

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra etologie a zájmových chovů



**Vliv trvalého užívání THC v různých fázích ontogeneze na
kognitivní schopnosti potkanů**

Bakalářská práce

Autor práce: Kamila Petruš

Obor studia: speciální chovy

Vedoucí práce: Ing. Milena Santariová, Ph.D.

© 2020 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Vliv trvalého užívání THC v různých fázích ontogeneze na kognitivní schopnosti potkanů" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 16.7.2020

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala své vedoucí práce Ing. Mileně Santariové, Ph.D. za odborné vedení a konzultace, dále svým blízkým přítelkyním za morální podporu při studiu, ve chvílích, kdy ony již svých cílů dosáhly, mne motivovaly na mé cestě ke vzdělání. Dále své rodině za finanční podporu během mého studia, a za to, že mi dala prostor pro dosažení vzdělání a ne zvolila negativní přístup k mé delší než standardní době studia. Jsem vděčna, že ve mně budovala vztah ke zvířatům, neodrazovala mne od oboru a věřila mi, že v něm zůstanu i nadále v rámci zaměstnání. Z celého srdce děkuji svému zesnulému otci, který se pohyboval v oboru zemědělství celý život a vášnivě se mnou probíral mé nově nabyté vědomosti.

Vliv trvalého užívání THC v různých fázích ontogeneze na kognitivní schopnosti potkanů

Souhrn

THC je hlavní psychoaktivní látka obsažená v konopí, která působí na organismus prostřednictvím endokanabinoidního systému skrze CB receptory. Práce je přehledem současných poznatků týkajících se možných vlivů THC na kognitivní a behaviorální schopnosti potkanů. Hodnocení probíhalo v rámci krátkodobé a dlouhodobé paměti, projevu emocí, agresivity, sociálního chování a vzniku averze vůči THC. Zhodnoceny byly ovlivněné mozkové oblasti, fyziologické mechanismy a zejména se věnovala pozornost srovnávání věkových skupin, konkrétně skupiny adolescentních jedinců a dospělců. Práce měla za úkol přinést ucelený pohled na potenciální rizikovost užívání THC u dospívajících, jakožto ohrožené skupiny, neboť v dospívajícím organismu dochází k řadám vývojových změn mozkových struktur, což ho činí zranitelnějším.

THC i další kanabinoidy mají vliv na poškození krátkodobé i dlouhodobé paměti a to ve větší míře u adolescentních jedinců. Významnou mozkovou strukturou, která má vysoký počet CB receptorů a zodpovídá za paměť je hipokampus. U něj bylo často zaznamenáno narušení funkčnosti. Emocionalita po podání kanabinoidů taktéž vykazovala změny, byla ovlivněna zejména úzkost. Výsledky v tomto případě nebyly jednoznačné, kanabinoidy působily anxiogenně i anxiolyticky a to v závislosti na dávce, věku a pohlaví. Výsledky u sociálního chování nasvědčují tomu, že THC má účinky tlumit sociální chování v běžných situacích i při projevu agresivity, a to v obou věkových skupinách. Jako poslední byla zhodnocena averze ve vztahu k THC. Obecně způsobovalo užívání THC i dalších kanabinoidů averzivní chování, ale při srovnání věkových skupin, byla zaznamenána větší míra averze ze strany dospělých. To zároveň podporuje obecný úkaz, že mezi lidmi se kouření marihuany hojně vyskytuje hlavně u adolescentů.

Na základě poznatků lze vyvodit, že THC má vliv na chování a na poli kognice významně ovlivňuje adolescentní skupiny. Mechanismus ovlivnění spočívá ve schopnosti kanabinoidů narušovat přirozený tok neurotransmiterů a tím modulovat synaptický přenos.

Klíčová slova: potkan, THC, endokanabinoidní systém, CB1 receptory, synaptický přenos, kognitivní schopnosti, paměť, úzkost, sociální chování, averze

Effect of long-term usage of THC on various phases of ontogenesis on cognitive abilities of rats

Summary

THC is the primary psychoactive constituent of cannabis, which affects the organism through the endocannabinoid system and CB receptors. This work is the review of current knowledge of possible effects of THC on the cognitive and behavioural abilities of rats. The effects were evaluated in terms of short and long-term memory, displays of emotions, aggression, social behaviour and onset of aversion to THC. The affected parts of brain were also examined along with physiological mechanisms responsible, especially in different age groups (adolescent and adult). This thesis should present a comprehensive overview of potential risks of THC use in adolescents, who are a risk group and therefore more threatened.

THC and other cannabinoids are responsible for damage to short-term and long-term memory, with greater effect on adolescent individuals. Important brain structure connected with memory, which possesses a high concentration of CB receptors, is the hippocampus. Hippocampal activity has frequently been disrupted. Emotional response after cannabinoid introduction has also been affected, especially in terms of anxiety. The results weren't unambiguous in this case, cannabinoids had both anxiolytic and anxiogenic effects depending on the dosage, age and sex. In social behavior it seems that THC can suppress social interactions in normal conditions as well as during instances of aggression in both age groups. The last examined factor was THC and aversion. In general, THC and other cannabinoids caused aversive behavior but more so in adult specimens than in adolescents. This supports the phenomenon that marijuana smokers are mostly found among the adolescent age group.

Based on these findings it can be concluded that THC influences behavior and cognition significantly in adolescent groups. The mechanism is based on the cannabinoid ability to disrupt natural flow of neurotransmitters and therefore modulate synaptic transmissions.

Keywords: rat, THC, endocannabinoid system, CB1 receptors, synaptic transmission, cognitive abilities, memory, anxiety, social behavior, aversion

Obsah

1 Úvod	7
2 Cíl práce	8
3 Literární rešerše	9
3.1 Konopí	9
3.1.1 Botanické zařazení a obecná charakteristika rostliny.....	9
3.1.2 Látky v konopí	9
3.1.3 Využití a vlastnosti.....	9
3.2 Neurofyziologický základ	11
3.2.1 Nervová soustava	11
3.2.2 Endokanabinoidní systém, ovlivněné mozkové struktury.....	13
3.3 Vliv THC na kognitivní schopnosti	14
3.3.1 Krátkodobá paměť	14
3.3.2 Dlouhodobá paměť.....	21
3.3.2.1 LTP a plasticita	22
3.3.2.2 Prostorová paměť	24
3.4 Vliv THC na behaviorální projevy	29
3.4.1 Emoce, anxiogenní a anxiolytické účinky	29
3.4.2 Sociální chování, agrese	34
3.4.3 Averse vůči THC	37
4 Závěr	39
5 Literatura	41
6 Seznam použitých zkratk a symbolů	57

1 Úvod

Marihuana je dnes již běžné označení pro sušené samičí květy konopí. Tato droga je populární především pro své psychoaktivní účinky, přičemž její nejznámější psychoaktivní látka je kanabinoid THC (Adams & Martin 1996; McGilveray 2005; Armentano 2015). V mnoha vyspělých zemích je považována za nejčastěji užívanou nelegální drogu a to hlavně mezi mladistvými (Hall & Solowij 1998; Hall et al. 1999; United Nations 2018), kdy je užívána především pro občasné rekreační účely (Hall & Weier 2015). Vystává otázka, zda tato droga působí stejně na dospělé jako na vyvíjející se organismus mladistvých a zda míra užívání má vliv na potenciální poškození organismu.

Mimo jiné má konopí i léčebné účinky a je využíváno pro průmyslové využití, např. při výrobě textilií (Armentano 2015), díky svým vlastnostem je pěstováno a využíváno již tisíce let, přičemž kořeny sahají do Číny, odkud se přes Asii a Blízký Východ dostalo do Afriky, následně Evropy a Ameriky (Miovský et al. 2008).

Pro své negativní i pozitivní účinky se marihuana stává podnětem rozporu, zda by se měla legalizovat či ne, případně v jaké míře (Armentano 2015; Hasin et al. 2015; McGinty et al. 2017). Pro ucelenost pohledu jsou důležité právě výsledky výzkumů týkající se vlivu THC a dalších konopných látek na organismus. V této práci je sledován vliv THC na chování potkanů, ale jsou zde zmíněny i poznatky ze studií jiných živočišných druhů a člověka. Potkan je všeobecně považován za optimální výzkumný objekt pro svá pozitiva jako laboratorního zvířete. Takovými vlastnostmi jsou například nenáročnost na prostor a péči, krátký generační interval a početný vrh, disponuje bystrostí, která je vítaná při demonstraci kognitivních výzkumů. Zároveň je zvíře sociální, a proto se na něm mohou aplikovat i pokusy týkající se sociálního chování. Také je ideální pro výzkumy, které využívají tkáň post mortem (Bartoš et al. 2014), které se samozřejmě z etických důvodů u člověka nedají provádět. V mnoha pracích se zohledňují právě výsledky sesbírané až po smrti zvířete.

2 Cíl práce

Cílem bakalářské práce bylo zhodnotit, do jaké míry intenzivní užívání THC může změnit kognitivní schopnosti a behaviorální projevy laboratorních potkanů na základě neurostrukturálních změn způsobených podáváním THC. Zároveň práce posuzovala, zda měl věk, ve kterém byla látka podávána, vliv na rozsah účinků - konkrétně se zaměřuje na období adolescence a dospělosti.

3 Literární rešerše

3.1 Konopí

3.1.1 Botanické zařazení a obecná charakteristika rostliny

Konopí se dříve řadilo do čeledi kopřivovité (*urtitaceae*), dále bylo přeřazeno mezi morušovité (*mareaceae*), po bližších výzkumech zařazeno do samostatné čeledi konopovitých (*cannabaceae*). Nejznámější a nejrozšířenější druh je konopí seté, dále konopí indické a méně známé konopí rumištní s menším obsahem THC. Pro léčivé a opojné užívání se proto používají především první dva zmíněné druhy. Dále je zmiňováno již jen konopí seté (Miovský et al. 2008).

Konopí patří mezi dvoudomé rostliny. Silný stonek, který má charakter lodyhy může dosahovat až do výšky několika metrů. Charakteristické kopinaté listy mají dlanité členění, při dozrávání opadávají. Samčí rostliny dozrávají dříve a květy vytvářejí velké množství pylu. Samičí květy jsou výraznější než samčí, mají hroznovitý tvar a po opylení vzniká plod - semeno. Konopí je spíše teplomilná rostlina s potřebou dostatku vody a živin (Miovský et al. 2008; Small & Cronquist 2019).

3.1.2 Látky v konopí

V konopí bylo identifikováno více než 530 látek (Miovský et al. 2008), do nichž patří aminokyseliny, proteiny, cukry, terpeny, kanabinoidy, flavonidy, vitamíny, hydrouhličitan, alkoholy, pigmenty a další (Grotenhermen 2009). Kanabinoidů, které jsou nejvýznamnější aktivní látky této rostliny, je přes 60. Nejznámějším kanabinoidem je THC, tetrahydrokanabinol, je to nejvíce prozkoumaná psychoaktivní látka a v konopí nejvíce koncentrovaná (Miovský et al. 2008). Dalšími významnými kanabinoidy jsou např.: CBG, kanabigerol; CBC, kanabichromen; CBD, kanabidiol; CBN, kanabinol. Obvykle se v rostlině nacházejí 3-4 kanabinoidy, ostatní typy rostlina neobsahuje vůbec, nebo jen ve stopovém množství (Grotenhermen 2009). Největší koncentraci kanabinoidů mají neoplozené samičí rostliny, proto se pěstují odděleně s úsilím zabránit jejich opylení (Adams & Martin 1996; Grotenhermen 2009). Kanabinoidy mohou být přítomny i ve formě kyselin, například kyselina tetrahydrokanabinolová (THCA), kyselina kanabidiolová (CBDA) a další, které se degradací přeměňují na kanabinoidy samotné (Mander & Liu 2010).

3.1.3 Využití a vlastnosti

Pro své psychoaktivní účinky se konopí nejčastěji využívá jako droga, k rekreačním účelům, navození opojného stavu. Nejznámější formy jsou marihuana - sušina ze samičích květů a okvětních lístků (takzvaných palic), popřípadě i listů (Miovský et al. 2008) s obsahem THC 0.5-5 % (Adams & Martin 1996), dále hašiš - koncentrovanější, ve formě stlačené pryskyřice (Grotenhermen 2009) s obsahem THC 2-20 % (Adams & Martin 1996), a hašišový olej (Grotenhermen 2009), který může obsahovat 15-50 % THC (Adams & Martin 1996). Z těchto produktů se vyrábí konopné cigarety, takzvané „jointy“ (McGilveray 2005; Miovský

et al. 2008), které se kouří, nebo se konopí používá jako náplň do dýmek. Další inhalační metodou je používání vaporizérů (Miovský et al. 2008).

Zdá se, že těžcí kuřáci marihuany mohou zvýšit absorbované množství THC, což je přičítáno efektivnějším technikám kouření. Důležitá pro přenos THC je doba vdechování, objem vdechnutí a zadržení dechu po inhalaci. Obvykle uživatelé inhalují se snahou o hluboký vdech, který zadrží, aby maximalizovali účinky konopí (Agurell et al. 1986).

Jiný způsob podání je perorální, často jako součást pečiva, či odvar z mléka (Miovský et al. 2008). Musí se brát v potaz, že THC je lipofilní (Garrett et al. 1974) a podle toho vybrat správné ingredience obsahující tuky, aby se THC uvolnilo a dostavily se žádoucí účinky. Sublinguální a rektální aplikace se používá spíše pro léčebné účely (Miovský et al. 2008). Při inhalaci (kouření) je sice poměrně velká část THC zničena pyrolýzou (Pomahacova et al. 2009), ale relativně vysoká biologická dostupnost (od 18 % do 50 %) (Huestis 1999) je důvodem, proč je tento způsob užití preferován (Iversen 2000). Při orálním podání se vstřebá až 95 % THC (Lemberger et al. 1972), přičemž systémově je dostupných pouhých 4-12 % (McGilveray 2005).

Typické účinky akutního užití jsou relaxace, euforie (Green et al. 2003), zkreslení vnímání času (Sewell et al. 2013), změny vnímání sebe sama, okolí i běžných sensorických vjemů (Carlini et al. 2004; D'Souza et al. 2009) a hyperfagie (přejídání se) (Darmani et al. 2005). Při požití v sociálním prostředí může dojít k vyvolání infekčního smíchu (Ashton 1999). Dále v době intoxikace dochází k ovlivnění krátkodobé paměť, reakčního doby, pozornosti a motorických dovedností (Crean et al. 2011). Nejčastější nepříjemné vedlejší účinky spojené s užíváním konopí jsou úzkost a panické reakce (Carlini et al. 2004). Účinky se ve větší míře objevují u začínajících či méně zkušených kuřáků, u zkušených uživatelů se dostaví spíše při překročení běžné dávky (Crean et al. 2011). Kouření konopí nebo požití THC zvyšuje srdeční frekvenci a krevní tlak během několika minut a tento účinek trvá až několik hodin (Volavka et al. 1973; Sidney et al. 2002). K akutní toxicitě dochází zřídka, nejsou podloženy případy úmrtí z důvodu otravy konopím a dávka THC potřebná ke způsobení 50% úmrtnosti u hlodavců je extrémně vysoká ve srovnání s jinými běžně používanými drogami (Phillips et al. 1971; Gable et al. 2004). Následky dlouhodobého užívání mohou být respirační potíže, zvýšené riziko rakoviny, vznik závislosti či ovlivnění mnohých kognitivních funkcí (Hall & Solowij 1998).

Léčivé účinky konopí využívali už před tisíci lety v Číně (Armentano 2015). V dnešní době jsou účinky hlouběji prozkoumané a v některých zemích je možné legálně získat konopné léky na předpis lékaře. THC je antibiotické, snižuje nevolnost, zvyšuje chuť k jídlu, snižuje horečku, zmírňuje bolest a působí proti křečím atd. (Grotenhermen 2009). CBD působí protizánětlivě, protiepilepticky, snižuje nitrooční tlak, uklidňuje a na rozdíl od konopí nepůsobí psychoaktivně (Grotenhermen 2009; Fasinu et al. 2016). Léčivé účinky se dají očekávat i od ostatních kanabinoidů, ty však nebyly ještě tak hluboce prostudovány (Grotenhermen 2009). Konopné látky působí prospěšně a tlumí vedlejší účinky u mnoha nemocí, např. Alzheimerovy choroby, rakoviny, zeleného zákalu a u mnoha dalších (Grotenhermen 2009; Armentano 2015).

3.2 Neurofyziologický základ

3.2.1 Nervová soustava

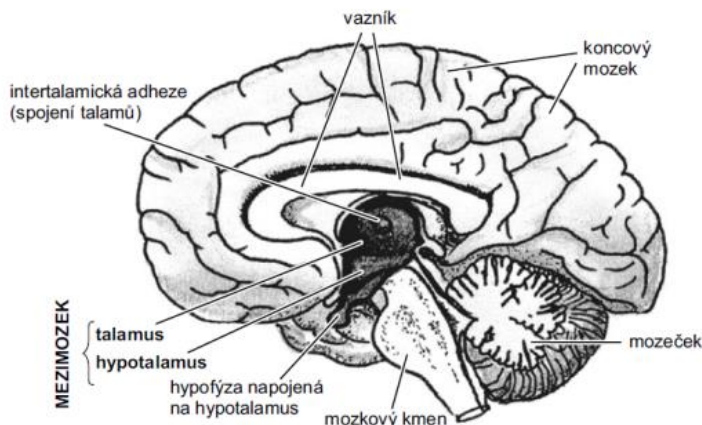
K pochopení složitějších fyziologických mechanismů, které jsou zmiňovány v pozdějším textu, je zde popsána základní stavba a funkce nervové soustavy. Nervová soustava je tvořena nervovými buňkami (neurony) a synapsemi, které neurony vzájemně propojují. Kromě samotných neuronů existují i podpůrné buňky, takzvané (neuro)glie. Úkolem neuronů je zpracovávat, rozvádět a upravovat informace, činí tak pomocí elektrických potenciálů. Ty se při dostatečné síle a množství šíří nervovými vlákny dál. Schopnost přenášet signál dál je závislý na permeabilitě plazmatické membrány neuronu. Přenos probíhá v synapsích a je zprostředkován pomocí chemických látek, nazývaných (neuro)transmitery, mediátory či přenašeči, ty se nacházejí v presynaptické části ve váčcích známých jako vezikuly (Orel & Procházka 2017).

Příchozí akční potenciál, který postupuje po nervových buňkách, podmíní tok vápníkových iontů, které iniciují přesun vezikul k membráně a vylití transmitterů do synaptické štěrbině. Neurotransmitery se dostávají k membráně postsynaptického útvaru, kde se nacházejí specifické receptory a interagují s nimi. Výsledkem může být právě změna propustnosti membrány, tedy hlavní děj, který způsobuje změnu potenciálu. Může dojít k dvěma způsobům změny membránového potenciálu, excitačnímu postsynaptickému potenciálu (EPSP) a inhibičnímu postsynaptickému potenciálu (IPSP). EPSP zvyšuje možnost dalšího přenosu, šíření akčního potenciálu, zatímco IPSP iniciuje klidovou polarizaci, v podstatě uklidnění buňky. Mediátory způsobují i jiné děje, například aktivaci buněčných proteinů, které spouští metabolické reakce. Dochází k nitrobuňčným reakcím, aktivaci genů, enzymů, produkci látek, ovlivnění produkce dalších transmitterů (Trojan 2005; Orel & Procházka 2017).

Mediátory se váží na specifické receptory, není to však tak, že by každý náležel pouze k jedinému receptoru, nýbrž se váží na celou jim náležící skupinu. Konkrétní receptor pak zprostředkovává konkrétní reakci. Zároveň je důležité říci, že na na psychických funkcích se podílí více než jeden mediátor i když významnost jednoho většinou převažuje. Schopnost převádět informace, sekreci transmitterů a ovlivňování dalších neurálních buněk mají podle nových výzkumů i podpůrné buňky, konkrétně astrocyty čili astroglie Nejznámějšími neurotransmitery jsou glutamát, hlavní excitační transmitter, důležitý pro správnou funkci paměti, acetylcholin, spojený s kognitivními funkcemi, ale také ovlivňuje funkci vnitřních orgánů a pohyb kosterních svalů, stimulační adrenalin a noradrenalin se podílejí na emočním prožívání a řízení orgánů, dopamin má vliv na psychické stavy, emoce a prožívání, GABA (gama-aminomáselná kyselina) a glycin jsou známé svými inhibičními účinky, a serotonin působí zejména na emoce a vnímání bolesti (Lezak 2012; Orel & Procházka 2017).

Mozek se skládá z mozkového kmene, mozečku, mezimozku a koncového mozku. Mozkový kmen je uložen v zadní jámě lební, ovlivňuje vědomí a bdělost, má zásadní funkci na řízení vitálních funkcí a reflexů. Mozeček se také nachází v zadní jámě lební a to nad mozkovým kmenem. Jeho dominantní funkcí je řízení pohybu, ale podílí se i na kognitivních funkcích jako učení a řešení problémů a má vliv na vnímání. Mezimozek je uložen v centrální části mozku. Dělí se na talamus a hypotalamus. Talamus zpracovává informace ze všech

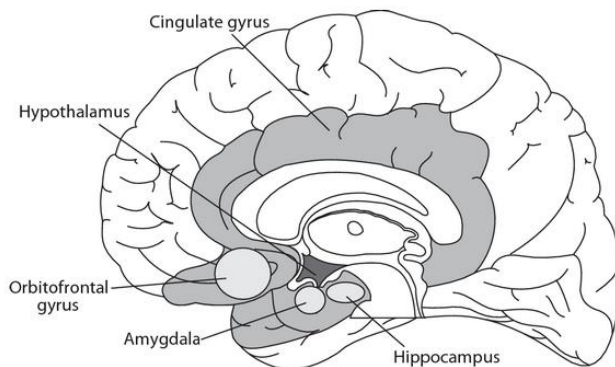
smyslových orgánů (kromě čichového), ale i z vnitřního prostředí těla. Řídí mnohé motorické a autonomní funkce, zasahuje svým působením i do mozkové kůry, má tedy vliv i na vědomí. Hypotalamus má za úkol řídit homeostázu (udržování stálosti vnitřního prostředí) a řídí funkce vnitřních orgánů. Umístění částí mozku lze vidět na Obr. 1. (Reece 2011; Orel & Procházka 2017).



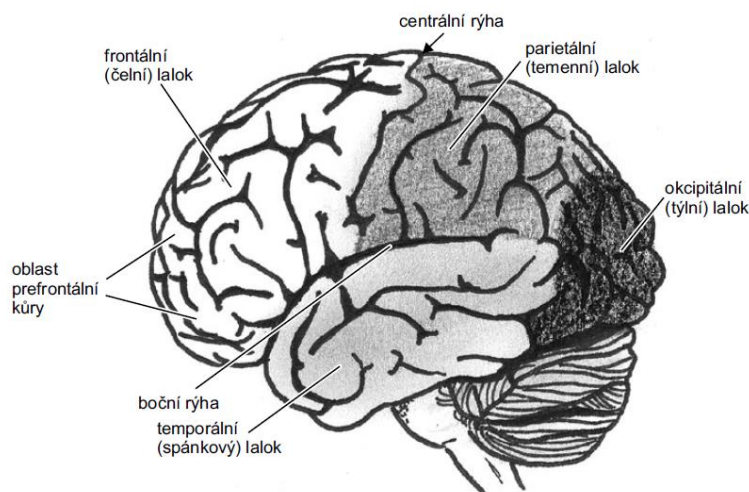
Obr. 1: Stavba mozku – mozkový kmen, mozeček, mezimozek a koncový mozek (Orel & Procházka 2017)

Koncový mozek je nejobemnější částí mozku, skládá ze dvou hemisfér a většinu tvoří mozková kůra formovaná šedou hmotou. Dalšími útvary šedé hmoty koncového mozku jsou podkorové struktury - bazální jádra neboli ganglia a části limbického systému. U koncového mozku rozlišujeme několik laloků (čelní – frontální, spánkový – temporální, temenní – parietální, týlní – okcipitální a ne všemi uznávaný ostrovní – inzulární). Čelní lalok ovládá motorické funkce, umožňuje sledování objektů, analýzu pachů, u lidí má vliv na řeč. Významnou částí čelního laloku je prefrontální kůra, která zabírá poměrně velkou část laloku a je propojena s mnohými částmi mozku, proto má z hlediska funkce širší a komplexnější rozsah. Ovlivňuje krátkodobou paměť, strategické, konceptuální a flexibilní myšlení, řešení problémů, pozornost, prožívání, motivace, emoční stránku, chování a jeho kontrolu, u lidí dále i utvoření integrity a osobnosti, morálku atd. Spánkový lalok zpracovává zrakové a sluchové signály a informace a ukládá je do paměti. Má vliv na emoční stav, řízení chování a paměť, za což zodpovídají z velké části hipokampus a amygdala, což jsou součásti zmíněného limbického systému (který přesahuje do dalších částí mozku, např. propojení s hypotalamem). Limbický systém se dá těžko omezit na jednotné části mozku a funkce, jedná se o složité komplexní mechanismy, za které ve společné interakci zodpovídají mnohé mozkové útvary. Zjednodušeně řečeno, jedná se o zpracování informací, doprovázených emočními stavy a fyzickými projevy, vytváření paměťových stop, orientaci a reakce. Limbický systém je zobrazen na Obr. 2 (Orel & Procházka 2017).

Funkcí temenní laloku je zpracování zrakových a somatosenzorických informací. Komunikací s prefrontální kůrou se podílí na chování, vzniku emocí, motivaci a pozornosti vyvolané zrakovými či somatosenzorickými podněty. Týlní lalok primárně zpracovává zrakové informace. Ostrovní lalok, neboli inzula, se nachází pod ostatními laloky, má menší význam než ostatní laloky a zpracovává smyslové vjemy. Rozdělení mozkové kůry je znázorňeno na Obr. 3 (Orel & Procházka 2017).



Obr. 2: Limbický systém (Cingulate gyrus – cingulární kortex, tj. spodní část kůry mozkové, hypothalamus – hypothalamus, orbitofrontal gyrus – orbitofrontální kortex, tj. část prefrontální kůry, amygdala, hippocampus – hipokampus) (Roxo et al. 2011)



Obr. 3: Mozkové laloky (Orel & Procházka 2017)

3.2.2 Endokanabinoidní systém, ovlivněné mozkové struktury

Účinná látka konopí tetrahydrokanabinol (THC), se váže na CB receptory, které jsou součástí endokanabinoidního systému. Tento fyziologický systém je přítomen u všech obratlovců a mnohých nižších živočichů. Slouží k regulaci a udržování zdraví organismu. Jedná se o soustavu receptorů, která je rozmístěna po celém těle, hlavně však v nervové soustavě, orgánech, žlázách (CB1 receptory) a imunitním systému (CB2 receptory) (Armentano 2015). Receptory se nacházejí na povrchu buněk (Grotenhermen 2009) a jsou spřaženy s G - proteinem (Cravatt & Lichtman 2004, Mackie 2006), což je vnitrobuněčný protein, který se po navázání kanaboidu na CB receptor naváže na jeho vnitřní stranu a následně spustí kaskádu vnitrobuněčných reakcí (Orel & Procházka 2017).

CB receptory na sebe váží endokanabinoidy, které si tělo vytváří samo, např. anandamid a 2- arachidonoylglycerol (2 – AG). Podle místa výskytu působí endokanabinoidy různými způsoby, avšak mají společný cíl a to homeostázu (udržování stabilního vnitřního prostředí). Konkrétněji endokanabinoidní soustava například ovlivňuje komunikaci a spolupráci mezi

buňkami, zpomalují vedení bolestivých vzruchů a zánětlivých procesů, má vliv na sekreci neurotransmiterů (Armentano 2015), chování, koordinaci, chuť k jídlu a další. Receptory dokáží vázat kromě endokannabinoidů i vstřebané fyto-kannabinoidy (kannabinoidy rostlinného původu) a syntetické kannabinoidy (Grotenhermen 2009).

CB1 receptory, které jsou významně ovlivňovány v mozkové oblasti se nacházejí zejména v mozečku, mozkové kůře, bazálních gangliích, hipokampu, amygdale a mezolimbickém systému (Gessa et al. 1998; Tsou et al. 1998). Mezolimbický systém je dopaminergní dráha (spojena s produkcí dopaminu), která propojuje ventrální tegmentální oblast (samostatná jednotka buněk v oblasti středního mozku), nucleus accumbens a striatum (části bazálních ganglií), čichový bulbus (vychlípená část od čelního laloku), ovlivňuje emoce a vnímání odměn (Ayano 2016).

Umístění CB1 receptorů koresponduje s klinickými projevy intoxikace THC jako jsou ovlivnění paměti (hipokampus), motorické koordinace (mozeček) a emocí (amygdala) atd. (Dar 2000; Wise et al. 2009; Bhattacharyya et al. 2017).

Naopak poměrně nízký je výskyt CB1 receptorů v thalamu a centrech mozkového kmene, která zodpovídají za kontrolu respiračních a kardiovaskulárních funkcí, což by mohlo být důvodem, proč nejsou ani velmi vysoké dávky kannabinoidů smrtelné, např. narozdíl od opiátů (Herkenham et al. 1990; Mailleux & Vanderhaeghen 1992).

CB1 receptory jsou umístěny presynapticky i postsynapticky, podle toho jestli se vyskytují na presynaptickém či postsynaptickém útvaru synapse. Mechanismem účinku kannabinoidů je jejich agonismus, agonista je látka, která je schopna se navázat na vazebné místo, v našem případě CB receptor, a spustit reakci, naopak antagonistu reakci nespouští. Kannabinoidy se podílejí na synaptické plasticitě, to znamená, že aktivace receptorů CB1 způsobuje krátkodobé nebo dlouhodobé změny v účinnosti synaptického přenosu, což vede k schopnosti regulovat vyplavování neurotransmiterů a excitabilitu (tj. schopnost podráždění neuronu) (Salio et al. 2002; Grotenhermen 2003; Mackie 2006).

Vývoj endokannabinoidního systému u potkanů probíhá po narození do šedesátého postnatálního dne, tedy v období dospívání. Proto by brzká expozice kannabinoidům mohla vést k trvalým neurobiologickým změnám (Belue et al. 1995).

3.3 Vliv THC na kognitivní schopnosti

3.3.1 Krátkodobá paměť

Paměť je schopnost organismu ukládat a vybavovat si informace získané osobními zkušenostmi. Každá zkušenost může formovat takzvanou paměťovou stopu a tato stopa může postupně zeslabit až vymizet, nebo se může naopak upevnit (Nadel & Moscovitch 1997). Jedná se o složitý proces, při němž je využíváno najednou propojení více oblastí mozku, právě to lze označit za již zmíněnou paměťovou stopu. Ty se v závislosti na typu paměti ukládají ve specifických částech mozku (Klenerová & Hynie 2010).

Základem paměti i učení je plasticita mozku, tedy schopnost tvořit funkční i strukturální změny (Orel & Procházka 2017). Neuronální spojení - synapse - jsou ovlivňovány na základě zkušeností, což působí fyziologické změny, které jsou právě označovány jako synaptická

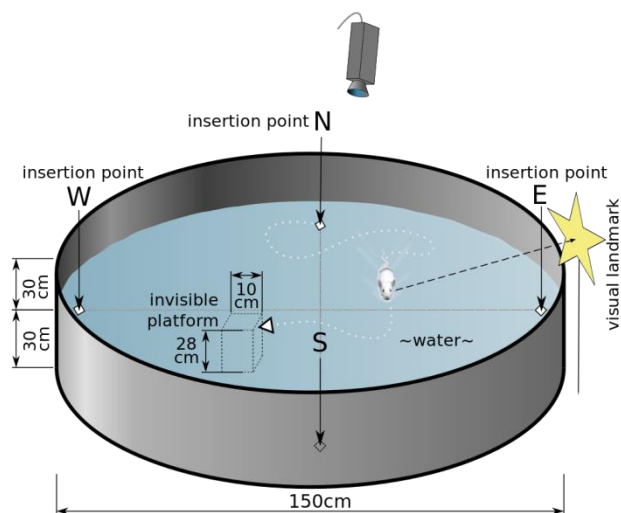
plasticita (Lu & Gottschalk 2000; Bramham & Messaoudi 2005). Paměť je tedy změna synaptické síly - jak snadno akční potenciál v jednom neuronu excituje nebo inhibuje svou cílovou buňku (Stuchlik 2014). Jednoduše řečeno - se v mozku vytvoří nové spojení neuronů (Klenerová & Hynie 2010). Základními strukturami související s pamětí jsou hipokampus, amygdala, mozeček, striatum (část bazálních ganglií) a mozková kůra (Hynie & Klenerová 2010).

Krátkodobá paměť je schopnost vybavení si informace během krátkého intervalu po jejím uložení. K uchování informace dochází pouze na přechodnou dobu (Rusina 2004). V případě že je krátkodobá paměť využívána pro řešení aktuálního problému, se nazývá jako pracovní (Hynie & Klenerová 2010). Krátkodobá paměť je považována za pracovní za předpokladu, že se s ní dále po vystavení se stimulu pracuje. Vyžaduje aktivní a vědomou účast a lze ji shrnout jako kombinaci pozornosti, koncentrace a krátkodobé paměti (Klenerová & Hynie 2010). Uchování informace probíhá v řádu sekund až minut a není-li posilována, tedy nedochází-li k opakovanému vystavování se informaci, tak vymizí. Kdyby docházelo k aktivnímu či pravidelnému vystavování se stimulu, pravděpodobně by se informace uložila do paměti dlouhodobé (Hynie & Klenerová 2010). Krátkodobá paměť využívá tzv. fonologické klíčky a optickoprostorového náčrtníku, jedná se o mechanismy, které udržují sluchové, zrakové a prostorové informace v paměti, než je vystřídají jiné. U lidí např. umožňuje naučit se řadu několika čísel na časově omezenou dobu (Klenerová & Hynie 2010).

Mnohé studie prokázaly, že marihuana, resp. její základní psychoaktivní složka THC nebo jiné syntetické kanabinoidy (CP-55 940 nebo WIN-55 212-2) (Han et al. 2000; Avdesh et al. 2013) zhoršují paměť u zvířat (Essman 1984; Nakamura et al. 1991) i u lidí (Miller & Branconnier 1983). Receptory CB1 se nacházejí primárně v centrálním nervovém systému, s nejvyššími koncentracemi v hipokampu, mozečku, amygdale a bazálních gangliích, tedy oblastech, které jsou stěžejní pro paměťové funkce (Herkenham et al. 1990; Herkenham et al. 1991; Jansen et al. 1992; Mailleux & Vanderhaeghen 1992).

Bylo experimentálně potvrzeno, že kanabinoidy mají schopnost narušit paměť a jiné látky mají po následném podání naopak schopnost eliminovat tento negativní účinek. SR141716A je vysoce účinný antagonist receptoru CB1 (Rinaldi-Carmona et al. 1994). Má schopnost zvrátit mnoho biochemických, fyziologických a behaviorálních účinků agonistů kanabinoidního receptoru, tedy i THC (Rinaldi-Carmona et al. 1994; Mansbach et al. 1996; McGregor et al. 1996a), proto je používán v mnoha studiích zabývajících se účinky kanabinoidů, prostřednictvím endokanabinoidní soustavy. Tato látka byla použita ve studii Malletta & Beningera (1998a), kde ji podávali potkanům spolu s THC a endogenním kanabinoidem anandamidem. THC i anandamid způsobily poškození krátkodobé paměti u potkanů. Zvířata absolvovala úkol, kdy měla zmáčknout danou páčku podle toho, jestli byla vystavena zvukovému nebo světelnému stimulu. Následně bylo podáno SR141716A, které zmírnilo vyvolané poškození. Jelikož je SR141716A antagonist, tedy látka, která se váže na stejný receptor, ale nespouští reakci, tak byly jeho působením účinky kanabinoidů zvráceny. Můžeme si situaci představit tak, že zaujmul postavení dosud navázaných kanabinodů v místě vazby – na receptoru CB1. Ty následně přestaly působit a antagonist další poškození nezpůsobil. Tento jev potvrzuje schopnost kanabinodů narušit paměť a to prostřednictvím CB1 receptorů. Ti samí autoři prokázali narušení pracovní paměť THC a anandamidem, již v dřívější studii (Mallet & Beninger 1996).

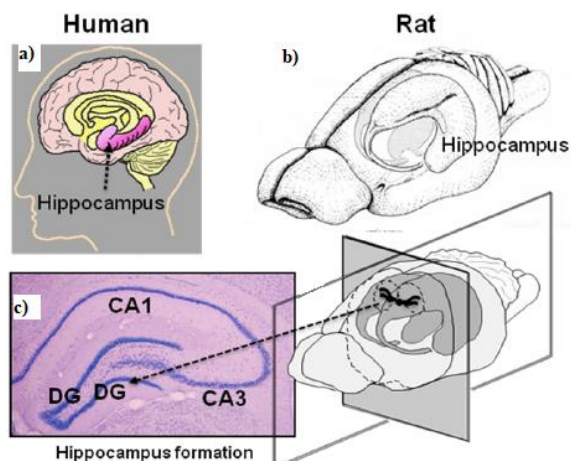
I v další studii Varvel et al. (2001) potvrdili, že účinky kanabinoidů prostřednictvím CB1 receptorů hrají důležitou roli v poškození paměti, poněvadž antagonist SR141716A stejně jako ve výše zmíněných studiích byl schopen negativní účinky zvrátit. Byly zkoumány rozdílné účinky THC v úkolech týkajících se prostorové referenční a pracovní paměti a mechanismy těchto účinků v nervové soustavě. Referenční paměť lze označit jako dlouhodobou, ale s upřesněním, že se vztahuje k aktuální situaci na základě dřívějších zkušeností (Olton 1979). Varvel et al. (2001) použili dvě různé verze Morrisova vodního bludiště, viz Obr. 4. Jedná se o bazén, do kterého jsou zvířata umístěna a mají za úkol najít skrytý ostrůvek – platformu pod hladinou (Vorhees & Williams 2006).



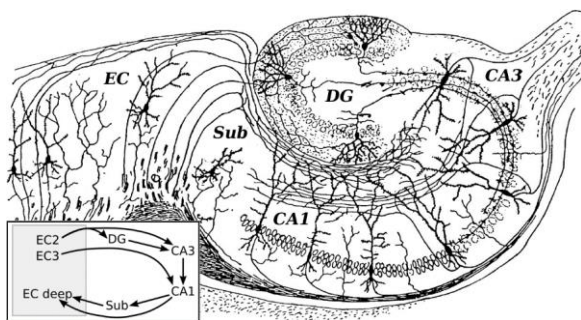
Obr. 4: Morrisovo bludiště (insert point – výchozí bod, N-sever, E – východ, S – jih, W– západ, invisible platform – skrytá platforma) (de Castell et al. 2015)

Sice je toto bludiště standardně používáno v testování referenční paměti (Vorhees & Williams 2006) a tato kapitola se věnuje paměti pracovní, tato studie (Varvel et al. 2001) byla i přesto zařazena, jelikož šlo o porovnání mezi nimi. Navíc byly obě verze bludišť upraveny tak, aby odpovídaly zkoumaným požadavkům. Pro vyjasnění - obsah pracovní paměti je úkolem jednoho pokusu, zatímco obsah referenční paměti musí být zachován v mnoha pokusech. V této souvislosti v testu na referenční paměť měla zvířata za úkol doplavat na platformu, která dlouhodobě zůstávala pro dané zvíře na stejném místě a bylo na toto místo vyškolen, jediné co se měnilo, byl výchozí bod, ze kterého zvíře začínalo. Zvířatům v testech pracovní paměti se naopak platforma měnila každé cvičení, po nalezení plošinky měla za úkol po třicetivteřinové pauze znovu nalézt plochu. Tímto způsobem se rozlišovaly úkoly pro dané oblasti paměti. Testy referenční paměti se tedy zakládaly na dlouhodobých předchozích zkušenostech, zatímco testy pracovní paměti měly zohlednit právě získané informace. Zkoumanými subjekty nebyli potkani, nýbrž myši. K narušení paměti došlo v obou případech, avšak THC narušilo výkon úlohy pracovní paměti při dávkách nižších (3 mg/kg), než jsou dávky nutné k narušení výkonu úlohy referenční paměti (100 mg/kg). Tyto výsledky tedy dokazují, že THC narušuje výkon úlohy pracovní paměti prostřednictvím mechanismu účinku receptoru CB1 a že tato narušení pracovní paměti jsou mnohonásobně citlivější/výraznější, než účinky na referenční paměť (Varvel et al. 2001).

Han et al. (2012) se ve své studii zaměřili na podrobnou lokalizaci CB1 receptorů v tkáni hipokampu a její roli při poškození pracovní paměti vlivem THC. Hipokampus má zásadní roli při zpracovávání dlouhodobé i krátkodobé paměti, proces ukládání i vybavení se připisuje hlavně jeho regionům CA3 – CA1 (Montgomery & Buzsaki 2007), viz Obr. 5 a Obr. 6.



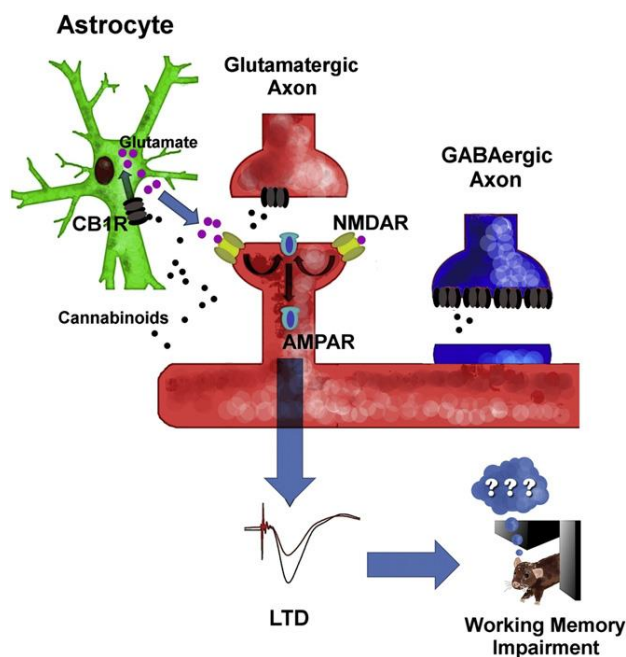
Obr. 5: a – lokalizace hipokampu u lidí, b – lokalizace u potkana, c – lokalizace CA1 a CA3 buněk (Soya et al. 1975)



Obr. 6: Anatomie hipokampu (Cajal 1911)

Právě tomuto úseku se věnovali Han et al. (2012) ve své studii. Opírali se o dosavadní zjištěné informace, že kanabinoidní receptory CB1 se nacházejí v GABAergních (produkující GABU) i glutamatergních (produkující glutamát) neuronech v hipokampální oblasti, kde hlavním účinkem receptorů je inhibice uvolňovaných neurotransmiterů (Herkenham et al. 1990; Kawamura et al., 2006; Marsicano & Lutz, 2006). Dále, již v dřívějších studiích bylo dokázáno, že kanabinoidy mají schopnost potlačit přenos na hipokampálních synapsích CA3-CA1 aktivací CB1 receptorů. Kanabinoidy indukované snížení přenosu může tedy souviset s poškozením pracovní paměti (Misner & Sullivan 1999; Hájos et al. 2001; Kawamura et al. 2006; Marsicano & Lutz 2006; Takahashi & Castillo 2006; Bajo et al. 2009). CB1 receptory se nalézají jak v neuronech tak i v hipokampálních astroglálních buňkách a jejich aktivace rovněž způsobuje modulaci synaptického přenosu (Navarrete & Araque 2010), tato informace je pro studii Han et al. (2012) zásadní. Ten ve studii použil tři kmeny myši s podmíněnou mutagenézí - úmyslnou dědičnou změnou DNA, která způsobila absenci CB1 receptorů na glutamatergních, GABAergních neuronech nebo na astroglích. Právě tyto podmínky bylo

potřeba nastolit, aby se identifikovalo, který typ nervových buněk má nebo nemá vliv na degradaci synaptických funkcí a následné poškození paměti. Postupně bylo každému kmenu myši podáno THC a byl podroben testu na pracovní paměť. THC způsobilo LTD (z anglického názvu „long-term depression“, čili dlouhodobou depresi, což je pojem pro dlouhodobé snížení účinnosti synaptického přenosu) u myši s redukovanými receptory na neuronech, ale nikoliv u myši, které měly zredukované receptory na astrocytech, což nasvědčuje aktivnímu zapojení astrocytů. K těmto souvislostem dochází mechanismem, který má následující sled událostí: kanabinoid aktivuje astroglální CB1 receptory, dojde k uvolnění gliotransmiteru - glutamátu, ten aktivuje receptory NMDA a AMPAR (tj. receptory, které jsou schopny vázat glutamát) na glutamatergím neuronu, což způsobí LTD a následuje poškození paměti. Schématické znázornění můžeme vidět na Obr. 7. Výsledky nasvědčují, že aktivace astroglálních CB1 receptorů (ale ne neuronálních CB1 receptorů) exogenními kanabinoidy zprostředkovává poškození pracovní paměti a LTD, čili redukcí účinnosti neuronálních synapsí CA3-CA1 v hipokampu. Tento experiment tedy zvyšuje významnost astroglálních CB1 receptorů a neuronální posouvá do pozadí (Han et al. 2012).

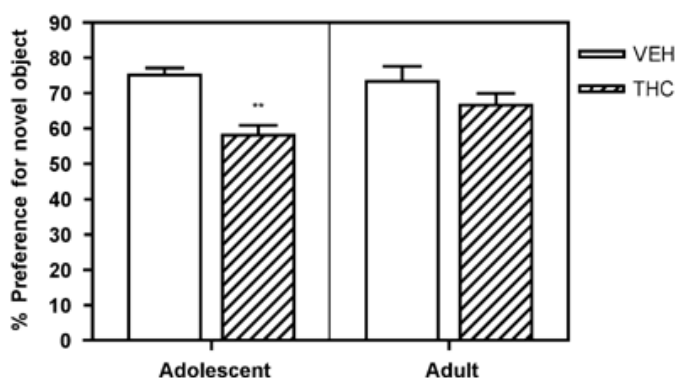


Obr. 7: Model LTD na CA3 – CA1 synapsích (Astrocyte – astrocyt, glutamate – glutamát, cannabinoids – kanabinoidy, glutamatergic axon – glutamatergický axon, GABAergic axon – GABAergický axon, Working memory impairment – poškození pracovní paměti) (Han et al. 2012)

Quinn et al. (2008) ve své studii zkoumali, zda má THC dlouhodobé účinky na pracovní paměť a to po ukončení užívání. Po dvou týdnech abstinence u potkanů užívajících THC bylo prokazatelné snížení explorativního chování u nových předmětů, přičemž u mladistvých ve větší signifikantní míře, viz Obr. 8. Výsledky tedy naznačují, že THC způsobuje residuální poškození pracovní paměti a to významněji u adolescentních potkanů než u dospělých. Potkani adolescentní (28 dní) a dospělé (60 dní) skupiny byli opakovaně vystavováni dávce 5

mg/kg THC a po dvou týdnech u nich byl proveden NOR test (z anglického „new object recognition – NOR“) -test rozpoznání nového objektu.

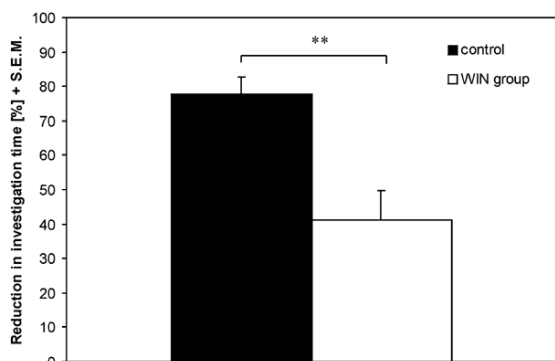
Tento test se často používá v experimentech týkajících se paměti a učení. Zvířata jsou vystavena novým předmětům v prvním sezení a v druhém je jim předložen jeden již známý a zároveň jeden nový předmět. V rámci experimentu je měřen čas strávený prozkoumáním nového předmětu. Test je založen na přirozených tendencích hlodavců prozkoumat neznámé objekty. Zvíře, které si pamatuje známý předmět, stráví více času zkoumáním nového. Menší míra explorativního chování tedy odpovídá většímu poškození učení a paměti. Frekvence a míra vystavení může být modifikována podle toho, jestli je účelem zkoumat krátkodobou či dlouhodobou paměť (Lueptow 2017).



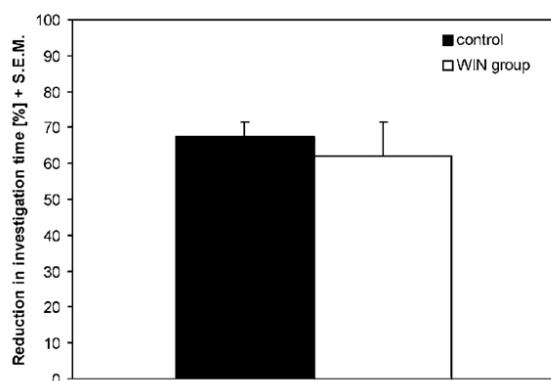
Obr. 8: Výsledky NOR (preference for novel object – preference nového předmětu, adolescent – adolescenti, adult – dospělí) (Quinn et al. 2008).

Schneider & Koch (2003) došli ve své studii prostřednictvím NOR testu k podobným výsledkům. Tato studie testovala, zda dlouhotrvající interakce kanabinoidů s vyvíjejícím se endogenním kanabinoidním systémem během puberty způsobuje přetrvávající změny u dospělých potkanů. Přičemž nebylo používáno THC, ale látka WIN 55 212-2, tedy syntetický kanabinoidní agonista a to v dávce 1,2 mg/kg. Zvířata byla rozdělena do dvou skupin, na mladistvé (40 dní) a dospělé (75-80 dní) a po dobu 25 dní jim bylo podáváno 20 injekcí WIN 55 212-2 nebo vehikulum. Vehikulum je označení většinou pro roztok, který se používá jako rozpoštědlo pro látku, která je zkoumána, ale zároveň se podává samotné a to kontrolní skupině, aby proběhla u všech jedinců stejná metodologie a kontrolní skupina zůstala neovlivněná. Vehikulum tedy nesmí mít vlastnosti, které by jakkoliv ovlivnily organismus, fyziologicky či v projevu chování a tím zkreslovaly výsledky experimentů (Evropská komise 2019). Během období 25 dnů nebyly injekce podávány pravidelně, potkani dostávali jednu, dvě nebo žádnou dávku denně, aby metodika napodobila nepravidelnou konzumaci u lidí. 20 dní po ukončení podávání látky byla zvířata podrobena testu NOR. Podávání WIN 55 212-2 zhoršilo poznávání pouze u skupiny, které byla látka podávána v adolescenci, výsledky se významně lišily od kontrolní skupiny (Obr. 9), u dospělé skupiny nebyl zaznamenán významný rozdíl v porovnání s kontrolní skupinou (Obr. 10). Jelikož je NOR test považován za vhodnou metodiku testující krátkodobou paměť a dospělá skupina nebyla významně ovlivněna, výsledky naznačují, že chronické podávání kanabinoidů v adolescenci vyvolává dlouhodobý deficit ve zpracování krátkodobých informací, a účinky přetrvávají i u zvířat,

kteřá již nejsou kanabinoidům vystavována. Puberta je tedy u potkanů zranitelným obdobím s ohledem na nepříznivé účinky kanabinoidů (Schneider & Koch 2003).



Obr. 9: Výsledky NOR u mladistvých (Reduction in investigation time – redukce času zkoumání, control – kontrolní skupina, WIN group – skupina ovlivněná WIN 55 212-2) (Schneider & Koch 2003)



Obr. 10: Výsledky NOR u dospělých (Reduction in investigation time – redukce času zkoumání, control – kontrolní skupina, WIN group – skupina ovlivněná WIN 55 212-2) (Schneider & Koch 2003)

Deficit v rozpoznávání objektů vlivem kanabinoidů může souviset se změnou dopaminergní (tj. týkající se uvolňování dopaminu) aktivity, protože i jiné látky a druh poškození, které způsobují změny v hladinách dopaminu, vedou k obdobnému narušení paměti. Dopaminergní změny s následným poškozením paměti při úkolech NOR u hlodavců byly zaznamenány např. po podání metamfetaminu (Herring et al. 2008) nebo kokainu (Giustino et al. 1998). Pracovní paměť byla narušena cíleným zvýšením dopaminergní aktivity i u opic (Murphy et al. 1996) a poškození paměti při rozpoznávání je rovněž prokázána u schizofrenických pacientů, což je také spojeno s abnormalitami v hladinách dopaminu (Dolan et al. 1995; Heckers et al. 2000; Crespo-Facorro et al. 2001; Doniger et al. 2002). U kanabinoidů byla tato schopnost regulovat přenos dopaminu již zaznamenána v řadě studií (Jianping et al. 1990; Jentsch et al. 1998a; Pistis et al. 2002), proto lze předpokládat, že změny v dopaminergním přenosu jsou možnou příčinou poškození v rozpoznávání objektů a dalších kognitivních funkcí.

Kromě studií, které poškození pracovní paměti vlivem THC potvrzují, se lze setkat i s takovými, které tvrdí opak. Např. Cousijn et al. (2014) se zabývali tím, zda existuje vztah mezi ovlivněním pracovní paměti v průběhu času u těžkých uživatelů konopí. Zároveň brali v potaz kombinační účinek užívání konopí a jiných návykových látek jako alkoholu, tabáku a psychotropních látek (kokainu, heroinu, amfetaminu, extáze). V rámci konopí byli účastníci ve věku 18 – 25 let rozděleni do tří skupin na užívající, abstinující a kontrolní skupinu neuživatelů a mezi všemi účastníky byli identifikováni i uživatelé dalších výše zmíněných látek. V testu na pracovní paměť jim byla promítána písmena ve třech kolech, a přičemž jejich úkolem bylo určit, zda se v druhém a třetím promítání objevilo písmeno z předešlého prvního kola. U uživatelů nebylo objeveno žádné poškození pracovní paměti spojené s konzumací konopí, nelišili se výsledky od kontrolní skupiny. Tak tomu bylo i v průběhu času, kdy po tříletém zopakování nebyl nalezen u těžkých uživatelů žádný významný deficit a zároveň nebyl potvrzen aditivní účinek jiných návykových látek. Významné rozdíly nebyly nalezeny mezi skupinami ani v průběhu času. Výsledky tedy naznačují, že funkčnost pracovní paměti těžkých uživatelů konopí u dospělých zůstává v průběhu času na normativních úrovních a to i navzdory užívání dalších návykových látek. Této studii by se dalo vytknout, že testovala osoby pouze v dospělém věku a nezahrnula možný účinek brzkého začátku užívání, poněvadž lidské studie, které zahrnují do svých výzkumů adolescenty nebo adolescentní nástup užívání, docházejí k poměrně odlišným výsledkům (Becker et al. 2010; Schweinsburg et al. 2010; Meier et al. 2012; Tervo-Clemmens et al. 2018).

3.3.2 Dlouhodobá paměť

Paměť je schopnost organismu ukládat a vybavovat informace získané osobními zkušenostmi a její podstatou je plasticita mozku, schopnost vyvářet nové synaptické spoje. Proces osvojení se přikládá spíše učení, zatímco hlavním úkolem paměti je přetrvávání stavu a následné vybavení, avšak je jasné, že bez učení by nemohla paměť existovat (Klenerová & Hynie 2010).

Paměť funguje na čtyřech základních principech. Uplatňujícími procesy jsou kódování, kdy mozek zpracuje příchozí informace, dále uložení informace, jedná se o dočasný záznam do paměti, poté konsolidace, z dočasného záznamu se stává dlouhodobý/trvalý a dochází k uložení. Vzniká takzvaný engram, známý pod pojmem paměťová stopa a má fyzický základ. Ve čtvrtém kroku přichází vybavení, při kterém je organismus schopen znovu použít tuto informaci. Může se tak dít jako samovolné vzpomnutí nebo jako vědomé vybavení v souvislosti s kontextem. Pro upevnění a stabilizaci paměti je důležité jak intenzivní vystavení stimulu tak zároveň i spánek (Klenerová & Hynie 2010; Roldan-Valadez et al. 2012).

Fyziologickým principem konsolidace je LTP „long-term potentiation“, tedy dlouhodobá potenciace. Jedná se o dlouhodobé stimulování neuronových spojů, při kterém dochází k intenzivnímu nárůstu synaptického přenosu mezi neurony. Při tomto procesu dochází k zesílení synaptické plasticity a to usnadňuje pozdější vybavení si informace. Opakem LTP je dlouhodobá deprese (LTD), při které dochází k oslabování synapsí (Hynie &

Klenerová 2010). Dlouhodobá paměť na rozdíl od krátkodobé trvá několik minut až let a je odolnější vůči zapomínání, (Klenerová & Hynie 2010).

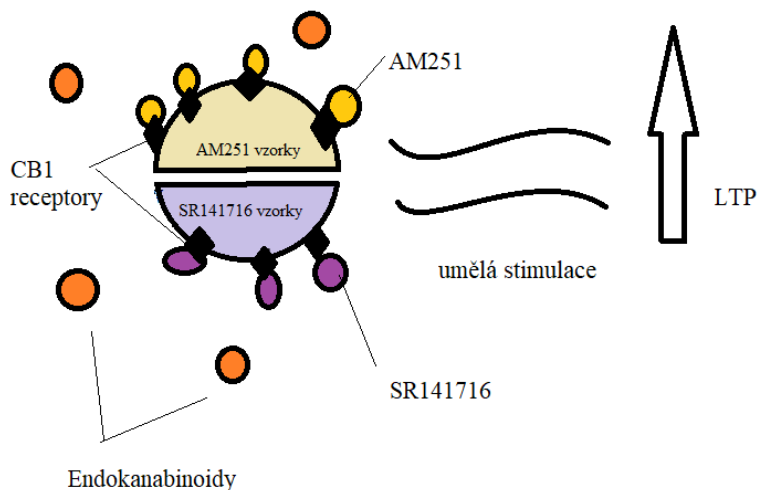
Dlouhodobá paměť se dělí na deklarativní (explicitní) a procedurální (implicitní). Deklarativní je uvědomělá, zahrnuje události a fakta. Procedurální zajišťuje zapamatování úkonů a dovedností, není při ní potřeba vědomého vybavení (Kulišťák 2003; Čáp & Mareš 2007).

3.3.2.1 LTP a plasticita

THC ovlivňuje fyziologické procesy prostřednictvím endokanabinoidního systému, působením na přirozeně vyskytující se CB receptory, endokanabinoidy a neurotransmitery (Felder & Glass 1998). S tím je v souladu i to, že konzumace marihuany je spojena s poruchami řady kognitivních a výkonnostních úkolů, včetně paměti, učení a pozornosti (Hampson & Deadwyler 1999), protože v hipokampu, který bývá převážně narušen vlivem kanabinoidů, a který je zapojen do procesu učení a paměti, je vysoké množství CB1 receptorů (Herkenham et al. 1990; Englund et al. 2012).

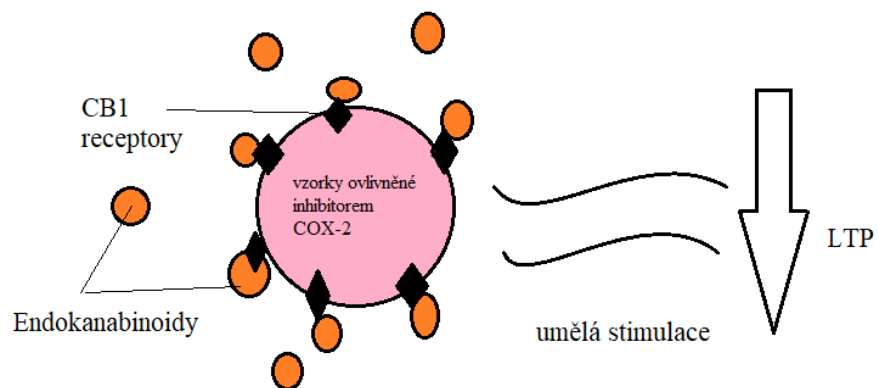
Ovlivnění LTP kanabinoidy může způsobit zmíněné poruchy kognitivních funkcí. Modulaci LTP dokládají mnohé důkazy, např. studie, kterou provedli Davies et al. (2002) na hipokampálních řezech, dokazuje, že exogenně aplikované kanabinoidy na CB1 receptory způsobují narušení LTP. Dále, blokací CB1 receptorů (buď prostřednictvím antagonisty nebo genetickou modifikací na absenci CB1 receptorů) došlo k zlepšení LTP v kůře mozkové a hipokampu u potkanů a myší (Auclair et al. 2000; Bohme et al. 1999).

Schopnost kanabinoidů snižovat excitační přenos prostřednictvím CB1 receptorů může být regulována látkou COX-2. COX-2 je forma cyklooxygenázy, enzymu přítomného v těle, jehož hladina se zvyšuje při patologických stavech. Nejčastěji je spjat se záněty, kdy katalyzuje metabolismus dalších látek (Crofford 1997) a podle nových výzkumů hraje roli v udržování homeostázy (Morita 2002). COX-2 má schopnost degradovat endokanabinoidy (Kozak et al. 2004) a naopak dojde-li k inhibici tohoto enzymu, následuje zesílení účinků endokanabinoidů (Kim & Alger 2004), oslabení LTP (Chen et al. 2002) a ovlivnění paměti (Teather et al. 2002; Rall et al. 2003). Na základě těchto vztahů mezi endokanabinoidy, COX-2 a LTP byla provedena studie Slaniny et al. (2005). Cílem bylo potvrdit, že hipokampální LTP vyvolaná mírnou stimulací bude usnadněna, pokud dojde k blokádě CB1 receptorů a inhibice COX-2 zeslabí LTP. Ve studii byly zkoumány řezy hipokampu, u kterých byla vyvolána umělá LTP pomocí vysokofrekvenčních stimulů, následně byla zaznamenávána synaptická odpověď ve vzorcích. Část vzorků byla předem ošetřena antagonistou SR141716 a inverzním agonistou AM251 (inverzní agonista se váže na stejný receptor, ale blokuje účinek původní látky, zároveň je možné inverzního agonistu blokovat antagonistou). SR141716 a AM251 zamezily navázání endokanabinoidů na CB1 receptory. Po vyvolání stimulace v těchto blokovaných vzorcích došlo k vysokému nárůstu hodnoty potenciace a tyto předem ošetřené řezy vykazovaly výrazně větší účinek, než byl pozorován u kontrolních vzorků. Z toho vyplývá, že blokáda CB1 usnadnila LTP. Viz Obr. 11.



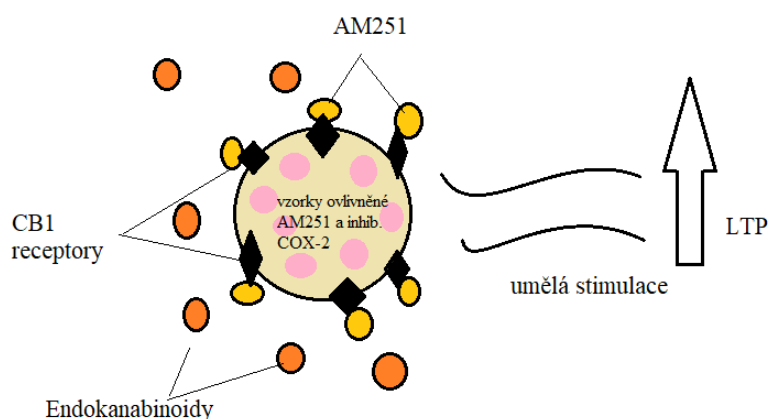
Obr. 11: Schéma ovlivnění vzorků u SR141716 a AM251 (vlastní nákres, podle Slanina et al. 2005).

Další část vzorků byla ošetřena látkou, která inhibuje COX-2. Po tomto zákroku došlo k posílení endokanabinoidů a zároveň k oslabení LTP. U těchto vzorků byla hladina potenciace nižší než v kontrolních, neošetřených vzorcích. Inhibice COX-2 tedy posílila endokanabinoidy a oslabil LTP, viz Obr. 12.



Obr. 12: Schéma ovlivnění u vzorků s inhibítoem COX-2 (vlastní nákres, podle Slanina et al. 2005)

Když se ve třetí části řezů zkombinovaly oba předchozí principy a u vzorku předem ošetřeného AM251 byla podána látka inhibující COX-2, LTP hladina zůstala vysoká, což bylo způsobeno pravděpodobně tím, že AM251 stále působil na CB1 receptorech a kanabinoidy, které již nebyly inhibovány prostřednictvím COX-2 se nemohly navázat na receptory a působit proti LTP. Viz Obr. 13.



Obr. 13: Schéma vzorků ovlivněných AM251 i inhibitorem COX-2 (vlastní nákres, podle Slanina et al. 2005)

Podle předpokladů bylo LTP v této studii skutečně usnadněno blokadou CB1 receptorů a zároveň sníženo po inhibici COX-2, což způsobila zvýšená hladina endokanabinoidů. Tyto výsledky ukazují, že endokanabinoidy omezují proces potenciace. Za standardních okolností probíhá tvorba endokanabinoidů a zároveň kolísá hladina COX-2, která endokanabinoidy reguluje, což způsobuje vyváženou hladinu a účinnost endokanabinoidů v organismu. To je v souladu s tím, že jedním z úkolů COX-2 je homeostáza. Jelikož ale změnu potenciace mají podle těchto výsledků i tělu přirozené endokanabinoidy, je pravděpodobné, že se tak bude dít i u exokanabinoidů, jako například THC, přičemž tento příjem je invazivní a nepřirozený a může mít naopak negativní dopad na organismus (Slanina et al. 2005). To dokazují i další studie, kdy např. po aplikaci THC došlo ke snížení glutamatergního přenosu v hipokampálních neuronech (Sullivan 2000; Hoffman et al. 2007).

K podobným výsledkům jinými způsoby došli ve studii Lévénès et al. (1998). Byly použity mozkové řezy mozečku potkanů, které byly ošetřeny kanabinoidním agonistou WIN55,212-2. Tato látka způsobila nižší přenos glutamátu, což vedlo k prohloubení LTD (dlouhodobou depresi), tedy opaku LTP. Použití SR141716-A zvrátilo účinky kanabinoidů a vrátilo potenciaci na normativní hodnotu. Antagonista nahradil místo syntetických kanabinoidů na CB1 receptorech a tím eliminoval jejich účinky, což souhlasí s tím, že kanabinoidy působí prostřednictvím CB1 receptorů.

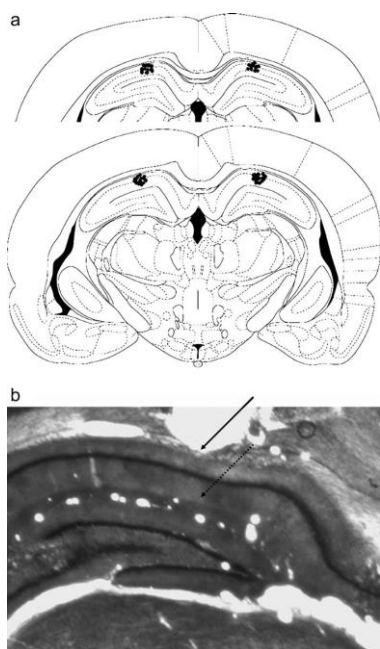
3.3.2.2 Prostorová paměť

Ačkoliv lze dlouhodobou paměť rozdělit do více podkategorií, účinky kanabinoidů se v tomto poli často u zvířat hodnotí na prostorové paměti, která je typem paměti deklarativní (Kulišťák 2003). Prostorová orientace je dokladem prostorové paměti a je nezbytná pro běžný život lidí i zvířat. Díky ní je možné určit vlastní polohu, zapamatovat si umístění předmětů v okolí a při chápání těchto vztahů vykonávat běžné funkce (Mou & McNamara 2002).

Potkani jsou známí vynikající prostorovou pamětí, kterou v přírodě využívají primárně pro získávání potravy. Pro své schopnosti jsou vhodným modelovým zvířetem pro studium

vlivu chemických látek na aspekty spojené s prostorovou orientací a prostorovým určením. Řada pokusů byla zaznamenána už na začátku 20. století (např. Munn 1933) a v následujících desetiletích se výzkum dále vyvíjel (Davis 1996). Pro testování prostorové paměti se většinou využívají různé systémy bludišť, které se zaměřují na odlišné mechanismy paměti a mechanismy odměn. Mezi tyto systémy patří typicky vodní či radiální bludiště (Hodges 1996).

Abush & Akirav (2010) se ve své studii věnovali účinky kanabinoidních agonistů a antagonistů na prostorovou paměť a ovlivnění LTP. Samcům potkanů ve věku 60 dní byl podán syntetický agonista WIN55,212-2, dále AM251, který byl v této studii považován za antagonistu, přičemž v předešlých studiích byl spíše označován za inverzního agonistu. Třetí zkoumanou látkou byla AM404, která zabraňuje inhibici a rozkladu kanabinoidů. Látky byly injekčně podány do hipokampální tkáně, regionu CA1. Lokalizaci vpichu můžeme vidět na Obr. 14. Po aplikaci látek byla zvířata vystavena behaviorálním testům. Jednalo se o metodu Morrisova vodního bludiště. Při vložení do vody měla zvířata za úkol najít během 60 vteřin skrytou platformu. Po nalezení byla ihned osušena a umístěna do místa ubikace, primárně proto, aby se nenaučila poznat umístění plošinky podle okolního prostředí mimo bazén. Tento proces se opakoval čtrnáctkrát jako forma tréninku. Po 24 hodinách byl u potkanů proveden test a následovalo histologické odebrání vzorků, u nichž byla následně vyvolána umělá stimulace a pozorován vliv podaných látek na LTP. Všechny zkoumané látky - WIN55,212-2, AM251 a AM404 - způsobily poškození paměti při úkolech v Morrisově bludišti a zároveň snižovaly aktivitu LTP v histologických vzorcích. Celkové výsledky ukazují, že aktivace i deaktivace CB1 receptorů narušuje LTP v hipokampální oblasti CA1 a způsobuje poškození prostorové paměti.



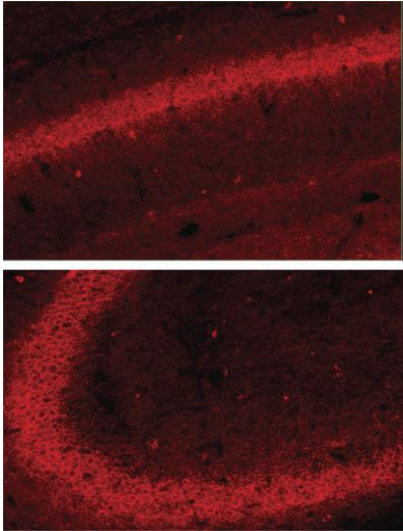
Obr. 14: Hipokampus potkana, černé skvrny a šipky označují místa vpichu (Abush & Akirav 2010)

Je zajímavé, že AM251 také způsobil významné zhoršení, jelikož antagonisté většinou mají opačnou schopnost, tj. blokovat účinky kanabinoidů (Lichtman & Martin 1996; Mallet & Beninger 1998a). Ve studii Slaniny et al. (2005) mělo AM251 opačné účinky a LTP zvyšovalo, vysvětlením proč došlo k odlišným výsledkům, může být rozdílná metodika, kdy Slanina et al. (2005) používali mozkové řezy hipokampu, přičemž v této studii (Abush & Akirav 2010) byly použity histologické vzorky odebrané z živých potkanů a zároveň odlišné dávkování AM251. Dalším možným vysvětlením je, že AM251 ovlivnilo účinnost GABAergních neuronů, které modulují glutamatergní neurony způsobující LTP (de Oliveira et al. 2006).

Srovnávací studie Cha et al. (2006) zkoumala účinky akutního a chronického podávání THC na prostorové učení u dospívajících a dospělých potkanů s předpokladem, že THC naruší prostorovou paměť silněji u dospívajících ve srovnání s dospělými. Byli použiti samci potkanů ve věku 30-32 dní a 65-70 dní. Zvířata, jež patřila do skupiny akutního podávání, byla rozdělena podle různých dávek (2,5 mg/kg, 5 mg/kg a 10 mg/kg) a injekčně jim bylo aplikováno THC. Třicet minut po aplikaci byla podrobena testu na prostorovou paměť a to metodou Morrisova bludiště. Tento proces se opakoval čtyřikrát denně po dobu 5 dní. Skupině, která reprezentovala chronické, tedy dlouhodobé užívání bylo aplikováno THC v dávce 5 mg/kg a to po dobu 21 dní. 28 dní po poslední dávce byla zvířata podrobena testům v Morrisově bludišti. Období 28 dní bylo zvoleno tak, aby byl organismus zvířat již očištěn od THC a jeho metabolitů. Při akutním podávání THC narušilo prostorovou paměť u adolescentů. Došlo k viditelnému poškození ve srovnání s kontrolní skupinou a to ve všech testovaných dávkách. Dospělá skupina projevila nepatrné zhoršení, avšak odchylka od kontrolní skupiny byla nevýznamná. U skupiny, které byly látky podávány dlouhodobě, nedošlo k žádnému signifikantnímu zhoršení v porovnání s kontrolní skupinou ani v jedné věkové skupině. Výsledky naznačují, že adolescentní skupina je více citlivá na účinky THC než dospělí jedinci, což nasvědčuje tomu, že období vývoje organismu je citlivější na negativní účinky THC. Z dlouhodobého hlediska se zdá, že THC nezpůsobuje problémy, avšak podmínky této studie byly nastaveny tak, že došlo k pročištění organismu. Nebyl zde zhodnocen stav dlouhodobého užívání bez vlivu abstinence, v takovémto případě by se výsledky mohly lišit.

Rozdílné účinky vlivem kanabinoidů mezi dospívajícími a dospělými byly zaznamenány i v dalších studiích při použití Morrisova bludiště. Moore et al. (2010) ve své studii použili dvě skupiny potkanů, adolescentních (30-35 dní) a dospělých (70-75 dní). Ti byli vystaveni desetidennímu experimentu a v něm rozdělení do 4 různých způsobů dávkování THC. První skupině bylo podáváno THC prvních 5 dní, druhé druhých 5 dní, třetí skupina podstoupila dávkování všech 10 dní a čtvrtý případ kontrolní skupiny byl bez jakéhokoliv vlivu THC. Od pátého dne byla zvířata vystavována behaviorálním testům ve vodním bludišti. Ve všech skupinách, kterým bylo podáváno THC došlo ke zhoršení v testech na prostorovou paměť, avšak adolescentní skupina byla postižena ve větší míře. Zároveň byla měřena distribuce a množství CB1 receptorů, ty se zdály být neovlivněny a výsledky se nelišily mezi věkovými skupinami. Obr. 15 demonstruje rozložení receptorů v hipokampální tkáni, kde se v hojné míře nacházejí v oblasti CA3 a lehce nižším rozvrstvení v oblasti CA1. Tento záznam byl zhotoven pomocí imunofluorescenční metody (tj. navázání fluorescenční látky a využití zobrazovací metody, nejčastěji fluorescenční mikroskopie). Nicméně i když

receptory nebyly ovlivněny, co se týče kvantity, došlo k ovlivnění v rámci snížení schopnosti vazby na G-protein, tj. jejich funkční aktivita. Tento jev se lišil v závislosti na věku, ve větší míře byl zaznamenán u adolescentů, což je v souladu s výraznějším kognitivním poškozením u této skupiny.



Obr. 15: Distribuce CB1 receptorů, oblasti CA1 (nahore) a CA3 (dole) (Moore et al. 2010).

Cílem studie Abboussiho et al. (2014) bylo prozkoumat behaviorální a neurogenní účinky po chronickém podávání kanabinoidního agonisty WIN55 212-2. Adolescentním (ve věku 27-30 dní) a dospělým potkanům (ve věku 54–57 dní) byl intraperitoneálně (podáván injekcí do dutiny břišní) agonista WIN55 212. Aplikace probíhala jednou denně po dobu 20 dnů v dávce 1 mg/kg. Po poslední dávce následovala dvacetidenní abstinence, po které proběhlo testování kognitivních funkcí ve vodním bludišti. Dvanáct hodin poté byla u zvířat provedena eutanazie, odběry a rozборы mozkové tkáně. Autoři se konkrétně zaměřili na hipokampální neurogenezi (tj. vznik nových nervových buněk). WIN55 212-2 vyvolal poškození v prostorovém učení a paměti u dospívajících, ale nikoli u dospělých potkanů v testu Morrisova vodního bludiště. Zároveň kognitivní deficity hodnocené u dospívajících potkanů pozitivně korelovaly se snížením počtu nově generovaných neuronů v dorzálním hipokampu. Tato data naznačují, že dlouhodobé vystavení kanabinoidům může ovlivnit účinněji prostorové učení a paměť u dospívajících ve srovnání s dospělými potkany, prostřednictvím negativního působení na hipokampální plasticitu.

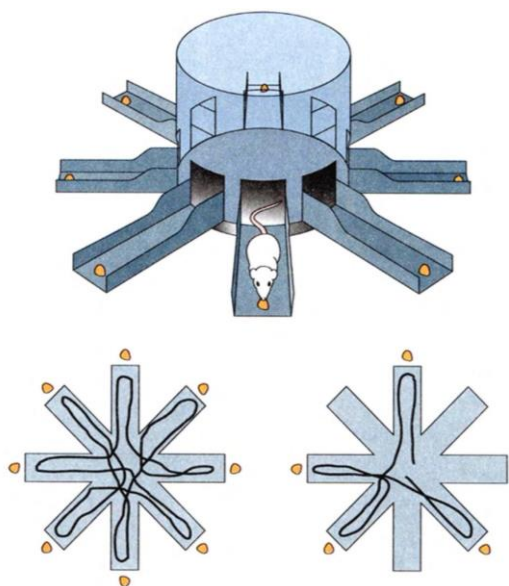
Fakt, že kanabinoidy mají schopnost regulovat neurogenezi, by se měl vnímat jako významný negativní účinek, jelikož proliferace neuronů není samozřejmá. V nervové soustavě v rámci ontogeneze dochází k proliferaci buněk i v pozdějším období pouze v několika mozkových oblastech a hipokampus je jednou z nich (Altman & Das 1965; Seri et al. 2001; Ortega-Perez et al. 2007). Podle výzkumů se tyto nově formované buňky zapojují a přispívají v procesu učení a paměti (Deng et al. 2010). Ke snížení neurogeneze dochází i s narůstajícím věkem. Ukázalo se, že mezi učením a počtem nově generovaných neuronů

existuje kvantitativní vztah. U starších potkanů se počet nově vzniklých buněk snižuje zároveň se schopností se učit v porovnání s mladými jedinci (Drapeau et al. 2011).

Poškození prostorové paměti vlivem THC bylo zaznamenáno nejen u potkanů, ale i u myši. Srovnávací studie Varvela et al. (2001), která srovnává dlouhodobou a pracovní paměť je uvedena v kapitole o krátkodobé paměti. Tato studie rovněž zaznamenala poškození dlouhodobé paměti, avšak bylo zapotřebí násobně větších dávek, než stačí k poškození paměti pracovní. Boucher et al. (2009) také potvrdili negativní účinky u myši, po třináctidenním podávání THC došlo k narušení prostorové paměti a to přetrvávalo i 24 dní po vystavení THC.

Mimo Morrisova vodního bludiště, se často k výzkumu prostorové paměti používá takzvané radiální bludiště (Roberts & Van Veldhuizen 1985; Luine et al. 1996; Egashira et al. 2002). Nejčastěji se skládá ze středové části ve tvaru kruhu a k ní je připojeno několik ramen, obvykle 8. Počet ramen, orientační body v okolí i metodika mohou být různými způsoby modifikovány, podle účelu zkoumání. Při testování pracovní paměti je na konci všech ramen umístěna potrava. Úspěšným výsledkem je, když jednotlivci navštíví všechny, nebo co největší počet ramen bez opakovaných vstupů do částí, které již navštívili, resp. si pamatují, která ramena již navštívili. Při výzkumu dlouhodobé paměti jsou zvířata po dobu několika sezení trénována na přítomnost potravy v určitých ramenech, během testování se hodnotí, zda navštívila tato určitá ramena a kolikrát chybovala (Cohen & Eichenbaum 1993; Kesner et al. 1994; Foreman & Gillett 1998). Model radiálního bludiště je vyobrazen na Obr. 16.

Egashira et al. (2002) testovali potkany v tomto typu bludiště. Do různých oblastí mozku jim bylo injekčně aplikováno THC a následně byli podrobena behaviorálnímu testu. THC zhoršilo výsledky prostorové paměti u zvířat po injekci v hipokampu a thalamu a neovlivnilo mozkovou kůru, amygdalu ani hypotalamus. To znovu podtrhuje důležitou roli hipokampu na prostorové učení. Lichtman (2000) ve své studii použil antagonistu SR 141716A, který utlumil deficity prostorové paměti vyvolané podáváním THC.



Obr. 16: Radiální bludiště, vlevo varianta pro krátkodobou paměť, vpravo varianta pro dlouhodobou paměť (Cohen & Eichenbaum 1993)

3.4 Vliv THC na behaviorální projevy

3.4.1 Emoce, anxiogenní a anxiolytické účinky

Po prozkoumání vlivu THC na kognitivní funkce následují kapitoly, které se zabírají behaviorálními složkami ovlivnění. Už kvůli hojnému výskytu CB1 receptorů v oblastech mozku, které ovlivňují emoční vnímání, řízení strachu, stres a úzkost, je možné se domnívat, že je nepravděpodobné, že by emoční stránka nebyla ovlivněna. Na poli emočního vnímání se mnohé studie zabývají zejména anxietě (úzkosti), zda má THC spíše anxiogenní (způsobující úzkost), nebo anxiolytické (odstraňující či snižující úzkost) vlastnosti.

Pro měření úzkosti u potkanů i jiných hlodavců se často používá vyvýšené křížové bludiště, známé spíš pod původním anglickým názvem „elevated plus maze“ (EPM). Jedná se o čtyřramenné bludiště s dvěma uzavřenými a dvěma otevřenými rameny, do tvaru kříže. Behaviorální model je založen na averzi hlodavců vůči pohybu v otevřeném prostoru, což znamená, že za standardních podmínek hlodavci preferují pobyt v uzavřených ramenech. Měří se strávená doba v otevřených či uzavřených ramenech a počet vstupů, přičemž testování různých látek například léků a drog může pozměnit přirozené chování hlodavce a například vysoké anxiolytické účinky určité látky mohou zvýšit explorativní chování v otevřených ramenech bludiště. Schéma vyvýšeného křížového bludiště můžeme vidět na Obr. 17 (Pellow et al. 1985).

Další způsob zaznamenání úzkostného chování je zpozorování jednoho a více následujících příznaků: přeskokové chování, čímž se rozumí takovému jednání, které v danou situaci nemá zdánlivé opodstatnění (např. grooming – vzájemná péče o povrch těla, žvýkání, okusování nejedlých objektů), zamrznutí (nehybnost včetně vousů), nehybnost (s pohybem vousů), defekace (Pellow et al. 1985), snížení mobility (Gregus et al. 2005) omezení sociální interakce (File et al. 2003; Morley et al. 2001; Quinn et al. 2008) a anhedonie, která je klíčovým rysem deprese a je definována jako generalizovaná ztráta zájmu o normálně odměňující podněty nebo aktivity. Na zvířecích modelech lze anhedonii měřit pomocí testů, jako je preferenční test na sacharózu, který vyhodnocuje zájem zvířete hledat odměňující nápoj (roztok sacharózy), projevem anhedonie je snížený zájem o odměnu (Renard et al. 2016; Liu et al. 2018).



Obr. 17: Vyvýšené křížové bludiště (Lafayette Instruments Company)

Realini et al. (2011) se ve studii zabývali určením fenotypu depresivního syndromu po podání THC. Studie se tedy snažila identifikovat soubor pozorovatelných znaků, neboli vnější projev deprese po požití látky a to s ohledem na věk užívání. Byly zaznamenány významné poznatky, kdy potkani, kteří byli vystaveni látce v dospívání, vykazovali přítomnost emocionálních změn. A to anhedonický stav, spojený se snížením konzumace chutného jídla, potvrzený sacharóзовým testem, dále pokles sociálního chování a zvýšení imobility. Během experimentu došlo i k zhoršení výkonu při testech na rozpoznávání předmětů a prostorovou paměť. Ač je všeobecně přijímáno, že kognitivní dysfunkce je také hlavní složka deprese (Lapiz-Bluhm et al. 2008), lze si klást otázku, zda brát tento jev jako projev deprese, nebo spíše jako další simultánní efekt způsobený THC na kognitivní složky. Spolu s příznaky depresivních stavů byla zkoumána proliferace (vznik nových buněk) a změny objemu hipokampu. U skupiny, která byla vystavena THC v dospívání došlo k redukci BrdU pozitivních buněk. Jedná se o nově vznikající buňky, které do sebe BrdU (syntetický nukleosid – tedy stavební jednotku nukleových kyselin tj. např. DNA) po implikaci začlení. Metoda použití BrdU se používá pro identifikaci proliferaujících buněk a mikroskopickými metodami je možno zaznamenat a spočítat, kolik jich tímto způsobem bylo ovlivněno. V této studii snížení BrdU pozitivních buněk prokazuje snížení proliferace. U stejné skupiny došlo k 19% úbytku objemu dorzálního hipokampu (Realini et al. 2011). Snížené objemy hipokampu se trvale vyskytují ve většině případů deprese (Sheline et al. 2003; Frodl et al. 2008), což je v souladu s výsledky této studie, kdy úzkostné stavy doprovází i neurostrukturální změny, avšak způsobeny působením THC na adolescentní organismus. Skupina zvířat, která byla intoxikována THC v dospělosti nevykazovala významné změny v úzkostném chování jako je nehybnost a anhedonický stav. Výsledky potvrzují zapojení endokanabinoidního systému a důležitost dospívání jako zranitelného období pro účinky THC na emoční stavy (Realini et al. 2011).

Rubino et al. (2008a) se zabývali tím, jaký má vliv užívání kanabinoidů během dospívání na změny chování v dospělosti. S behaviorálními projevy byla zaznamenávána schopnost vazby CB1 receptorů spolu s G-proteiny a CREB aktivační změny. CREB je protein přítomen v jádrech buněk, který je schopen reagovat na extracelulární (mimobuněčné) signály. Je schopen ovlivňovat přepis DNA, což může vést k mnoha změnám v organismu (Luo et al. 2012). Děje se tak pravděpodobně i prostřednictvím CB1 receptorů, kdy kanabinoid zaktivuje receptor, následují vnitrobuněčné změny, které vedou k aktivaci CREB proteinu. Následkem může být i ovlivnění plasticity mozku (Isokawa 2009), neboli neuroplasticity, čímž se rozumí strukturální a funkční změny jako například vytváření nových spojení, přeskupení buněk, růst výběžků a ztráta synapsí (Orel & Procházka 2017). U samic byla CREB aktivita významně snížena po expozici THC v prefrontální kůře, hipokampu a zvýšena v nucleus accumbens (součást bazálních ganglií a koncového mozku, spolupodílející se na emočním prožívání). Paralelně došlo u samic ke zvýšení exprese dynorfinu (Rubino et al. 2008a), peptidu přítomného při stresu a depresi (Knoll & Carlezon 2010). Zatímco samci nevykazovaly v tomto směru žádné změny. Co se týká behaviorálních projevů, tak ani jedno pohlaví nevykazovalo výrazné úzkostné chování při testování ve vyvýšeném křížovém bludišti, ani v testu „open field“. Princip této metody spočívá v pohybu na otevřeném poli, jak už z překladu vyplývá. Zvíře je umístěno do krabice ve tvaru krychle, je mu ponechán určitý čas na prozkoumání nového prostředí a při této činnosti je zaznamenávána jeho aktivita,

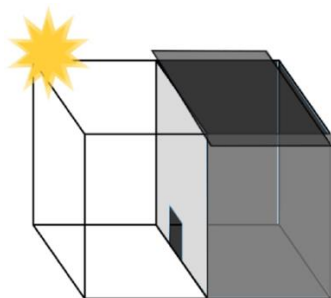
menší míra pohybu a držení se mimo středovou část odpovídá úzkostnému stavu. To co však anxieta prokázalo, a to u obou pohlaví, byla snížená preference sacharózy před vodou spojována s anhedonií a u samic byla zaznamenána zvýšená imobilita v testu nuceného plavání. V tomto testu jsou potkani opakovaně umisťováni do nádoby s vodou, ze které jim není umožněn únik. Po aktivním plavání a snaze uniknout ustanou v činnosti a provádějí pouze několik pohybů, nezbytných pro udržení na hladině. Míra imobility odpovídá míře úzkosti. U schopnosti vazby CB1 receptorů spolu s G-proteiny byla zjištěna jejich downregulace/desenzibilace, tedy snížená schopnost vazby. Tento pokles funkčnosti receptorů CB1 zasáhl oblasti mozku, jako je amygdala, nucleus accumbens a ventrální tegmentální oblast u samic. U samců byla desenzibilizace méně intenzivní, s výrazným snížením pouze v hipokampu a amygdale. Narušené oblasti v mozku patří převážně do centra odměn a okruhu zapojeného do emočního zpracování, což je v souladu s behaviorálními výsledky a výraznějším ovlivněním samic (Rubino et al. 2008a).

Také studie Harte-Hargrove et al. (2012) potvrzuje vliv užívání THC v adolescenci na úzkostné chování v závislosti na pohlaví a zároveň na velikosti dávky. Potkani byli rozděleni podle pohlaví a výše dávek (malá - 2, střední - 7,5 a velká - 15 mg/kg THC). Během podávání látky a v období abstinence bylo měřeno chování související s úzkostí a to pomocí testu „open field“ a vyvýšeného křížového bludiště. V období podávání látky vysoká dávka úzkostné chování zvyšovala, zatímco nízká dávka snižovala, přičemž samice byly na anxiogenní účinky THC citlivější než samci. Během abstinence byly samice opět zvláště citlivé na anxiogenní účinky THC a to nezávisle na úroveň dávky. Tyto výsledky jsou v souladu s jinými studii, které uvádějí, že nižší dávky THC jsou anxiolytické, zatímco vyšší dávky jsou anxiogenní (Berrendero & Maldonado 2002; Valjent 2002). Rozdílné výsledky v rámci pohlaví by mohly být dány hladinou pohlavních hormonů. Hladiny receptorů CB1 v limbickém systému jsou modulovány estrogenem (Riebe et al. 2010). Estrogeny u samic potkanů v této studii mohly změnit hustotu a distribuci CB1 receptorů v amygdale a hypotalamu, a tím změnit vazbu THC na CB1 receptory během podávání a vysazení (Harte-Hargrove et al. 2012). Také bylo prokázáno, že fáze estrálního cyklu může mít vliv na endokanabinoidní systém (de Fonseca et al. 1994), ale nebyla nalezena žádná korelace mezi fází estrálního cyklu a chováním samic (Harte-Hargrove et al. 2012). Je důležité si uvědomit, že THC bylo podáváno v pubertě a během tohoto období endogenní kanabinoidní systém prochází řadou vývojových změn (de Fonseca et al. 1993). Puberta se často vyskytuje dříve u samic a později u samců, zdroje uvádí od 32. dne života u samic a 39. dne života u samců (Ojeda et al. 1976; Korenbrot et al. 1977). Samice zároveň dosahují dřívějšího vývoje mozku než samci (Lenroot et al. 2010). To by znamenalo, že ve studii nebyli samci a samice během experimentu na stejné vývojové úrovni. K podávání THC docházelo mezi 35 - 41. dnem, což se časově shodovalo s pubertou u samic, ale pouze částečně se překrývalo se začátkem puberty u samců. Tento nesoulad mohl přispět k rozdílnému chování mezi pohlavími (Harte-Hargrove et al. 2012). Další možné vysvětlení mezipohlavních rozdílů mohou být i rozdíly ve farmakokinetickém a farmakodynamickém zpracování THC v rámci pohlaví. Farmakokinetikou se rozumí pohyb látky v organismu a její metabolismus a farmakodynamikou - účinky látky na organismus, zjednodušeně řečeno – jak organismus ovlivňuje látku a jak látka ovlivňuje organismus (Narimatsu et al. 1991). Této studii (Harte-Hargrove et al. 2012) by se dalo vytknout, že nebrala v potaz srovnání s dospělými jedinci.

Jak bylo doloženo, dochází k rozdílným účinkům po podávání THC v adolescenci v rámci pohlaví, avšak byli zaznamenány i rozličné výsledky u různých kmenů potkanů. V experimetu narušilo THC emoční fungování pouze u kmene Lewis a druhý kmen Fischer 344 nebyl ovlivněn, což nasvědčuje, že dlouhodobé účinky expozice konopí na emocionalitu závisí také na genetickém pozadí (Cadoni et al. 2015).

I další studie dokazují, že expozice THC u dospívajících může vést k narušení emočního zpracování. U potkanů byly zaznamenány anxiolytické účinky po podávání v dospívání, měřeno na EPM a „open field“ (Wegener et al. 2009) a anxiogenní účinky u dospívajících měřeno v EPM (Stopponi et al. 2014), testem nuceného plavání a sacharózovým testem (Bambico et al. 2010). Dále také anxiogenní účinky u dospívající nikoli dospělých potkanů měřeno pomocí testu sociální interakce, po podání syntetického kanabinoidu CP 55 940 (O'Shea et al. 2016).

K poměrně odlišným výsledkům, než které dokládaly dosavadní studie, došli Schramm-Sapyta et al. (2007), ti ve své práci došli k závěru, že výraznější účinky má podávání THC u dospělých potkanů než u adolescentních jedinců. Pro měření úzkosti použili EPM bludiště a light/dark box (Viz Obr. 18), který funguje na podobném principu, jen se nejedná o spojené uličky. Zkušební přístroj se skládá z malého tmavého bezpečného prostoru a velkého osvětleného averzivního prostoru. Pro hlodavce je přirozený pobyt v tmavém prostředí, ale zároveň mají tendenci prozkoumávat nové prostory. Míra času zastoupená v určitých částech, lokomoce a doba, za kterou potkan začne prozkoumávat, udává míru jeho úzkosti - větší míra průzkumného chování nasvědčuje spíše anxiolytickým účinkům (Bourin & Hascoët 2003). THC mělo anxiogenní účinky u obou věkových skupin, patrnější však u dospělých. Navíc u dospělých byla naměřena snížená lokomotorická schopnost a u dospívajících naopak mírně zvýšená. Pro míru stresu, posouzení reakce osy HPA na THC zkoumali hladiny kortikosteronu a ACTH v séru (Schramm-Sapyta et al. 2007). HPA - hypotalamo-pituitárně-adrenální osa je spojení hypotalamu, hypofýzy a nadledvin a spouští se jako reakce na stres. Při stresových situacích dochází k sekreci hormonů ACTH a kortikosteronu (Joëls & de Kloet 1994; Orel & Procházka 2017). Dospělí prokázali vyšší hladiny ACTH po podání THC než adolescenti. U kortikosteronu nebyl nalezen žádný významný účinek věku ani drogy. Silnější anxiogenní a lokomotorické účinky u dospělých vysvětlují tím, že adolescenti jsou obecně více aktivní, častěji riskují, projevují méně úzkosti a citlivé chování na averzní důsledky (Schramm-Sapyta et al. 2007). Vyšší naměřená aktivita při úkolech u adolescentů naznačuje, že jsou v nových prostředích méně behaviorálně inhibováni. Je možné, že mechanismy receptoru CB1 odpovědné za anxiogenní účinky THC mohou zrát později než ty, které regulují paměť. Dle výzkumů jsou u savců nervové obvody od amygdaly ke kortexu jedny z těch, které se plně vyvíjejí později (Cunningham et al. 2002).



Obr. 18: Light/Dark box (E-Phy-Science)

Ačkoliv THC působí na více částí mozku, následující studie se zaměřuje na několik specifických oblastí. Podávání malých či vysokých dávek v různých oblastech mozku patřících do emočního obvodu (prefrontální kůra, basolaterální amygdala a ventrální hipokampus), obsahujících vysoké hladiny receptorů CB1, mají různé účinky na úzkostné chování. Zatímco mírná aktivace receptorů CB1 v prefrontální kůře a ventrálním hipokampu zmírňuje úzkost (vyšší dávky ztratily účinek, až se zdálo, že se změnila na anxiogenní účinky), mírná stimulace receptoru CB1 v amygdale vede k anxiogenní reakci (vyšší dávky byly neúčinné). Úzkostné stavy byly měřeny pouze na dospělých jedincích a to v EPM bludišti. Všechny tyto účinky jsou spouštěny mechanismem závislým na CB1 a jsou úzce spojeny s modulací aktivace CREB. Konkrétně anxiolytická aktivita THC v prefrontální kůře a ventrálním hipokampu byla spojena se zvýšenou aktivací CREB, zatímco anxiogenní odpověď indukovaná THC v bazolaterální amygdale souvisela se snížením aktivace CREB (Rubino et al. 2008b). Rostoucí důkazy z dalších studií navíc ukazují, že funkce CREB v mozku souvisí s úzkostí u potkanů. Nejčastěji snížení CREB aktivity mělo za následek anxiogenní účinky (Barrot et al. 2002; Barrot et al. 2005; Pandey et al. 2005). Proto měřili Rubino et al. (2008b) aktivaci CREB v prefrontální kůře, amygdale a hipokampu u potkanů ošetřených THC a vystavených EPM. Citlivost těchto oblastí mozku není překvapující, protože všechny zmíněné oblasti mozku jsou silně zapojeny do modulace emočních odpovědí. Konkrétně má u potkanů prefrontální kůra funkční roli při zprostředkování nebo modulaci stavů strachu a úzkosti (Lacroix et al. 2000; Shah et al. 2003; Shah et al. 2004;). Specifické neurochemické odpovědi v prefrontální kůře korelují se strachem a stresem, například zvýšení hladin dopaminu, noradrenalinu a serotoninu je výsledkem vystavení podnětům vyvolávajícím strach nebo anxiogenním látkám (Finlay et al. 1995; Hashimoto et al. 1999). Jelikož mají CB1 receptory schopnost modulovat neurotransmisi (uvolňování neurotransmiterů), lze předpokládat, že jejich stimulací v prefrontální kůře může dojít k inhibici neurotransmisi (dopaminu, noradrenalinu a serotoninu) a tím oslabit reakci, která vyvolává strach. V hipokampu k podobnému účinku může docházet u neurotransmiterů GABA a glutamátu. Účinky v amygdale jsou přisouzeny ovlivnění GABAergního přenosu (Rubino et al. 2008b).

Endokanabinoidní systém je nezbytný pro regulaci stresu a to i za standartních situací, kdy organismus není ovlivněn drogami. Receptory CB1 jsou umístěny na glutamátergických (produkujících glutamát) i GABAergních (produkujících GABA) neuronech v oblastech a drahách mozku ovlivňujících emoční vnímání. Na emoce mají tedy vliv inhibiční i exitační neurotransmisy (synaptické přenosy) a právě rovnováha excitačního a inhibičního přenosu udržuje normální úroveň emocí. Tato rovnováha je pravděpodobně zprostředkována receptorem CB1, kdy jeho aktivace vede k inhibici zmíněných neurotransmiterů a tímto způsobem je reguluje (Hill et al. 2010; Tye et al. 2011; Lee et al. 2012). Pod vlivem THC může tedy dojít k modulaci této standartní aktivace CB1 receptorů a tím vychýlit běžné emoční rozpoložení.

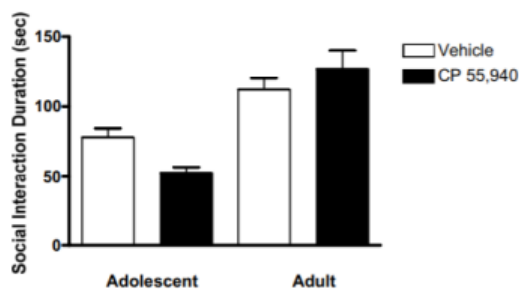
3.4.2 Sociální chování, agrese

Sociální chování úzce souvisí s výše zmíněnými emočními stavy, jeho snížení je typickým rysem úzkosti (File et al. 2003; Morley et al. 2001). I přesto, že ho lze tedy považovat za příznak vychýleného emočního rozpoložení, mu bude věnována samostatná kapitola, protože hraje důležitou roli a to hlavně u sociálně žijících druhů jako je potkan (Bartoš et al. 2014).

Sociální chování lze spolehlivě testovat, pro tyto účely slouží test sociální interakce. Tento test umožňuje analýzu sociálního chování mezi zkoumanými zvířaty, model metody vypadá tak, že jsou hlodavci umístěni do nádoby - klece, je mezi nimi pozorován vzájemný kontakt a izolace od druhá či skupiny. Během experimentu je měřena frekvence či délka trvání sociálního chování (Varlinskaya et al. 1999). Sociální interakce obvykle klesají, když jsou potkani úzkostní (File et al. 2001). Behaviorální a farmakologické experimenty dokazují, že tento model je srovnatelný se sociální úzkostí u lidí (Kantor et al. 2000)

Vliv kanabinoidů na sociální chování byl prokázán ve studii O'Shea et al. (2006), kde porovnávali účinky expozice kanabinoidů v různých vývojových obdobích. Použili samce potkanů ve věku 4 dny (perinatální), 30 dnů (dospívající) a 56 dní (mladí dospělí), kterým byl injekčně podáván syntetický kanabinoid CP 55940 nebo vehikulum (kontrolní neovlivňující látka). Později, již v období abstinence, byla v testu sociální interakce vyhodnocena u potkanů sociální úzkost. Ve všech třech věkových skupinách ovlivněných kanabinoidem bylo naměřeno přibližně o polovinu kratší trvání sociálních interakcí. Během testování bylo pozorováno chování dvojic a zaznamenávány sociální projevy jako čichání, následování, grooming, kopání, šplhání, skákání, zápasení a uvelebení se pod a nad ostatní potkany.

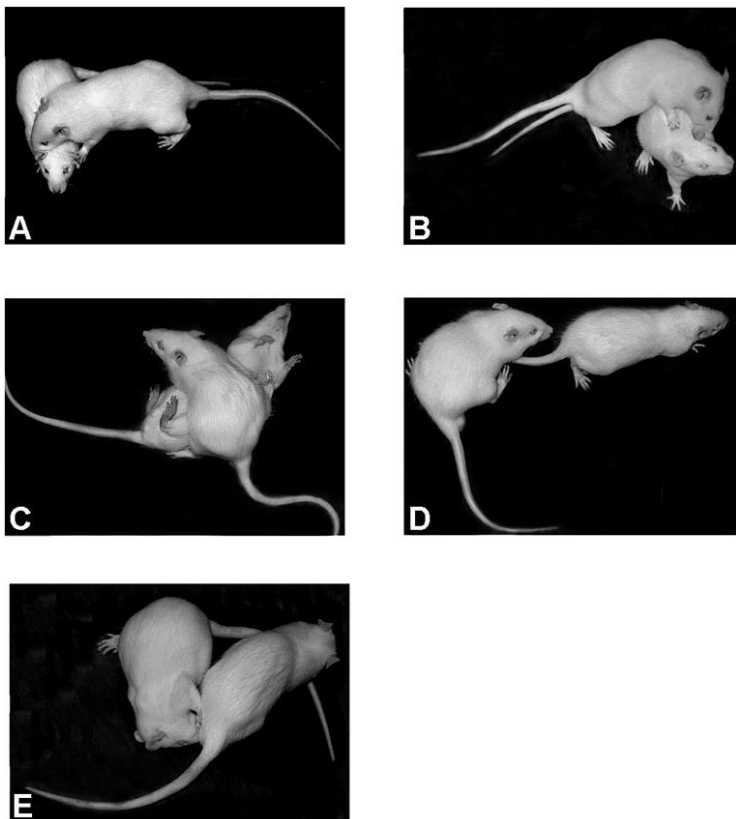
V podobné studii stejní autoři došli k závěru, že po podání kanabinoidu dochází ke snížení sociální interakce u dospívajících, ale nikoli u dospělých. Výsledky v grafu lze vidět na Obr. 19. Perinatální skupina nebyla zkoumána. Ač nebyly prozkoumány přesné důvody pro rozdílné výsledky v těchto dvou studiích, je možné, že hraje roli pohlaví, poněvadž v druhé studii byly použity samice (O'Shea et al. 2016). Vyšší citlivost na kanabinoidy u samic byla zpozorována už ve výše zmíněných studiích v kapitole o emocích (Rubino et al. 2008a; Harte-Hargrove et al. 2012). Možným faktorem působícím na odlišné výsledky adolescentů a dospělých v této studii může být rozdílná odpověď na stres, způsobená injekčním podáváním, už dříve bylo zjištěno, že injekce mohou vyvolat mírný stres u potkanů (Jaskiw et al. 1990).



Obr. 19: Čas strávený v sociální interakci u dospívajících a dospělých jedinců (Social Interaction Duration – trvání sociálních interakcí, adolescent – dospívající, adult – dospělí, vehicle – vehikulum) (O'Shea et al. 2016).

Výsledky experimentu Quinn et al. (2008) s dospívajícími a dospělými potkany, kde bylo už použito THC, potvrdily úbytek sociálního chování u obou testovaných skupin (věk 28, 60 dní) a to jak po akutním podání, tak v době abstinence -15 dní po vysazení. U kontrolní skupiny se tyto abnormality neobjevily. Hodnocení probíhalo pozorováním trvajícím 10 minut, potkani byli umístěni po dvojicích a mezi hodnocené chování patřilo explorační chování, anogenitální čichání, nalahávání na druhu a stavění se na zadní končetiny.

Pro lepší představu jak sociální chování vypadá, je zde předložena fotodokumentace některých možných interakcí. A – „pouncing“, tlak čumákem a lehký okus na krku, B – wrestling, zvířata se převalují jedno přes druhé, C- „připíchnutí“, jedno ze zvířat leží v poloze na zádech a druhé leží nad ním, D – následování a E – anogenitální čichání. Takovéto i jiné projevy jsou často součástí hry, zápasu nebo hierchieckého upevňování vztahů. Viz Obr. 20 (Mackintosh & Grant 1963).



Obr. 20: Fotodokumentace sociálních interakcí (Mackintosh & Grant 1963)

Zamberletti et al. (2012) hodnotili vliv THC na sociální chování a to ve vztahu k věku, pohlaví a jako další ovlivňující faktor zakomponovali stres v raném dětství. K zjištění, zda podávání kanabinoidů v adolescentním období může být ovlivněno zmíněným stresem, byli samice a samci potkanů v devátém dni věku podrobena 24hodinové deprivaci, odloučením od matek. Během adolescence jim bylo podáváno THC a následně byli v dospělosti vystaveni testu sociální interakce. Mimo behaviorální projevy byl měřen i vliv THC na hustotu a funkčnost receptorů v mozku, konkrétně CB1, dopaminových a NMDA. Jsou li i lidské jedinci

vystavení v dětství traumatické zkušenosti, mají predispozice, aby se u nich v budoucnu rozvinuly psychické poruchy. Setkali-li se v životě zároveň s užíváním marihuany, může kombinace těchto faktorů znásobit účinek a možnost narušení jejich duševního zdraví vzroste (Arseneault et al. 2011). Navíc má-li jedinec genetické predispoze pro psychické onemocnění, jako například schizofrenii, THC ho činí citivějším pro rozvinutí nemoci (Caspi et al. 2005; Degenhardt & Hall 2016). Tedy nehledě na genetický základ nebo vliv prostředí, je - li u někoho větší možnost rozvinutí psychické poruchy, THC má schopnost znásobit tuto možnost. Na základě těchto skutečností byl vytvořen zvířecí model, napodobující okolnosti vyskytující se u lidí, tedy trauma z dětství, podporující vznik psychózy v kombinaci s užíváním marihuany. Tuto situaci mělo připodobnit odloučení potkaních mláďat od matek a následné podávání THC. Zároveň, aby se metodika podobala těžkému užívání marihuany, zvyšovala se postupně dávka aplikovaného THC u potkanů (Zamberletti et al. 2012). Zvířata byla podrobena behaviorálním testům po 20 dnech abstinence, v testu sociální interakce byl zaznamenáván jak čas strávený aktivním sociálním chováním (očichávání, následování, grooming, kopulační pozice, nosing – postavení zvířat čelem k sobě) tak čas, kdy zvířata vykazovala agresivní chování (útoky, kousání, třepání ocasem, agresivní grooming). Ačkoliv nebyla zaznamenána významná změna v sociálním chování, THC prokázalo vysoké inhibiční účinky agresivity u deprimovaných samic. U samic neovlivněných THC, tedy kontrolní skupiny se objevila vlivem mateřské deprivace vysoká míra agresivního chování, z čehož vyplývá, že THC mělo tlumící účinky na agresivitu. U samců nebyl významný účinek na sociální chování zaznamenán. Co se týká změn v hustotě receptorů, zde došlo k genderově závislému a regionálně specifickému ovlivnění. U samic ošetřených THC se v dospělosti významně snížila hustota v nucleus acumbens, prefrontální kůře, bazálních gangliích, hypotalamu, amygdale a ventrální tegmentální oblasti, u samců pouze v bazálních gangliích, nucleus acumbens a thalamu. Samotná deprivace hustotu CB1 receptorů neovlivnila. U receptorů NMDA (tj. receptor na transitory glutamát a glycin) také došlo k změnám vlivem expozice THC, ale zároveň i deprivací. THC snížilo hustotu, samotná deprivace hustotu naopak zvýšila a v kombinaci mělo THC schopnost potlačit zvýšení způsobené deprivací. Dopaminové receptory byli v rámci pohlaví, deprivace a vlivu THC nerovnovázně ovlivněny v různých částech mozku. THC tedy ovlivnilo všechny zmíněné typy receptorů, což mělo pravděpodobně za následek změnu chování, v uvedené studii měřitelnou pouze u samic. Ačkoliv se dal očekávat aditivní účinek deprivace a THC na chování, ve výsledku se stav překvapivě nezhoršil, ale naopak THC bylo schopno obnovit některé změny vyvolané mateřskou deprivací, tj. snížit zvýšenou agresivitu (Zamberletti et al. 2012).

Snížení agresivity vlivem THC zaznamenaly i další studie, např. THC podávané samcům potkanů utlumilo dominantní projevy chování u nadřazených jedinců a snížilo počet útoků vůči jedincům submisivním (Miczek & Barry 1974). Snížení agresivity dominantních samců vůči svým druhům byl pozorován rovněž u myši v rámci hierarchických vzťahů. Ač došlo k poklesu agresivního chování, nezměnilo se sociální postavení ve skupině (Ely et al. 1975).

3.4.3 Averze vůči THC

Neméně zajímavé a důležité je, zhodnotit, zda užívání THC vyvolává spíše averzivní stavy, tedy nechuť a vyhýbání se THC/marihuaně a podnětům s ní spojeným, či naopak vyvolá stav, který více připomíná příjemné požitky, které vedou k další touze látku požit, s následným potencionálním vznikem závislosti. Vedlejší účinky drogy, mohou tedy často ovlivnit/omezit opakované užívání, mohou se však lišit u dospělých a dospívajících. Proto se některé studie zaměřují na to, zda jsou různé věkové skupiny citlivější na to či ono vnímání.

Při zkoumání averze vůči určité látce se testy běžně provádějí tak, že se zvířatům podá zkoumaná látka a to buď implikovaná v určitém místě, nebo s určitou látkou, která je chuťově specifická. Zvířata, kterým zkoumaná látka způsobuje averzivní účinky budou mít tendenci se místu a látce vyhýbat, kvůli asociaci s nepříjemným zážitkem. Toto chování bude přetrvávat i v situacích, kdy nebudou podrobeni podávání zkoumané látky. Potkani obecně projevují averzivní chování ve vztahu k THC, přičemž droga způsobuje v testech podmíněnou averzi na určité místo a vyhýbání se chuti s látkou spojenou (Parker & Gillies 1995; McGregor et al. 1996b; Sañudo-Peña et al. 1997; Mallet & Beninger 1998b; Cheer et al. 2000).

Ve studii, kterou prováděli Quinn et al. (2008) byli použiti samci potkanů ve dvou věkových skupinách, dospívající (28 dní) a dospělí (60 dní). Zvířata byla vystavována injekcím THC v určité lokalitě, aby si toto místo asociovali s látkou a jejími účinky. Dospělí se začali místu vyhýbat a více vokalizovali během intoxikovaného stavu, což demonstruje averzivní chování ve vztahu k THC, narozdíl od adolescentní skupiny, u které nebylo vyhýbání se místu zpozorováno, a vokalizace probíhala v menší míře. Kontrolní skupiny se také nevyhýbaly místu spojeným s podáváním THC, ale ani nevokalizovaly. Po šesnáctidenní abstinenci byla zvířata znovu testována, u dospělých zvířat averzivní účinek přetrvával, u dospívajících a kontrolních skupin se situace nezměnila, averzivní účinky u nich tedy nebyly zaznamenány. Nicméně u skupiny mladistvých, které bylo podáváno THC, byly po abstinenci zpozorovány dysfunkce pracovní paměti. Proteomická analýza (identifikace proteinů) hipokampální tkáně odhalila u subjektů, kterým bylo podáno THC změny v expresích proteinů v porovnání s kontrolními skupinami. U adolescentní skupiny bylo objeveno 27 proteinů, které ovlivňují oxidativní stres, mitochondriální a metabolické funkce, cytoarchitekturu a signalizaci. Tyto změny mohly vést ke zmíněným kognitivním disfunkcím a potencionálním, jiným, v této studii nezkoumaným účinkům a změnám chování. U dospělých bylo objeveno pouze 10 proteinů a to většinou zapojených do metabolických procesů, což nasvědčuje spíše přechodným změnám a účinkům, než trvalým strukturálním dopadům. Tato studie naznačuje, že dospívající potkani považují THC za méně averzivní než dospělí, ale že expozice kanabinoidům má větší potenciál způsobit trvalé deficity paměti, které souvisejí se změnami struktury a funkcí hipokampu u dospívajících ve srovnání s dospělými potkany.

Ve studii od Schramm-Sapyty et al. (2007) byly prokázány obdobné výsledky. Rovněž byli použiti samci potkanů adolescentní (28 dní) a dospělé (64 dní) skupiny. Testování probíhalo na vytvoření podmíněné averze k místu i k chuti. Zároveň byl do studie zakomponován faktor dávky, ta byla podávána v malé (1,25 mg/kg) a vysoké míře (5 mg/kg). Ukázalo se, že THC působilo averzivně u obou věkových skupin a v obou dávkách, ale ve větší míře byli postiženi dospělí. Zároveň byly u dospělých zaregistrovány projevy

úzkostného chování. Mimo behaviorální projevy byly měřeny i hodnoty hormonů, které souvisí s aktivací osy hypotalamu - hypofýzy - nadledvinek (HPA) při stresových situacích. ACTH a kortikosteron byly dlouhodobě zvýšeny po podání THC u obou skupin, ale hladiny ACTH byly vyšší u dospělých než u adolescentů. Výsledky nasvědčují, že averze probíhala intenzivněji u dospělých potkanů zároveň s anxiogenními účinky a vyšší produkcí stresových hormonů. Nižší míru averze vůči THC u adolescentů spojují autoři s nevyzrálými nervovými mechanismy a s absencí úzkostného chování, které by jim bránilo v dalším vystavování, to potvrzuje i nižší hladina stresových hormonů.

Analogie snížení averzivních účinků u dospívajících potkanů byly zpozorované i u dalších návykových látek, např. alkoholu (Philpot et al. 2003), nikotinu (Wilmouth & Spear 2004; Shram et al. 2006), amfetaminu (Infurna & Spear 1979) a kokainu (Schramm-Sapyta et al. 2006). To naznačuje, že určité vlastnosti stále se vyvíjejícího dospívajícího mozku mohou vést k tomu, že dospívající budou méně citliví na averzivní vlastnosti různých látek a drog, tudíž budou náchylnější k pokračujícímu užívání a riziku vzniku závislosti.

Spolu s THC byly v další studii použity další látky jako agonista HU210 – syntetický kanabinod, antagonist SR141716A a kokain. V testu podmíněného místa s látkou došlo k averzi u THC a HU210 a naopak bylo preferováno prostředí asociované s SR141716A a kokainem. Výsledky potvrzují, že kanabinoidy způsobují averzi na místo a jsou v souladu s představou, že mohou vyvolat averzivní motivační stavy (Cheer et al. 2000). Cheer et al. (2000) hledali spojitost mezi užíváním kanabinoidů s aktivací centra odměn. U drog vytvářejících návyky se předpokládá, že interagují s motivačním pohonem u zvířat působením na určité oblasti mozku, známé jako cesty odměny, jedná se o dopaminergní mezolimbickou dráhu, lze tedy předpokládat, že při požití THC dochází ke zvýšení produkce dopaminu. U hlodavců již byla v jiných studiích zaznamenána vyšší hladina dopaminu po podání THC (Lepore et al. 1996; Jentsch et al. 1998b).

Často zjištěné averzivní účinky kanabinoidů u zvířat nesouhlasí se skutečností, že marihuana je lidmi používána pro rekreační účely, tedy působí u lidí spíše opojně (Gardner & Vorel 1998; Williams & Parker 2001). Zdá se však, že kanabinoidy u potkanů přinejmenším sdílejí některé fyziologické vlastnosti připisované většině drog. Bylo zaznamenáno uvolňování neurotransmiterů v dráhách relevantních pro odměnu, tedy působí na mezolimbický systém zvýšením hladiny dopaminu (French et al. 1997; Tanda et al. 1997; Gardner & Vorel 1998). U adolescentních potkanů se vyskytuje menší míra averze vůči THC, což nasvědčuje vyšší toleranci mladistvých (Schramm-Sapyta et al. 2007; Quinn et al. 2008). Tato zjištění nabízí vysvětlení omezeného užívání marihuany u dospělých lidí ve srovnání s teenagery (Chen & Kandel 1995).

4 Závěr

Tato literární rešerše se zabývala účinky THC na kognitivní a behaviorální schopnosti různých věkových skupin potkanů. Stěžejní pro pochopení bylo zaměření na endokanabinoidní systém, který sestává z četných receptorů nacházejících se v celém těle, a látek - kanabinoidů - které se na ně váží. Práce je specializovaná pouze na skupinu CB1, což jsou receptory, které se nacházejí v nervové soustavě. Tělo si tvoří vlastní endokanabinoidy, pomocí kterých zajišťuje rovnováhu a zdraví organismu prostřednictvím zmíněných CB receptorů. Avšak na tyto receptory mají schopnost nasedat i exogenní kanabinoidy, kterými jsou i fytokanabinoidy přítomné v konopí. Nejznámější z nich je právě THC.

Adolescentní organismus prochází mnohými vývojovými změnami, proto ve spojení s užíváním mohou negativní účinky THC působit na tuto věkovou skupinu více intenzivně než na starší jedince. Z těchto důvodů se tato práce zaměřila na porovnání účinků THC v rámci věkových skupin. V rešerši byly zahrnuty i výsledky ze studií, kde byly kromě THC použity i další kanabinoidy, poněvadž fungují na podobném principu.

I když bylo cílem prozkoumat účinky THC u potkanů, lze hledat jistou analogii s lidskou populací, poněvadž u mladých lidí je hojný výskyt užívání marihuany. Nejčastějším efektem kanabinoidů v rámci neurofyzologie byla modulace synaptického přenosu, která vedla ke změnám v kognici a behaviorálním projevu, ale ne vždy se výsledky studií shodovaly.

Ovlivnění kognitivních složek, které se týkaly paměti, byly ve velké míře ve shodě. Dle většiny výsledků, THC i další kanabinoidy poškozují krátkodobou i dlouhodobou paměť. V rámci dlouhodobé paměti se práce zaměřila na paměť prostorovou. Princip paměti na fyziologické úrovni je založen na vzniku nových synaptických spojení a kanabinoidy mají schopnost modulovat synaptický přenos, logicky z toho lze odvodit, že narušením těchto spojení vlivem kanabinoidů může docházet k poruchám paměti. Vznik dlouhodobé paměti spočívá ve vzniku dlouhodobé potenciace. Bylo dokázáno, že v mnohých případech byla vlivem THC narušena, což má za následek změnu mozkové plasticity a následné kognitivní deficity, jako je poškození paměti. Hipokampus je důležitou oblastí mozku, zodpovědnou za paměťové i další úkony, tato mozková část byla často vlivem kanabinoidů narušena a to hlavně lokalita CA3 - CA1 zodpovídající za tvorbu paměti. K významnějšímu ovlivnění v rámci věkových skupin docházelo u adolescentních skupin, než u dospělých

Výsledky týkající se dalších behaviorálních projevů nebyly tak jednoznačné. Na poli emocionality se práce zaměřovala na úzkostné stavy, konkrétně, zda kanabinoidy spíše úzkost utlumují nebo jí dají za vznik. Výsledky se v tomto případě rozcházely, kanabinoidy působily anxiogenně i anxiolyticky a to v závislosti na dávce, věku a pohlaví (samice byly citlivější v porovnání k samcům). Přičemž se ale častější výsledky naklánějí většímu vlivu na adolescenty než na dospělé jedince. THC narušuje endokanabinoidní systém a to v mozkových oblastech ovlivňujících emoce, jako amygdala, ventrální tegmentální oblast, hipokampus, bazální ganglia a moduluje neurotransmisi.

V sociálním chování bylo převážně zpozorováno utlumení kontaktu mezi jedinci a pokles agresivního chování. Z výsledků nevyplyvá jasný závěr, že by THC ovlivňovalo převážně určitou věkovou skupinu, ale zajímavé je, že stejně jako u úzkosti, častěji byly ve větší míře ovlivněny samice než samci.

Poslední kategorií ovlivnění byla míra averze ve vztahu k účinkům THC. U potkanů působí THC averzivně u obou věkových skupin, ale dle výsledů lze usoudit, že větší míra averze je způsobena u dospělých jedinců. To podporuje časté užívání marihuany u mladistvých, či začátek užívání v brzkém věku. Pokud adolescentní jedinci nepocítují nepříjemné účinky, jejich motivace v dalším užívání je podpořena a tím hrozí vznik závislosti a dlouhodobého užívání, což může vést k poškození organismu.

Z celkových výsledků lze říci, že nezralé organismy mohou být citlivější na fyziologické účinky chronického podávání kanabinoidů v určitém zranitelném období než zralé organismy. Během postnatálního období a puberty dochází k důležitým vývojovým změnám organismu, včetně vývoje endokanabinoidní soustavy, mozku a zdokonalování kognitivních funkcí. V kombinaci s podáváním THC nebo jiného kanabinoidu se stává endokanabinoidní systém a nervová soustava citlivějším k následným možným poškozením. Tyto fyziologické procesy jsou doloženy kognitivními a behaviorálními změnami a podávání THC je tedy pro adolescentní skupinu riskantní. Kdyby se výsledky převedly na lidskou populaci, dalo by se z toho usoudit, že by se mladiství měli užívání marihuany vyhýbat.

Ač je tato práce literární rešerší, stává se základem pro budoucí praktické výzkumy týkající se tohoto tématu. Konkrétně by se dalo doporučit zabývat se tématem emocí a úzkostí, poněvadž v této oblasti se výsledky natolik neshodovaly jako u jiných témat. Je možné pokračovat v dalších praktických výzkumech s využitím THC na potkanech, pozorováním chování, tak i následným využitím a výzkumem tkání.

5 Literatura

- Abboussi O, Tazi A, Paizanis E, El Ganouni S. 2014. Chronic exposure to WIN55,212-2 affects more potently spatial learning and memory in adolescents than in adult rats via a negative action on dorsal hippocampal neurogenesis. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **120**:95-102.
- Abush H, Akirav I. 2010. Cannabinoids modulate hippocampal memory and plasticity. *Hippocampus* **20**:1126-1138.
- Adams IB, Martin BR. 1996. Cannabis: pharmacology and toxicology in animals and humans. *Addiction* **91**:1585-1614.
- Agurell S, Halldin M, Lindgren JE, Ohlsson A, Widman M, Gillespie H, Hollister L. 1986. Pharmacokinetics and metabolism of delta 1-tetrahydrocannabinol and other cannabinoids with emphasis on man. *Pharmacological reviews* **38**:21-43.
- Altman J, Das GD. 1965. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *The Journal of Comparative Neurology* **124**:319-335.
- Armentano P. 2015. Klinické využití konopí a kanabinoidů: Aktualizovaná edice pro Českou republiku. Pacientský spolek KOPAC, Praha.
- Arseneault L, Cannon M, Fisher HL, Polanczyk G, Moffitt TE, Caspi A. 2011. Childhood Trauma and Children's Emerging Psychotic Symptoms: A Genetically Sensitive Longitudinal Cohort Study. *American Journal of Psychiatry* **168**:65-72.
- Ashton CH. 1999. Adverse effects of cannabis and cannabinoids. *British Journal of anaesthesia* **83**:637-649.
- Auclair N, Otani S, Soubrie P, Crepel F. 2000. Cannabinoids Modulate Synaptic Strength and Plasticity at Glutamatergic Synapses of Rat Prefrontal Cortex Pyramidal Neurons. *Journal of Neurophysiology* **83**:3287-3293.
- Avdesh A, Hoe Y, Martins RN, Martin-Iverson MT. 2013. Pharmacological effects of cannabinoids on the reference and working memory functions in mice. *Psychopharmacology* **225**:483-494
- Ayano G. 2016. Dopamine: Receptors, Functions, Synthesis, Pathways, Locations and Mental Disorders. *Journal of Mental Disorders and Treatment* **2**.
- Bajo M, Roberto M, Schweitzer P. 2009. Differential alteration of hippocampal excitatory synaptic transmission by cannabinoid ligands. *Journal of Neuroscience Research* **87**:766-775.
- Bambico FR, Nguyen N-T, Katz N, Gobbi G. 2010. Chronic exposure to cannabinoids during adolescence but not during adulthood impairs emotional behaviour and monoaminergic neurotransmission. *Neurobiology of Disease* **37**:641-655.

- Barrot M et al. 2002. CREB activity in the nucleus accumbens shell controls gating of behavioral responses to emotional stimuli. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **99**:11435-11440.
- Barrot M, Wallace DL, Bolanos CA, Graham DL, Perrotti LI, Neve RL, Chambliss H, Yin JC, Nestler EJ. 2005. Regulation of anxiety and initiation of sexual behavior by CREB in the nucleus accumbens. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **102**:8357-8362.
- Bartoš L et al. 2014. Ochrana, chov a využití pokusných zvířat. Společnost pro vědu o laboratorních zvířatech ve spolupráci s ČZU v Praze, Brno.
- Becker B, Wagner D, Gouzoulis-Mayfrank E, Spuentrup E, Daumann J. 2010. The impact of early-onset cannabis use on functional brain correlates of working memory. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* **34**:837-845.
- Belue RC, Howlett AC, Westlake TM, Hutchings DE, Cippitelli A, Navarro M. 1995. The ontogeny of cannabinoid receptors in the brain of postnatal and aging rats: *PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY. Neurotoxicology and Teratology* **17**:25-30.
- Berrendero F, Maldonado R. 2002. Involvement of the opioid system in the anxiolytic-like effects induced by Δ 9-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology* **163**:111-117.
- Bhattacharyya S, Egerton A, Kim E, Rosso L, Riano Barros D, Hammers A, Brammer M, Turkheimer FE, Howes OD, McGuire P. 2017. Acute induction of anxiety in humans by delta-9-tetrahydrocannabinol related to amygdalar cannabinoid-1 (CB1) receptors. *Scientific Reports* **7**.
- Bohme GA, Laville M, Ledent C, Parmentier M, Imperato A. 1999. Enhanced long-term potentiation in mice lacking cannabinoid CB1 receptors. *Neuroscience* **95**:5-7.
- Boucher AA, Vivier L, Metna-Laurent M, Brayda-Bruno L, Mons N, Arnold JC, Micheau J. 2009. Chronic treatment with Δ 9-tetrahydrocannabinol impairs spatial memory and reduces zif268 expression in the mouse forebrain. *Behavioural Pharmacology* **20**:45-55.
- Bourin M, Hascoët M. 2003. The mouse light/dark box test. *European Journal of Pharmacology* **463**:55-65.
- Bramham CR, Messaoudi E. 2005. BDNF function in adult synaptic plasticity: The synaptic consolidation hypothesis. *Progress in Neurobiology* **76**:99-125.
- Cadoni C, Simola N, Espa E, Fenu S, Di Chiara G. 2015. Strain dependence of adolescent Cannabis influence on heroin reward and mesolimbic dopamine transmission in adult Lewis and Fischer 344 rats. *Addiction Biology* **20**:132-142.
- Cajal SR. 1911. *Histologie du systeme nerveux de l'homme et des vertebres*. Maloine (Paris) **2**:891-942.
- Carlini EA, Sewell RA, Ranganathan M, Radhakrishnan R, Williams A, Skosnik PD, Pittman B, Ranganathan M, D'Souza DC. 2004. The good and the bad effects of (-) trans-delta-9-tetrahydrocannabinol (Δ 9-THC) on humans: human studies. *Toxicon* **44**:461-467.

- Caspi A et al. 2005. Moderation of the Effect of Adolescent-Onset Cannabis Use on Adult Psychosis by a Functional Polymorphism in the Catechol-O-Methyltransferase Gene: Longitudinal Evidence of a Gene X Environment Interaction. *Biological Psychiatry* **57**:1117-1127.
- Cohen NJ, Eichenbaum H. 1993. *Memory, Amnesia, and the Hippocampal System*. MIT Press.
- Cousijn J, Vingerhoets WAM, Koenders L, de Haan L, van den Brink W, Wiers RW, Goudriaan AE. 2014. Relationship between working-memory network function and substance use: a 3-year longitudinal fMRI study in heavy cannabis users and controls. *Addiction Biology* **19**:282-293.
- Cravatt BF, Lichtman AH. 2004. The endogenous cannabinoid system and its role in nociceptive behavior. *Journal of Neurobiology* **61**:149-160.
- Crean RD, Crane NA, Mason BJ. 2011. An Evidence-Based Review of Acute and Long-Term Effects of Cannabis Use on Executive Cognitive Functions. *Journal of Addiction Medicine* **5**:1-8.
- Crespo-Facorro B, Wiser AK, Andreasen NC, O'Leary D, Watkins GL, Boles Ponto LL, Hichwa RD. 2001. Neural basis of novel and well-learned recognition memory in schizophrenia: a positron emission tomography study. *Human brain mapping* **12**:219-231.
- Crofford LJ. 1997. COX-1 and COX-2 tissue expression: implications and predictions. *The Journal of rheumatology* **49**:15-19.
- Cunningham MG, Bhattacharyya S, Benes FM. 2002. Amygdalo-cortical sprouting continues into early adulthood: Implications for the development of normal and abnormal function during adolescence. *The Journal of Comparative Neurology* **453**:116-130.
- Čáp J, Mareš J. 2007. *Psychologie pro učitele*. Portál, Praha.
- D'Souza DC, Sewell RA, Ranganathan M, Radhakrishnan R, Williams A, Skosnik PD, Pittman B, Ranganathan M. 2009. Cannabis and psychosis/schizophrenia: human studies. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience* **259**:413-431.
- Dar MS. 2000. Cerebellar CB1 receptor mediation of Δ^9 -THC-induced motor incoordination and its potentiation by ethanol and modulation by the cerebellar adenosinergic A1 receptor in the mouse. *Brain Research* **864**:186-194.
- Darmani NA, Sewell RA, Ranganathan M, Radhakrishnan R, Williams A, Skosnik PD, Pittman B, Ranganathan M, D'Souza DC. 2005. Methods Evaluating Cannabinoid and Endocannabinoid Effects on Gastrointestinal Functions: human studies. *Marijuana and Cannabinoid Research* **259**:169-189.
- Davies SN, Pertwee RG, Riedel G. 2002. Functions of cannabinoid receptors in the hippocampus. *Neuropharmacology* **42**:993-1007.
- Davis H. 1996. Underestimating the rat's intelligence. *Cognitive Brain Research* **3**:291-298.

- de Castell S, Jenson J, Larios H. 2015. Gaming Experience and Spatial Learning in a Virtual Morris Water Maze. *Journal For Virtual Worlds Research* **8**.
- de Fonseca FR, Cebeira M, Ramos JA, Martín M, Fernández-Ruiz JJ, Gray JM, Hillard CJ, Gorzalka BB, Viau V, Deisseroth K. 1994. Cannabinoid receptors in rat brain areas: Sexual differences, fluctuations during estrous cycle and changes after gonadectomy and sex steroid replacement. *Life Sciences* **54**:159-170.
- de Fonseca FR, Ramos JA, Bonnin A, Fernández-Ruiz JJ. 1993. Presence of cannabinoid binding sites in the brain from early postnatal ages. *NeuroReport* **4**:135-138.
- de Oliveira Alvares L, Pasqualini Genro B, Vaz Breda R, Pedroso MF, Costa Da Costa J, Quillfeldt JA. 2006. AM251, a selective antagonist of the CB1 receptor, inhibits the induction of long-term potentiation and induces retrograde amnesia in rats. *Brain Research* **1075**:60-67.
- Degenhardt L, Hall W. 2016. Is Cannabis Use a Contributory Cause of Psychosis? *The Canadian Journal of Psychiatry* **51**:556-565.
- Deng W, Aimone JB, Gage FH. 2010. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nature Reviews Neuroscience* **11**:339-350.
- Dolan RJ, Fletcher P, Frith CD, Friston KJ, Frackowiak RSJ, Grasby PM. 1995. Dopaminergic modulation of impaired cognitive activation in the anterior cingulate cortex in schizophrenia. *Nature* **378**:180-182.
- Doniger GM, Foxe JJ, Murray MM, Higgins BA, Javitt DC. 2002. Impaired Visual Object Recognition and Dorsal/Ventral Stream Interaction in Schizophrenia. *Archives of General Psychiatry* **59**.
- Drapeau E, Mayo W, Arousseau C, Le Moal M, Piazza P-V, Abrous DN. 2011. Spatial memory performances of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **100**:14385-14390.
- Egashira N, Mishima K, Iwasaki K, Fujiwara M. 2002. Intracerebral microinjections of Δ^9 -tetrahydrocannabinol: search for the impairment of spatial memory in the eight-arm radial maze in rats. *Brain Research* **952**:239-245.
- Ely DL, Henry JP, Jarosz CJ. 1975. Effects of marihuana (Δ^9 -THC) on behavior patterns and social roles in colonies of CBA Mice. *Behavioral Biology* **13**:263-276.
- Englund A et al. 2012. Cannabidiol inhibits THC-elicited paranoid symptoms and hippocampal-dependent memory impairment. *Journal of Psychopharmacology* **27**:19-27.
- E-Phy-Science. Light Dark Box. E-Phy-Science. Available from <https://www.e-phy-science.com/> (accessed April 2020).
- Essman EJ. 1984. Marijuana Intoxication in Rats: Interruption of Recent Memory and Effect on Brain Concentration of Delta 9-Tetrahydrocannabinol. *Psychological Reports* **55**:563-567.

- Evropská komise. 2019. Nařízení komise 2019/1390 ze dne 31. července 2019, kterým se stanoví zkušební metody podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek (REACH). Pages 1-508 in Úřední věstník Evropské unie L247, Ročník 62, 2019. Lucemburk.
- Fasinu PS, Phillips S, ElSohly MA, Walker LA. 2016. Current Status and Prospects for Cannabidiol Preparations as New Therapeutic Agents. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy* **36**:781-796.
- Felder CC, Glass M. 1998. Cannabinoid Receptors and their endogenous Agonists. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **38**:179-200.
- File SE et al. 2003. A review of 25 years of the social interaction test. *European Journal of Pharmacology* **463**:35-53.
- File SE, Cheeta S, Akanezi C. 2001. Diazepam and nicotine increase social interaction in gerbils: a test for anxiolytic action. *Brain Research* **888**:311-313.
- Finlay JM, Zigmond MJ, Abercrombie ED. 1995. Increased dopamine and norepinephrine release in medial prefrontal cortex induced by acute and chronic stress: Effects of diazepam. *Neuroscience* **64**:619-628.
- Foreman N, Gillett R. 1998. *Handbook Of Spatial Research Paradigms And Methodologies*, 1st. Psychology Press, London.
- French ED, Dillon K, Wu X. 1997. Cannabinoids excite dopamine neurons in the ventral tegmentum and substantia nigra. *Neuroreport* **8**:649-652.
- Frodl T et al. 2008. Reduced gray matter brain volumes are associated with variants of the serotonin transporter gene in major depression. *Molecular Psychiatry* **13**:1093-1101.
- Gable RS, Turk RF, Forney RB. 2004. Comparison of acute lethal toxicity of commonly abused psychoactive substances. *Addiction* **99**:686-696.
- Gardner EL, Vorel SR. 1998. Cannabinoid Transmission and Reward-Related Events. *Neurobiology of Disease* **5**:502-533.
- Garrett ER, Hunt CA, ElSohly MA, Walker LA. 1974. Physicochemical Properties, Solubility, and Protein Binding of Δ^9 -Tetrahydrocannabinol. *Journal of Pharmaceutical Sciences* **63**:1056-1064.
- Gessa GL, Melis M, Muntoni AL, Diana M. 1998. Cannabinoids activate mesolimbic dopamine neurons by an action on cannabinoid CB1 receptors. *European Journal of Pharmacology* **341**:39-44.
- Giustino A, Cuomo V, Marsden CA. 1998. Maternal cocaine exposure alters mesolimbic dopaminergic function in rat offspring. *European Journal of Pharmacology* **345**:175-180.
- Green B, Kavanagh D, Young R. 2003. Being stoned: a review of self-reported cannabis effects. *Drug and Alcohol Review* **22**:453-460.

- Gregus A, Wintink AJ, Davis AC, Kalynchuk LE, Spanagel R. 2005. Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. *Behavioural Brain Research* **156**:105-114.
- Grotenhermen F. 2003. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Cannabinoids. *Clinical Pharmacokinetics* **42**:327-360.
- Grotenhermen F. 2009. Konopí jako lék: praktický rádce k využívání konopí a dronabinolu v medicíně. Fontána, Olomouc.
- Hájos N, Ledent C, Freund TF. 2001. Novel cannabinoid-sensitive receptor mediates inhibition of glutamatergic synaptic transmission in the hippocampus. *Neuroscience* **106**:1-4.
- Hall W, Johnston L, Donnelly N. 1999. Epidemiology of cannabis use and its consequences. *The health effects of cannabis*:69-125.
- Hall W, Solowij N. 1998. Adverse effects of cannabis. *The Lancet* **352**:1611-1616.
- Hall W, Weier M. 2015. Assessing the public health impacts of legalizing recreational cannabis use in the USA **97**:607-615.
- Hampson RE, Deadwyler SA. 1999. Cannabinoids, hippocampal function and memory. *Life Sciences* **65**:715-723.
- Han CJ, Pierre-Louis J, Scheff A, Robinson JK. 2000. A performance-dependent adjustment of the retention interval in a delayed non-matching-to-position paradigm differentiates effects of amnesic drugs in rats. *European Journal of Pharmacology* **403**:87-93.
- Han J et al. 2012. Acute Cannabinoids Impair Working Memory through Astroglial CB1 Receptor Modulation of Hippocampal LTD. *Cell* **148**:1039-1050.
- Harte-Hargrove LC, Dow-Edwards DL, Weiner RI, Wilson V, Grayjr L, Gray JM, Hillard CJ, Gorzalka BB, Viau V, Deisseroth K. 2012. Withdrawal from THC during adolescence: Sex differences in locomotor activity and anxiety. *Behavioural Brain Research* **231**:48-59.
- Hashimoto S, Inoue T, Koyama T. 1999. Effects of conditioned fear stress on serotonin neurotransmission and freezing behavior in rats: Effects of diazepam. *European Journal of Pharmacology* **378**:23-30.
- Hasin DS, Wall M, Keyes KM, Cerdá M, Schulenberg J, O'Malley PM, Galea S, Pacula R, Feng T. 2015. Medical marijuana laws and adolescent marijuana use in the USA from 1991 to 2014: results from annual, repeated cross-sectional surveys. *The Lancet Psychiatry* **2**:601-608.
- Heckers S, Curran T, Goff D, Rauch SL, Fischman AJ, Alpert NM, Schacter DL. 2000. Abnormalities in the thalamus and prefrontal cortex during episodic object recognition in schizophrenia. *Biological Psychiatry* **48**:651-657.

- Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. 1991. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *The Journal of Neuroscience* **11**:563-583.
- Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. 1990. Cannabinoid receptor localization in brain. *Neurobiology* **87**:1932-1936.
- Herring NR, Schaefer TL, Gudelsky GA, Vorhees CV, Williams MT. 2008. Effect of ()-methamphetamine on path integration learning, novel object recognition, and neurotoxicity in rats. *Psychopharmacology* **199**:637-650.
- Hill MN, McLaughlin RJ, Bingham B, Shrestha L, Lee TTY, Gray JM, Hillard CJ, Gorzalka BB, Viau V, Deisseroth K. 2010. Endogenous cannabinoid signaling is essential for stress adaptation: evidence for a role of corticolimbic endocannabinoids in modulating hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity across developmental periods. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **107**:9406-9411.
- Hodges H. 1996. Maze procedures: The radial-arm and water maze compared. *Cognitive Brain Research* **3**:167-181.
- Hoffman AF, Oz M, Yang R, Lichtman AH, Lupica CR. 2007. Opposing actions of chronic 9-tetrahydrocannabinol and cannabinoid antagonists on hippocampal long-term potentiation. *Learning & Memory* **14**:63-74.
- Houston JE, Murphy J, Shevlin M, Adamson G. 2011. Cannabis use and psychosis: re-visiting the role of childhood trauma. *Psychological Medicine* **41**:2339-2348.
- Huestis M. 1999. Pharmacokinetics of THC in Inhaled and Oral Preparations. *Marihuana and Medicine*:105-116. Humana Press, Totowa, NJ.
- Hynie S, Klenerová V. 2010. Neurobiologie paměti. *Československá fyziologie* **59**:15-20.
- Cha YM, White AM, Kuhn CM, Wilson WA, Swartzwelder HS. 2006. Differential effects of delta9-THC on learning in adolescent and adult rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **83**:448-455.
- Cheer JF, Kendall DA, Marsden CA. 2000. Cannabinoid receptors and reward in the rat: a conditioned place preference study. *Psychopharmacology* **151**:25-30.
- Chen C, Magee JC, Bazan NG. 2002. Cyclooxygenase-2 Regulates Prostaglandin E 2 Signaling in Hippocampal Long-Term Synaptic Plasticity. *Journal of Neurophysiology* **87**:2851-2857.
- Chen K, Kandel DB. 1995. The natural history of drug use from adolescence to the mid-thirties in a general population sample. *American Journal of Public Health* **85**:41-47.
- Chomynová P, Grohmannová K, Mravčík V. 2019. Užívání nelegálních drog mezi dospívajícími v ČR: současné trendy ve vývoji situace. *Demografie* **61**:211-221.
- Infurna RN, Spear LP. 1979. Developmental changes in amphetamine-induced taste aversions. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **11**:31-35.

- Isokawa M. 2009. Time-dependent induction of CREB phosphorylation in the hippocampus by the endogenous cannabinoid. *Neuroscience Letters* **457**:53-57.
- Iversen LL. 2000. *The science of marijuana*. Oxford University Press, New York.
- Jansen EM, Haycock DA, Ward SJ, Seybold VS. 1992. Distribution of cannabinoid receptors in rat brain determined with aminoalkylindoles. *Brain Research* **575**:93-102.
- Jaskiw GE, Karoum FK, Weinberger DR. 1990. Persistent elevations in dopamine and its metabolites in the nucleus accumbens after mild subchronic stress in rats with ibotenic acid lesions of the medial prefrontal cortex. *Brain Research* **534**:321-323.
- Jentsch JD, Verrico CD, Le D, Roth RH. 1998. Repeated exposure to Δ^9 -tetrahydrocannabinol reduces prefrontal cortical dopamine metabolism in the rat. *Neuroscience Letters* **246**:169-172.a
- Jentsch JD, Wise A, Katz Z, Roth RH. 1998. A-noradrenergic receptor modulation of the phencyclidine-and Δ^9 -tetrahydrocannabinol-induced increases in dopamine utilization in rat prefrontal cortex. *Synapse* **28**:21-26.b
- Jianping C, Paredes W, Lowinson JH, Gardner EL. 1990. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol enhances presynaptic dopamine efflux in medial prefrontal cortex. *European Journal of Pharmacology* **190**:259-262.
- Joëls M, Ronald de Kloet E. 1994. Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the brain. Implications for ion permeability and transmitter systems. *Progress in Neurobiology* **43**:1-36.
- Kantor S, Anheuer ZE, Bagdy G. 2000. High social anxiety and low aggression in Fawn-Hooded rats. *Physiology & Behavior* **71**:551-557.
- Kawamura Y. 2006. The CB1 Cannabinoid Receptor Is the Major Cannabinoid Receptor at Excitatory Presynaptic Sites in the Hippocampus and Cerebellum. *Journal of Neuroscience* **26**:2991-3001.
- Kesner RP, Chiba AA, Jackson-Smith P. 1994. Rats do show primacy and recency effects in memory for lists of spatial locations: A reply to Gaffan **22**:214-218.
- Kim J, Alger BE. 2004. Inhibition of cyclooxygenase-2 potentiates retrograde endocannabinoid effects in hippocampus. *Nature Neuroscience* **7**:697-698.
- Klenerová V, Hynie S. 2010. Paměť a její poruchy. *Československá fyziologie* **59**:15-20.
- Knoll AT, Carlezon WA. 2010. Dynorphin, stress, and depression. *Brain Research* **1314**:56-73.
- Korenbrodt CC, Huhtaniemi IT, Weiner RI, Wilson V, Grayjr L, Gray JM, Hillard CJ, Gorzalka BB, Viau V, Deisseroth K. 1977. Preputial Separation as an External Sign of Pubertal Development in the Male Rat1: Changes in Plasma Prolactin, Gonadotropins, Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LHRH), and Hypothalamic LHRH Content. *Biology of Reproduction* **17**:298-303.

- Kozak K, Prusakiewicz J, Marnett L. 2004. Oxidative Metabolism of Endocannabinoids by COX-2. *Current Pharmaceutical Design* **10**:659-667.
- Kulišťák P. 2003. *Neuropsychologie*. Portál, Praha.
- Lacroix L, Spinelli S, Heidbreder CA, Feldon J. 2000. Differential role of the medial and lateral prefrontal cortices in fear and anxiety. *Behavioral Neuroscience* **114**:1119-1130.
- Lafayette Instruments Company. ELEVATED PLUS MAZE. Lafayette Instruments Company. Available from <https://lafayetteneuroscience.com/> (accessed March 2020).
- Lanoix D, Plusquellec P. 2013. Adverse effects of pollution on mental health: the stress hypothesis. *OA Evidence-Based Medicine* **1**:1-9.
- Lapiz-Bluhm MDS, Bondi CO, Doyen J, Rodriguez GA, Bédard-Arana T, Morilak DA. 2008. Behavioural Assays to Model Cognitive and Affective Dimensions of Depression and Anxiety in Rats. *Journal of Neuroendocrinology* **20**:1115-1137
- Lee TT-Y, Gorzalka BB, Besson M-J, Caboche J, Maldonado R. 2012. Timing is everything: evidence for a role of corticolimbic endocannabinoids in modulating hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity across developmental periods. *Neuroscience* **204**:17-30.
- Lemberger L, Weiss JL, Watanabe AM, Galanter IM, Wyatt RJ, Cardon PV. 1972. Delta-9-Tetrahydrocannabinol. *New England Journal of Medicine* **286**:685-688.
- Lenroot RK, Giedd JN, Bonnin A, Fernández-Ruiz JJ, Fernández-Ruiz JJ, Gray JM, Hillard CJ, Gorzalka BB, Viau V, Deisseroth K. 2010. Sex differences in the adolescent brain: Sexual differences, fluctuations during estrous cycle and changes after gonadectomy and sex steroid replacement. *Brain and Cognition* **72**:46-55.
- Lepore M, Liu X, Savage V, Matalon D, Gardner EL. 1996. Genetic differences in Δ^9 -tetrahydrocannabinol-induced facilitation of brain stimulation reward as measured by a rate-frequency curve-shift electrical brain stimulation paradigm in three different rat strains. *Life Sciences* **58**:PL365-PL372.
- Lévénès C, Daniel H, Soubrié P, Crépel F. 1998. Cannabinoids decrease excitatory synaptic transmission and impair long-term depression in rat cerebellar Purkinje cells. *The Journal of Physiology* **510**:867-879.
- Lezak MD. 2012. *Neuropsychological assessment* 5th ed.. Oxford University Press, Oxford.
- Lichtman AH, Martin BR. 1996. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol impairs spatial memory through a cannabinoid receptor mechanism. *Psychopharmacology* **126**:125-131.
- Lichtman AH. 2000. SR 141716A enhances spatial memory as assessed in a radial-arm maze task in rats. *European Journal of Pharmacology* **404**:175-179.
- Liu M-Y, Yin C-Y, Zhu L-J, Zhu X-H, Xu C, Luo C-X, Chen H, Zhu D-Y, Zhou Q-G. 2018. Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. *Nature Protocols* **13**:1686-1698.
- Lu B, Gottschalk W. 2000. Modulation of hippocampal synaptic transmission and plasticity by neurotrophins. *Neural Plasticity and Regeneration* **128**:231-241.

- Lueptow LM. 2017. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. *Journal of Visualized Experiments*.
- Luine V, Martinez C, Villegas M, Magariños AM, McEwen BS. 1996. Restraint stress reversibly enhances spatial memory performance. *Physiology & Behavior* **59**:27-32.
- Luo Q, Viste K, Urday-Zaa JC, Senthil Kumar G, Tsai W-W, Talai A, Mayo KE, Montminy M, Radhakrishnan I. 2012. Mechanism of CREB recognition and coactivation by the CREB-regulated transcriptional coactivator CRTC2. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**:20865-20870.
- Mackie K. 2006. Mechanisms of CB1 receptor signaling: endocannabinoid modulation of synaptic strength. *International Journal of Obesity* **30**:S19-S23.
- Mackintosh JH, Grant EC. 1963. A Comparison of the Social Postures of Some Common Laboratory Rodents. *Behaviour* **21**:246-259.
- Mailleux P, Vanderhaeghen JJ. 1992. Distribution of neuronal cannabinoid receptor in the adult rat brain: A comparative receptor binding radioautography and in situ hybridization histochemistry. *Neuroscience* **48**:655-668.
- Mallet P, Beninger R. 1996. The endogenous cannabinoid receptor agonist. *Behavioural pharmacology* **7**:276-284.
- Mallet PE, Beninger RJ. 1998. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716A attenuates the memory impairment produced by Δ^9 -tetrahydrocannabinol or anandamide. *Psychopharmacology* **140**:11-19.a
- Mallet PE, Beninger RJ. 1998. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol, but not the endogenous cannabinoid receptor ligand anandamide, produces conditioned place avoidance. *Life Sciences* **62**:2431-2439.b
- Mander L, Liu H-W. 2010. *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology*, 1st. Elsevier Science.
- Mansbach RS, Rovetti CC, Winston EN, Lowe JA. 1996. Effects of the cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716A on the behavior of pigeons and rats. *Psychopharmacology* **124**:315-322.
- Marsicano G, Lutz B. 2006. Neuromodulatory functions of the endocannabinoid system. *Journal of endocrinological investigation* **29**:33-40.
- McGilveray IJ. 2005. Pharmacokinetics of Cannabinoids. *Pain Research and Management* **10**:15A-22A.
- McGinty EE, Niederdeppe J, Heley K, Barry CL. 2017. Public perceptions of arguments supporting and opposing recreational marijuana legalization. *Preventive Medicine* **99**:80-86.
- McGregor IS, Dastur FN, McLellan RA, Brown RE. 1996. Cannabinoid modulation of rat pup ultrasonic vocalizations. *European Journal of Pharmacology* **313**:43-49.a

- McGregor IS, Issakidis CN, Prior G. 1996. Aversive effects of the synthetic cannabinoid CP 55,940 in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **53**:657-664.
- Meier MH, Caspi A, Ambler A, Harrington H, Houts R, Keefe RSE, McDonald K, Ward A, Poulton R, Moffitt TE. 2012. Persistent cannabis users show neuropsychological decline from childhood to midlife. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**:E2657-E2664.
- Miczek KA, Barry H. 1974. Δ 9-tetrahydrocannabinol and aggressive behavior in rats. *Behavioral Biology* **11**:261-267.
- Miller LL, Branconnier RJ. 1983. Cannabis: Effects on memory and the cholinergic limbic system. *Psychological Bulletin* **93**:441-456.
- Miovský M. 2008. *Konopí a konopné drogy: adiktologické kompendium*. Grada, Praha.
- Misner DL, Sullivan JM. 1999. Mechanism of Cannabinoid Effects on Long-Term Potentiation and Depression in Hippocampal CA1 Neurons. *The Journal of Neuroscience* **19**:6795-6805.
- Montgomery SM, Buzsaki G. 2007. Gamma oscillations dynamically couple hippocampal CA3 and CA1 regions during memory task performance. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **104**:14495-14500.
- Moore NLT, Greenleaf ALR, Acheson SK, Wilson WA, Swartzwelder HS, Kuhn CM. 2010. Role of Cannabinoid Receptor Type 1 Desensitization in Greater Tetrahydrocannabinol Impairment of Memory in Adolescent Rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **335**:294-301.
- Morita I. 2002. Distinct functions of COX-1 and COX-2. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* **68-69**:165-175.
- Morley KC, Gallate JE, Hunt GE, Mallet PE, McGregor IS. 2001. Increased anxiety and impaired memory in rats 3 months after administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (“Ecstasy”). *European Journal of Pharmacology* **433**:91-99.
- Mou W, McNamara TP. 2002. Intrinsic frames of reference in spatial memory. *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition* **28**:162-170.
- Munn NM. 1933. *Handbook of Psychological Research on the Rat: An Introduction to Animal Psychology*. Houghton Mifflin.
- Murphy BL, Arnsten AF, Goldman-Rakic PS, Roth RH. 1996. Increased dopamine turnover in the prefrontal cortex impairs spatial working memory performance in rats and monkeys. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **93**:1325-1329.
- Nadel L, Moscovitch M. 1997. Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current Opinion in Neurobiology* **7**:217-227.

- Nakamura EM, Da Silva EA, Concilio GV, Wilkinson AD, Masur J. 1991. Reversible effects of acute and long-term administration of Δ -9-tetrahydrocannabinol (THC) on memory in the rat. *Drug and Alcohol Dependence* **28**:167-175.
- Narimatsu S, Watanabe K, Yamamoto I, Yoshimura H, Fernández-Ruiz JJ, Gray JM, Hillard CJ, Gorzalka BB, Viau V, Deisseroth K. 1991. Sex difference in the oxidative metabolism of Δ 9-tetrahydrocannabinol in the rat: Sexual differences, fluctuations during estrous cycle and changes after gonadectomy and sex steroid replacement. *Biochemical Pharmacology* **41**:1187-1194.
- Navarrete M, Araque A. 2010. Endocannabinoids Potentiate Synaptic Transmission through Stimulation of Astrocytes. *Neuron* **68**:113-126.
- Ojeda SR, Wheaton JE, Jameson HE, McCann SM, Fernández-Ruiz JJ, Gray JM, Hillard CJ, Gorzalka BB, Viau V, Deisseroth K. 1976. The Onset of Puberty in the Female Rat: Changes in Plasma Prolactin, Gonadotropins, Luteinizing Hormone-Releasing Hormone (LHRH), and Hypothalamic LHRH Content. *Endocrinology* **98**:630-638.
- Olton DS. 1979. Mazes, maps, and memory. *American Psychologist* **34**:583-596.
- Orel M, Procházka R. 2017. *Vyšetření a výzkum mozku: pro psychology, pedagogy a další nelékařské obory*. Grada, Praha.
- Ortega-Perez I, Murray K, Lledo P-M. 2007. The how and why of adult neurogenesis. *Journal of Molecular Histology* **38**:555-562.
- O'Shea M, McGregor IS, Mallet PE. 2006. Repeated cannabinoid exposure during perinatal, adolescent or early adult ages produces similar longlasting deficits in object recognition and reduced social interaction in rats. *Journal of Psychopharmacology* **20**:611-621.
- O'Shea M, Singh ME, Mcgregor IS, Mallet PE. 2016. Chronic cannabinoid exposure produces lasting memory impairment and increased anxiety in adolescent but not adult rats. *Journal of Psychopharmacology* **18**:502-508.
- Pandey SC, Zhang H, Roy A, Xu T. 2005. Deficits in amygdaloid cAMP-responsive element-binding protein signaling play a role in genetic predisposition to anxiety and alcoholism. *Journal of Clinical Investigation* **115**:2762-2773.
- Parker LA, Gillies T. 1995. THC-induced place and taste aversions in Lewis and Sprague-Dawley rats. *Behavioral Neuroscience* **109**:71-78.
- Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. 1985. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods* **14**:149-167.
- Phillips RN, Turk RF, Forney RB. 1971. Acute Toxicity of Δ -9-Tetrahydrocannabinol in Rats and Mice. *Experimental Biology and Medicine* **136**:260-263.
- Philpot RM, Badanich KA, Kirstein CL. 2003. Place Conditioning: Age-Related Changes in the Rewarding and Aversive Effects of Alcohol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **27**:593-599.

- Pistis M, Ferraro L, Pira L, Flore G, Tanganelli S, Gessa GL, Devoto P. 2002. Δ^9 -Tetrahydrocannabinol decreases extracellular GABA and increases extracellular glutamate and dopamine levels in the rat prefrontal cortex: an in vivo microdialysis study. *Brain Research* **948**:155-158.
- Pomahacova B, Van der Kooy F, Verpoorte R, Galanter IM, Wyatt RJ, Cardon PV. 2009. Cannabis smoke condensate III: The cannabinoid content of vaporised Cannabis sativa. *Inhalation Toxicology* **21**:1108-1112.
- Quinn HR et al. 2008. Adolescent Rats Find Repeated Δ^9 -THC Less Aversive Than Adult Rats but Display Greater Residual Cognitive Deficits and Changes in Hippocampal Protein Expression Following Exposure. *Neuropsychopharmacology* **33**:1113-1126.
- Rall JM, Mach SA, Dash PK. 2003. Intrahippocampal infusion of a cyclooxygenase-2 inhibitor attenuates memory acquisition in rats. *Brain Research* **968**:273-276.
- Realini N, Vigano' D, Guidali C, Zamberletti E, Rubino T, Parolaro D. 2011. Chronic URB597 treatment at adulthood reverted most depressive-like symptoms induced by adolescent exposure to THC in female rats. *Neuropharmacology* **60**:235-243.
- Reece WO. 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Grada, Praha.
- Renard J, Rushlow WJ, Laviolette SR. 2016. What Can Rats Tell Us about Adolescent Cannabis Exposure? Insights from Preclinical Research. *The Canadian Journal of Psychiatry* **61**:328-334.
- Riebe CJN, Hill MN, Lee TTY, Hillard CJ, Gorzalka BB, Gray JM, Hillard CJ, Gorzalka BB, Viau V, Deisseroth K. 2010. Estrogenic regulation of limbic cannabinoid receptor binding: evidence for a role of corticolimbic endocannabinoids in modulating hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity across developmental periods. *Psychoneuroendocrinology* **35**:1265-1269.
- Rinaldi-Carmona M et al. 1994. SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Letters* **350**:240-244.
- Roberts WA, Van Veldhuizen N. 1985. Spatial memory in pigeons on the radial maze. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes* **11**:241-260.
- Roldan-Valadez E, García-Lázaro HG, Lara-Romero R, Ramirez-Carmona R. 2012. Neuroanatomy of episodic and semantic memory in humans: A brief review of neuroimaging studies. *Neurology India* **60**:613-617.
- Roxo MR, Franceschini PR, Zubaran C, Kleber FD, Sander JW. 2011. The Limbic System Conception and Its Historical Evolution. *The Scientific World JOURNAL* **11**:2427-2440.
- Rubino T et al. 2008. Chronic Δ^9 -Tetrahydrocannabinol During Adolescence Provokes Sex-Dependent Changes in the Emotional Profile in Adult Rats: Behavioral and Biochemical Correlates. *Neuropsychopharmacology* **33**:2760-2771.a

- Rubino T, Guidali C, Vigano D, Realini N, Valenti M, Massi P, Parolaro D. 2008. CB1 receptor stimulation in specific brain areas differently modulate anxiety-related behaviour: Effects of diazepam. *Neuropharmacology* **54**:151-160.b
- Rusina R. 2004. Paměť a její poruchy. *Neurologie pro praxi*:205-207.
- Salio C, Fischer J, Franzoni MF, Conrath M. 2002. Pre- and postsynaptic localizations of the CB1 cannabinoid receptor in the dorsal horn of the rat spinal cord. *Neuroscience* **110**:755-764.
- Sañudo-Peña MC, Tsou K, Delay ER, Hohman AG, Force M, Walker JM. 1997. Endogenous cannabinoids as an aversive or counter-rewarding system in the rat. *Neuroscience Letters* **223**:125-128.
- Seri B, García-Verdugo JM, McEwen BS, Alvarez-Buylla A. 2001. Astrocytes Give Rise to New Neurons in the Adult Mammalian Hippocampus. *The Journal of Neuroscience* **21**:7153-7160.
- Sewell RA, Schnakenberg A, Elander J, Radhakrishnan R, Williams A, Skosnik PD, Pittman B, Ranganathan M, D'Souza DC. 2013. Acute effects of THC on time perception in frequent and infrequent cannabis users: a review of self-reported cannabis effects. *Psychopharmacology* **226**:401-413.
- Shah AA et al. 2003. Excitotoxic lesions of the medial prefrontal cortex attenuate fear responses in the elevated-plus maze, social interaction and shock probe burying tests. *Brain Research* **969**:183-194.
- Shah AA et al. 2004. Infusions of midazolam into the medial prefrontal cortex produce anxiolytic effects in the elevated plus-maze and shock-probe burying tests. *Brain Research* **996**:31-40.
- Sheline YI et al. 2003. Untreated Depression and Hippocampal Volume Loss. *American Journal of Psychiatry* **160**:1516-1518.
- Shram MJ, Funk D, Li Z, Lê AD. 2006. Periadolescent and adult rats respond differently in tests measuring the rewarding and aversive effects of nicotine. *Psychopharmacology* **186**:201-208.
- Schneider M, Koch M. 2003. Chronic Pubertal, but not Adult Chronic Cannabinoid Treatment Impairs Sensorimotor Gating, Recognition Memory, and the Performance in a Progressive Ratio Task in Adult Rats. *Neuropsychopharmacology* **28**:1760-1769.
- Schramm-Sapyta NL, Cha YM, Chaudhry S, Wilson WA, Swartzwelder HS, Kuhn CM. 2007. Differential anxiogenic, aversive, and locomotor effects of THC in adolescent and adult rats. *Psychopharmacology* **191**:867-877.
- Schramm-Sapyta NL, Morris RW, Kuhn CM. 2006. Adolescent rats are protected from the conditioned aversive properties of cocaine and lithium chloride. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **84**:344-352.

- Schweinsburg AD, Schweinsburg BC, Medina KL, McQueeney T, Brown SA, Tapert SF. 2010. The Influence of Recency of Use on fMRI Response During Spatial Working Memory in Adolescent Marijuana Users. *Journal of Psychoactive Drugs* **42**:401-412.
- Sidney S, Crown P, Dornbush R, Feldstein S, Fink M, Skosnik PD, Pittman B, Ranganathan M, D'Souza DC. 2002. Cardiovascular Consequences of Marijuana Use: human studies. *The Journal of Clinical Pharmacology* **42**:64S-70S.
- Slanina KA, Roberto M, Schweitzer P. 2005. Endocannabinoids restrict hippocampal long-term potentiation via CB1. *Neuropharmacology* **49**:660-668.
- Small E, Cronquist A. 2019. A PRACTICAL AND NATURAL TAXONOMY FOR CANNABIS. *TAXON* **25**:405-435.
- Soya H et al. 1975. Brain Activation via Exercise. *The Journal of Exercise Nutrition and Biochemistry* **6**:1-10.
- Stopponi S et al. 2014. Chronic THC during adolescence increases the vulnerability to stress-induced relapse to heroin seeking in adult rats: A comparative receptor binding radioautography and in situ hybridization histochemistry. *European Neuropsychopharmacology* **24**:1037-1045.
- Stuchlik A. 2014. Dynamic learning and memory, synaptic plasticity and neurogenesis: an update. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* **8**:106.
- Sullivan JM. 2000. Cellular and Molecular Mechanisms Underlying Learning and Memory Impairments Produced by Cannabinoids. *Learning & Memory* **7**:132-139.
- Takahashi KA, Castillo PE. 2006. The CB1 cannabinoid receptor mediates glutamatergic synaptic suppression in the hippocampus. *Neuroscience* **139**:795-802.
- Tanda G, Pontieri FE, Chiara GD. 1997. Cannabinoid and Heroin Activation of Mesolimbic Dopamine Transmission by a Common μ 1 Opioid Receptor Mechanism. *Science* **276**:2048-2050.
- Teather LA. 2002. Post-Training Cyclooxygenase-2 (COX-2) Inhibition Impairs Memory Consolidation. *Learning & Memory* **9**:41-47.
- Tervo-Clemmens B, Simmonds D, Calabro FJ, Day NL, Richardson GA, Luna B. 2018. Adolescent cannabis use and brain systems supporting adult working memory encoding, maintenance, and retrieval. *NeuroImage* **169**:496-509
- Trojan S. 2005. Fyziologie a léčebná rehabilitace motoriky člověka. Grada, Praha.
- Tsou K, Brown S, Sañudo-Peña MC, Mackie K, Walker JM. 1998. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience* **83**:393-411.
- Tye KM, Prakash R, Kim S-Y, Fenno LE, Grosenick L, Zarabi H, Thompson KR, Gradinaru V, Ramakrishnan C, Deisseroth K. 2011. Amygdala circuitry mediating reversible and bidirectional control of anxiety: evidence for a role of corticolimbic endocannabinoids in

- modulating hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity across developmental periods. *Nature* **471**:358-362.
- United Nations. 2018. World Drug Report. United Nations Office on Drugs And Crime.
- Valjent E, Mitchell JM, Besson MJ, Caboche J, Maldonado R. 2002. Behavioural and biochemical evidence for interactions between Δ 9-tetrahydrocannabinol and nicotine. *British Journal of Pharmacology* **135**:564-578.
- Varlinskaya EI, Spear LP, Spear NE. 1999. Social Behavior and Social Motivation in Adolescent Rats **67**:475-482.
- Varvel S, Hamm R, Martin B, Lichtman A. 2001. Differential effects of Δ 9 -THC on spatial reference and working memory in mice. *Psychopharmacology* **157**:142-150.
- Volavka J, Crown P, Dornbush R, Feldstein S, Fink M, Skosnik PD, Pittman B, Ranganathan M, D'Souza DC. 1973. EEG, heart rate and mood change (?high?) after Cannabis: human studies. *Psychopharmacologia* **32**:11-25.
- Vorhees CV, Williams MT. 2006. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols* **1**:848-858.
- Wegener N et al. 2009. Behavioural disturbances and altered Fos protein expression in adult rats after chronic pubertal cannabinoid treatment: A comparative receptor binding radioautography and in situ hybridization histochemistry. *Brain Research* **1253**:81-91.
- Williams L, Parker H. 2001. Alcohol, cannabis, ecstasy and cocaine: drugs of reasoned choice amongst young adult recreational drug users in England. *International Journal of Drug Policy* **12**:397-413.
- Wilmouth C, Spear LP. 2004. Adolescent and Adult Rats' Aversion to Flavors Previously Paired with Nicotine. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1021**:462-464.
- Wise LE, Thorpe AJ, Lichtman AH. 2009. Hippocampal CB1 Receptors Mediate the Memory Impairing Effects of Δ 9-Tetrahydrocannabinol. *Neuropsychopharmacology* **34**:2072-2080.
- Zamberletti E, Prini P, Speziali S, Gabaglio M, Solinas M, Parolaro D, Rubino T. 2012. Gender-dependent behavioral and biochemical effects of adolescent delta-9-tetrahydrocannabinol in adult maternally deprived rats. *Neuroscience* **204**:245-257.

6 Seznam použitých zkratk a symbolů

- 2-AG - 2- arachidonoylglycerol
- ACTH – kortikotropin/ adrenokortikotropního hormon
- BrdU - bromdeoxyuridin
- CB receptor – kanabinoidní receptor
- CBC – kanabichromen
- CBD – kanabidiol
- CBDA - kyselina kanabidiolová
- CBG – kanabigerol
- CBN – kanabinol
- COX – cyklooxygenáza
- CREB - cAMP responzivní element vázající protein
- CRH - kortikoliberin/hormon uvolňující kortikotropin
- EPM - elevated plus maze - vyvýšené křížové bludiště
- EPSP - exitační postsynaptický potenciál
- GABA - gama-aminomáselná kyselina
- HPA osa - hypotalamo-pituitárně-adrenální osa
- IPSP - inhibiční postsynaptický potenciál
- LTD - long-term depression dlouhodobá deprese
- LTP - long-term potentiation - dlouhodobá potenciace
- NMDA receptor- N-metyl-D-aspartát receptor
- NOR test - new object recognition test - test rozpoznání nového objektu
- SR141716 – rimonabant
- THC – tetrahydrokanabinol
- THCA - kyselina tetrahydrokanabinolová