rozdíl klidového záznamu versus záznamu během aktivačních úkolů a jiné. Nicméně již v devadesátých letech bylo navrženo, že na schizofrenii se lze dívat jako na diskonekční syndrom, přitom postulovaná diskonekce se týkala zejména frontotemporální oblasti (Friston and Frith 1995). Tato hypotéza je podpořena též důkazy o abnormalitách strukturní konektivity bílé hmoty v oblasti interhemisferálních spojení, dlouhých asociačních traktů, cerebello-thalamo-kortikálních okruzích a limbickém systému (Canu et al. 2014).

Nejčastěji používanými modely jsou modely farmakologické, které jsou odvozeny na základě fenomenologické podobnosti účinků, a dnes již víme, že mají i konstrukční a prediktivní validitu.

2.2.3.2.2 Dopaminergní model

Tento farmakologický model vychází z dopaminergní hypotézy schizofrenie - teoretického konstruktů, který byl v době zrodu postulován v původní formě jako hyperdopaminergní

syndrom (Carlsson 1977). K vytvoření modelu, který je vhodný zejména jako model pozitivních příznaků schizofrenie. Používány jsou stimulanty jako amfetamin, metamfetamin, kokain a apomorfín, jejichž mechanismem účinku je zvyšování výdeje dopaminu na synapsi, především v oblasti striata (Goncalves et al. 2014). Vzniklé příznaky lze efektivně potlačit dopaminergními antipsychotiky (Horacek et al. 2006).

U zvířat typicky vyvolávají behaviorální stimulaci, která se projevuje nárůstem lokomoční aktivity a výraznou prostorovou dezorganizací jejich pohybu, charakteristické repetitivní pohyby (stereotypie) (tyto tři symptomy jsou považovány za koreláty pozitivních příznaků) a mohou navozovat i kognitivní deficit (Páleníček et al. 2007b). Takové narušení PPI, jaké pozorujeme u pacientů, bylo poprvé imitováno u zvířat právě podáním přímých i nepřímých dopaminergních agonistů (Geyer 2006), ale u lidí to nebylo pozorováno (Chitty et al. 2014). Z hlediska hodnocení kvantitativního EEG působí konkrétně amfetamin i kokain globální pokles výkonu ve všech pásmech (Yamamoto 1997). V našich experimentech jsme zaznamenali mírný nárůst pomalé delta aktivity ve frontotemporální oblasti a téměř globální pokles výkonu v beta pásmu a v pásmu vysoké beta aktivity. Vedl též k mírnému zvýšení koherencí v pásmu delta a alfa, ve všech ostatních způsoboval pokles (Páleníček et al. 2007a). Diskrepance je nejspíše způsobena tím, že naše experimenty nebyly prováděny v úsecích inaktivity, což je nutná podmínka, neboť aktivita sama zvyšuje spektrální výkon (Young 1988) i koherence (Takigawa et al. 2000). Většina symptomů navozených těmito látkami je antagonizována u lidí i zvířat klasickými i atypickými antipsychotiky, jejichž terapeutický potenciál koreluje s afinitou k D₂ receptorům (Young et al. 2010).

2.2.3.2.3 Serotonergní model

Klinické příznaky intoxikace LSD imitující raná stadia psychóz u pacientů (Bowers and Freedman 1966) a později objasněné farmakodynamické působení LSD vedlo k formulaci serotoninové hypotézy schizofrenie (Geyer and Vollenweider 2008). Jako serotoninové modely se používá řada psychedelik, zejména pak psilocybin a psilocin, mezkalin a LSD, z nichž se všechny chovají jako agonisté nebo parciální agonisté serotoninového 5-HT_{2A} receptoru (Hanks and Gonzalez-Maeso 2013). Validitě tohoto modelu přispívá i fakt, že většina ADG blokuje tento receptor.

Podání halucinogenů potkanům vede obvykle k hypolokomoci, popř. má bifázický účinek na celkovou dráhu uraženou zvířetem. Ten se týká jak hlediska časového, kdy LSD, psilocin i mezkalin na počátku účinku lokomoci zkracují, zatímco po delším čase se rozvíjí hyperlokomoce, tak i hlediska dávkového, kdy např. u mezkalinu v době nejvyšších hladin

v mozkové tkáni nízké dávky drogy lokomoci zkracovaly, zatímco vysoká dávka vedla k hyperlokomoci (Páleníček et al. 2007b). Dochází i ke změnám typického exploračního chování – například psilocin se stoupající dávkou vede k imobilitě (Tylš et al. 2014). Monoaminergní halucinogeny indukují vznik atypických prvků (serotoninový syndrom, stereotypie) (Páleníček and Horáček 2008). Většina studií u potkanů potvrzuje schopnost monoaminergních halucinogenů narušit senzomotorické zpracování informací měřené testem PPI (Hanks and Gonzalez-Maeso 2013). Z našich experimentů vyplývá, že pro serotonergní modely je typické globální snížení EEG výkonu a snížení EEG koherencí, zejména mezi oblastmi frontálními a temporálními (ale i snížení koherencí interhemisferálních) (Páleníček et al. 2012). Účinky těchto látek jsou v animálních modelech blokovány především antagonisty 5-HT₂ receptorů, popřípadě antagonizovány ADG (Tylš et al. 2014).

2.2.3.2.4 Glutamatergní model

To, že subanestetické dávky disociativních anestetik působí psychomimeticky (Luby et al. 1959), sloužilo jako základ pro formulování glutamatergní hypotézy schizofrenie, která hovoří o hyperglutamatergním syndromu s dysfunkcí NMDA receptorů (Merritt et al. 2013). Tento model je založen na akutním či chronickém podání ketaminu, fencyklidinu (PCP) a dizocilpinu (MK-801), kteří působí jako nekompetitivní antagonisté glutamatergních NMDA receptorů. Je zdaleka nejpodobnější vlastnímu psychotickému onemocnění, neboť modeluje jak pozitivní tak i negativní symptomy psychózy a způsobuje i kognitivní deficit (Bondi et al. 2012).

Na rozdíl od halucinogenů vedou NMDA antagonisté (PCP, ketamin, MK-801) v subanestetických dávkách typicky k rozvoji masivní hyperlokomoce s prvky dezorganizovaného chování a stereotypiemi. Z negativní a kognitivní symptomatologie pozorujeme např. redukci sociálního chování a deficity v prostorovém učení, ukládání a kódování nových informací a konsolidaci paměťové stopy (Fujáková et al. 2010). Byly prokázány i kvalitativní změny v chování stejně jako halucinogenů. Většina experimentů poukazuje na to, že NMDA antagonisté vedou k narušení PPI (Páleníček and Horáček 2008). V EEG spektrální analýze v animálních modelech se po podání ketaminu v úsecích behaviorální inaktivity projevuje pokles koherencí a výkon stoupá typicky v pásmech gama a delta (Fujakova et al. 2014; Hiyoshi et al. 2014; Páleníček et al. 2010), u lidí je prominentní zejména vzestup gama oscilací, který koreluje s akutně psychotickým stavem u pacientů (Kocsis et al. 2013). Zatímco antagonisté 5-HT_{2A} receptorů blokují především deficit v PPI, antagonisté D₂ i 5-HT_{2A} receptorů normalizují hyperlokomoci. Tudiž atypická antipsychotika (kombinovaní 5-HT₂/D₂ antagonisté) mají vliv jak na lokomoci, tak na deficit v PPI (Bubenikova-Valesova et al. 2008).

Kromě toho takto působí i nízké dávky 5-HT_{1A} agonistů, které pravděpodobně aktivují presynaptické autoreceptory (Young et al. 2010).

2.2.3.2.5 Nový kanabinoidní model?

Existuje řada důkazů, které potvrzují vliv THC na indukcí pozitivních psychotických symptomů u zdravých kontrol i chronických uživatelů (D'Souza et al. 2004), dále na zhoršení symptomů stávající psychiatrické poruchy včetně psychózy (Leweke and Koethe 2008) a na rozvoji psychózy u chronických adolescentních uživatelů konopí (Henquet et al. 2005) a na generování abnormální funkční konektivity mozku korelující se vznikem psychotických symptomů (Morrison et al. 2011). Animální model psychózy s THC však dosud není plně charakterizován, nicméně propsychotické účinky vykazují agonisté CB₁ R, což jsou THC a syntetické kanabinoidy, které jsou často plnými vysoce potentními (i několik set krát účinnějšími než THC) agonisty (Nováková et al. 2014). Vlastnosti kanabinoidního modelu jsou blíže rozebírány v kapitole 2.4 a v kapitole 5 diplomové práce.

2.3 KANABIS, FARMAKOKINETIKA A DYNAMIKA KANABINOIDŮ, ENDOKANABINOIDNÍ SYSTÉM

Nejčastěji užívaným produktem z konopí (kanabis, *Cannabis*) jsou sušená samičí květenství, jež obsahují největší procento psychoaktivních látek. Jinými produkty mohou být např. hašiš či hašišový olej či samotné krystalky pryskyřice, tzv. scuff. Nejčastější formou užívání je kouření, méně často bývají konopné produkty užívány perorálně. Složení pryskyřice konopí je velmi závislé na konkrétním kultivaru. Původní přírodní odrůdy se označovaly jako *cannabis sativa* (konopí seté), *cannabis indica* (konopí indické) a *cannabis ruderalis* (konopí rumištní). Z těchto třech původních odrůd pouze konopí indické obsahovalo větší množství psychoaktivních látek (Hazekamp and Fishedick 2012). V poslední době je nicméně v řadě zemí oblíbenou formou konopí tzv. skunk, jinak řečeno vysokopotentní konopí (v anglosaské literatuře nejčastěji používaný termín *sinsemilla* - v překladu bez semen, protože jsou rostliny sklizeny tak, aniž by vytvořily semena). Tyto variety, jež vznikly nejruznějším křížením a šlechtěním původních odrůd, obsahují velmi vysoké procento hlavní účinné látky, THC, leckdy i přesahující 20 hmotnostních procent v sušině (původní varianty obsahovaly kolem 3-8%). Údaje o stoupající potenci kanabisu v posledních letech jsou dobře známy (Cascini et al. 2012). Druhým specifickým je téměř naprostá absence kanabinoidu s názvem kanabidiol (CBD). Zatímco za posledních třicet let obsah THC v kanabisu postupně narůstal, poměr CBD/THC

klesal. V USA se mezi roky 1993 a 2008 koncentrace THC v kanabisu více než zdvojnásobila, zatímco obsah CBD zůstal přibližně stejný (Mehmedic et al. 2010). Například v roce 1993 kanabis obsahoval průměrně 0,3 % CBD a 3,4 % THC (1:11), kdežto o patnáct let později to bylo 0,4 % CBD a 8,8 % THC (1:22). Naše nálezy v současnosti ukazují obdobné trendy i v ČR (Páleníček et al. 2014).

THC působí na lidský organismus primárně interakcí s CB₁ R a CB₂ R. CB₁ R se svou širokou a specifickou distribucí v centrální nervové soustavě (CNS) je zodpovědný za psychoaktivní působení THC a jiných exogenních kanabinoidů i fyziologický vliv endokanabinoidů. CB₂ R, které dominantně nacházíme na buňkách imunitního systému, jsou exprimovány v CNS na mikrogliích a podílejí se především na regulaci imunitních pochodů (Atwood and Mackie 2010).

CB₁ R se v CNS vyskytuje defakto ubikviterně, nejvyšší hustota je popisována v bulbus olfactorius, hipokampu, laterální části striata, cílových oblastech striatálních projekcí a cerebelu, střední hustotu pak vykazuje neokortex, amygdala, hypothalamus, nucleus solitarius a zadní rohy míšni. CB₁ R se tedy nacházejí v klíčových strukturách limbického systému, strukturách zásadních pro kognitivní a motorické funkce, modulaci percepce bolesti apod. Thalamus, mozkový kmen a přední rohy míšni jsou naproti tomu charakteristické nízkou hustotou CB₁ R (Svizenska et al. 2008). Na úrovni synapse je CB₁ R preferenčně v presynaptické oblasti, přitom inhibiční synapse exprimují receptor více než excitační (Fowler 2005). Receptor je spřažen s inhibičními G_{i/o} proteiny, jejich aktivace tak vede k presynaptické inhibici uvolňování dalších neurotransmiterů (Svizenska et al. 2008). Přirozenými ligandy kanabinoidních receptorů jsou endogenní kanabinoidy. Mezi dva hlavní zástupce patří anandamid a 2-AG (2-arachidonoylglycerol). Endogenní kanabinoidy vznikají na synapsi z fosfolipidů membrán tzv. „on demand“ (kdy jich je zapotřebí) (Šulcová 2012).

THC je parciálním agonistou na CB₁ i CB₂ R s poměrně výraznou afinitou – viz. *Tabulka 2* (Svizenska et al. 2008). Přestože je THC hlavní psychoaktivní složkou v rostlině, v současné době je dáována velká pozornost i jinému, nepsychoaktivnímu konstituentu kanabisu, již zmíněnému CBD. Ke kanabinoidním receptorům se CBD váže s velmi nízkou afinitou. Nedávno bylo však prokázáno, že i přes nízkou afinitu (viz. *Tabulka 2*) je CBD schopen antagonistovat působení CB₁/CB₂ R agonistů *in vitro* (Thomas et al. 2007). Nicméně jeden z nejdůležitějších mechanismů účinku CBD je interakce s transportérem pro anandamid a interakce s amidohydrolázou mastných kyselin (FAAH), jenž se podílí na zpětném vychytávání a odbourávání endogenních kanabinoidů (Thomas et al. 2007). Z dalších uvažovaných farmakologických cílů lze zmínit TRP (transient receptor potential) kanály, serotoninový

receptor 5HT_{1A}, adenosinové receptory a sirotčí GPR55 receptor spřažený s G-proteinem (De Petrocellis and Di Marzo 2010).

Tabulka 2: Meta-analytické hodnoty K_i pro vybrané ligandy vážící se na kanabinoidní receptory potkana (CB₁ R = kanabinoidní receptor; n = počet studií; podle (McPartland et al. 2007).

ligand	CB ₁ R K _i (nM)	CB ₂ R K _i (nM)
THC	42,6 (n = 18)	13,0 (n = 3)
CBD	2210,5 (n = 6)	1000,0 (n = 1)
anandamid	87,7 (n = 26)	267,8 (n = 5)
2-AG	1180,5 (n = 4)	1900,0 (n = 2)

2.4 NEUROBIOLOGIE KANABISOVÉ PSYCHÓZY

2.4.1 Má kanabis propsychotické účinky?

2.4.1.1 AKUTNÍ PROPSYCHOTICKÉ ÚČINKY THC – ANIMÁLNÍ A HUMÁNNÍ DATA

U zdravých dobrovolníků intravenózní (2,5 – 5 mg) i perorální (120 µg/kg – 10 mg) podání THC indukuje psychotické příznaky (Bhattacharyya et al. 2009; Bhattacharyya et al. 2010; Borgwardt et al. 2008; D'Souza et al. 2004; Fusar-Poli et al. 2009; Koethe et al. 2006; Martin-Santos et al. 2012; Morrison et al. 2009). THC také zvýrazňovalo psychopatologii u stabilizovaných a medikovaných pacientů se schizofrenií (D'Souza et al. 2005). U všech přitom indukuje pozitivní psychotické symptomy, zejména paranoiditu, dále pak ztrátu náhledu, dezorganizaci myšlení, narušení asociací, grandióznost a neschopnost odfiltrovat irelevantní podněty z pozadí. Profilem způsobených psychopatologických změn se tak blíží prodromálnímu stádiu choroby spíše než rozvinuté schizofrenii (Koethe et al. 2006). Vrchol účinků po i.v. podání se pohybuje mezi 10. - 30. minutou od podání (po perorálním je vzestup pozvolnější – vrcholu dosahuje až po 2 hodinách) a symptomy zcela odeznívají nejpozději do 200. minuty (viz. Tabulka 3). Pacienti se schizofrenií jsou vůči působení THC senzitivnější.

Tabulka 3: Propsychotické účinky THC ve studiích u zdravých dobrovolníků a pacientů. (PANSS = Positive and Negative Syndrome Scale; CADSS = Clinician Administred Dissociative States Scale; CAPE = Community Assessment of Psychic Experiences; BPRS = Brief Psychiatric Rating Scale; TS = celkové skóre příslušné škály; PSS = Positive Syndrome Scale; NSS = Negative Syndrome Scale; GPS = General Psychopathology Scale; Sbj = subject-rated; Clin = clinician-rated; ↑ = zvýšení; n.s. = nesignifikantní; ↑↑↑ p < 0,001; ↑↑ p < 0,01; ↑ p < 0,05)

reference	subjekty	dávka THC, cesta aplikace	maximální hladina THC v krvi (ng/ml) v čase (min)	použitý test	změna skóre (čas v min)	
Bhattacharyya et al., 2009; Borgwardt et al.,	15 zdravých mužů	10 mg orálně	5,1 (120)	PANSS	TS	↑↑↑ (120)
					PSS	↑↑ (120)
					NSS	↑↑ (120)
					GPS	↑↑↑ (120)

2008; Fusar-Poli et al., 2009						
Bhattacharya et al., 2010	3 muži, 3 ženy, zdraví	1,25 mg intravenózně	7,4 (30)	PANSS PSS		↑ (30)
D'Souza et al., 2004	14 mužů, 8 žen, zdraví	2,5 mg; 5 mg intravenózně	0,82; 1,19 (10)	PANSS	PSS	↑↑↑ (10)
					NSS	↑↑↑ (10 _{2,5mg} ; 80 _{5mg})
					GPS	↑↑↑ (-)
				CADSS	Sbj	↑↑↑ (10)
Cln	↑↑↑ (10 _{2,5mg} ; 80 _{5mg})					
D'Souza et al., 2005	10 mužů, 3 ženy, pacienti	2,5 mg; 5 mg intravenózně	není signifikantní rozdíl mezi hladinami pacientů a zdravých ze studie D'Souza et al., 2004	PANSS	PSS	↑↑ (10 a 80)
					NSS	n.s.
					GPS	↑↑ (10 _{5mg} ; 80 _{5mg})
				CADSS	Sbj	n.s.
					Cln	↑ (10 a 80)
Martin-Santos et al., 2012	16 zdravých mužů	10 mg orálně	0,67 (120)	PANSS	PSS	↑↑ (120)
					NSS	↑↑ (120)
					GPS	↑↑↑ (120)
Morrison et al., 2009	22 zdravých mužů	2,5 mg intravenózně	max 176,7 (1), ale relevantní 12,5 (30)	PANSS PSS		↑↑↑ (30)
				CAPE PSS		↑↑ (30)
Koethe et al., 2006	9 mužů, 7 žen, zdraví (kontroly) versus 16 mužů (participanti)	120 mikrogramů/kg orálně	-	BPRS TS		↑↑↑ (140 – 250)

Zatímco některé studie neprokázaly žádnou změnu PPI u chronických uživatelů kanabisu (Mathias et al. 2011; Quednow et al. 2004) jiné naopak zaznamenaly deficit PPI, který koreloval s délkou užívání kanabisu (Kedzior and Martin-Iverson 2006) nebo který byl detekován pouze při použití speciálního experimentálního paradigmatu (Kedzior and Martin-Iverson 2007; Scholes and Martin-Iverson 2009; Scholes-Balog and Martin-Iverson 2011). Lidské studie jsou v tomto ohledu limitovány existencí velké heterogenity ve stylu užívání kanabisu – celková délka, stáří při započetí, frekvence, množství a síla a čas od posledního užití – a potenciálního zneužívání jiných návykových látek.

Evidence o propsychotickém působení kanabinoidů jsou i v animálních modelech. Akutně podané THC například narušuje sensorimotorické zpracování informací v testu PPI podobně jako je tomu v jiných farmakologických modelech psychóz a u schizofrenních pacientů zhruba

ve třetině studií (viz. kapitola 2.2.3; (Long et al. 2010b; Nagai et al. 2006), avšak ve zbylých studiích tento efekt nebyl prokázán (Boucher et al. 2007; Long et al. 2010a; Long et al. 2013; Malone and Taylor 2006; Tournier and Ginovart 2014); viz. *Tabulka 4*). Vlivem chronického podávání THC na PPI se zabývaly pouze tři studie, z nichž jedna deficit zaznamenala, zatímco druhé dvě ne (viz. *Tabulka 4*). Zaznamenané diskrepance jsou zřejmě důsledkem toho, že v PPI hraje roli spousta faktorů – od kmene použitého zvířete po design vlastního měření.

Tabulka 4: Propsychotické účinky THC v animálních studiích PPI ASR. (THC = delta-9-tetrahydrokanabinol; PPI ASR = prepulzní inhibice akustické úlekové reakce; ip = intraperitoneálně; inj = injekce; n.s. = nesignifikantní).

PPI – akutní podání THC					
reference	druh	dávka THC (mg/kg), cesta aplikace	experimentální schéma	efekt	dávka vedoucí k signifikantní změně (mg/kg)
Long et al., 2010a	myši	0,3; 1; 3; 10; ip	inj → 60 min → PPI	narušení	0,3; 3; 10
Nagai et al., 2006	myši	6; 10; ip	inj → 60 min → PPI	narušení	6; 10
Boucher et al., 2007	myši	5; 10; ip	inj → 30 min → PPI	n.s.	-
Long et al., 2010b	myši	5; 10; ip	inj → 80 min → PPI	n.s.	-
Long et al., 2013	myši	10; ip	inj → 60 min → PPI	n.s.	-
Malone a Taylor, 2006	potkani	0,3; 1; 3; ip	inj → 15 min → PPI	n.s.	-
Tournier a Ginovart, 2014	potkani	1; ip	inj → 30 min → PPI	n.s.	-
PPI – chronické podávání THC					
reference	druh	dávka THC (mg/kg), cesta aplikace	experimentální schéma	efekt	dávka vedoucí k signifikantní změně (mg/kg)
Tournier a Ginovart, 2014	potkani	1; ip	21 dní: 1 inj/den; 21. den: inj → 30 min → PPI	narušení	21 x 1 mg/kg/den
Long et al., 2010a	myši	0,3; 1; 3; 10; ip	21 dní: 1 inj/den; 18. den: inj → 60 min → PPI	n.s.	-
Long et al., 2013	myši	10; ip	21 dní: 1 inj/den; 21. den: inj → 60 min → PPI	n.s.	-

Ani vliv THC na lokomoci nepřináší konzistentní výsledky – byť dle jedněch dat (Egashira et al. 2008) samotné akutní podání THC nemění lokomoci, dle jiných způsobuje hypolokomoci (Azad et al. 2001; Boucher et al. 2007; Long et al. 2010a; Long et al. 2010b; 2013; Shi et al. 2005; Smirnov and Kiyatkin 2008; Wiley and Martin 2003) nebo má časový i dávkový bifázický účinek (El-Alfy et al. 2010; Katsidoni et al. 2013; Manwell et al. 2014b) (viz. *Tabulka*

5). Opakované podání THC pak celkem konzistentně vykazuje též účinek bifázický závislý na podané dávce – tedy jak slabý hyperlokomoční v nízkých dávkách, tak hypolokomoční v dávkách vyšších (Manwell et al. 2014b; Singh et al. 2005; Wiley and Burston 2014) (viz. Tabulka 5), na který se může rychle vyvinout tolerance.

Tabulka 5: Propsychotické účinky THC v animálních studiích lokomoce. (THC = delta-9-tetrahydrokanabinol; OF = test otevřeného pole; inj = injekce; ip = intraperitoneálně; iv = intravenózně; inh = inhalačně; sc = subkutánně; ↑ = zvýšení; ↓ = snížení; n.s. = nesignifikantní; ↑↑↑ nebo ↓↓↓ $p < 0,001$; ↑↑ nebo ↓↓ $p < 0,01$; ↑ nebo ↓ $p < 0,05$)

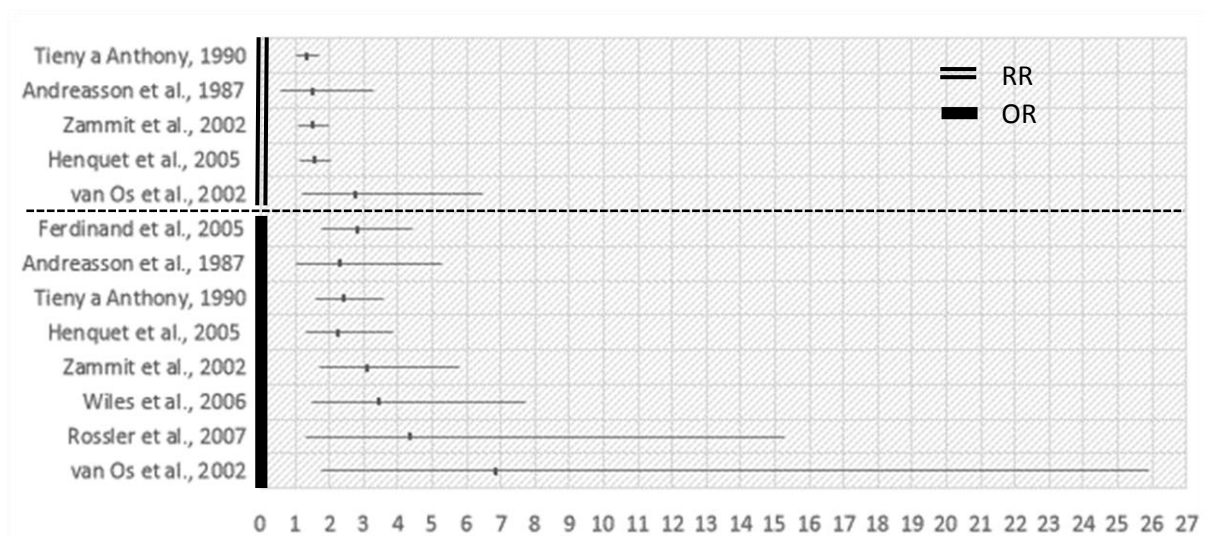
Lokomoce – akutní podání THC					
reference	druh	dávka THC (mg/kg), cesta aplikace	experimentální schéma	efekt	dávka vedoucí k signifikantní změně (mg/kg)
Egashira et al. 2008	myši	2; 6; ip	inj → 60 min → OF	n.s.	-
Azad et al., 2001	myši	10; ip	inj → 15 min → OF	↓	10
Boucher et al., 2007	myši	5; 10; ip	inj → 30 min → OF	↓↓	10
Long et al., 2010a	myši	0,3; 1; 3; 10; ip	inj → 35 min → OF	↓	10
Long et al., 2010b	myši	5; 10; ip	inj → 30 min → OF	↓↓↓	5; 10
Long et al., 2013	myši	10; ip	inj → 35 min → OF	↓↓	10
Shi et al., 2005	potkani	0,05; 0,1; 0,5; 1; 2; ip	inj → 20 min → OF	méně než 50 % aktivity kontrol	0,1; 0,5; 1; 2
Smirnov a Kiyatkin, 2008	potkani	0,5; 2; 8; ip	inj → OF	↓	8
Wiley a Martin, 2003	myši	0,1; 0,3; 1; 3; 10; iv 3; 10; 30; 50; 100; ip	inj iv → 5 min → OF inj ip → 45 min → OF	více než 50 % inhibice	iv: 3; 10 ip: 30; 50; 100
El-Alfy et al., 2010	myši	1,25; 2,5; 5; 10; 20; 40; ip	inj → 20 min → OF	nízká dávka: ↑↑ vysoké dávky: ↓↓↓	1,25; 10; 20; 40
Katsidoni et al., 2013	potkani	0,1; 1; ip	inj → OF	nízká dávka: ↑↑ až ↑↑↑ vysoká dávka: ↓ až ↓↓	0,1; 1
Manwell et al., 2014	potkani	0,1; 0,3; 0,5; 1; ip 1; 5; 10; inh	inj → 30 min → OF 10 min inh → OF	inh: ↑ (1. hod); ↓ (2. hod) ip: n.s.	inh: 10 ip: -
Lokomoce – chronické podávání THC					
reference	druh	dávka THC (mg/kg), cesta aplikace	experimentální schéma	efekt	dávka vedoucí k signifikantní změně (mg/kg)

Manwell et al., 2014	potkani	10; inh	7 dní: 5 min inh → OF	↑ (1. hod všech dní)	10
Singh et al., 2005	potkani	0,05; 0,5; 5; ip	41 dní: 1 x inj/48 hod; 21. & 41. den: inj → OF	nízká dávka: ↑; vysoká dávka: ↓	0,05; 5
Wiley a Burston, 2014	potkani	10; 30; 100; 300; sc (1. – 10. den); ip (11. den)	9 dní: 2 x inj; 10. den: 1 x inj; 11. den: inj → 20 min → OF	↓ až ↓↓↓	10; 30; 100; 300
Long et al., 2013	myši	10; ip	13 dní: 1 inj/den; 13. den: inj → 35 min → OF	n.s.	-

Na rozdíl od samotného THC však podání v kombinaci s dopaminovým agonistou quinpirolem potencuje jím navozenou hyperlokomoci (Gorriti et al. 2005), dále existuje též zkřížená senzitivace s amfetaminem (Cortright et al. 2011; Gorriti et al. 1999; Lamarque et al. 2001) a kokainem u adolescentních potkanů (Dow-Edwards and Izenwasser 2012) – pravděpodobně senzitivací mesokortikolimbických dopaminergních projekcí.

2.4.1.2 CHRONICKÉ PROPSYCHOTICKÉ ÚČINKY – DATA Z KOHORTNÍCH STUDIÍ

Důkazy o tom, že užívání kanabису může být rizikovým faktorem zvyšujícím šanci na rozvoj psychotického onemocnění, se kumulují i v podobě longitudinálních epidemiologických studií na velkých populacích. Možná kauzální podstata asociace mezi kanabisem a psychózou je však stále předmětem debat. Studie byly provedeny na kohortách o velikosti stovek až desetitisíců subjektů a u poloviny z nich na subjektech ve věku do 30 let. Většina studií hodnotila jen výskyt psychotických příznaků, pouze několik studií pracovalo s klinickou diagnózou (Andreasson et al. 1987; Arseneault et al. 2002; Zammit et al. 2002).



Obrázek 1: Riziko výskytu psychotických symptomů v závislosti na užívání marihuany vyjádřené jako RR a OR s 95 % konfidenčním intervalem vyplývající z jednotlivých studií.

Všechny studie zaznamenaly zvýšené riziko výskytu psychotických symptomů. Užití marihuany bez ohledu na frekvenci (ve studiích definováno jako "any use") bylo spojeno s RR (relative risk) = 1,3-1,5 (Andreasson et al. 1987; Tien and Anthony 1990) a s OR (odds ratio) = 1,5-2,81 (viz. *Obrázek 1*) (Ferdinand et al. 2005; Henquet et al. 2005; van Os et al. 2002; Zammit et al. 2002). Kvantitativní vyjádření rizika však závisí na mnoha faktorech, zejména pak frekvenci užívání a obsahu kanabinoidů (Rössler et al. 2007; Wiles et al. 2006). Studie, kde byli uživatelé rozděleni dle frekvence užívání, prokázaly jednoznačnou závislost rozvoje psychotické symptomatiky na dávce. Nejvyšší dávka, která byla ve studiích definovaná jako "více než 10-50x" či "daily use", byla spojena s RR = 2,3-2,4 a OR = 2,23-6,81 (viz. *Obrázek 1*). Důležitým zjištěním byl nález, že pokud k iniciaci užívání kanabису došlo před 15. rokem života, riziko výskytu psychotických symptomů bylo významně vyšší (Arseneault et al. 2002; Stefanis et al. 2004).

I tyto studie přispívají do hlavních diskuzí okolo kauzality spojení kanabису a psychózy. Kauzalitou se zabývaly čtyři studie, z nichž se všechny přiklání k tomu, že užívání kanabису vede k rozvoji psychotických symptomů (Arseneault et al. 2002; Ferdinand et al. 2005; Fergusson et al. 2005; Stefanis et al. 2004) a jedna z nich našla důkazy i pro tzv. sebemedikační hypotézu, kdy přítomnost psychotických příznaků predikuje budoucí užívání kanabису (Ferdinand et al. 2005). O tom, zda v kauzalitě hrají roli i jiné vnější faktory (např. ekonomické, sociální, biologické apod.) se podařilo najít podporu ve studiích, které tyto faktory zohledňují (Fergusson et al. 2005; van Os et al. 2002).

2.4.2 Jakými mechanismy způsobuje akutní a chronické psychotické příznaky?

Mesolimbická dopaminergní dráha a striátum hrají zásadní roli v neurobiologii psychóz (Horacek et al. 2006). Zejména zvýšení hladin dopaminu ve striátu je považováno za podklad pozitivních příznaků. V četných animálních studiích bylo zjištěno, že akutně podané THC aktivuje neurony ve ventrální tegmentální oblasti inhibicí lokálních GABA interneuronů, jež se projeví právě zvýšeným vyplavením dopaminu ve ventrálním striátu. Toto vyplavení je blokovatelné podáním antagonisty CB₁ R, což naznačuje, že ona inhibice interneuronů se děje prostřednictvím aktivace na nich přítomných CB₁ R (Cheer et al. 2004). Tento efekt byl prokázán i u lidských subjektů (Bossong et al. 2009). Dle autorů bylo však zvýšení hladin dopaminu ve srovnání s jinými drogami (nikotin, amfetamin nebo kokain) mnohem mírnější (pouze 3,4 – 3,9% vs 10 – 30%).

Výsledky epidemiologických studií ukazují, že užívání kanabisu v adolescentním období predisponuje jedince k rozvoji psychózy v budoucnu (viz. kapitola 2.4.1.2). To znamená, že užívání kanabisu zanechá v mozku trvalou stopu – jakým způsobem? Endokanabinoidní systém je jeden z klíčových elementů neurovývojových procesů, zejména neuronální diferenciace, maturace a migrace (Galve-Roperh et al. 2009). Na rozdíl od situace v dospělém mozku, ve fetálním a adolescentním jsou CB₁ R exprimovány především na vyvíjejících se glutamátergních neuronech a jejich dlouhých axonálních projekcích (Vitalis et al. 2008). Jejich role v narušení neurovývojových procesů je však v obou stádiích jiná. Ve fetálním období se účastní zejména správného navádění axonů spojujících kortex se subkortikálními strukturami, což se projevilo u myši s knock-outovaným genem pro CB₁ R rozsáhlými změnami v zapojení thalamo-kortikálních a kortiko-thalamických projekcí (Wu et al. 2010). Zatímco v adolescentním období jsou endokanabinoidy zapojeny do intenzivního prořezávání nebo posilování existujících glutamátergních synapsí (Bossong and Niesink 2010). Povaha a počet výsledných synapsí determinuje kvalitu neuronální sítě v dospělosti a tím potažmo behaviorální fenotyp. Chronické podávání agonisty CB₁ R WIN-55212-2 v adolescentním období vedlo u potkanů k dlouhotrvajícím změnám v chování (narušení PPI, paměti, sociálního chování a biorytmů), které nebyly pozorovatelné ani u dospělých ani u prepubertálních potkanů (Schneider and Koch 2003). Celkově tedy tyto nálezy potvrzují, že prenatální a adolescentní expozice kanabisu zasahuje právě do kritických stádií vývoje kortexu a jejich narušením zanechává trvalé změny v chování.

2.5 ROLE KANABINOIDNÍHO SYSTÉMU V LÉČBĚ PSYCHOTICKÝCH ONEMOCNĚNÍ

2.5.1 Kanabidiol

Vzhledem k výše zmíněným faktům je evidentní, že ovlivnění kanabinoidního systému by mohla být jedna z nových terapeutických možností v léčbě psychóz. Jednou z kandidátních molekul je již výše zmíněný CBD. Již v 80-tých letech bylo prokázáno, že u dobrovolníků orálně podané CBD v dávce 1 mg/kg prakticky normalizovalo klinické příznaky intoxikace THC 0,5 mg/kg (především paranoiditu, poruchy zrakového vnímání, a změny v percepci času dále poruchy koncentrace a depersonalizace). U některých dobrovolníků však perzistovala únava, neschopnost se koncentrovat a depersonalizace (Zuardi et al. 1982). O téměř třicet let později Bhattacharyya et al. tyto nálezy potvrdil v pilotní studii na 6-ti zdravých dobrovolnících

(Bhattacharyya et al. 2010). Intravenózní podání 5 mg CBD v této studii zmírnilo psychotickou symptomatiku po 1,25 mg THC. Řada dalších studií také nepřímo dokládá antipsychotické účinky CBD. U pravidelných kuřáků konopí, u nichž byla zjištěna vlasovou analýzou přítomnost THC i CBD byl zaznamenán menší výskyt pozitivních psychotických příznaků než u uživatelů, kde CBD nebyl nalezen (Morgan and Curran 2008; Morgan et al. 2012). Každodenní uživatelé marihuany bohaté na CBD měli také menší poruchy krátkodobé paměti než uživatelé vzorků bez CBD (Morgan et al. 2012). Tento efekt na paměť byl potvrzen i ve stavu akutní intoxikace (Morgan et al. 2010). V této poslední práci se však autorům nepodařilo prokázat antipsychotický efekt CBD při akutní intoxikaci THC, což je vysvětlováno nižším poměrem CBD:THC v porovnání s předchozími dvěma studiemi (Morgan et al. 2010). Z rozsáhlé (N=1877) internetové studie nizozemské skupiny analogicky vyplynulo, že mezi obsahem CBD v dané variantě marihuany a výskytem psychotických prožitků existuje nepřímá úměra (Schubart et al. 2011). V každém případě všechny tyto výsledky poukazují na fakt, že CBD může mít antipsychotické účinky a současně, že přítomnost CBD v marihuaně může mít zásadní protektivní význam ve smyslu ochrany uživatelů před propsychotickými účinky THC. Díky těmto indiciím byl studován antipsychotický účinek CBD i v animálních modelech psychóz (viz. *Tabulka 6*). V dopaminergním modelu psychózy u potkanů vyvolané podáním dopaminergního agonisty apomorfinu CBD podobně jako haloperidol redukoval indukované stereotypní chování. Zatímco však haloperidol významně zvyšoval hladiny prolaktinu ve všech použitých dávkách, u CBD došlo k významnému zvýšení až u extrémně vysokých dávek (nad 240 mg/kg) (Zuardi et al. 1991). V dalších studiích na myších i na potkanech v dopaminergním a glutamátergním modelu (amfetamin, ketamin a MK-801), podobně jako haloperidol a klozapin, CBD normalizoval navozenou hyperlokomoci (Moreira and Guimaraes 2005). Významnou superioritou CBD oproti konvenčnímu antipsychotiku haloperidolu je fakt, že CBD neindukoval katalepsii (model extrapyramidových příznaků) a to ani u velmi vysokých dávek 480 mg/kg (Moreira and Guimaraes 2005; Zuardi et al. 1991). CBD byl dále i efektivní při normalizaci deficitu v sensorimotorickém zpracování informací v testu PPI po MK-801 u myši stejně jako klozapin (Long et al. 2006). Na druhou stranu existují i studie na potkanech a myších, kde tyto účinky nebyly replikovány (Gururajan et al. 2011; Long et al. 2010b; Valvassori et al. 2011) nebo pouze po chronické aplikaci CBD (Long et al. 2010b). V humánním modelu psychózy s ketaminem pak CBD částečně redukoval stavy depersonalizace, nicméně naopak zvyšoval psychomotorickou aktivaci (Hallak et al. 2011).

Tabulka 6: Antipsychotické účinky CBD v animálních modelech. (CBD = kanabidiol; PPI = prepulzní inhibice; ↑ = zvýšení; ↓ = snížení; n.s. = nesignifikantní).

reference	druh	model	látka (dávka v mg/kg)	efekt	dávka vedoucí k signifikantní změně (mg/kg)		
Zuardi <i>et al.</i> (1991)	potkani	apomorfin (6,4 mg/kg) – stereotypní chování	CBD (15; 30; 60)	↓	60		
			haloperidol (0,125; 0,25; 0,5)	↓	0,5		
		hladiny prolaktinu	CBD (15; 30; 60; 120; 240)	↑	240		
			haloperidol (0,06; 0,125; 0,25; 0,5)	↑	0,125; 0,25; 0,5		
		katalepsie	CBD (60; 120; 240; 480)	ne	-		
			haloperidol (0,125; 0,25; 0,5; 1,0)	ano	0,25; 0,5; 1,0		
Moreira a Guimarães (2005)	myši	amfetamin (5 mg/kg) - hyperlokomoce	CBD (15; 30; 60)	↓	30; 60		
			haloperidol (0,15; 0,3; 0,6)	↓	0,15; 0,3; 0,6		
			klozapin (1,25; 2,5; 5,0)	↓	5,0		
		ketamin (60 mg/kg) - hyperlokomoce	CBD (15; 30; 60)	↓	30		
			haloperidol (0,15; 0,3; 0,6)	↓	0,3; 0,6		
			klozapin (1,25; 2,5; 5,0)	↓	1,25; 2,5; 5,0		
		katalepsie	CBD (15; 30; 60)	ne	-		
			haloperidol (0,15; 0,3; 0,6)	ano	0,15; 0,3; 0,6		
			klozapin (1,25; 2,5; 5,0)	ne	-		
		Long <i>et al.</i> (2006)	myši	MK-801 (1 mg/kg) – disrupce PPI	CBD (5)	normalizace	5
					klozapin (4)	normalizace	4
		Long <i>et al.</i> (2010)	myši	amfetamin (5 mg/kg) - hyperlokomoce	CBD (1; 50)	n.s.	-
chronicky (21 dnů) podávané CBD (1; 5; 10; 50)	↓				50		
PPI bez farmakologické manipulace	CBD (1; 5; 10; 50)			↑	1; 5; 50		
	chronicky (18 dnů) podávané			↑	1		

			CBD (1; 5; 10; 50)		
Gururajan <i>et al.</i> (2011)	potkani	MK-801 (0,3 a 0,6 mg/kg) – disrupce PPI	CBD (3; 10; 30)	n.s.	-
			klozapin (1; 3; 10)	n.s.	-
		MK-801 (0,3 a 0,6 mg/kg) - hyperlokomoce	CBD (3; 10; 30)	n.s.	-
			klozapin (1; 3; 10)	↓	3; 10
Valvassori <i>et al.</i> (2011)	potkani	amfetamin (2 mg/kg) - hyperaktivita	chronicky (7 dní) podávané CBD (15; 30; 60)	n.s.	-

Potenciální terapeutické využití CBD u psychotických pacientů bylo poprvé testováno u devatenáctileté schizofrenní pacientky, u které konvenční antipsychotika vyvolávala silné vedlejší účinky. Po dobu 4 týdnů byl titrován CBD per os až na 1500 mg/den. Bylo zaznamenáno signifikantní snížení skóre ve všech subškálách BPRS, které bylo srovnatelné s účinkem haloperidolu, přitom nebyly zaznamenány žádné vedlejší účinky. Po ukončení podávání CBD však došlo k relapsu onemocnění (Zuardi *et al.* 1995). V roce 2006 provedl Zuardi *et al.* další studii na třech 22- a 23-letých mužích se schizofrenií rezistentní na léčbu. Po dobu 4 týdnů byl CBD titrován ad 1280 mg/den. Zde signifikantní snížení BPRS skóre nebylo prokázáno u žádného ze subjektů, nebyly prokázány ani žádné vedlejší účinky. Autoři spekulovali, že příčinou absence účinku CBD může být nedostatečně dlouhá aplikace vyšších dávek, krátkodobost celkové léčby a také důležitý fakt, že tito pacienti neodpovídali ani na léčbu klozapinem (Zuardi *et al.* 2006). Recentní 4-týdenní dvojité slepá studie srovnávala účinky CBD s amisulpridem u 42 pacientů s psychotickou poruchou. Užívání CBD i amisulpridu, obou v dávce 800 mg/den, vedlo v obou případech k signifikantnímu, klinicky významnému snížení psychotických příznaků na škálách BPRS a PANSS. CBD však oproti amisulpridu CBD nevyvolával extrapyramidové příznaky ani nezvyšoval hladiny prolaktinu a indukoval nižší přírůstek hmotnosti (Leweke *et al.* 2012). Antipsychotické účinky CBD byly studovány i u jiných psychotických poruch. V pilotní studii u šesti pacientů s psychotickými příznaky v rámci Parkinsonovy choroby, trvajících alespoň 3 měsíce, CBD (flexibilní dávka 150 - 600 mg/den v závislosti na klinické odpovědi) tlumilo psychotické symptomy (Zuardi *et al.* 2009). Opět zde nebyly zaznamenány žádné negativní účinky CBD na motorické funkce. Tyto výsledky naznačují, že CBD má pravděpodobně antipsychotický potenciál, přičemž neindukuje žádné klasické nežádoucí účinky konvenčních antipsychotik.

2.5.2 Rimonabant

Vzhledem k faktu, že THC je agonistou kanabinoidních CB₁ R, druhou cestou s potencionálním antipsychotickým účinkem by tedy zjevně mohla být blokáda těchto receptorů. Touto možností se také zabývala řada studií, především s látkou rimonabant, selektivním antagonistou (resp. inverzním agonistou) CB₁ R (Roser et al. 2010). Rimonabant (Acomplia) byl klinicky používán jako lék proti obezitě a kardiovaskulárním rizikům spojeným s obezitou, avšak v roce 2010 musel být z trhu stažen pro vysokou incidenci nežádoucích účinků – úzkostně-depresivních stavů a (i realizovaných) suicidálních tendencí (Christensen et al. 2007). Rimonabant v animálních modelech (viz. *Tabulka 7*) podobně jako CBD antagonizoval hyperlokomoci v dopaminergních i glutamátergních modelech (amfetamin, kokain a PCP) (Poncelet et al. 1999; Tzavara et al. 2003). Rimonabant také u potkanů normalizoval narušení PPI vyvolané podáním agonisty CB₁ R (Mansbach et al. 1996; Martin et al. 2003), antagonistů NMDA receptoru PCP a MK-801 (Ballmaier et al. 2007) a apomorfinu (u potkanů i myši) (Ballmaier et al. 2007; Malone et al. 2004). V případě PPI však existuje i studie s negativními výsledky jak v dopaminergních tak glutamátergních modelech (Martin et al. 2003). Na rozdíl od CBD rimonabant však navíc neovlivnil ani stereotypní chování vyvolané amfetaminem u opic (Madsen et al. 2006) ani u potkanů (Martin et al. 2003; Miller et al. 2007).

Tabulka 7: Antipsychotické účinky rimonabantu v animálních modelech. (PPI = prepulzní inhibice; ↑ = zvýšení; ↓ = snížení; n.s. = nesignifikantní).

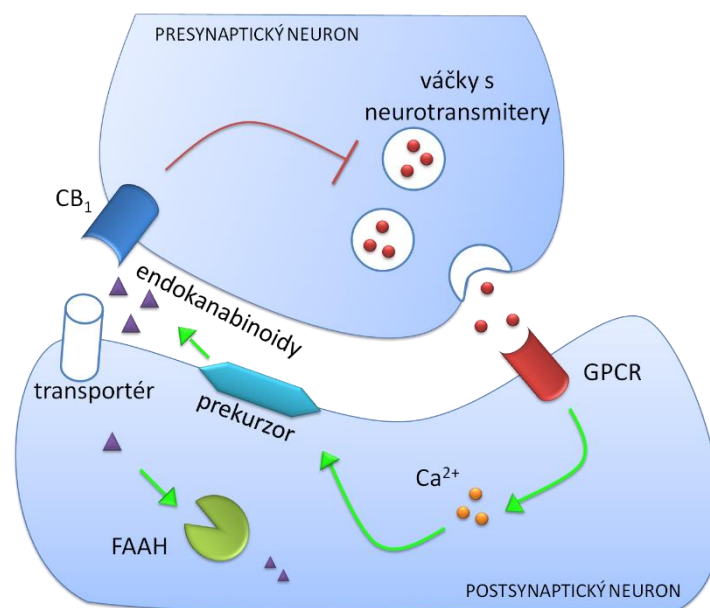
reference	druh	model	látka (dávka v mg/kg)	efekt	dávka vedoucí k signifikantní změně (mg)
Poncelet <i>et al.</i> (1999)	pískomil (habituovaný)	amfetamin (2,5 mg/kg)	rimonabant (0,3; 1; 3)	↓	1; 3
		kokain (5 – 15 mg/kg)			
		morfin (4 mg/kg)			
		WIN-55,212-2 (1 mg/kg)			
Martin <i>et al.</i> (2003)	potkani	amfetamin (3 mg/kg) - hyperaktivita	rimonabant (0,005; 0,05; 5)	n.s.	-
			haloperidol (0,25)	↓	0,25
		CP-55,940 (0,1 mg/kg) – disrupce PPI	rimonabant (5; 10)	normalizace	10

		apomorfin (0,5 mg/kg)	disrupce PPI	rimonabant (0,3; 0,5; 1; 5)	n.s.	-
		amfetamin (5 mg/kg)		haloperidol (0,3)	↓	0,3
		MK-801 (0,1 mg/kg)		klozapin (10)	↓	10
				olanzapin (10)	↓	10
Tzavara et al. (2003)	myši	amfetamin (2,5 mg/kg)	hyperloko moce	rimonabant (3; 10)	↓	3; 10
		fencyklidin (4 mg/kg)				
Madsen et al. (2006)	opice	amfetamin (0,25 mg/kg) – stereotypní chování		rimonabant (0,1; 0,25; 0,375; 0,5; 0,75)	n.s.	-
Miller et al. (2007)	potkani	amfetamin (1 mg/kg) - hyperaktivita		rimonabant (1)	n.s.	-
Mansbach et al. (1996)	potkani	CP-55,940 (0,3 mg/kg) – disrupce PPI		rimonabant (10)	↓	10
Malone et al. (2004)	myši	apomorfin (3 mg/kg) – disrupce PPI		rimonabant (3)	↓	3
Ballmaier et al. (2007)	potkani	fencyklidin (1,25 mg/kg)	disrupce PPI	rimonabant (0,75; 1,5; 3)	normalizace	0,75; 1,5; 3
		MK-801 (0,1 mg/kg)				
		apomorfin (0,25 mg/kg)		klozapin (7,5)	normalizace	7,5

Klinické studie u psychotických pacientů neměly tak přesvědčivé výsledky jako v případě CBD. Meltzer et al. provedl s rimonabantem v dávce 20 mg 6ti-týdenní randomizovanou dvojitě slepou studii kontrolovanou placebem (n=72) u pacientů se schizofrenií a schizoafektivní poruchou. Autoři nezjistili žádné klinické zlepšení ani na škále PANSS ani BPRS. Navíc pouze 15 pacientů studii dokončilo (Meltzer et al. 2004). Naproti tomu v novější 16ti-týdenní randomizované dvojitě slepé studii kontrolované placebem u 15 oběžních pacientů se schizofrenií a schizoafektivní poruchou, z nichž 10 studii dokončilo, bylo prokázáno signifikantní snížení celkového skóre na škále BPRS při podávání stejné dávky (Kelly et al. 2011). Studie však musela být předčasně ukončena z důvodu stažení rimonabantu z trhu v roce 2010. Nejednoznačné výsledky preklinických i klinických studií spolu s depresogenním potenciálem rimonabantu však činí další výzkum v dané situaci nereálný.

2.5.3 Mechanismus antipsychotického působení kanabinoidů

Mechanismus antipsychotického účinku kanabinoidů není zatím zcela jednoznačně vysvětlen a prozkoumán. Na rozdíl od rimonabantu, v případě CBD velmi pravděpodobně není dán prostým antagonismem kanabinoidních receptorů, ale především jeho schopností modulovat endogenní kanabinoidní signalizaci s prodloužením působení endogenních kanabinoidů na synapsi. Tuto teorii podporuje zjištění, že hladina anandamidu v cerebrospinální tekutině (CSF) negativně koreluje s intenzitou psychopatologie u pacientů se schizofrenií (Giuffrida et al. 2004). Z preklinických studií je známo, že aktivace D₂ receptorů vede ke zvýšené syntéze anandamidu v dorzálním striátu (Giuffrida et al. 1999). Současně u pacientů se schizofrenií je charakteristická zvýšená hladina dopaminu ve striátu (Horacek et al. 2006). Zvýšená hladina anandamidu pak může tedy teoreticky být projevem homeostatické adaptace na hyperdopaminergní stav skrze aktivované D₂ receptory (Giuffrida et al. 2004; Leweke et al. 1999; Leweke et al. 2012). Dochází-li k tomuto ději ve striátu, zvýšené hladiny anandamidu následně zpětně inhibují vyplavování dopaminu z presynaptického zakončení (viz. Obrázek 2). Výsledkem by pak logicky bylo zmírnění klinické symptomatologie při zvýšených hladinách anandamidu v CSF, kterých lze též dosáhnout právě podáním CBD.



Obrázek 2: Účinky kanabidiolu na dopaminergní neurotransmisi v mesolimbické oblasti. Aktivace dopaminový receptorů D₂ je spojená se zvýšeným výdejem anandamidu ve striátu, což následně redukuje behaviorální účinky agonistů dopaminového receptoru D₂ prostřednictvím aktivace CB₁ receptorů = zpětnovazebné inhibici dopaminergní stimulace. Kanabidiol je inhibitor transportéru a FAAH, čímž potencuje anandamidovou signalizaci. Tento mechanismus účinku může stát za antipsychotickým potenciálem, neboť se tím posiluje inhibiční vliv anandamidu na dopaminergní stimulaci (FAAH = hydroláza amidů mastných kyselin; CB₁ = kanabinoidní receptor 1; GPCR = receptor spřažený s G-proteinem).

V současné době jsou diskutovány také různé možnosti ovlivnění vlastní aktivity CB₁ R. Účinky rimonabantu na depresi souvisí s jeho vlastní vnitřní aktivitou na CB₁ R, protože rimonabant je tzv. inverzním agonistou CB₁ R. Současně syntetičtí, plní a vysoce potentní

agonisté CB₁ R, jsou s největší pravděpodobností i více nebezpeční z hlediska vyvolání psychotických reakcí než parciální agonisté jako například THC (Papanti et al. 2013). Je tedy velkou otázkou jakým způsobem je vhodné modulovat kanabinoidní neurotransmisi. V současnosti jsou v preklinickém testování různé selektivní tzv. silent antagonisté (antagonisté bez vlivu na vlastní aktivitu CB₁ R), kteří by mohli být jednou z cest budoucího ovlivnění kanabinoidního systému (McLaughlin 2012). Dále vzhledem k tomu, že zvýšení hladin anandamidu, tedy stimulace CB₁ R, má antipsychotické účinky, je druhou možností vývoj takových parciálních agonistů nebo alosterických modulátorů CB₁ R, kteří by imitovali efekt zvýšení anandamidu a byli by méně účinnými než THC. Nelze opomenout, že i řada pacientů zmiňuje dočasné zmírnění některých příznaků psychóz (zejména negativních, protože THC zvyšuje výdej dopaminu mj. i v prefrontální oblasti – sebemedikace) tím, že užívá kanabis (Schnell et al. 2013). Je tedy velmi pravděpodobné, že kanabinoidní systém v budoucnu nabídne zcela novou cestu využitelnou v terapii těchto velmi závažných poruch.

3 CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

V našich experimentech jsme se zaměřili na farmakologické animální modely schizofrenie, v nichž hodnotíme změny v chování nebo elektrické aktivitě mozku potkanů. Cílem diplomové práce bylo 1) prověřit, zda má akutní podání THC potkanům potenciál modelovat psychózu a 2) určit, jestli CBD má v tomto modelu antipsychotické účinky. K tomu jsme využili měření lokomoce a organizace prostorového chování v testu otevřeného pole, měření sensorimotorického zpracování informací pomocí PPI ASR a měření elektrické aktivity kortexu – všechno parametry mající své humánní koreláty u schizofrenních pacientů.

4 MATERIÁL A METODY

4.1 EXPERIMENTÁLNÍ ZVÍŘATA

Experimenty byly prováděny na SPF (specific pathogen free) dospělých potkanech kmene Wistar (Velaz s.r.o., Česká republika). Pro behaviorální experimenty byla použita zvířata o hmotnosti 200–250 g, pro EEG experimenty 250 – 300 g v době operace s váhovým nárůstem na 300 – 350 g v době registrace. Pro jednotlivé experimenty byly použity skupiny zvířat o velikosti 10 jedinců. Zvířata byla ustájena po párech v plastových akváriích v klimatizovaném zvěřinci s regulovanou teplotou (20-22°C) s pravidelným dvanáctihodinovým cyklem světlo/tma. Pro EEG experimenty byla zvířata po operaci rozdělena do samostatných akvárií, kde pobývala až do registrace. Zvířata měla neomezený přístup k potravě a k vodě. Všechna zvířata byla experimentálně naivní a byla testována pouze jednou. Veškeré experimenty byly prováděny během světelné periody (8:30 – 13:00). Všechny experimenty byly schváleny odbornou komisí pro práci s laboratorními zvířaty při 3. lékařské fakultě Univerzity Karlovy a Psychiatrickém centru Praha a byly provedeny v souladu se zákonem na ochranu zvířat proti týrání.

4.2 EXPERIMENTÁLNÍ LÁTKY

Δ -9-tetrahydrokanabinol (THC Pharm, čistota ≥ 98 %) i kanabidiol (THC Pharm, čistota $\geq 99,9$ %) byly rozpuštěny ve slunečnicovém oleji (oleum helianthi) a aplikovány subkutánně (s.c.) v dávce 1, 3 a 10 mg/kg. Roztoky a/nebo vehikulum byly aplikovány v objemu 0,5 ml/kg živé váhy. K aplikaci došlo 60 min před začátkem behaviorálních pokusů, u EEG byla aplikována pouze nejvyšší dávka v 10. minutě záznamu.

4.3 EXPERIMENTÁLNÍ POSTUPY

4.3.1 Farmakokinetické experimenty

Samcům potkanů kmene Wistar bylo aplikováno THC a CBD v dávce 3 mg/kg subkutánně a stejné látky v dávce 10 mg/kg orálně v čase 0. V případě orální aplikace bylo zvířatům odejmuto krmění minimálně 12 hodin před aplikací. Zvířata byla po aplikaci umístěna zpět do akvária a následně usmrcena 0,5, 1, 2, 4, 8 a 24 hodin od aplikace (na každou látku a časový bod 6 zvířat). Byl jim vyjmut mozek, plíce a játra a odebrána krev, která byla zcentrifugována a pro analýzu bylo odebráno sérum, vše bylo pečlivě zabaleno do alobalu a skladováno při -20°C do analýzy. Veškerá metodika byla převzata z předchozích prací (Palenicek et al. 2008).

Analýzy byly provedeny na pracovišti Ústavu soudního lékařství a toxikologie 1. LF UK na plynovém chromatogramu GC7860/5742C MSD s kolonou HP5-MS (20 mm x 0,18 mm ID, 0,18 µm tloušťka filmu, Agilent, Germany). Teplotní program: 125°C po dobu 2 minut, poté rampa 25°C/min do 250°C, poté rampa 30°C/min do 310°C, celková doba analýzy je 18 minut. Instrumentální parametry: 280°C inlet, 310°C detector, tok nosného plynu (He) 0,65 ml/min. Všechna měření probíhala v SIM modu a sledované ionty byly následující (standard/deuterovaný standard): CBD (390/393), THC (386/389), OH-THC (371/374), THCOOH (371/374).

Příprava vzorků mozku: naváží se 1 g mozkové tkáně do 25ml kádinky, přidá se 5 ml metanolu, dále bylo přidáno 50 µl metanolového roztoku IS (c = 1ng/µl, inner standard, THCd3, THCOOHd3 - deuterované standardy), směs se mixuje dle potřeby v ULTRA Thurax homogonizátoru, vzorek se převede do zkumavky a sonifikuje v ultrazvuku 20 min, poté se vymrazí tuky 5 min při -25°C, odstředí, odebrat metanolový supernatant do nové zkumavky a odpařit na objem ± 300 µl, přidat 3 ml 0,1 M octanu sodného, tato směs se poté stejně jako v případě sér aplikuje na kolonku a další postup je identický.

Příprava sérových vzorků: 1 ml séra byl naředěn 5 ml 0,1 M octanu sodného, do směsi bylo přidáno 50 µl metanolového roztoku IS (inner standard, THCd3, THCOOHd3 – deuterované standardy), směs se protřepala a odstředila 2 min při 4200 otáčkách za minutu, výsledná směs byla aplikována na kolonku SPE Bond Elut Certify 130 mg (SPE – solid phase extraction), výsledný eluát z kolonky byl odpařen na ± 200 µl mírným proudem vzduchu, tento zbytek eluátu byl přepipetován do 400µl skleněného insertu vloženého v 1,5 ml skleněné vialce a následně odpařen do sucha. Po odpaření bylo do insertu napipetováno 30 µl derivatizačního činidla MSTFA (N-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamid), vialka byla uzavřena a

inkubována 20 minut při 80°C. Poté byl hotový vzorek umístěn do autosampleru plynového chromatografu a 1 µl byl dávkován na kolonu splitless.

4.3.2 Behaviorální experimenty

Všechny typy použitých experimentů jsou na pracovišti stabilně používány a zavedeny viz např. (Bubenikova-Valesova et al. 2008; Palenicek et al. 2008; Palenicek et al. 2013). Pro účely těchto experimentů byly metodiky adaptovány a inovovány tak aby odpovídaly našim aktuálním potřebám.

4.3.2.1 TEST OTEVŘENÉHO POLE (ETHOVISION)

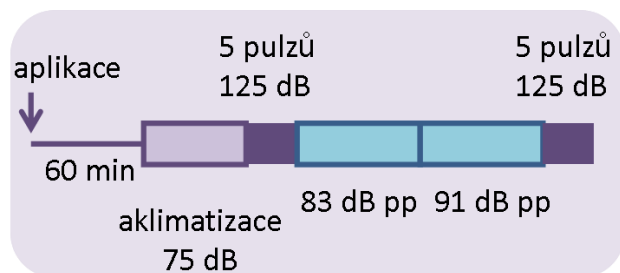
Lokomoční aktivita (celková délka trajektorie) a její prostorové charakteristiky (thigmotaxe a čas strávený v centru arény) v neznámém prostředí byly registrovány a analyzovány pomocí automatického kamerového sledovacího systému pro nahrávání behaviorálních aktivit (EthoVision Color Pro v. 3.1.1, Noldus, Nizozemí). Zvířata byla testována v černé čtvercové aréně o rozměrech 68 x 68 x 30 cm, která byla umístěna v odhlučněné, rovnoměrně osvětlené experimentální místnosti. Deset experimentálních skupin bylo postupně umístěno do středu arény 60 minut po aplikaci látek (THC 1, 3 a 10 mg/kg, CBD 1, 3 a 10 mg/kg a THC + CBD – obojí 1, 3 a 10 mg/kg + korespondující skupina, které bylo aplikováno vehikulum). Lokomoční aktivita byla zaznamenávána po dobu 30 minut od vložení do arény. Pomocí programu EthoVision jsme hodnotili celkovou lokomoci zvířat za celý časový úsek, po který bylo zvíře registrováno, dále lokomoci zvířat v pětiminutových intervalech, frekvenci výskytu a dobu strávenou v jednotlivých zónách. Pomocí posledních dvou parametrů bylo možné určit míru thigmotaxe a času stráveného ve středu arény. K hodnocení právě zmíněných prostorových charakteristik pohybu v otevřeném poli byla aréna virtuálně rozdělena programem na 5 x 5 identických čtverců, přičemž 16 jich bylo lokalizováno na periferii a 9 ve středu. Na počátku byla spočítána frekvence výskytu zvířete v jednotlivých zónách (frekvence f). Thigmotaxe pak byla odvozena pomocí vzorce $f_{periferie}/f_{všechny\ zóny}$. Thigmotaxe je tedy relativní číslo, které se pohybuje v rozpětí 0 až 1 a značí pravděpodobnost výskytu zvířete v jakékoliv z periferních zón v aréně. Jako komplementární hodnota byl spočítán čas strávený ve středu ($T_{střed}$) arény součtem časů strávených v 9 středových zónách. Tyto parametry mohou reflektovat změny v exploratorním chování, mohou být asociovány s úzkostí, v některých případech mohou vyjadřovat i stereotypní chování a značí správnost zpracování vnějších podnětů a míru efektivity orientace v prostoru.

Výstupní data z programu EthoVision ve formě x, y koordinát byla použita k analýze komponent trajektorie pomocí programu SEE Workshop (Tel-Aviv University). Data byla dále analyzována pomocí balíčku naprogramovaném pro analýzu dat v programu R (freeware, v. 3.1.1). Výsledkem této analýzy byly následující parametry spočtené pro trajektorie jednotlivých potkanů: maximální rychlost [cm/s] v aktivních a pasivních segmentech, průměrná akcelerace [cm/s²] v aktivních segmentech, průměrná délka [s] aktivních i pasivních segmentů a počet aktivních segmentů.

4.3.2.2 PREPULZNÍ INHIBICE (PPI) AKUSTICKÉ ÚLEKOVÉ REAKCE (ASR)

Všichni potkani byli navyknuti na testovací aparát během krátkého nácviku (pětiminutová aklimatizační perioda (75 dB) plus 5 jednotlivých pulzů (120 dB) 2 dny před experimentem). V den měření bylo použito stejné administrační schéma jako u lokomočních experimentů. Deset experimentálních skupin bylo postupně umístěno do testovacího aparátu 60 minut po aplikaci látek (THC 1, 3 a 10 mg/kg, CBD 10 mg/kg a THC + CBD 10 mg/kg + korespondující skupina, které bylo aplikováno vehikulum). Všechny testy byly provedeny na dvou kalibrovaných úlekových komorách (SR-LAB, San Diego Instruments, California, USA), které se skládají z odhlučnění, rovnoměrně osvětlené vnitřní komůrky s plexisklovým stabilimetrem s vnitřním průměrem 8,7 cm a piezoelektrickým akcelerometrem. Vysokofrekvenční reproduktor zavěšený 24 cm na plexisklovém válci v komoře produkoval jak šum pozadí o intenzitě 75 dB tak všechny akustické stimuly.

Po pětiminutové aklimatizační periodě začal test první sérií pěti akustických podnětů (125 dB). Dále experiment pokračoval aplikací druhé série podnětů, která se skládala ze čtyř různých typů sekvencí podnětů v pseudorandomizovaném uspořádání: (1) bílý šum o intenzitě 125 dB, trvání 20 ms; (2) prepulz-pulz: prepulz o intenzitě 13 dB nad hranici šumu pozadí, trvání 20 ms, aplikován 100 ms před začátkem samotného 125 dB pulzu; (3) samotný prepulz: prepulz o intenzitě 13 dB nad hranici šumu pozadí, trvání 20 ms; (4) žádný stimulus (viz. Obrázek 3).



Obrázek 3: Experimentální schéma aplikace pulzů v testu PPI ASR. Po aplikaci a aklimatizační periodě jsou potkanovi aplikovány čtyři různé typy sekvencí podnětů v pseudonáhodném uspořádání.

Každý typ sekvencí podnětů byl aplikován pětkrát, interval mezi nimi byl v průměru 30 s. PPI byla vyjádřena jako procentuální rozdíl podle vzorce: $[100 - (\text{průměrná odpověď na prepulz} +$

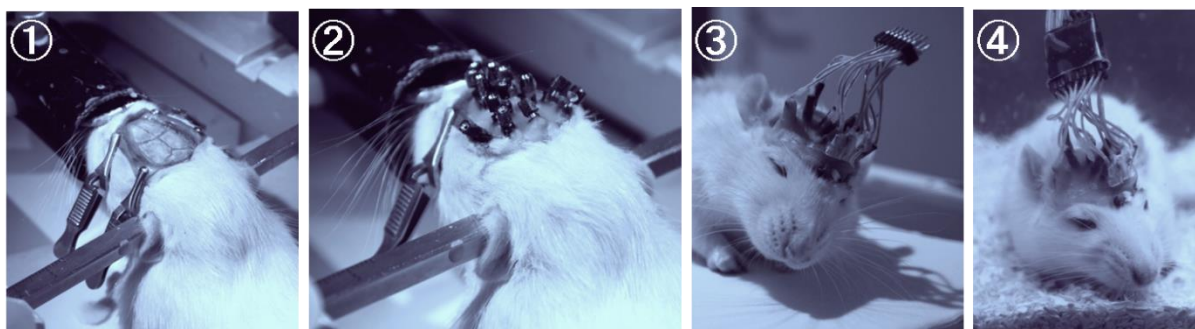
podnět/průměrná odpověď na úlekový podnět)] x 100. První série čtyř počátečních akustických podnětů nebyla do výpočtu zahrnuta. Zvířata s průměrným úlekem, který byl nižší než 10 arbitrárních jednotek výrobce, byla vyloučena z výpočtů PPI a byla označena jako non-respondéři. Počet zvířat vyloučených z analýzy se významně nelišil pro jednotlivé experimentální skupiny; maximálně byla vyloučena dvě zvířata (ve většině skupin však pouze žádné či jedno). Finální počet zvířat použitých pro analýzu poté, co byli vyloučeni non-respondéři, se pohyboval mezi 8 a 10 na skupinu.

Mimo prepulzní inhibici úlekové reakce byla také sledována průměrná úleková reakce ASR potkanů na samotný úlekový podnět (125 dB) a habituace na úlekový podnět.

4.3.3 EEG experimenty

4.3.3.1 STEREOTAKTICKÁ OPERACE

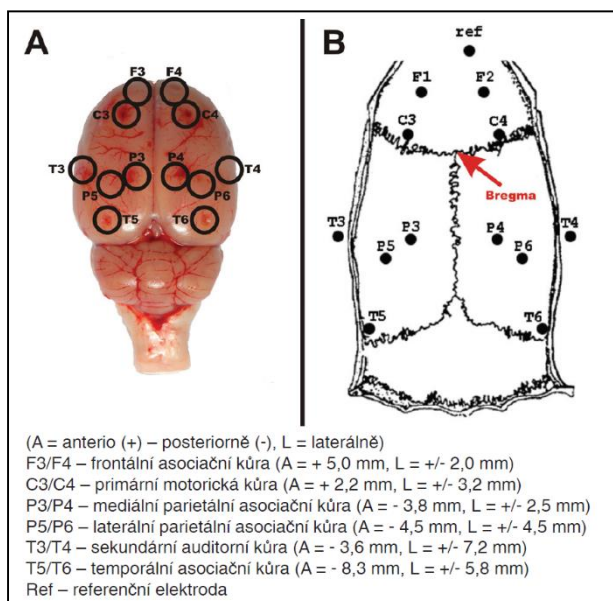
Potkanům bylo stereotakticky implantováno 14 stříbrných elektrod v celkové isofluranové anestézii 7 dní před nahráváním EEG. 12 aktivních elektrod bylo implantováno subdurálně na povrch kortexu v homologiích oblastech frontálního, parietálního a temporálního laloku pravé a levé hemisféry (viz. *Obrázek 4*).



Obrázek 4: Průběh implantace elektrod do lebky potkana. Po odhalení vnějšího povrchu lebky a pečlivém oškrábání periostu (①) jsou do lebky vyvrtány otvory na specifická místa, jejichž koordináty byly vybrány pomocí stereotaktického atlasu. Fixace elektrod k lebce a celkové uzavření rány se děje zalitím zubním cementem Dentalonem (②). Šest dní po operaci je v krátké isofluranové anestézii k elektrodám přicementován konektor (③). Při registraci, která probíhá 7 dní po operaci, je konektor připojen kabelem k zesilovači (④).

Koordináty pro jednotlivé elektrody byly: 5 mm anteriorně a ± 2 mm laterálně od Bregmy (elektrody F3 a F4) pro frontální asociační kortex, 2,2 mm anteriorně a $\pm 3,2$ mm laterálně od Bregmy (elektrody C3/C4) pro primární notorickou kůru, 3,8 mm posteriorně a $\pm 2,5$ mm laterálně od Bregmy (elektrody P3/P4) a 4,5 mm posteriorně a $\pm 4,5$ mm laterálně od Bregmy (elektrody P5/P6) pro oblasti parietální asociační kůry, 3,6 mm posteriorně a $\pm 7,2$ mm laterálně od Bregmy (elektrody T3/T4) pro temporální asociační kůru a 8,3 mm posteriorně a $\pm 5,8$ mm laterálně od Bregmy (elektrody T5/T6) pro sekundární sluchovou kůru (viz. *Obrázek 5*).

Koordináty pro implantaci elektrod byly převzaty ze stereotaktického atlasu *The Rat Brain – Fourth Edition* (Paxinos and Watson 2003). Referenční elektroda (REF) byla implantována nad oblast čichového laloku a zemní elektroda (GND) byla umístěna subkutánně v okcipitální oblasti. Všechny elektrody byly ke kalvě připevněny pomocí zubního cementu Dentalon. Po operaci byla zvířata umístěna individuálně do plastových akvárií, kde setrvala až do dne EEG registrace. Den před zahájením registrace byla potkanům v krátkodobé isofluranové anestézii přicementována redukce pro připojení k registračnímu setu.



Obrázek 5: Pozice elektrod na povrchu mozku a lebky potkana. 3/F4 odpovídá elektrodám nad levým a pravým frontálním asociačním kortexem, C3/C4 primární motorické kůře, P3/P4 a P5/P6 mediálnímu a laterálnímu parietálnímu asociačnímu kortexu, T3/T4 sekundárnímu sluchovému kortexu a T5/T6 temporálnímu asociačnímu kortexu. Ref = referenční elektroda.

4.3.3.2 REGISTRACE EEG

EEG záznamy byly registrovány pomocí 21kanálového zesilovače BrainScope (Unimedis, Praha) mezi 8:30 a 13:00. Celková délka registrace jednoho EEG záznamu byla 100 minut. V průběhu prvních 10 minut byl registrován klidový záznam, po něm byla zvířatům subkutánně aplikována látka – THC (10 mg/kg), CBD (10 mg/kg) a THC + CBD (oboje 10 mg/kg). Během registrace se potkani mohli po celou dobu volně pohybovat ve svých akváriích. Současně s registrací EEG bylo pomocí programu Activities zaznamenáváno chování zvířat – aktivní (běhání, chození, čištění apod.) a pasivní (mobilita, čenichání bez pohybu celého těla, malé pohyby hlavou, malé pohyby bez pohybu končetin). Úseky odpovídající aplikaci látek byly značeny jako artefakt a následně vyřazeny z analýzy. Stejně tak byly vyřazeny z analýzy úseky, kde potkani usínali a/nebo byli buzeni jemným. EEG záznam byl uložen na pevný disk připojeného počítače pro následné off-line vyhodnocení.

4.3.3.3 EEG ANALÝZA

Pro analýzu dat bylo použito 10 jedinců z každé skupiny. V programu WaveFinder v. 2.6. (Unimedis, Praha) byl EEG záznam rozdělen na úseky odpovídající pasivnímu a aktivnímu chování dle předlohy z programu Activities. Na záznam byl současně aplikován pásmový filtr a lineární FIR filtr (Finite Impulse Response – tzv. filtry s konečnou dobou odezvy, jsou vždy stabilní a mají lineární fázovou charakteristiku) se 111 koeficienty v rozmezí 0,5 – 40 Hz. Následně byl signál odpovídající pasivním úsekům chování importován do softwaru Neuroguide v.2.6.5. (Applied Neuroscience Inc., St. Petersburg, Florida, USA), přičemž během importu byla programem automaticky snížena vzorkovací frekvence z 250 Hz na 128 Hz. Pro vlastní analýzu byly vizuálně vybrány dva úseky EEG. První úsek představoval kontrolní EEG úsek před aplikací látek, druhý úsek byl vybrán ze záznamu 20 – 30 minut, 50 – 60 minut a 80 – 90 minut po aplikaci látek. Z každé části záznamu byly vždy iniciálně manuálně vyselektovány charakteristické reprezentativní bezartefaktové úseky o celkové délce 1 – 3 sekund sloužící pro poloautomatický výběr dostatečně dlouhého reprezentativního EEG záznamu pro analýzu v softwaru Neuroguide. Kritéria k selekci EEG úseků byla: 1) délka vzorku delší než 30 sekund, 2) vizuální inspekce digitálního záznamu EEG, 3) splnění split-half reliability $\geq 0,9$, 4) splnění test-retest reliability $\geq 0,9$. Takto vyselektované úseky byly dále podrobeny kvantitativní (spektrální a koherenční) analýze v programu Neuroguide.

Po rychlé Fourierova transformace (Fast Fourier Transformation; FFT) byla z každého vyselektovaného úseku vypočítána spektra v rozmezí 1 až 40 Hz s rozlišením 0,5 Hz. Autospektra jednotlivých elektrod a crossspektra vybraných elektrodoých párů byla vypočítána v následujících frekvenčních pásmech: delta (1 – 4 Hz), theta (4 – 7 Hz), alfa (8 – 12 Hz), beta (12 – 25 Hz), vysoká beta (25 – 30 Hz), gama (30 – 40 Hz). EEG koherence byly vypočítány pro 30 intrahemisferálních elektrodoých párů (F3-C3, F3-P3, F3-P5, F3-T3, F3-T5, C3-P3, C3-P5, C3-T3, C3-T5, P3-P5, P3-T3, P3-T5, P5-T3, P5-T5, T3-T5 na levé hemisféře a analogicky na pravé) a 6 interhemisferálních elektrodoých párů (F3-F4, C3-C4, P3-P4, P5-P6, T3-T4, T5-T6).

4.3.4 Statistika

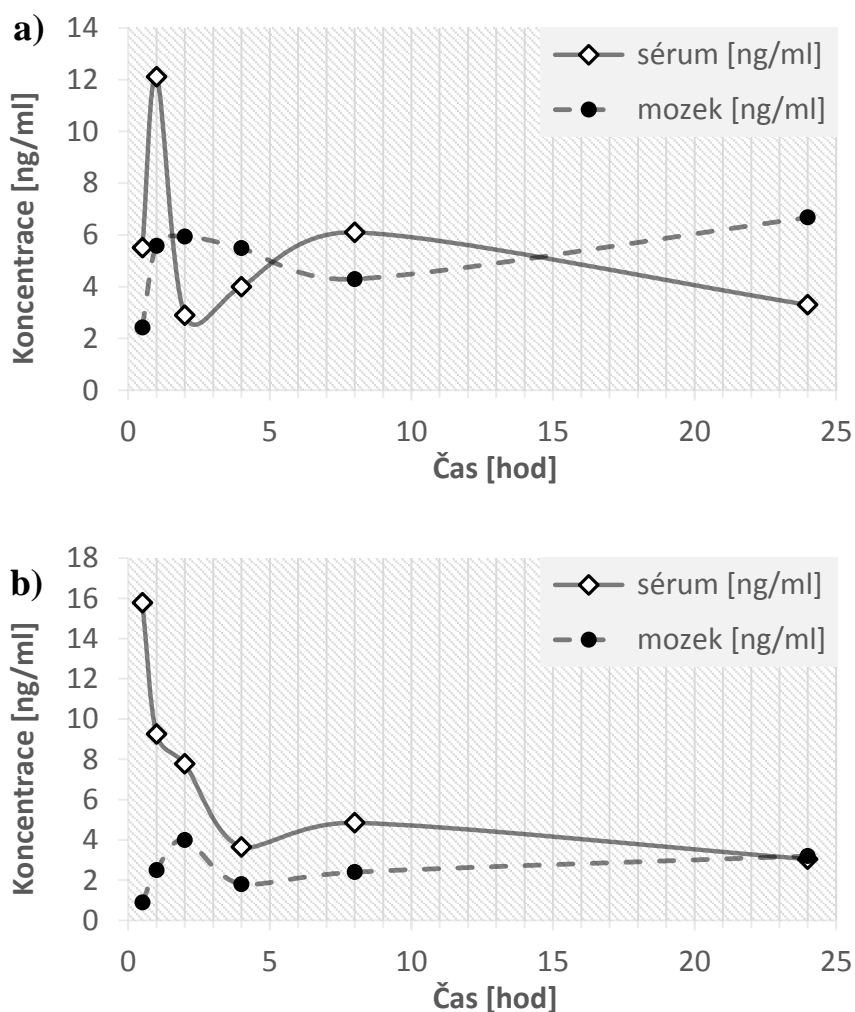
V behaviorálních pokusech srovnání skupin v rámci celkové trajektorie bylo provedeno pomocí jednocestné analýzy variance (one-way ANOVA) s post hoc testem Duncan (varianta původního Newman Keuls). Trajektorie v pětiminutových intervalech byla srovnána pomocí dvoucestných analýz variance pro opakovaná měření (two-way RM ANOVA) pro jednotlivé dávky látek, kdy dávka byla kategoriálním nezávislým faktorem a čas měření byl faktorem opakování. Post hoc analýzy byly provedeny pomocí testu Newman Keuls. Úleková reakce i

PPI byly testovány pomocí two-way ANOVA, kdy faktor léčby interagoval s dalšími faktory intenzitou a intervalem PPI, s následným post hoc testem Newman-Keuls. V rámci EEG experimentů byly nejprve změny ve výkonu srovnány s baseline pomocí párového T-testu a následně byla provedena analýza kovariance (ANCOVA) pro srovnání mezi skupinami s baseline jako kovariátou. EEG koherence byly srovnány pomocí párového T-testu (srovnání vlivu látky versus baseline). Párové T-testy byly provedeny v programu Neuroguide Deluxe v. 2.6.7.4, ANOVA a ANCOVA byla provedena v programu Statistica v. 9.0 a SigmaStat v. 3.0.

5 VÝSLEDKY

5.1 FARMAKOKINETIKA

Stanovené kinetické profily THC a CBD v séru a mozku potkanů usmrcených 0,5, 1, 2, 4, 8 a 24 hodin po subkutánním podání dávky 3 mg/kg jsou prezentovány ve formě průměrných hodnot ($n = 6$) v *Graf 1*.



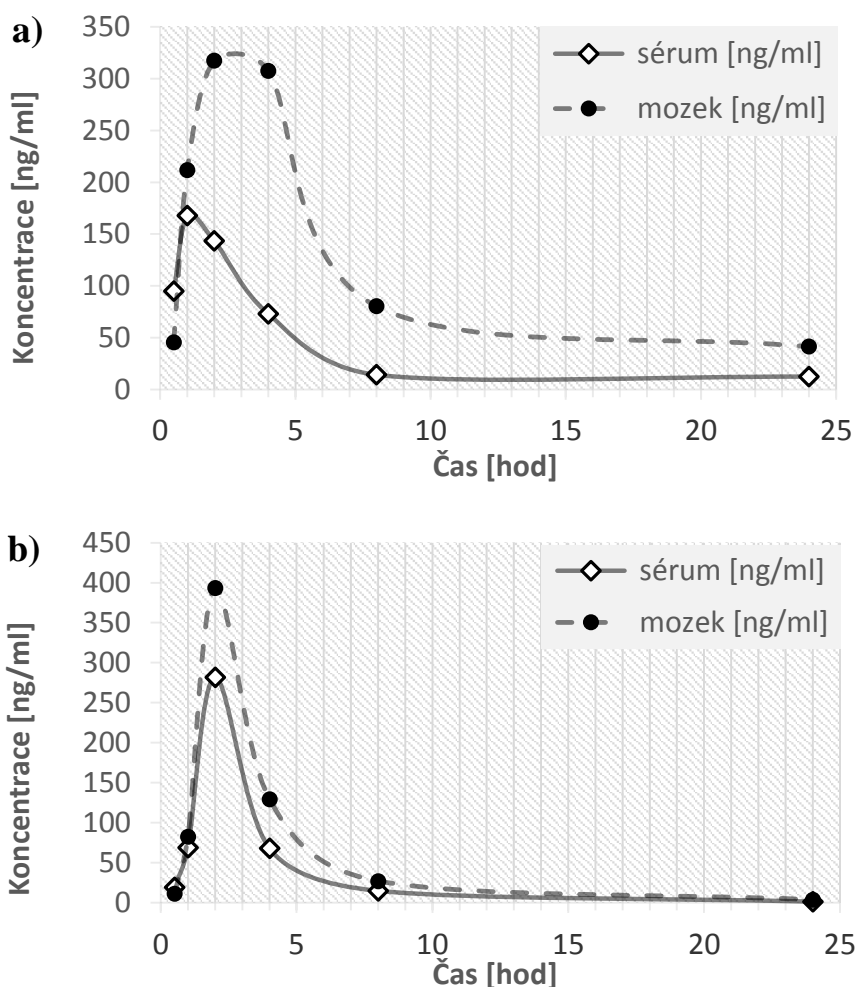
Graf 1.

Průměrné hodnoty hladin THC (a) a CBD (b) v séru a mozku po subkutánním podání dávky 3 mg/kg.

Absorpce THC do krevního oběhu byla o něco pomalejší než absorpce CBD. Maximální koncentrace THC v séru (průměrné $c_{\max} = 12,1 \pm 7,5$ ng/ml) bylo dosaženo hodinu po aplikaci, zatímco CBD dosáhlo nejvyšší hladiny (průměrné $c_{\max} = 15,8 \pm 8,4$ ng/ml) již třicet minut po podání. Distribuce obou látek do mozku byla oproti séru zpožděná, maximální koncentrace zde obě látky dosahují po dvou hodinách od aplikace.

V profilu obou látek se objevují dva vrcholy. Jedná se pravděpodobně o minimálně dvoukompartmentový model distribuce, kdy se látky nejdříve deponují v okolních tukových tkání, odkud se následně se zpožděním uvolňují.

Stanovené kinetické profily THC a CBD v séru a mozku potkanů usmrcených 0,5, 1, 2, 4, 8 a 24 hodin po orálním podání dávky 10 mg/kg jsou prezentovány ve formě průměrných hodnot ($n = 6$) v Graf 2.



Graf 2.

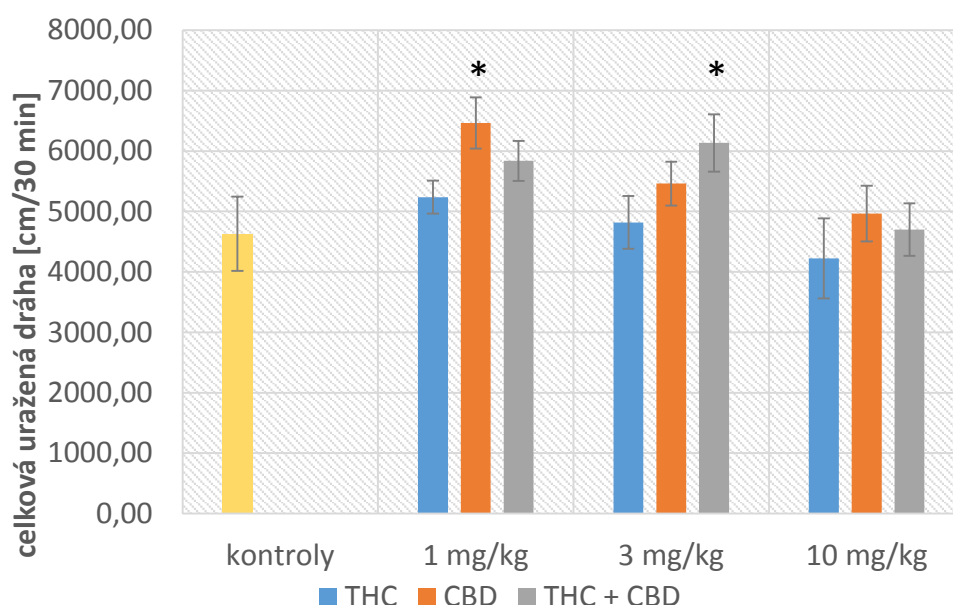
Průměrné hodnoty hladin THC (a) a CBD (b) v séru a mozku po orálním podání dávky 10 mg/kg.

V porovnání se subkutánní aplikací bylo u obou látek dosaženo maximální koncentrace v séru mnohem později – jednu až dvě hodiny po aplikaci. Obě látky dosáhly v séru (THC: průměrné $c_{\max} = 167,7 \pm 88,1$ ng/ml; CBD: průměrné $c_{\max} = 281,7 \pm 97,0$ ng/ml) i v mozku (THC: průměrné $c_{\max} = 317,4 \pm 55,1$ ng/ml; CBD: průměrné $c_{\max} = 263,8 \pm 47,6$) mnohem vyšších hladin. Zajímavá je akumulace v mozku, která je dána lipofilitou kanabinoidů, významná hladina v mozku též přetrvává mnohem déle. Také zde chybí dvojitý vrchol, který byl pozorován výše.

5.2 BEHAVIORÁLNÍ EXPERIMENTY

5.2.1 Test otevřeného pole

Srovnání celkových délek trajektorie všech skupin jednocestnou ANOVOU odhalilo signifikantní rozdíly mezi skupinami ($F(9,90) = 2.435$, $P = 0.016$). Následné post-hoc testy byly provedeny dvěma způsoby: 1) pro zjištění efektu látek ve srovnání s kontrolami (Dunnet) a 2) pro meziskupinové srovnání (Duncan – pozměněný Newman-Keuls). Srovnání s kontrolami ukázalo signifikantní rozdíl u CBD 1 mg/kg ($P = 0.016$) a THC+CBD 3 mg/kg ($P = 0.049$), meziskupinové srovnání ukázalo jak vliv samotného CBD 1 mg/kg, tak vliv léčby CBD na THC ($p < 0.05$) (Graf 3.).



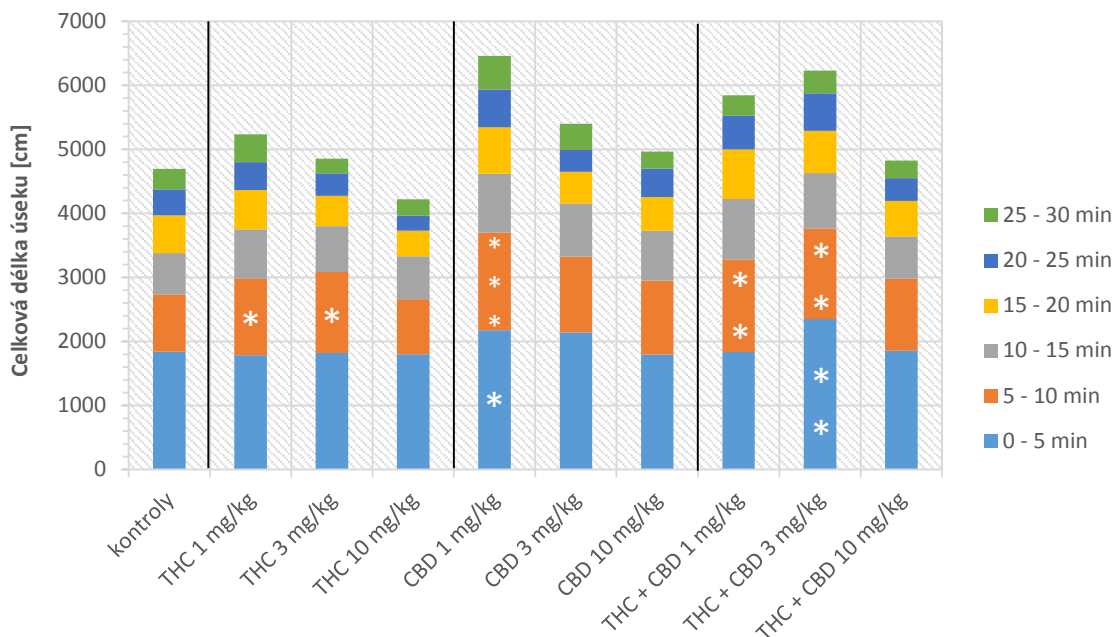
Graf 3.

Celková délka trajektorie po podání THC, CBD a THC+CBD v dávkách 1, 3 a 10 mg/kg. (* = $p < 0.05$ vs kontroly).

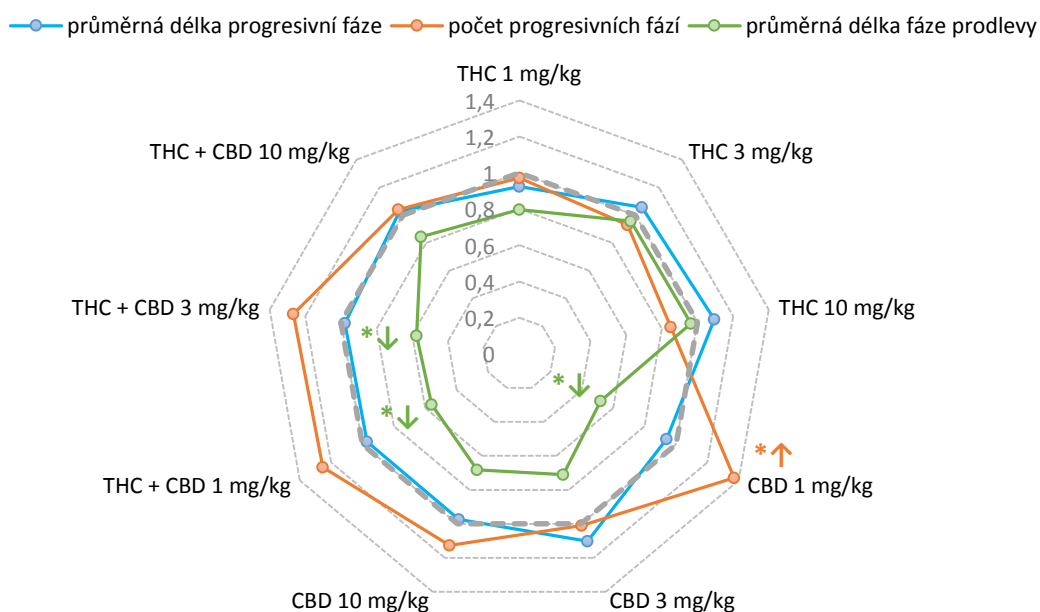
Analýzy lokomoce v 5-ti minutových intervalech byly testovány pomocí two way RM ANOVA. V pětiminutových intervalech od počátku měření se bez rozdílu látek postupně zkracovala délka trajektorie současně s tím, jak se zvíře habituovalo na nové prostředí (Graf 4). Délka trajektorie v pětiminutových intervalech pro jednotlivé látky byla signifikantně zvýšená v čase 0 – 5 minut po CBD 1 mg ($p < 0.05$) a kombinaci THC+CBD 3 mg ($p < 0.01$). V čase 5 – 10 minut již hladiny signifikance dosáhlo zvýšení po všech třech kombinacích látek v dávce 1 mg/kg ($p < 0.05$ – $p < 0.001$) a navíc po THC a THC+CBD v dávce 3 mg/kg (Tabulka 8).

Tabulka 8: Statistické parametry two way RM ANOVA z analýzy lokomoce v 5-ti minutových intervalech.

	dávka 1 mg/kg	dávka 3 mg/kg	dávka 10 mg/kg
léčba	$F(1,90) = 3.766$, $P = 0.068$	$F(1,90) = 6.035$, $P = 0.024$	$F(1,90) = 0.814$, $P = 0.379$
čas	$F(5,90) = 114.382$, $p < 0.001$	$F(5,90) = 132.968$, $p < 0.001$	$F(5,90) = 102.279$, $p < 0.001$
léčba x čas	$F(5,90) = 2.971$, $P = 0.016$	$F(5,90) = 2.772$, $P = 0.022$	$F(5,90) = 1.416$, $P = 0.226$



Srovnání parametrů analýzy komponent jednocestnou ANOVOU ukázalo signifikantní rozdíly mezi skupinami u parametrů průměrné trvání progresivní fáze lokomoce ($F(9,90) = 2.104$, $P = 0.037$) a fáze prodlevy ($F(9,90) = 2.528$, $P = 0.012$) a celkový počet progresivních fází lokomoce ($F(9,90) = 2.985$, $P = 0.003$). Následné post hoc testy zaměřené na meziskupinová srovnání (Duncan) ukázaly, že se v parametru průměrné délky progresivní fáze lokomoce se žádná skupina nelišila významně od kontrol, i když v rámci obou skupin THC a CBD individuálně byl zaznamenán trend k prodloužení, který byl normalizován v kombinaci. V parametru počet progresivních fází lokomoce zcela dominovalo CBD 1 mg/kg, které



vykazovalo významně vyšší počet než většina skupin včetně kontrol ($P = 0.03$). V kombinaci s THC se tento vliv projevil také, ale jen marginálně nesignifikantně vůči kontrolám ($P = 0.08 - 0.13$). Zatímco THC nemělo žádný vliv na délku fáze prodlevy, CBD samotný ($P = 0.015 - 0.13$) i v kombinaci s THC v nižších dávkách ($P = 0.02 - 0.03$) tento parametr signifikantně snižoval oproti kontrolám (Graf 5).

5.2.2 Prepulzní inhibice akustické úlekové reakce

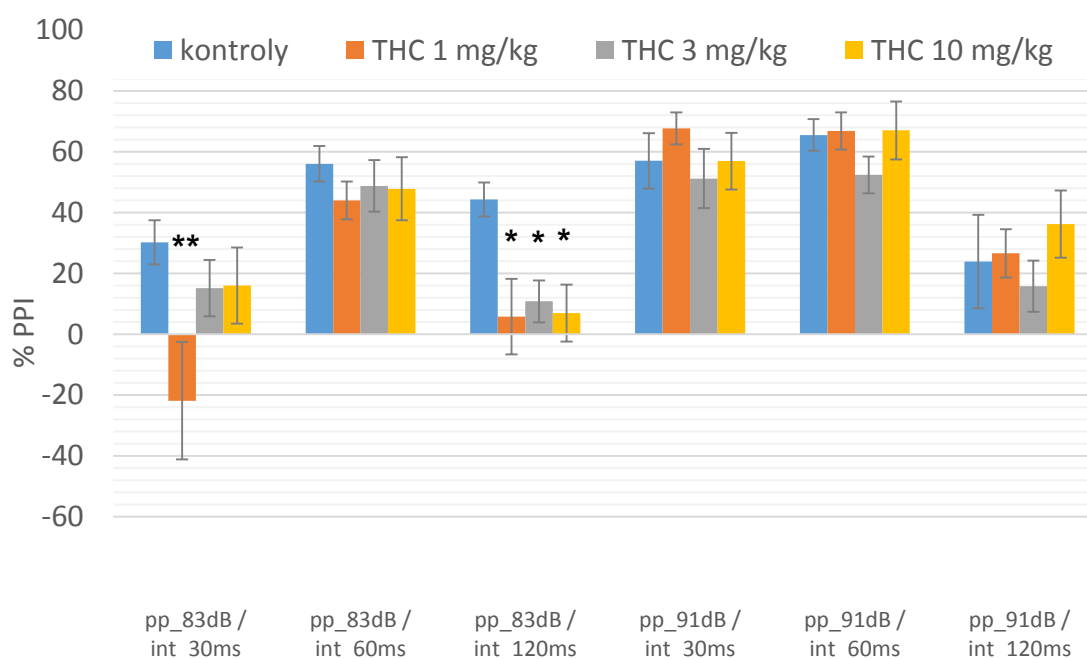
Úleková reakce (Tabulka 9) bez rozdílu intenzity nebyla signifikantně ovlivněna dávkou ani látkou a nebyla pozorována ani interakce faktorů dávka x látka (83 dB: $F(6,108) = 1.397$, $P = 0.222$; 91 dB: $F(6,108) = 1.1$, $P = 0.367$).

Tabulka 9: Velikost akustické úlekové reakce pro jednotlivé látky a dávky

	83 dB	91 dB
kontroly	116,9 ± 37,0	130,42 ± 45,41
THC 1 mg/kg	90,88 ± 26,74	117,82 ± 31,38
THC 3 mg/kg	242,15 ± 93,05	202,83 ± 55,13
THC 10 mg/kg	206,22 ± 76,74	173,25 ± 45,21
CBD 10 mg/kg	116,0 ± 26,55	134,58 ± 18,98
THC 10 mg/kg + CBD 10 mg/kg	220,73 ± 62,85	241,92 ± 99,56

5.2.2.1 VLIV THC NA PPI

PPI nebylo signifikantně ovlivněno léčbou ($F(3,36) = 1.13$, $P = 0.35$), zato intenzita i interval významný vliv měly ($F(1,36) = 46.7$, $p < 0.001$ a $F(2,72) = 39.0$, $p < 0.001$) a jediné pozorované interakce byly mezi intenzitou a léčbou ($F(3,36) = 6.17$, $p < 0.01$) a intenzitou a intervalem ($F(2,72) = 16.4$, $p < 0.001$). Nevýznamně tedy vyšly interakce mezi intervalem a léčbou



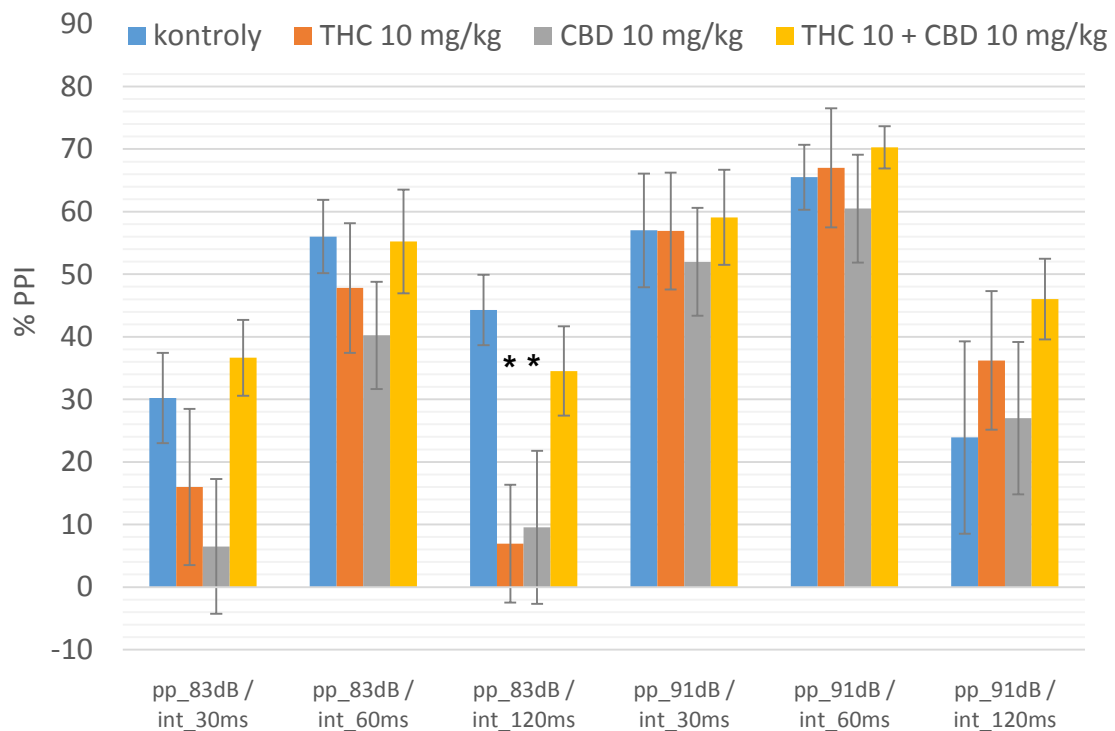
Graf 6.

Účinek THC v dávce 1, 3 a 10 mg/kg na prepulzní inhibici. (* = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$ vs kontroly).

($F(6,72) = 0.6, P = 0.78$) a vzájemná interakce všech tří faktorů ($F(6,72) = 2.0, P = 0.07$), která se ale pohybovala blízko hranice významnosti. Z toho důvodu provedená post hoc analýza ukázala, že všechny tři dávky THC signifikantně narušovaly PPI ($p < 0.05 - 0.01$) (Graf 6).

5.2.2.2 VLIV CBD NA DEFICIT V PPI PO APLIKACI THC 10 MG/KG

V dávce 10 mg/kg nebyl prokázán signifikantní vliv léčby ($F(3,36) = 1.33, P = 0.28$), ale podobně jako v předchozí situaci zde však byl prokázán vliv intenzity i intervalu ($F(1,36) = 43.8, p < 0.001$ a $F(2,72) = 35.7, p < 0.001$). Jediná pozorovaná interakce byla mezi intenzitou a léčbou ($F(3,36) = 3.59, p < 0.05$). Ani interval x léčba ani interakce všech tří faktorů nedosáhly hladiny významnosti ($F(6,72) = 0.35, P = 0.9$ a $F(6,72) = 1.46, P = 0.2$). Post hoc analýza ukázala, že THC i CBD v dávce 10 mg/kg shodně narušovaly PPI ($p < 0.05$) u intervalu 120 ms a intenzitě prepulzu 83 dB. Kombinace THC+ CBD se signifikantně nelišila od THC samotného, ale chyběl i významný rozdíl oproti kontrole, což značí, že došlo k částečné normalizaci efektu (Graf 7).



Graf 7.

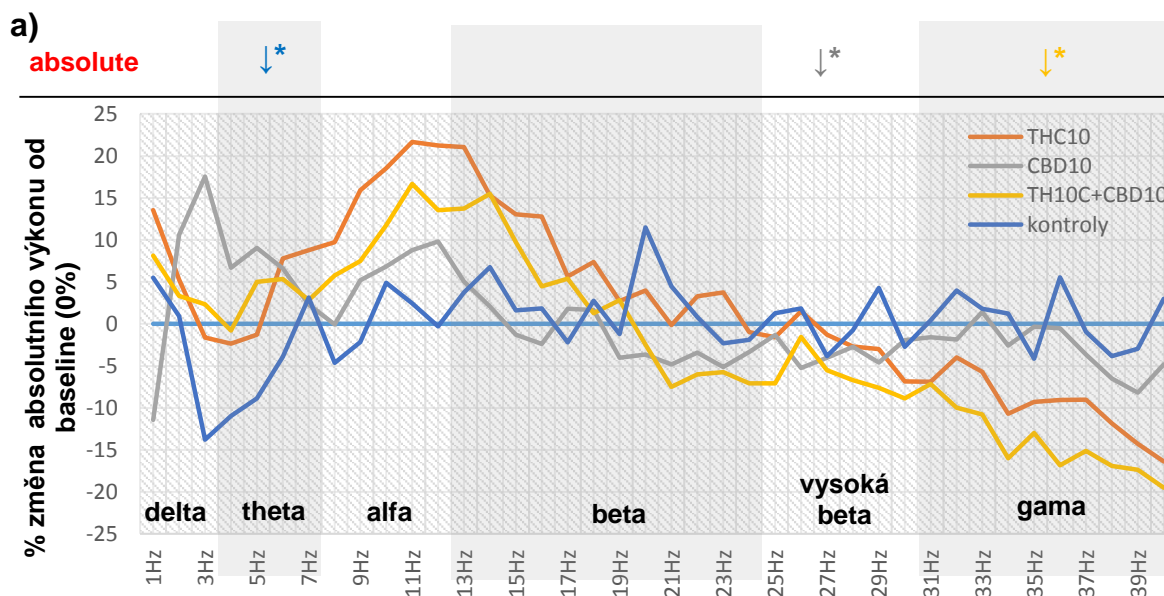
Účinek THC v dávce 1, 3 a 10 mg/kg na prepulzní inhibici. (* = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$ vs kontroly).

5.3 EEG EXPERIMENTY

5.3.1 Srovnání s baseline za použití párového t-testu

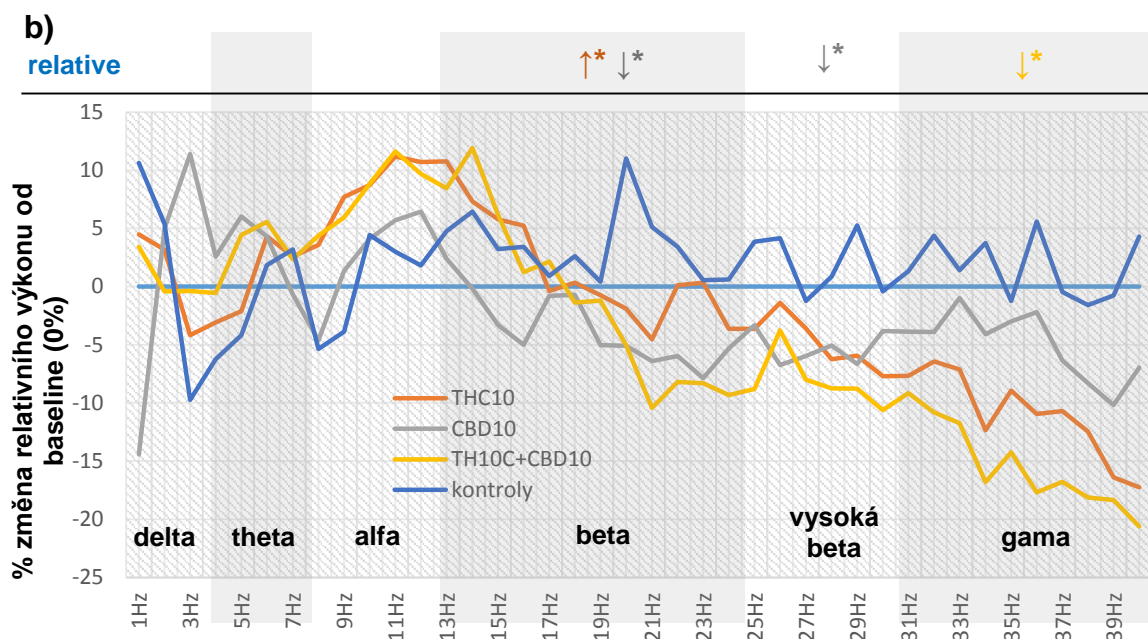
Kontrolní zvířata vykazovala signifikantní pokles průměrného absolutního výkonu v pásmu theta (-14 %, $t = 2.541$; $p < 0.05$), nicméně v relativních spektrech nebyla zaznamenána žádná významná změna.

V absolutních spektrech nebyl prokázán signifikantní vliv THC v dávce 10 mg/kg na výkon v jednotlivých frekvenčních pásmech, nicméně v relativních spektrech byla již vzestupná tendence v pásmu beta signifikantní (+10 %; $t = -2.257$, $p < 0.05$). Zatímco v absolutních spektrech byl po CBD 10 mg/kg zaznamenán pokles průměrného výkonu pouze v pásmu vysoká beta (-5 %; $t = 2.447$, $p < 0.05$), v relativních spektrech po té samé látce došlo k signifikantnímu poklesu opět v pásmu vysoká beta (-7 %; $t = 2.685$, $p < 0.05$) a navíc v pásmu beta (-8 %; $t = 3.145$, $p < 0.05$). Při současném podání obou látek měl CBD tendenci normalizovat změny navozené THC na rozhraní pásem alfa/beta. V pásmu gama však pokles, který byl způsoben THC, ještě potencoval a to v tomto případě signifikantně v obou typech spekter (-19 % a -20 %; $t = 3.092$ a $t = 2.423$, obě $p < 0.05$) (Graf 8 a Graf 9).



Graf 8.

Průměrná absolutní (a) výkonová spektra ve srovnání před a po aplikaci.



Graf 9.

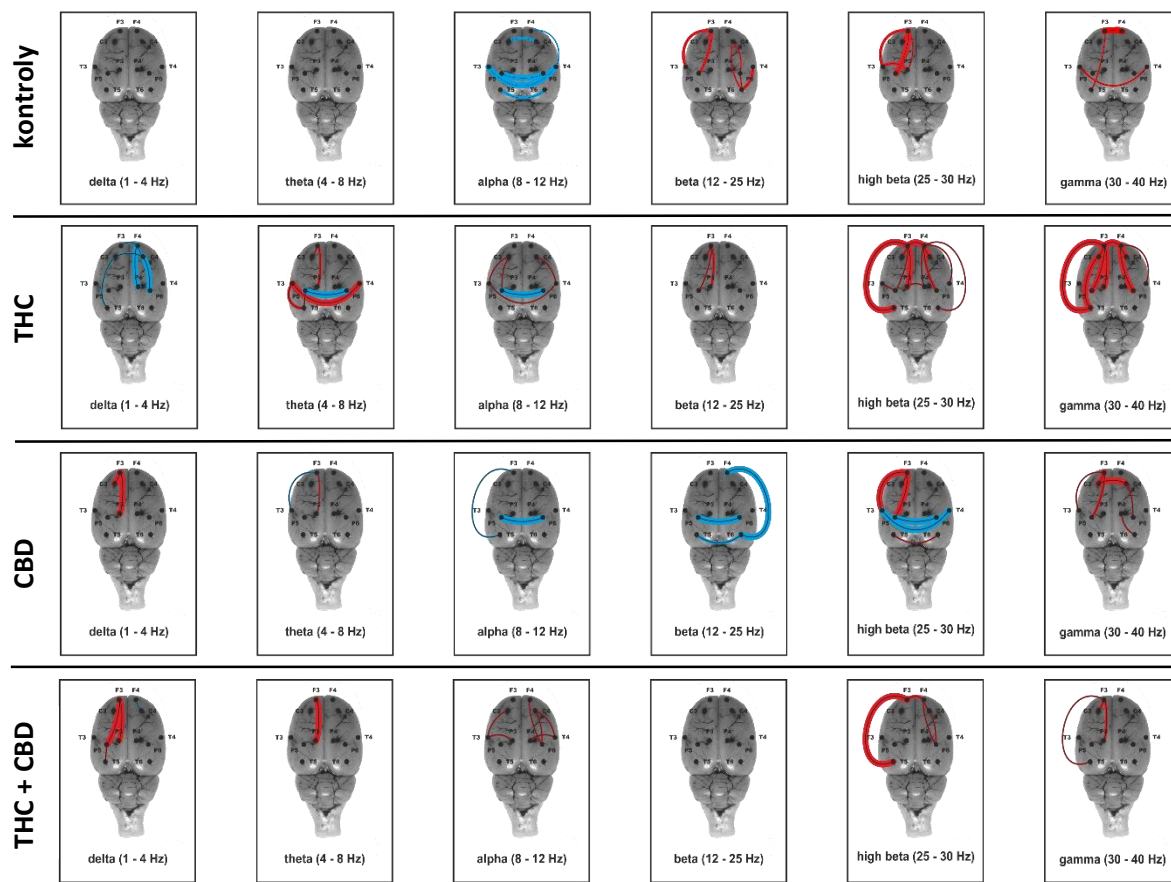
Průměrná relativní (b) výkonová spektra ve srovnání před a po aplikaci.

5.3.2 Srovnání v rámci skupin použitých látek pomocí ANCOVA

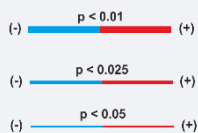
Analýza pomocí ANCOVA nenašla mezi skupinami efekt ani po rozdělení na detailnější pásma. Jedinou výjimkou bylo pásmo beta 3 (18 – 25 Hz), kde se v relativních spektrech ukázal významný rozdíl kombinace THC a CBD 10 mg/kg oproti kontrolám ($F(3,35) = 3.056$, $P = 0.041$).

5.3.3 EEG koherence

Po aplikaci THC 10 mg/kg došlo k zvýšení intrahemisferálních fronto-temporálních koherencí v pásmu gama a vysoká beta. CBD 10 mg/kg způsobilo pokles interhemisferálních koherencí v parietální oblasti v pásmech alfa, beta a vysoká beta a zvýšení ve frontální oblasti v pásmu gama. V kombinaci CBD utlumilo zvýšení koherencí pozorované po THC, vliv THC zase naopak nejspíše normalizoval poklesy interhemisferálních koherencí pozorovaných u CBD (Obrázek 6). U kontrolních zvířat bylo pozorováno drobné snížení interhemisferálních koherencí v pásmu alfa, které může být přičítáno kolísající vigilitě, které se nedá při experimentu zcela vyhnout, přestože jsou zvířata buzena.



Obrázek 6.



Signifikantní změny EEG koherence po aplikaci látek. Na povrchu mozků potkana jsou černými tečkami vyznačené elektrody. Barevné čáry, které je spojují, značí, zda došlo k nárůstu/poklesu oproti baseline. Červená znamená vzestup, modrá pokles. Tloušťka čáry pak hladinu významnosti.

6 DISKUZE

Naším hlavním nálezem bylo, že THC a CBD individuálně narušují senzomotorické zpracování informací, kdežto v kombinaci je naznačen trend k normalizaci v souladu s předpokládaným antipsychotickým potenciálem CBD. Ve výkonových spektrech CBD působí dvěma směry – zatímco v pásmu alfa je naznačena normalizace změn navozených THC, v pásmu gama naopak vede k prohloubení. Avšak CBD zcela jasně normalizuje zvýšení koherencí ve frontální oblasti po podání THC. V ostatních parametrech však byly zjištěny změny minimální. Částečné hyperlokomoční změny navozené subkutánní administrací THC nejsou normalizovány CBD, naopak jsou jím potencovány, přičemž CBD samotné i v kombinaci s THC významně prodlužují celkovou trajektorii, dráhu v prvních deseti minutách měření, snižují délku fáze prodlevy v lokomoci a zvyšují počet fází progresu.

Nejprve je třeba uvést, že velmi významné pro nás byly výsledky farmakologických analýz, které ukázaly, že hladiny dosažené v séru a v mozku a t_{max} se výrazně liší v závislosti na způsobu administrace látky. Po subkutánním podání lze pozorovat v séru dvojitý vrchol, který je pravděpodobně způsoben tím, že se kanabinoidy nejprve distribuují do tukových tkání, odkud se následně uvolňují. V mozku po dosažení vrcholu hladiny přechodně klesají, aby následně pozvolna stoupaly dokonce i 24 hodin po aplikaci právě v důsledku onoho uvolňování kanabinoidů z tuků (viz. *Graf 1*). Dosažené sérové hladiny byly po subkutánním podání velmi podobné těm, které jsme zaznamenali u lidí po inhalační expozici (Balíková et al. 2014). Zatímco po subkutánním podání, které jsme zvolili pro naše pilotní experimenty, jsou hladiny THC a CBD v séru a mozku v jednotkách ng/ml (ng/g), po orálním podání jsou dosažené hladiny překvapivě 30x až 40x vyšší (viz. 4.3.1). Přitom dávku pro perorální podání jsme volili na základě literárních údajů, kde je zmiňována velmi špatná biodostupnost kanabinoidů díky rozkladu žaludečními šťávami, efektu prvního průchodu játry „first pass effect“, velká interindividuální variabilita ve vstřebávání, množství a složení potravy (obsah žaludku a střev) při orálním podání apod. (Kauert et al. 2007; Klumpers et al. 2012). Příčinou takto vysokých sérových hladin kanabinoidů po orálním podání v našem experimentu může být kombinace několika faktorů: 1) potkanům byla odebrána potrava minimálně 12 hodin před aplikací, tedy byl eliminován vliv náplně žaludku a střeva 2) kanabinoidy byly rozpuštěny v slunečnicovém oleji, tedy médiu které díky své tekutosti a lipofilitě zvyšuje vstřebávání kanabinoidů a 3) byly gastrickou sondou administrovány přímo až do žaludku, odkud pak mnohem rychleji, díky nepřítomnosti stravy (eliminace inaktivace žaludečními šťávami), mohly postoupit do tenkého střeva, kde již dochází k jejich absorpci. V tomto případě však nebyl pozorován dvojitý vrchol

jako po subkutánní aplikaci, současně však hladiny v mozku vysoce převyšovaly hladiny v séru, což je důležitý faktor z hlediska hodnocení jejich biologické aktivity (viz. *Graf 2*). Pokud jsou THC i CBD podány současně, lze navíc pozorovat zvýšení hladiny THC v séru i mozku oproti situaci, kdy je podáno THC samotné. Vysvětlení spočívá v tom, že v *in vitro* studiích bylo prokázáno, že CBD je potentní inhibitor řady enzymatických systémů na cytochromu P450. To může být dalším zásadním faktorem, od určitých dávek CBD a zejména pak při orálním podání může docházet ke zpomalení metabolismu THC a tak ke zvýšení jeho hladin v séru a mozku (Zhornitsky and Potvin 2012). V současné době je v laboratoři zaváděn systém inhalační aplikace kanabinoidů, od kterého jsou též očekávány mnohem vyšší hladiny látek v séru i mozku oproti subkutánnímu podání. V literatuře již bylo publikováno srovnání hladin v séru po inhalační (1 – 10 mg) a intraperitoneální (0,25 – 1,5 mg/kg) aplikaci THC. Tyto hladiny dosahují podobně jako v našich experimentech po orálním podání stovky ng/ml (Manwell et al. 2014a). Navíc v účincích na chování nejde jen o velikost dávky samotné a dosaženou hladinu v krvi a mozku, ale o celkový farmakokinetický průběh různých administračních cest. Stejná dávka podaná různými cestami vede k odlišným behaviorálním reakcím (Marshall et al. 2014), proto je v laboratoři v plánu po dodělení kinetických pokusů provést odpovídající behaviorální a EEG experimenty, abychom objasnili, jaký vliv má farmakokinetika na účinky kanabinoidů. Z našich experimentů vyplývá, že akutní podání THC subkutánní cestou nevede k výrazným změnám lokomoce měřené celkovou délkou trajektorie, nicméně nižší dávky signifikantně prodlužují trajektorii v intervalu 5 – 10 minut od vložení do arény (tedy 65 – 70 minut od aplikace) podobně jako (a pro nás překvapivě) samotné CBD. Dokonce se zdá, že jejich kombinace se v tomto efektu vzájemně potencuje (viz. kapitola 4.3.2.1), což lze vidět i v parametrech analýzy komponent (viz. *Graf 5*). Lokomoční experimenty shrnuté v teoretické části této práce (viz. *Tabulka 5*) ukazují, že majoritní zvolenou cestou aplikace je administrace intraperitoneální, která vede k signifikantním změnám v případě, že zvířata jsou testována v 30. – 45. minutě po aplikaci a účinné jsou spíše vyšší dávky okolo 10 mg/kg. Tyto práce na rozdíl od našich zjištění poměrně konzistentně popisují, že aplikace THC vede k hypolokomoci. Tato diskrepance je pravděpodobně způsobená právě rozdílnou cestou aplikace a tím pádem jinou rychlostí vstřebávání, ukládání do tuků a biodostupností (Manwell et al. 2014b). Nelze však vyloučit ani efekt dávky, kdy ve dvou studiích vedly nízké dávky k hyperlokomoci a vysoké naopak k hypolokomoci (El-Alfy et al. 2010; Katsidoni et al. 2013). Tento dávkový bifázický efekt byl výraznější v pokusech se syntetickými agonisty CB₁ R a zároveň byl zcela inhibován rimonabantem (Katsidoni et al. 2013; Polissidis et al. 2013), což potvrzuje roli CB₁ R v regulaci lokomoce (viz. *Tabulka 7*). Na neurochemické úrovni tyto agonisté zvyšovaly hladinu dopaminu

a snižovaly hladinu glutamátu ve striátu (Polissidis et al. 2013) stejně jako to bylo zjištěno u THC (Bossong et al. 2009). Přímé zvýšení hladiny dopaminu v této oblasti pozorovatelné velmi dobře v dopaminergních modelech (viz. 2.2.3.2.2) vede k indukci hyperlokomoce, což by vysvětlovalo, proč je očekávána hyperlokomoce po podání THC, které hladinu dopaminu zvyšuje nepřímo.

Narušení prepulzní inhibice úlekové reakce je projevem poruchy sensorimotorického zpracování informací – gatingu. V našich experimentech jsme potvrdili, že THC skutečně narušuje sensorimotorické zpracování informací ve všech třech podaných dávkách, což je shodné s výsledky ostatních modelů psychóz (viz. kapitola 2.2.3.2) a s nálezy u schizofrenních pacientů (Geyer et al. 2001). Literatura, která se opět vyznačuje poměrně uniformním použitím intraperitoneální aplikace, však až tak přesvědčivá není. Narušení bylo zaznamenáno v širokém rozpětí dávek, ale pouze u zvířat testovaných v 60. minutě po aplikaci, což je stejné jako v našem případě. Celkově však bylo prokázáno pouze ve třetině studií (viz. *Tabulka 4*). Poměrně překvapivým výsledkem našich experimentů je, že podání samotného CBD v dávce 10 mg/kg též narušuje sensorimotorické zpracování informací, přitom jejich kombinace vede k téměř úplné normalizaci tohoto deficitu (viz. kapitola 4.3.2.2). Pro roli CB₁ R v tomto ději opět svědčí nálezy studií se syntetickými kanabinoidy (Dissanayake et al. 2013), tak normalizační účinek CB₁ R antagonisty rimonabantu (viz. *Tabulka 7*). Roli může hrát opět zvýšení hladiny dopaminu indukované kanabinoidy, neboť narušení sensorimotorického zpracování informací podáním THC je blokovatelné antagonisty D₂ receptorů haloperidolem a risperidonem, (Nagai et al. 2006). Centrální úlohu v řízení prepulzní inhibice má totiž ventrální tegmentální oblast vysílající dopaminové projekce do nucleus accumbens. Právě zde nejspíše kanabinoidy působí zvýšení dopaminu, což může být jeden z mechanismů vedoucí k narušení prepulzní inhibice (viz. kapitola 2.2.3.2.1.2).

Spektrální analýza v rámci EEG experimentů prokázala zvýšení výkonu na rozhraní pásem alfa/beta po podání THC a nesignifikantní, ale markantní trend ke snížení výkonu v pásmu gama, který byl kombinací s CBD prohlouben a překročil hranici významnosti. Samotné CBD působilo pokles v pásmech beta a vysoká beta. V koherencích byl zejména patrný vzestup ve frontální oblasti v pásmu gama po podání THC, který byl kombinací s CBD normalizován. Samotné CBD pak mělo poměrně malý vliv (viz. kapitola 5.3.1). Změny, které byly detekovány v pásmu gama, jehož normální průběh je nutný pro fungování vyšších kognitivních funkcí (Fujakova et al. 2014), mohou částečně vysvětlovat deficit v sensorimotorickém zpracování informací, jež bylo též narušeno oběma látkami. Doposud nebyly v literatuře publikovány obdobné animální experimenty s kanabinoidy, jedná se tedy o první experiment tohoto rozsahu.

Při srovnání našich nálezů s dalšími modely (viz. kapitola 2.2.3.2.2) vyplývá, že zatímco změny ve výkonu v EEG spektrech jsou specifické pro různé modely, poměrně konstantním nálezem napříč těmito modely je snížení koherencí, které jsme však v modelu s THC nepozorovali. Hlavním z důvodů může být právě vliv pomalé kinetiky THC po subkutánním podání.

Lze nějakým způsobem vysvětlit účinky testovaných kanabinoidů na neuronové úrovni? Důležité jsou zejména tři faktory: farmakodynamický účinek látek, stav endokanabinoidního tonu a vnitřní konstitutivní aktivita kanabinoidních receptorů. Jak bylo uvedeno v kapitole 2.3, CBD je antagonist CB₁ R, ale především inhibitor FAAH a transportéru pro endogenní kanabinoidy. Bylo prokázáno, že markantně snižuje hydrolýzu a zpětné vychytávání anandamidu (Bisogno et al. 2001), čímž vlastně zvyšuje lokální endokanabinoidní tonus. Část jeho efektu může být tím pádem vysvětlena tím, že takto imituje účinek agonistů. Za současné přítomnosti THC tak může dojít ke kompetici o vazbu na receptor. V nedávné době byl též osvětlen účinek rimonabantu jako inverzního agonisty CB₁ R (Howlett et al. 2011), což předpokládá existenci jisté populace konstitutivně aktivních kanabinoidních receptorů. Přestože afinita CBD k CB₁ R je poměrně nízká (viz. *Tabulka 2*) a jeho schopnost fungovat jako inverzní agonista nebyla testována, může se na ně vázat a působit například jako silent antagonist, což může mít spolu se zvýšeným endokanabinoidním tonem zajímavé výsledky. Může to být jak příčinou jeho odlišných klinických výsledků oproti rimonabantu, u nějž byly prokázány depresogenní účinky, tak podkladem pro jeho stimulační účinky na lokomoci v našich experimentech.

Hlavním cílem naší práce bylo zhodnotit roli kanabinoidní neurotransmise v animálním modelu schizofrenie. Konkrétně jsme se zabývali otázkou, zda je akutní podání THC potkanům vhodným modelem psychózy a zda má v tomto modelu CBD antipsychotické účinky. Srovnání našich výsledků z lokomočních experimentů s ostatními animálními farmakologickými modely psychóz však nepřináší jednoznačné závěry. V dopaminergních a glutamatergních modelech je hyperlokomoce považována za model pozitivních příznaků psychózy, stejně jako dezorganizace lokomoční aktivity v prostoru a výskyt stereotypií (Andine et al. 1999; Carlsson 1995). Naproti tomu v modelech serotonergních bývá pozorována jak hypolokomoce, tak hyperlokomoce nebo bifázický účinek (viz. 2.2.3.2.3). Tyto látky však u lidí také typicky vyvolávají pozitivní příznaky psychóz (Tyls et al. 2014) stejně jako THC (viz. kapitola 2.4.1.1). Je tedy otázkou, na kolik je relevantní považovat hyperlokomoci za model pozitivních příznaků a analogicky nakolik v našem experimentu pozorované mírné zvýšení lokomoce po THC odpovídá tomuto modelu. Na rozdíl od lokomoce, normalizace změn indukovaných THC v testu PPI a EEG experimentech odpovídá hypotéze, že CBD má antipsychotické účinky. Tyto

nálezy jsou navíc v souladu s účinkem CBD v ostatních farmakologických modelech psychóz (viz. *Tabulka 6*) a jeho antipsychotickým potenciálem pozorovaným v několika klinických studiích (viz. kapitola 2.5.1). V EEG jsme nepozorovali klasické snížení funkční konektivity, které je typickým nálezem u schizofrenních pacientů. Avšak i jakákoliv změna funkční konektivity a aktivity v pásmu gama, jež podle současných poznatků odráží korovou kognitivní činnost, může ve svém důsledku vést k narušení těchto procesů včetně např. změn ve zpracování informací.

7 ZÁVĚR

Na základě našich experimentů můžeme konstatovat, že výsledky částečně verifikují relevantnost akutního podání THC pro modelování psychózy a poukazují na ambivalentní roli CBD v měřených parametrech. Kumulující se množství preklinických, klinických a epidemiologických důkazů svědčí o roli kanabinoidního systému v genezi, progresi, exacerbaci a potenciální léčbě psychotických onemocnění. Jeden z hlavních přínosů je výsledek z farmakokinetických experimentů, který pomáhá zmapovat dynamiku absorpce, distribuce a profilu hladin látek v séru a mozkové tkáni. Díky těmto výsledkům je možné zvolit takovou cestu administrace, která přinese požadovanou hladinu látky v mozku, aby pozorované účinky na chování byly co nejpřesvědčivější. Výsledky z behaviorálních experimentů a EEG umožňují posoudit postavení potenciálního kanabinoidního modelu psychózy ve vztahu k ostatním již existujícím modelům. Mohou tudíž sloužit nejen jako příspěvek ke stále probíhající intenzivní debatě o vlivu kanabinoidů na lokomoci a PPI, ale též jako odrazový můstek k experimentům budoucím, které objasní neurobiologickou podstatu příspěvku kanabinoidního systému k psychotickému fenotypu a umožní zcela využít jeho klinický potenciál.

8 LITERATURA

- Andine P, Widermark N, Axelsson R, Nyberg G, Olofsson U, Martensson E, Sandberg M (1999) Characterization of MK-801-induced behavior as a putative rat model of psychosis. *J Pharmacol Exp Ther* 290: 1393-408.
- Andreasson S, Allebeck P, Engstrom A, Rydberg U (1987) Cannabis and schizophrenia. A longitudinal study of Swedish conscripts. *Lancet* 2: 1483-6.
- Arseneault L, Cannon M, Poulton R, Murray R, Caspi A, Moffitt TE (2002) Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: longitudinal prospective study. *Bmj* 325: 1212-3.
- Atwood BK, Mackie K (2010) CB2: a cannabinoid receptor with an identity crisis. *Br J Pharmacol* 160: 467-79.
- Azad SC, Marsicano G, Eberlein I, Putzke J, Zieglgansberger W, Spanagel R, Lutz B (2001) Differential role of the nitric oxide pathway on delta(9)-THC-induced central nervous system effects in the mouse. *Eur J Neurosci* 13: 561-8.
- Ballmaier M, Bortolato M, Rizzetti C, Zoli M, Gessa G, Heinz A, Spano P (2007) Cannabinoid receptor antagonists counteract sensorimotor gating deficits in the phencyclidine model of psychosis. *Neuropsychopharmacology* 32: 2098-107.
- Balíková M, Hložek T, Páleníček T, Tylš F, Viktorínová M, Melicher T, Androvičová R, Tomíček P, Roman M, Horáček J (2014) Časový profil hladin THC v krevním séru u rekreačních a chronických kuřáků marihuany po akutním užití drogy – implikace pro řízení motorových vozidel. *Soudní lékařství*.
- Bhattacharyya S, Fusar-Poli P, Borgwardt S, Martin-Santos R, Nosarti C, O'Carroll C, Allen P, Seal ML, Fletcher PC, Crippa JA, Giampietro V, Mechelli A, Atakan Z, McGuire P (2009) Modulation of mediotemporal and ventrostriatal function in humans by Delta9-tetrahydrocannabinol: a neural basis for the effects of Cannabis sativa on learning and psychosis. *Arch Gen Psychiatry* 66: 442-51.
- Bhattacharyya S, Morrison PD, Fusar-Poli P, Martin-Santos R, Borgwardt S, Winton-Brown T, Nosarti C, CM OC, Seal M, Allen P, Mehta MA, Stone JM, Tunstall N, Giampietro V, Kapur S, Murray RM, Zuardi AW, Crippa JA, Atakan Z, McGuire PK (2010) Opposite effects of delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on human brain function and psychopathology. *Neuropsychopharmacology* 35: 764-74.
- Bisogno T, Hanus L, De Petrocellis L, Tchilibon S, Ponde DE, Brandi I, Moriello AS, Davis JB, Mechoulam R, Di Marzo V (2001) Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. *Br J Pharmacol* 134: 845-52.
- Bondi C, Matthews M, Moghaddam B (2012) Glutamatergic Animal Models of Schizophrenia. *Current Pharmaceutical Design* 18: 1593-1604.
- Borgwardt SJ, Allen P, Bhattacharyya S, Fusar-Poli P, Crippa JA, Seal ML, Fraccaro V, Atakan Z, Martin-Santos R, O'Carroll C, Rubia K, McGuire PK (2008) Neural basis of Delta-9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol: effects during response inhibition. *Biol Psychiatry* 64: 966-73.
- Bossong MG, Niesink RJ (2010) Adolescent brain maturation, the endogenous cannabinoid system and the neurobiology of cannabis-induced schizophrenia. *Prog Neurobiol* 92: 370-85.
- Bossong MG, van Berckel BN, Boellaard R, Zuurman L, Schuit RC, Windhorst AD, van Gerven JM, Ramsey NF, Lammertsma AA, Kahn RS (2009) Delta 9-tetrahydrocannabinol induces dopamine release in the human striatum. *Neuropsychopharmacology* 34: 759-66.

- Boucher AA, Arnold JC, Duffy L, Schofield PR, Micheau J, Karl T (2007) Heterozygous neuregulin 1 mice are more sensitive to the behavioural effects of Delta9-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology (Berl)* 192: 325-36.
- Boutros N, Arfken C, Galderisi S, Warrick J, Pratt G, Iacono W (2008) The status of spectral EEG abnormality as a diagnostic test for schizophrenia. *Schizophrenia Research* 99: 225-237.
- Bowers M, Freedman D (1966) PSYCHEDELIC EXPERIENCES IN ACUTE PSYCHOSES. *Archives of General Psychiatry* 15: 240-&.
- Braff D (2001) Translational studies of information processing (prepulse inhibition) deficits in schizophrenia: Human and animal model studies. *Biological Psychiatry* 49: 66S-66S.
- Brunovský M (2004) Kvantitativní elektroencefalografie v psychiatrii. *Psychiatrie* 8.
- Bubenikova-Valesova V, Horacek J, Vrajova M, Hoschl C (2008) Models of schizophrenia in humans and animals based on inhibition of NMDA receptors. *Neurosci Biobehav Rev* 32: 1014-23.
- Canu E, Agosta F, Filippi M (2014) A selective review of structural connectivity abnormalities of schizophrenic patients at different stages of the disease. *Schizophr Res.*
- Carlsson A (1977) DOES DOPAMINE PLAY A ROLE IN SCHIZOPHRENIA. *Psychological Medicine* 7: 583-597.
- Carlsson A (1995) Neurocircuitries and neurotransmitter interactions in schizophrenia. *Int Clin Psychopharmacol* 10 Suppl 3: 21-8.
- Cascini F, Aiello C, Di Tanna G (2012) Increasing delta-9-tetrahydrocannabinol (Delta-9-THC) content in herbal cannabis over time: systematic review and meta-analysis. *Curr Drug Abuse Rev* 5: 32-40.
- Cheer JF, Wassum KM, Heien ML, Phillips PE, Wightman RM (2004) Cannabinoids enhance subsecond dopamine release in the nucleus accumbens of awake rats. *J Neurosci* 24: 4393-400.
- Chitty K, Albrecht M, Graham K, Kerr C, Lee J, Iyyalol R, Martin-Iverson M (2014) Dexamphetamine effects on prepulse inhibition (PPI) and startle in healthy volunteers. *Psychopharmacology* 231: 2327-2337.
- Christensen R, Kristensen PK, Bartels EM, Bliddal H, Astrup A (2007) Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 370: 1706-13.
- Citrome L (2014) Unmet Needs in the Treatment of Schizophrenia: New Targets to Help Different Symptom Domains. *Journal of Clinical Psychiatry* 75: 21-26.
- Cortright JJ, Lorrain DS, Beeler JA, Tang WJ, Vezina P (2011) Previous exposure to delta9-tetrahydrocannabinol enhances locomotor responding to but not self-administration of amphetamine. *J Pharmacol Exp Ther* 337: 724-33.
- Crespi B, Summers K, Dorus S (2007) Adaptive evolution of genes underlying schizophrenia. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 274: 2801-2810.
- D'Souza DC, Abi-Saab WM, Madonick S, Forselius-Bielen K, Doersch A, Braley G, Gueorguieva R, Cooper TB, Krystal JH (2005) Delta-9-tetrahydrocannabinol effects in schizophrenia: implications for cognition, psychosis, and addiction. *Biol Psychiatry* 57: 594-608.
- D'Souza DC, Perry E, MacDougall L, Ammerman Y, Cooper T, Wu YT, Braley G, Gueorguieva R, Krystal JH (2004) The psychotomimetic effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: implications for psychosis. *Neuropsychopharmacology* 29: 1558-72.
- De Petrocellis L, Di Marzo V (2010) Non-CB1, non-CB2 receptors for endocannabinoids, plant cannabinoids, and synthetic cannabimimetics: focus on G-protein-coupled

- receptors and transient receptor potential channels. *J Neuroimmune Pharmacol* 5: 103-21.
- Dissanayake DW, Mason R, Marsden CA (2013) Sensory gating, cannabinoids and schizophrenia. *Neuropharmacology* 67: 66-77.
- Dow-Edwards D, Izenwasser S (2012) Pretreatment with Delta9-tetrahydrocannabinol (THC) increases cocaine-stimulated activity in adolescent but not adult male rats. *Pharmacol Biochem Behav* 100: 587-91.
- Drai D, Kafkafi N, Benjamini Y, Elmer G, Golani I (2001) Rats and mice share common ethologically relevant parameters of exploratory behavior. *Behav Brain Res* 125: 133-40.
- Egashira N, Matsuda T, Koushi E, Higashihara F, Mishima K, Chidori S, Hasebe N, Iwasaki K, Nishimura R, Oishi R, Fujiwara M (2008) Delta(9)-tetrahydrocannabinol prolongs the immobility time in the mouse forced swim test: involvement of cannabinoid CB(1) receptor and serotonergic system. *Eur J Pharmacol* 589: 117-21.
- Eilam D, Golani I (1989) HOME BASE BEHAVIOR OF RATS (*RATTUS-NORVEGICUS*) EXPLORING A NOVEL ENVIRONMENT. *Behavioural Brain Research* 34: 199-211.
- El-Alfy AT, Ivey K, Robinson K, Ahmed S, Radwan M, Slade D, Khan I, ElSohly M, Ross S (2010) Antidepressant-like effect of delta9-tetrahydrocannabinol and other cannabinoids isolated from *Cannabis sativa* L. *Pharmacol Biochem Behav* 95: 434-42.
- Ferdinand RF, van der Ende J, Bongers I, Selten JP, Huizink A, Verhulst FC (2005) Cannabis--psychosis pathway independent of other types of psychopathology. *Schizophr Res* 79: 289-95.
- Fergusson DM, Horwood LJ, Ridder EM (2005) Tests of causal linkages between cannabis use and psychotic symptoms. *Addiction* 100: 354-66.
- Fowler CJ (2005) Pharmacological properties and therapeutic possibilities for drugs acting upon endocannabinoid receptors. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 4: 685-96.
- Friston K, Frith C (1995) SCHIZOPHRENIA - A DISCONNECTION SYNDROME. *Clinical Neuroscience* 3: 89-97.
- Fujakova M, Palenicek T, Brunovsky M, Gorman I, Tyls F, Kubsova A, Ripova D, Krajca V, Horacek J (2014) The effect of ((-)-2-oxa-4-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (LY379268), an mGlu2/3 receptor agonist, on EEG power spectra and coherence in ketamine model of psychosis. *Pharmacol Biochem Behav* 122: 212-21.
- Fujáková M, Páleníček T, Bubeníková-Valešová V, Horáček J (2010) Ketamin - klinické a experimentální využití a zneužití. *Psychiatrie* 14.
- Fusar-Poli P, Crippa JA, Bhattacharyya S, Borgwardt SJ, Allen P, Martin-Santos R, Seal M, Surguladze SA, O'Carroll C, Atakan Z, Zuardi AW, McGuire PK (2009) Distinct effects of {delta}9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on neural activation during emotional processing. *Arch Gen Psychiatry* 66: 95-105.
- Galve-Roperh I, Palazuelos J, Aguado T, Guzman M (2009) The endocannabinoid system and the regulation of neural development: potential implications in psychiatric disorders. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 259: 371-82.
- Geyer M (2006) The family of sensorimotor gating disorders: Comorbidities or diagnostic overlaps? *Neurotoxicity Research* 10: 211-220.
- Geyer M, Krebs-Thomson K, Braff D, Swerdlow N (2001) Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor gating deficits in schizophrenia: a decade in review. *Psychopharmacology* 156: 117-154.
- Geyer M, Vollenweider F (2008) Serotonin research: contributions to understanding psychoses. *Trends in Pharmacological Sciences* 29: 445-453.

- Giuffrida A, Leweke FM, Gerth CW, 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* 29: 2108-14.
- Giuffrida A, Parsons LH, Kerr TM, Rodriguez de Fonseca F, Navarro M, Piomelli D (1999) Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum. *Nat Neurosci* 2: 358-63.
- Goncalves J, Baptista S, Silva AP (2014) Psychostimulants and brain dysfunction: A review of the relevant neurotoxic effects. *Neuropharmacology*.
- Gorriti MA, Ferrer B, del Arco I, Bermudez-Silva FJ, de Diego Y, Fernandez-Espejo E, Navarro M, Rodriguez de Fonseca F (2005) Acute delta9-tetrahydrocannabinol exposure facilitates quinpirole-induced hyperlocomotion. *Pharmacol Biochem Behav* 81: 71-7.
- Gorriti MA, Rodriguez de Fonseca F, Navarro M, Palomo T (1999) Chronic (-)-delta9-tetrahydrocannabinol treatment induces sensitization to the psychomotor effects of amphetamine in rats. *Eur J Pharmacol* 365: 133-42.
- Gururajan A, Taylor DA, Malone DT (2011) Effect of cannabidiol in a MK-801-rodent model of aspects of schizophrenia. *Behav Brain Res* 222: 299-308.
- Hallak JE, Dursun SM, Bosi DC, de Macedo LR, Machado-de-Sousa JP, Abreu J, Crippa JA, McGuire P, Krystal JH, Baker GB, Zuardi AW (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. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 35: 198-202.
- Hanks J, Gonzalez-Maeso J (2013) Animal Models of Serotonergic Psychedelics. *ACS Chemical Neuroscience* 4: 33-42.
- Harvey PD (2011) Mood symptoms, cognition, and everyday functioning: in major depression, bipolar disorder, and schizophrenia. *Innov Clin Neurosci* 8: 14-8.
- Hazekamp A, Fisdick JT (2012) Cannabis - from cultivar to chemovar. *Drug Test Anal* 4: 660-7.
- Heekeren K, Neukirch A, Daumann J, Stoll M, Obradovic M, Kovar K, Geyer M, Gouzoulis-Mayfrank E (2007) Prepulse inhibition of the startle reflex and its attentional modulation in the human S-ketamine and N,N-dimethyltryptamine (DMT) models of psychosis. *Journal of Psychopharmacology* 21: 312-320.
- Henquet C, Krabbendam L, Spauwen J, Kaplan C, Lieb R, Wittchen HU, van Os J (2005) Prospective cohort study of cannabis use, predisposition for psychosis, and psychotic symptoms in young people. *Bmj* 330: 11.
- Herning RI, Jones RT, Hooker WD, Mendelson J, Blackwell L (1985) Cocaine increases EEG beta: a replication and extension of Hans Berger's historic experiments. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 60: 470-7.
- Heston L (1966) PSYCHIATRIC DISORDERS IN FOSTER HOME REARED CHILDREN OF SCHIZOPHRENIC MOTHERS. *British Journal of Psychiatry* 112: 819-&.
- Hirvonen J, Hietala J (2011) Dysfunctional Brain Networks and Genetic Risk for Schizophrenia: Specific Neurotransmitter Systems. *Cns Neuroscience & Therapeutics* 17: 89-96.
- Hiyoshi T, Hikichi H, Karasawa J, Chaki S (2014) Metabotropic glutamate receptors regulate cortical gamma hyperactivities elicited by ketamine in rats. *Neuroscience Letters* 567: 30-34.
- Horacek J, Bubenikova-Valesova V, Kopecek M, Palenicek T, Dockery C, Mohr P, Hoschl C (2006) Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia. *Cns Drugs* 20: 389-409.

- Horáček J, Brunovský M, Novák T, Šoš P, Páleníček T, Fujáková M, Hoschl C (2013) Ketamin v modelování psychóz 55 česko-slovenská neuropsychofarmakologická konference, Jeseník, pp 29
- Howlett AC, Reggio PH, Childers SR, Hampson RE, Ulloa NM, Deutsch DG (2011) Endocannabinoid tone versus constitutive activity of cannabinoid receptors. *Br J Pharmacol* 163: 1329-43.
- Javitt D, Zukin S, Heresco-Levy U, Umbricht D (2012) Has an Angel Shown the Way? Etiological and Therapeutic Implications of the PCP/NMDA Model of Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 38: 958-966.
- Jones C, Watson D, Fone K (2011) Animal models of schizophrenia. *British Journal of Pharmacology* 164: 1162-1194.
- Katsidoni V, Kastellakis A, Panagis G (2013) Biphasic effects of Delta9-tetrahydrocannabinol on brain stimulation reward and motor activity. *Int J Neuropsychopharmacol* 16: 2273-84.
- Kauert GF, Ramaekers JG, Schneider E, Moeller MR, Toennes SW (2007) Pharmacokinetic properties of delta9-tetrahydrocannabinol in serum and oral fluid. *J Anal Toxicol* 31: 288-93.
- Kedzior KK, Martin-Iverson MT (2006) Chronic cannabis use is associated with attention-modulated reduction in prepulse inhibition of the startle reflex in healthy humans. *J Psychopharmacol* 20: 471-84.
- Kedzior KK, Martin-Iverson MT (2007) Attention-dependent reduction in prepulse inhibition of the startle reflex in cannabis users and schizophrenia patients--a pilot study. *Eur J Pharmacol* 560: 176-82.
- Kelly DL, Gorelick DA, Conley RR, Boggs DL, Linthicum J, Liu F, Feldman S, Ball MP, Wehring HJ, McMahon RP, Huestis MA, Heishman SJ, Warren KR, Buchanan RW (2011) Effects of the cannabinoid-1 receptor antagonist rimonabant on psychiatric symptoms in overweight people with schizophrenia: a randomized, double-blind, pilot study. *J Clin Psychopharmacol* 31: 86-91.
- Keshavan M, Tandon R, Boutros N, Nasrallah H (2008) Schizophrenia, "just the facts": What we know in 2008 Part 3: Neurobiology. *Schizophrenia Research* 106: 89-107.
- Kety S (1968) BIOCHEMISTRY AND MENTAL STATES. *California Medicine* 108: 362-&.
- Klumpers LE, Beumer TL, van Hasselt JG, Lipplaa A, Karger LB, Kleinloog HD, Freijer JI, de Kam ML, van Gerven JM (2012) Novel Delta(9) -tetrahydrocannabinol formulation Namisol(R) has beneficial pharmacokinetics and promising pharmacodynamic effects. *Br J Clin Pharmacol* 74: 42-53.
- Kocsis B, Brown R, McCarley R, Hajos M (2013) Impact of Ketamine on Neuronal Network Dynamics: Translational Modeling of Schizophrenia-Relevant Deficits. *Cns Neuroscience & Therapeutics* 19: 437-447.
- Koethe D, Gerth CW, Neatby MA, Haensel A, Thies M, Schneider U, Emrich HM, Klosterkötter J, Schultze-Lutter F, Leweke FM (2006) Disturbances of visual information processing in early states of psychosis and experimental delta-9-tetrahydrocannabinol altered states of consciousness. *Schizophr Res* 88: 142-50.
- Lamarque S, Taghzouti K, Simon H (2001) Chronic treatment with Delta(9)-tetrahydrocannabinol enhances the locomotor response to amphetamine and heroin. Implications for vulnerability to drug addiction. *Neuropharmacology* 41: 118-29.
- Leweke FM, Giuffrida A, Wurster U, Emrich HM, Piomelli D (1999) Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia. *Neuroreport* 10: 1665-9.
- Leweke FM, Koethe D (2008) Cannabis and psychiatric disorders: it is not only addiction. *Addict Biol* 13: 264-75.

- Leweke FM, Piomelli D, Pahlisch F, Muhl D, Gerth CW, Hoyer C, Klosterkötter J, Hellmich M, Koethe D (2012) Cannabidiol enhances anandamide signaling and alleviates psychotic symptoms of schizophrenia. *Transl Psychiatry* 2: e94.
- Lewis C, Levinson D, Wise L, DeLisi L, Straub R, Hovatta I, Williams N, Schwab S, Pulver A, Faraone S, Brzustowicz L, Kaufmann C, Garver D, Gurling H, Lindholm E, Coon H, Moises H, Byerley W, Shaw S, Mesen A, Sherrington R, O'Neill F, Walsh D, Kendler K, Ekelund J, Paunio T, Lonnqvist J, Peltonen L, O'Donovan M, Owen M, Wildenauer D, Maier W, Nestadt G, Blouin J, Antonarakis S, Mowry B, Silverman J, Crowe R, Cloninger C, Tsuang M, Malaspina D, Harkavy-Friedman J, Svrakic D, Bassett A, Holcomb J, Kalsi G, McQuillin A, Brynjolfson J, Sigmundsson T, Petursson H, Jazin E, Zoega T, Helgason T (2003) Genome scan meta-analysis of schizophrenia and bipolar disorder, part II: Schizophrenia. *American Journal of Human Genetics* 73: 34-48.
- Lewis D, Levitt P (2002) Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annual Review of Neuroscience* 25: 409-432.
- Lieberman J (1998) Pathophysiology in the clinical course of schizophrenia. *International Clinical Psychopharmacology* 13: S3-S6.
- Long LE, Chesworth R, Arnold JC, Karl T (2010a) A follow-up study: acute behavioural effects of Delta(9)-THC in female heterozygous neuregulin 1 transmembrane domain mutant mice. *Psychopharmacology (Berl)* 211: 277-89.
- Long LE, Chesworth R, Huang XF, McGregor IS, Arnold JC, Karl T (2010b) A behavioural comparison of acute and chronic Delta9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol in C57BL/6JArc mice. *Int J Neuropsychopharmacol* 13: 861-76.
- Long LE, Chesworth R, Huang XF, McGregor IS, Arnold JC, Karl T (2013) Transmembrane domain Nrg1 mutant mice show altered susceptibility to the neurobehavioural actions of repeated THC exposure in adolescence. *Int J Neuropsychopharmacol* 16: 163-75.
- Long LE, Malone DT, Taylor DA (2006) Cannabidiol reverses MK-801-induced disruption of prepulse inhibition in mice. *Neuropsychopharmacology* 31: 795-803.
- Luby E, COHEN B, ROSENBAUM G, GOTTLIEB J, KELLEY R (1959) STUDY OF A NEW SCHIZOPHRENOMIMETIC DRUG - SERNYL. *Archives of Neurology and Psychiatry* 81: 363-369.
- Lukas SE, Mendelson JH, Amass L, Benedikt R (1989) Behavioral and EEG studies of acute cocaine administration: comparisons with morphine, amphetamine, pentobarbital, nicotine, ethanol and marijuana. *NIDA Res Monogr* 95: 146-51.
- Luo X, Huang L, Li M, Gan L (2013) Protein-protein interaction analysis reveals common molecular processes/pathways that contribute to risk of schizophrenia. *Schizophrenia Research* 143: 390-392.
- Madsen MV, Peacock L, Werge T, Andersen MB (2006) Effects of the cannabinoid CB1 receptor agonist CP55,940 and antagonist SR141716A on d-amphetamine-induced behaviours in Cebus monkeys. *J Psychopharmacol* 20: 622-8.
- Malone DT, Long LE, Taylor DA (2004) The effect of SR 141716 and apomorphine on sensorimotor gating in Swiss mice. *Pharmacol Biochem Behav* 77: 839-45.
- Malone DT, Taylor DA (2006) The effect of Delta9-tetrahydrocannabinol on sensorimotor gating in socially isolated rats. *Behav Brain Res* 166: 101-9.
- Mansbach RS, Rovetti CC, Winston EN, Lowe JA, 3rd (1996) Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716A on the behavior of pigeons and rats. *Psychopharmacology (Berl)* 124: 315-22.
- Manwell LA, Charchoglyan A, Brewer D, Matthews BA, Heipel H, Mallet PE (2014a) 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. *J Pharmacol Toxicol Methods* 70: 120-7.
- Manwell LA, Ford B, Matthews BA, Heipel H, Mallet PE (2014b) A vapourized Delta(9)-tetrahydrocannabinol (Delta(9)-THC) delivery system part II: Comparison of behavioural effects of pulmonary versus parenteral cannabinoid exposure in rodents. *J Pharmacol Toxicol Methods* 70: 112-9.
- Marshall R, Kearney-Ramos T, Brents LK, Hyatt WS, Tai S, Prather PL, Fantegrossi WE (2014) In vivo effects of synthetic cannabinoids JWH-018 and JWH-073 and phytocannabinoid Delta-THC in mice: Inhalation versus intraperitoneal injection. *Pharmacol Biochem Behav* 124c: 40-47.
- Martin RS, Secchi RL, Sung E, Lemaire M, Bonhaus DW, Hedley LR, Lowe DA (2003) Effects of cannabinoid receptor ligands on psychosis-relevant behavior models in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 165: 128-35.
- Martin-Santos R, Crippa JA, Batalla A, Bhattacharyya S, Atakan Z, Borgwardt S, Allen P, Seal M, Langohr K, Farre M, Zuardi AW, McGuire PK (2012) Acute effects of a single, oral dose of d9-tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD) administration in healthy volunteers. *Curr Pharm Des* 18: 4966-79.
- Mathias CW, Blumenthal TD, Dawes MA, Liguori A, Richard DM, Bray B, Tong W, Dougherty DM (2011) Failure to sustain prepulse inhibition in adolescent marijuana users. *Drug Alcohol Depend* 116: 110-6.
- McLaughlin PJ (2012) Reports of the death of CB1 antagonists have been greatly exaggerated: recent preclinical findings predict improved safety in the treatment of obesity. *Behav Pharmacol* 23: 537-50.
- McPartland JM, Glass M, Pertwee RG (2007) Meta-analysis of cannabinoid ligand binding affinity and receptor distribution: interspecies differences. *Br J Pharmacol* 152: 583-93.
- Mehmedic Z, Chandra S, Slade D, Denham H, Foster S, Patel AS, Ross SA, Khan IA, ElSohly MA (2010) Potency trends of Delta9-THC and other cannabinoids in confiscated cannabis preparations from 1993 to 2008. *J Forensic Sci* 55: 1209-17.
- Meltzer HY, Arvanitis L, Bauer D, Rein W (2004) Placebo-controlled evaluation of four novel compounds for the treatment of schizophrenia and schizoaffective disorder. *Am J Psychiatry* 161: 975-84.
- Merritt K, McGuire P, Egerton A (2013) Relationship between Glutamate Dysfunction and Symptoms and Cognitive Function in Psychosis. *Front Psychiatry* 4: 151.
- Millan MJ, Fone K, Steckler T, Horan WP (2014) Negative symptoms of schizophrenia: clinical characteristics, pathophysiological substrates, experimental models and prospects for improved treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* 24: 645-92.
- Miller DK, Rodvelt KR, Constaes C, Putnam WC (2007) Analogs of SR-141716A (Rimonabant) alter d-amphetamine-evoked [3H] dopamine overflow from preloaded striatal slices and amphetamine-induced hyperactivity. *Life Sci* 81: 63-71.
- Mistry M, Gillis J, Pavlidis P (2013) Genome-wide expression profiling of schizophrenia using a large combined cohort. *Molecular Psychiatry* 18: 215-225.
- Miyamoto S, Miyake N, Jarskog L, Fleischhacker W, Lieberman J (2012) Pharmacological treatment of schizophrenia: a critical review of the pharmacology and clinical effects of current and future therapeutic agents. *Molecular Psychiatry* 17: 1206-1227.
- Moreira FA, Guimaraes FS (2005) Cannabidiol inhibits the hyperlocomotion induced by psychotomimetic drugs in mice. *Eur J Pharmacol* 512: 199-205.
- Morgan CJ, Curran HV (2008) Effects of cannabidiol on schizophrenia-like symptoms in people who use cannabis. *Br J Psychiatry* 192: 306-7.

- Morgan CJ, Gardener C, Schafer G, Swan S, Demarchi C, Freeman TP, Warrington P, Rupasinghe I, Ramoutar A, Tan N, Wingham G, Lewis S, Curran HV (2012) Sub-chronic impact of cannabinoids in street cannabis on cognition, psychotic-like symptoms and psychological well-being. *Psychol Med* 42: 391-400.
- Morgan CJ, Schafer G, Freeman TP, Curran HV (2010) Impact of cannabidiol on the acute memory and psychotomimetic effects of smoked cannabis: naturalistic study: naturalistic study [corrected]. *Br J Psychiatry* 197: 285-90.
- Morrison PD, Nottage J, Stone JM, Bhattacharyya S, Tunstall N, Brenneisen R, Holt D, Wilson D, Sumich A, McGuire P, Murray RM, Kapur S, Ffytche DH (2011) Disruption of frontal theta coherence by Delta9-tetrahydrocannabinol is associated with positive psychotic symptoms. *Neuropsychopharmacology* 36: 827-36.
- Morrison PD, Zois V, McKeown DA, Lee TD, Holt DW, Powell JF, Kapur S, Murray RM (2009) The acute effects of synthetic intravenous Delta9-tetrahydrocannabinol on psychosis, mood and cognitive functioning. *Psychol Med* 39: 1607-16.
- Muthukumaraswamy S, Carhart-Harris R, Moran R, Brookes M, Williams T, Errtizoe D, Sessa B, Papadopoulos A, Bolstridge M, Singh K, Feilding A, Friston K, Nutt D (2013) Broadband Cortical Desynchronization Underlies the Human Psychedelic State. *Journal of Neuroscience* 33: 15171-15183.
- Naber D, Lambert M (2009) The CATIE and CUtLASS Studies in Schizophrenia Results and Implications for Clinicians. *Cns Drugs* 23: 649-659.
- Nagai H, Egashira N, Sano K, Ogata A, Mizuki A, Mishima K, Iwasaki K, Shoyama Y, Nishimura R, Fujiwara M (2006) Antipsychotics improve Delta9-tetrahydrocannabinol-induced impairment of the prepulse inhibition of the startle reflex in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 84: 330-6.
- Nováková P, Tylš F, Kubešová A, Kadeřábek L, Fujáková M, Páleníček T (2014) Role kanabinoidů a kanabinoidního systému v indukci, neurobiologii a terapii psychotických onemocnění. *Psychiatrie* 18.
- Nuechterlein K, Barch D, Gold J, Goldberg T, Green M, Heaton R (2004) Identification of separable cognitive factors in schizophrenia. *Schizophrenia Research* 72: 29-39.
- O'Daly O, Joyce D, Tracy D, Azim A, Stephan K, Murray R, Shergill S (2014) Amphetamine Sensitization Alters Reward Processing in the Human Striatum and Amygdala. *Plos One* 9.
- O'Tuathaigh C, Waddington J (2010) Mutant Mouse Models: Phenotypic Relationships to Domains of Psychopathology and Pathobiology in Schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin* 36: 243-245.
- Palenicek T, Balikova M, Bubenikova-Valesova V, Horacek J (2008) Mescaline effects on rat behavior and its time profile in serum and brain tissue after a single subcutaneous dose. *Psychopharmacology (Berl)* 196: 51-62.
- Palenicek T, Fujakova M, Brunovsky M, Horacek J, Gorman I, Balikova M, Rambousek L, Syslova K, Kacer P, Zach P, Bubenikova-Valesova V, Tyls F, Kubesova A, Puskarcikova J, Hoschl C (2013) Behavioral, neurochemical and pharmaco-EEG profiles of the psychedelic drug 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 225: 75-93.
- 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. *Hum Psychopharmacol* 28: 379-89.
- Paxinos G, Watson C (2003) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. Elsevier, Academic Press, New York

- Peralta V, Cuesta M (2011) Eugen Bleuler and the Schizophrenias: 100 Years After. *Schizophrenia Bulletin* 37: 1118-1120.
- Polissidis A, Galanopoulos A, Naxakis G, Papahatjis D, Papadopoulou-Daifoti Z, Antoniou K (2013) The cannabinoid CB1 receptor biphasically modulates motor activity and regulates dopamine and glutamate release region dependently. *Int J Neuropsychopharmacol* 16: 393-403.
- Poncelet M, Barnouin MC, Breliere JC, Le Fur G, Soubrie P (1999) Blockade of cannabinoid (CB1) receptors by 141716 selectively antagonizes drug-induced reinstatement of exploratory behaviour in gerbils. *Psychopharmacology (Berl)* 144: 144-50.
- Páleníček T, Brunovský M, Horáček J, Bubeníková-Valešová V (2007a) Vliv ketaminu a amfetaminu na EEG koherence u potkanů - studie u volně se pohybujících zvířat. *Psychiatrie* 11.
- Páleníček T, Bubeníková-Valešová V, Horáček J (2007b) Srovnání amfetaminu, ketaminu, MK-801, meskalinu, psilocinu, LSD a 2C-B v animálním modelu schizofrenie. *Psychiatrie* 11.
- Páleníček T, Fujáková M, Tylš F, Kubešová A, Brunovský M, Horáček J (2012) Vliv psychedelik na EEG konektivitu u potkana - srovnání modelů psychóz s humánními daty. *Psychiatrie* 16.
- Páleníček T, Horáček J (2008) Neurobiologie účinku halucinogenů a disociativních anestetik. *Psychiatrie* 12.
- Páleníček T, Horáček J, Brunovský M, Fujáková M, Kutová M, Šoš P, Tišlerová B, Bubeníková-Valešová V (2010) Vliv ketaminu na kvantitativní EEG a sensorimotorický gating. *Psychiatrie* 11.
- Páleníček T, Tylš F, Nováková P, Viktorínová M, Androvičová R, Melicher T, Kadeřábek L, Brunovský M, Horáček J (2014) Vliv akutního užití kanabisu na prepulzní inhibiči úlekové reakce a na funkční konektivitu mozku z hlediska EEG. *Psychiatrie* 18.
- Quednow BB, Kuhn KU, Hoenig K, Maier W, Wagner M (2004) Prepulse inhibition and habituation of acoustic startle response in male MDMA ('ecstasy') users, cannabis users, and healthy controls. *Neuropsychopharmacology* 29: 982-90.
- Riba J, Rodriguez-Fornells A, Barbanoj M (2002) Effects of ayahuasca on sensory and sensorimotor gating in humans as measured by P50 suppression and prepulse inhibition of the startle reflex, respectively. *Psychopharmacology* 165: 18-28.
- Roser P, Vollenweider FX, Kawohl W (2010) Potential antipsychotic properties of central cannabinoid (CB1) receptor antagonists. *World J Biol Psychiatry* 11: 208-19.
- Rosler W, Riecher-Rosler A, Angst J, Murray R, Gamma A, Eich D, van Os J, Gross VA (2007) Psychotic experiences in the general population: a twenty-year prospective community study. *Schizophr Res* 92: 1-14.
- Russo E (2001) *Cognoscenti of Cannabis I: Jacques-Joseph Moreau (1804-1884)*. *J Cannabis Therapeutics* 1: 4
- Sanders A, Goring H, Duan J, Drigalenko E, Moy W, Freda J, He D, Shi J, Gejman P, MGS (2013) Transcriptome study of differential expression in schizophrenia. *Human Molecular Genetics* 22: 5001-5014.
- Schneider M, Koch M (2003) Chronic pubertal, but not adult chronic cannabinoid treatment impairs sensorimotor gating, recognition memory, and the performance in a progressive ratio task in adult rats. *Neuropsychopharmacology* 28: 1760-9.
- Schnell T, Becker T, Thiel MC, Gouzoulis-Mayfrank E (2013) Craving in patients with schizophrenia and cannabis use disorders. *Can J Psychiatry* 58: 646-9.
- Scholes KE, Martin-Iverson MT (2009) Alterations to pre-pulse inhibition (PPI) in chronic cannabis users are secondary to sustained attention deficits. *Psychopharmacology (Berl)* 207: 469-84.

- Scholes-Balog KE, Martin-Iverson MT (2011) Cannabis use and sensorimotor gating in patients with schizophrenia and healthy controls. *Hum Psychopharmacol* 26: 373-85.
- Schubart CD, Sommer IE, van Gastel WA, Goetgebuer RL, Kahn RS, Boks MP (2011) Cannabis with high cannabidiol content is associated with fewer psychotic experiences. *Schizophr Res* 130: 216-21.
- Schwab S, Wildenauer D (2013) Genetics of psychiatric disorders in the GWAS era: an update on schizophrenia. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* 263: S147-S154.
- Shi LH, Luo F, Woodward DJ, Chang JY (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* 55: 1-16.
- Singh ME, McGregor IS, Mallet PE (2005) Repeated exposure to Delta(9)-tetrahydrocannabinol alters heroin-induced locomotor sensitisation and Fos-immunoreactivity. *Neuropharmacology* 49: 1189-200.
- Slattum P, Venitz J, Barr W (1996) Comparison of methods for the assessment of central nervous system stimulant response after dextroamphetamine administration to healthy male volunteers. *Journal of Clinical Pharmacology* 36: 1039-1050.
- Smirnov MS, Kiyatkin EA (2008) Behavioral and temperature effects of delta 9-tetrahydrocannabinol in human-relevant doses in rats. *Brain Res* 1228: 145-60.
- Stefanis NC, Delespaul P, Henquet C, Bakoula C, Stefanis CN, Van Os J (2004) Early adolescent cannabis exposure and positive and negative dimensions of psychosis. *Addiction* 99: 1333-41.
- Stuckey D, Lawson R, Luna L (2005) EEG gamma coherence and other correlates of subjective reports during ayahuasca experiences. *Journal of Psychoactive Drugs* 37: 163-178.
- Sullivan P, Kendler K, Neale M (2003) Schizophrenia as a complex trait - Evidence from a meta-analysis of twin studies. *Archives of General Psychiatry* 60: 1187-1192.
- Svizenska I, Dubovy P, Sulcova A (2008) Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures--a short review. *Pharmacol Biochem Behav* 90: 501-11.
- Svrakic D, Zorumski C, Svrakic N, Zwir I, Cloninger C (2013) Risk architecture of schizophrenia: the role of epigenetics. *Current Opinion in Psychiatry* 26: 188-195.
- Takigawa M, Wang H, Hamada K, Shiratani T, Takenouchi K, Ali S (2000) Directed coherence of EEG on ICSS rats with methamphetamine-induced hyperactivity and stereotyped behavior. *Neurobiological Mechanisms of Drugs of Abuse: Cocaine, Ibogaine, and Substituted Amphetamines* 914: 311-315.
- Talledo J, Owens A, Schortinghuis T, Swerdlow N (2009) Amphetamine effects on startle gating in normal women and female rats. *Psychopharmacology* 204: 165-175.
- Tandon R, Keshavan M, Nasrallah H (2008) Schizophrenia, "Just the Facts" What we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophrenia Research* 102: 1-18.
- Tandon R, Nasrallah H, Keshavan M (2009) Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophrenia Research* 110: 1-23.
- Thomas A, Baillie GL, Phillips AM, Razdan RK, Ross RA, Pertwee RG (2007) Cannabidiol displays unexpectedly high potency as an antagonist of CB1 and CB2 receptor agonists in vitro. *Br J Pharmacol* 150: 613-23.
- Tien AY, Anthony JC (1990) Epidemiological analysis of alcohol and drug use as risk factors for psychotic experiences. *J Nerv Ment Dis* 178: 473-80.
- Tournier BB, Ginovart N (2014) Repeated but not acute treatment with (9)-tetrahydrocannabinol disrupts prepulse inhibition of the acoustic startle: Reversal by

- the dopamine D2/3 receptor antagonist haloperidol. *Eur Neuropsychopharmacol* 24: 1415-23.
- Tyls F, Palenicek T, Horacek J (2014) Psilocybin - Summary of knowledge and new perspectives. *European Neuropsychopharmacology* 24: 342-356.
- Tylš F, Páleníček T, Nováková P, Kadeřábek L, Horáček J (2014) Behaviorální profil a narušená funkční konektivita po administraci psilocinu potkanům - vliv antipsychotik a specifických antagonistů serotoninových receptorů. *Psychiatrie* 18.
- Tzavara ET, Davis RJ, Perry KW, Li X, Salhoff C, Bymaster FP, Witkin JM, Nomikos GG (2003) The CB1 receptor antagonist SR141716A selectively increases monoaminergic neurotransmission in the medial prefrontal cortex: implications for therapeutic actions. *Br J Pharmacol* 138: 544-53.
- Valvassori SS, Elias G, de Souza B, Petronilho F, Dal-Pizzol F, Kapczinski F, Trzesniak C, Tumas V, Dursun S, Chagas MH, Hallak JE, Zuardi AW, Quevedo J, Crippa JA (2011) Effects of cannabidiol on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *J Psychopharmacol* 25: 274-80.
- van Os J, Bak M, Hanssen M, Bijl RV, de Graaf R, Verdoux H (2002) Cannabis use and psychosis: a longitudinal population-based study. *Am J Epidemiol* 156: 319-27.
- van Os J, Kenis G, Rutten B (2010) The environment and schizophrenia. *Nature* 468: 203-212.
- Vitalis T, Laine J, Simon A, Roland A, Leterrier C, Lenkei Z (2008) The type 1 cannabinoid receptor is highly expressed in embryonic cortical projection neurons and negatively regulates neurite growth in vitro. *Eur J Neurosci* 28: 1705-18.
- Vollenweider F, Csomor P, Knappe B, Geyer M, Quednow B (2007) The effects of the preferential 5-HT_{2A} agonist psilocybin on prepulse inhibition of startle in healthy human volunteers depend on interstimulus interval. *Neuropsychopharmacology* 32: 1876-1887.
- Wiles NJ, Zammit S, Bebbington P, Singleton N, Meltzer H, Lewis G (2006) Self-reported psychotic symptoms in the general population: results from the longitudinal study of the British National Psychiatric Morbidity Survey. *Br J Psychiatry* 188: 519-26.
- Wiley JL, Burston JJ (2014) Sex differences in Delta(9)-tetrahydrocannabinol metabolism and in vivo pharmacology following acute and repeated dosing in adolescent rats. *Neurosci Lett* 576: 51-5.
- Wiley JL, Martin BR (2003) Cannabinoid pharmacological properties common to other centrally acting drugs. *Eur J Pharmacol* 471: 185-93.
- Winkler P, Csemy L (2014) Self-Experimentations with Psychedelics Among Mental Health Professionals: LSD in the Former Czechoslovakia. *Journal of Psychoactive Drugs* 46: 11-19.
- Wu CS, Zhu J, Wager-Miller J, Wang S, O'Leary D, Monory K, Lutz B, Mackie K, Lu HC (2010) Requirement of cannabinoid CB(1) receptors in cortical pyramidal neurons for appropriate development of corticothalamic and thalamocortical projections. *Eur J Neurosci* 32: 693-706.
- Yamamoto J (1997) Cortical and hippocampal EEG power spectra in animal models of schizophrenia produced with methamphetamine, cocaine, and phencyclidine. *Psychopharmacology* 131: 379-387.
- Young G (1988) RELATIONSHIP BETWEEN AMPHETAMINE-INDUCED EFFECTS ON EEG POWER SPECTRA AND MOTOR-ACTIVITY IN RATS. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 30: 489-492.
- Young JW, Zhou X, Geyer MA (2010) Animal models of schizophrenia. *Curr Top Behav Neurosci* 4: 391-433.

- Zammit S, Allebeck P, Andreasson S, Lundberg I, Lewis G (2002) Self reported cannabis use as a risk factor for schizophrenia in Swedish conscripts of 1969: historical cohort study. *Bmj* 325: 1199.
- Zhornitsky S, Potvin S (2012) Cannabidiol in humans-the quest for therapeutic targets. *Pharmaceuticals (Basel)* 5: 529-52.
- Zuardi AW, Crippa JA, Hallak JE, Pinto JP, Chagas MH, Rodrigues GG, Dursun SM, Tumas V (2009) Cannabidiol for the treatment of psychosis in Parkinson's disease. *J Psychopharmacol* 23: 979-83.
- Zuardi AW, Hallak JE, Dursun SM, Morais SL, Sanches RF, Musty RE, Crippa JA (2006) Cannabidiol monotherapy for treatment-resistant schizophrenia. *J Psychopharmacol* 20: 683-6.
- Zuardi AW, Morais SL, Guimaraes FS, Mechoulam R (1995) Antipsychotic effect of cannabidiol. *J Clin Psychiatry* 56: 485-6.
- Zuardi AW, Rodrigues JA, Cunha JM (1991) Effects of cannabidiol in animal models predictive of antipsychotic activity. *Psychopharmacology (Berl)* 104: 260-4.
- Zuardi AW, Shirakawa I, Finkelfarb E, Karniol IG (1982) Action of cannabidiol on the anxiety and other effects produced by delta 9-THC in normal subjects. *Psychopharmacology (Berl)* 76: 245-50.
- Šulcová A (2012) Současné poznávání významu endokanabinoidního systému u neuropsychiatrických poruch. *Psychiatrie* 16.
- Šťastný F, Balcar V (2008) Schizofrenie jako genetická porucha synaptického spojení. *Psychiatrie* 12.