

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

ZAKLJUČNA NALOGA
POTENCIALNA UPORABA KANABINOIDOV PRI
ZDRAVLJENJU ALZHEIMERJEVE BOLEZNI

TINA ŠMIGOC

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Zaključna naloga

**Potencialna uporaba kanabinoidov pri zdravljenju Alzheimerjeve
bolezni**

(The potential therapeutic use of cannabinoids in Alzheimer's disease)

Avtor: Tina Šmigoc

Študijski program: Biopsihologija

Mentor: prof. dr. Gorazd Drevenšek

Somentor: asist. dr. Suzana Vidic

Koper, avgust 2016

Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Tina ŠMIGOC

Naslov zaključne naloge: Potencialna uporaba kanabinoidov pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni

Kraj: Koper

Leto: 2016

Število listov: 41 Število slik: 3 Število tabel: 1

Število referenc: 106

Mentor: prof. dr. Gorazd Drevenšek

Somentor: asist. dr. Suzana Vidic

Ključne besede: Alzheimerjeva bolezen, kanabinoidi, endokanabinoidni sistem, amiloid beta, amiloidni plaki, protein tau, nevrofibrilarne pentlje, terapevtski učinek.

Izvleček:

Alzheimerjeva bolezen je nevrološka motnja, ki poškoduje in uniči možganske celice, kar povzroči neravnovesje živčnih prenašalcev in bistveno zmanjša volumen možganov. Je najpogostejša oblika vseh demenc. Po podatkih Združenja Alzheimerjeve bolezni (2016) je Alzheimerjeva bolezen šesti najpogostejši vzrok smrti, število obolelih se iz leta v leto drastično povečuje. Glede na pomanjkanje učinkovitih zdravil za zdravljenje bolezni in precejšnje breme, ki ga ima bolezen na paciente, družine, zdravstvene sisteme in gospodarstvo, je iskanje učinkovitega zdravljenja ena najvišjih zdravstvenih priorit. V zadnjih letih se je povečalo klinično zanimanje za kanabinoide, ki lahko vplivajo na vrsto bolezni, tudi na tako kompleksne, kot je Alzheimerjeva. Več in vivo in in vitro študij je pokazalo, da lahko kanabinoidi zmanjšajo nevrovnetja, oksidativni stres, nastajanje amiloidnih plakov in nevrofibrilarnih pentelj, kar so ključni zaznamki Alzheimerjeve bolezni. Tudi v kliničnih študijah se kanabinoidi izkazujejo obetavno – opazno zmanjšujejo z demenco povezane simptome, npr. vedenjske motnje. Diplomaska naloga povzema osnove delovanja kanabinoidov in sistematičen pregled raziskav o potencialnih možnostih zdravljenja Alzheimerjeve bolezni s kanabinoidi.

Key words documentation

Name and SURNAME: Tina ŠMIGOC

Title of the final project paper: The potential therapeutic use of cannabinoids in Alzheimer's disease

Place: Koper

Year: 2016

Number of pages: 41

Number of figures: 3

Number of tables: 1

Number of references: 106

Mentor: Prof. Gorazd Drevenšek, PhD

Co-Mentor: Assist. Suzana Vidic, PhD

Keywords: Alzheimer's disease, cannabinoids, endocannabinoid system, amyloid beta, amyloid plaques, tau protein, neurofibrillary tangles, therapeutic effect.

Abstract:

Alzheimer's disease is a neurological disorder that damages and destroys brain cells, which causes an imbalance of neurotransmitters and significantly reduces the volume of the brain. It is the most common form of dementia. According to the Alzheimer's association (2016), Alzheimer's disease is the sixth leading cause of death, the number of people suffering from this disease has been increasing dramatically from year to year. Given the lack of effective treatments for Alzheimer's disease and the considerable burden on patients, families, healthcare systems, and economics, finding an effective therapy is one of the highest medical priorities. We have seen a growing interest in the cannabinoids in the past few years. The cannabinoids may affect numerous diseases, even such complex as Alzheimer's. Several *in vivo* and *in vitro* studies have shown that cannabinoids can reduce neuroinflammation, oxidative stress, the formation of amyloid plaques and neurofibrillary tangles, the key endorsements of Alzheimer's disease. Also, in clinical studies, the cannabinoids show promise – a noticeable decrease of dementia-related symptoms, for example behavioral disorders. This paper summarizes the basic functions of the cannabinoids and the systematic review of potential treatment options in the case of Alzheimer's disease.

ZAHVALA

Za strokovno pomoč in usmeritve pri pisanju diplomskega dela se iskreno zahvaljujem somentorici dr. Suzani Vidic in mentorju dr. Gorazdu Drevenšku.

Zahvalila bi se tudi družini, fantu in prijateljicam, vsem tistim, ki so v času študija in nastajanja diplomskega dela vplivali name, da sem tako strokovno kot tudi osebno napredovala.

KAZALO VSEBINE

1 UVOD.....	1
2 METODOLOGIJA (SISTEMATIČEN PREGLED LITERATURE O TERAPEVTSKEM POTENCIALU KANABINOIDOV ZA ZDRAVLJENJE ALZHEIMERJEVE BOLEZNI).....	4
3 KANABINOIDI	5
3.1 Fitokanabinoidi	5
3.2 Endogeni kanabinoidni sistem.....	6
3.2.1 Endogeni kanabinoidni sistem pri Alzheimerjevi bolezni.....	10
4 TERAPEVTSKI UČINKI KANABINOIDOV V MOŽGANIH Z ALZHEIMERJEVO BOLEZNIJO.....	12
4.1 Učinek kanabinoidov na $A\beta$	12
4.2 Kanabinoidi in hiperfosforilacija proteina tau.....	13
4.3 Protivnetne lastnosti kanabinoidov.....	13
4.4 Delovanje kanabinoidov na delovanje mitohondrijev: oksidativni stres in energijski metabolizem.....	14
4.5 Uravnavanje živčnega prenosa	15
4.6 Drugi učinki kanabinoidov pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni	16
5 RAZPRAVA IN ZAKLJUČKI	20
6 LITERATURA IN VIRI.....	23

KAZALO PREGLEDNIC

Tabela 4.01 <i>Povzetek objavljenih kliničnih študij o vplivu kanabinoidov na nevropsihiatrične simptome bolnikov Alzheimerjeve bolezni</i>	18
---	----

KAZALO SLIK

<i>Slika 3.01.</i> Delovanje endokanabinoidov v sinapsi in retrogradna modulacija sproščanja neurotransmiterjev	7
<i>Slika 3.02.</i> Sinteza in presnova endokanabinoidov v sinapsi. Izhodna snov je N-arahidonilfosfatidil etanolamin, ki je membranski fosfolipid. Tudi razgradnja poteka po več poteh: s pomočjo hidrolaze amidov maščobnih kislin	9
<i>Slika 5.01.</i> Povzetek glavnih odkritij pozitivnega delovanja kanabinoidov na možgane z Alzheimerjevo boleznijo	21

1 UVOD

Alzheimerjeva bolezen (AB) je kronična progresivna nevrodegenerativna bolezen, pri kateri so v ospredju znaki demence. Poimenovali so jo po Aloisu Alzheimerju, ki je leta 1907 z mikroskopskim opazovanjem v možganih 51-letne bolnice, ki je trpela za dolgoletno napredujočo demenco, odkril patognomonične spremembe, ki jih danes imenujemo amiloidni plaki in nevrofibrilarne pentlje in na katerih temelji potrditev diagnoze bolezni. Pri AB se degenerativne spremembe najprej začnejo v področjih, pomembnih za nastanek dolgotrajnega spomina. Iz entorinalne skorje se razširijo v hipokampus, nato v parietalni in temporalni predel in nazadnje zajamejo celotni neokorteks. Alzheimerjeva demenca se običajno začne neopazno in počasi, nato pa postopno in dokaj enakomerno napreduje (eZdravje, b.d.). Za razvito bolezen so značilni izguba spomina na sveže dogodke, dezorientiranost v času in prostoru, nesposobnost skrbeti zase ter končno globalni upad spoznavnih funkcij. Klinično delimo AB na obliko, ki se začne v zgodnjem življenjskem obdobju (45-65 let) in na obliko, ki se začne v kasnejšem življenjskem obdobju (po 65. letu). Prva oblika je redka, druga pa pogosta zlasti v razvitih deželah, kjer se doba prebivalstva podaljšuje (Ribarič, 2009). Trenutno je ocenjeno število prebivalcev, ki jih prizadane Alzheimerjeva bolezen širom sveta, 35.6 milijonov, pričakovati pa je, da se bo to število do leta 2050 potrojilo (Lin, Chau, Ruthirakuhan, Krista, Lanctot in Herrmann, 2015).

Alzheimerjeva bolezen sodi med proteinopatije – bolezni napačno zvitih proteinov. Molekule napačno zvitih proteinov se združujejo in odlagajo v različnih tkivih ter jih s tem kvarijo. Napačno zviti proteini tako posredno ali neposredno povzročijo smrt celice in nazadnje bolnika. Pri AB govorimo o lokalizirani proteinopatiji, saj je prizadet le en organ (možgani). Pri tej bolezni se napačno zviti proteini odlagajo in kopičijo v obliki amiloidnih plakov in nevrofibrilarnih pentelj. Amiloid beta ($A\beta$), peptid iz 42 aminokislin, ki nastane z zaporedno cepitvijo amiloidnega prekursorskega proteina (APP) z β - in γ -sekretazo, se odlaga izven celic v obliki amiloidnih plakov (Popović in Gazič, 2008). Nekateri raziskovalci namigujejo, da so kritični dejavniki za nastanek nevrodegeneracije in tvorbo amiloidnih plakov $A\beta$ peptidi, ki se začnejo kopičiti znotraj celice. Kopičenje peptida $A\beta$ slabi mitohondrijsko dihalno pot in delovanje ključnih encimov, kar privede do proizvodnje reaktivnih kiskovih radikalov, posledično pa zvišanja oksidativnega stresa in škode na različnih molekulah, kot so nukleinske kisline, maščobe in proteini, vključno z receptorji (Chen in Yan, 2010). Kopičenje $A\beta$ prispeva k disregulaciji medcelične kalcijeve homeostaze in k prekomerni aktivaciji podtipa glutamatnega receptorja, ki lahko povzroči ekscitotoksičnost in nevronske smrti (Smith, Green in LaFerla, 2005). Zbiranje in združevanje amiloidnih plakov izven celice vodi do kronične aktivacije mikroglij in astrocitov, kar povzroči sproščanje potencialno nevrotoksičnih substanc. Vse skupaj vodi do lokalnega vnetja in nevronske smrti, to pa se kasneje izraža preko kognitivnega upada in

vedenjskih sprememb bolnika (Eikelenboom, Veerhuis, Scheper, Rozemuller, van Gool in Hoozemans, 2006). Drugo obliko napačno zvitih proteinov predstavlja protein tau, ki je v patološki obliki hiperfosforiliran tau (Popović in Gazič, 2008). Protein tau v zdravih nevronih povezuje protein tubulin v mikrotubule, elemente citoskeleta, ki so pomembni za aksoplazemski transport snovi. V nevronih obolelih za AB se verige prekomerno fosforiliranega proteina tau sestavijo v parne vijajne filamente, ki se združujejo v znotrajcelične neurofibrilarne pentelje, kar ima za posledico okvaro citoskeleta in aksonskega transporta. Čezmerna fosforilacija proteina tau je posledica povečane aktivnosti kinaze proteina tau. Možno je, da k temu prispeva A β peptid. Dodajanje topnega A β celični kulturi nevronov je namreč zvečalo fosforilacijo proteina tau v nevronih (O'Brien in Wong, 2011). V nevronih s pentljami se poveča vsebnost znotrajceličnega kalcija in aktivnost kalpaina, od kalcija odvisne proteinaze, ki razgradi nekatere funkcionalne in strukturne proteine. Ko prizadeti nevron odmre, neurofibrilarne pentlje še nekaj časa ostanejo v zunajceličnem prostoru (Ribarič, 2009). V te pentlje se začnejo vraščati distrofični nevriti, v okolici pa se pojavijo astrociti in mikroglia (Praprotnik, 1995). Izvencelične neurofibrilarne pentlje kažejo optične in strukturne lastnosti amiloida in imajo podobno sestavo kot amiloidni plaki, poleg tega pa je amiloid beta skupna sestavina obeh – neurofibrilarnih pentelj in senilnih plakov (Perry idr., 1993). Na podlagi enakih optičnih lastnosti je Divry (1927, po Chambers, 1928) že v dvajsetih letih prejšnjega stoletja sklepal o povezanosti teh dveh lezij, vendar pa odnos med njima in njun pomen v patogenezi AB še do danes nista v celoti razjasnjena. Znano je, da zaradi njunega kopičenja odmirajo živčne celice. Bolniki letno izgubijo 5 odstotkov možganskih celic, na ključnih področjih spomina pa celo 10 odstotkov. Možgani bolnikov pogosto tehtajo manj kot 1000 g v primerjavi z zdravimi, ki tehtajo 1300 g (Spominčica – Alzheimer Slovenija, 2013).

Poleg kognitivne in funkcionalne okvare, osebe z diagnozo Alzheimerjeve bolezni pogosto trpijo za vedenjskimi spremembami. Prizadanejo jih nevropsihiatrični simptomi (NPS) oziroma vedenjski in psihološki simptomi demence. Ti vključujejo psihoze (blodnje in halucinacije), motnje razpoloženja (depresija, euforia, tesnoba, razdražljivost, nihanje razpoloženja), spremembe osebnosti (apatija, dezinhibicija, ravnodušnost, negativizem), vznemirjenost, agresivnost, stopicanje, tavanje, motnje spanja in apetita (Kogoj, 2011). Najpogostejši simptomi so vznemirjenost, apatija in depresija, najbolj vztrajen psihiatrični simptom pa je vznemirjenost (Haupt, 1999). NPS so skoraj univerzalni, 98 odstotkov prizadetih se srečuje vsaj z enim izmed teh simptomov tekom svoje bolezni. So najpogostejši vzrok za zdravljenje v bolnišnici ter pomembno prispevajo k upadu kvalitete življenja tako bolnikov kot njihovih svojcev. Potrebni so intenzivni in dragi načini zdravljenja, kar občutno poveča ceno zdravljenja demence (Kogoj, 2011).

Pri razvoju AB igra močno vlogo naš genski zapis, saj se ocenjuje, da je kar 70 odstotkov vseh primerov demence posledica okvarjenih različnih genov (Zorn, 2016). Tveganje je povezano tudi s prehrano, podhranjenim endokanabinoidnim sistemom, stresom, poškodbami glave in nizko stopnjo izobrazbe (Antonsdottir, Smith, Keltz in Porsteinsson, 2015). Alzheimerjeva bolezen še ni ozdravljiva, saj kljub zdravljenju proces napreduje. Trenutno so za zdravljenje odobrena zdravila iz skupine zaviralcev holinesteraze in skupine antagonistov glutamatnih receptorjev. Za zdravljenje sekundarnih simptomov AB, med katere sodijo NPS, se uporabljajo zdravila iz skupine antidepresivov, anksiolitikov, beta blokatorjev, antiepileptičnih zdravil in nevroleptikov (Anderson, 2016). Zaradi potrebe po učinkovitejšemu zdravljenju AB se med drugim povečuje zanimanje za uporabo kanabinoidov. Naloga se osredotoča na osnove delovanja kanabinoidov in preko več študij preučuje njihove potencialne možnosti za zdravljenje Alzheimerjeve bolezni.

2 METODOLOGIJA (SYSTEMATIČEN PREGLED LITERATURE O TERAPEVTSKEM POTENCIALU KANABINOIDOV ZA ZDRAVLJENJE ALZHEIMERJEVE BOLEZNI)

Vse študije, uporabljene v zaključni nalogi, so bile pridobljene iz elektronske baze podatkov PubMed. Omejitve iskanja so bili nedavno objavljeni članki v revijah, ki jih indeksira SCI, angleški jezik ter dokončani in v celoti objavljeni članki. Neodvisne od iskanja so bile spremenljivke spola, starosti in geografskega območja. Zanimale so me *in vivo* in *in vitro* raziskave kot tudi klinične raziskave. Temelj iskanja so predstavljale ključne besede: kanabinoidi, endokanabinoidi, endokanabinoidni sistem, kanabinoidni receptorji, nevrovnetje, oksidativni stres, amiloidni plaki, nevrofibrilarne pentlje, Alzheimerjeva bolezen, vznemirjenost, beta amiloid, tau. Izbrani pregledni članki temeljijo na raziskavah o kanabinoidih kot potencialnih terapevtikih in vključujejo paciente, diagnosticirane z AB ali transgene živali in celice, ki služijo kot model za proučevanje AB.

3 KANABINOIDI

Glede na izvor ločimo tri vrste kanabinoidov: a) fitokanabinoidi so sestavni del rastline konoplje, b) endokanabinoidi so nevromodulatorji, ki se tvorijo v človeškem telesu in c) polysintetični in sintetični kanabinoidi so sintetizirani v laboratoriju in so strukturno analogni fitokanabinoidom in endokanabinoidom ter delujejo s podobnimi biomehanizmi (Madras, 2015).

3.1 Fitokanabinoidi

Fitokanabinoide pridobivamo iz konoplje. To je do šest metrov visoka rastlina, ki ima več podvrst. Največ se uporabljata navadna (*Cannabis sativa*) in indijska konoplja (*Cannabis indica*) tako v medicinske namene kot tudi rekreativno (Uporaba konoplje v medicini, 2014). Po Konvenciji združenih narodov o opojnih drogah (1961) je konoplja definirana kot "cvetoči oz. plodovni vrhovi rastline konoplje (kar izključuje vsa semena in liste, ki niso v stiku z vrhovi), iz katerih še ni bila iztisnjena smola". Konopljina smola pa je "smola, surova ali pečiščena, pridobljena z rastline konoplja". Konoplja je v medicinske namene v uporabi že stoletja širom sveta. Gre celo za eno izmed prvih rastlin, ki so se uporabljale za zdravljenje več bolezenskih stanj (Pertwee, 2006). Rastlina vsebuje številne kanabinoide, ki so odgovorni za bolj in manj znane fiziološke in psihoaktivne učinke. Gre za biokemične spojine, ki delujejo na različne tarčne molekule – receptorje, encime, transporterje, ionske kanalče – v celicah in preko te vezave sprožijo specifične učinke (Ibeas Bih, Chen, Nunn, Bazelot in Dallas, 2015). Konoplja vsebuje več kot 80 različnih kanabinoidov, pa tudi več kot 400 drugih spojin. Glavni kanabinoidi v konoplji, poleg tetrahidrokanabinola (THC), so kanabidiol (CBD), kanabigerol (CBG), kanabinol (CBN) in kanabidivarin (CBDV). Za razliko od THC-ja, vsi naštetih ne sprožajo psihoaktivnih učinkov. THC, ki ga je v suhih delih rastline ponavadi največ, posreduje večino psihotropnih učinkov naravnih pripravkov iz konoplje in je farmakološko in toksikološko najpomembnejši ter najbolj raziskan (Mele in Drevenšek, 2015). CBD, kot drugi najpomembnejši fitokanabinoid, psihoaktivnih lastnosti nima, deluje pa pomirjevalno.

Odkritje kanabinoidov v konoplji ter njihovega delovanja predstavlja pomemben prispevek k razvoju novih strategij zdravljenja nekaterih bolezni. Ekstrakti iz te rastline se danes uporabljajo za preprečevanje slabosti po obsevanju pri bolnikih z rakom, zdravljenje bolečine in zmanjšanega apetita pri bolnikih z rakom, pri mišičnih spazmih za lajšanje bolečin zaradi okvare živca, pri multipli sklerozi... Medicinsko konopljo uporabljajo zdravniki pri protibolečinski terapiji, za zdravljenje motnje spanja, anksioznosti in depresije, vnetja sklepov, vnetja živcev, motnje hranjenja in migrene (Mele in Drevenšek, 2015).

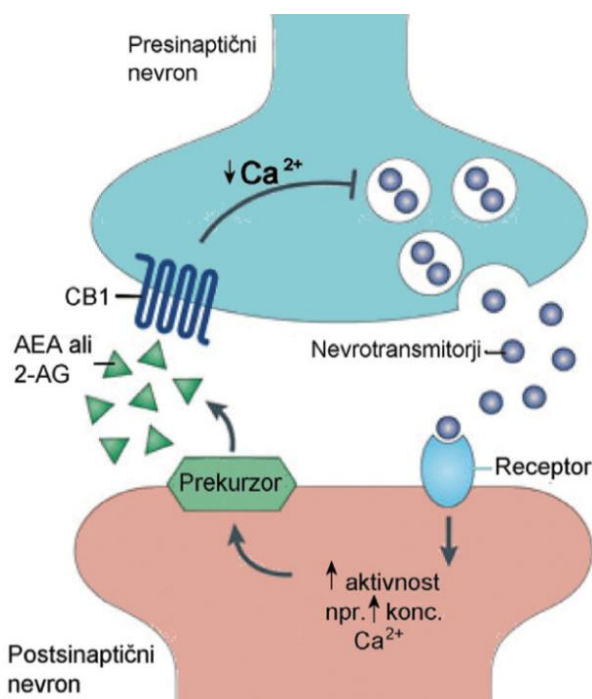
Pričakovati je, da se bo nabor bolezni, pri katerih se bodo uporabljali ekstrakti konoplje, z novimi dognanji le še širil.

3.2 Endogeni kanabinoidni sistem

Raziskave učinkov konoplje so vodile do odkritja endogenega kanabinoidnega sistema, ki je postal tarča razvoja novih zdravil. Kot omenjeno je naše telo sposobno izdelovati svoje lastne kanabinoide – endokanabinoide, na katerem temelji kompleksen sistem signalizacije (Maselj, 2015). Sistem sestavljajo kanabinoidni receptorji, endogeni ligandi in več encimov, ki so odgovorni za njihovo sintezo in razgradnjo (Piomelli, 2003). Do danes sta bila v celoti raziskana (in klonirana) dva tipa receptorjev, CB₁ in CB₂ (Aso in Ferrer, 2014). CB₁ je najpogostejši receptor v osrednjem živčnem sistemu. V najvišjih koncentracijah se nahaja v specifičnih možganskih področjih, kot so sprednji možganski reženj, bazalni gangliji, hipokampus in mali možgani, ki nadzirajo užitek, gibanje, učenje, spomin ter bolečino. Prisotnost receptorjev CB₁ v malih možganih in bazalnih ganglijih pojasni vpliv kanabinoidov na mišični tonus ter koordinacijo gibanja. Receptorji CB₁ v hipokampusu uravnavajo razpoloženje in preko aktivnosti v hipokampusu in prednjem možganskem režnju vplivajo na mnoge elemente kognicije, vključno s koncentracijo, procesiranjem dolgoročnega spomina in procesiranjem pozornosti. V manjši meri je receptor CB₁ prisoten tudi v perifernih tkivih, testisih, žilnem endoteliju, vranici, jetrih, pljučih, ledvicah in perifernih živcih. Receptor CB₂ najdemo v makrofagih vranice, pa tudi v ostalih imunskih celicah perifernih tkiv, pljuč, kosti, gastrointestinalnega trakta, reproduktivnih organov in srca. Čeprav je receptor CB₂ sprva uvrščen kot periferni receptor, so njegovo izražanje odkrili tudi v mikrogliji ob vnetju možganov, v malih možganih, možganskem deblu in hipokampusu (Mele in Drevenšek, 2015). Na splošno velja, da so psihoaktivni učinki kanabinoidov posredovani preko receptorjev CB₁, imunomodulatorni pa preko receptorjev CB₂ (Štempelj in Ferjan, 2006). Oba tipa receptorjev pripadata družini 7-transmembranskih receptorjev, sklopljenih z regulatornim proteinom G (Mele in Drevenšek, 2015).

Karakterizacija CB₁ in CB₂ receptorjev je omogočila odkritje endokanabinoidov, ki nastajajo v živčnih celicah in so endogeni agonisti receptorjev CB₁ in CB₂. Kemijsko jih klasificiramo kot derivate arahidonske kisline, in sicer so lahko amidi, estri ali etri z dolgimi nenasičenimi maščobnimi kislinami (Fonseca, Costa, Almada, Correia de Silva in Teixeira, 2013, po Ferjan, Kržan, Lipnik-Štangelj, Žiberna, Stanovnik in Černe, 2015). Endokanabinoidi so lipidne spojine družine eikozanoidov, ki izhajajo iz razgradnje membranskih fosfolipidov (Piomelli, 2003). Ker gre za lipofilne oz. hidrofobne molekule, endokanabinoidi niso shranjeni v znotrajceličnih veziklih, temveč postanejo po sintezi del celične membrane. Prav tako ne potujejo na daljše razdalje po telesu, ampak delujejo le v bližini mesta sinteze; signale prenašajo med bližnjimi celicami, npr. nevronoma v sinapsi

(Alger in Kim, 2011). Značilno je, da igrajo vlogo pri retrogradnem signaliziranju med nevroni (Fonseca idr., 2013, po Ferjan idr., 2015). Iz postsinaptičnega nevrona se sprostijo v sinaptično špranjo in delujejo na presinaptične živčne končiče (Slika 3.01; Ferjan idr., 2015).



Slika 3.01. Delovanje endokanabinoidov v sinapsi in retrogradna modulacija sproščanja neurotransmiterjev (povzeto po Ferjan idr., 2015).

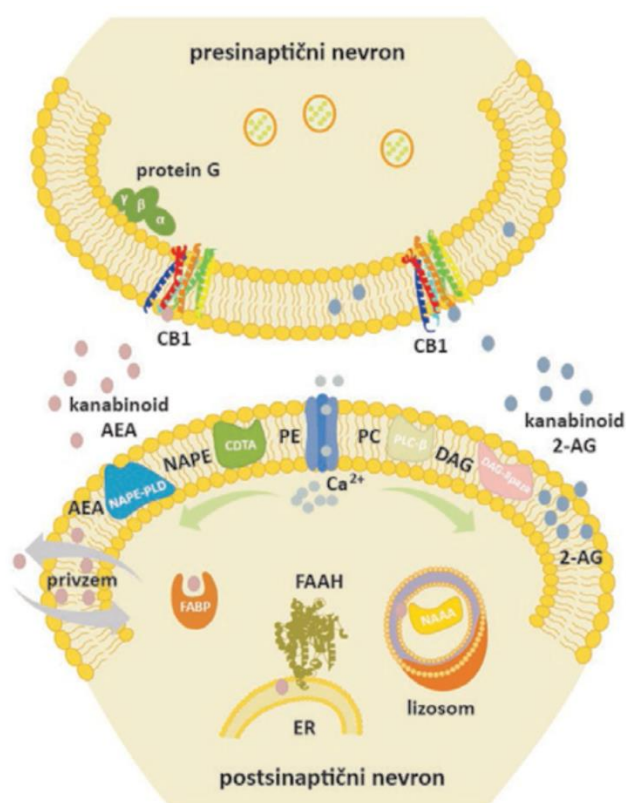
Endokanabinoidi v širšem pogledu delujejo kot nevromodulatorji in imunomodulatorji. Vpleteni so v vrsto bioloških procesov kot so nastajanje bolečine, kognitivni procesi, tvorjenje spomina in nevroplastičnost, motorična aktivnost, endokrine funkcije, uravnavanje apetita, nadzor temperature in srčnega utripa, slabost in bruhanje, očesni tlak, vnetje, imunski sistem – prepoznavanje antigenov (Fine in Rosenfeld, 2013; Zogopoulos, Vasileiou, Patsouris in Theocharis, 2013, po Ferjan idr., 2015). Najbolj znana in preučena predstavnika endokanabinoidov sta arahidoniletanolamid (anandamid, AEA) in 2-arahidonilglicerol (2-AG). Za njiju je dolgo veljalo prepričanje, da nastajata v telesu po potrebi in se praviloma ne shranjujeta v zalogah. Raziskave v zadnjem desetletju so to hipotezo ovrgle, saj se je anandamid kopičil v nekaterih celicah (Hillard in Jarrahian, 2000; Maccarrone, Dainese in Oddi, 2010; Oddi idr., 2008, po Ferjan idr., 2015). 2-AG je najpogostejši endogeni kanabinoid v možganih, njegova koncentracija je približno 200-krat večja kot koncentracija AEA (Stella, Schweitzer in Piomelli, 1997). Koncentraciji AEA in 2-AG pa v organizmu močno narasteta pri patofizioloških procesih, med katere spadajo tudi nevrnske poškodbe (Štempelj in Ferjan, 2006).

Sintezo anandamida v nevronih sproži vezava neurotransmiterja, ki se sprosti iz presinaptičnega nevrona, na ustrezni ionotropni ali metabotropni receptor na postsinaptičnem nevronu (Slika 3.02). To povzroči dvig koncentracije citosolnih prostih ionov kalcija v postsinaptičnem nevronu, kar je dražljaj za sintezo in sproščanje endokanabinoidov iz njihovega prekursorja v membrani. Sproščeni kanabinoidi se vežejo na receptorje CB₁ na presinaptični membrani. Aktivirani receptorji nato inhibirajo napetostno-odvisne kalcijeve kanale in odpirajo kalijeve kanale. Zaradi povečane difuzije kalijevih ionov iz celice se zmanjša depolarizacija presinaptične membrane. Posledica je inhibicija sproščanja neurotransmiterjev, kot so glutamat, dopamin in γ -aminomaslena kislina (GABA), ki imajo fiziološke učinke pri procesih, kot so spomin, učenje, gibanje (Day idr., 2001; Guzman, 2003; Lopez-Rodriguez idr., 2003, po Štempelj in Ferjan, 2006). Končni učinek je odvisen od tipa nevrona, ki ga je endokanabinoid zavrl. Na primer, zaviranje sproščanja ekscitirajočih prenašalcev (npr. glutamat) vodi do zaviranja vzdraženosti nevrona, medtem ko zaviranje sproščanja inhibitornih prenašalcev (GABA) vodi do povečanja vzdraženosti (Freund, Katona in Piomelli, 2003, po Ferjan idr., 2015).

Delovanje AEA je določeno s procesoma, ki omejujeta njegovo razpoložljivost: a) transport iz sinaptične špranje v celico s pasivno difuzijo ali selektivnim transporterjem in b) hidroliza z dvema encimskima sistemoma, predvsem hidrolazo amidov maščobnih kislin (fatty acid amide-hydrolase – FAAH), pa tudi monoglicerol lipazo (MAGL; Di Marzo idr., 1994). Encim FAAH, ki poleg anandamida hidrolizira tudi druge amide in estre maščobnih kislin, se nahaja v znotrajceličnih membranah. Inhibira ga inhibitor serinskih proteaz PMSF (phenylmethylsulfonyl fluoride). Anandamid se s FAAH razgradi v arahidonsko kislino in etanolamin, 2-AG pa v arahidonsko kislino in glicerol. Arahidonska kislina, ki nastane pri hidrolizi, se sicer še lahko metabolizira v eikozanoide, vendar se je večina vgradi v membranske fosfolipide (Štempelj in Ferjan, 2006).

Sinteza endokanabinoidov poteka po več vzporednih poteh, pri katerih so udeleženi različni encimi (fosfolipaza C, fosfolipaza D, α , β , hidrolaza in različne fosfataze), kot je prikazano na Sliki 3.02 (Ferjan idr., 2015). Sinteza 2-AG poteka s pomočjo fosfolipaze C in diacilglicerolno lipazo (DAGL).

Vse te snovi, ki sodelujejo pri procesih sinteze, privzema in razgradnje kanabinoidov, vključno z endokanabinoidnimi ligandi in njihovimi receptorji, imenujemo endogeni kanabinoidni sistem ali endokanabinoidni sistem (Lopez Rodriguez idr., 2003; Mechoulam, Fride in Di Marzo, 1998; Ueda idr., 2000, po Štempelj in Ferjan, 2006).



Slika 3.02. Sinteza in presnova endokanabinoidov v sinapsi. Izhodna snov je N-arahidonilfosfatidil etanolamin, ki je membranski fosfolipid. Tudi razgradnja poteka po več poteh: s pomočjo hidrolaze amidov maščobnih kislin (FAAH), ciklooksigenaze 2 (COX2) idr. (povzeto po Ferjan idr., 2015).

Odkritje endokanabinoidnega sistema podaja novo razumevanje mehanizmov, preko katerih kanabinoidi posredujejo svoje učinke. Poleg tega s preučevanjem endokanabinoidnega sistema bolje razumemo njegovo vlogo pri fizioloških procesih in odzivu na patološka stanja (Mele in Drevenšek, 2015). Napredek v poznavanju endokanabinoidnega sistema sta prinesli predvsem zadnji dve desetletji. Trenutno se strokovnjaki ukvarjajo z odkrivanjem dodatnih kanabinoidnih receptorjev, saj kanabinoidi, ki ne aktivirajo receptorjev CB₁ niti receptorjev CB₂, vseeno kažejo učinke, tako na krvni tlak kot na razna vnetja. Vse kaže na to, da imajo endokanabinoidi pomemben vpliv na delovanje organizma (Razgalimo konopljo, 2014).

Zanimanje za vlogo, ki jo endogeni kanabinoidni sistem lahko ima pri nevrodegenerativnih procesih, med katere sodi AB, temelji na ugotovitvah, ki razkrivajo, da bogatenje kanabinoidnih poti prispeva k homeostazi možganov in preživetju nevronov. Kot posledica lahko endogeni kanabinoidni sistem nudi zaščito pred škodljivimi posledicami patogenih molekul (Aso in Ferrer, 2014).

3.2.1 Endogeni kanabinoidni sistem pri Alzheimerjevi bolezni

Endokanabinoidni tonus pri bolnikih z Alzheimerjevo boleznijo ni običajen (Zorn, 2016). Analiza vzorcev človeških obdukcij možganov z AB je pokazala spremembe v sestavi in signalizaciji endogenega kanabinoidnega sistema glede na običajno staranje. Spremembe, opisane za receptorje CB₁, so dvostranske. Medtem ko nekateri avtorji poročajo o znatnem znižanju ravni CB₁ (Ramirez, Blazquez, Gomez del Pulgar, Guzman in de Ceballos, 2005; Solas, Francis, Franco in Ramirez, 2013), drugi ne opisujejo nobenih razlik v izražanju, razporeditvi ali razpoložljivosti CB₁ receptorjev (Ahmad idr., 2013; Benito idr., 2003; Lee idr., 2010; Mulder idr., 2011). Nasprotno, glede CB₂ ni nobenega dvoma, da se raven receptorjev v možganih z AB poveča. Povečano izražanje se kaže zlasti na mikroglijah, ki se pri AB pojavijo v okolici amiloidnih plakov (Benito idr., 2003; Ramirez idr., 2005; Solas idr., 2013). Ugotavljajo (Greene-Schloesser, Robbins, Peiffer, Shaw, Wheeler in Chan, 2012; Shaw in Robbins, 2006) da, mikroglija na vsak patološki dogodek odgovori z vnetjem v vlogi specializiranih makrofagov. Povzročajo infiltracijo možganovine, aktivirajo hidrolitične encime in povečajo nastanek reaktivnih kiskovih spojin (ROS) ter citokinov. ROS in citokini povratno aktivirajo mikroglijo in na ta način vzdržujejo vnetje. Raziskave so pokazale povezavo med vnetnim odgovorom mikroglije in zmanjšano sintezo nevronov v hipokampusu ter slabšanjem kognitivnih funkcij. Mikroglija pomembno prispeva k nastanku kroničnega vnetja in oksidativnega stresa v možganovini (Šuštar, Jereb in Neubauer, 2014). Vplivanje na CB₂ receptorje, izražene na mikroglijah, daje proti-vnetni odgovor in s tem omili negativne učinke delovanja mikroglije. Solas in drugi (2013) raziskavo zaključujejo z ugotovitvami, da raven izraženosti CB₂ receptorjev premo sorazmerno korelira z ravno izraženosti Aβ peptidov in odlaganjem plakov, ne pa tudi s kognitivnim stanjem. Ta dognanja namigujejo, da lahko CB₂ predstavlja obetajočo tarčo pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni.

Pri analizi ravni endokanabinoidov AEA in 2-AG v plazmi nekatere študije sicer niso pokazale statistično značilnih razlik med pacienti AB in zdravo skupino posameznikov (Koppel idr., 2009), nedavne študije pa kažejo na nižjo raven AEA v možganskih režnjah pacientov. Raven AEA v telesu obratno sorazmerno korelira z ravno izraženosti Aβ peptidov in tako z značilno kognitivno pomanjkljivostjo, ki bolezen spremlja (Jung idr., 2012). Tudi v sestavi in aktivnosti encimov, povezanih s sintezo in razgradnjo endokanabinoidov v možganih z AB, so bile odkrite nekatere spremembe – dejavnost encimov je povečana. Prekomerna izraženost FAAH encima, ki metabolizira AEA, lahko ima vsaj dve negativni posledici pri napredovanju AB: a) pomanjkanje AEA za nevrone in b) povečan vnetni odziv, ki ga povzročajo AEA metaboliti (npr. arahidonska kislina; Calder, 2005). Študija (Mulder idr., 2011) je pokazala še spremenjeno 2-AG signalizacijo v poznem

stadiju AB in sicer zaradi kombinacije oslabiljenega delovanja MAGL in povečanja ravni DAGL.

4 TERAPEVTSKI UČINKI KANABINOIDOV V MOŽGANIH Z ALZHEIMERJEVO BOLEZNIJO

4.1 Učinek kanabinoidov na A β

Februarja 2005 so v reviji "Journal of neuroscience" objavili prve in zelo pomembne rezultate o učinkih kanabinoidov na A β , kjer so z vbrizgavanjem kanabinoidov uspešno znižali nevrotoksičnost v podganah, katerim so predhodno vbrizgali A β peptid (Yao, Nguyen in Pike, 2005). Endokanabinoidi, kot sta AEA in 2-AG, neposredno dodani celični kulturi, so povečali viabilnost nevronov (Chen, Zhang in Chen, 2011; Harvey, Ohlsson, Maag, Musgrave in Smid, 2012; Janefjord, Maag, Harvey in Smid, 2013; Milton, 2002) in zmanjšali motnje spomina pri podganah, ki jih povzroča A β (van der Stelt idr., 2006). Podobne pozitivne rezultate so pridobili z eksogenimi kanabinoidi, kot je CBD (Iuvone, Esposito, Esposito, Santamaria, Di Rosa in Izzo, 2004; Janefjord idr., 2013), s selektivnim agonistom receptorjev CB₁, arahidonil-2-kloroetilamidom (ACEA; Aso, Palomer, Juves, Maldonado, Munoz in Ferrer, 2012), s selektivnima agonistoma receptorja CB₂, JWH-015 in JWH-133, ter mešanico agonistov receptorjev CB₁/CB₂ THC, HU-210 in WIN55,212-2 (Janefjord idr., 2013; Ramírez idr., 2005). Zaščitna funkcija eksogenih kanabinoidov na živčne celice je dosledno preprečevala spominske primankljaje pri podganah in miših, predhodno vbrizganih z A β (Fakhfouri, Ahmadiani, Rahimian, Grolla, Moradi in Haeri, 2012; Haghani, Shabani, Javan, Motamedi in Janahmadi, 2012; Martin Moreno idr., 2011; Ramirez idr., 2005; Wu, Bie, Yang, Xu, Brown in Naguib, 2013). Kronično zdravljenje z ACEA (Aso idr., 2012), JWH-133 (Aso, Juves, Maldonado in Ferrer, 2013; Martin Moreno idr., 2012) ali WIN55,212-2 (Martin Moreno idr., 2012) je pri miših z možgansko amiloidozo privedlo do kognitivnega izboljšanja. Učinkovitost kanabinoidnih spojin pri obvladovanju kognitivnega poslabšanja je bila obratno sorazmerna s fazo napredovanja bolezni na začetku zdravljenja pri transgenih živalih (Aso idr., 2012; 2013).

Takšnih mehanizmov delovanja, ki tvorijo osnovo zaščite živčnih celic pred A β in ki lahko na koncu privedejo do izboljšanja spomina, je več in naj bi delovali vzporedno ali vzajemno. Čeprav jih je večina povezana s sposobnostjo kanabinoidov, da le posredno ublažijo škodljive učinke A β (vpliv na vnetje, oksidativni stres, ekscitotoksičnost itd.), pa nekateri avtorji opisujejo neposredne učinke kanabinoidov na obdelavo A β . Stimulacija receptorjev CB₂ je povzročila odstranitev A β s pomočjo človeških makrofagov (Tolon idr., 2009; Wu idr., 2013) in spodbudila prenos A β skozi horoidni pletež (Martin Moreno idr., 2012). Takšno spodbujanje odstranitve A β skozi krvnomožgansko pregrado je bilo zaznано tudi pri endokanabinoidu 2-AG in zaviralcih MAGL (Bachmeier, Beaulieu-Abdelahad, Mullan in Paris, 2013). S takšnimi ugotovitvami bi lahko pojasnili znižanje ravni A β in nalaganje plakov, opaženo na mišjih modelih, kronično zdravljenih z agonisti receptorjev CB₂ ali

CB₁/CB₂ (Martin Moreno idr., 2012) in zaviralci MAGL (Chen idr., 2012; Piro idr., 2012). Raziskava (Stumm idr., 2013) poroča o neodvisnem regulativnem vplivu receptorja CB₁ na kognicijo, saj so transgene miši, ki jim je primanjkovalo receptorja CB₁, kazale zmanjšane ravni beljakovin APP in zmanjšano odlaganje A β plakov, a tudi poslabšanje kognitivnih sposobnosti v primerjavi s kontrolno skupino. Eubanks in drugi (2006) pa so izpostavili potencial kanabinoida THC, ki naj bi kompetitivno inhibiral encim acetilholinesterazo in celo učinkoviteje preprečeval A β nalaganje kot trenutno registrirana zdravila za Alzheimerjevo bolezen.

4.2 Kanabinoidi in hiperfosforilacija proteina tau

Vloga kanabinoidov je raziskana tudi pri drugi patološki značilnosti Alzheimerjeve bolezni, tj. hiperfosforilaciji proteina tau. V prvih študijah, izvedenih na celičnih kulturah, so dokazali, da so izbrani kanabinoidi zavirali hiperfosforilacijo proteina tau pri nevronskih celicah, tretiranih z A β (Esposito, De Filippis, Carnuccio, Izzo in Iuvone, 2006a; Esposito idr., 2006b). V primeru ACEA in WIN55,212-2 je učinek na hiperfosforilacijo proteina tau selektivno ublažil receptor CB₁ z regulacijo izražanja inducibilne NO-sintaze (iNOS) in tvorbo dušikovega oksida (Esposito idr., 2006b). Kronično zdravljenje s CB₁ selektivnim agonistom ACEA je zmanjšalo ravni fosforiliranega tau proteina v predelu okolice A β plakov, verjetno z zmanjšanim škodljivim delovanjem glikogen sintaze kinaze GSK-3 β , ene od znanih kinaz proteina tau. Pri uravnavanju fosforilacije proteina tau igra vlogo tudi receptor CB₂. To so potrdili v nedavni študiji, v kateri so poročali o opaznem zmanjšanju neurofibrilarnih pentelj pri miših s prekomerno izraženim genom za protein tau. Avtorji so za poskus uporabili že potrjeno zdravilo Sativex® narejeno na osnovi mešanice naravnih ekstraktov THC in CBD (Casarejos idr., 2013).

4.3 Protivnetne lastnosti kanabinoidov

Vnetje živčnega tkiva je izrazita lastnost Alzheimerjeve bolezni, ki prispeva k napredujočim poškodbam celic in izgubi nevronov (Akiyama idr., 2010; Sardi idr., 2011). Ker so receptorji CB₂ izraženi v imunskem sistemu (ta vključuje mikroglialne celice, ki prožijo tako protivnetne kot tudi proti-vnetne odgovore v možganih), je bilo pri vlogi kanabinoidov kot protivnetnih sredstev največ zanimanja za spojine, ki delujejo na ta tip receptorjev (Cabral in Griffin-Thomas, 2009). V več študijah so ugotovili, da je aktivacija receptorjev CB₂ zmanjšala vnetni odziv živčnega tkiva na amiloidne plake. Po inokulaciji amiloidnih plakov v možgane podgane ali miši so selektivni ali mešani agonisti receptorjev CB₂ zmanjšali mikroglialni odziv in tvorbo protivnetnih molekul (Esposito idr., 2007; Fakhfoury idr., 2012; Ramirez idr., 2005; Solas idr., 2013; Van der Stelt idr., 2006; Wu idr., 2013). Podobne rezultate selektivnega agonista receptorjev CB₂ pri zmanjšanju števila aktiviranih

mikroglijalnih celic okoli A β plakov in ravni provnetnih citokinov je zaslediti v študijah Martin Morena idr., 2012 in Asa idr., 2013. Verjetno je tudi v tem primeru naravna mešanica THC in CBD v uporabljenem zdravilu Sativex upočasnila mikroglijalno reaktivnost, čeprav dokazov o neposredni vpletenosti receptorjev v takšne učinke ni bilo. Tudi drugi mehanizmi, povezani s komponentami endokanabinoidnega sistema, bi lahko pojasnili protivnetne učinke pripravka Sativex (Casarejos idr., 2013).

CBD, ki ima zelo nizko afiniteto za receptorje CB₁ ali CB₂, prav tako predstavlja protivnetne lastnosti v modelih z Alzheimerjevo boleznijo (Esposito idr., 2006a; Martin Moreno idr., 2011). Natančno mesto, na katerem bi lahko CBD pokazal svoje protivnetne in zaščitne učinke na živčno tkivo še vedno ni popolnoma pojasnjeno, vendar pa nekatere ugotovitve namigujejo na selektivno vpletenost PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor) pri takšnih lastnostih CBD-ja (Esposito idr., 2011).

Obetaven terapevtski pristop k zniževanju vnetnega procesa predstavlja tudi blokada encimov, vpletenih v razgradnjo AEA in 2-AG. Genetska inaktivacija MAGL encima, ki hidrolizira endokanabinoide in tvori primarni bazen arahidonske kisline za pro-vnetne prostaglandine (Nomura idr., 2011), je oslabil živce ter znižala ravni A β pri miših (Piro idr., 2012). Opažanja je potrdila farmakološka blokada MAGL, ki je prav tako zmanjšala proizvodnjo prostaglandinov, brez okrepljenega signaliziranja z endokanabinoidi. Encim FAAH je izražen v nevronih kot tudi na astrocitih AB in prav tako predstavlja pomembno terapevtsko tarčo (Benito idr., 2003). Po podatkih številnih raziskav, blokada FAAH vodi v zaščito nevronov (Hwang, Adamson, Butler, Janero, Makriyannis in Bahr, 2010).

4.4 Delovanje kanabinoidov na delovanje mitohondrijev: oksidativni stres in energijski metabolizem

Mitohondriji so celični organeli, pomembni za tvorbo ATP in vzdrževanje homeostaze kalcija. Nevroni so zelo zahtevne energijske celice, ki so odvisne od aerobne oksidativne fosforilacije, ki poteka v mitohondrijih. Dolgi aksoni potrebujejo prenos energije na dolge razdalje, sinaptični prenos pa je odvisen od signalov kalcija. Mitohondriji so množični v presinaptičnih živčnih končičih, kjer zagotavljajo energijo za trajno sproščanje neurotransmiterjev. Okvare v delovanju mitohondrijev lahko imajo velike posledice za celico. V številnih študijah so mitohondrijsko disfunkcijo povezali z nevrodegenerativnimi boleznimi, vključno z Alzheimerjevo (Ankarcrona, Mangialasche in Winblad, 2010; Burchell, Gandhi, Deas, Wood, Abramov in Plun-Favreau, 2010; Ferrer, 2009). Spremenjena mitohondrijska funkcija (poškodbe encimov dihalne verige in molekul DNK, nastanek ROS) se pojavi zgodaj pri Alzheimerjevi bolezni, pri modelih miši celo pred značilno Alzheimerjevo patologijo. Ta na koncu privede do izčrpanih nevronov zaradi

istočasnega zmanjšanja tvorbe energije, povečane potrebe po energiji in prekomernega oksidativnega stresa (Ferrer, 2009). Antioksidativne lastnosti derivatov konoplje, zlasti CBD, so bile dokazane že zelo zgodaj pri celičnih kulturah, izpostavljenih toksičnim ravnem glutamata (Hampson, Grimaldi, Lolic, Wink, Rosenthal in Axelrod, 2000). CBD je preprečil tvorbo ROS in peroksidacijo lipidov pri nevronskih celicah, ki so bile izpostavljene A β . Pomembno je vplival na zmanjšano apoptozo celic zaradi znižanja ravni kaspaze 3 in preprečil dvig koncentracije medceličnega kalcija kot posledico izpostavljenosti A β (Iuvone idr., 2004). CBD je v podobnih okoliščinah zmanjšal ravni reaktivnega kisikovega radikala nitrita (NO) kot tudi ekspresijo enega od encimov, ki skrbi za sintezo NO (Esposito idr., 2006b; 2011).

Antioksidativne lastnosti pri živalskih modelih z AB so pokazale tudi druge kanabinoidne spojine, kar kaže na vlogo receptorjev CB₂ pri zmanjšanju poškodb oksidativnega stresa in spodbujanju odzivov na takšne poškodbe. Selektivni agonist receptorja CB₂ JWH-133 je zmanjšal spojine hidroksinonenala, ki so nastale iz peroksidacije lipidov (ta poteče, ko kakršen koli prosti radikal napade nenasičeno maščobno kislino), in okrepil ravni superoksid dismutaz SOD 1 in SOD 2 v bližini plakov pri miših. Superoksid dismutaza ima pomembno antioksidantsko vlogo v skoraj vseh celicah, ki so izpostavljene kisiku (Aso idr., 2013). Zmanjšanje prostih radikalov in poškodb mitohondrijev je bilo nakazano pri mišjih modelih, ki so bili izpostavljeni kroničnemu zdravljenju z mešanico THC in CBD pripravka Sativex. Domnevna vloga kanabinoidnih receptorjev pri reguliranju metabolne energije nevronskih celic je prav tako že bila deležna pozornosti. Maloštevilne informacije, ki so do sedaj na voljo, podpirajo neposredno povezavo receptorjev CB₁ z nevronske respiracije in tvorbo energije. V študiji, kjer so uporabili protitelesa proti receptorjem CB₁, so ugotovili lokacijo receptorjev CB₁ v membrani mitohondrijev pri približno 30 odstotkih nevronskih mitohondrijev. Aktivacija mitohondrijskih CB₁ z eksogenimi ali endogenimi kanabinoidi je zmanjšala dejavnost kompleksa dihalne verige in porabo kisika. To po vsej verjetnosti nastane s signaliziranjem cikličnega adenzin monofosfata (cAMP) in protein kinaze A (PKA; Benard idr., 2012). Te ugotovitve so skladne s predhodnimi opažanji, ki so nakazala, da so kanabinoidi, od katerih so vsi delni agonisti CB₁, pomembno zmanjšali porabo kisika in mitohondrijski membranski potencial (Athanasίου idr., 2007).

4.5 Uravnavanje živčnega prenosa

Kot že omenjeno, današnja zdravila, namenjena za zdravljenje Alzheimerjeve bolezni, temeljijo na zaviralcih encima acetilholinesteraze (AChE). Z zaviranjem AChE povečajo koncentracijo acetilholina (ACh), ki je eden izmed prenašalcev impulzov med živčnimi celicami v možganih. Količina acetilholina je pri AB zaradi propadanja živčnih celic zmanjšana, zdravila pa preko povečanja njegove koncentracije delno ublažijo pomanjkanje

živčnega prenosa pri bolniku in posledično izboljšajo njegove spoznavne sposobnosti. Med zdravila AB štejemo še antagoniste receptorja NMDA. Delujejo tako, da uravnavajo aktivnost glutamata, kemičnega prenašalca, ki sodeluje pri obdelavi, shranjevanju in priklicu podatkov. Prevelika količina glutamata preveč spodbuja NMDA receptorje in tako povzroči prevelik vstop kalcija v živčno celico, kar vodi v celično smrt. Zdravilo celice varuje pred vstopom prevelikih količin kalcija z delno blokado NMDA receptorjev (Alzheimer's association, 2016b). Na enake cilje kot dosedanja zdravila delujejo tudi nekatere kanabinoidne spojine, pri čemer dajejo podobne ali celo izboljšane pozitivne učinke. Denimo, THC se je izkazal kot zaviralec AChE, pri čemer uspešno dviguje ravni ACh, obenem pa preprečuje kopičenje A β , ki ga AChE povzroča (Eubanks idr., 2006). Sintetični kanabinoid HU-211 deluje kot zaviralec receptorjev NMDA in tako varuje celice pred nevrotoksičnostjo (Eshhar, Striem in Biegon, 1993; Feigenbaum idr., 1989; Nadler, Mechoulam in Sokolovsky, 1993). Njegovo delovanje, ki ščiti živčne celice, je posledica neposredne vezave na NMDA receptorje (Aso in Ferrer, 2014).

4.6 Drugi učinki kanabinoidov pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni

Videti je, da še več drugih mehanizmov prispeva k terapevtskim lastnostim kanabinoidnih spojin pri AB, čeprav še niso popolnoma opredeljeni. Med njimi lahko opazimo zmožnost endokanabinoidov, da preprečijo lizosomsko destabilizacijo, ki jo uravnava A β ter na ta način zmanjšujejo apoptotsko signaliziranje, kar vzdržuje preživetje celic (Noonan, Tanveer, Klompas, Gowran, McKiernan in Campbell, 2010). Kompromitirana nevrogenza je zgodnji dogodek pri Alzheimerjevi bolezni, ki omejuje nadomestitev nevronov, ko pride v možganih do progresivne izgube nevronov, kar prispeva h kognitivnemu poslabšanju (Lazarov in Marr, 2010). AEA in CBD sta bila opisana kot spojini, ki spodbujata nevrogenzo, nastajanje novih nevronov iz živčnih celic, kot odziv na insult A β (Esposito idr., 2011; Tanveer, Gowran, Noonan, Keating, Bowie in Campbell, 2012), kar nakazuje na dodatni pozitiven učinek kanabinoidov pri AB. Medsebojno delovanje kanabinoidov in nevrotrofičnih faktorjev pri AB je nov vidik, ki pa je še premalo raziskan. Kanabinoidi so sposobni povečati možganski nevrotrofični faktor (brain-derived neurotrophic factor – BDNF; Khaspekov, Brenz-Verca, Frumkina, Hermann, Marsicano in Lutz, 2004), to pomeni povečati ravni nevrotrofina (ta varuje pred ekscitotoksičnostjo in spodbuja nevrogenzo; Scharfman, Goodman, Macleod, Phani, Antonelli in Croll, 2005) ter plastičnost živčevja – oba procesa igrata vlogo v AB. Še vedno pa ni jasnih dokazov o posledicah, ki bi jih takšno spodbujanje BDNF, ki ga povzročijo kanabinoidi, imelo na kognitivne ali patološke vidike Alzheimerjeve bolezni. Podobno je malo znanega o kanabinodnem signaliziranju pri okvarjeni funkciji razgradnje napačno zviti beljakovin, kot sta avtofagija in razgradnja z ubikvitinskim-proteosomalnim sistemom, kar nosi pomembno vlogo pri napredovanju bolezni. Prizadetost teh kataboličnih procesov privede do kopičenja proteinov, spremenjenih mitohondrijev in drugih celičnih

organelov, ki bi lahko poslabšali neurodegenerativni proces (Harris in Rubinsztein, 2011). Do danes so samo v eni študiji ugotovili pozitivne učinke kanabinoidov na avtofagijo (Casarejos idr., 2013).

Učinek kanabinoidov prispeva k potencialnim ugodnim učinkom na Alzheimerjevo bolezen tudi z uravnavanjem možganskega krvnega pretoka. Kar nekaj študij je dokazalo, da nekateri kanabinoidi povzročijo vazodilatacijo žil v možganih in povečujejo možganski krvni pretok (Pacher, Batkai in Kunos, 2005; Wagner, Jarai, Batkai in Kunos, 2001). Glede na to, da ravno ta pri AB prispeva k znižanju kisika in hranil v možganih (Iadecola, 2004), je upravičeno predlagati, da so terapije, ki izboljšujejo cerebralno perfuzijo, koristne pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni.

Kombinacija številnih raziskav, ki so potrdile, da lahko kanabinoidi pozitivno vplivajo na zdravljenje AB, je bila dovolj, da je angleška revija "British journal of pharmacology" objavila naslednji citat: "Kanabinoidi nam nudijo večstranski pristop za zdravljenje Alzheimerjeve bolezni s tem, da nudijo varovanje celic pred oksidacijo in zmanjšujejo vnetja... tako je možno, da bo manipulacija kanabinoidnih poti farmakologiji nudila boljši pristop k bojevanju proti bolezni, kot trenutni režimi" (Razgalimo konopljo, 2014).

Vedenjske in psihične spremembe prav tako močno vplivajo na vsakodnevno življenje bolnika in brez terapevtskih ukrepov vodijo v njegovo nadaljnje in dodatno propadanje, zato je pomembno izpostaviti tudi študije, ki se osredotočajo na takšne spremembe. O vplivu kanabinoidov na najvztrajnejša simptoma pri Alzheimerjevi bolezni, vznemirjenost in agresijo, do danes poroča šest glavnih kliničnih študij. Vse vključujejo sintetične analoge THC, bodisi odmerek v obliki dronabinola ali nabilona. Psihoaktivna zdravila so udeležencem raziskav bila dana za obvladovanje njihovih simptomov. Nekateri študije so v svojem zaključku poročale o zmanjšanju motenega vedenja glede na izhodiščno stanje (Volicer, Stelly, Morris, McLaughlin in Volicer, 1997), druge o zmanjšanju nočne gibalne aktivnosti (Mahlberg in Walther, 2007; Walther, Mahlberg, Eichmann in Kunz, 2006), vse pa, da uporaba kanabinoidov pozitivno vpliva na vznemirjenost in agresijo posameznikov pri poteku Alzheimerjeve bolezni. Zanimivo je, da ena izmed študij poleg znatnega zmanjšanja spremenjenega vedenja zaradi AB poroča tudi o povečanju telesne teže bolnikov (Volicer idr., 1997). Ti pri poteku bolezni običajno zavračajo hrano, odmerek dronabinola pa je po šestih tednih apetit povrnil. Raziskave s ključnimi ugotovitvami so povzete v Tabeli 4.01.

Kljub nizkemu številu bolnikov, vključenih v raziskave, so pozitivni vedenjski rezultati obetavni in predstavljajo dragoceno, čeprav rahlo omejeno informacijo (podatkov o stranskih učinkih ni). V nadaljnje bodo tako potrebni bolj nadzorovani preizkusi za

natančnejšo oceno učinkovitosti kanabinoidov pri zdravljenju AB (Ahmed, van der Marck, van der Elsen in Olde Rikkert, 2015).

Tabela 4.01

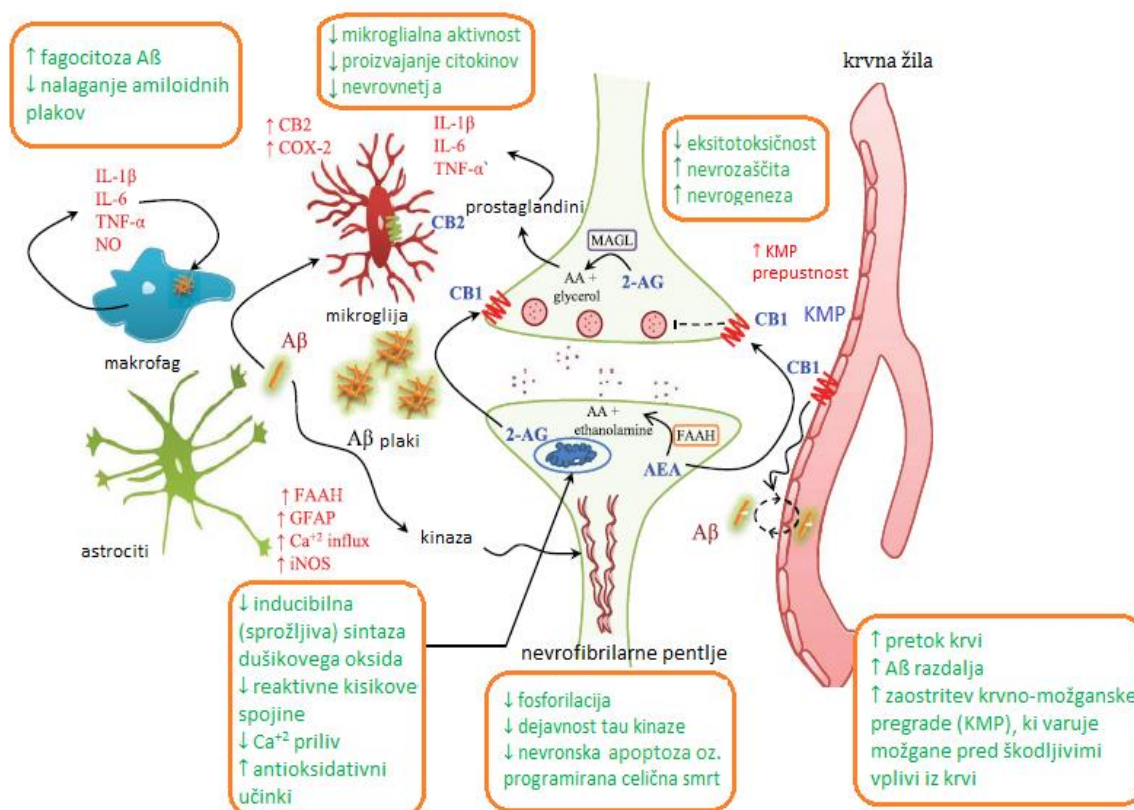
Povzetek objavljenih kliničnih študij o vplivu kanabinoidov na nevropsihiatrične simptome bolnikov Alzheimerjeve bolezni

Študija	Zasnova študije	Udeleženci in bolezensko stanje	Zdravilo, doza in trajanje	Učinki in rezultati
Volicer idr. (1997)	Placebo nadzorovana, navzkrižna študija	12 udeležencev z AB; zavračanje hrane in motnje vedenja	Dronabinol, 2.5 mg dnevno, 6 tednov; 6 tednov placebo	Pri zdravljenju z dronabinolom večje izboljšave vedenja in večja pridobitev telesne teže kot pri zdravljenju s placebo
Walther idr. (2006)	Pilotna študija, odprto klinično preizkušanje	6 udeležencev s poznim stadijem demence, od tega 5 z AB; motnje vedenja	Dronabinol, 2.5 mg dnevno, 2 tedna	Zmanjšano vznemirjenje in gibalna nočna aktivnost (slednja za 59% glede na izhodiščno stanje)
Mahlberg in Walther (2007)	Placebo nadzorovana študija	24 udeležencev z AB; vznemirjenost. 7 jih prejema dronabinol, 7 melatonin, 10 placebo, prazno tableto	Dronabinol, 2.5 mg dnevno, 2 tedna	Zmanjšana gibalna nočna aktivnost pri zdravljenju z dronabinolom (za 16% glede na izhodiščno stanje)
Passmore (2008)	Študija primera	1 udeleženec z AB; motnje vedenja	Nabinol, 0.5 mg dnevno, povečano na 0.5 mg dvakrat dnevno, 6 tednov	Zmanjšano vznemirjenje

Walther idr. (2011)	Randomizirana, placebo nadzorovana, dvojno slepa, navzkrižna študija	2 udeleženci z AB; nočna vznemirjenost in motnje cirkaidnega ritma	Dronabinol, 2.5 mg dnevno (ob 7. uri zvečer), 2 tedna; 2 tedna placebo	Zmanjšano vznemirjenje, zmanjšan nočni nemir in izboljšan cirkaidni ritem pri zdravljenju z dronabinolom
Woodward idr. (2014)	Retrospektivna študija	40 udeležencev z demenco, od tega 28 z AB; motnje vedenja in apetita	Dronabinol, 7.03 mg dnevno, 16 dni	Procentualno večji vnos hrane, daljše periode spanca in ublažitev vznemirjenosti

5 RAZPRAVA IN ZAKLJUČKI

Glede na številne zaplete, ki sodelujejo pri napredovanju tako kompleksne bolezni, kot je Alzheimerjeva, ciljno zdravljenje le na omejene vzroke, nudi omejene koristi. Prednosti kanabinoidov so, da so hkratio usmerjeni v več procesov bolezni (Aso in Ferrer, 2014). Prav tako široka interakcija tarčnih molekul odraža pomemben potencial kanabinoidov. Zvišanje aktivnosti kanabinoidnih receptorjev, bodisi s farmakološko blokado encimov, odgovornih za razgradnjo endokanabinoidov, ali z neposrednim agonistom na receptor, bi lahko bila nova, obetavna strategija za upočasnitev delovanja bolezni in ublažitev njenih simptomov. V kombinaciji s FAAH zaviralci bi terapija potencialno lahko vodila do učinkovitejšega zdravljenja, saj bi uspeli vplivati na bolnikov spremenjen endogeni kanabinoidni sistem v možganih. Endogeni ali eksogeni kanabinoidi nadzorujejo različne signalne poti in preko njih posredujejo svoje učinke: zmanjšajo nevrovnetje, oksidativni stres, nastajanje amiloidnih plakov in nevrofibrilarnih pentelj, izboljšajo sinaptično strukturo, plastičnost in tudi spomin. Pozitivno korelirajo z nevrogenezo, nevrozaščito in možganskim pretokom krvi. Ti učinki so povzeti na Sliki 5.01. Vse farmakološke učinke pa spremlja tudi pozitiven vpliv na vedenjske motnje (Bedse, Romano, Lavecchia, Cassano in Gaetani, 2015).



Slika 5.01. Povzetek glavnih odkritij pozitivnega delovanja kanabinoidov na možgane z Alzheimerjevo boleznijo (povzeto po Bedse idr., 2015).

V splošnem velja, da se pacientom priporoča vrste kanabisa z visoko vsebnostjo kanabidiola (CBD), saj ta vpliva na vse zgoraj omenjene nepravilnosti pozitivno, hkrati pa se izognemo (neželenim) psihotropnim učinkom na centralni živčni sistem – CBD se s trikrat večjo afiniteto kot na receptorje CB₁ veže na receptorje CB₂ in zato bolj vpliva na imunske celice kot na osrednji živčni sistem (Klein, Friedman in Specter, 1998). Nedavna študija Asa, Sancheza Pla, Vegas Lozana, Maldonada in Ferrerja (2015) pa zanimivo poroča o učinkovitejši terapiji v kombinaciji CBD s THC. Intraperitonealno dajanje zdravila s kombinacijo CBD in THC je v mišjih možganih bistveno zmanjšalo kognitivno okvaro ter raven Aβ.

Glede na znane mehanizme delovanja kanabinoidov pa lahko sklepamo, da je njihovo delovanje simptomatsko. To pomeni, da bodo lahko zgolj olajšali nekatere simptome, ne bodo pa ozdravili osnove bolezni (Ferjan idr., 2015). Pri obravnavi Alzheimerjeve bolezni to ne predstavlja nobenega zaostanka, saj tudi trenutna, registrirana in razpoložljiva zdravila demence ne ozdravijo, temveč skušajo le upočasniti njeno nadaljne napredovanje in izboljšati funkcionalni status bolnika. Cilj zdravljenja demenc in predvsem AB je izboljšanje kognicije oz. upočasnitev kognitivnega propadanja, upočasnitev bolezenskih procesov, zmanjšanje

bremena negovalcev, zmanjšanje mortalitete in podaljšanje preživetja z boleznijo (Kores Plesničar, 2008). Po podatkih Združenja Alzheimerjeve bolezni v ZDA (2016a) je že samo v letu 2015 več kot 15 milijonov družinskih članov porabilo 18.1 bilijonov ur oskrbe za bližnje, diagnosticirane z Alzheimerjevo boleznijo. V drugih številkah; 212 bilijonov evrov za vse storitve, ki jih zdravljenje bolezni zahteva. AB predstavlja ogromno breme tako za skrbnike, kot tudi za zdravstvo in ekonomijo. Kljub naštetim visokim davkom obravnavanja bolezni, pa imajo vse dosedanje terapije še vedno omejeno učinkovitost. To kaže na potrebo po raziskovalnih prizadevanjih, usmerjenih v razvoj novih zdravil za preprečevanje ali zaviranje procesa bolezni. Kanabinoidi so ena izmed možnosti, ki lahko predstavljajo novo, učinkovito, multitarčno, varno in ekonomsko ugodno terapijo naravnega izvora, z nizko stopnjo stranskih učinkov. Do danes sicer še nobena oblika takšnega zdravljenja ni v uporabi (Cao idr., 2014), poteka pa število raziskav, katerih rezultati so dovolj obetavni, da so takšne študije popolnoma upravičene.

6 LITERATURA IN VIRI

Ahmad, R., Goffin, K., Van den Stock, J., De Winter, F. L., Cleeren, E., Bormans, G., Tournoy, J., Persoons, P., Van Laere, K. in Vandebulcke, M. (2013). In vivo type 1 cannabinoid receptor availability in Alzheimer's disease. *European neuropsychopharmacology: the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 24 (2), 242-250.

Ahmed, A., van der Marck, M. A., van der Elsen, G. in Olde Rikkert, M. (2015). Cannabinoids in late-onset Alzheimer's disease. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 97 (6), 598-606.

Akiyama, H., Barger, S., Barnum, S., Bradt, B., Bauer, J., Cole, G. M., Cooper, N. R., Eikelenboom, P., Emmerling, M., Fiebich, B. L., Finch, C. E., Frautschy, S., Griffin, W. S., Hampel, H., Hull, M., Landreth, G., Lue, L., Mrak, R., Mackenzie, I. R., McGeer, P. L., O'Banion, M. K., Pachter, J., Pasinetti, G., Plata-Salman, C., Rogers, J., Rydel, R., Shen, Y., Streit, W., Strohmeyer, R., Tooyoma, I., Van Muiswinkel, F. L., Veerhuis, R., Walker, D., Webster, S., Wegrzyniak, B., Wenk, G. in Wyss-Coray, T. (2000). Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 21 (3), 383-421.

Alger, B. E. in Kim, J. (2011). Supply and demand for endocannabinoids. *Trends in neurosciences*, 34 (6), 304-315.

Alzheimer's association. (2016a). 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & dementia*, 12 (4), 459-509.

Alzheimer's association. (2016b). Medications for memory loss. *Alzheimer's & dementia*. Pridobljeno julija 2016 na http://www.alz.org/alzheimers_disease_standard_prescriptions.asp

Ankarcrona, M., Mangialasche, F. in Winblad, B. (2010). Rethinking Alzheimer's disease therapy: are mitochondria the key? *Journal of Alzheimer's disease*, 20 (2), 579-590.

Andreson, H. S. (2016). *Alzheimer's disease: overview*. Pridobljeno julija 2016 na <http://emedicine.medscape.com/article/1134817-overview>

Antonsdottir, I. M., Smith, J., Keltz, M. in Porsteinsson, A. P. (2015). Advancements in the treatment of agitation in Alzheimer's disease. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 16 (11), 1649-1656.

Aso, E. in Ferrer, I. (2014). Cannabinoids for treatment of Alzheimer's disease: moving toward the clinic. *Frontiers in pharmacology*, 5 (37), 1-11.

Aso, E., Juves, S., Maldonado, R. in Ferrer, I. (2013). CB₂ cannabinoid receptor agonist ameliorates Alzheimer-like phenotype in APP β /PS1 mice. *Journal of Alzheimer's disease*, 35 (4), 847-858.

Aso, E., Palomer, E., Juves, S., Maldonado, R., Munoz, F. J. in Ferrer, I. (2012). CB₁ agonist ACEA protects neurons and reduces the cognitive impairment of A β PP/PS1 mice. *Journal of Alzheimer's disease*, 30 (2), 439-459.

Aso, E., Sanchez Pla, A., Vegas Lozano, E., Maldonado, R. in Ferrer, I. (2015). Cannabis-based medicine reduces multiple pathological processes in A β PP/PS1 mice. *Journal of Alzheimer's disease*, 43 (3), 977-991.

Athanasίου, A., Clarke, A. B., Turner, A. E., Kumaran, N. M., Vakilpour, S., Smith, P. A., Bagiokou, D., Bradshaw, T. D., Westwell, A. D., Fang, L., Lobo, D. N., Constantinescu, C. S., Calabrese, V., Loesch, A., Alexander, S. P., Clothier, R. H., Kendall, D. A. in Bates, T. H. (2007). Cannabinoid receptor agonists are mitochondrial inhibitors: a unified hypothesis of how cannabinoids modulate mitochondrial function and induce cell death. *Biochemical and biophysical research communications*, 364 (1), 131-137.

Bachmeier, C., Beaulieu-Abdelahad, D., Mullan, M. in Paris, D. (2013). Role of the cannabinoid system in the transit of beta-amyloid across the blood-brain barrier. *Molecular and cellular neuroscience*, 56, 255-262.

Bedse, G., Romano, A., Lavecchia, A. M., Cassano, T. in Gaetani, S. (2015). The role of endocannabinoid signaling in the molecular mechanisms of neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease*, 43 (4), 115-1136.

Benito, C., Núñez, E., Tolón, R. M., Carrier, E. J., Rábano, A., Hillard, C. J. in Romero, J. (2003). Cannabinoid CB₂ receptors and fatty acid amide hydrolase are selectively overexpressed in neuritic plaque-associated glia in Alzheimer's disease brains. *The Journal of neuroscience: the official journal of the society for neuroscience*, 23 (35), 11136-11141.

Burchell, V. S., Gandhi, S., Deas, E., Wood, N. W., Abramov, A. Y. in Plun-Favreau, H. (2010). Targeting mitochondrial dysfunction in neurodegenerative disease: part I. *Expert opinion on therapeutic targets*, 14 (4), 369-385.

Cabral, G. A. in Griffin-Thomas, L. (2009). Emerging role of the cannabinoid receptor CB₂ in immune regulation: Therapeutic prospects for neuroinflammation. *Expert reviews in molecular medicine*, 11, 3.

Calder, P. C. (2005). Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Biochemical society transactions*, 33 (2), 423-427.

Cao, C., Li, Y., Liu, H., Bai, G., Mayl, J., Lin, X., Sutherland, K., Nabar, N. in Cai, J. (2014). The potential therapeutic effects of THC on Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease*, 42 (3), 973-984.

Casarejos, M. J., Perucho, J., Gomez, A., Munoz, M. P., Fernandez-Estevéz, M., Sagredo, O., Fernandez Ruiz, J., Guzman, M., de Yébenes, J. G. in Mena, M. A. (2013). Natural cannabinoids improve dopamine neurotransmission and tau and amyloid pathology in a mouse model of tauopathy. *Journal of Alzheimer's disease*, 35 (3), 525-539.

Chambers, W. D. (1928). Histo-chemical study of the senile plaques of Redlich-Fischer. *The british journal of psychiatry*, 74 (306), 533.

Chen, J. X. in Yan, S. S. (2010). Role of mitochondrial amyloid-beta in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's disease*, 20 (S2), 569-578.

Chen, R., Zhang, J., Wu, Y., Wang, D., Feng, G., Tang, Y. P., Teng, Z. in Chen, C. (2012). Monoacylglycerol lipase is a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Cell reports*, 2 (5), 1329-1339.

Chen, X., Zhang, J. in Chen, C. (2011). Endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol protects neurons against β -amyloid insults. *Neuroscience*, 178, 159-168.

Di Marzo, V., Fontana, A., Cadas, H., Schinelli, S., Cimino, G., Schwartz, J. C. in Piomelli, D. (1994). Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons, *Nature*, 372 (6507), 686-691.

Mele, T. in Drevenšek, G. (2015). Nove indikacije in razvoj zdravil na osnovi konoplje. *Medicinski razgledi*, 54 (2), 191-209.

Eikelenboom, P., Veerhuis, R., Scheper, W., Rozemuller, A. J., van Gool, W. A. in Hoozemans, J. J. (2006). The significance of neuroinflammation in understanding Alzheimer's disease. *Journal of Neural Transmission*, 113 (11), 1685-1695.

Eshhar, N., Striem, S. in Biegon, A. (1993). HU-211, a non-psychotropic cannabinoid, rescues cortical neurones from excitatory amino acid toxicity in culture. *Neuroreport*, 5 (3), 237-240.

Esposito, G., De Filippis, D., Carnuccio, R., Izzo, A. A., in Iuvone, T. (2006a). The marijuana component cannabidiol inhibits beta-amyloid-induced tau protein hyperphosphorylation through Wnt/beta-catenin pathway rescue in PC12 cells. *Journal of molecular medicine*, 84 (3), 253-258.

Esposito, G., De Filippis, D., Steardo, L., Scuderi, C., Savani, C., Cuomo, V. in Iuvone, T. (2006b). CB₁ receptor selective activation inhibits beta-amyloid-induced iNOS protein expression in C6 cells and subsequently blunts tau protein hyperphosphorylation in co-cultured neurons. *Neuroscience letters*, 404 (3), 342-346.

Esposito, G., Iuvone, T., Savani, C., Scuderi, C., De Filippis, D., Papa, M., Di Marzo, V. in Steardo, L. (2007). Opposing control of cannabinoid receptor stimulation on amyloid-beta-induced reactive gliosis: In vitro and in vivo evidence. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 322 (3), 1144-1152.

Esposito, G., Scuderi, C., Valenza, M., Togna, G. I., Latina, V., De Filippis, D., Cipriano, M., Carratu, M. R., Iuvone, T. in Steardo, L. (2011). Cannabidiol reduces A β -induced neuroinflammation and promotes hippocampal neurogenesis through PPAR γ involvement. *PLoS One*, 6 (12). Pridobljeno julija 2016 na <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3230631/>

Eubanks, L. M., Rogers, C. J., Beuscher, A. E., Koob, G. F., Olson, A. J., Dickerson, T. J. in Janda, K. D. (2006). A molecular link between the active component of marijuana and Alzheimer's disease pathology. *Molecular Pharmacology*, 3 (6), 773-777.

eZdravje. (b.d.). Pridobljeno julija 2016 na <http://www.ezdravje.com/dusevno-zdravje/demenca/alzheimerjeva-bolezen/?s=vse>

Fakhfour, G., Ahmadiani, A., Rahimian, R., Grolla, A. A., Moradi, F. in Haeri, A. (2012). WIN55212-2 attenuates amyloid-beta-induced neuroinflammation in rats through activation of cannabinoid receptors and PPAR- γ pathway. *Neuropharmacology*, 63 (4), 653-666.

Feigenbaum, J. J., Bergmann, F., Richmond, S. A., Mechoulam, R., Nadler, V., Kloog, Y. in Sokolovsky, M. (1989). Nonpsychotropic cannabinoid acts as a functional N-methyl-D-

aspartate receptor blocker. *Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America*, 86 (23), 9584-9587.

Ferjan, I., Kržan, M., Lipnik-Štangelj, M., Žiberna, L., Stanovnik, L. in Černe, K. Farmakologija kanabinoidov. *Zdravniški vestnik*, 84 (6), 456-471.

Ferrer, I. (2009). Altered mitochondria, energy metabolism, voltage-dependent anion channel, and lipid rafts converge to exhaust neurons in Alzheimer's disease. *Journal of bioenergetics and biomembranes*, 41 (5), 425-431.

Greene-Schloesser, D., Robbins, M. E., Peiffer, A. M., Shaw, E. G., Wheeler, K. T. in Chan, M. D. (2012). Radiation-induced brain injury: a review. *Frontiers in oncology*, 2, 73.

Haghani, M., Shabani, M., Javan, M., Motamedi, F. in Janahmadi, M. (2012). CB₁ cannabinoid receptor activation rescues amyloid β -induced alterations in behaviour and intrinsic electrophysiological properties of rat hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Cellular physiology and biochemistry*, 29 (3-4), 391-406.

Hampson, A. J., Grimaldi, M., Lolic, M., Wink, D., Rosenthal, R. in Axelrod, J. (2000). Neuroprotective antioxidants from marijuana. *Annals of the New York academy of sciences*, 899, 274-282.

Harris, H. in Rubinsztein, D. C. (2011). Control of autophagy as a therapy for neurodegenerative disease. *Nature reviews neurology*, 8 (2), 108-117.

Harvey, B. S., Ohlsson, K. S., Maag, J. L., Musgrave, I. F. in Smid, S. D. (2012). Contrasting protective effects of cannabinoids against oxidative stress and amyloid- β evoked neurotoxicity in vitro. *Neurotoxicology*, 33 (1), 138-146.

Haupt, M. (1999). The course of behaviour disorders and their psychosocial treatment in patients with dementia. *Zeitschrift fur Gerontologie und Geriatrie*, 32 (3), 159-166.

Hwang, J., Adamson, C., Butler, D., Janero, D. R., Makriyannis, A. in Bahr, B. A. (2010). Enhancement of endocannabinoid signaling by fatty acid amide hydrolase inhibition: a neuroprotective therapeutic modality. *Life sciences*, 86 (15-16), 615-623.

Iadecola, C. (2004). Neurovascular regulation in the normal brain and in Alzheimer's disease. *Nature reviews, neuroscience*, 5 (5), 347-360.

Ibeas Bih, C., Chen, T., Nunn, A. V., Bazelat, M. in Dallas, M. (2015). Molecul targets of cannabidiol in neurological disorders. *Neurotherapeutics*, 12 (4), 699-730.

Iuvone, T., Esposito, G., Esposito, R., Santamaria, R., Di Rosa, M in Izzo, A. A. (2004). Neuroprotective effect of cannabidiol, a non-psychoactive component from Cannabis sativa, on beta-amyloid-induced toxicity in PC12 cells. *Journal of neurochemistry*, 89 (1), 134-141.

Janefjord, E., Maag, J. L., Harvey, B. S. in Smid, S. D. (2013). Cannabinoid effects on β amyloid fibril and aggregate formation, neuronal and microglial-activated neurotoxicity in vitro. *Cellular and molecular neurobiology*, 34 (1), 31-42.

Jung, K. M., Astarita, G., Yasar, S., Vasilevko, V., Cribbs, D. H., Head, E., Cotman, C. W. in Piomelli, D. (2012). An amyloid β 42-dependent deficit in anandamide mobilization is associated with cognitive dysfunction in Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 33 (8), 1522–1532.

Khaspekov, L. G., Brenz-Verca, M. S., Frumkina, L. E., Hermann, H., Marsciano, G. in Lutz, B. (2004). Involvement of brain-derived neurotrophic factor in cannabinoid receptor-dependent protection against excitotoxicity. *European journal of neuroscience*, 19 (7), 1691-1698.

Klein, T. W., Friedman, H. in Specter, S. (1998). Marijuana, immunity and infection. *Journal of neuroimmunology*, 83 (1-2), 102-115.

Kogoj, A. (2001). *Celostna obravnava bolnika z demenco*. Ljubljana: Spominčica – Združenje za pomoč pri demenci.

Koppel, J., Bradshaw, H., Goldberg, T. E., Khalili, H., Marmabaud, P., Walker, M. J., Pazos, M., Gordon, M. L., Christen, E. in Davies, P. (2009). Endocannabinoids in Alzheimer's disease and their impact on normative cognitive performance: a case-control and cohort study. *Lipids in health and disease*, 8 (1), 2.

Kores Plesničar, B. (2008). *Osnove psihofarmakoterapije, druga izdaja*. Maribor: Medicinska fakulteta.

Lee, J. H., Agacinski, G., Williams, J. H., Wilcock, G. K., Esiri, M. M., Francis, P. T., Wong, P. T., Chen, C. P. in Lai, M. K. (2010). Intact cannabinoid CB₁ receptors in the Alzheimer's disease cortex. *Neurochemistry international*, 57 (8), 985-989.

Lin, C., Chau, S. A., Ruthirakuhan, M, Lanctot, K. L. in Herrmann, N. (2015). Cannabinoids for the treatment of agitation and aggression in Alzheimer's disease. *CNS drugs*, 29 (8), 615-623.

Lazarov, O. in Maar, R. A. (2010). Neurogenesis and Alzheimer's disease: At the crossroads. *Experimental neurology*, 223 (2), 267-281.

Madras, B. K. (2015). *Update of cannabis and its medical use*. Prispevek predstavljen na 37th Expert committee on drug dependence (ECDD). Prispevek pridobljen julija 2016 na http://www.who.int/medicines/access/controlled-substances/6_2_cannabis_update.pdf

Mahlberg, R. in Walther, S. (2000). Actigraphy in agitated patients with dementia. Monitoring treatment outcomes. *Zeitschrift fur Gerontologie und geriatric*, 40 (3), 178-184.

Martin Moreno, A. M., Brera, B., Spuch, C., Garcia-Garcia, L., Delgado, M., Pozo, M. A., Innamorato, N. G., Cuadrado, A. in de Ceballos, M. L. (2012). Prolonged oral cannabinoid administration prevents neuroinflammation, lowers β -amyloid levels and improves cognitive performance in Tg APP 2576 mice. *Journal of neuroinflammation*, 9 (1), 8.

Martin Moreno, A. M., Reigada, D., Ramirez, B. G., Mecohoulam, R., Innamorato, N., Cuadrado, A. in de Ceballos, M. L. (2011). Cannabidiol and other cannabinoids reduce microglial activation in vitro and in vivo: relevance to Alzheimer's disease. *Molecular Pharmacology*, 79 (6), 964-973.

Maselj, B. (2015). Kanabinoidi tarča razvoja novih zdravil. *Delo*. Pridobljeno julija 2016 na <http://www.delo.si/znanje/znanost/kanabinoidi-tarca-razvoja-novih-zdravil.html?iskalnik=T.%20R.,%20Vikend>

Milton, N. G. (2002). Anandamide and noladin ether prevent neurotoxicity of the human amyloid-beta peptide. *Neuroscience letters*, 332 (2), 127-130.

Mulder, J., Zilberter, M., Pasquare, S. J., Alpar, A., Schulte, G., Ferreira, S. G., Kofalvi, A., Martin-Moreno, A. M., Keimpema, E., Tania, H., Watanabe, M., Mackie, K., Hortobagyi, T., de Ceballos, M. L. in Harkany, T. (2011). Molecular reorganization of endocannabinoid signalling in Alzheimer's disease. *Brain*, 134 (4), 1041–1060.

Nadler, V., Mechoulam, R. in Sokolovsky, M. (1993). HU-211, a non-psychotropic cannabinoid, rescues cortical neurones from excitatory amino acid toxicity in culture. *Neuroreport*, 5 (3), 237-240.

Nomura, D. K., Morrison, B. E., Blankman, J. L., Long, J. Z., Kinsey, S. G., Marcondes, M. C. G., Ward, A. M., Hahn, Y. K., Lichtman, A. H., Conti, B. in Cravatt, B. F. (2011). Endocannabinoid hydrolysis generates brain prostaglandins that promote neuroinflammation. *Science*, 334 (6057), 809-813.

Noonan, J., Tanveer, R., Klompas, A., Gowran, A., McKiernan, J. in Campbell, V. A. (2010). Endocannabinoids prevent β -amyloid-mediated lysosomal destabilization in cultured neurons. *The journal of biological chemistry*, 285 (49), 38543-38554.

O'Brien, R. J. in Wong, P. C. (2011). Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annual review of neuroscience*, 34, 185-204.

Pacher, P., Batkai, S. in Kunos, G. (2005). Cardiovascular pharmacology of Cannabinoids. *Handbook of experimental pharmacology*, (168), 599-625.

Passmore, M. J. (2008). The cannabinoid receptor agonist nabilone for the treatment of dementia-related agitation. *The primary care companion for CNS disorders*, 23 (1), 116-117.

Perry, G., Richey, P. L., Siedlak, S. L., Smith, M. A., Mulvihill, P., DeWitt, D. A., Barnett, J., Greenberg, B. D. in Kalaria, R. N. (1993). Immunocytochemical evidence that the beta-protein precursor is an integral component of neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *The American Journal of Pathology*, 143 (6), 1586-1593.

Pertwee, R. G. (2006). Cannabinoid pharmacology. The first 66 years. *British journal of pharmacology*, 147 (1), 163-171.

Piomelli, D. (2003). The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nature reviews neuroscience*, 4 (11), 873-884.

Piro, J. R., Benjamin, D. I., Duerr, J. M., Pi, Y., Gonzales, C., Wood, K. M., Schwartz, J. W., Nomura, D. K. in Samad, T. A. (2012). A Dysregulated Endocannabinoid-Eicosanoid network supports pathogenesis in a mouse model of Alzheimer's disease. *Cell reports*, 1 (6), 617-623.

Popović, M. in Gazič, B. (2008). Proteinopatije – bolezni odlaganja napačno zvutih beljakovin. *Medicinski razgledi*, 47 (4), 391-402.

Praprotnik, D. (1995). Senilni plaki in nevrofibrilarne pentlje pri Alzheimerjevi bolezni. *Medicinski razgledi*, 34 (3), 327-335.

Ramírez, B. G., Blázquez, C., Gómez del Pulgar, T., Guzmán M. in de Ceballos, M. L. (2005). Prevention of Alzheimer's disease pathology by cannabinoids: neuroprotection mediated by blockade of microglial activation. *The journal of neuroscience*, 25 (8), 1904-1913.

Razgalimo konopljo. (2014). Pridobljeno julija 2016 na http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:XAospS-rqXMJ:www.marhuanamars.si/wp-content/uploads/2015/03/Razgalimo_konopljo.docx+&cd=1&hl=sl&ct=clnk&gl=si&client=safari

Ribarič, S. (2009). *Temelji patološke fiziologije*. Ljubljana: Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo.

Sardi, F., Fassina, L., Venturini, L., Inguscio, M., Guerriero, F., Rolfo, E. in Ricevuti, G. (2011). Alzheimer's disease, autoimmunity and inflammation. The good, the bad and the ugly. *Autoimmunity reviews*, 11 (2), 149-153.

Scharfman, H., Goodman, J., Macleod, A., Phani, S., Antonelli, C., in Croll, S. (2005). Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after intrahippocampal BDNF infusion in adult rats. *Experimental neurology*, 192 (2), 348-356.

Shaw, E. G. in Robbins, M. E. (2006). The management of radiation-induced brain injury. *Cancer treatment and research*, 128, 7-22.

Sklepna listina konference združenih narodov za sprejetje enotne konvencije o mamilih. (1961). Pridobljeno marca 2016 na http://www.mp.gov.si/fileadmin/mp.gov.si/pageuploads/mp.gov.si/PDF/Mednarodne_pogodbne/Prevodi/23-1964-002-PREVOD.pdf

Smith, I. F., Green, K. N. in LaFerla, F. M. (2005). Calcium dysregulation in Alzheimer's disease: recent advances gained from genetically modified animals. *Cell Calcium*, 38 (3-4), 427-437.

Solas, M., Francis, P. T., Franco, R. in Ramírez, M. J. (2013). CB₂ receptor and amyloid pathology in frontal cortex of Alzheimer's disease patients. *Neurobiology of aging*, 34 (3), 805-808.

Spominčica – Alzheimer Slovenija. (2013). Pridobljeno julija 2016 na http://www.spomincica.si/?page_id=172

Stella, N., Schweitzer, P. in Piomelli, D. (1997). A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature*, 388 (6644), 773-778.

Stumm, C., Hiebel, C., Hanstein, R., Purrio, M., Nagel, H., Conrad, A., Lutz, B., Behl, C. in Clement, A. B. (2013). Cannabinoid receptor 1 deficiency in a mouse model of Alzheimer's disease leads to enhanced cognitive impairment despite of a reduction in amyloid deposition. *Neurobiology of aging*, 34 (11), 2574-2584.

Štempelj, M. in Ferjan, I. (2006). Kanabinoidi – njihovo delovanje in učinki. *Farmaceutski vestnik*, 57 (1), 30-33.

Šuštar, N., Jereb, B. in Neubauer, D. (2014). Mehanizmi radiacijske okvare možganov. *Zdravniški vestnik*, 83 (10), 683-691.

Tanveer, R., Gowran, A., Noonan, J., Keating, S. E., Bowie, A. G. in Campbell, V. A. (2012). The endocannabinoid, anandamide, augments notch-1 signaling in cultured cortical neurons exposed to amyloid- β and in the cortex of aged rats. *The journal of biological chemistry*, 287 (41), 34709-34721.

Tolon, R. M., Nunez, E., Pazos, M. R., Benito, C., Castillo, A. I., Martinez-Orgado, J. A. in Romero, J. (2009). The activation of cannabinoid CB₂ receptors stimulates in situ and in vitro beta-amyloid removal by human macrophages. *Brain research*, 1283, 148-154.

Uporaba konoplje v medicini. (2014). Pridobljeno julija 2016 na http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/publikacije-datoteke/uporaba_konoplje_v_medicini.pdf.

Van der Stelt, M., Mazzola, C., Esposito, G., Matias, I., Petrosino, S., De Filippis, D., Micale, V., Steardo, L., Drago, F., Iuvone, T. in Di Marzo, V. (2006). Endocannabinoids and β -amyloid-induced neurotoxicity in vivo: Effect of pharmacological elevation of endocannabinoid levels. *Cellular and molecular life sciences*, 63 (12), 1410-1424.

Volicer, L., Stelly, M., Morris, J., McLaughlin, J. in Volicer, B.J. (1997). Effects of dronabinol on anorexia and disturbed behavior in patients with Alzheimer's disease. *International journal of geriatric psychiatry*, 12 (9), 913-919.

Wagner, J. A., Jarai, Z., Batkai, S. in Kunos, G. (2001). Hemodynamic effects of cannabinoids: Coronary and cerebral vasodilation mediated by cannabinoid CB receptors. *European journal of pharmacology*, 423 (2-3), 203-210.

Walther, S., Mahlberg, R., Eichmann, U. in Kunz, D. (2006). Delta-9-tetrahydrocannabinol for nighttime agitation in severe dementia. *Psychopharmacology*, 185 (4), 524-528.

Walther, S., Schüpbach, B., Seifritz, E., Homan, P. in Strik, W. (2011). Randomized, controlled crossover trial of dronabinol, 2.5 mg, for agitation in 2 patients with dementia. *Journal of clinical psychopharmacology*, 31 (2), 256-258.

Woodward, M. R., Harper, D. G., Stolyar, A., Forester, B. P. in Ellison, J. M. (2013). Dronabinol for the treatment of agitation and aggressive behavior in acutely hospitalized severely demented patients with noncognitive behavioral symptoms. *The American journal of geriatric psychiatry*, 22 (4), 415-419.

Wu, J., Bie, B., Yang, H., Xu, J. J., Brown, L. D. in Naguib, M. (2013). Activation of the CB₂ receptor system reverses amyloid-induced memory deficiency. *Neurobiology of aging*, 34 (3), 791-804.

Yao, M., Nguyen, T. V. in Pike, C. J. (2005). β -amyloid-induced neuronal apoptosis involves c-jun N-terminal kinase-dependent downregulation of Bcl-w. *The journal of neuroscience*, 25 (5), 1149-1158.

Zorn, G. (2016). *Alzheimer's disease*. Pridobljeno julija 2016 na <http://gregorzorn.com/medical-conditions/alzheimers-disease/>