

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

ZAKLJUČNA NALOGA
MOŽNOSTI ZDRAVLJENJA PARKINSONOVE BOLEZNI
S KANABINOIDNIMI ZDRAVILI

TINA KALAN

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Zaključna naloga

**Možnosti zdravljenja Parkinsonove bolezni s kanabinoidnimi
zdravili**

(The Potential of Pharmacotherapy of Parkinson's Disease with Cannabinoid
Drugs)

Ime in priimek: Tina Kalan
Študijski program: Biopsihologija
Mentor: prof. dr. Gorazd Drevenšek

Koper, avgust 2017

Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Tina KALAN

Naslov zaključne naloge: Možnostni zdravljenja Parkinsonove bolezni s kanabinoidnimi zdravili

Kraj: Škofja Loka

Leto: 2017

Število listov: 52 Število slik: 10

Število referenc: 119

Mentor: prof. dr. Gorazd Drevenšek

Ključne besede: Parkinsonova bolezen, kanabinoidi, endogeni kanabinoidni sistem, α -sinuklein, dopaminergični nevroni, celična smrt, nevrovnetje, ekscitotoksičnost.

Izvleček: Parkinsonova bolezen je nevrološka, degenerativna motnja, ki prizadene celice centralnega živčnega sistema. Je posledica progresivne izgube in pomanjkanja dopaminergičnih nevronov v substanci nigri, zaradi česar je porušeno ravnovesje predvsem v nevronskih tokovih bazalnih ganglijev. Zdravljenje Parkinsonove bolezni je simptomatsko, torej usmerjeno v blaženje večinoma motoričnih simptomov, kot so bradikinezija, rigidnost, tresavica, izguba nadzora gibanja in druge. Dolgotrajna uporaba teh zdravil lahko povzroči stranske učinke, kot je npr. diskinezija izzvana z levodopo, ki so za bolnike lahko precej neprijetni. Zdravila oz. terapije, ki bi bolezen ustavila ne poznamo, zaradi česar je zanimanje za iskanje alternativ, ki bi pripomogle pri zdravljenju Parkinsonove bolezni, v zadnem času vse večje. Kanabinoidi so spojine, ki jih pridobivamo iz rastline imenovane *Cannabis sativa* in se vežejo na elemente endogenega kanabinoidnega sistema. V telesu sprožajo različne učinke in delujejo ugodno na številne procese, ki so značilni za patologijo Parkinsonove bolezni. Učinke sprožajo preko vezave na elemente endogenega kanabinoidnega sistema in druge elemente različne od kanabinoidnih. Številne raziskave dokazujejo terapevtske učinke kanabinoidov na simptome bolezni, poleg tega pa obetajo potencial, da bi lahko upočasnili ali celo ustavili progresivni propad dopaminergičnega sistema v možganih. Delujejo namreč kot antioksidanti, ščitijo pred nevronskim vnetjem, zmanjšujejo oksidativni stres in ekscitotoksičnost, uravnavajo delovanje motorične zanke v bazalnih ganglijih, pospešujejo

nevrogenezo ter tako ščitijo živčne celice pred celično smrtjo. Nekateri mehanizmi delovanja še niso povsem jasno opredeljeni, zato so na tem področju potrebne nadaljnje raziskave. Vendar ne glede na to so kanabinoidi potencialna tarča za razvoj novih terapevtskih pristopov pri zdravljenju Parkinsonove bolezni.

Key words documentation

Name and SURNAME: Tina KALAN

Title of the final project paper: The Potential of Pharmacotherapy of Parkinson's Disease with Cannabinoid Drugs

Place: Škofja Loka

Year: 2017

Number of pages: 52 Number of figures: 10

Number of references: 119

Mentor: Prof. Gorazd Drevenšek, PhD

Keywords: Parkinson's disease, cannabinoids, endocannabinoid system, α -synuclein, dopaminergic neurons, cell death, neuroinflammation, excitotoxicity.

Abstract: Parkinson's disease is a neurological, degenerative disorder that impairs cells in central nervous system. It results from progressive loss and lack of dopaminergic neurons in substantia nigra which causes imbalance of the neural circuitry in the basal ganglia. Treatment of Parkinson's disease is symptomatic, so it is directed to easing mostly motor symptoms like bradykinesia, rigidity, tremor, loss of movement control and others. Long term use of medications can cause side effects like levodopa-induced dyskinesia (LID) that can be extremely unpleasant for patients. Medicine or treatment that could stop the disorder is not known, therefore the interest in finding alternatives that would help to treat the disease has been increasing lately. Cannabinoids are chemical compounds derived from a plant called *Cannabis sativa* which bind to elements of endocannabinoid system. They trigger various effects and have beneficial effects on a number of processes specific to the pathology of Parkinson's disease. The effects are activated by their binding to the elements of endocannabinoid system and other elements, different from cannabinoid ones. Numerous researches prove therapeutics effects of cannabinoids on the symptoms of the disease, furthermore they promise potential to delay or even stop progressive degeneration of brain dopaminergic systems. They have antioxidant properties, protect neurons from neuroinflammation, decrease oxidative stress and excitotoxicity, regulate functioning of the motor loop in the basal ganglia, promote neurogenesis and thus protect neurons against cell death. Some of the mechanisms are not completely defined, therefore further research

is needed in this field. However cannabinoids are a potential target for development of new therapeutic approaches in the treatment of Parkinson's disease.

ZAHVALA

Zahvalila bi se mentorju prof. dr. Gorazdu Drevenšku, ki mi je pri pisanju zaključne naloge pomagal, me usmerjal in mi pri tem vseeno pustil prosto pot pisanja.

Posebna zahvala gre mojih staršem, ki so mi omogočili študij, mi ves čas stali ob strani in me spodbujali.

KAZALO VSEBINE

1	UVOD.....	1
1.1	Vloga proteina α -sinuklein pri Parkinsonovi bolezni	2
1.2	Okvare mehanizmov za razgradnjo proteinov	3
1.2.1	Ubikvitin-proteasomski sistem	4
1.2.2	Avtofagija s pomočjo lizosomov	5
1.3	Faze razvoja Parkinsonove bolezni.....	6
1.4	Zdravljenje Parkinsonove bolezni	7
2	KANABINOIDI	8
2.1	Fitokanabinoidi	8
2.2	Endogeni kanabinoidi ali endokanabinoidi	9
2.3	Endogeni kanabinoidni sistem ali endokanabinoidni sistem.....	10
2.4	Sintetični kanabinoidi	14
2.5	Terapevtski potencial kanabinoidov	14
2.6	Modulatorno delovanje kanabinoidov na možgansko povezljivost	16
2.7	Endogeni kanabinoidni sistem pri Parkinsonovi bolezni	18
3	TERAPEVTSKI POTENCIAL KANABINOIDOV PRI PARKINSONOVI BOLEZNI.....	20
3.1	Potencialne tarče in spojine s terapevtskim delovanjem.....	20
3.1.1	Učinki, ki jih posredujejo CB ₁ receptorji	21
3.1.2	Učinki, ki jih posredujejo CB ₂ receptorji	22
3.2	Delovanje kanabinoidov na motorične funkcije v bazalnih ganglijah	22
3.3	Uravnavanje homeostaze glutamata	25
3.4	Uravnavanje dotoka kalcija v celice	25
3.5	Učinki kanabinoidov na oksidativni stres.....	26
3.6	Učinki kanabinoidov na gljiva celice.....	27
3.7	Vloga kanabinoidov v procesih nevrogeneze	29
3.8	Kanabinoidi in α -sinuklein pri Parkinsonovi bolezni.....	30
3	SKLEPI.....	32
4	LITERATURA IN VIRI.....	35

KAZALO SLIK

<i>Slika 1.01:</i> Izguba dopaminergičnih nevronov v substanci nigri pri Parkinsonovi bolezni (povzeto po Could Dopaminergic Neurons be Regrown in Parkinson`s Patients?, 2016)....	2
<i>Slika 1.02:</i> Napačno zviti alfa-sinuklein proteini in nastanek dolgih fibril ter Lewyjevih telesc in Lewyjevih nevrinov (povzeto pa alpha-Synuclein-based Model for Studying Parkinson`s Disease Pathology).	3
<i>Slika 1.03:</i> Ubikvitin-proteasomski sistem (povzeto po Pagan idr., 2013).	4
<i>Slika 1.04:</i> Avtofagija s pomočjo lizosomov (povzeto po Watson, 2013).	5
<i>Slika 2.01:</i> Fitokanabinoidi delta-9-tetrahidrokanabinol, kanabidiol, kanabinol in kanabigerol (povzeto po What are Cannabinoids?, 2015).....	8
<i>Slika 2.02:</i> Endogena kanabinoida anandamid in 2-arahidonoilglicerol (povzeto po Filloux, 2015).	10
<i>Slika 2.03:</i> Retrogradna signalizacija kanabinoidov v sinapsi (povzeto po Ferjan idr., 2015)	12
<i>Slika 2.04:</i> Sinteza in presnova endogenih kanabinoidov (povzeto po Ferjan idr., 2015). .	13
<i>Slika 3.01:</i> Prikaz motorične zanke v bazanih ganglijih in razporeditev kanabinoidnih receptorjev (povzeto po Morera-Herreras, Miguelez, Aristieta, Ruiz-Ortega in Ugedo, 2012).	23
<i>Slika 3.02:</i> Verjetni mehanizmi nevroprotektivnih učinkov kanabinoidov pri Parkinsonovi bolezni (povzeto po Vasant-More in Choi, 2015).	30

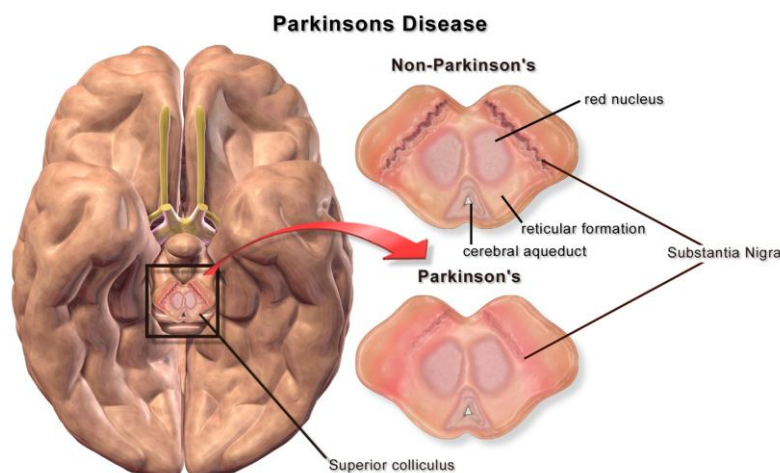
1 UVOD

Parkinsonova bolezen je ena najpogostejših, počasi napredujočih, nevrodegenerativnih bolezni (Davie, 2008). Vzroka zanjo ne poznamo, mehanizem in sosledje dogodkov, ki se odvijajo v organizmu ob bolezni pa sta bolj jasna (Južnič Sotlar, 2016).

Prvi opisi simptomov Parkinsonove bolezni segajo daleč v preteklost. Najdemo jih lahko v starih indijskih medicinskih zapisih, ki so nastali med 5000 in 1000 pr. n. št. Tudi v kitajskih medicinskih knjigah so že pisali o bolezni, pri kateri naj bi se roke tresle »kot listje na drevju« in da naj bi za to boleznijo obolevali predvsem starejši ljudje (Tostovršnik, 2007). To bolezen oz. sindrom, v Sanskrtu imenovan kampavata, so že nekdaj zdravili z naravnimi izvlečki iz *Mucuna pruriens*, rastline, ki vsebuje levodopo, ki je v 20. stoletju postala glavna učinkovina v zdravilih za simptomatsko zdravljenje Parkinsonove bolezni (Lee in Trojanovski, 2006). Prvi, ki je sistematično opisal Parkinsonovo bolezen je bil James Parkinson. V svojem delu z naslovom »An Essay on the Shaking Palsy« je bolezen opisal kot »Shaking Palsy« (tresavica) ali »paralysis agitans«, kot je imenovana v latinskem jeziku. Opisi temeljijo na opazovanju šestih primerov ljudi s to boleznijo. Šestdeset let kasneje je njegovo delo prepoznal francoz Jean Martin Charcot in bolezen poimenoval Parkinsonova bolezen (Dr. James Parkinson, 2006).

Vzroki za nastanek Parkinsonove bolezni niso povsem jasni, obstajajo namreč številni tako genetski kot okoljski dejavniki, nobenemu od teh pa ne moremo bolezni pripisati v popolnosti. Večina ljudi diagnosticiranih z boleznijo je starih okoli 60 let ali več, izjemoma se pojavi že prej, npr. pred 40 letom starosti. S starostjo narašča tveganje za pojav bolezni (Drevenšek, 2016; Heyn, 2016).

Glavna značilnost Parkinsonove bolezni je propadanje in izguba dopaminergičnih nevronov v bazalnih ganglijih, natančneje v substanci nigri pars compacti (SNpc). Klinično gledano vsaka bolezen, ki vključuje pomanjkanje striatnega dopamina ali poškodbe striatuma vodi v parkinsonizem, stanje za katerega so značilni določeni simptomi (Dauer in Przedborski, 2003). Najpogostejši in prevladujoči simptomi so rigidnost (povečan mišični tonus), bradikinezija (počasnost gibanja), oslavljen nadzor gibanja, težave z ravnotežjem in tremor udov (Duvoisin in Sage, 1996).



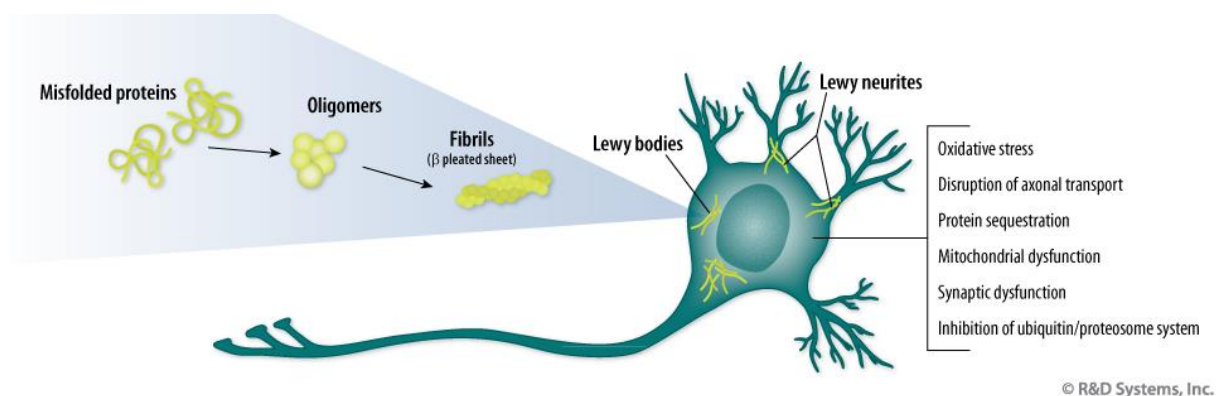
Slika 1.01: Izguba dopaminergičnih nevronov v substanci nigri pri Parkinsonovi bolezni (povzeto po Could Dopaminergic Neurons be Regrown in Parkinson`s Patients?, 2016).

1.1 Vloga proteina α -sinuklein pri Parkinsonovi bolezni

Parkinsonova bolezen spada med proteinopatije, bolezni odlaganja napačno zvutih beljakovin. Pri napačno zvutih beljakovinah, v sekundarni zgradbi prihaja do povečane vsebnosti beta nagubane oblike. Posledično so izpostavljena hidrofobna mesta, zaradi česar se poveča nagnjenost beljakovinskih molekul k polimerizaciji in nastanku netopnih (hidrofobnih) vključkov v ali zunaj celic. Parkinsonovo bolezen uvrščamo med lokalizirane proteinopatije, saj je omejena le na en organ (možgane), okvarjena beljakovina α -sinuklein pa se odlaga v obliki znotrajcitoplazemskih struktur, večinoma v pigmentiranih nevronih možganskega debla (Popović in Gazič, 2008).

Nevropatološko je to bolezen, za katero je značilna velika celična izguba dopaminergičnih nevronov v ventrolateralnem delu substance nigre, imenovanem pars compacta (SNpc) ter v locus ceruleus-u. Za nevrone v teh predelih, ki ne propadejo, so značilna Lewyjeva telesca in Lewyjevi nevriti (Kingsbury, Bandopadhyay, Silveira-Moriyama, Ayling, Kallis, Sterlacci, Maeir, Poewe in Lees, 2010). Glavna sestavina teh struktur poleg ostalih proteinov je skupek presinaptičnega proteina α -sinukleina (Cooper idr., 2006; Drevenšek, 2016). Gre za hidrofilni protein, ki je v centralnem živčnem sistemu lociran večinoma v koncih živčnih celic, kjer skupaj z drugimi proteini tvori SNARE kompleks. Funkcija α -sinukleina ni povsem jasna, dosedanje raziskave predvidevajo, da lahko igra vlogo pri možganski plastičnosti, sodeluje pri negativni povratni regulaciji dopaminskega prenosa preko sinaptičnih veziklov, s CSP α proteinom (cystein-string protein α) naj bi ščitil živčne končiče pred poškodbami in sodeloval pri transportu snovi skozi endoplazmatski retikulum in Golgijev aparat (Cooper idr., 2006). Če pride do agregacije (združevanja oz. spajanja) teh proteinov, nastanejo hidrofobne fibrile, ki tvorijo citoplazemske vključke imenovane

Lewyjeva telesca in Lewyjevi nevriti. Mehanizem toksičnosti, ki jo povzroča α -sinuklein še ni povsem jasen, vendar bi lahko bil povezan z nagnjenostjo normalnih in mutiranih α -sinukleinskih oblik k samoagregaciji pri višjih koncentracijah, pri čemer nastanejo dolgi fibrili (alpha-Synuclein-based Model for Studying Parkinsons Disease Pathology). Tekom procesa nastajanja fibrilnih oblik se tvorijo različne vmesne oblike. Na začetku so to nitaste oligomerne oblike (okrogle, obročaste), ki jih imenujemo protofibrile, ki postopoma postanejo netopne in se kasneje združijo v fibrile (Stefanis, 2012). Eno glavnih meril pri nevropatološkem vrednotenju Parkinsonove bolezni je ravno imunohistokemija α -sinukleina, vendar je pri tem pomembno upoštevati nekatere lastnosti pojavljanja strukture. In sicer patologija α -sinukleina ni omejena le na celično telo (Lewyjeva telesca), temveč je prisotna tudi v procesih nevritov (Lewyjevi nevriti), razširjena je v različnih predelih možganov in je prisotna tudi pri drugih sinukleopatijah, kot sta multisistemska atrofija (MSA) in demenca z difuznimi Lewyjevimimi telesci (DLBD) (Popović in Gazič, 2008; Stefanis, 2012). Pomembno je tudi dejstvo, da je na splošno pri Parkinsonovi bolezni v možganih večina napačno odloženega α -sinukleina v Lewyjevih nevritih, prisotnost le-tega v Lewyjevih telescih je nizka (Stefanis, 2012).



Slika 1.02: Napačno zviti alfa-sinuklein proteini in nastanek dolgih fibril ter Lewyjevih telesc in Lewyjevih nevritov (povzeto pa alpha-Synuclein-based Model for Studying Parkinson's Disease Pathology).

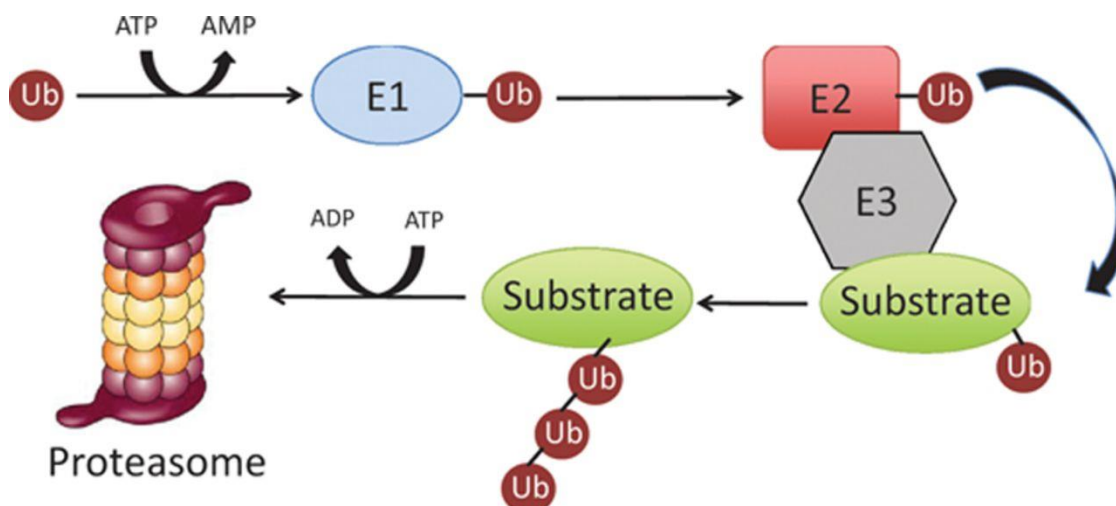
1.2 Okvare mehanizmov za razgradnjo proteinov

Funkcionalnost vseh proteinov je določena s sintezo, posttranslacijsko modifikacijo, degradacijo in sproščanjem. Šaperoni so proteini, ki usmerjajo in pospešujejo zvijanje in razvijanje drugih proteinov in sodelujejo pri obrambi proti napačno zvitim proteinom, ki so nagnjeni k agregaciji. To lahko storijo tako, da jih stabilizirajo ali ponovno razmnožijo in zvijejo pravilno, v funkcionalno obliko. Ti obrambni proteini so tesno povezani z mehanizmi razgradnje proteinov (Ebrahimi-Fakhari, Wahlster in McLean, 2011). Namreč v patološkem stanju, kjer se pojavljajo velike in številne napake na proteinih in celični

stres, prihaja do izčrpanosti šaperonskih procesov. Zaradi tega se začne večati količina proteinov nagnjenih k agregaciji, ki počasi preseže kapaciteto, ki so jo šaperoni zmožni predelati. Okvarjeni proteini, ki jih ni več možno preoblikovati v delujočo obliko, so preusmerjeni v proteolitične procese kjer se izločijo (Ebrahimi-Fakhari, Wahlster in McLean, 2012). V nevronih sta dva glavna proteolitična sistema, ki sodelujeta pri fluktuaciji funkcionalnih proteinov in eliminaciji okvarjenih. Ubikvitin-proteasomski sistem (ubiquitin-proteasome system; UPS) večinoma sodeluje pri degradaciji kratkotrajnih, topnih proteinov, avtofagija s pomočjo lizosomov (autophagy-lysosomal pathway; ALP) pa je proces razgradnje znotrajceličnih komponent, proteinov in organelov, ki se odvija v lizosomih (Ebrahimi-Fakhari, Wahlster in McLean, 2012).

1.2.1 Ubikvitin-proteasomski sistem

Ubikvitin-proteasomski sistem vključuje natančno zaporedje dogodkov, ki so pomembno odvisni od ATP (adenozin trifosfata), ki je vir energije za potek procesov. Veriga procesov, v katero so vključeni številni različni ubikvitinski encimi (E1, E2 in E3), je pomembna, saj se na substrat postopoma vežejo enote (majhni proteini ubikvitina) poliubikvitinske verige, ki je ključna za razgradnjo substrata s proteasomom. To je velik proteinski kompleks v celični plazmi in jedru, ki razgradi nanjo vezan substrat. Torej proteasom prepozna ubikvitinirane proteine, ki so bili vključeni v procese ubikvitin-proteasomskega sistema in jih razgradi (Pagan, Seto, Pagano in Cittadini, 2013).



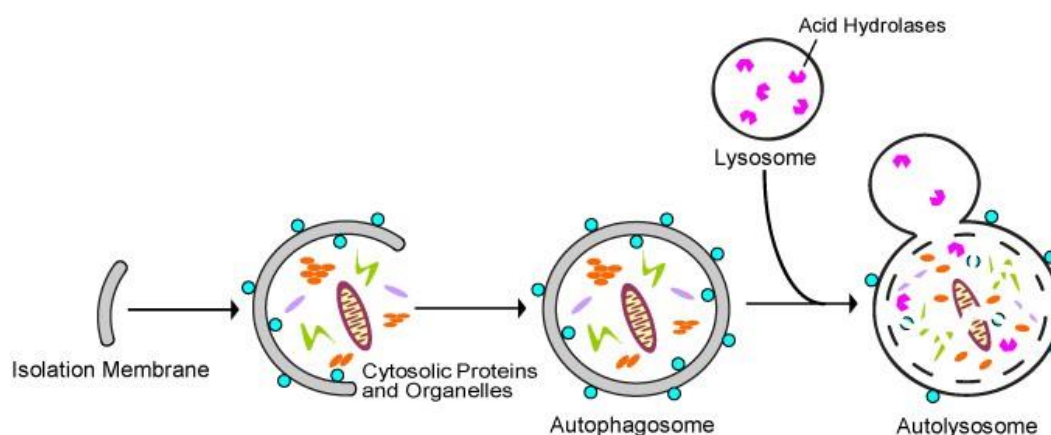
Slika 1.03: Ubikvitin-proteasomski sistem (povzeto po Pagan idr., 2013).

Pomembno zmanjšana proteasomska aktivnost je bila ugotovljena v post mortem tkivih substance nigre bolnikov s Parkinsonovo boleznijo, v primerjavi s kontrolno skupino, ki se je ujemala glede na starost posameznikov (McNaught, Belizaire, Isacson, Jenner in Olanow, 2003). Zdi se, da zmanjšana aktivnost proteasoma v substanci nigri povzroči

večjo ranljivost nevronov za kasnejše patološke bolezni ali pa je obratno zmanjšana aktivnost proteasoma sekundarni znak močne neurodegeneracije v tem predelu (Ebrahimi-Fakhari, Wahlster in McLean, 2012). Pomembno povezavo med okvarjenim ubikvitin-proteasomskim sistemom in Parkinsonovo boleznijo so raziskovalci dokazovali skozi številne živalske modele, ki so temeljili na toksični izzvanosti (Ebrahimi-Fakhari, Wahlster in McLean, 2012). *In vitro* in *in vivo* raziskave, na živalskih modelih, so pokazale izrazito zmanjšano aktivnost proteasoma po izpostavitvi toksinom, kot sta rotenon in MPTP in da ob tem prihaja do izgube nevronske celice v substantiji nigri in deplecije dopamina v striatumu. Ko so poskus ponovili na miših, ki nimajo α -sinukleina, je bila oslabiljenost ubikvitin-proteasomskega sistema pomembno manjša, kar kaže na to, da α -sinuklein še poslabša škodljive učinke (Fornai idr., 2004). Poročali so celo o direktnem zaviralnem učinku α -sinukleina na proteasomsko aktivnost, povečana raven tega proteina pa naj bi vodila do okvare proteasomskega delovanja in naj bi povečala tveganje za poznejše patološke spremembe (Chen, Thorpe in Keller, 2005). Ugotovljeno je bilo tudi, da je večina Lewyjevih telesc in Lewyjevih nevrinov pri Parkinsonovi bolezni ubikvitiniranih, kar kaže na to, da gre najverjetneje za okvaro proteasomskih procesov (Ebrahimi-Fakhari, Wahlster in McLean, 2012).

1.2.2 Avtofagija s pomočjo lizosomov

Avtofagija je kataboličen proces degradacije intracelularnih proteinov in/ali organelov, s pomočjo lizosomov. Njena osrednja vloga je vzdrževanje celične homeostaze in zaščita pred kopičenjem poškodovanih organelov in beljakovinskih skupkov v celici. Služi tudi kot pomoč celici pri preživetju v ekstremnih pogojih (stradanje in oksidativni stres) (Erman in Jezernik, 2010).



Slika 1.04: Avtofagija s pomočjo lizosomov (povzeto po Watson, 2013).

Pri nevrodegenerativnih boleznih sta opaženi dve značilnosti okvarjenih živčnih celic, in sicer prisotnost beljakovinskih skupkov v citosolu in spremenjena proteolitična aktivnost celic. Pri Parkinsonovi bolezni so raziskovalci ugotovili pomembno spremenjenost izgleda in aktivnosti lizosomskega sistema. Ta naj bi bil v možganih sicer zelo dobro in specializirano razvit. Protein α -sinuklein, ki se kopiči v dopaminergičnih nevronih substance nigre povroči, da se spremenijo mehanizmi razgradnje in se poveča avtofagna aktivnost, ki lahko vodi v avtofagno celično smrt in posledično izgubo nevronov (Erman in Jezernik, 2010).

1.3 Faze razvoja Parkinsonove bolezni

Parkinsonova bolezen naj bi se razvijala skozi 6 faz, najbolj znan model razvoja pa je opisal Heiko Braak.

V prvo fazo naj bi bilo vedno vključeno dorzalno motorno jedro vagusnega živca, katerega celice generirajo dolga nemielizirana preganglionarna vlakna, ki povezujejo centralni živčni sistem in postganglionarne živčne celice enteričnega živčnega sistema (v stenah črevesja, odgovoren za prebavo). Ta vlakna naj bi bila zelo dovzetna za Parkinsonovo bolezen in v prvi fazi naj bi se na tem območju lahko pojavili vključki (Lewyjeva telesca in Lewyjevi nevriti). Mielizirana vlakna vagusnega živca pri Parkinsonovi bolezni niso prizadeta. V nekaterih (redkih) primerih se vključki pojavijo tudi v nekaterih vstah nevronov enteričnega živčnega sistema (Braak, Ghebremedhin, Rüb, Bratzke in Del Tredici, 2004). Osebe poročajo o slabem občutku za vonj, kar priča o tem, da je degeneracija prisotna tudi v prednjih olfaktornih strukturah (Drevenšek, 2016).

V drugi fazi se patologija dorzalnega motornega jedra vagusa poslabša. Poškodbe se širijo izven celične sivine v nižja jedra raphe, magnocelularne dele retikularne formacije (vključen v motorično koordinacijo), vključki pa naj bi se začeli pojavljati tudi znotraj Locus coeruleusa in subcoeruleusa (Braak, Ghebremedhin, Rüb, Bratzke in Del Tredici, 2004; Braak, Del Tredici, Rüb, de Vos, Jansen Steur in Braak, 2003; Drevenšek, 2016). Prvi simptomi, ki se pojavljajo so predvsem težave z vohom in avtonomnim nadzorom.

V tretji fazi se okvare širijo v jedra bazalnih ganglijev srednjih in prednjih možganov in amigdalo. Lewyjevi vključki se začno pojavljati v pars compacti substantie nigre, vendar v tej fazi še ni vidnih znakov izgube nevronov. V tej fazi se začnejo pojavljati motorični simptomi (Braak, Ghebremedhin, Rüb, Bratzke in Del Tredici, 2004; Drevenšek, 2016).

V četrti fazi je prisotna degeneracija v senčnem režnju mezokorteksa in lahko tudi že v neokorteksu. Zaradi okvar v teh predelih prihaja do kognitivnega upada in težav s spominom (Braak, Ghebremedhin, Rüb, Bratzke in Del Tredici, 2004; Drevenšek, 2016).

V zadnjih dveh fazah so izpostavljeni deli substance nigre skoraj povsem »opustošeni« in bledi, kar je vidno že ob makroskopskem pregledu substance nigre. Peto in šesto fazo razlikujemo glede na vključenost delov neokorteksa. V peti fazi je prizadet senčni reženj neokorteksa, neokorteksne senzorične povezave in premotorična področja, v šesti fazi pa so prizadeta področja primarnih senzoričnih funkcij in motoričnih regij (Braak, Ghebremedhin, Rüb, Bratzke in Del Tredici, 2004; Braak, Del Tredici, Rüb, de Vos, Jansen Steur in Braak, 2003; Drevenšek, 2016). V teh fazah bolniki izkazujejo celoten obseg kliničnih simptomov, značilnih za Parkinsonovo bolezen (Braak, Ghebremedhin, Rüb, Bratzke in Del Tredici, 2004).

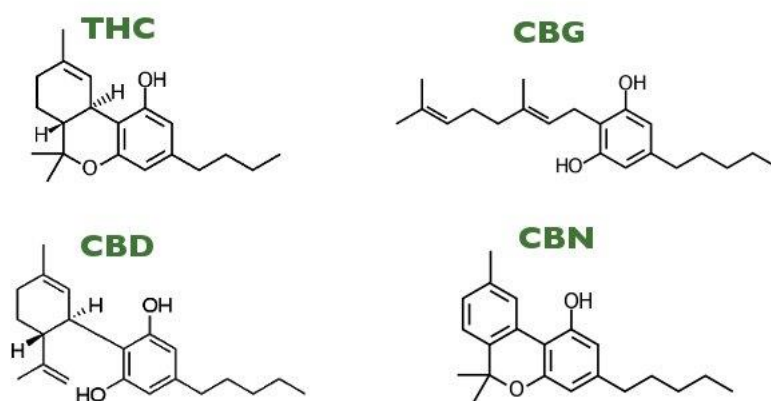
1.4 Zdravljenje Parkinsonove bolezni

Obstajajo različni pristopi k zdravljenju Parkinsonove bolezni. Farmakološko zdravljenje se osredotoča predvsem na levodopo, ki je prekurzor dopamina in prehaja možgansko krvno bariero (Olanow, 2015). Uporablja pa se tudi agoniste dopaminskih receptorjev, ki delujejo podobno kot dopamin, zaviralce monoaminske oksidaze B, ki zavirajo encim monoaminsko oksidazo B, ki razgrajuje dopamin, različne antiholinergike, ki pa so zaradi stranskih učinkov redkeje v uporabi. Poleg farmakološkega zdravljenja uporabljajo tudi možganske stimulacije (DBS; deep brain stimulation) in nekaterih kirurških posegov za lajšanje motoričnih simptomov (Fikaya in Yamamoto, 2015; Heumann idr., 2014). Fizikalna rehabilitacija je še ena od oblik, ki lahko pripomore k izboljšanju nadzora motoričnih funkcij, v prvi vrsti pa je usmerjena na govor in mobilnost. V zadnjih fazah bolezni je večina pacientov deležna paliativne oskrbe (Turner, Chueh, Ortiz, Stokes in Small-Howard, 2017). Ti pristopi za lajšanje simptomov Parkinsonove bolezni so sicer uspešni do neke mere, vendar je težava v tem, da gre le za simptomatska zdravljenja, ki pa ne upočasnijo ali ustavijo napredovanja bolezni. Za Parkinsonovo bolezen torej ne poznamo zdravila, ki bi jo pozdravil (Drevenšek, 2016; Širca, 2013).

2 KANABINOIDI

2.1 Fitokanabinoidi

Fitokanabinoidi so kemične snovi rastlinskega izvora, ki jih najdemo v rastlini imenovani konoplja, latinsko *Cannabis sativa L.* To je rastlina, ki zraste do višine nekje 6 metrov v njej pa se nahajajo številne učinkovine, med njimi tudi kanabinoidi. Najbolj znan med njimi je zagotovo delta-9-tetrahidrokanabinol ali THC (Uporaba konoplje v medicini, 2014). Do danes je bilo izoliranih več kot 120 različnih fitokanabinoidov, ki so si glede na kemijsko strukturo precej podobni (Morales, Hurst in Reggio, 2017). Glavni kanabinoidi v rastlini *Cannabis sativa L.* so delta-9-tetrahidrokanabinol (THC), kanabidiol (CBD), kanabinol (CBN), kanabigerol (CBG) in tetrahidrokanabivarin (THCV) (Mele in Drevenšek, 2015; Morales, Hurst in Reggio, 2017).



Slika 2.01: Fitokanabinoidi delta-9-tetrahidrokanabinol, kanabidiol, kanabinol in kanabigerol (povzeto po What are Cannabinoids?, 2015).

V konoplji se skozi sekundarni metabolizem proizvajajo številne kemikalije. Poleg kanabinoidov so to še terpeni in fenolne spojine, drži pa, da so najbolj raziskani in prepoznavni ravno kanabinoidi, zaradi svojih širokih farmakoloških učinkov. Vendar so raziskave in tudi sama uporaba pripravkov iz konoplje precej omejeni, zaradi svojih psihoaktivnih učinkov in potenciala za razvoj odvisnosti (Andre, Hausman in Guerriero, 2016). Znanstveniki, predvsem s področja medicine, se zato v zadnjih letih vse bolj poslužujejo pripravkov iz industrijske konoplje, ki ne vsebuje psihoaktivne sestavine THC (Russo, 2011).

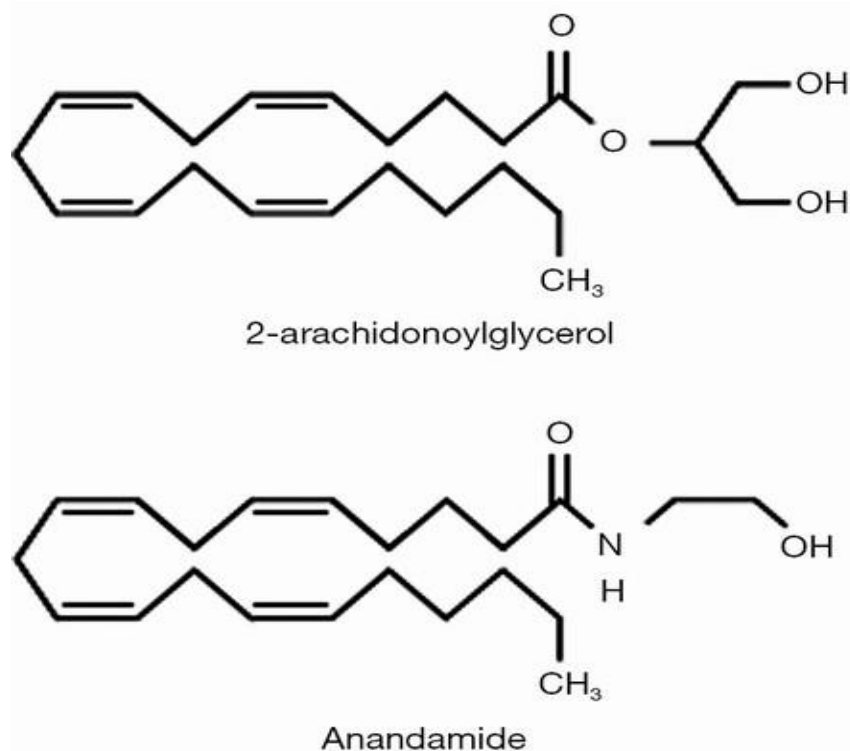
Fitokanabinoidi se večinoma nahajajo na žlezah, večinoma ženskih cvetov in v nadzemnih delih rastline. Na ostalih delih rastline so bile ugotovljene le manjše koncentracije, npr. v

semenih (večje koncentracije na zunanji površini), koreninah in cvetnem prahu (Andre, Hausman in Guerriero, 2016). Količina kanabinoidov v listih naj bi se vzdolž stebila zmanjševala. Koncentracije so odvisne tudi od starosti in vrste rastline, pogojev za rast (hranila, vlaga, svetloba), časa žetve in pogojev kasnejšega shranjevanja (Khan, Warner in Wang, 2014).

Konoplja je bila ena prvih rastlin, iz katere so izdelovali pripravke za zdravljenje različnih obolenj. Iz nje so izdelovali različna vlakna npr. vrvi, uporabljali pa so jo tudi v tekstilstvu (Andre, Hausman in Guerriero, 2016). Kanabinoidi so biokemične spojine, ki v telesu sprožajo različne učinke, tako psihoaktivne kot tudi fiziološke. Delujejo preko tarčnih molekul, ki so receptorji, ionski kanali, encimi, transporterji itd. in s svojo vezavo nanje, inhibirajo ali pospešijo delovanje telesa lastnega kanabinoidnega sistema (endogenega kanabinoidnega sistema) (Pertwee, 2006). Njihovo odkritje in raziskovanje delovanja v telesu je torej pomembno predvsem pri razvoju novih načinov zdravljenja in terapij pri številnih različnih boleznih. Ekstrakti konoplje delujejo na več načinov, in sicer analgetično, protivnetno, antiemetično, antioksidativno, spazmolitično, antibiotično in antikonvulzivno, poleg tega sprožajo tudi psihoaktivne učinke pri čemer lahko delujejo evforično, anksiolitično, antipsihotično in sedativno (Mele in Drevenšek, 2015). Ne smemo pozabiti tudi na manj zelene učinke, ki jih lahko sprožajo pripravki iz konoplje in sicer občutke tesnobe, panike, neugodja, zmanjšujejo sposobnost koncentracije, kratkoročnega spomina in zaznavanja časa (Mele in Drevenšek, 2015).

2.2 Endogeni kanabinoidi ali endokanabinoidi

Endogeni kanabinoidi so naravne spojine, ki jih najdemo v človeškem telesu. So derivati arahidonske kisline in so lahko estri, amidi ali etri z dolgimi nenasičenimi maščobnimi kisljinami. So hidrofobne spojine, zaradi česar delujejo na kratke razdalje (Ferjan idr., 2015). Poznamo več endogenih kanabinoidov; 2-arahidonil gliceril eter (noladin eter), N-arahidonil dopamin (NADA), virodamin (OAE), lizofosfatidilinositol (LPI), bolj raziskana pa sta anandamid (arahidoniletanolamid; AEA) in 2-arahidonilglicerol (2-AG) (Devane, Dysarz, Johnson, Melvin in Howlett, 1988). Kljub temu, da je struktura AEA drugačna od THC-ja, mu je farmakološko zelo podoben. Veže se na CB₁ in CB₂ receptorje in deluje kot delni agonist. Nahaja se v številnih živalskih tkivih in v nekaterih rastlinah (Martin, Mechoulam in Razdan, 1999). Tudi 2-AG se veže na oba tipa kanabinoidnih receptorjev in nanju deluje kot popolni antagonist. Njegove koncentracije v možganih so bistveno višje kot pri AEA (Stella, Schweitzer in Piomelli, 1997).



Slika 2.02: Endogena kanabinoida anandamid in 2-arahidonoilglicerol (povzeto po Filloux, 2015).

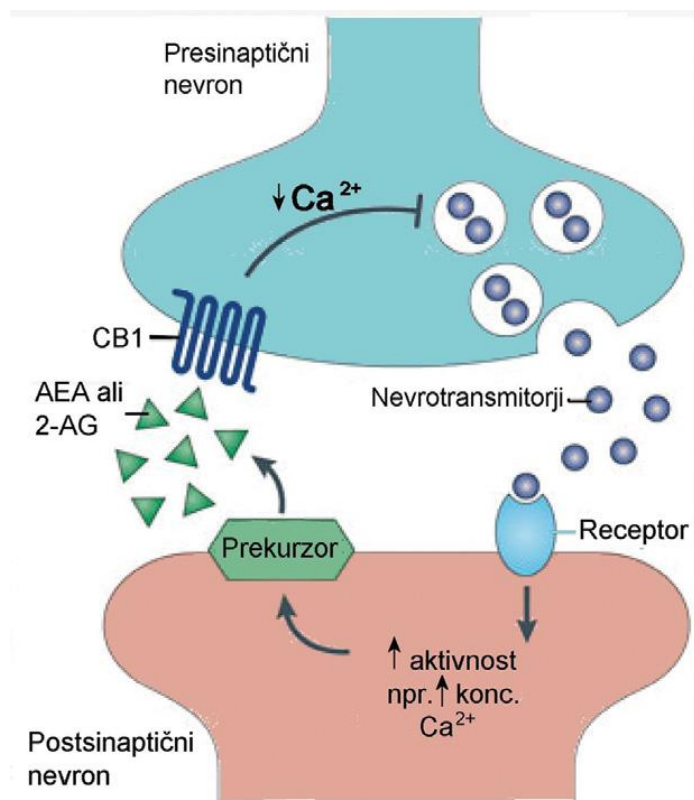
V telesu se sintetizirata po potrebi in se naj ne bi shranjevala kot zaloga v veziklih, saj bi zaradi svoje lipidotopnosti prečkala membrano. Njuna koncentracija v telesu naj bi močno narasla ob patofizioloških procesih, kot so ishemijska, miokardni infarkt in nevronske poškodbe (Štampelj in Ferjan, 2006). Sinteza anandamida (AEA) se začne s prekursorjem membranskim fosfolipidom (N-arahidonilfosfatidiletanolaminom), ki se s pomočjo fosfolipaze D pretvori v anandamid (Štampelj in Ferja, 2006). Razgradnja oz. hidroliza poteka s hidrolazami amidov maščobnih kislin (FAAH) v arahidonsko kislino in etanolamin (Russo in Hohmann, 2013). 2-arahidonoilglicerol pa naj bi se tvoril iz membranskih fosfolipidnih prekursorjev s sekvenčno aktivacijo encimov fosfolipaze in diacilglicerol lipaze. Hidroliza poteka z encimom monoglicerol lipazo v arahidonsko kislino in glicerol. Proces se odvijajo znotraj telesa lastnega sistema, ki se imenuje endogeni kanabinoidni sistem ali endokanabinoidni sistem (Russo in Hohmann, 2013).

2.3 Endogeni kanabinoidni sistem ali endokanabinoidni sistem

Z raziskovanjem učinkov, ki jih kanabinoidi sprožajo v telesu, so raziskovalci odkrili telesu lasten kanabinoidni sistem. Ta zajema endokanabinoide, njihove biosintetične in katabolične encime ter ustrezne receptorje (Russo in Hohmann, 2013). Sistem vsebuje vsaj dva tipa receptorjev, ki spadata v družino 7-transmembranskih receptorjev, sklopljenih z regulatornim G proteinom (Mele in Drevenšek, 2015). To sta kanabinoidna receptorja tipa

1 (CB₁) in tipa 2 (CB₂), ki jih je leta 1988 prvič odkril Devane s sodelavci. Najprej so odkrili CB₁ receptorje, naknadno pa še CB₂ receptorje (Meyer in Quenzer, 2005).

Pojavnost CB₁ receptorjev je značilna predvsem za centralni živčni sistem. V veliki količini so izraženi v hipokampusu, asociativnih področjih korteksa, malih možganih in bazalnih ganglijah (vključno s striatumom, globus pallidus, entopedunkularnim jedrom in substanco nigro) (Fine in Rosenfeld, 2013; Mele in Drevenšek, 2015). Nahajajo se tudi v perifernih tkivih, in sicer v testisih, žilnem endoteliju, vranici in perifernih živcih (Štempelj in Ferjan, 2006). Aktivacija CB₁ receptorjev sproži vrsto celičnih procesov, med njimi inhibicijo formacije cikličnega adenozin monofosfata (cAMP), inhibicijo kalcijevih (Ca²⁺) kanalov in aktivacijo odpiranja kalijevih (K⁺) kanalov. Z aktivacijo presinaptičnih receptorjev lahko kanabinoidi zavirajo sproščanje številnih nevrottransmitterjev, kot so acetilholin, dopamin, noradrenalin, serotonin, glutamat, GABA, histamin, holecistokinin, D-aspartat, glicin in noradrenalin (Fine in Rosenfeld, 2013; Mele in Drevenšek, 2015). To naj bi bile trenutno najpomembnejše funkcije endokanabinoidnega sistema (Mele in Drevenšek, 2015). Inhibicija sinteze adenilat ciklaze deluje na spomin, percepcijo in gibanje, kar priča o učinkih konoplje, kot so izboljšanje razpoloženja, disforija in psihomimetični učinki. Razširjenost CB₁ v prej omenjenih možganskih regijah, torej odsotnost oz. zelo redka pojavnost v možganskem deblu, meduli in talamusu, pomaga razumeti odsotnost smrtno nevarnih učinkov na vitalne fiziološke funkcije, od visokih odmerkih kanabinoidov (Fine in Rosenfeld, 2013).

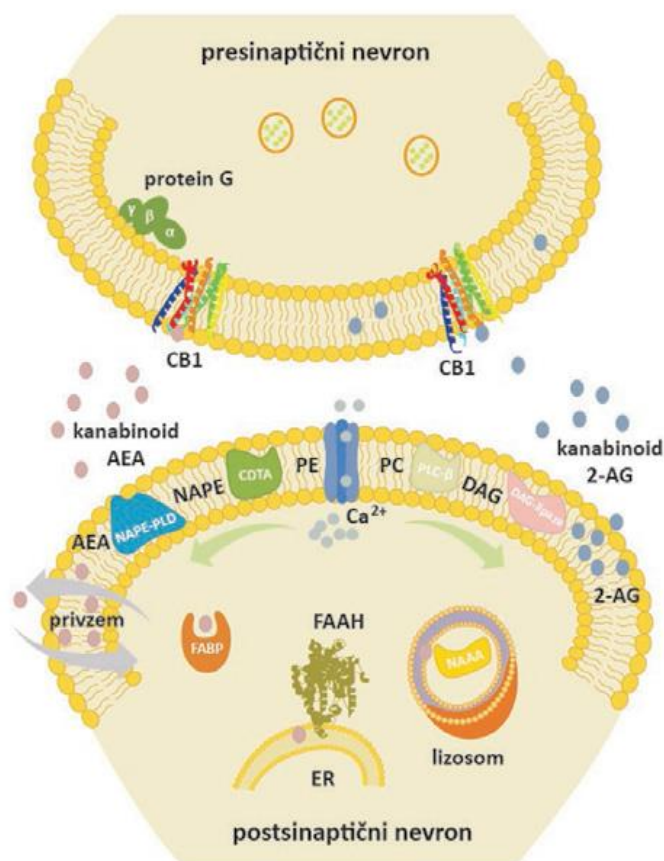


Slika 2.03: Retrogradna signalizacija kanabinoidov v sinapsi (povzeto po Ferjan idr., 2015)

CB₂ receptorji se za razliko od CB₁ receptorjev pojavljajo večinoma le v perifernih tkivih. Primarno so locirani v celicah imunskega sistema (vranica, mandlji, limfni vozli) najdemo pa jih tudi v pljučih, kosteh, srcu, prebavnem traktu, reproduktivnih organih. Nekoč so mislili, da se CB₂ pojavljajo samo v perifernih tkivih, danes poznamo vedno bolj pomembno delovanje v osrednjem živčevju, predvsem v mikrogliji. (Mele in Drevenšek, 2015; Štempelj in Ferjan, 2006). Poleg drugih učinkov, obstajajo dokazi, da aktivacija CB₂ receptorjev zmanjšuje nocicepcijo, vključno z mehanskimi in termičnimi hiperalgezijami in krvavitvami. Prisotnost CB₂ receptorjev v mikrogliji znotraj živčnega sistema lahko pojasni domnevno korist kanabinoidov pri zmanjševanju citokinsko posredovanega živčnega vnetja (Fine in Rosenfeld, 2013).

Aktivacija kanabinoidnih receptorjev je posredovana z vezavo učinkovin iz konoplje (kanabinoidov), endogenih kanabinoidov in sintetičnih kanabinoidov. Vse tri vrste spojin v organizmu povzročijo enak biološki odgovor. Sinteza endogenih kanabinoidov ni spontana, sproži jo vezava neurotransmiterja na primeren metabotropni ali ionotropni receptor na postsinaptičnem nevronu. Posledično se dvigne koncentracija kalcijevih ionov, ki sproži sintezo in sproščanje endokanabinoidov iz membrane. Ti se vežejo na CB₁ receptorje na presinaptični membrani. Zaradi vezave pride do inhibicije kalcijevih kanalov in aktivacije kalijevih kanalov, zaradi česar se poveča difuzija kalijevih ionov iz celice in

zmanjša depolarizacija presinaptične membrane. Ti procesi inhibirajo sproščanje nekaterih neurotransmiterjev, in sicer glutamata, dopamina in GABA-e (Štempelj in Ferjan, 2006). Anandamid nato s pasivno difuzijo, selektivnim prenašalcem AMT (anandamide membrane transporter), transportom v znotrajcelične membranske vezikle ali z endocitozo potuje nazaj v celico. Tam se razgradi s pomočjo FAAH (fatty acid amide hydrolase) encimain razpade na arahidonski kislino in etanolamin (Štempelj in Ferjan, 2006).



Slika 2.04: Sinteza in presnova endogenih kanabinoidov (povzeto po Ferjan idr., 2015).

Endokanabinoidni sistem torej imenujemo vse procese sinteze, privzema in razgradnje kanabinoidov, snovi, ki pri tem sodelujejo ter endokanabinoidne ligande in receptorje (Lopez-Rodriguez idr., 2003).

V splošnem pomenu naj bi veljalo, da endokanabinoidi delujejo večinoma kot imunomodulatorji in nevromodulatorji (Ferjan idr., 2015). Sodelovali naj bi v številnih bioloških procesih, kot so nastajanje bolečine, kognitivni procesi, motorična aktivnost, endokrine funkcije in uravnavanje apetita, nadzor telesne temperature in srčnega utripa, slabost in bruhanje, očesni tlak, vnetja ter v imunskih sistemih, kot je prepoznavanje antigenov (Ferjan idr., 2015; Fine in Rosenfeld, 2013). Encimi sinteze in presnove endokanabinoidov in membranski prenašalci so glavne potencialne tarče za farmakološko

modulacijo delovanja endogenega kanabinoidnega sistema (Ferjan, 2015). Kanabinoidi imajo lahko pozitiven ali negativen vpliv na mišični tonus in koordinacijo gibanja. Pri boleznih zgornjega motoričnega nevrona tako delujejo pozitivno, saj zmanjšajo zakrčenost mišic, pri rekreativni uporabi pripravkov pa lahko pride do zmanjšane koordinacije gibanja. CB₁ receptorji, ki se nahajajo v hipokampusu in prednjem delu možganov lahko modulirajo razpoloženje in vplivajo na kognitivne procese, kot so koncentracija, procesiranje kratkoročnega spomina in pozornosti (Mele in Drevenšek, 2015).

Receptorja CB₁ in CB₂ v telesu posredujeta različne učinke. CB₁ zmanjšuje sproščanje neurotransmiterjev GABA in glutamat, zmanjšuje slabost in bruhanje, ki ga povzroča kemoterapija, povečuje vnos hrane, povečuje intraokularni tlak, CB₂ pa upočasni napredovanje amiotrofične lateralne skleroze in ateroskleroze, poveča apoptozo tumorjev trebušne slinavke, levkemičnih in limfomskih celic in sprošča citokine (Ferjan idr., 2015).

2.4 Sintetični kanabinoidi

Sintetični kanabinoidi so sintetizirani v laboratoriju in so analogi fitokanabinoidov in endokanabinoidov. V endokanabinoidnem sisemu se vežejo na kanabinoidne receptorje in sprožajo podobne učinke kot naravni kanabinodi. Večina sintetičnih kanabinoidov je analogov delta-9-tetrahidrokanabinola (THC), medtem ko so analogi ne-psihoaktivnih kanabinoidov, kot je kanabidiol (CBD), manj raziskani in se redkeje pojavljajo. Za razliko od konoplje in njenih naravnih učinkovin, so pri kronični zlorabi sintetičnih kanabinoidov poročali o nevarnejših stranskih učinkih, kot so hitrejši srčni utrip, povišan krvni tlak, slabost, paranoja, psihotične epizode, izguba zavesti in tudi smrt. Sintetični kanabinoidi namreč lahko vsebujejo večkratne odmerke učinkovin, kot fitokanabinoidi (Macher, Burke, Stephen in Owen, 2012).

2.5 Terapevtski potencial kanabinoidov

Odkrivanje in raziskovanje kanabinoidov in endogenega kanabinoidnega sistema je vodilo do odkritja številnih terapevtskih učinkov, ki jih posredujejo kanabinoidi. Kot je bilo že omenjeno, receptorja CB₁ in CB₂ sprožata različne učinke in s svojim delovanjem modulirata številne biološke procese. V zadnjih letih je razpon raziskav, ki se ukvarjajo z odkrivanjem in preučevanjem terapevtskega delovanja kanabinoidov vse večji, vendar obstajajo omejitve zaradi negativnih učinkov kanabinoidov, predvsem zaradi njihovega potenciala za razvoj odvisnosti (Ferjan idr., 2015).

Eden od pomembnih dogodkov, ki je dvignil zanimanje za uporabo kanabinoidov v terapevtske namene, je bilo odkritje, da endokanabinoidni sistem regulira mehanizme povezane z debelostjo. To je spodbudilo raziskovalce k iskanju in razvijanju antagonistov

oz. inverznih agonistov CB₁ receptorjev, ki naj bi zmanjšali debelost (Pertwee, 2012). Odkrili so rimonabant (SR141716A), ki je sicer deloval kot sredstvo proti debelosti, vendar so ga morali umakniti iz klinik zaradi strahu pred škodljivimi učinki pri pacientih. Zlasti naj bi povečal tveganje za razvoj depresije, anksioznosti in samomorilnih teženj (Le Foll, Gorelick in Goldberg, 2009). To je pripomoglo k iskanju alternativ, ki bi izboljšale razmerje med tveganjem in koristjo. Obstajajo številni dokazi, da se pri nekaterih motnjah, ob modulaciji sproščanja endokanabinoidov stanje izboljša. Te bolezni so rak pri človeku, nevropatična in vnetna bolečina pri živalskih modelih, multipla skleroza, motnje na črevesju, posttravmatska stresna motnja, travmatološke poškodbe možganov, septični in kardiogeni šok, hipertenzija ateroskleroza in Parkinsonova bolezen (Pertwee, 2012).

Večina kanabinoidnih pripravkov deluje agonistično na receptorje, nekateri lahko učinkujejo tudi na receptorje različne od kanabinoidnih. Domnevno naj bi bilo zmanjšanje slabosti in bruhanja delno posledica antagonističnega delovanja kanabinoidov na serotonergične 5-hidroksitriptaminske receptorje (5HT₃). Kanabidiol (CBD) na primer posreduje antiemetične, nevroprotektivne in protivnetne učinke. Zapleteni mehanizmi vključujejo antagonistično delovanje na CB₁ receptorje, stimulacijo vaniloidnih receptorjev, inhibicijo hidrolize anandamida in aktivacijo receptorja PPAR-gama (Grotenhermen, in Müller-Vah, 2012).

Zdravila z licenco, ki izkoriščajo ugodne učinke preko direktne aktivacije kanabinoidnih receptorjev, že obstajajo. Dve od teh sta dronabinol (delta-9-tetrahidrokanabinol) in njegov sintetični analog Nabilon. Uporablja se ju kot zdravila za zmanjševanje slabosti in bruhanja, ki ju povzroča kemoterapija in kot spodbujevalca apetita pri bolnikih z aidsom (Mele in Drevenšek, 2015; Pertwee, 2012). Njuna uporaba je kljub boljši učinkovitosti, kot jo imajo standardna zdravila, omejena zaradi majhnega terapevtskega okna med učinkovitim terapevtskim učinkom in odmerkom, ki povzroči neželene učinke (Mele in Drevenšek, 2015). Tretje zdravilo, katerega uporaba je ponekod dovoljena, je nabixsimol (tržno ime Sativex), pripravek iz kanabinoidov THC in CBD. Licenco je dobil leta 2005 v Kanadi, in sicer za simptomatsko razbremenitev nevropatske bolečine pri multipli sklerozi in kot dopolnilno analgetično zdravljenje odraslih bolnikov obolelih za napredno obliko raka. Leta 2010 je bilo zdravilo licencirano tudi v Veliki Britaniji, za zdravljenje spastičnosti pri multipli sklerozi. V zadnjih letih postaja priznana v nekaterih drugih državah, tudi evropskih (Finska, Avstrija, Nemčija, Danska, Norveška, Švedska, Islandija, Italija, Španija, Poljska) (Mele in Drevenšek, 2015; Pertwee, 2012).

Poleg Nizozemske je tudi v Nemčiji v nekaterih primerih dovoljena uporaba pripravkov iz konoplje, večinoma iz rastlinskih vršičkov. Bolnik preko Zvezne agencije za opije, organa Zveznega inštituta za droge in medicinke pripomočke, zaprosi za oprostitev samozdravljenja s konopljo, pod medicinskim nadzorom. Ob prijavi mora navesti vse

druge oblike zdravljenja, ki niso bile učinkovite in obrazložiti zakaj zdravljenje z drugimi, predpisljivimi kanabinoidnimi zdravili ni mogoče. Ob prijavi mora biti tudi izjava zdravnika, da se strinja s tovrstno obliko zdravljenja. Stroške zdravljenja bolnik krije sam, zavarovalnice pri tem ne pomagajo (Grotenhermen, in Müller-Vah, 2012).

2.6 Modulatorno delovanje kanabinoidov na možgansko povezljivost

Učinke, ki jih imajo zdravila in različni pripravki na telo oz. specifične dele telesa, npr. centralni živčni sistem, je potrebno meriti čim bolj objektivno. Obstaja več različnih tehnik, pogosto te potekajo skozi proces reševanja različnih kognitivnih nalog, vprašalnikov, nevrofizioloških meritev in podobno. Pri tem se seveda pojavljajo številne omejitve. Zdravila namreč lahko delujejo na različne procese hkrati, npr. tako na motorične kot na kognitivne. Ob osredotočenem merjenju učinka na kognitivne procese, lahko raziskovalci zamudijo pomembne ugotovitve učinkov, ki jih ima zdravilo na motoriko. Poleg tega na ta način ne ugotovijo kakšno je neposredno delovanje zdravila na telo in tudi objektivnost ocenjevalcev je relativna. Zato se vse pogosteje poslužujejo uporabe različnih tehnik nevrološkega slikanja, ki predstavljajo prednost predvsem pri objektivnem ocenjevanju in ugotavljanju neposrednega delovanja zdravil v telesu (Klumpers idr., 2012).

Največkrat uporabljena in ena najučinkovitejših tehnik je slikanje z magnetno resonanco (functional magnetic resonance imaging ali functional MRI; fMRI), ki se opira na dejstvo, da sta cerebralni pretok krvi in nevronska aktivacija med seboj povezana, torej če je neko območje v možganih aktivirano, se tam poveča pretok krvi. Temelji torej na meritvah, ki so odvisne od signala BOLD (Blood Oxygenation Level Dependent), tj. stopnje oksigenacije krvi na določenem delu možganov. Ob povečani aktivnosti celice namreč potrebujejo za delovanje več kisika in glukoze, zato se pretok krvi na tistem delu možganov takrat poveča. Količina kisika je takrat večja, kot jo celice porabijo in v aktiviranih predelih možganov je tako več hemoglobina z vezanim kisikom, kot v predelih, ki niso aktivirani. Ravno količina oksihemoglobina je signal, preko katerega se meri aktivnost možganov pri fMRI tehniki (Hipp in Siegel, 2015). Ugotavljanje možganske aktivnosti in sprememb v možganih s fMRI, so večinoma uporabljali pri poskusih, kjer so kombinirali kognitivne naloge in spremembe BOLD signalov, ki so izzvane farmakološko. Signale so merili ob odzivu možganov na nalogo. Toda pri tovrstnem merjenju je potrebno imeti vnaprej opredeljeno hipotezo, o učinkih zdravila na kognicijo in kako to vpliva na reševanje naloge, omejitve pa so tudi pri ponovitvah slikanja. Razvita je bila nova tehnika, ki bi pomembno zmanjšala omejitve dosedanjega preučevanja farmakoloških sprememb aktivnosti v možganih. Gre za fMRI tehniko v stanju mirovanja (RS-fMRI; resting state functional magnetic resonance imaging). Ta naj bi merila spontane spremembe BOLD

signalov v stanju mirovanja in brez stimulacije možganov s kognitivnimi ali drugimi nalogami (Klumpers idr., 2012).

Dosedanje raziskave kažejo spremenjeno možgansko povezljivost na nekaterih predelih možganov, ob aplikaciji kanabinoidov v telo. Pri poskusih je bil največkrat uporabljen THC. Večina dosedanjih raziskav temelji na merjenju učinka kanabinoidov v kombinaciji s kognitivnimi nalogami. Leta 2012 je bila izvedena raziskava v kateri so merili učinke kanabinoidov na možgane, v stanju mirovanja. Ugotovili so, da THC povzroča spremembe v funkcionalni povezljivosti možganov v tovrstnem stanju. Pomembne spremembe so zaznali pri povezljivosti senzomotoričnih predelov z različnimi deli možganov ter v desnih in levih dorzalnih vizualnih področjih. Področja, ki so kazala največje spremembe, so se ujemala s prejšnjimi ugotovitvami, in sicer v malih možganih, frontalnem delu možganov, levem superiornem frontalnem girusu in v desnem srednjem frontalnem girusu (Klumpers idr., 2012; Stokes idr., 2010). Spremembe v senzomotoričnih delih, ki jih povzroča THC, bi lahko povezali s povečanim zunanjim zaznavanjem, spremembe v malih možganih pa s slabšo koordinacijo gibov in motenim zaznavanjem časa. V dorzo medialnem prefrontalnem korteksu je bila povezljivost na nekaterih delih povečana, na nekaterih pa zmanjšana. Povečana povezljivost naj bi bila med levim delom frontalnega režnja in levim superiornim frontalnim girusom, ki naj bi sodeloval pri procesih kognitivnega nadzora in odločanja ter načrtovanju in reševanju nalog. Povečana povezljivost je bila zaznana tudi med levimi dorzalnimi vizualnimi tokovi in desnim posteriornim delom ter lateralnim okcipitalnim korteksom (Klumpers idr., 2012).

Raziskav, ki so vključevale tudi kognitivne naloge je bilo v preteklosti več. Rezultati kažejo predvsem na modulacijo kognitivnih procesov, ki jo povzročajo kanabinoidi, najbolj izpostavljen pri tem pa je delovni spomin, ki je pod nadzorom prefrontalnega dela možganov (Taurisano idr., 2016). V eni izmed raziskav, kjer so prav tako uporabljali THC, je bilo ugotovljeno, da ta izboljša funkcionalno povezljivost med bazolateralnim in zunanjim (superficial) delom amigdale ter medialnim prefrontalnim korteksom. V raziskavi so povezljivost regij merili ob dražljaju grožnje, iz česar je bilo ugotovljeno, da THC v ogrožajoči situaciji modulira odzivnost amigdale in njeno funkcionalno povezljivost (Gorka, Fitzgerald, de Wit in Phan, 2015). Ta dva dela amigdale sodelujeta pri prepoznavanju grožnje in pridobivanju socialnega vrednotenja dražljajev (Bzdok, Laird, Zilles, Fox in Eickhoff, 2013). Poleg tega naj bi THC pomagal pri zatiranju pogojenih strahov, to pa naj bi bilo posredno povezano z modulacijo ključnih vozlišč v frontolimbicnem krogotoku (amigdala, hipokampus in ventromedialni prefrontalni koreks). Ugotovljeno je bilo tudi, da imata leva in desna amigdala ločeni vlogi v procesih čustvovanja. Tako naj bi desni del bil odgovoren za hitro in samodejno zaznavanje čustev, levi del pa za namerno in zavestno prepoznavanje in regulacijo čustev. Če je čustveni proces nameren in se zavedno poslužujemo kognitivnega (pre)vrednotenja strahu naj bi

THC pospeševal delovanje amigdale, ob spontanem čustvovanju pa naj bi bilo delovanje upočasnjeno (Gorka idr., 2016).

Kanabinoidi naj bi modulirali interakcije med afektivnimi/čustvenimi in senzornimi procesi osnovnega zaznavanja bolečine. V osnovi naj bi šlo za zmanjšanje senzoričnega vnosa informacij o bolečini v limbčni sistem, torej naj bi THC povzročil zmanjšano funkcionalno povezavo med amigdalo in somatosenzorno skorjo (Walter idr., 2016). Ugotovili so, da THC pretežno deluje na emocionalno in manj na senzorično komponento obdelave nociceptivnih informacij. Npr. 5mg peroralnega THC-ja v kombinaciji z 0,02mg/kg intravenskega morfija, proizvede le analgetične učinke na emocionalni ravni, ne bi pa naj imela učinka na komponento bolečine. Zmanjšana funkcionalna povezljivost naj bi bila tudi v predelih talamusa, in sicer na sekundarnem somatosenzornem korteksu (S2 regija). THC naj bi dodatno moduliral pretok informacij iz sekundarnega somatosenzornega korteksa v regije, ki sodelujejo pri afektivnem (čustvenem) vrednotenju bolečine – drugače rečeno, zmanjšuje moč povezav med limbičnimi in somatosenzornimi regijami. Povečana perfuzija je bila zaznana tudi v inzuli (Walter idr., 2016).

2.7 Endogeni kanabinoidni sistem pri Parkinsonovi bolezni

Receptor CB₂ naj ne bi bil izražen v centralnem živčnem sistemu zdravih posameznikov, ampak le v perifernih tkivih. Toda v kasnejših raziskavah so pri zdravih posameznikih ugotovili prisotnost receptorjev tudi v astrocitih, oligodendrocitih, perivaskularni mikrogliji in nekaterih subpopulacijah nevronov, vendar je njihovo izražanje precej bolj omejeno kot pri CB₁ receptorjih (Stella, 2010).

V različnih patoloških pogojih, ki vplivajo na centralni živčni sistem, zlasti tisti, ki povzročajo vnetni ali degenerativni dražljaj, se stopnja CB₂ receptorjev občutno poveča. Takšni pogoji se pojavljajo npr. pri Alzheimerjevi bolezni, amitrofični lateralni sklerozi, multipli sklerozi, Huntingtonovi bolezni, Parkinsonovi bolezni in drugje (Fernández-Ruiz, Romero, Velasco, Tolón, Ramos, Guzmán, 2007; Fernández-Ruiz, García, Sagredo, Gómez-Ruiz, de Lago, 2010; García, Cinquna, Palomo-Garo, Rábano in Fernández-Ruiz, 2015). Pri bolnikih s Parkinsonovo boleznijo je bilo zaznano izražanje CB₂ receptorjev tudi v substanci nigri. Pomembno je dejstvo, da se CB₂ povečano izraža v glijalnih celicah, kar naj bi bilo značilno tako za bolnike s Parkinsonovo boleznijo, kot tudi za živalske modele, kjer so pogoji, podobni kot pri Parkinsonovi bolezni, izzvani namerno (največkrat s toksinom MPTP) (García idr., 2015). Mikroglia namreč sodeluje v ciklu nevroinflamacije, kjer s svojo aktivacijo sprošča dejavnike, ki povzročajo nadaljnje propadanje nevronov. Prisotnost CB₂ receptorja torej lahko smatramo kot potencialno terapevtsko tarčo, ki s svojim delovanjem lahko modulira cikel in zmanjša aktivnost mikroglije ter zmanjša propadanje nevronov (Concannon, Okine, Finn in Dowd, 2016). CB₂ receptor tako zaradi

svoje povečane izraženosti pri Parkinsonovi bolezni predstavlja glavno potencialno tarčo za terapevtsko modulacijo Parkinsonove bolezni (Fernández-Ruiz, Romero, Ramos, 2015). Pri Parkinsonovi bolezni naj bi bila spremenjena tudi stopnja izražanja CB₁ receptorja, in sicer večina avtorjev poroča o zmanjšani izraženosti teh receptorjev v bazalnih ganglijah (Concannon idr., 2016; Concannon, Okine, Finn in Dowd, 2015; Fernández-Ruiz, Romero, Ramos, 2015; Mounsey idr., 2015) medtem, ko nekateri avtorji poročajo o povečani izraženosti (Hurley, Mash in Jenner, 2003; Lastres-Becker idr., 2001) ali pa navajajo nespremenjeno izražanje CB₁ receptorjev (Farkas idr., 2012). Dejstvo o tem, ali in kako je spremenjena stopnja izražanja CB₁ receptorja v možganih bolnikov s Parkinsonovo boleznijo, ni povsem jasno in bodo še potrebne raziskave na tem področju (Concannon idr., 2015).

Ravni endokanabinoidov, tako 2-AG kot anandamida, naj bi bile pri Parkinsonovi bolezni povečane (Mounsey idr., 2015; Pisani idr., 2010; Scotter, Abood in Glass, 2010).

3 TERAPEVTSKI POTENCIAL KANABINOIDOV PRI PARKINSONOVI BOLEZNI

Homeostatski nadzor celic je ena od ključnih funkcij endogenega kanabinoidnega sistema in je razširjen do te mere, da je od njegovega delovanja odvisno, ali bodo celice preživele ali propadle. Elementi endogenega kanabinoidnega sistema tako predstavljajo potencialne tarče za spojine, ki bi izzvale citoprotektivne učinke pri številnih patoloških boleznih (Fernández-Ruiz, de Lago, Gómez-Ruiz, Sagredo in García-Arencibia, 2014). Te lastnosti endokanabinoidnega sistema so še posebej pomembne v centralnem živčnem sistemu, kjer je premagovanje izgube nevronov zelo težko. Težava je, da so ti nevroni postmitotične celice, ki niso zmožne podvajanja DNA in delitve zato nastajanje novih celic v tem delu telesa ni tako preprosto kot ponekod drugje. Izgubljeni nevroni se sicer lahko nadomestijo z novimi, ki nastajajo iz matičnih celic, vendar je razumevanje tega procesa še precej pomanjkljivo (Ziemka-Nałęcz in Zalewska, 2012).

3.1 Potencialne tarče in spojine s terapevtskim delovanjem

V zadnjem desetletju se raziskave osredotočajo predvsem na iskanje elementov endokanabinoidnega sistema, kot so receptorji, encimi idr., ki bi jih lahko farmakološko modulirali (aktivirali ali inhibirali njihovo delovanje) in s tem izzvali oz. povečali neuroprotektivne učinke. Nekatere raziskave so bile uspešne in endogeni kanabinoidni sistem je postal obetajoča tarča za spreminjanje napredovanja nevrodegenerativnih bolezni. Endogeni kanabinoidni sistem, za katerega smo prej omenili, da je večina njegovih elementov ob patoloških spremembah podvržena up-regulaciji, lahko moduliramo z različnimi spojinami in tako pripomoremo k še večji zaščiti in izboljšanju stanja bolezni (Fagan in Campbell, 2014).

Endogeni kanabinoidni sistem svoje prednosti kaže s širokim spektrom delovanja, saj je njegova moč relativno podobna neuroprotektivnim učinkom pogosteje preučevanih spojin, kot so N-metil-D-aspartamska kislina (NMDA), α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propionična kislina (AMPA). Razlika je v tem, da kanabinoidi združujejo vse te lastnosti v eni ali dveh spojinah, kar je prednost pri zdravljenju nevrodegenerativnih bolezni, kjer se pojavlja več citotoksičnih dogodkov naenkrat. Tak širok spekter delovanja imajo predvsem zato, ker lahko delujejo na različne elemente endogenega kanabinoidnega sistema naenkrat (CB₁ in CB₂ receptorji, amidne hidrolaze FAAH) in sodelujejo pri različnih vlogah neuroprotektivnega odziva (Fernández-Ruiz idr., 2014).

Še ena ugodna lastnost spojin, ki delujejo na endogeni kanabinoidni sistem je lokacija tarčnih molekul v strukturah centralnega živčnega sistema (nevroni, astrociti, mikroglija, oligodendrociti, prekursorske celice idr.). Tako locirane tarče omogočajo selektivni nadzor

nad specifičnimi funkcijami, ki jih imajo celice pri degeneraciji, zaščiti in/ali pri popravljanju poškodb (Fernández-Ruiz, Romero in Ramos, 2015). To še posebej velja za receptorje CB₁, ki sodelujejo pri nadzoru ekscitotoksičnih poškodb in so večinoma prisotni v glutamatergičnih nevronih. Vendar pa CB₁ receptor ni glavni cilj za izvajanje nevroprotekcije, predvsem zaradi progresivne izgube in upada stopnje izražanja v patoloških stanjih, zaradi česar je zmanjšana razpoložljivost teh receptorjev kot tarčnih molekul za modulacijo dogodkov. Ravno zaradi up-regulacije ob neurodegeneraciji, so CB₂ receptorji obetavnješi in potencialno boljše tarče s terapevtskega vidika (Vendel in de Lange, 2014).

Terapevtska modulacija endogenega kanabinoidnega sistema se zdi obetavna terapevtska strategija pri zdravljenju neurodegenerativnih motenj zlasti zato, ker nevroprotektivni mehanizmi ne vključujejo samo CB₁ in CB₂ receptorjev, temveč je njihovo delovanje razširjeno tudi na druge mehanizme, ki so neodvisni od kanabinoidnih receptorjev (npr. blokada NMDA receptorjev in aktivacija PPAR receptorjev) (Fernández-Ruiz, Romero in Ramos, 2015; Fidaleo, Fanelli, Ceru in Moreno, 2014).

3.1.1 Učinki, ki jih posredujejo CB₁ receptorji

Proti ekscitotoksični učinki, ki jih posredujejo CB₁ receptorji kažejo dva načina delovanja; preko presinaptičnih CB₁ receptorjev v glutamatergičnih terminalih, kjer zmanjšajo prekomerno sproščanje glutamata in preko postsinaptičnih CB₁ receptorjev na nevronih, ki vsebujejo NMDA receptorje in preko katerih kanabinoidi lahko zmanjšajo prekomerno količino kalcija znotraj nevrona ter na ta način preprečujejo prekomerno aktivacijo kalcijeve poti, ki povzroča propadanje celic. Primer takšne spojine je deksanabinol (HU-211), ki naj bi deloval zaščitno z blokiranjem NMDA receptorjev. Spojine ki se vežejo na CB₁ receptor pa vzpostavljajo homeostazo glutamata in lahko preprečujejo ekscitotoksičnost (Fernández-Ruiz, Romero in Ramos, 2015).

Drug nevroprotektivni učinek, ki ga posredujejo CB₁ receptorji pa je izboljšanje oskrbe poškodovanega dela možganov s krvjo. Učinek naj bi bil izzvan preko receptorjev, ki se nahajajo v mikrovaskularnem sistemu možganov in naj bi zmanjšal nastajanje mediatorjev, kot je endotelin-1, ki omejujejo oskrbo s krvjo na poškodovanih delih možganov. Nedavne raziskave omenjajo, da bi v te procese lahko bili vključeni tudi CB₂ receptorji (Choi, Ju, Anthony Jalin, Lee, Prather in Kim, 2013).

3.1.2 Učinki, ki jih posredujejo CB₂ receptorji

Glede na njihovo lokacijo v glialnih celicah, lahko CB₂ receptorji s svojo aktivacijo nadzorujejo vpliv glialnih celic na nevronske homeostazo in posledično preživetje (Fernández-Ruiz idr., 2007; Fernández-Ruiz idr., 2010). Aktivacija CB₂ receptorjev bi lahko prpomogla tudi pri trofičnih učinkih glialnih celic, in sicer z oskrbo celic z metabolnimi substrati, npr. z laktati in ketonskimi telesi (Duarte, Ferreira, Carvalho, Cunha in Köfalvi, 2012). Povečali bi lahko tudi nastajanje nevrotrofinov, bazičnih beljakovin, ki omogočajo diferenciacijo in preživetje nevronov (npr. nerve growth factor; NGF, brain-derived neurotrophic factor; BDNF, glial cell line-derived neurotrophic factor; GDNF) in bi lahko rešili poškodovane nevrone. Ena ključnih vlog CB₂ je najverjetneje njihovo delovanje na glia celice, ki so močno podvržene delovanju CB₂ receptorjev, predvsem, ko so aktivirane. Aktivacija teh receptorjev zmanjšuje nastajanje nekaterih nevrotoksičnih dejavnikov, npr. TNF-alfa (tumor nekrotizirajočega faktorja alfa), z zaviranjem transkripcijskega faktorja NF- κ B, ki ima ključno vlogo pri regulaciji nastanka vnetnih odzivov (Stella, 2010). Prisotnost CB₂ receptorjev v nekaterih nevronskih subpopulacijah, bi lahko služila kot potencialni biomarker za ugotavljanje izgube nevronov pri določenih degenerativnih boleznih, kot je Parkinsonova bolezen ali spinocerebralna paraliza (Fernández-Ruiz, Romero in Ramos, 2015).

Takšne farmakološke manipulacije CB₂ receptorjev, ki so podvrženi up-regulaciji v aktiviranih astrocitih in reaktivnih mikrogliah bi lahko bile eden obetajočih se načinov za namerno izzvano nastajanje endogenega odziva na vnetne, ekscitotoksične in travmatske motnje.

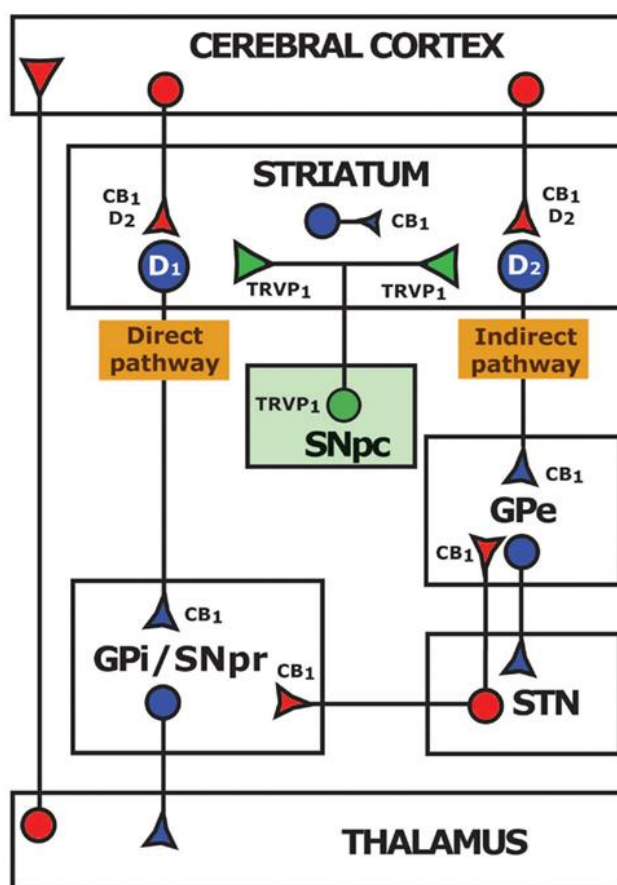
Še eno pomembno dejstvo o kanabinoidih, ki se vežejo na CB₂ receptorje je to, da naj ti ne bi povzročali neželenih psihotropnih učinkov, kot se to dogaja pri kanabinoidih, ki se vežejo na CB₁ receptorje. Torej so varni in kažejo velik potencialni pri terapevtskih aplikacijah (Fernández-Ruiz, Romero in Ramos, 2015).

3.2 Delovanje kanabinoidov na motorične funkcije v bazalnih ganglijih

Obstajajo dokazi, ki kažejo na pomembno vlogo endogenega kanabinoidnega sistema pri nadzoru motoričnih funkcij. CB₁ receptorji so locirani v bazalnih ganglijih, najdemo jih na živčnih terminalih GABAergičnih MSN nevronov (medium spiny neurons; vrsta GABAergičnih inhibitornih nevronov) in glutamatergičnih nevronov ter na povezavah med subtalamičnim jedrom in substanto nigro. Endokanabinoidni sistem sodeluje pri nevronske plastičnosti ter inhibiciji ali aktivaciji nevronske sinapse na tem predelu. Poleg tega naj bi sodeloval z dopaminergičnim sistemom. Njihovo prisotnost v mikrogliji bi lahko

povezovali s proizvodnjem dušikovega oksida (NO), ki je pomemben pri posredovanju nevroinflamacije z mikroglijo (More, Kumar, Kim, Song in Choi, 2013). Tudi CB₂ receptorji naj bi se predvsem ob patoloških stanjih izražali v predelih bazalnih ganglijev (mikroglija) in naj bi bili vključeni v regulacijo nevroinflamatornih in nevrodegenerativnih procesov pri motnjah, kot je Parkinsonova bolezen (Price idr., 2009).

Bazalni glangliji so strukture, ki sodelujejo v motoričnih procesih. S korteksom so povezani v zanke, skozi katere potekajo informacije v obe smeri. Globus pallidus je struktura bazalnih ganglijev, ki deluje inhibitorno ali ekscitatorno na talamus, ta pa glede na signal svoja vlakna projicira naprej v korteks. Če Globus pallidus deluje inhibitorno na talamus, ta potem deluje ekscitatorno na korteks in obratno, če Globus pallidus deluje ekscitatorno na talamus, potem ta deluje inhibitorno na korteks (Georgiev, 2011).



Slika 3.01: Prikaz motorične zanke v bazalnih ganglijih in razporeditev kanabinoidnih receptorjev (povzeto po Morera-Herreras, Miguelez, Aristieta, Ruiz-Ortega in Ugedo, 2012).

Na sliki je prikazan model procesov, ki sodelujejo v motorični zanki. Striatum, ki ga sestavljata Caudate in Putamen, preko MSN nevronov prejme glutamatergične ekscitatorne projekcije iz korteksa in iz dopaminergičnih nevronov substance nigre (SNpc). Dopamin lahko deluje ekscitatorno (preko D₁ receptorjev) ali inhibitorno (preko D₂ receptorjev). Iz

striatuma potekata naprej dve različni poti, in sicer direktna in indirektna. Pri direktni poti striatum projicira GABAergične projekcije direktno v globus pallidus par interna (GPi), pri indirektni poti pa najprej v globus pallidus par externa (GPe) in šele potem preko subtalamičnih jeder z glutamatergičnimi projekcijami v GPi. Od tam naprej potujejo GABAergične projekcije do talamusa, ta pa naprej projicira glutamatergične projekcije na korteks. GABAergične projekcije v motorični zanki delujejo inhibitorno, glutamatergične pa ekscitatorno (Carpenter, 2012).

Direktna pot deluje aktivacijsko na motorični korteks saj GABAergične projekcije iz striatuma inhibirajo celice v GPi, kar posledično inhibira talamus in sproži aktivacijo korteksa preko glutamatergičnih projekcij. Drugače je pri indirektni motorični poti, kjer glutamatergične projekcije iz subtalamičnih jeder delujejo ekscitatorno na GPi, projekcije iz GPi delujejo ekscitatorno na talamus in posledično zaradi aktivacije talamusa pride do inhibicije motoričnega korteksa (Basal Ganglia, 2009). Za normalno gibanje je potrebno ravnovesje med ekscitatornimi in inhibitornimi komponentami, če tega ni se lahko pojavljajo različne motnje. Pri Parkinsonovi bolezni npr. zaradi pomanjkanja dopamina direktna pot ni dovolj aktivirana, indirektna pot pa ni dovolj zavirana (Georgiev, 2011). Neravnovesje vodi do prekomerne aktivacije GPi, kar posledično privede do prekomerne inhibicije motoričnega korteksa. To se kaže v inhibiciji motoričnih funkcij in v obliki sindromov parkinsonizma. Vloga dopamina v motoričnih zankah bazalnih ganglijev ni povsem jasna, vendar ima pomembno vlogo pri uravnovešenem delovanju direktne in indirektna motorične poti (Aceves, Rueda-Orozco, Henandez-Martinez, Galarraga in Bargas, 2011; Vasant Moore in Choi, 2015).

Stimulacija presinaptičnih CB₁ receptorjev v GPe lahko modulira lokalne ravni GABA prenašalca z delovanjem na ponovni privzem GABA v striatum. Dopaminergični in kanabinoidni receptorji so oboji locirani na GABAergičnih nevronih v striatumu, med njimi pa naj bi potekala interakcija. Interakcija med CB₁ in D₁ receptorji naj bi povzročala zmanjšanje adenil ciklaze in zmanjšanje inhibicije projekcij striatuma pri direktni poti motorične zanke, kar vodi v inhibicijo motoričnega korteksa. Medtem ko naj bi interakcija med CB₁ in D₂ delovala obratno, in sicer naj bi se povečala raven adenil ciklaze, kar naj bi povečalo aktivacijo indirektna poti, subtalamičnega jedra in povečalo aktivacijo motoričnega korteksa. Torej je pri Parkinsonovi bolezni ena izmed možnosti zaviranje oz. blokiranje CB₁ receptorjev s CB₁ antagonisti, vendar pa je na tem področju premalo raziskav (Vasant Moore in Choi, 2015).

3.3 Uravnavanje homeostaze glutamata

Retrogradna signalizacija kanabinoidov aktivira CB₁ receptorje na presinaptičnih aksonih in s tem modulira sproščanje neurotransmiterjev iz nevronov. Delovali naj bi inhibitorno in naj bi zavirali sproščanje glutamata iz kortikostriatnih terminalov in modulirali sproščanje glutamata iz subtalamičnega jedra (Benarroch, 2007; Brotchie, 2003; van der Stelt, in Marzo, 2004). Pri Parkinsonovi bolezni namreč prihaja do glutamatergične hiperaktivnosti v direktni in indirektni motorični poti kar še prispeva k escitotoksičnosti in patofiziologiji motoričnih motenj (Carrillo-Mora, Silva-Adaya in Villaseñor-Aguayo, 2013). Posledično prihaja do hiperaktivacije NMDA receptorjev, kar povzroča ekscitotoksičnost in neurodegeneracijo. Kanabinoidi med drugim lahko uravnavajo in normalizirajo raven glutamata in tako ščitijo celice pred propadanjem. To dokazujejo *in vivo* ter *in vitro* raziskave na kulturah hipokampusu in hrbtnjače ter na modelih z namerno izzvanimi poškodbami, ekscitotoksičnostjo in okvarami mitohondrijev. Takšni učinki so najverjetneje posredovani preko presinaptičnih CB₁ receptorjev. Poskusi na miših z izbitim genom za CB₁ receptorje so pokazali povečano ranljivost za možganske poškodbe in nevrološke motnje v primerjavi z mišmi z normalnim genom za CB₁ receptorje. Nevroprotektivni učinki so bili zaznani ob uporabi kanabinoida WIN55,212-2, medtem ko so nekateri specifični antagonisti te učinke zavrlji, drugi pa prav tako delovali zaščitno proti nevronske smrti, ki jo povzroča NMDA (Shouman, Fantaine, Baud, Schwendimann, Keller in Spedding, 2006). Tovrstni učinki niso enoznačno potrjeni, v nekaterih študijah so prišli do ugotovitev, da kanabinoidi oz. kanabinoidni sistem ne preprečuje ekscitotoksičnosti (van der Stelt idr., 2003) in da to ni edini mehanizem ter, da lahko podobne učinke dosežemo tudi z drugimi kanabinoidnimi pripravki (npr. deksanabinol, ki se veže direktno na NMDA receptorje) (Fernández-Ruiz idr., 2014).

3.4 Uravnavanje dotoka kalcija v celice

Zaradi povečanih ravni glutamata in posledično hiperaktivacije glutamatergičnih receptorjev se povečujejo tudi intracelularne ravni kalcija in natrija. To povzroča depolarizacijo nevronske celice in aktivacijo napetostno občutljivih kalcijevih kanalov zaradi česar se poveča vdor kalcijevih ionov v celico. Težava izredne povišanosti kalcija v celici je aktivacija številnih uničevalnih procesov, kot so aktivacija različnih proteaz, proteinskih kinaz, lipaz, endonukleaz, nastanek reaktivnih kisikovih spojin, sinteza ogljikovega dušika idr., ki ogrožajo preživetje celic (Fernández-Ruiz idr., 2014).

Kanabinoidni agonisti lahko zmanjšajo vdor kalcija v celico deloma z zaprtjem kalcijevih ionskih kanalov preko interakcije s kanabinoidnimi receptorji in skozi druge procese neodvisne od aktivacije kanabinoidnih receptorjev. Tako posredno zmanjšajo aktivacijo

nevronskih celic, aktivacijo uničevalnih procesov in celično smrt (Centonze, Finazzi-Agrò, Bernardi in Maccarrone, 2007; Shohami, Cohen-Yeshurun, Magid, Algali in Mechoulam, 2011). Dokazi temeljijo na *in vivo* raziskavah, kjer so uporabili različne fitokanabinoidne, sintetične ter endogene kanabinoidne agoniste v pogojih z visokimi ravnmi kalcija, izzvanih z različnimi mehanizmi (npr. z NMDA in drugimi ekscitotoksini) (Marsicano idr., 2003). Takšne učinke naj bi posredovali CB₁ receptorji, ki se nahajajo na membranah postsinaptičnih nevronov, ki vsebujejo NMDA glutamatergične receptorje. Delovali naj bi ravno obratno kot CB₁ receptorji na presinaptičnih membranah nevronov, ki zavirajo sproščanje glutamata (Fernández-Ruiz idr., 2014).

3.5 Učinki kanabinoidov na oksidativni stres

Možganske poškodbe pri akutnih ali kroničnih nevrodegenerativnih motnjah povzročajo kopičenje strupenih proizvodov kot so reaktivne kisikove in dušikove spojine. Te povzročajo poškodbe beljakovin, DNA in lipidov v celičnih membranah ter vodijo v celično smrt. Nastanek teh spojin je povezan z ekscitotoksičnostjo in mitohondrijsko disfunkcijo, kar pojasnjuje več faktorsko naravo poškodb možganov pri nevrodegenerativnih motnjah. Reaktivne kisikove spojine nastajajo skozi različne procese, kot so mitohondrijsko delovanje, metabolizem arahidonske kisline in delovanje različni encimov, npr. sintaze dušikovega monoksida (NO sintaze). Oksidativni stres se pojavi, ko je porušeno ravnovesje med oksidativnimi dogodki in antioksidativnimi mehanizmi (npr. ravnovesje med delovanjem antioksidativnih encimov in antioksidativnimi molekulami), zaradi česar pride do povečanih ravni potencialno škodljivih reaktivnih kisikovih spojin (Osredkar, 2011). Odgovoren naj bi bil za sekundarne poškodbe možganov v primerih nevrodegenerativnih motenj.

Nekateri kanabinoidi, ki v svoji kemični strukturi vsebujejo fenolne skupine, lahko delujejo kot močne antioksidativne spojine. To so npr. CBD, THC, kanabinol, nabilon, deksanabinol in nekateri endokanabinoidni analogi. Njihova sposobnost je zmanjšati negativne učinke reaktivnih kisikovih spojin, ki se pojavijo pri kroničnih poškodbah možganov, npr. pri Parkinsonovi bolezni ali pri ishemičnih motnjah. Antioksidativni potencial kanabinoidov se zdi neodvisen od vezave na kanabinoidne receptorje. Delovali naj bi kot lovilci prostih radikalov in odstranjevali njihov presežek iz prizadetih celic (Lastres-Becker, Molina-Holgado, Ramos, Mechoulam in Fernández-Ruiz, 2005; Marsicano, Moosmann, Hermann, Lutz in Behl, 2002). Zmanjševanje oksidativnega stresa lahko uravnavamo tudi z modulacijo znotrajceličnih signalov, ki nadzorujejo izražanje in funkcije endogene antioksidativne obrambe.

Pomembne učinke pri tem kaže CBD, ki naj bi deloval neodvisno od CB₁ in CB₂ receptorjev, njegova antioksidativna jakost pa naj bi bila primerljiva, če ne celo višja od

nekaterih drugih antioksidantov, kot sta askorbat in α -tokoferol (vitamin E). CBD ima večji potencial za terapevtsko uporabo kot THC predvsem zato ker ne posreduje psihoaktivnih učinkov in se ga lahko uporablja daljše časovno obdobje brez tveganja za razvoj tolerance (Hayakawa idr., 2007). *In vitro* raziskave kažejo na nevroprotektivno delovanje v primerih izzvanega parkinsonizma pri podganah, kjer naj bi CBD zmanjšal nastanek reaktivnih kisikovih spojin in celicam povečal možnost za preživetje. Antioksidativno delovanje naj bi posredoval tudi preko znotrajceličnih signalov, npr. preko NF- κ B, ki je povezan z izražanjem in delovanjem določenih antioksidativnih obrambnih sistemov (Pazos, Sagredo in Fernández-Ruiz, 2008) in naj bi igral pomembno vlogo pri Parkinsonovi in Huntingtonovi bolezni, kjer obstajajo dokazi o zmanjšani škodi zaradi oksidativnega stresa (Fernández-Ruiz idr., 2014; García-Arencibia, González, de Lago, Ramos, Mechoulam in Fernández-Ruiz, 2007; Lastres-Becker idr., 2005). Delovanje CBD ni še povsem jasno, vezal naj bi se na membranske receptorje ali pa na druge beljakovine, ki so povezane z delovanjem kanabinoidnega sistema. Nekatere raziskave kažejo, da naj CB₁ receptorji ne bi bili vključeni v nevroprotektivne, antioksidativne učinke kanabinoidov (Marsicano idr., 2002).

3.6 Učinki kanabinoidov na glija celice

Aktivacija nekaterih glija celic je povezana s patogenezo pri različnih kroničnih in akutnih degenerativnih patologijah možganov. Tako reaktivni astrociti, aktivirane mikroglije in nekateri drugi dogodki lahko povzročijo ali poslabšajo možganske poškodbe, ki so posledica povečanega kopičenja različnih citotoksičnih snovi. To so različni citokini, dušikov oksid in reaktivne kisikove spojine, ki v prvi vrsti nastajajo zaradi reaktivnih celic mikroglije. Te elementi glije sicer povezujemo z zaščitno vlogo in odstranjevanjem mrtvih celic ter omogočanjem regeneracije aksonov ob nekaterih možganskih poškodbah. Toda prekomerna ali celo trajna aktivacija teh celic prispeva k patogenezi pri kroničnih neurodegenerativnih boleznih, saj nevrotoksini, ki nastanejo kot posledica prekomerne aktivacije, lahko povzročijo okvare celic in posledično celično smrt (Fernández-Ruiz idr., 2010). Funkcija elementov glije je torej deljena. V nekaterih primerih povzročajo demielinizacijo (razpad mielinske ovojnice), tromboze, motnje v možganski krvni barieri idr. kar je povezano s celičnim propadom, v drugih primerih pa aktivacija teh elementov lahko vodi do nastanka dejavnikov, ki delujejo v korist preživetja nevronov z izboljšanjem homeostaze v celicah. Ti procesi astrocitov in mikroglije so prisotni pri večini neurodegenerativnih bolezni kot so Huntingtonova bolezen, Alzheimerjeva bolezen, Multipla skleroza in Parkinsonova bolezen (Fernández-Ruiz idr., 2010; Mrak in Griffin, 2005; Sofroniew, 2005).

Na splošno lahko s kanabinoidnimi agonisti zmanjšamo nastanek citotoksičnih snovi z reaktivnimi mikroglijami, ki dokazano povzročajo škodo pri nevrodegeneraciji in nevronskega vnetja in/ali povečamo nastanek molekul z astrociti, ki povečujejo verjetnost preživetja celic (npr. nevrotrofini, metaboličnimi substrati ali protivnetni citokini idr.) z zmanjševanjem poškodb ali z zaščito celic in oligodendrocitov pred celično smrtjo (Fernández-Ruiz idr., 2007). Eden od dokazov temelji na uspešnem zaviranju faktorja TNF- α s kamabinoidnimi agonisti, ki sicer povečuje verjetnost nevronskega vnetja. Zaviranje faktorja s pomočjo kanabinoidov poteka preko zaviranja aktivacije NF- κ B, ki sodeluje v procesih izražanja citokinskih genov. Eno od možnih poti modulacije teh citotoksičnih mehanizmov omogoča vezava kanabinoidov na jedrne PPAR receptorje, vendar ta pot še ni povsem raziskana.

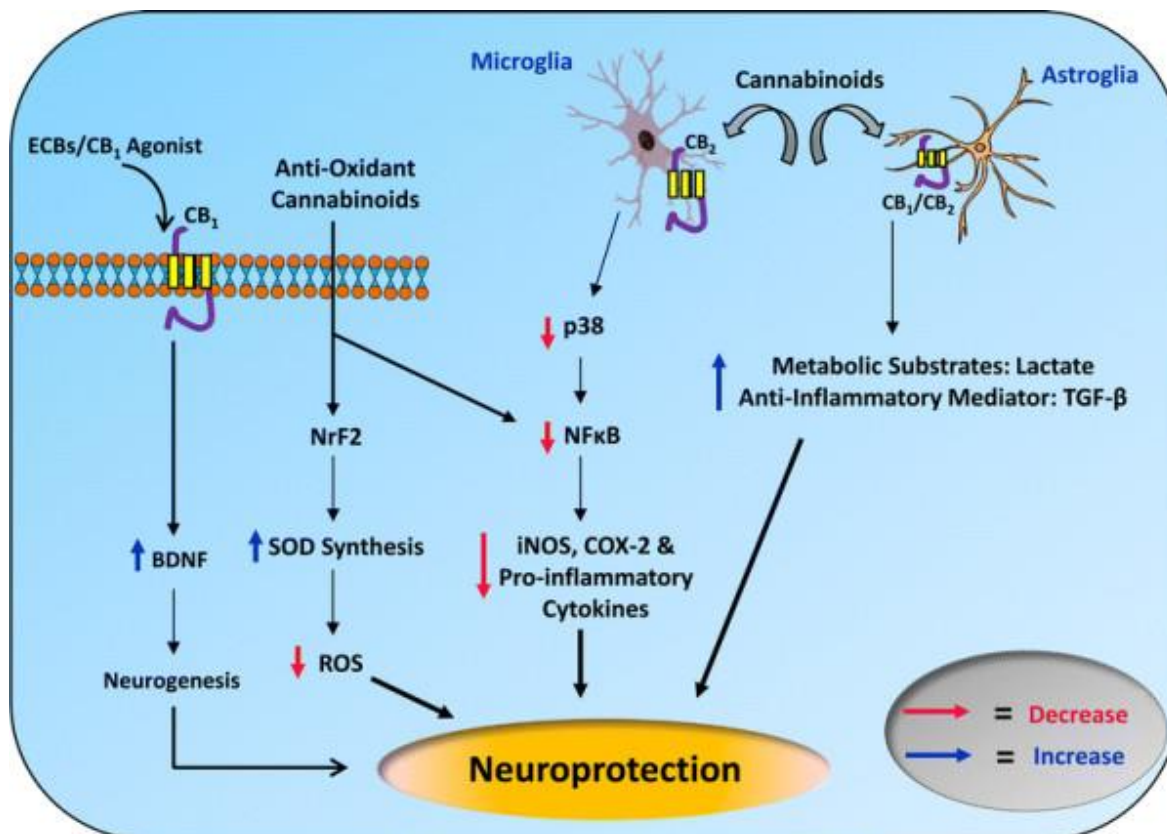
Pomemben vnetni posrednik je tudi dušikov oksid, ki nastaja kot odziv na imunsko posredovano celično toksičnost in ima pomembno vlogo pri nevrodegeneraciji (Rom in Persidsky, 2013; Sanchez in Garcia-Merino, 2012). Njegovo sproščanje naj bi zavirali s kanabinoidnimi agonisti preko mikroglije, astrocitov, nevronov in makrofagov. Najpomembnejšo vlogo pri posredovanju učinkov naj bi imeli CB₂ receptorji, čeprav naj bi potencial kazali tudi CB₁ in PPAR receptorji. To dokazujejo *in vivo* raziskave na miših z izbitim genom za CB₂ receptorje, ki naj bi kazale povečano dovzetnost za nevrodegenerativne patologije, najverjetneje zaradi večje mikroglijalne aktivacije in povečane akumulacije citokinov. Up-regulacija CB₂ receptorjev v elementih glije (največ v reaktivnih mikroglijah) je odziv organizma na nevronska vnetja, okužbe ali poškodbe možganov. Ti posredujejo pomembne učinke kot so proliferacija (delitev celic), aktivacija glijalnih celic, njihova migracija na poškodovana mesta v možganih, nevroprotekcija s selektivno aktivacijo receptorjev in omejevanje aktivacije mikroglijalnih celic ter njihovega toksičnega vpliva na homeostazo (Orellana, Bernhardt, Giaume in Saez, 2012).

Anandamid je pomemben endokanabinoid, ki modulira funkcije glija celic. To je bilo dokazano v *in vivo* raziskavah mišjih možganov kjer naj bi anandamid omogočil mikrogliji, da svoje procese razširi na predel, ki je poškodovan. Anandamid naj bi namreč okrepil zaščitno vlogo mikroglije ob poškodbah možganov, takšne učinke pa naj bi posredoval s povečano aktivnostjo koneksojskih kanalov na astrocitih. Sklepamo lahko torej, da je anandamid pomemben mediator funkcij astrocitov in mikroglije ter da ima pomembno nevroprotektivno vlogo pri možganskih poškodbah (Vázquez, Tolón, Pazos, Moreno, Koester, Cravatt, Hillard in Romero, 2015).

3.7 Vloga kanabinoidov v procesih nevrogeneze

Nevrogeneza je proces generiranja novih živčnih celic in njihovo vključevanje v možganske funkcije. Je pod precejšnjim vplivom trofičnih dejavnikov, neurotransmiterskih sistemov in vnetnih citokinov. Pri neurodegenerativnih boleznih kjer je nevrogeneza oslABLJena je nastanek novih živčnih celic pomemben saj pripomore k normalnemu delovanju nevronov (Fagan in Campbel, 2014; More, Koppula, Kim, Kumar, Kim in Choi, 2012). Procesi nastajanja novih živčnih celic naj bi bili tesno povezani z endokanabinoidnim sistemom. Genetski vzroki za delecijo CB₁ receptorjev naj bi ovirali nevrogenezo in bili vpleteni v nastanek nevronskih prekurzorjev. CB₁ in CB₂ receptorji ter diacilglicerol lipaze naj bi bile identificirane v matičnih celicah nevronov, kjer naj bi sodelovale pri nastajanju in vključevanju prekurzorjev v nevrogenezo. CB₂ receptor naj bi nadzoroval proliferacijo v matičnih celicah nevronov. Endogeni kanabinoidni sistem naj bi uravnaval tudi izražanje BDNF in ščitil nevrone podvržene degeneraciji (Skaper in Di Marzo, 2012).

Pri bolnikih s Parkinsonovo boleznijo je proces nevrogeneze zmanjšanj zaradi mutirane beljakovine α -sinuklein in staranja. Nekatere raziskave dokazujejo, da stimulacija CB₁ receptorjev poveča nivo BDNF, ki je nujen pri nevrogenezi, posledično je občutljivost nevronskih celic za 2-AG povečana (Maison, Walker, Walsh, Williams in Doherty, 2009; Scalzo, Kummer, Bretas, Cardoso in Teixeira, 2010; Ventriglia idr., 2013). Do sedaj so pri *in vivo* ter *in vitro* modelih Parkinsonove bolezni ugodne učinke za izboljšanje nevrogeneze izzvali z WIN-55,212-2, CB₂ agonisti in zaviralci FAAH (Gowran, Noonan in Campbel, 2011).



Slika 3.02: Verjetni mehanizmi nevroprotektivnih učinkov kanabinoidov pri Parkinsonovi bolezni (povzeto po Vasant-More in Choi, 2015).

3.8 Kanabinoidi in α -sinuklein pri Parkinsonovi bolezni

Obstajajo raziskave, ki dokazujejo povezavo med endogenim kanabinoidnim sistemom in α -sinukleinom, beljakovino, ki pri Parkinsonovi bolezni zaradi napačnega zvijanja in akumulacije povzroča nastanek Lewyjevih teles. Povezava naj bi bila med CB₁ receptorjem in njegovimi agonisti, ki naj bi zavirali proteasomsko sintazo, ki povzroči akumulacijo α -sinukleina pri *in vitro* raziskavah (Jeon, Yang, Jeong in Kim, 2011). Poviššana ekspresija genske mutacije α -sinukleina (Coskuner in Wise-Scira, 2013) in izbris gena za to beljakovino naj bi bila povezana z zmanjšano ravno izražanja CB₁ receptorja in zmanjšano vezavo molekul na ta receptor pri živalskih modelih Parkinsonove bolezni (López-Jiménez idr., 2013). Pri α -sinuklein knock-out miših so v nekaterih raziskavah ugotovili zmanjšane vrednosti prepisovanja CB₁ receptorjev in nižje ravni izražanja tega receptorja v striatumu (García-Arencibia idr., 2009), v nekaterih raziskavah pa sprememb transkriptov in izražanja niso opazili (López-Jiménez idr., 2013).

Protein α -sinuklein naj bi sodeloval pri nevronskega prenosa dopamina v substanci nigri, okvare tega proteina so torej posledično povezane s patogenezo Parkinsonove bolezni, vendar ti mehanizmi niso povsem raziskani. Ugotovljeno je bilo, da naj bi bile ravni dopamina večje pri miših, ki nimajo α -sinukleina, hkrati pa naj bi bila zmanjšana ekspresija dopaminskega transporterja za ponovni privzem v dorzalnem delu striatuma (Chadchankar, Ihalainen, Tanila in Yavich, 2011). Povečane ravni α -sinukleina naj bi imele vpliv na številne biološke procese v striatumu, in sicer na sinaptično plastičnost, signalizacijo, prepisovanje, apoptozo in nevrogenozo. Torej bi modulacija izražanja te beljakovine lahko imela pomemben terapevtski potencial pri Parkinsonovi bolezni (Cabeza-Arvelaiz, Fleming, Richter, Masliah, Chesselet in Schiestl, 2011). Na tem področju bi še bile potrebne nove raziskave, ki bi pojasnile povezavo med CB_1 receptorji in α -sinukleinom ter njunimi mehanizmi (López-Jiménez idr., 2013).

3 SKLEPI

Ena glavnih predpostavk tega dela je, da je Parkinsonova bolezen trenutno neozdravljiva, torej zanjo ne poznamo zdravila ali terapije, ki bi upočasnila ali ustavila njen progresivni razvoj. Naš namen je bil ugotoviti, ali pripravki iz kanabisa in ostali kanabinoidi (endogeni in sintetični) kažejo terapevtski potencial za Parkinsonovo bolezen in če ga, preko katerih mehanizmov lahko posredujejo učinke na procese te bolezni.

Bolniki s Parkinsonovo boleznijo poročajo o različnih izkušnjah z različnimi tradicionalnimi pristopi, tudi z uporabo kanabinoidnih pripravkov. Ti so predlagani kot terapevtska sredstva v spektru nevroloških motenj. A priori kanabinoidi kažejo potencial za usmerjanje mehanizmov, ki se pojavljajo pri Parkinsonovi bolezni. Njihovi učinki delujejo na številne procese, kot so oksidativni stres, ekscitotoksičnost, nevroinflamacija, nevronska oz. sinaptična plastičnost in posledično uravnavajo smrt oz. preživetje živčnih celic.

CB₁ in CB₂ receptorji so prisotni v celicah sesalcev in predstavljajo vezavno mesto za različne fitokanabinoide, endokanabinoide in sintetične kanabinoide. Različne dosedanje raziskave pričajo o tem, da ti receptorji niso odgovorni za vse fiziološke učinke, ki jih posredujejo kanabinoidi in endogeni kanabinoidni sistem. Dokazano je, da se kanabinoidni lipidi lahko vežejo in sprožijo učinke na enem ali več kalcijevih kanalih iz družine TRP kar je obetavno, saj je kalcij pomemben drugotni obveščevalec. Pravilno prehajanje kalcija v celice ja pri Parkinsonovi bolezni moteno, predvsem zaradi hiperaktivacije glutamatergičnih receptorjev. Količina kalcijevih ionov v celici je prevelika, posledično pa so aktivirani številni škodljivi celični procesi. Kanabinoidi lahko z vezavo na kalcijeve kanale ali posredno preko vezave na kanabinoidne receptorje uravnavajo količino kalcija v celici in zavirajo prekomerno aktivacijo celic. Ker je vdor kalcija posredno povezan s hiperaktivacijo glutamatergičnih nevronov in prevelike količine glutamata v sinapsah, je uravnavanje količine tega nevrottransmitterja še eden od možnih mehanizmov, ki preprečuje poškodbe celic. Kanabinoidi namreč kažejo inhibitorne učinke na sproščanje nekaterih nevrottransmitterjev (npr. glutamata) v sinaptične špranje.

Kanabinoidi lahko delujejo proti oksidativnemu stresu, ki ga povzroča mitohondrijska disfunkcija. To jim omogoča fenolna skupina, saj zaradi tega delujejo kot antioksidanti. Zaradi porušenega ravnovesja med oksidativnimi in antioksidativnimi dogodki v mitohondrijih, se začnejo kopičiti reaktivne kisikove spojine, ki povzročajo oksidativni stres, ta pa škodi celicam. Nekateri fitokanabinoide in endogeni kanabinoidi lahko omejijo škodljive učinke teh spojin, saj delujejo očiščevalno, torej odstranjujejo presežek teh spojin iz celic. Uravnavajo lahko tudi nadzor antioksidativne obrambe telesa preko znotrajceličnih signalov.

Pomembno je dejstvo, da se kanabinoidni receptorji nahajajo v predelih možganov, ki so pri Parkinsonovi bolezni prizadeti. Še pomembneje pa je, da so ti receptorji ob motnjah, kot je Parkinsonova bolezen, podvrženi up-regulaciji, torej se njihovo izražanje poveča. Že s tem dogodkom nakazujejo na pomembno vlogo pri regulaciji mehanizmov, ki so prisotni pri tej bolezni. Njihova prisotnost v predelih bazalnih ganglijev, ki so odgovorni za motorično zanko, omogoča modulacijo procesov, ki se tam odvijajo. Z regulacijo aktivacije Globus pallidusa in subtalamičnih jeder lahko delujejo zaviralno na vzburljanje inhibitornih nevronov, aktivirajo talamus in posledično motorične strukture v kortikalnih področjih, ki so pri Parkinsonovi bolezni sicer zavirane.

Potencialno zaščito celic pred propadom, kanabinoidi posredujejo preko modulativnih učinkov na glia celice. Te so namreč pomemben dejavnik pri nastanku ekscitotoksičnosti, saj zaradi reaktivnosti in prekomerne aktivacije pri Parkinsonovi bolezni sodelujejo pri nastanku nekaterih toksičnih faktorjev. Delovanje kanabinoidov je dvostransko. Lahko zavirajo nastajanje toksičnih faktorjev na eni strani in/ali pospešijo sintezo in sproščanje faktorjev, ki pripomorejo k zaščiti celic pred poškodbami in celično smrtjo na drugi strani. Pri teh mehanizmi naj bi sodeloval telesu lasten kanabinoid, anandamid.

Kanabinoidi s svojim delovanjem uravnavajo nevroogenezo, nastajanje novih nevronov, saj njihovo delovanje povzroči povečane ravni BDNF, ki je nujno potreben za neovirano odvijanje teh procesov. Kanabinoidni receptorji in diacilglicerol lipaze naj bi nadzorovali deljenje matičnih celic in nastanek ter vključevanje prekursorjev v nevroogenezo.

Ugotovili smo tudi, da naj bi obstajala povezava med proteinom α -sinuklein, ki je pomembna sestavina Lewyjevih telesc, in kanabinoidnimi receptorji. Raven izražanja kanabinoidnih receptorjev in količina tega proteina naj bi bili povezani, vendar na kakšen način in kakšni mehanizmi stojijo v ozadju še ni ugotovljeno. Pri Alzheimerjevi bolezni so poročali o potencialu kanabinoidov, ki naj bi delovali proti akumulaciji proteinskih plakov. Nekatere izolirane kanabinoidne spojine naj bi se vezale direktno na amiloid beta (beljakovina ki z akumulacijo povzroča nastanek amiloidnih plakov) in delovale proti akumulaciji. Tovrstno delovanje na proteinske vključke pri Parkinsonovi bolezni ni bilo omenjeno, vendar naj bi kanabinoidi, kot smo že omenili delovali kot odstranjevalci prekomerno nakopičenih snovi in spodbujali avtofagijo, poleg tega pa naj bi povzročali raztapljanje proteinskih vključkov (Dando idr., 2013).

V zaključku lahko povemo, da terapevtski potencial kanabinoidov pri lajšanju in zdravljenju Parkinsonove bolezni nedvomno obstaja. Širok spekter učinkov, ki delujejo ugodno na procese te bolezni, dokazujejo številne raziskave, ki temeljijo tako na živalskih modelih, kot tudi na človeških sledih. Ugotovili smo, da na različne elemente endokanabinoidnega sistema delujejo različni kanabinoidi, in sicer fitokanabinoidi, endogeni kanabinoidi in sintetični kanabinoidi. Poti oz. mehanizmov, preko katerih kanabinoidi posredujejo svoje učinke je torej več. Pri tem ne smemo pozabiti na

pomanjkljivo poznavanje in razumevanje različnih mehanizmov delovanja kanabinoidov kot tudi samega endogenega kanabinoidnega sistema. Priporočljivo bi bilo, da se raziskovalci usmerijo na poskuse na človeških modelih in manj na živalske. Gre za to, da je posploševanje in prenos ugotovitev na človeške mehanizme Parkinsonove bolezni kontraverzen. Živalski modeli te bolezni namreč niso identični pravi bolezni, ki se pojavlja pri ljudeh, procesi so namerno izzvani z različnimi toksini ali pa gre za gensko spremenjene živali, knock-out živali, ki jih vsekakor ne moremo v popolnosti posplošiti na človeka. Terapevtskega potenciala torej ne smemo zanemarjati, vendar pa so na tem področju nujne nadaljnje raziskave, ki bodo prispevale k boljšemu poznavanju človeku lastnega kanabinoidnega sistema in njegovih mehanizmov, ki potencialno uravnavajo procese Parkinsonove bolezni.

4 LITERATURA IN VIRI

Aceves, J. J., Rueda-Orozco, P. E., Henandez-Martinez, R., Galarraga, E. in Bargas, J. (2011). Bidirectional plasticity in striatonigral synapses: a switch to balance direct and indirect basal ganglia pathways. *Learning & Memory*, 18(12), 764-773.

Andre, C. M., Hausman, J-F. in Guerriero, G. (2016). Cannabis sativa: The Plant of the Thousand and One Molecules. *Frontiers in Plant Science*, 7(19), 1-17.

Basal Ganglia (2009). Pridobljeno 1. 8. 2017, s <http://www.neuroanatomy.wisc.edu/coursebook/motor2.pdf>

Benarroch, E. (2007). Endocannabinoids in basal ganglia circuits: implications for Parkinson disease. *Neurology*, 69(3), 306-309.

Braak, H., Del Tredici, K., Rüb, U., de Vos, R. A. I., Jansen Steur, E. N. H. in Braak, E. (2003). Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease, *Neurology of Aging*, 24(2003), 197-211.

Braak, H., Ghebremedhin, E., Rüb, U., Bratzke, H. in Del Tredici, K. (2004). Stages in the development of Parkinson's disease-related pathology. *Cell and Tissue Research*, 2004(318), 121-134.

Brotchie, J. M. (2003). CB₁ cannabinoid receptor signalling in Parkinson's disease. *Current Opinion in Pharmacology*, 3(1), 54-61.

Bzdok, D., Laird, A. R., Zilles, K., Fox, P. T. in Eickhoff, S. B. (2013). An investigation of the structural, connectional, and functional subspecialization in the human amygdala. *Human Brain Mapping*, 34(12), 3247-3266.

Cabeza-Arvelaiz, Y., Fleming, S. M., Richter, F., Masliah, E., Chesselet, M.F. in Schiest, R. H. (2011). Analysis of striatal transcriptome in mice overexpressing human wild-type alpha-synuclein supports synaptic dysfunction and suggests mechanisms of neuroprotection for striatal neurons. *Molecular Neurodegeneration*, 6(83), 1-16.

Carpenter, H. (2012). The hyperdirect pathway. Pridobljeno 1. 8. 2017, s <https://apackofneurons.wordpress.com/tag/hyperdirect-pathway/>

Carrillo-Mora, P., Silva-Adaya, D. in Villaseñor-Aguayo, K. (2013). Glutamate in Parkinson's disease: Role of antiglutamatergic drugs. *Basal Ganglia*, 3(3), 147-157.

Centonze, D., Finazzi-Agrò, A., Bernardi, G. in Maccarrone, M. (2007). The endocannabinoid system in targeting inflammatory neurodegenerative diseases. *Trends in Pharmacological Sciences*, 28(4), 180-187.

Chadchankar, H., Ihalainen, J., Tanila, H. in Yavich, L. (2011). Decreased reuptake of dopamine in the dorsal striatum in the absence of α -synuclein. *Brain Research*, 13(8), 37-44.

Chen, Q., Thorpe, J. in Keller, J. N. (2005). α -Synuclein Alters Proteasome Function, Protein Synthesis, and Stationary Phase Viability. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(34), 30009-30017.

Choi, I. Y., Anthony Jalin, A. M., Lee, D. I., Prather, P. L. in Kim, W. K. (2013). Activation of cannabinoid CB₂ receptor-mediated AMPK/CREB pathway reduces cerebral ischemic injury. *The American Journal of Pathology*, 182(3), 928-939.

Concannon, R. M., Okine, B. N., Finn, D. P. in Dowd, E. (2015). Differential upregulation of the cannabinoid CB₂ receptor in neurotoxic and inflammation-driven rat models of Parkinson's disease. *Experimental Neurology*, 269(2015), 133-141.

Concannon, R. M., Okine, B. N., Finn, D. P. in Dowd, E. (2016). Upregulation of the cannabinoid CB₂ receptor in environmental and viral inflammation-driven rat models of Parkinson's disease. *Experimental Neurology*, 283(2016), 204-212.

Cooper, A. A., Gitler, A. D., Cashikar, A., Haynes, C. M., Hill, K. J., Bhullar, B., Liu, K., Xu, K., Strathearn, K. E., Liu, F., Cao, S., Caldwell, K. A., Caldwell, G. A., Marsischky, G., Kolodner, R. D., LaBaer, J., Rochet, J.-C., Bonini, N. M. in Lindquist, S. (2006). α -Synuclein Blocks ER-Golgi Traffic and Rab1 Rescues Neuron Loss in Parkinson's Models. *National Institutes of Health*, 313(5785), 324-328.

Coskuner, O. in Wise-Scira, O. (2013). Structures and free energy landscapes of the A53T mutant-type α -synuclein protein and impact of A53T mutation on the structures of the wild-type α -synuclein protein with dynamics. *American Chemical Neuroscience*, 4(7), 101-113.

Could Dopaminergic Neurons Be Regrown In Parkinsons Patients? (2016). Pridobljeno 30. 7. 2017, s <https://longevityreporter.org/blog/2016/2/14/could-dopaminergic-neurons-be-regrown-in-parkinsons-patients>

Dando, I., Donadelli, M., Costanzo, C., Dalla Pozza, E., D'Alessandro, A., Zolla, L. in Palmieri, M. (2013). Cannabinoids inhibit energetic metabolism and induce AMPK-dependent autophagy in pancreatic cancer cells. *Cell Death & Disease*, 2013(4), 1-10.

Dauer, W. in Przedborski, S. (2003). Parkinson's Disease: Mechanisms and Models. *Neuron*, 2003(39), 889-909.

Davie, C. A. (2008). A review of Parkinson's disease. *British Medical Bulletin*, 86(1), 109-127.

Devane, W. A., Dysarz, F. A., Johnson, M. R., Melvin, L. S. in Howlett, A. C. (1998). Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Molecular Pharmacology*, 34(5), 605-613.

Dr. James Parkinson. (2006). London: Parkinson's Disease Society of the United Kingdom. Pridobljeno 13. 7. 2017, s https://web.archive.org/web/20060202113723/http://www.parkinsons.org.uk/shared_asp_files/uploadedfiles/%7B16DEE646-F585-4AC2-A1D4-AA40D22ABD5F%7D_jamesparkinson.pdf

Drevenšek, G. (2007). Molekularne osnove nevrodegeneracije: Parkinsonova bolezen. [PowerPoint]. Pridobljeno s <https://www.famnit.upr.si/sl/sis/>

Duarte, J.M, Ferreira, S. G., Carvalho, R. A., Cunha R. A. in Köfalvi, A. (2012). CB₁ receptor activation inhibits neuronal and astrocytic intermediary metabolism in the rat hippocampus. *Neurochemistry International*, 60(1), 1-8.

Duvoisin, R. in Sage, J. (1996). *Parkinson's disease: a guide for patient and family*. New York: Lippincott-Raven.

Ebrahimi-Fakhari, D., Wahlster, L. in McLean, P. J. (2011). Molecular Chaperones in Parkinson's Disease – Present and Future. *National Institutes of Health*, 1(4), 299-320.

Ebrahimi-Fakhari, D., Wahlster, L. in McLean, P. J. (2012). Protein degradation pathways in Parkinson's disease: curse or blessing. *Acta Neuropathologica*, 124(2), 153-172.

Endokanabinoidi in kanabinoidni receptorji. (2017). Pridobljeno 23. 7. 2017, s <https://hempika.si/endokanabinoidi-in-kanabinoidni-receptorji/>

Erman, A. in Jezernik, K. (2010). Avtofagija in njena vloga v zdravju in bolezni. *Medicinski razgledi*, 2010(1), 77-88.

Fagan, S. G. in Campbell, V. A. (2014). The influence of cannabinoids on generic traits of neurodegeneration. *British Journal of Pharmacology*, 171(6), 347-360.

Farkas, S., Nagy, K., Jia, Z., Harkany, T., Palkovits, M., Donohou, S. R., Pike, V. W., Halldin, C., Mathe, D. in Csiba, L. (2012). The decrease of dopamine D₂/D₃ receptor densities in the putamen and nucleus caudatus goes parallel with maintained levels of CB₁ cannabinoid receptors in Parkinson's disease: A preliminary autoradiographic study with the selective dopamine D₂/D₃ antagonist [3H]raclopride and the novel CB₁ inverse agonist [125I]SD7015. *Brain Research Bulletin*, 87(6), 504-510.

Ferjan, I., Kržan, M., Lipnik-Štangelj, M., Žiberna, L., Stanovnik, L. in Černe, K. (2015). Farmakologija kanabinoidov. *Farmaceutski vestnik*, 2015(84), 456-471.

Fernández-Ruiz, J., García, C., Sagredo, O., Gómez-Ruiz, M. in de Lago, E. (2010). The endocannabinoid system as a target for the treatment of neuronal damage *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 14(4), 387-404.

Fernández-Ruiz, J., Romero, J., Velasco, G., Tolón, R. M., Ramos, J. A. in Guzmán, M. (2007). Cannabinoid CB₂ receptor: a new target for controlling neural cell survival?. *Trends in Pharmacological Sciences*, 28(1), 39-45.

Fidaleo, M., Fanelli, F. in Moreno, S. (2014). Neuroprotective properties of peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR α) and its lipid ligands. *Current Medicinal Chemistry*, 21(24), 2803-2821.

Filloux, F. M. (2015). Cannabinoids for pediatric epilepsy? Up in smoke or real science?. *Translational Pediatrics*, 4(4), 271-282.

Fine, P. G. in Rosenfeld, M. (2013). The Endocannabinoid System, Cannabinoids, and Pain. *Rambam Maimonides Medical Journal*, 4(4), 1-15.

Fornai, F., Schlüter, O. M., Lenzi, P., Gesi, M., Ruffoli, R., Ferrucci, M., Lazzeri, G., Busceti, C. L., Pontarelli, F., Battaglia, B., Pellegrini, A., Nicoletti, F., Ruggieri, S., Paparelli, A. in Südhof, T. C. (2005). Parkinson-like syndrome induced by continuous MPTP infusion: Convergent roles of the ubiquitin-proteasome system and α -synuclein. *Proceedings of the National Academy of Science*, 102(9), 3413-3418.

Fukaya C. in Yamamoto T. (2015). Deep brain stimulation for Parkinson's disease: recent trends and future direction. *Neurologia medico-chirurgica*, 55(5), 422-431.

García, M. C., Cquina, V., Palomo-Garo, C., Rábano, A. in Fernández-Ruiz, J. (2015). Identification of CB₂ receptors in human nigral neurons that degenerate in Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*, 587(2015), 1-4.

García-Arencibia, M., García, C., Kurz, A., Rodríguez-Navarro, J. A., Gispert-Sánchez, S., Mena, M. A., Auburger, G., de Yébenes, J. G. in Fernández-Ruiz, J. (2009). Cannabinoid CB₁ receptors are early downregulated followed by a further upregulation in the basal ganglia of mice with deletion of specific park genes. *Journal of Neural Transmission Supplementa*, 2009(73), 269-275.

García-Arencibia, M., González, S., de Lago, E., Ramos, J. A., Mechoulam, R. in Fernández-Ruiz, J. (2007). Evaluation of the neuroprotective effect of cannabinoids in a rat model of Parkinson's disease: importance of antioxidant and cannabinoid receptor-independent properties. *Brain Research*, 34(1), 162-170.

Georgije, D. (2011). Bazalni gangliji in njihova funkcija. Pridobljeno 1. 8. 2017, s <http://www.kobz.si/si/Seminarji/Bazalni%20gangliji%20in%20njihova%20funkcija.pdf>

Gorka, S. M., Fitzgerald, D. A., de Wit, H. in Phan, K. L. (2015). Cannabinoid Modulation of Amygdala Subregion Functional Connectivity to Social Signals of Threat. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2015, 1–6.

Gorka, S. M., Phan, K. L., Lyons, M., Mori, S., Angstadt M. in Rabinak, C. A. (2016). Cannabinoid Modulation of Frontolimbic Activation and Connectivity During Volitional Regulation of Negative Affect. *Neuropsychopharmacology*, 2016(41), 1888-1869.

Gowran, A., Noonan, J. in Campbel, V. A. (2011). The multiplicity of action of cannabinoids: implications for treating neurodegeneration. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 17(6), 637-644.

Grotenhermen, F. in Müller-Vahl, K. (2012). The Therapeutic Potential of Cannabis and Cannabinoids. *Deutsches Ärzteblatt International*, 109(29-30), 495-501.

Hayakawa, K., Mishima, K., Nozako, M., Ogata, A., Hazeckawa, M., Liu, A. X., Fujioka, M., Abe, K., Hasebe, N., Egashira, N., Iwasaki, K. in Fujiwara, M. (2007). Repeated treatment with cannabidiol but not Delta9-tetrahydrocannabinol has a neuroprotective effect without the development of tolerance. *Neuropharmacology*, 52(4), 1079-1087.

Heumann, R., Moratalla, R., Herrero, M. T., Chakrabarty, K., Drucker-Colin, R., Garcia-Montes, J. R., Simola, N. in Morelli, M. (2014). Dyskinesia in Parkinson's disease: mechanisms and current non-pharmacological interventions. *Journal of Neurochemistry*, 130(4), 472-489.

Heyn, S. N. (2016). Parkinson's disease. Pridobljeno 20. 7. 2017, s http://www.medicinenet.com/parkinsons_disease/article.htm

Hipp, J. F. in Siegel, M. (2015). BOLD fMRI Correlation Reflects Frequency-Specific Neuronal Correlation. *Current Biology*, 25(10), 1368-1374.

Huntington's disease. *Current Pharmaceutical Design*, 14(23), 2317-2325.

Hurley, M. J., Mash, D. C. in Jenner, P. (2003). Expression of cannabinoid CB₁ receptor mRNA in basal ganglia of normal and parkinsonian human brain. *Journal of Neural Transmission*, 110(11), 1279-1288.

Jeon, P., Yang, S., Jeong, H. in Kim, H. (2011). Cannabinoid receptor agonist protects cultured dopaminergic neurons from the death by the proteasomal dysfunction. *Anatomy & Cell Biology*, 44(2), 135-142.

Južnič Sotlar, M. (2016). Zdravljenje parkinsonove bolezni. Pridobljeno 11. 7. 2017, s <http://www.viva.si/Nevrologija/13812/Zdravljenje-parkinsonove-bolezni>

Khan, B. A., Warner, P. in Wang, H. (2014). Antibacterial Properties of Hemp and Other Natural Fibre Plants: A Review. *BioResources*, 9(2), 3642-3659.

Kingsbury, A. E., Bandopadhyay, R., Silveira-Moriyama, L., Ayling H., Kallis, C., Sterlacci, W., Maeir, H., Poewe, W. in Lees, A. J. (2010). Brain Stem Pathology in Parkinson's Disease: An Evaluation of the Braak Staging Model. *Movement Disorders*, 25(15), 2508-2515.

Klumpers, L. E., Cole, D. M., Khalili-Mahani, N., Soeter, R. P., te Beek, E. T. Rombouts, S. A. in van Gerven, J. M. (2012). Manipulating brain connectivity with $\delta 9$ tetrahydrocannabinol: A pharmacological resting state fMRI study. *NeuroImage*, 63(2012), 1701-1711.

Lastres-Becker, I., Cebeira, M., de Ceballos, M. L., Zeng, B.-Y., Jenner, P., Ramos, J. A. in Fernández-Ruiz, J. J. (2001). Increased cannabinoid CB₁ receptor binding and activation of GTP-binding proteins in the basal ganglia of patients with Parkinson's syndrome and of MPTP-treated marmosets. *European Journal of Neuroscience*, 14(11), 1827-1832.

Lastres-Becker, I., Molina-Holgado, F., Ramos, J. A., Mechoulam, R. in Fernández-Ruiz, J. (2005). Cannabinoids provide neuroprotection against 6-hydroxydopamine toxicity *in vivo* and *in vitro*: relevance to Parkinson's disease. *Neurobiology of Disease*, 19(1), 96-107.

Le Foll, B., Gorelick, D. A. in Goldberg, S. R. (2009). The future of endocannabinoid-oriented clinical research after CB₁ antagonists. *Psychopharmacology*, 205(1), 171-174.

Lee, M.-Y. in Trojanowski, J. Q. (2006). Mechanisms of Parkinson's Disease Linked to Pathological α -Synuclein: New Targets for Drug Discovery. *Neuron*, 2006(52), 33-38.

López-Jiménez, A., Walter, N. A. R., Giné, E., Santos, A., Echeverry-Alzate, V., Bühler, K.-M., Olmos, P., Giezendanner, S., Moratalla, R., Montoliu, L., Buck, K. J. in López-Moreno A. J. (2013). A spontaneous deletion of α -synuclein is associated with an increase in CB₁ mRNA transcript and receptor expression in the hippocampus and amygdala: effects on alcohol consumption. *National Institutes of Health*, 67(6), 1-17.

Lopez-Rodriguez, M. L., Viso, A., Ortega-Gutierrez, S., Fowler, C. J., Tiger, G., de Lago, E., Fernández-Ruiz, J. in Ramos, J. A. (2003). Design, synthesis and biological evaluation of new endocannabinoid transporter inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 38(4), 403-12.

Macher, R., Burke, T. W. in Owen, S. S. (2012). Synthetic Marijuana. Pridobljeno 23. 7. 2017, s <https://leb.fbi.gov/2012/may/synthetic-marijuana>

Maison, P., Walker, D. J., Walsh, F. S. Williams, G. in Doherty, P. (2009). BDNF regulates neuronal sensitivity to endocannabinoids. *Neuroscience Letters*, 467(2), 90-94.

Marsicano, G., Goodenough S., Monory, K., Hermann, H., Eder, M., Cannich, A., Azad, S. C., Cascio, M. G., Gutiérrez, S. O., van der Stelt, M., López-Rodriguez, M. L., Casanova,

E., Schütz, G., Zieglgänsberger, W., Di Marzo, V., Behl, C. in Lutz, B. (2003). CB₁ cannabinoid receptors and on-demand defense against excitotoxicity. *Science*, 302(2003), 84-88.

Marsicano, G., Moosmann, B., Hermann, H., Lutz, B. in Behl, C. (2002). Neuroprotective properties of cannabinoids against oxidative stress: role of the cannabinoid receptor CB₁. *Journal of Neurochemistry*, 80(3), 448-456.

Martin, B. R., Mechoulam, R. in Razdan, R. K. (1999). Discovery and characterization of endogenous cannabinoids. *Life Sciences*. 65 (6-7): 573-595.

McNaught, K. P., Belizaire, R., Isacson, O., Jenner, P. in Olanow, C. W. (2003). Altered Proteasomal Function in Sporadic Parkinson's Disease. *Experimental Neurology*, 179(2003), 38-46.

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

Meyer, J. S. in Quenzer, L. F. (2005). *Psychofarmacology: Drugs, the Brain, and Behavior*. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.

Morales, P., Hurst, D. P. in Reggio, P. H. (2017). Molecular Targets of the Phytocannabinoids-A Complex Picture. *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*, 103-131.

More, S., Koppula, S., Kim, I.-S., Kumar, H., Kim, B. in Choi, D.-K. (2012). The role of bioactive compounds on the promotion of neurite outgrowth. *Research Gate*, 2012(17), 6728-6753.

Morera-Herreras, T., Miguelez, C., Aristieta, A., Ruiz-Ortega, J. A. in Ugedo, L. (2012). Endocannabinoid modulation of dopaminergic motor circuits, *Frontiers in Pharmacology*, 3(110), 1-7.

Mounsey, R. B., Mustafa, S., Robinson, L., Ross, R. A., Riedel, G., Pertwee, R. G. in Teismann, P. (2015). Increasing levels of the endocannabinoid 2-AG is neuroprotective in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. *Experimental Neurology*, 273(2015), 36-44.

Mrak, R. E. in Griffin, W. S. T. (2005). Glia and their cytokines in progression of neurodegeneration. *Neurobiology of Aging*, 26(3), 349-354.

Olanow, C. W. (2015). Levodopa: effect on cell death and the natural history of Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 30(1), 37-44.

Orellana, J. A., Bernhardt, R., Giaume, C. in Saez, J. C. (2012). Glial hemichannels and their involvement in aging and neurodegenerative diseases. *Reviews in the Neuroscience*, 23(2), 163-178.

Osredkar, J. (2012). Oksidativni stres. *Zdravniški vestnik*, 81(5), 393-406.

Pagan, J., Seto, T., Pagano, M. in Cittadini, A. (2013). Role of the Ubiquitin Proteasome System in the Heart. *Circulation Research*, 112(7), 1046-1058.

Pazos, M. R., Sagredo, O. in Fernández-Ruiz, J. (2008). The endocannabinoid system in

Pertwee, R. (2014). Neurodegenerative Disorders Other Than Multiple Sclerosis. R. Pertwee (ur.), *Handbook of Cannabis (505-525)*. Oxford: Oxford University Press.

Pertwee, R. G. (2006). Cannabinoid pharmacology: the first 66 years. *British Journal of Pharmacology*, 147, 163-171.

Pertwee, R. G. (2012). Targeting the endocannabinoid system with cannabinoid receptor agonists: pharmacological strategies and therapeutic possibilities. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 2012(367), 3353-3363.

Pisani, V., Moschella, V., Bari, M., Fezza, F., Galati, S., Bernardi, G., Stanzione, P., Pisani, A. in Maccarrone, M. (2010). Dynamic changes of anandamide in the cerebrospinal fluid of Parkinson's disease patients. *Movement Disorders*, 25(7), 920-924.

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

Rom, S. in Persidsky, Y. (2013). Cannabinoid receptor 2: Potential role in immunomodulation and neuroinflammation Review. *The Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 8(3), 608-620.

Russo, E. B. (2011). Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology*, 163(7), 1344-1364.

Russo, E. B. in Hohmann, A. (2013). Role of Cannabinoids in Pain Management. *Research Gate*, 181-197.

Sánchez, A. J. in García-Merino A. (2012). Neuroprotective agents: cannabinoids. *Clinical Immunology*, 142(1), 57-67.

Scalzo, P., Kummer, A., Bretas, T. L., Cardoso, F. in Teixeira, A. L. (2010). Serum levels of brain-derived neurotrophic factor correlate with motor impairment in Parkinson's disease. *Journal of Neurology*, 257(4), 540-545.

Scotter, E. L., Abood, M. E., Glass, M. (2010). The endocannabinoid system as a target for the treatment of neurodegenerative disease. *British Journal of Pharmacology*, 160(2010), 480-498.

Shohami, E., Cohen-Yeshurun, A., Magid, L., Algali, M. in Mechoulam, R. (2011). Endocannabinoids and traumatic brain injury. *British Journal of Pharmacology*, 163(7), 1402-1410.

Shouman, B., Fantaine, R. H., Baud, O., Schwendimann, L., Keller, M. in Spedding, M. (2006). Endocannabinoids potently protect the newborn brain against AMPA-kainate receptor-mediated excitotoxic damage. *British Journal of Pharmacology*, 148(4), 442-51.

Skaper, S. D. in Di Marzo, V. (2012). Endocannabinoids in nervous system health and disease: the big picture in a nutshell. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 7(1), 193-200.

Sofroniew, M. (2005). Reactive astrocytes in neural repair and protection. *The Neuroscientist*, 11(5), 400-407.

Stefanis, L. (2012). α -Synuclein in Parkinson's Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(2), 1-23.

Stella, N. (2010). Cannabinoid and cannabinoid-like receptors in microglia, astrocytes, and astrocytomas. *Glia*, 58(3), 1017-1030.

Stella, N., Schweitzer, P in Piomelli, D. (1997). A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature*, 6(4), 773-778.

Stokes, P. R., Egerton, A., Watson, B., Reid, A, Breen, G., Lingford-Hughes, A., Nutt, D. J. in Mehta, M. A. (2010). Significant decreases in frontal and temporal [11C]-raclopride binding after THC challenge. *NeuroImage*, 52(4), 1521-1527.

Širca, S. (2013). Parkinsonova bolezen – pravočasno in ustrezno zdravljenje lahko pomembno izboljša kakovost življenja. Pridobljeno 20. 7. 2017, s <http://www.nasalekarna.si/clanki/clanek/parkinsonova-bolezen-pravocasno-in-ustrezno-zdravljenje-lahko-pomembno-izboljsa-kakovost-zivl/>

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

Taurisano, P., Antonucci, L. A., Fazio, L., Rampino, A., Romano, R., Porcelli, A., Masellis, R., Colizzi, M., Quarto, T., Torretta, S., Di Giorgio, A., Pergola, G., Bertolino, A. in Blasi, G. (2016). Prefrontal activity during working memory is modulated by the interaction of variation in CB₁ and COX2 coding genes and correlates with frequency of cannabis use. *Cortex*, 2016(81), 231-238.

Tostovršnik, K. (2007). *Motnje gibanja in ravnotežja pri Parkinsonovi bolezni*. Pridobljeno 13. 7. 2017, s <http://www.trepetlika.si/upload/pdf/1270654447.pdf>

Turner, H., Chueh, D., Ortiz, T., Stokes, A. J. in Small-Howard, A. L. (2017). Cannabinoid Therapeutics in Parkinson's Disease: Promise and Paradox. *Journal of Herbs, Spices & Medical Plants*, 23(3), 231-248.

Uporaba konoplje v medicini. (2014). Pridobljeno 20. 7. 2017, s http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/publikacijedatoteke/uporaba_konoplje_v_medicini.pdf.

Van der Stelt, M. in Di Marzo, V. (2003). The endocannabinoid system in the basal ganglia and in the mesolimbic reward system: implications for neurological and psychiatric disorders. *European Journal of Pharmacology*, 480(3), 133-50.

Vasant More, S. in Choi, D.-K. (2015). Promising cannabinoid-based therapies for Parkinson's disease: motor symptoms to neuroprotection. *Molecular Neurodegeneration*, 2015, 1-26.

Vázquez, C., Tolón, R. M., Pazos, M. R., Moreno, M., Koester, E. C., Cravatt, B. V., Hillard, C. J. in Romero, J. (2015). Endocannabinoids regulate the activity of astrocytic hemichannels and the microglial response against an injury: *in vivo* studies. *Neurobiology of Disease*, 79(2015), 41-50.

Vendel, E. in de Lange, E. C. (2014). Functions of the CB₁ and CB₂ receptors in neuroprotection at the level of the blood-brain barrier. *NeuroMolecular Medicine*, 16(3), 620-642.

Ventriglia, M., Zanardini, R., Bonomini, C., Zanetti, O., Volpe, D., Pasqualetti, P., Gennarelli, M. in Bocchio-Chiavetto, L. (2013). Serum brain-derived neurotrophic factor levels in different neurological diseases. *BioMed Research International*, 2013, 1-7.

Walter, C., Oertell, B. G., L, Felden, L., Kell, C. A., Nöth, U., Vermehren, J., Kaiser, J., Deichmann, R. in Lötsch, J. (2016). Brain Mapping-Based Model of Δ^9 - Tetrahydrocannabinol Effects on Connectivity in the Pain Matrix. *Neuropsychopharmacology*, (2016)41, 1659–1669.

Watson, J. (2013). Autophagy – the housekeeper in every cell that fights aging. Pridobljeno 14. 8. 2017, s <http://www.anti-agingfirewalls.com/2013/04/19/autophagy-the-housekeeper-in-every-cell-that-fights-aging-2/>

What are Cannabinoids? (2015). Pridobljeno 13. 8. 2017, s <http://www.leafscience.com/2015/10/23/cannabinoids/>

Ziemka-Nałęcz, M. in Zalewska, T. (2012). Endogenous neurogenesis induced by ischemic brain injury or neurodegenerative diseases in adults. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 72(4), 309-24.