

# Medicinska marihuana u veterinarskoj medicini

---

**Pelivan, Marinka**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2020**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:928169>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-21**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

Marinka Pelivan

**MEDICINSKA MARIHUANA U VETERINARSKOJ  
MEDICINI**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2020.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET  
ZAVOD ZA FARMAKOLOGIJU I TOKSIKOLOGIJU

PREDSTOJNIK: doc. dr. sc. Jelena Šuran, dr. med. vet.

MENTOR: doc. dr. sc. Jelena Šuran, dr. med. vet.

KOMENTOR: dr. sc. Josipa Vlainić, dr. med. vet.

ČLANOVI POVJERENSTVA ZA OBRANU DIPLOMSKOG RADA:

1. prof. dr. sc. Frane Božić
2. doc. dr. sc. Jelena Šuran, dr. med. vet.
3. dr. sc. Josipa Vlainić, dr. med. vet.
4. prof. dr. sc. Andreja Prevendar Crnić (zamjena)

Zavod za farmakologiju i toksikologiju

## ZAHVALE

*Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Jeleni Šuran te komentorici dr. sc. Josipi Vlainić na potpori, savjetima, uloženom vremenu, trudu i razumijevanju prilikom izrade ovog diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se svojim psima Hani, Visa, Alf, Maza, Bella, Nuša i mačkama Ivek, Joji, Sivka, Kid, Eminem, Farkos, Nala, Slađa, Mimi, Window, Shadow, Timi, Žučo Mali, Serafina, Cvita, Maro, Šarka, Šarica, Izzy, Crna, Helga, Pumba, Georgina, Đurđa, Repićka, Denis, Safir, Legolas, Polly, Iggy, Ljubo, Stella, Koda, Žučo, Farkosić, Roko, Megi, Andro, Sivi Jack, Kumpić, Oki, Fiona, Vinka, Čedomir, Bisous, Tiki i Cobi te kravama Milava i Šljokica, janjetu Mito te golubu Peri. Posebna zahvala mom ocu Marinku i majci Brigiti na potpori.*

*Hani, Ivek, Nala, Đurđa, Joji i Sivka-Vama posvećujem ovaj rad.*

## **POPIS KRATICA**

5-HT1A – serotonininski receptor subtipa A1

AEA – arahidonoil etanolamid

AED – antikonvulzivni lijekovi

ALP – alkalna fosfataza

CA(1)-CA(3) – cornu amonis (regije hipokampusa)

CBC – kanabikromen

CBD – kanabinoid(i)

CBG – kanabigerol

CBN – kanabinol

CB1R – kanabinoidni receptor tipa 1

CB2R – kanabinoidni receptor tipa 2

CECD – klinička endokanabinoidni deficijencija

COX – ciklooksigenaza

CNS – središnji živčani sustav

CSU – Državno Sveučilište u Coloradu

DEA – Agencija za suzbijanje droga

eCB – endokanabinoid

ECS – endokanabinoidni sustav

FAAH – masna kiselina amid hidrolaza

FDA – Američka agencija za hranu i lijekove

GABA – gama-amino-maslačna kiselina

ID-1 – DNA vezajući proteinski inhibitor

MAGL – monoacilglicerol lipaza

NIH – Nacionalni Institut Zdravlja

NK stanice – stanice prirodne ubojice

OA – osteoartritis

POMC – proopiomelanokortinski neuroni

SHR – spontano hipertenzivni štakori

THC – tetrahidrokanabinol

THCA – tetrahidrokanabinolična kiselina

TNF-a – tumor nekrotični faktor alfa

TRP – prolazni receptorski potencijal

TRPA1 – prolazni receptorski potencijal kationskog kanala A1

TRPM8 – prolazni receptorski potencijal kationskog kanala M8

UDST – test skeniranja urina na drogu

UN – Ujedinjeni narodi

## SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
1.1. Legalnost medicinske uporabe kanabisa u RH.....	1
2. Endokanabinoidni sustav životinja.....	3
2.1 Kemija endokanabinoida i CB receptori.....	4
2.1.1 Anatomska lokalizacija eCB receptora kod psa.....	6
2.2. Fitokanabinoidi.....	8
2.2.1. Tetrahidrokanabinol ili THC.....	9
2.2.2. Kanabidiol ili CBD.....	9
2.2.3. Tetrahidrokanabivarin ili THCV.....	10
2.2.4. Kanabigerol ili CBG.....	11
2.2.5. Ostali fitokanabinoidi.....	11
2.3. Terpenoidi.....	12
2.4.“ Entourage efekt“ kanabisa.....	14
3. Terapijske primjene- ECS u zdravlju i bolesti.....	15
3.1. Tumori.....	15
3.1.1.Mehanizmi protuneoplastičnih učinaka kanabinoida.....	15
3.1.2. Indukcija smrti tumorskih stanica i protuproliferativni učinci.....	15
3.1.3. Inhibicija angiogeneze, tkivne invazije i metastaziranja.....	17
3.1.4. Klinička primjena kod pacijenata s karcinomom.....	17
3.2. Upalna stanja.....	18
3.3. Bol.....	18
3.4. Pretilost, metaboličke bolesti.....	19
3.5. Pulmonarni učinci.....	20
3.6. Kardiovaskularni učinci.....	20
3.7. Anksioznost i stres.....	21

3.8. Spavanje.....	21
3.9. Antioksidativna svojstva i neurozaštita.....	21
3.10. Refraktorna epilepsija pasa: <i>pilot studija</i> .....	22
3.11. Osteoartritis; Farmakokinetika, sigurnost i klinička učinkovitost CBD terapije osteoartritičnih pasa; <i>studija</i> .....	23
3.12. Memorija i kanabis.....	24
3.13. Klinička endokanabinoidna deficijencija (CECD).....	24
3.14. Ograničavajući čimbenici ECS-a kao terapijske mete.....	25
4. Vodič za veterinarske proizvode od kanabisa i njihova primjena.....	26
4.1. Formulacije i načini primjene proizvoda od kanabisa.....	26
4.1.1. Oralna primjena.....	27
4.1.2. Topikalna primjena.....	29
4.1.3. Inhalacija.....	30
4.1.4. Usporedna studija načina primjene CBD-a kod biglova.....	30
4.1.5. Iskustva vlasnika kućnih ljubimaca s proizvodima od konoplje.....	31
4.2. Hemp ekstrakti bez THC-a.....	31
5. Doziranje i strategije u veterinarskoj medicini.....	33
5.1 Omjer doziranja.....	34
5.1.1. Nuspojave i doziranje.....	35
5.1.2. Sigurnost dugotrajne primjene visoke doze CBD-a u pasa.....	36
5.1.3. Evaluacija trenda toksikoze marihuanom pasa iz država sa legalnom medicinskom marihuanom: 125 pasa (2005.–2010.) .....	36
5.2. Interakcije lijekova sa kanabisom.....	37
5.3. Testiranje proizvoda.....	37
6. Zaključak.....	39
7. Literatura.....	42
8. Sažetak.....	54
9. Summary.....	55



10. Životopis.....	56
--------------------	----

## 1. UVOD

*Cannabis sativa L.* popularnija kao marihuana, kanabis, Mary Jane, trava, ganja, biljka je kultivirana s početkom agrikulture unazad 10 000 godina. U neolitičkom periodu korišteni su svi dijelovi biljke, za hranu, odjeću pa tako i medicinske pripravke. Kanabis kao biljka sadrži više od 480 individualnih komponenti; kanabinoide, terpene, terpenoide, flavonoide, ne-kanabinoidne fenole, dušične spojeve i druge sastavnice uobičajene kod biljaka.

Primjena kanabisa kod životinja područje je od rastućeg interesa zbog terapijskih dobrobiti koje su primijećene kod ljudi, ali i životinja. Suživot i odnos ljudi s njihovim ljubimcima i drugim životinjskim vrstama, doveo je do pojačanog interesa za kanabis kao terapijskog sredstva u liječenju životinja. U ovom radu obrađena je dostupna literatura o kanabisu i njegovoj interakciji s endokanabinoidnim sustavom, dokazanim i potencijalnim terapijskim dobrobitima, te kako životinjske vrste reagiraju na različite formulacije i tretmane kanabisom. Unatoč nedostatnosti objavljenih kontroliranih studija kod veterinarskih vrsta, skrbnici životinja koristili su kanabis za svoje pse, mačke i konje još od prije legalizacije medicinske marihuane a vjerojatno i mnogo ranije. Klinička ispitivanja koja detaljno analiziraju učinkovitost i sigurnost fitokanabinoida kod kućnih ljubimaca, danas se sve više provode na znanstvenim institucijama i u farmaceutskoj industriji te postoji jasan javni i komercijalni interes za ovu novu i interesantnu terapiju za životinje koja će uskoro vjerujemo biti dostupna.

### 1.1. Legalnost medicinske uporabe marihuane u RH

Uporaba konoplje u medicinske svrhe zaživjela je osobito posljednjih godina u zemljama Europske unije, ali i širom svijeta. Suprotno smjeru kojeg je odredila Jedinствena konvencija UN-a o drogama iz 1961., kojom je konoplja svrstana među najopasnije droge, protekom vremena, medicinska istraživanja nas danas upućuju na prednosti koje pripravci od indijske konoplje mogu imati prilikom liječenja ili ublažavanja posljedica nekih bolesti. Brojne zemlje Europske unije (Austrija, Češka, Finska, Francuska, Italija, Nizozemska, Njemačka, Portugal, Rumunjska, Slovenija, Španjolska, Velika Britanija) legalizirale su uporabu konoplje u medicinske svrhe. Hrvatska je nakon dugotrajne i široke javne rasprave usvojila izmjene

odredbi Zakona o suzbijanju zlouporabe droga i one su 25. travnja 2019. godine s objavom u Narodnim novinama stupile na snagu.

Pravilnikom o izmjenama i dopunama Pravilnika o mjerilima za razvrstavanje lijekova te o propisivanju i izdavanju lijekova na recept (NN 107/15) propisano je da lijekove koji sadrže tetrahidrokanabinol (THC), dronabinol ili nabilon propisuju izabrani doktori medicine u djelatnosti opće/obiteljske medicine, zdravstvene zaštite predškolske djece i zdravstvene zaštite žena po preporuci doktora medicine specijalista neurologije, internističke onkologije, onkologije i radioterapije, infektologije i specijalista pedijatra sa subspecijalizacijom iz neuropedijatrije na neponovljivi recept. Lijekovi koji sadrže THC, dronabinol i nabilon mogu se propisivati za ublažavanje tegoba kod multiple skleroze, karcinoma, epilepsije i AIDS-a. Citiranim izmjenama i dopunama Pravilnika učinjen je značajan pomak na području upotrebe kanabinoida u medicinske svrhe. Na taj način, oboljelima od multiple skleroze, karcinoma, epilepsije i AIDS-a dopušta se pribavljanje lijekova koji u sebi sadrže THC na liječnički recept u svrhu ublažavanja tegoba. Popis bolesti relativno je kratak, te se očekuje da daljnja istraživanja i angažman medicinske struke doprinesu širenju indikacija za koje je dozvoljeno propisivanje lijekova na bazi THC-a. Izmjenama Pravilnika, oboljelima nije dozvoljen uzgoj stabljika konoplje iz kojih bi sami spravljali pripravke, koji su se u praksi pokazali nedvojbeno korisnima (npr. ulje od cvijeta indijske konoplje), već ih se upućuje isključivo na medicinske pripravke koji se mogu nabaviti u ljekarnama. Niti domaćim zdravstvenim ustanovama koje se bave proizvodnjom medicinskih pripravaka nije dozvoljena proizvodnja lijekova na bazi THC-a, već je moguć samo uvoz. Iako neke druge europske zemlje dopuštaju uzgoj kanabisa građanima za vlastite medicinske potrebe, hrvatska vlada još nije odobrila tu mjeru.

## 2. ENDOKANABOIDNI SUSTAV ŽIVOTINJA

Endokanabinoidni sustav (ECS) je identificiran kod gotovo svih životinja, od kompleksnih sisavaca poput primata do filogenetski primitivnih životinja kao što su žarnjaci. Gotovo univerzalna prisutnost i rana pojava ECS-a evolucijski je snažan indikator biološke važnosti ovog sustava. Kanabinoidni receptori su prisutni kod većine životinja uključujući kralježnjake (sisavce, ptice, reptile i ribe), te beskralježnjake (ježinci, pijavice, dagnje, nematode i drugih). Najprimitivnija životinja kod koje je dokazan ECS je hidra (*H. Vulgaris*), žarnjak iz roda Hydrozoa, prva životinja koja je razvila neuralnu mrežu. DE PETROCELLIS i sur. (1999.) su utvrdili da je glavna funkcija ECS-a kod hidre kontrola odgovora na hranjenje. Razumijevanje ECS-a kod životinjskih vrsta je nužno za razvoj kliničke primjene endokanabinoida i fitokanabinoida izoliranih primarno iz vrste *Cannabis sativa L.*

Endokanabinoidni sustav sastoji se od 1) kanabinoidnih liganda koji se vežu za kanabinoidne receptore, 2) samih receptora, i 3) enzima koji sintetiziraju i degradiraju ligande. Nakon otkrića strukture prvog kanabinoida delta-9-THC-a 1964. godine, istraživači su započeli potragu za membranskim receptorima koji bi mogli posredovati aktivnosti kanabinoida. 1988. godine prvi kanabinoidni receptor je otkriven u mozgu štakora uz pomoć radioaktivno označenog THC derivata. Ovaj receptor je nazvan kanabinoidni receptor tipa 1 (CB<sub>1</sub>), a riječ je o receptoru spregnutom s G-proteinom i zastupljenom u cerebralnom korteksu, hipokampusu, hipotalamusu, malom mozgu, bazalnim ganglijima, moždanom deblu, leđnoj moždina i amigdali. Ovaj receptor je prisutan kod svih kralježnjaka, upućujući na to da endokanabinoidni sustav postoji već preko 500 milijuna godina. CB<sub>1</sub> receptor se pretežito nalazi na neuronima koji otpuštaju gama-amino maslačnu kiselinu (GABA), glavni inhibicijski neurotransmiter, i lociran je blizu sinapse. Otkriće ovog endokanabinoidnog receptora bio je prijelomni trenutak jer je omogućio otkriće endogenih kanabinoidnih molekula (endokanabinoida). Najzastupljeniji su bili arahidonoil etanolamid ili anandamid (AEA), dugolančani amid masne kiseline i 2-arahidonoil glicerol ester (DEVANE i sur., 1992.; MECHOULAM i sur., 1995.; PERTWEE, 2000.) MECHOULAM, koji je otkrio THC (1995.), također je otkrio i prvi endokanabinoid koji je nazvao „anandamid“ prema sanskrit riječi za „blažen“. Anandamid se veže za CB<sub>1</sub> receptor

i izaziva učinke slične fitokanabinoidima koji se prirodno pojavljuju u kanabisu. Drugi endokanabinoid koji je otkriven je 2-arahidonoil glicerol (2-AG). Ove novotkrivene tvari (AEA, 2-AG) su u mogućnosti aktivirati i CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> receptore, te su pri testiranju na životinjama proizvele biološke učinke poput Δ<sup>9</sup>-THC-a. eCB-i se stvaraju po potrebi, sukladno povećanju razine kalcijevih iona. Razine endokanabinoida još poznate kao i “endokanabinoidni tonus,” su tkivno ovisne i regulirane enzimima, od kojih su najvažniji masna kiselina amid hidrolaza (FAAH) i monoacil-glicerol lipaza (MAGL), čija je uloga deaktivacija AEA i 2-AG i njihovih srodnika. Dodatna funkcija u regulaciji eCB tonusa je transportni mehanizam koji je uključen u transport otpuštenih eCB-a u stanicu (VEMURI i MAKRIYANNIS, 2015.).

ECS signalizacija se javlja u dvije forme; tonička i fazička. Tonička signalizacija uspostavlja eCB tonus ili bazalnu razinu signalizacije, dok fazička signalizacija uključuje privremenu perturbaciju razina eCB-a. Istraživači su ustanovili da su omega-3 masne kiseline esencijalne za pravilnu regulaciju ECS tonusa, pošto se ove višestruko nezasićene masne kiseline direktno ugrađuju u eCB signalne puteve (LAFOURCADE i sur., 2011.).

Homeostatske funkcije endokanabinoidnog sustava sažeo je DiMarzo kao „opusti se, jedi, spavaj i zaštiti“ (MCPARTLAND, GUY, DIMARZO, 2014.). ECS ima utjecaj na embrionalni razvoj, neuroplastičnost, neurozaštitu, imunost, upalu, apoptozu, karcinogenezu, bol, emocionalno pamćenje, glad, hranjenje i metabolizam. CB<sub>1</sub> receptor je visoko očuvan kod svih vrsta sisavaca, no postoje značajne razlike primarne sekvence koje su utvrđene između CB<sub>2</sub> receptora čovjeka i štakora i novo kloniranog psećeg kanabinoidnog receptora, CB<sub>2</sub>. Utvrđeno je da je afinitet eCB-a za vezanje na pseći receptor 30 puta manji nego kod ljudi i štakora. Funkcionalna svojstva CB<sub>2</sub> receptora su ovisna o razini ekspresije receptora i o prirodi odabranog puta signalizacije (NDONG i sur., 2011.).

## **2.1. Kemija endokanabinoida i kanabinoidni receptori**

Anandamid se sintetizira iz prekursora u membrani uz pomoć fosfolipaze D (NAPE-PLD). Anandamid se hidrolizira u arahidonsku kiselinu (AA) i etanol-amin. 2-AG se proizvodi aktivnošću diacilglicerol lipaze (DAGL) ili fosfolipaze C (PLC), uporabom AA prekursora. 2-AG se degradira monoacilglicerol lipazom (MAGL) u glicerol i AA (HARTSEL i sur., 2016.). eCB-i se otpuštaju s postsinaptičkog neurona i djeluju na kanabinoidne receptore na

presinaptičkom neuronu. eCB-i inhibiraju ulazak kalcija u stanicu što rezultira inhibicijom otpuštanja inhibicijskih neurotransmitera. Sinteza eCB-a može biti stimulirana na različite načine, primjerice ozljedom neurona ili pretjeranim neuronskim podraživanjem (BASAVARAJAPPA, 2007.).

Glavni kanabinoidni receptori CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub>, su receptori spareni s G-proteinom koji se nalaze u citoplazmi stanice. CB<sub>1</sub> receptor je ubikvitaran i uobičajeno se nalazi u središnjem i perifernom živčanom tkivu kao i u perifernim tkivima povezanim s imunosnim sustavom (npr. slezena i tonzile) (BURNS, 2006.; GROTENHERMEN, 2003.; HOSKING, 2008.). Slično opioidima, endogeni ligandi endokanabinoidnih receptora djeluju kao agonisti ili antagonisti (DI MARZO, 2006.). CB<sub>2</sub> receptori su primarno smješteni na imunosnim stanicama, uključujući i stanice mikroglije. Kanabinoidni receptori su pod utjecajem endokanabinoida i fitokanabinoida. Bar pet endogenih kanabinoida je opisano, od kojih je anandamid (CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> agonist, s većim afinitetom za CB<sub>1</sub>) najistraživaniji. Sintetiziraju ga postsinaptički neuroni i djeluje kao retrogradni „messenger“ koji ima utjecaj na otpuštanje neurotransmitera, posebice GABA-e. Iznimno je nestabilan, brzo se hidrolizira u etanolamin (histamin) i arahidonsku kiselinu. Kanabinoidi mogu poremetiti kratkotrajno pamćenje, kogniciju i percepciju vremena, mijenjati raspoloženja uz istovremeno pojačanje svjesnosti okoliša, dovode do nekoordinacije pokreta, pospanosti i smanjuju razinu fokusa, te mogućnost filtriranja nebitnih informacija. Iako je interakcija s kanabinoidnim receptorima jedinstvena, kanabinoidi ne uzrokuju svoje učinke nužno direktnom interakcijom sa CB receptorima, već i vezivanjem na druge receptore (benzodiazepinske, serotonininske i dr.) te mogu utjecati na otpuštanje drugih neurotransmitera.

Endogeni agonisti za kanabinoidne receptore su dugo-lančane višestrukonezasićene masne kiseline (eikozanoidi) koje su derivati arahidonske kiseline i imaju različit stupanj selektivnosti za receptor. Endokanabinoidi su za razliku od drugih neurotransmitera lipidi. Otpuštaju se kada se poveća razina kalcija unutar neurona ili kada se G-spareni proteinski receptori aktiviraju. Endokanabinoidi funkcioniraju kao neurozaštitnici svojom antioksidativnom aktivnošću te inhibicijom priljeva kalcija i pretjeranog stvaranja glutamata. Učinci endokanabinoida mogu biti ovisni (kognicija, memorija, kontrola apetita, povraćanje, motoričko ponašanje, osjetilnost, anksioznost te autonomni i neuroendokrini procesi) o CB receptorima i neovisni. Endokanabinoidi induciraju hipotenziju i bradikardiju, inhibiraju rast stanica, utječu na energetske metabolizam i mijenjaju imune odgovore te su uključeni u akumulaciju masti te metabolizam glukoze i lipida. Endokanabinoidi također mogu imati proupalno djelovanje kao što su pojačanje stanične migracije eozinofila, neutrofila i NK stanica.

Endokanabinoidi otpušteni s postsinaptičkog neurona se vežu na CB<sub>1</sub> receptore na presinaptičkim GABAergicnim neuronima kako bi modulirali aktivnost neurona. Također je otkriveno da CB<sub>1</sub> receptori mogu u nekim slučajevima blokirati otpuštanje ekscitatornih neurotransmitera, u malom mozgu gdje su endokanabinoidi locirani na akcijskim sinapsama i pomažu regulaciji neurona koji su povezani sa propriocepcijom i kontrolom pokreta. Ovo pomaže objasniti tkz. statičku ataksiju, jedinstveno zapaženu kod pasa, koji imaju najveću gustoću CB<sub>1</sub> receptora u malome mozgu od ijedne druge vrste.

CB<sub>2</sub> receptor se uglavnom nalazi na imunološki vezanim stanicama te iako je u fiziološkim uvjetima slabo izražen u neuronima, kod upale, neurodegenerativnih bolesti (Alzheimer, Parkinson, ALS) kao i kod karcinoma (glioma), njegova prisutnost u mozgu je povećana u astrocitima, kao i stanicama mikroglije, te cerebromima - endovaskularnim stanicama krvožilnog sustava. I CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> receptori igraju važnu ulogu u mnogim procesima, uključujući plastičnost neurona, bol, tjeskoba, neuropala, imunološka funkcija, metabolička regulacija, nagrada, žudnja i rast kostiju (MACKIE, 2006.).

### **2.1.1. Anatomska lokalizacija kanabinoidnih receptora kod psa**

Kanabinoidni receptor tipa 1 (CB<sub>1</sub>)

U svrhu određivanja anatomske lokalizacije kanabinoidnih receptora u živčanom sustavu psa isti je pregledan kod jednog zdravog štenca starosti 4 tjedna, tri psa starosti 6 mjeseci i jednog psa u dobi od 10 godina. Snažna “točkasta imunoreakcija” je uočena u neutrofilima cerebralnog korteksa, amonovom rogu (CA) i dentatnom girusu hipokampusu, srednjem mozgu, malom mozgu, medulli oblongati i sivoj tvari leđne moždine. Gusta CB<sub>1</sub> ekspresija je nađena u vlaknima globus palidusa i substanciji nigri koja okružuje imunonegativne neurone. Astroцити su bili pozitivni u svim istraženim regijama. Mladi pas je imao nižu CB<sub>1</sub> ekspresiju u mozgu što znači da je gustoća ekspresije receptora bila niža nego uočena kod ljudskog fetalnog i neonatalnog moždanog tkiva. Niža CB<sub>1</sub> ekspresija je pronađena kod starijih štakora ali i pasa u specifičnim regijama, posebice u području malog mozga, cerebralnog korteksa i bazalnih ganglija, te manje izražena u hipokampusu (FREUNDT-REVILLA i sur., 2017.). Prijašnje studije su identificirale CB<sub>1</sub> receptore u žlijezdama slinovnicama (DALL’AGLIO i sur., 2010.), dlačnim folikulima (MERCATI i sur., 2012.), koži i hipokampusu (CAMPORA i sur., 2012.) psa. Imunohistokemija je korištena za proučavanje

lokalizacije CB<sub>1</sub> receptora na razvijajućem psećem embriju (30 dana starosti). Imunoreaktivnost CB<sub>1</sub> receptora je pronađena primarno u epitelnim tkivima i uključivala je uglavnom većinu struktura središnjeg i perifernog živčanog sustava, unutarnjeg uha, olfaktornog epitela i povezanih struktura, zatim oka i štitne žlijezde (PIRONE i sur., 2015.).

Prisutnost CB<sub>1</sub> receptora u psa

- Citoplazma stanica bazalnog i suprabazalnog sloja epitela
- Unutarnji epitelni omotač dlačnog folikula i arrector pili mišići
- Nediferencirani sebociti na periferiji lojnih žlijezda
- Sekretorne i duktalne stanice znojnih žlijezda
- Mastociti i fibroblasti
- Pojačana aktivnost kod atopičnog dermatitisa

Kanabinoidni receptor tipa 2 (CB<sub>2</sub>)

Kao i kod humanih uzoraka kože klinički zdravi psi imaju homogenu distribuciju CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> receptora u svim epidermalnim slojevima. Kod ljudi CB<sub>1</sub> je uglavnom detektiran u spinoznim i granuloznim slojevima epidermisa, dok se CB<sub>2</sub> pronalazi uglavnom u bazalnim keratinocitima. I CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> receptori se nalaze u koži zdravih pasa i pasa sa atopijskim dermatitisom. Epidermis pasa je tanji od ljudskoga (2-3 nuklirana sloja u psa u odnosu na 6-7 slojeva kod čovjeka) što upravo čini razliku u debljini. Kod pasa sa atopijskim dermatitisom, hiperplastične epidermalne promjene su pronađene sa snažnom CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> imunoreaktivnošću u suprabazalnim keratinocitima te slabom CB<sub>1</sub> i snažnom CB<sub>2</sub> imunoreaktivnošću u bazalnim keratinocitima, što ukazuje na pojačanu aktivnost ovih receptora tijekom upale. CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> agonisti smanjuju degranulaciju mastocita (CAMPORA i sur., 2012.). Dakle, lokalizacija kanabinoidnih receptora na koži psa je u citoplazmi epidermalnih i folikularnih keratinocita, epitelnim stanicama znojnih i lojnih žlijezda te mezenhimskim dermalnim stanicama.

Prisutnost CB<sub>2</sub> receptora u psa

- Epidermis
- Citoplazma stanica u bazalnim i suprabazalnim slojevima epitela



- Dlačni folikuli u bazalnim i suprabazalnim stanicama vanjskog i unutarnjeg omotača epitela korijena.
- Blaga imunoreaktivnost u stanicama arrector pili mišića te sekretorne i duktalne stanice znojnih žlijezda
- Lojne žlijezde u citoplazmi i perifernim rezervnim stanicama
- Mastociti, fibroblasti i endotelne stanice
- Limfni čvorovi
- Snažna B-stanična zona imunoreaktivnosti uglavnom u germinalnim centrima sekundarnih folikula
- Pojačana aktivacija kod atopičnog dermatitisa

## 2.2. Fitokanabinoidi

Kanabinoidi dobiveni iz biljaka, ili fitokanabinoidi, su kemijski spojevi dobiveni iz biljnih izvora, koji imaju interakciju s ECS-om. Termin je često sinonim za farmakološki aktivne spojeve izolirane iz kanabisa. Ovi lipofilni, nisko-molekularni spojevi (300Da) (HOSKING, 2008.) su strukturalno slični eikozanoidnoj arahidonskoj kiselini, prekursoru prostaglandina i leukotriena. Najvažniji fitokanabinoidi su delta-9-tetrahidrokanabinol, kanabidiol, kanabikromen i kanabigerol (GROTENHERMEN, 2003.). Fitokanabinoidi se razlikuju od eCB-a dugoživućim farmakokinetičkim profilom, u usporedbi s relativno brzo djelujućim i kratkim životnim vijekom eCB-a. Od 113 kanabinoida identificiranih iz vrste *C. sativa*, većina se mogu kategorizirati kao analozi  $\Delta^9$ -tetrahidrokanabinola ( $\Delta^9$ -THC), kanabidiola (CBD), kanabikromena (CBC), kanabigerola (CBG), kanabinola (CBN), kanabiciklola (CBL), kanabielsoina (CBE), i kanabitriola (CBT). Iako su THC i CBD najpoznatiji kanabinoidi, važno je napomenuti da se oni ne sintetiziraju direktno u cvijetu kanabisa, već se prvo sintetiziraju u svojoj kiseloj formi u biljci, u obliku tetrahidrokanabinolične kiseline (THCA,  $R^1 \text{ COOH}$ ,  $R^2 \text{ n-pentil}$ ,  $R^3 \text{ H}$ ) i kanabidiolične kiseline (CBDA,  $R^1 \text{ COOH}$ ,  $R^2 \text{ n-pentil}$ ). Ovi spojevi mogu biti pretvoreni u THC i CBD zagrijavanjem. Pri većoj toplini ubrzava se reakcija u kojoj se  $\text{CO}_2$  molekula otpušta od THCA-a da bi se stvorio THC, u procesu zvanom dekarboksilacija. Iako neki ovu reakciju nazivaju

aktivacijom kanabinoida, iako i kiseli oblici ovih spojeva imaju medicinske učinke i to najviše protuupalna svojstva (VERESS i sur., 1990.). Izbor provedbe dekarboksilacije može imati važne učinke na terapijsku primjenu.

### **2.2.1. Tetrahidrokanabinol ili THC**

Aktivni spoj tetrahidrokanabinol (THC), kanabinoidni alkaloid, viskozna je smola koja ne može kristalizirati. U čistome obliku na hladnom, je čvrst i staklast, a ugrijan postaje ljepljiv i viskoznan. THC je vrlo slabo topljiv u vodi, ali je dobro topiv u većini organskih otapala poput etanola ili heksana. Kao i kod nikotina i kofeina, glavna funkcija THC-a u konoplji, poput mnogih farmakološki aktivnih sekundarnih metabolita u biljaka, najvjerojatnije je zaštita biljke od štetočina. THC ima i svojstva visoke apsorpcije UV-B svjetla (280-315 nm) štiteći tako biljku od zračenja. Glavni je kanabinoid odgovoran za karakteristične psihoaktivne učinke kanabisa. THC djeluje putem ECS-a koji modulira mnoge fiziološke procese uključujući bol, upalu, pamćenje, pažnju te može uzrokovati promjene poput mentalne euforije, povećanog apetita i sporije kognitivne funkcije.

Sintetički THC (dronabinol) dostupan je kao lijek na recept pod trgovačkim nazivom Marinol (SAD, Njemačka, Nizozemska) od 1986. godine za liječenje kemoterapijom izazvane mučnine i povraćanja, kao i za smanjeni apetit u pacijenata s AIDS-om, anoreksičnih pacijenata i osoba oboljelih od Alzheimerera. Sintetički kanabinoid nabilon, analog drobinolu, pod trgovačkim imenom Cesament, odobren je u Kanadi za liječenje mučnina, glavobolja i povraćanja kod pacijenata kojima ne pomažu konvencionalni antiemetici. Godine 2005. Kanada je odobrila Sativex (raspršivač za usta) za oboljele od multiple skleroze u svrhu olakšanja boli. Sativex sadrži THC zajedno sa CBD-om. Proizvodi ga tvrtka GW Pharmaceuticals i to je prvi lijek u svijetu baziran na kanabisu. Potom je proizveden rimonabant, kanabinoidni receptorni antagonist (poznat kao Acomplia, Monaslim, Bethin, Riobant, Slimona, Rimoslim, Zimulti) za gubitak težine i liječenje bolesti povezanih s pretilošću. Međutim, naknadno je utvrđeno kako je vrlo opasan za pacijente koji pate od depresije, te uzimaju antidepresive, kao i za osobe s visokim krvnim tlakom.

### **2.2.2. Kanabidiol ili CBD**

Kanabidiol ili CBD ima dobro istražene medicinske učinke još od 1970-ih, kada su otkrivena antikonvulzijska svojstva CBD-a na štakorima (CONSROE i WOLKIN, 1977.) te provedena inicijalna testiranja na ljudima (CARLINI i CUNHA, 1981.). To je praćeno većom studijom na ljudima gdje je korišteno 900–1200 mg/kg dnevno i dokazana je učinkovitost u terapiji epileptičnih stanja (TRUMBLY, 1990.). Od svih sastavnica kanabisa, CBD pokazuje najpouzdaniji antikonvulzivni učinak. Kod epileptičnih pacijenata, prisutna je disregulacija neuronskog otpuštanja što rezultira napadajima i ekscitotoksičnosti. Povećane razine AEA su pronađene u cerebrospinalnoj tekućini pasa koji pate od idiopatske epilepsije u usporedbi sa zdravim psima (GESELL i sur., 2013.). LIGRESTI i sur. (2006.) su istraživali protutumorske učinke raznih kanabinoida, uključujući neutralne i kisele oblike. Dok je CBD utvrđen kao najpotentniji testirani kanabinoid sa protutumorskom aktivnošću, CBDA ima najslabije djelovanje. CBD inducira apoptozu direktnom ili indirektnom aktivacijom CB<sub>2</sub> i vaniloid tip 1 receptora (LIGRESTI i sur., 2006.).

Glavna strukturalna razlika između THC-a i CBD-a je slobodni rotirajući most između aromatskih i nearomatskih cikličnih sustava, koji postoji samo kod CBD-a. THC i CBD imaju istu empirijsku formulu kao i molekularnu težinu, iako CBD također ima dodatnu slobodnu hidroksilnu skupinu koja rezultira različitim interakcijama s CB receptorima i drugim biološki aktivnim metama.

### 2.2.3. Tetrahidrokanabivarin ili THCv

Delta-9-tetrahidrokanabivarin (THCV) je propilni analog THC-a u kojem je 5-očlani ugljični bočni lanac skraćen za dvije metilenske jedinice. Njegova farmakološka svojstva su proučavana još od ranih 1970ih kada je prepoznato da se ponaša kao značajno slabiji agonist (otprilike peterostruko), u usporedbi sa THC-om. Stoga, kao i kod THC-a, THCV ima analgetski, ali i kataliptički učinak kod životinja (HILL i sur., 2012.; PERTWEE, 2008.). Ovi učinci mogu biti antagonizirani sintetskim CB<sub>1</sub> antagonistom (SR1716A ili AM251). Maksimalnu potenciju THCV skupine imaju spojevi s bočnim lanacima od 7–8 ugljika (MAKRIYANNIS, 2014.). Iako se THCV može ponašati kao CB<sub>1</sub> agonist *in vitro*, također može djelovati i kao CB<sub>1</sub> antagonist, sposoban blokirati učinke potentnijih sintetičkih CB<sub>1</sub> agonista kao i THC-a i eCB-a (AEA i 2-AG). Zbog ovoga, Δ9-THCV može djelovati *in vivo* kao CB<sub>1</sub> antagonist. Na CB<sub>2</sub> receptoru, Δ9-THCV se ponaša kao djelomični agonist i sposoban

je aktivirati ovaj receptor. Aktivacija CB<sub>2</sub> receptora je pokazala povezanost sa smanjenjem upale. Antiepileptički učinci ovoga spoja se testiraju trenutno kod ljudi.

#### **2.2.4. Kanabigerol ili CBG**

Kanabigerol (CBG), u obliku kiseline (CBGA), je glavni prekursor i konvergentni intermedijar svih fitokanabinoida. CBG nije psihoaktivan te je relativno slab djelomični agonist za CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> koji se može funkcionalno suprostaviti CB<sub>1</sub> učincima THC-a. Dokazano je da smanjuje intraokularni tlak. Njegova antioksidativna i protuupalna svojstva ga čine potencijalnim kandidatom za liječenje upalne bolesti crijeva. Nedavna istraživanja su identificirala CBG kao potencijalnog kandidata za terapiju karcinoma kolona (LIGRESTI i sur., 2006.).

#### **2.2.5. Ostali fitokanabinoidi**

Postoji nešto informacija i o tetrahidrokanabinoličnoj kiselini ( $\Delta^9$ -THCA) i kanabidioličnoj kiselini (CBDA), dvama prirodno ne-psihotropnim prekursorima  $\Delta^9$ -THC-a i CBD-a (AHMED i sur., 2008.). THCA primijenjen u staničnoj kulturi *in vitro* je sposoban modulirati funkcije dvaju TRP kanalskih receptora djelujući kao potentni TRPA1 agonist i TRPM8 antagonist, inhibirajući oba ciklooksigenazna enzima, COX-1 i COX-2 (TAKEDA i sur., 2008.). THCA smanjuje razinu TNF- $\alpha$  *in vitro* sugerirajući potencijalno imunomodulatorno djelovanje (LIGRESTI i sur., 2006.). Nadalje, THCA također dokazano djeluje kao i PPAR $\gamma$  agonist (NADAL i sur., 2017.). Postoje međutim dokazi da je pristup THCA do SŽS-a ograničen zbog interakcije s krvno moždanom barijerom (MORENO-SANZ, 2016.). CBDA je selektivni inhibitor COX-2 (TAKEDA i sur., 2008.). Također je i potentni agonist 5-HT<sub>1A</sub> receptora (BOLOGNINI i sur., 2013.). CBDA učinkovito smanjuje mučninu i koristan je kod akutne mučnine inducirane kemoterapijom. (ROCK i PARKER, 2013.).

Kanabinol (CBN) nastaje degradacijom  $\Delta^9$ -THC-a te je prvi fitokanabinoid izoliran u čistom obliku. CBN može aktivirati i CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> receptore .

Malo se zna o farmakologiji raznih manje prisutnih fitokanabinoida u kanabisu. Istraživanja na tu temu su aktivno polje interesa (HARTSEL i sur., 2016.).

### 2.3. Terpenoidi

Drugi jednako važni fitokonstituenti kanabisa su terpeni i terpenoidi, koje proizvode i druge biljke, i značajna su sastavnica esencijalnih ulja. Kao i kanabinoidi, lipofilni su, stoga prelaze krvno-moždanu barijeru i doprinose medicinskim učincima kanabisa. Terpeni su zaslužni za jedinstveni miris i aromu. Preko 100 različitih mono-, di- i seskviterpenskih spojeva se proizvodi unutar smolastih trioma cvijeta kanabisa. Terpeni se proizvode zajedno s kanabinoidima te imaju zajedničke biosintetske puteve i međuprodukte. Kompleksni aromatski profil terpena često je distinktivan faktor među sojevima kanabisa i doprinosi pluripotentnom biološkom učinku. Unatoč činjenici da terpenski profil čini određeni soj kanabisa jedinstvenim, sami terpeni se često nalaze i u drugim biljkama. U ovom poglavlju prikazati ćemo pet najčešćih monoterpena i dva uobičajena diterpena.

$\beta$ -kariofilin je primarni seskviterpen u crnoj boji papra, koji pridonosi njegovom okusu. Također je glavni sastojak klinčića, hmelja, ružmarina i kanabisa. Sam  $\beta$ -kariofilin je pokazao obećavajuće rezultate kod životinja, na modelima kolitisa, osteoartritisa, dijabetesa, anksioznosti, depresije, fibroze jetre i cerebralne ishemije. U prilog tome, ide hipoteza „entourage efekta“ gdje je istodobna primjena  $\beta$ -kariofilina s kemoterapijskim lijekom Paclitaxel *in vitro* uzrokovala povećanu smrt stanica karcinoma i smanjeni rast tumora (LEGAULT I PICHETTE, 2007.).  $\beta$ -kariofilin je primio FDA-ov GRAS status, što znači da je općenito prepoznat kao siguran za oralnu konzumaciju kod ljudi.

Mircen je monoterpen koji nema afinitet za opioidne receptore usmjeravajući ga na alfa 2-adrenoceptore. Nakon uzastopne primjene u štakora, nije primjećena ovisnost (LORENZETTI i sur., 1991.), a djeluje kao sedativ (DO VALE i sur., 2002.). Mircen također poboljšava toleranciju na glukozu kod dijabetičkih štakora usporednu metforminu (AL-OMARI, 2007.), bez učinka na glukozu kod zdravih štakora. Nadalje, mircen je pokazao snažne protuupalne i protukataboličke učinke na humanom hondrocitnom modelu osteoartritisa

(RUGINO i sur., 2015.), te je predmet mnogih istraživanja uzimajući u obzir da je upala glavni uzrok mnogih bolesti. *Myrcia sphaerocarpa*, od koje je izoliran mircen, ljekoviti je grm iz Brazila koji se tradicionalno koristi za liječenje dijabetesa, proljeva, dizenterije i hipertenzije (ULBRICHT, 2011.). Pokazalo se da mircen djeluje na povećanje transdermalne apsorpcije (SCHMITT i sur., 2009.) te ima značajan analgetski učinak, koji je blokiran djelovanjem naloksona, opioidnog antagonista, sugerirajući djelovanje putem opioidnih receptora (RAO i sur., 1990.).

Limonen je monoterpen, uobičajeno nađen u korici citrusa i korišten u parfemima, kućanskim sredstvima za čišćenje, hrani i lijekovima. Limonen ima veliki medicinski potencijal te ga antioksidativna i antikancerogena svojstva čine izvrsnim prehrambenim izborom za prevenciju karcinoma (AGGARWAL i SHISHODIA, 2006.). Perililni alkohol je metabolički proizvod limonena te također ima antikancerogene učinke (PRATES ONG i sur., 2012.). Pokazani su protuupalni učinci limonena na modelu osteoartritisa (RUFINO i sur., 2015.) i astme (HIROTA i sur., 2012.). Limonen je jedan od najprisutnijih terpena u kanabisu i nalazi se u koncentracijama do 16 % esencijalne uljne frakcije.

Humulen je karakterističan terpen hmelja, *Humulus lupulus*, kojeg također ima u obilju u kanabisu. Humulen, još poznat i kao  $\alpha$ -kariofilen, je prstenasto otvoreni izomer  $\beta$ -kariofilena, kojemu nedostaje CB<sub>2</sub> aktivnost.  $\beta$ -kariofilen i humulen pokazuju sinergističku interakciju (LEGAULT i PICHETTE, 2007.). Humulen pokazuje snažnu protuupalnu aktivnost (FERNANDES i sur., 2007.) te analgezijska svojstva (ROGERIO i sur., 2009.). Pomaže i kod cijeljenja rana (SATSU i sur., 2004.).

$\alpha$ -Pinen je terpen čest u borovim iglicama i njegova farmakološka svojstva su dobro proučena.  $\alpha$ -pinen se ponaša kao acetilkolinesterazni (AChE) inhibitor, što može pomoći kod pamćenja (MIYAZAWA i YAMAFUJI, 2005.). Djeluje protuupalno smanjivanjem razine interleukina 6 (IL-6) i TNF- $\alpha$ . Smanjuje sintezu prostaglandina inhibicijom prostaglandina E1 (PGE1) te, kao što je slučaj kod mnogih terpena, djeluje antimikrobno (NISSEN i sur., 2010; RUSSO, 2011.).

Terpinolen ima drvenast i cvjetni miris i uobičajeno se nalazi u "sativa" varijetetima kanabisa. Studija na miševima u kojima je korištena *Microtoena patchoulii*, koja sadrži terpinolen kao primarnu aktivnu sastavnicu, je pokazala sedativna svojstva (ITO i ITO, 2011.). Terpinolen ima protutumorsko djelovanje u moždanim stanicama štakora (AYDIN i sur., 2013.).

Linalol je terpen čest u lavandi, a ima protuanksiozne i protudepresivne učinke koji su primarno posljedica djelovanja na monoaminiergične puteve, posebice 5-HT1A receptor (CHIOCA i sur., 2013.; GUZMÁN- GUTIÉRREZ i sur., 2015.).

#### **2.4. „Entourage efekt“ kanabisa**

„Entourage efekt“ je fitokemijska interakcija svih različitih fitosastavnica kanabisa, terpena i terpenoida iz biljke i vjeruje se da to objašnjava mnogobrojne biološke aktivnosti kanabisa te razlike u bioaktivnosti različitih sojeva. „Entourage“ efekt podrazumijeva potentnost ekstrakta iz cijele biljke kao krajnji umnožak, odnosno rezultat interakcija svih sastavnica biljke koji se razlikuje od samostalnog učinka bilo kojeg individualnog spoja kanabisa. Sojevi su podvrste *Cannabis sativa L.* koji može sadržavati varirajuću količinu vlakana, fitokanabinoida, terpena i terpenoida. Broj mogućih kombinacija je praktički beskonačan. Ideja „entourage“ ili skupnog učinka kod eCB signalizacije je prvo bila predložena od strane BEN-SHABAT-a, 1998. godine. Od tada su napravljene brojne studije koje podupiru ovu teoriju. BEN-SHABATIN-ov inicijalni rad je demonstrirao ovaj fenomen s tipičnim inaktivnim masnim kiselinama u prisutnosti eCB-a. Nekoliko godina kasnije MCPARTLAND i RUSSO (2001.) su objavili rad naziva “Cannabis and Cannabis Extracts: Greater Than the Sum of Their Parts” koji je detaljnije objasnio ovaj koncept pokazavši da terpeni pojačavaju učinke kanabinoida (MCPARTLAND i RUSSO, 2001.). Terpenoidi su potentni modulatori svjesnosti i koristili su se tisućama godina u aromaterapiji. Istraživanja su pokazala da primjena esencijalnog ulja dobivenog iz kanabisa i slobodna od kanabinoida, rezultira sniženim dijastoličkim krvnim tlakom, pojačanom frekvencijom rada srca i značajnim povećanjem temperature kože. Također dolazi do promjena u amplitudi alfa, delta i teta moždanih valova (GULLUNI i sur., 2018.). Jedna studija je demonstrirala da CBD primjenjen kao ekstrakt cijele biljke, a ne kao izolirani oblik rezultira značajnim povećanjem terapijske učinkovitosti u kontekstu stvaranja TNF- $\alpha$  (GALLILY i sur., 2015.). ROMANO i sur., (2014.) su pokazali da standardizirani ekstrakt kanabisa s visokim postotkom CBD-a inhibira karcinogenezu u kolonu *in vitro* i *in vivo*. Utvrđeno je da je ekstrakt cijele biljke smanjio staničnu proliferaciju u kanceroznim ali ne i u zdravim stanicama. Čisti CBD je smanjio staničnu proliferaciju antagonističkim djelovanjem i osjetljivošću CB<sub>1</sub> receptora. *In vivo* biljni CBD je reducirao

karcinogen azoksimetan (AOM) koji inducira preneoplastične lezije i polipe te tumorski rast na ksenografskom modelu raka kolona aktivacijom CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> receptora (ROMANO i sur., 2014.).



### **3. TERAPIJSKE PRIMJENE ECS-a U ZDRAVLJU I BOLESTI**

Većina onoga što znamo o zdravstvenim i medicinskim dobrobitima kanabisa odnosi se na ljude a ne životinje, no većina bioloških interakcija odvija se kod svih životinjskih vrsta, te postoje brojne indikacije za primjenu kanabisa kod životinja.

#### **3.1. Tumori**

Kanabinoidni receptori i njihovi endogeni ligandi (anandamid i 2-AG) su generalno pojačano aktivirani u tumorskom tkivu u odnosu na zdravo. Neke studije su pokazale da je razina ekspresije kanabinoidnih receptora, endokanabinoida i enzima koji metaboliziraju endokanabinoide, povezana s agresivnošću tumora (SILVER, 2016.; BIFULCO i sur., 2008.; DIMARZO i sur., 2004.). To implicira da je endokanabinoidni sustav prokancerogen, i neke studije podržavaju tu teoriju, dok je ipak više studija koje tvrde da farmakološka aktivacija kanabinoidnih receptora smanjuje rast tumora. Primjerice, kada se CB<sub>1</sub> receptori uklone u genetskom mišjem modelu karcinoma kolona, dolazi do rasta tumora. Prekancerozne lezije u kolonu miša, inducirane kemikalijom azoksimetan, su smanjene s povišenjem ekspresije endokanabinoidnih komponenti organizma. Sa slabijom ekspresijom endokanabinoidnog degradirajućeg enzima monoacilglicerola (njegovo smanjenje dopušta dugotrajne, povećane razine serumskih endokanabinoida), tumorski rast je smanjen kod ksenograftiranih miševa. Unatoč postojanju različitih teorija, bez obzira na ulogu ECS-a u inicijaciji ili tumorskoj supresiji, farmakološka stimulacija CB receptora je većinom protutumorskog djelovanja.

##### **3.1.1. Mehanizmi protuneoplastičnih učinaka kanabinoida**

ECS igra ključnu ulogu u moduliranju diferencijacije stanica, staničnoj proliferaciji i staničnoj smrti. Uz to, kanabinoidi poput THC-a potiču apetit i smanjuju povraćanje kod kemoterapije. Ove osobine čine ECS atraktivnom metom u terapiji karcinoma. Kanabinoidi mogu modulirati ekspresiju određenih gena. Primjerice kod karcinoma pluća, primjena CBD-a ekspresija molekula intracelularne adhezije (ICAM) je smanjena čime se sprječava metastaziranje stanica karcinoma (HAUSTEIN i sur., 2014.). Kod glioma, primjena CBD-a rezultira smanjenjem ekspresije pro-angiogenih čimbenika ovisno o dozi (VACCANI i sur.,

2005.). THC, kada se primjenjuje zajedno s CBD-om, pruža sinergističke učinke u inhibiciji proliferacije i preživljavanja stanica humanog glioblastoma. Još jedan primjer takve promjene u ekspresiji gena, događa se u stanicama karcinoma dojke, gdje su MCALLISTER i sur. pokazali da primjena kanabinoida smanjuje izražavanje ID-1, koji u velikoj mjeri pridonosi metastaziranju karcinoma dojke (MCALLISTER i sur., 2007.).

Još jedna prednost kanabinoida, jest što se mogu upotrebljavati zajedno s kemoterapijom, s obzirom da određeni mehanizmi djelovanja neometano funkcioniraju u prisustvu kemoterapeutika. Uspostavljanje učinkovitih doza individualno za pacijente i tip tumora može značajno poboljšati ishod bolesti i istraživanje je koje bi se trebalo provesti.

### **3.1.2. Indukcija smrti tumorskih stanica i protuproliferativni učinci**

Uz kontrolu nepoželjnih kliničkih simptoma povezanih s karcinomom i tretmanom karcinoma, velik broj kanabinoida također ima protuproliferativno-apoptotičko djelovanje kod velikog broja tumorskih stanica. THC i drugi kanabinoidi induciraju apoptozu CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> stimulacijom *de novo* sinteze pro-apoptotičkog sfingolipida ceramida. THC akutno pojačava ekspresiju stres-regulacijskog proteina P8 (AKA NUPR1) koji je transkripcijski regulator, i uključen je u kontrolu karcinogeneze i progresije tumora ciljanjem na transkripcijske faktore endoplazmatskog retikuluma ATF4 i CHOP (AKA DDIT3) povezane sa stresom te drugih. ER stresni odgovor je složeni intracelularni signalni put koji se aktivira u odgovoru na depleciju kalcijevih iona, oksidativnu ozljedu, dijetu bogatu mastima, hipoglikemiju, viralne infekcije i kod izlaganja protutumorskim čimbenicima. ER stres je djeluje na način da smanji opterećenje proteinima na ER, gaseći translaciju proteina i gensku transkripciju. To može rezultirati autofagijom. Kanabinoidi, osim što induciraju smrt tumorskih stanica autofagijom i apoptozom, također imaju protuproliferativni učinak indukcijom zastoja staničnog ciklusa. Učinak kanabinoida na hormonski ovisne tumore je dijelom zbog njihove interferencije aktivacije receptora faktora rasta. CBD stimulira apoptozu stanica karcinoma, neovisno o CB<sub>1</sub> i CB<sub>2</sub> receptorima (SILVER, 2016.; GUZMÁN i sur., 2016.). Njegov mehanizam djelovanja, koji još nije kompletno istražen, stimulira produkciju reaktivnih kisikovih spojeva u stanicama karcinoma.

### 3.1.3. Inhibicija angiogeneze, invazije tkiva i metastaziranja

Kanabinoidi blokiraju aktivaciju vaskularnog endotelnog puta faktora rasta (VEGF), koji inducira angiogenezu. Kanabinoidi smanjuju aktivaciju receptora VEGFR-a smanjenjem proizvodnje VEGF-a farmakološkom blokadom biosinteze ceramida. Aktivacijom CB receptora u vaskularnom endotelnom tkivu inhibira se proliferacija i migracija te inducira apoptoza. Stoga, kanabinoidna aktivnost rezultira normalnijom tumorskom vaskulaturom s manjim krvnim žilama i/ili manjim brojem krvnih žila koje su manje propusne, stoga je manja mogućnost metastaziranja. Kanabinoidi smanjuju stvaranje udaljenih tumorskih masa i inhibiraju adheziju, migraciju, i invazivnost glioma, mamarnih karcinoma te karcinoma pluća i grlića maternice uzgojenih na tkivnim kulturama. Kanabinoidi moduliraju ekstracelularne proteaze (MMP2) i njihove inhibitore (TIMP1). Iako kanabinoidi imaju potentan učinak na većinu neoplastičnih tkiva, zdrave stanice su nepromijenjene ili pak kanabinoidni terapeutici djeluju dobrotvorno na njih.

### 3.1.4. Klinička primjena kod pacijenata s karcinomom

U fazi jedan pilot kliničke studije (GUZMÁN i sur., 2016.) intrakranijalno je primjenjen THC devetorici pacijenata s aktivno rastućim rekurentnim glioblastomima i na kojima je prije neuspješno provedena standardna terapija. Nekoliko pacijenata je reagiralo smanjenjem rasta tumora što je i popraćeno magnetskom rezonancom. Utvrđeno je da molekularni mehanizam kanabinoidne protutumorske aktivnosti uključuje jednake mehanizme djelovanja *in vivo* kao i utvrđene *in vitro* (P8 pojačana aktivacija, stimulacija autofagije i apoptoze, inhibicija stanične proliferacije, smanjena VEGF signalizacija i smanjena MMP2 aktivacija) (GUZMÁN i sur., 2016.). Najučinkovitiji pristup uporabi kanabinoida kod onkoloških pacijenata je kombinacija THC-a i CBD-a, najčešće u omjeru 1:1. Ova kombinacija ima jači protutumorski učinak u odnosu na sami THC i pomaže u smanjenju doze THC-a potrebne za inhibiciju tumorskog rasta. Uporaba CBD-a također smanjuje nepoželjne učinke THC-a, poput konvulzija, diskoordinacije i psihotičnih učinaka, te kod pasa, statičke ataksije. Nekoliko studija je potvrdilo da uporaba kanabinoida zajedno s dva kemoterapeutika pojačava njihovu citotoksičnost. Tako temozolomid kombiniran sa kanabinoidima pokazuje snažan protutumorski učinak na gliomu ksenograftiranih miševa, bez zapažene toksičnosti (TORRES i sur., 2011.). Gemcitabin, kombiniran sa kanabinoidima, sinergistički smanjuje preživljavanje stanica karcinoma pankreasa (SHARAFI i sur., 2019.). Anandamid (endokanabinoid) i HU-210 (sintetički CB<sub>1</sub> i

CB<sub>2</sub> agonist) poboljšavaju protutumorsko djelovanje Paclitaxel-a i 5-fluoracila (SILVER i sur., 2016.).

Kanabinoidi induciraju autofagiju, apoptozu, zastoje staničnog ciklusa, smanjuju angiogenezu, tkivnu invaziju i metastaziranje, bez da utječu na zdrave stanice. Ovo čini kanabinoide vrlo dobrom terapijskom opcijom i kliničaru i skrbniku životinja.

ECS igra glavnu ulogu u modulaciji stanične diferencijacije, proliferacije i stanične smrti. Dodatno, kanabinoidi poput THC-a stimuliraju apetit i smanjuju emetične napadaje kod kemoterapije. Ove karakteristike čine ECS zanimljivom i privlačnom metom za uporabu u terapiji tumora.

### **3.2. Upalna stanja**

Upala je stanje koje doprinosi razvoju i progresiji mnogih bolesti i zdravstvenih stanja. ECS je *in vivo* i *in vitro* dokazano uključen u regulaciju imunskog sustava. Kanabinoidi su testirani u nekoliko eksperimentalnih modela autoimunih poremećaja poput multiple skleroze, reumatoidnog artritisa, kolitisa i hepatitisa. Kako se CB<sub>2</sub> receptori primarno nalaze na površini imunskih stanica, ne bi trebalo iznenaditi da imaju i ulogu u modificiranju upalnog odgovora. Aktivacija ovih receptora štiti jedinku različitim mehanizmima poput supresije imunološkog odgovora posredovanog T-stanicama, primarno inducirajući apoptozu, te supresijom upalnih citokina i kemokina.

### **3.3. Bol**

Kanabis se najčešće preporučuje radi kontrole neuropatske boli. Interesantno je da nesteroidni protuupalni lijekovi (NSPUL) proizvode svoj protuupalni odgovor kroz interakciju sa ECS-om. Specifično, u slučaju acetaminofena, njegov metabolizam u jetri dovodi do produkcije N-arahidonoilfenolamina (AM-404) koji djeluje i kao agonist kanabinoidnih receptora i kao eCB inhibitor ponovnog unosa (OTTANI i sur., 2006.). Ove interakcije također blokiraju pretvorbu arahidonske kiseline u upalne i prostaglandine (SALIBA i sur., 2017.). Nadalje, određeni terpeni također pokazuju protuupalno djelovanje. Čini se da  $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -mircen i  $\beta$ -kariofilen djeluju putem prostaglandinskih receptora (PGE1 i/ili PGE2) ostvarujući protuupalni učinak. Beta-kariofilen je jedini trenutno poznati terpen koji se veže za

kanabinoidne receptore smanjujući upalu na način ovisan o CB<sub>2</sub> receptoru (KLAUKE i sur., 2014.). Hidrogenizirani terpeni i kanabinoidi često imaju različite karakteristike i mogu biti prisutni u kanabinoidnim ekstraktima u niskim koncentracijama kao rezultat različitih metoda obrade (SCIALDONE, 2017.).

### 3.4. Pretilost i metaboličke bolesti

Hipotalamički proopiomelanokortinski neuroni su odgovorni za osjećaj sitosti. Aktivacija CB<sub>1</sub> receptora na ovim neuronima inducira aktivnost koja uzrokuje utišavanje njihovog djelovanja. Ovo smanjenje osjećaja sitosti može biti pripisano inhibitornim učincima kanabinoida na otpuštanje alfa-melanocit-stimulirajućeg hormona ( $\alpha$ -MSH), koji inače dovodi do supresije apetita. Pokazala se i obrnuta korelacija između razina orexin-A (OX-A) i  $\alpha$ -MSH, budući da orexin-A inducira hiperfagiju, povećavajući razine eCB-a, 2-AG. Blokada OX-A receptora tipa 1 ublažila je oštećenje  $\alpha$ -MSH signalizacije, što može služiti kao meta za kontrolu odgovora na glad (MORELLO i sur., 2016.). Zbog toga što obje, GABAergične i glutamatergične presinaptičke krajnje stanice na POMC neuronima imaju CB<sub>1</sub> receptore, razumljivo je pretpostaviti da je bimodalni učinak kanabinoida na hranjenje prisutan zbog diferencijalne osjetljivosti GABAergičnih aksona na CB<sub>1</sub> aktivaciju u odnosu na glutamatergične aksone (KOCH i sur., 2015.). Smatra se da korisnici kanabisa koji su skloni osjećajima iznenadne gladi, (tkz. „munchies“), jedu u većim količinama od nekorisnika kanabisa. U prosjeku, korisnici kanabisa imaju tanji struk i niži BMI od nekorisnika, iako se ta činjenica čini paradoksalnom, LE FOLL i sur., (2013.) su pronašli da je prevalencija pretilosti niža kod redovitih korisnika kanabisa u usporedbi s nekorisnicima, čak i nakon uzimanja u obzir varijabli kao što su dob, spol i pušenje duhana. Studija o 3 T3-L1 adipocitima daje ideju o mogućem mehanizmu djelovanja putem kojeg korisnici kanabisa održavaju svoju težinu, i pokazuje da tretman ovih stanica CBD-om uzrokuje promjene u ekspresiji određenih signalnih znakova koji vode do posmeđivanja ovih stanica (PARRAY i YUN, 2016.). Nadalje, korisnici kanabisa također imaju niže razine gladujućeg inzulina te bolju inzulinsku osjetljivost od onih koji ne koriste kanabis (MUNIYAPPA i sur., 2013.). Određeni kanabinoidi imaju učinke koji mogu biti korisni kod tretmana i prevencije pretilosti. Uporaba kanabinoida-THCV-a korelira s gubitkom tjelesne težine, te ujedno i sa smanjenjem tjelesne masti i koncentracijom serumskog leptina kod pretilih miševa (RIEDEL i sur., 2009.; WARGENT i sur., 2013.). Dodatna podrška

ovoj ideji dolazi od studije u kojoj je dokazano da THCV i CBD, smanjuju akumulirane razine lipida u adipocitima na modelu hepatosteatoze (SILVESTRI i sur., 2015.).

CBD inhibira razvoj dijabetesa kod ne-pretilih dijabetičkih miševa uključujući ublažavanje kliničkih znakova bolesti. To se odražava djelomično i na kontrolu pankreatitisa, ali i smanjenje oksidativnog stresa u ciljnim tkivima (npr. mrežnici) (WEISS i sur., 2006.).

### **3.5. Pulmonarni učinci**

Studije provedene 1970ih na Sveučilištu Kalifornije u Los Angeles-u pod vodstvom Donalda TASHKINA su pokazale da oba načina primjene, inhalirani i oralno konzumirani THC, dovode do bronhodilatacije u trajanju od 2h nakon primjene (TASHKIN i sur., 1974.). Daljna istraživanja pokazala su da aktivacija CB<sub>1</sub> receptora inhibira kolinergičku kontrakciju, kao mogući mehanizam za inhibiranje bronhospazma. Dodatne studije su pokazale potencijal u poboljšanju simptoma kronične opstruktivne bolesti pluća. Utvrđeno je smanjenje upale pluća te poboljšanja u funkciji pluća na mišjem modelu upalne bolesti pluća (RIBEIRO i sur., 2015.). Istraživanja su također pokazala smanjenje alergenski inducirane proizvodnje sluzi pri intraperitonealnoj primjeni THC-a (REDDY i sur., 2012.).

### **3.6. Kardiovaskularni učinci**

Kanabinoidi mogu i povisiti i sniziti krvni tlak i frekvenciju rada srca, ovisno o specifičnom kontekstu u kojem se koriste (DEWEY, 1986.; WAGNER i sur., 1998.; NIEDERHOFFER i SZABO, 1999. i 2000.). CBD specifično, ima direktne učinke na arterije, uzrokujući vazorelaksaciju koja se klinički prezentira kao blaga hipotenzija. CBD ima zaštitni učinak na krvne žile kod oštećenja koje uzrokuje hiperglikemija, kao kod tipa 2 dijabetesa, dijabetičkih angiopatija i sistemskog upalnog procesa (STANLEY i sur., 2013.). CBD je pokazao da ima protuaritmički učinak na modelu štakora s okluzijom koronarne arterije, koji možda nije posredovan putem CB<sub>1</sub> receptora smještenih na staničnim membranama miokarda, već ima i neke druge ne-receptorske puteve koji kontroliraju srčani ritam (HEPBURN i sur., 2011.). Utvrđeno je kod spontano hipertenzivnih štakora (SHR) da su CB<sub>1</sub> antagonisti povećavali krvni tlak i kontraktilnost lijevog ventrikula. Nadalje, prevencijom degradacije eCB-a AEA-a, uz pomoć masne kiseline amid hidrolaze, kod normotenzivnih štakora zapaženo

je smanjenje krvnog tlaka, srčane kontraktilnosti i vaskularne rezistencije. snižavaju krvni tlak znatno više kod SHR, nego kod normotenzivnih štakora. Nadalje, CB<sub>1</sub> receptori su više aktivirani u srcu i endotelu aorte kod SHR, u odnosu na normotenzivne štakore (BÁTKAI i sur., 2004.).

### **3.7. Anksioznost i stres**

Deficijencije u eCB signalizaciji su dio etiologije mnogih stanja, uključujući PTSD, migrene, i fibromialgiju (cirkulirajuće razine eCB-a su značajno snižene kod svih ovih poremećaja). Pad cirkulirajućih eCB-a ukazuje na povezanost kanabinoidnog sustava s pojavom anksioznih ponašanja. Velik broj studija je pokazao da kronični okolišni stres pouzdano vodi do snižene-regulacije CB<sub>1</sub> receptora i sniženih razina AEA, povećavajući razinu 2-AG (MORENA i sur. 2016). CBD ima anksiolitička svojstva (ZUARDI i KARNIOL, 1983.). U studiji su ljudi bili izloženi stresnom javnom govornom nastupu ali pri uzimanju 300 mg CBDa smanjuje se subjektivni osjećaj anksioznosti kao kod uzimanja klasičnog anksiolitika diazepama (ZUARDI i sur. 1993).

### **3.8. Spavanje**

Rane studije iz 1970ih ukazuju da THC uzrokuje drastični porast proizvodnje melatonina, u nekim slučajevima čak i do 4000 % (LISSONI i sur., 1986.). Nije iznenađujuće onda da ima značajan utjecaj na spavanje (BABSON i sur., 2017.). Nadalje, kanabinoidi utječu na različite faze spavanja i posebice djeluju kao supresori REM faze (ROEHRS i ROTH, 2017.).

### **3.9. Antioksidativna svojstva i neurozaštita**

THC, CBD i CBG imaju antioksidativno djelovanje (HAMPSON i sur., 1998.; BORRELLI i sur., 2013.). THC i CBD smanjuju stvaranje reaktivnih kisikovih spojeva *in vitro*, s jednakom potencijom poput askorbata i butiliranog hidroksitoluena. Nadalje, inhibiranjem naponski usmjerenih kalcijevih kanala, kanabinoidi mogu inhibirati otpuštanje glutamata, sprječavajući ekscitotoksičnost. Tijekom perioda ishemije i drugih traumatskih događaja

otpušta se neurotransmiter glutamat. Glutamat je sam toksičan kada je u suvišku, i može dovesti do neuronske stanične smrti u procesu poznatom kao ekscitoksični stres. Spojevi s antioksidativnim svojstvima su često neurozaštitni, vjerojatno zbog redukcije toksičnih reaktivnih kisikovih spojeva, proizvedenih tijekom ishemičnog metabolizma. Neurozaštitni učinci ovih spojeva su neovisni o njihovom vezanju na CB receptore. CBD posebno, je pokazao da štiti od moždane ishemične ozljede (HAYAKAWA i sur., 2008.) te također smanjuje upalu tkiva mozga (ESPOSITO i sur., 2007.).

Biljni su antioksidansi poput askorbinske kiseline, tokoferola, polifenoličkih spojeva, terpena i brojnih mono- i seskviterpena važni za ljudsko zdravlje. Terpeni kanabisa s dokazanim antioksidativnim svojstvima uključuju  $\beta$ -kariofilen (CALLEJA i sur., 2013.), limonen i  $\beta$ -mircen (CIFTCI i sur., 2011.). Na mišjem modelu cerebralne ishemije (CIFTCI i sur., 2011.),  $\beta$ -mircen je štitio od oksidativnog stresa i oštećenja inducirano ishemijom reperfuzijom i tako djelovao kao učinkovit neurozaštitnik. Upravo ovaj spoj je preporučen kao dobar kandidat za liječenje ishemičnog udara (CIFTCI i sur., 2011.).

ECS je uključen u etiologiju raznih neurodegenerativnih stanja, i kanabinoidi su pokazali neurozaštitne mogućnosti i mogućnost ublažavanja neuropale, te poticanje neurogeneze (JIANG i sur., 2005.; SAITO i sur., 2012.; VAN DER STELT i sur., 2001.). U slučaju Alzheimerove bolesti (AD), kanabinoidi su pokazali obećavajuće mogućnosti u otklanjanju toksičnih plakova beta amiloida koji se akumuliraju u mozgu pacijenata. Uzimajući u obzir da pacijenti tretirani kanabinoidima demonstriraju poboljšanje simptoma. Pokazano je da CBD smanjuje ekspresiju gena uključenih u fosforilacija tau proteina, odnosno hiperfosforilaciju koja dovodi do tvorbe neurofibrilarnih čvorova koji dalje doprinose progresiji ove bolesti (ESPOSITO i sur., 2006.). Nadalje, demonstrirano je da kanabinoidi poboljšavaju uklanjanje amiloida beta iz mozga kao i prevenciju upalne kaskade koja se stvara intracelularnom akumulacijom ovih pogrešno savijenih proteina.

### **3.10. Refraktorna epilepsija pasa: pilot studija**

Nedavna studija je uključivala 16 vlasničkih pasa s dijagnozom idiopatske refraktorne epilepsije, s 2 ili više napadaja mjesečno, koji su primali konvencionalnu antikonvulzijsku terapiju. Kriteriji sudjelovanja su uključivali regularni neurološki pregled s MRI-om i analizom cerebrospinalnog likvora. Devet pasa je nasumično dodijeljeno u terapijsku, a sedam u placebo



skupinu. Terapirana skupina je primala 2.5 mg/kg CBD ulja svakih 12 h na usta. Kontrolna skupina je primala placebo 12 tjedana. Ispitanici su ostali pri svojoj standardnoj antikonvulzivnoj terapiji. Rutinske krvne pretrage i razine CBD-a su praćene svaka 4 tjedna. Razine antikonvulzivnih lijekova su mjerene na kraju ispitivanja. Kod 67 % pasa (6/9) iz terapirane skupine se javilo smanjenje broja mjesečnih napadaja u prosjeku od 40 %, dok je samo 29 % (2/7) pasa u kontrolnoj skupini imalo smanjenje broja napadaja veće od 40 %. Porast alkalne fosfataze (ALP) je zabilježen kod tretirane grupe i jednog psa u kontrolnoj skupini. Taj pas je i prije imao povišenje ALP-a, stoga njegov porast nije bio značajan za studiju. Šest pasa (67 %) u terapijskoj grupi je imalo povišenja mjenjenog ALP-a na kraju studije. Srednja vrijednost ALP-a je bila 619 IU/L (normalni okvir 15–140 IU/L). Koncentracije AED-a u tretiranoj grupi za fenobarbital se smanjila kod 2/7 pasa (29 %) i povećala kod 5/7 pasa (71 %). U kontrolnoj grupi, fenobarbitalne razine su se snizile kod 3/5 pasa (60%) i povisile kod 2/5 pasa (40 %); nije bilo značajnih promjena u ijednoj grupi. To je zanimljiv pronalazak, jer CBD, koji se metabolizira putem P450 citokroma, interferira s dispozicijom lijeka koji se također metabolizira tim putem. Iz rezultata ove pilot studije, taj učinak nije evidentiran, bar što se tiče razina fenobarbitala. Razine kalijeva bromida (KBR) u terapijskoj grupi su se smanjile kod 2/3 psa (67 %) i povećale kod 1/3 psa (33 %). U kontrolnoj grupi, KBR razine su se smanjile kod jednog od dva psa (50 %) i povećale kod jednog od dva psa (50 %). Nije bilo značajnih promjena u koncentraciji KBR-a u ijednoj grupi, iako je totalni broj subjekata u ovoj pilot studiji bio nizak (MCGRATH, 2018.). ovo istraživanje predstavlja značajan pomak u eventualnoj primjeni CBDa kod pasa s epilepsijom, obzirom se pokazalo da ima povoljne učinke uz istovremenu primjenu s antiepileptikom.

### **3.11. Osteoartritis; Farmakokinetika, sigurnost i klinička učinkovitost CBD terapije osteoartritičnih pasa; studija**

Cilj nedavno objavljenih istraživanja (GAMBLE i sur., 2018.; MCGRATH, 2018.) je bio ustanoviti farmakokinetiku i sigurnost, te analgetsku učinkovitost CBD-a kod pasa s osteoartritisom (OA). Farmakokinetičko ispitivanje je provedeno primjenom dvaju različitih doza, od 2 mg/kg i 8 mg/kg CBD-a u uljnom nosaču.

Provedena je prospektivna, nasumična, placebo-kontrolirana, dvostruko slijepa unakrsna studija te je uključivala 16 vlasničkih pasa sa radiološki potvrđenim osteoartritisom. Psi su nasumično primali ili 2 mg/kg 12 h CBD ulja oralno ili placebo koji se sastojao od

maslinovog ulja s benignim biljnim ekstraktom sličnog volumena, svakih 12 h 4 tjedna. Subjekti su zatim imali pauzu od primjene u trajanju od 2 tjedna i terapija se ponovila na suprotnim grupama, odnosno svaki subjekt je primio drugu terapiju od one dosad, 2 puta/dan 4 tjedna. Veterinarska procjena šepanja, pokreta i odgovora na manipulaciju, upitnik za skrbnike (Canine Brief Pain Inventory (CBPI), Hudson activity scale), objektivne kinetičke analize na traci osjetljivoj na pritisak, hematološka i kemijska analiza, su mjereni 0., 2. i 4. tjedan za oba ulja. Farmakokinetika je pokazala poluživot eliminacije od 4–5 h kod obiju doza i bez vidljivih nuspojava. Srednja maksimalna koncentracija CBD ulja je bila 102 ng/ml (61–132 ng/ml), i ovaj vrhunac je postignut 90 min nakon primjene pojedinačne doze. Pokazano je značajno smanjenje boli i povećanje aktivnosti u 2. i 4. tjednu terapije. Zaključeno je da su psi na terapiji CBD-om aktivniji i zadovoljniji, s puno manje nepoželjnih nuspojava u odnosu na placebo skupinu (GAMBLE i sur. 2018.; MCGRATH, 2018.).

### **3.12. Memorija i kanabis**

Michael POLLAN se u svojoj knjizi „The Botany of Desire: A Plant’s Eye View of the World“, osvrnuo na probleme s kratkotrajnim pamćenjem povezane sa uporabom THC-a i posebice na vrijednost kanabisa u liječenju posttraumatskog stresnog poremećaja (PTSD) (POLLAN, 2001.). Nije poželjno da se očuvaju sva sjećanja jer neka mogu biti traumatična kao kod PTSD-a. ECS se ponaša kao filter za memoriju promovirajući zadržavanje korisnih sjećanja i otklanjanje nepotrebnih. Ova mogućnost zaboravljanja je kritična za opstanak, te se upravo kod određenih stanja poput PTSD-a i poremeti. Sposobnost THC-a da poboljša ovaj proces zaboravljanja se dijelom događa zbog alteracija u dugotrajnoj depresiji u CA1-CA3 krugu hipokampusa koji je specifično ovisan o astroglijalnim CB<sub>1</sub> receptorima a ne neuronima (HAN i sur., 2012.).

### **3.13. Klinička endokanabinoidna deficijencija (CECD)**

Deficijencije u eCB signalizaciji su uključene u etiologiju raznih stanja poput PTSD-a, migrena i fibromialgije (RUSSO, 2016.). Poznate su mutacije na ECS genima koje doprinose tim deficijencijama. Primjerice, pacijenti s mutacijama na CNR<sub>1</sub> i DAGLA genima pokazuju CECD fenotipove (SMITH i sur., 2017.). Još jedan primjer ovoga tipa može se vidjeti kod IBS pacijenata gdje rs806378 CT/TT kod CNR<sub>1</sub> gena pokazuje statistički značajnu povezanost sa

razinama kolonskog tranzita (CAMILLERI i sur., 2013.). Posebice, u kontekstu PTSD-a, gubitak straha je smanjen kod pacijenata koji su bili homozigoti za CNR<sub>1</sub> varijantu rs2180619 (HEITLAND i sur., 2012.). Posebice je važno spomenuti da su cirkulirajuće razine eCB-a značajno bile snižene kod svih ovih poremećaja. Ovaj pad u cirkulirajućim eCB-ima je u korelaciji sa anksioznim ponašanjima. Velik broj studija je demonstrirao da kronični okolišni stres pouzdano vodi do snižene funkcije CB<sub>1</sub> receptora i sniženih razina 2-AG i AEA (HILL i sur., 2009.). Jednako je lako pretpostaviti onda i pojavu tranzientnog porasta 2-AG u amigdali, nakon izloženosti kroničnom stresu (PATEL i sur., 2009.). Sindrom eCB deficijencije je jedan od etioloških uzročnika migrena, fibromialgije, IBS-a, psiholoških poremećaja i drugih stanja. (MCPARTLAND, 2014.).

### **3.14. Ograničavajući čimbenici ECS-a kao terapijske mete**

Uključenost ECS-a kod velikog broja raznih fizioloških procesa čini ga zanimljivim i budi interes za njegovim razumijevanjem i manipulacijom u terapijske svrhe. Iako se ECS može gledati kao panaceja za liječenje raznih stanja, ipak ima svoja ograničenja. Posebice, agonisti kanabinoidnih receptora kao što je THC, imaju psihoaktivna svojstva. Nadalje, perzistentna aktivacija kanabinoidnih receptora rezultira u desenzitizaciji receptora, što ultimativno dovodi do tolerancije i potrebe za većim dozama, što posljedično povećava i mogućnost pojave štetnih učinaka. Nenamjerne posljedice stimulacije ECS-a, uključuju deficite memorije i razvoj simptoma ustezanja. Produžena stimulacija ECS-a može dovesti do razvoja sindroma kanabinoidne hiperemeze (CHANG i WINDISH, 2009.). Ovaj poremećaj se javlja samo kod određenog broja jedinki i rezultira cikličkim povraćanjem koje se razrješava jedino primjenom izmjeničnih tuševa hladne i vruće vode, ili primjenom TRPV1 agonista kao što je capsaicin. Međutim, uporaba rimonabanta (inverzni agonist CB<sub>1</sub> receptora) ima negativne učinke, izazivajući negativne misli te čak ideje o samoubojstvu. Kasnije je ustanovljeno da su problemi proizašli zbog učinaka na SŽS; stoga istraživači trenutno rade na razvoju CB<sub>1</sub> inverznih agonista koji su ograničeni na periferni dio (DOURISH i sur., 2008.).

## **4. Vodič za veterinarske proizvode od kanabisa i njihova primjena**

Preparati od kanabisa su se povijesno koristili primarno za ljude kao kućanski pripravci, lijekovi i hrana. Ipak, postoje dokazi da se kanabis koristio i kod životinja u 19. stoljeću, kad je postao popularni lijek. Patentirani lijekovi koji su sadržavali kanabis, najčešće u alkoholnoj tinkturi, su prodavani vlasnicima konja za kolike i druge konjske boljke, a topikalna maziva su korištena lokalno za zglobove i probleme s hodom. Kako je kanabis postao stigmatiziran i došao na loš glas 1930ih, a farmaceutski pripravci postali dostupni kao zamjena za pripravke od kanabisa, uporaba kanabisa kod konja je postala neuobičajena do nepostojeća. Što se tiče domaćih ljubimaca, pasa i mačaka, uporaba kanabisa nije bila popularna sve do postupne legalizacije kanabisa u medicinske svrhe sredinom 1990ih. Skrbnici životinja, upoznati s mnogim dobrobitima kanabisa za čovjekovo zdravlje, su počeli istraživati njegovu uporabu kod svojih ljubimaca za medicinska stanja koja konvencionalna veterinarska medicina nije uspješno liječila. To se odnosilo na stanja poput epilepsije otporne na farmaceutske pripravke, boli koja je slabo reagirala na opijate, steroide i NSPUL; nuspojave kemoterapije poput povraćanja i mučnine; te terapija karcinoma.

### **4.1. Formulacije i načini primjene proizvoda od kanabisa**

Postoji nekoliko formulacija proizvoda od kanabisa za kućne ljubimce trenutno na tržištu i nekoliko čija se komercijalna pojava uskoro očekuje. Način primjene je primarni čimbenik koji doprinosi učinkovitosti bilo kojeg lijeka, bilo prirodnog ili drugog. Odabir pravilne i najučinkovitije metode primjene za određenog pacijenta može znatno utjecati na ishod bolesti odnosno ozdravljenja. Bioraspoloživost bi trebala biti usklađena sa praktičnom primjenom kod pacijenta.

Psi su pokazali osjetljivost na nepoželjne neurološke učinke psihoaktivnog dekarboksiliranog THC-a. Stoga, kod pasa bi se postigao bolji učinak uporabom ne-dekarboksilirane ne-psihoaktivne THCA, bez ikakvog straha o potrebi hitne veterinarske pomoći. THCA, iako nije psihoaktivna, ipak spada u Razred I kontroliranih tvari po uputama agencije za suzbijanje droga („Drug Enforcement Agency“). Iako se THCA ne veže na CB<sub>1</sub>

receptore u mozgu, zbog čega nije psihoaktivna, regulira se mnogim drugim putevima koji su posredovani ne-kanabinoidnim receptorima.

Pravljenje sokova od lišća kanabisa moguća je metoda pripreme i unosa. Hladna ekstrakcija sirovog kanabisa čuva kisele kanabinoide osjetljive na toplinu poput THCA i CBDA koji lako degradiraju dekarboksilacijom. Dekarboksilacija se tipično odvija na temperaturama iznad 100°C koje su česte kod paljenja (pušenja), vaporizacije ili vruće ekstrakcije. THCA ima značajno niži afinitet za endogenim CB<sub>1</sub> receptorom i ne posjeduje iste psihoaktivne učinke kao pripravci koji sadrže aktivirani za razliku od dekarboksiliranog THC-a. Unos nezagrijavanog kanabis pripravka dopušta primjenu značajno većih doza kiselih kanabinoida bez psihoaktivnih učinaka THC-a. Pravljenje sokova od sirovog kanabisa bi imalo prednost zadržavanja volatnih terpena koji također imaju važna medicinska svojstva. Originalni terpeniski profili su generalno promjenjeni u ekstrakcijskim metodama koje uključuju toplinu.

#### **4.1.1 Oralna primjena**

Unos kanabisa ingestijom je vrlo čest i dosta učinkovit način primjene unatoč svojoj slaboj bioraspodivnosti. Farmakokinetičke (pK) studije koje su dokumentirale bioraspodivnost oralnih ekstrakata kanabisa, posebice glavnih kanabinoida, THC-a i CBD-a, kod čovjeka a i kod psa, demonstriraju da samo 5–10% lipofilnog lijeka dosegne svoje predviđeno aktivno mjesto. Unatoč relativno slaboj bioraspodivnosti, dobri klinički rezultati su dokumentirani kod obiju vrsta. Farmakokinetičke studije koje bi dokumentirale bioraspodivnost kanabinoida kod kopitara, kao i kod drugih veterinarskih vrsta još nisu provedene. Većina proizvoda koji su trenutno dostupni za životinje su formulirani za oralnu primjenu. Neki od primjera ovih formulacija su naznačeni ispod:

Kapsule - prvi proizvod na bazi kanabisa dostupan u Americi za kućne ljubimce ubrzo nakon što je donesena federalna legalizacija kanabisa sa niskom dozom THC-a (hempa). Sadržavala je prah sjemenki konoplje, prožet lipofilnim ekstraktima biljke kanabisa. Kapsule sadrže fiksni volumen aktivne tvari. Postoji potreba za proizvodnjom i pakiranjem raznih veličina kapsula kako bi odgovarale za više različitih vrsta i veličina životinja, od čivave do doge do konja. Kapsule su jednostavne za pohranu i primjenu, te su već formulirane u obliku doza te poznate skrbnicima kao formulacija lijeka. Mogu biti skrivene u maloj količini hrane kako bi se poboljšala apsorpciju no također su podvrgnute brzom „first pass“ metabolizmu u

jetri, no slabije su bioraspoložive od lipofilne tekućine koja se apsorbira putem oralne sluznice (BARTNER i sur., 2018.).

Tinkture - druga formulacija proizvoda od kanabisa uvedena na tržište je bio proizvod koji je postao poznat pod nazivom tinktura. Radi se o uljnim infuzijama lipofilnih ekstrakata biljke kanabisa koje mogu sadržavati visoku (marihuana) ili nisku (hemp) dozu THC-a. Ulje nosač može biti bilo koje ulje, ali najčešće se koristi ulje sjemenki grožđa ili konoplje, te srednje lančani trigliceridi. Važno je spomenuti da riječ „tinktura“ dolazi iz botaničke medicine, i u tom kontekstu označava etanolni ekstrakt botaničkog materijala. Tinkture mogu sadržavati samo kanabis ili mogu biti s dodatnim terpenima i drugim botaničkim spojevima i nutritivnim ili čak farmakološkim spojevima za specifičniji učinak. Deklaracije na tinkturama bi trebale uključivati potenciju formulacije u totalnim miligramima CBD-a i THC-a i drugih mjerljivih razina kanabinoida, kao i napisane druge količine aktivnih sastojaka u boci, te eventualnih aditiva koji su dodani kako bi se produžio vijek trajanja. Tinkture imaju prednost kod doziranja u vidu lakoće povećanja, odnosno smanjenja volumena potrebnog većem odnosno manjem pacijentu. Tinkture također mogu biti dodane ili pomiješane s malom količinom ukusne hrane kako bi se olakšala primjena, ali se najučinkovitije apsorbira kroz sluznicu usta. Farmakokinetička studija koja je uspoređivala bioraspoloživost transmukozalne, oralne i transdermalne aplikacije CBD-a je pokazala da je transmukozalna aplikacija lipofilne tekućine najučinkovitija (BARTNER i sur., 2018.). Potrebna su dodatna istraživanja da bi se utvrdio vijek trajanja ove formulacije koji je u prosjeku od 12 do 24 mjeseca. Ovaj istek roka bi trebao biti označen na deklaraciji kao datum proizvodnje ili datum uporabe „najbolji do“ da bi se informiralo kupca. Naime, pacijentu koji ne treba veliku količinu ekstrakta na dnevnoj bazi, velika boca bi mogla isteći prije nego što se iskoristi.

Tvrdi keksići i mekane žvakalice su trenutno najpopularniji oblik poslastica dostupan na tržištu. Kao i kapsule, ovi proizvodi mogu sadržavati samo fiksnu količinu aktivnih sastojaka, tako limitirajući okvir težine koji zadovoljava jedna doza poslastice. Prednosti doziranja lijekova u obliku poslastica su relativna lakoća njihove primjene. Potencijalne loše strane bi bile hipersenzibilnost pacijenta na sastojke u poslastici, zatim potreba za više poslastica kako bi se zadovoljile potrebe kod većeg pacijenta, smanjeni rok trajanja i mogućnost da proces proizvodnje, koji uključuje pečenje ili zagrijavanje, te ekstrudiranje materije bi mogao uzrokovati promjene u kvaliteti proizvoda. Post-produkcijska analiza proizvoda je kritična kako bi se utvrdilo da potencija proizvoda nije oslabljena ili uništena proizvodnim procesom.

Pelete i prahovi su mjerljivi za doziranje širokom spektru ciljnih vrsta s obzirom na tjelesnu težinu. Na tržištu je dostupno nekoliko prahova napravljenih na bazi kanabisa s vrlo malo THC-a. Ovi prahovi mogu biti proizvedeni od usitnjenog biljnog materijala ili od farmaceutski modificiranog lipofilnog ekstrakta biljnog materijala pretvorenog u prah ili se pak može koristiti inertni prašak koji je prožet sa lipofilnim ekstraktom biljke kanabisa. Za većinu primjena kod životinja varijetet kanabisa s niskim THC-om, je poželjniji sirovi materijal za proizvodnju ovoga praha zbog potencijalnih problema sa kanabisom koji ima više THC-a, u vidu nepoželjne reakcije pacijenta te zbog strogih regulatornih uvjeta kod primjene kanabisa sa visokim postotkom THC-a.

Pelete su dobivene iz osušenog kanabisa, odnosno najčešće hempa (varijetet s niskim THC-om) i mogu se davati konjima, kozama, ovcama i drugim farmskim životinjama, pticama, malim glodavcima i životinjama u zoo vrtovima. Problem koji se javlja kod konja je da čak i kanabis s niskim postotkom THC-a, rezultira pozitivnim testom na drogu te posljedničnom diskvalifikacijom na natjecanjima. Kanabinoidi topljivi u vodi su formulacija koja primjenjuje tehnologiju uporabe lipidnih emulgatora i smanjenja veličine uljnih kapi na najmanju moguću veličinu, najčešće u rangu nanometara. Topljivost u vodi povećava koncentraciju u plazmi i pomaže lipofilnom lijeku da dospije na aktivno mjesto. Iako ne postoje objavljene farmakokinetičke (pK) studije koje uspoređuju bioraspoloživost lipofilnih u odnosu na hidrofilne preparacije kanabinoida primjenjenih istom rutom, postoje vjerodostojne pK studije koje su uključivale koenzim Q10, kojim se poboljšala bioraspoloživost 5–8 puta. Može se zaključiti da je potrebno manje kanabinoida u formulacijama topivim u vodi nego u uljno-baziranim formulacijama, da bi se postigla slična koncentracija na aktivnim mjestima. Transmukozalni put primjene može biti vrlo učinkovit i jednako je lako primjeniti tekuće kanabinoide na sluznicu usne šupljine.

#### **4.1.2 Topikalna primjena**

Topikalna primjena kanabinoida ima nisku sustavnu bioraspoloživost. Za većinu životinja, kod kojih dlaka ili perje prekriva tijelo, melemi i balzami koji se baziraju na ulju su rizik za matiranje dlake te ometaju primjenu na koži gdje bi se trebali lokalno apsorbirati. Proizvodi koji se nalaze u otapalima poput alkohola ili se miješaju s emulgatorima kako bi stvorili kreme topive u vodi ili losione, imaju bolju sposobnost prodiranja kroz dlaku ili perje, i na kraju kroz kožu. Nazivaju se "mazilima" ako sadrže alkohol, ili kremama i losionima ako

su emulgirani i topljivi u vodi. Transdermalne aplikacije uključuju upotrebu bipolarnog materijala, kao što je fosfolipid koji prenosi kanabinoide u lokalnu cirkulaciju, iz koje se dalje resorbiraju u sistemsku cirkulaciju. Transdermalni mogu biti kreme ili flasteri, koji koriste membranu za odvajanje transdermalne otopine od kože. Kod životinja je važno ošišati dlaku na dijelu primjene transdermalnih tekućina ili flastera. Neka anatomska mjesta bez dlake, poput unutrašnjosti uške i ventralnog ingvinalnog dijela, laka su mjesta primjene. Preporučuje se prije ponovne primjene transdermalne kreme, očistiti mjesto primjene radi bolje apsorpcije. Primjena na unutrašnjoj strani uške sprječava pacijenta da liže transdermalnu kremu u odnosu na pristupačno područje kao što je ingvinalna regija. Apsorpcija transdermalnog lijeka ovisi o stupnju prokrvljenosti.

#### **4.1.3 Inhalacija**

Inhalacija je nepraktična primjena kanabisa kod životinja, osim primjerice kod primata ili laboratorijskih životinja, koje se mogu priključiti na dišne maske. Kako su razvijeni oblici kanabinoida topivi u vodi, teoretski postoji mogućnost nebulizacije koja bi omogućila apsorpciju kroz veliku plućnu površinu. Metoda inhalacije je brzo djelujuća i zaobilazi metabolizam u jetri.

#### **4.1.4. Komparativna farmakokinetička studija triju načina primjene CBD-a kod biglova**

Ova studija je dizajnirana kako bi se utvrdila farmakokinetika CBD-a u zdravih pasa. Uzorak populacije od 30 zdravih pokusnih pasa je razvrstan na način da svaka grupa primi jednu od tri različite formulacije u dozama od 75 ili 150 mg svakih 12 h u trajanju od 6 tjedana. Formulacije doza su bile (1) tekuća uljna infuzija primijenjena na oralnu sluznicu; (2) oralne kapsule sa mikroenkapsuliranim uljnim bobicama; i (3) transdermalna aplikacija. Veće koncentracije u plazmi su izmjerene kod oralne formulacije prožete CBD uljem. Poluživot u plazmi CBD-a apliciranog ovim putem nakon doze od 75 mg i 150 mg je bio  $199.7 \pm 55.0$  i  $127.5 \pm 32.2$  min. Ova studija je dokazala da su razine u krvi i doze proporcionalne da je oralni tekući CBD apsorbiran transmukozalno, superioran u odnosu na druge testirane formulacije, a da su oralno primijenjene mikroenkapsulirane bobice druga najbolja formulacija s obzirom na farmakokinetički profil (BARTNER i sur., 2018.).



#### **4.1.5. Iskustva vlasnika kućnih ljubimaca s proizvodima od konoplje**

KOGAN i sur. (2015., 2018.) proveli su istraživanje uz pomoć skrbnika kućnih ljubimaca, koji su posjetili web stranicu e-trgovine za kupnju proizvoda od konoplje za životinje. Ova studija je bila osmišljena kako bi se saznalo koje proizvode od konoplje kupuju vlasnici kućnih ljubimaca, koji su razlozi njihove kupovine, procjena vrijednosti ovih proizvoda za zdravlje njihovih ljubimaca. Anonimna anketa je provedena među vlasnicima kućnih ljubimaca koji su kupili proizvode od jedne internetske tvrtke. Od ukupno 632 zabilježena odgovora, 58.8 % njih navodi da trenutno koriste proizvod od konoplje za svoga psa. Većina vlasnika pasa (77.6 %) je naznačilo da taj proizvod koriste za bolest ili stanje dijagnosticirano od strane veterinara, s tim da najčešća stanja uključuju napadaje, karcinom, anksioznost i artritis. Od ukupnog broja odgovora, manji broj sudionika se izjasnio da trenutno koriste proizvode od konoplje za svoju mačku (11.93 %), s 81.8 % onih koji proizvod upotrebljavaju za bolest ili stanje koje je dijagnosticirao veterinar. Najčešća stanja koja se pokušavaju tretirati proizvodima od konoplje su karcinom, anksioznost i artritis.

#### **4.2. Hemp ekstrakti bez THC-a**

Iako kanabis s niskim postotkom THC-a (hemp), već ima manje od 0.3 % THC-a u suhoj materiji u vrijeme berbe, postoji nekoliko situacija gdje značajno smanjenje količine THC-a, na nemjerljive razine, ima prednost kod nekih veterinarskih pacijenata. Psi su više osjetljivi na neželjene neurološke učinke THC-a, kada nikad prije nisu bili izloženi ovoj tvari i nisu razvili toleranciju. Neki psi su osjetljiviji od drugih, te kroz komunikaciju sa skrbnicima životinja, pokazalo se da postoji i mali postotak pasa koji neželjeno reaguju i na vrlo malu dozu THC-a prisutnu u hemp kultivarima. Za ove pse, stoga, nula postotni-THC proizvod bi bio bolji izbor. Konji mogu imati neočekivane reakcije na THC te je prilikom primjene potrebno biti posebno oprezan. Nadalje, i konji i psi koji se natječu na događanjima se redovno testiraju kako bi se mogli uopće kvalificirati. Većina natjecanja će diskvalificirati životinju ukoliko je nađen THC, no ne i zbog CBD-a. Svjetska Anti-Doping Agencija ([www.WADA-ama.org](http://www.WADA-ama.org)) je dopustila uporabu CBD-a kod sportaša od siječnja 2018. Ipak i dalje diskvalificira pojedinca s natjecanja ukoliko se u krvi utvrde THC, sintetskih kanabinoida i kanabimimetičkih tvari. Zbog toga, olimpijski sportaši koji koriste nula postotni THC izvor CBD-a, neće biti diskvalificirani, kao primjerice osvajač zlatne medalje, Michael Phelps.

Prema izvješću veterinara koji je podijelio preko 40000 bočica nula postotne THC tinkture veterinarima, u zadnje 2 godine, dokazana je klinička snaga ove formulacije u vidu smanjenja boli, poboljšanja mobilnosti, remisije nekih tumora, uspješne kontrole nekomplicirane epilepsije, tipa 2 dijabetesa, problema sa ponašanjem u okviru anksioznosti te zvučnih fobija. Prije otkrića i uporabe raznih kanabinoida, smatralo se da je THC apsolutno nužan za kliničke dobrobiti. Danas je poznato da „entourage“ efekt ne zahtijeva i THC. Kod pacijenata sa smanjenim endokanabinoidnim tonusom, možda je potrebno koristiti malu dozu THC-a kako bi se zamijenili endogeni ligandi i postigao bolji klinički odgovor. Kod slučajeva teške boli i agresivnih karcinoma dokazan je jasan učinak THC-a, no za većinu drugih stanja, THC nije nužan.

## 5. Doziranje i strategije u veterinarskoj medicini

Doziranje kod ljudi određeno je temeljem objektivnih studija i kliničkih zaključaka i iskustava stotina liječnika koji su bili obučeni za primjenu medicinskog kanabisa u Americi još od 1996. godine kada je prvi put legaliziran kanabis u medicinske svrhe (MACCALLUM i RUSSO, 2018.). Nažalost to nije slučaj u veterinarskoj medicini zbog zapreka u kliničkoj primjeni kanabisa, te su stoga doze slučajno utvrđene, većinom od strane skrbnika životinja te nekoliko veterinara koji su bili spremni riskirati radi primjene kanabinoida kod svojih pacijenata. Utvrđeno je da životinje imaju bifazični odgovor na doziranje kanabisa kao i ljudi, u smislu da niska doza (ili mikrodoza) će stvoriti jedan set učinaka odnosno da će velika doza (ili makrodoza) imati druge učinke. Mikrodozama se smatraju količine manje od 0.5 mg/kg BID (bis in die lat.-dva puta/dan) kanabinoida. Makrodoze uključuju više od 2.0 mg/kg BID. Individualni odgovori mogu varirati. Na temelju slučajnih nalaza veterinara i skrbnika životinja koji su koristili mikrodoze, učinkovite doze kod pasa i mačaka su se pokazale 5 puta nižima od onih korištenih u studiji učinkovitosti na CSU-u (MCGRATH i sur., 2018.).

Postojat će uvijek mali udio životinja koje će razviti nuspojave poput učestale stolice, sedacije ili povećane serumske ALP, čak i pri nižim dozama. Proljev, sedativni učinak i porast ALP-a je zabilježen kod subjekata koji su primali 10 i 20 mg/kg/dan (MCGRATH i sur., 2018.). Tischler je u svojoj prezentaciji na konferenciji na Institutu za istraživanje kanabisa na Colorado State Sveučilištu u Pueblo-u raspravljao o vrijednostima mikrodoza kod humanih pacijenata u odnosu na makrodoze. Mikrodoziranje služi da bi se smanjio ili uklonio psihotropni učinak THC-a kroz sub-psihotropno doziranje i razvoj tolerancije u periodu od 2 tjedna. Veterinarski pacijenti, za koje je uporaba THC-a nužna i terapijska (teška bol, stimulacija apetita nedostatna samo sa CBD-om, određeni karcinomi), primjena strategije mikrodoziranja će inicijalno olakšati razvoj tolerancije na neželjene učinke THC-a. Jednom kada se to postigne, doza THC-a se može povisiti do traženog kliničkog učinka (TISCHLER, 2018.).

U jednoj studiji, veterinar je primjenio na 30 konja iz 3 različite štale, doze od 25–50 mg CBD-a (težina okvirno 450 kg) sa nula postotnim-THC hemp ekstraktom, 1-2 puta na dan, u svrhu liječenja anksioznosti, abnormalnosti hoda, blagog do teškog laminitisa i metaboličkog sindroma (HARTSEL i sur., 2019.). Pronađeno je da u slučajevima anksioznosti i blagog laminitisa, te poremećaja u hodu, primjena 25 mg 1-2 puta na dan je bila dostatna da stvori

pozitivan učinak u vidu smanjenja anksioznosti pri utovaru/istovaru i na natjecanjima te kod blažih poremećaja hoda. U jednoj od štala, konji su mogli primiti dozu samo 1x/dan, no ipak su primjećeni dobri klinički rezultati. Kod težih stanja poput uznapredovalog laminitisa ili metaboličkog sindroma, utvrđeno je da 50 mg 1-2/dan je doza kod koje se očekuje klinički odgovor. Kada je od skrbnika konja zatraženo da prestanu davati hemp ekstrakt kako bi se utvrdilo vrijeme povlačenja CBD-a iz cirkulacije, mnogi skrbnici su odbili zbog zadovoljstva sa kliničkim boljitkom njihovih konja.

Konji su evolucijski utrenirani da bolje apsorbiraju masnoće iz prehrane jer je njihova prirodna prehrana vrlo siromašna mastima i uljima. pK studije (Farmakokinetičke studije - koriste se za karakterizaciju apsorpcije, distribucije, metabolizma i izlučivanja spoja, bilo u krvi, urinu ili tkivima, a često se primjenjuju u fazama otkrivanja ili odabira kandidata u programu razvoja lijeka.) kod konja su izuzetno potrebne kako bi se bolje ustanovilo doziranje i intervali primjene. Za većinu drugih životinjskih vrsta koriste se dozni okviri empirijski ustanovljeni mnogobrojnim veterinarskim primjenama, počevši sa niskom dozom i polaganim povećanjem s vremenom. Preporuča se davati dozu 10–14 dana kako bi se aktivirali CB receptori i ako je nakon 2 tjedna klinički odgovor nezadovoljavajući, doza se poveća duplo od početne. Ispravnim postepenim polaganim povećanjem doze ostvaruju se najbolji rezultati. “Start low, go slow, stay low“ (“Početi nisko, ići polako, ostati nisko“) bi bio moto doziranja, i kod humanog i kod veterinarskog pacijenta. Ovaj protokol kombiniran sa studijama o sigurnosti i učinkovitosti omogućuje kliničaru da sigurno primjenjuje i visoku dozu od 20 mg/kg/dan (MACCALLUM i RUSSO, 2018.; MCGRATH i sur., 2018.). U kasnijoj studiji, MACCALLUM i RUSSO su izjavili, “Doze lijekova na bazi kanabisa moraju biti individualno utvrđene (učinkovite doze za specifične pacijente) ovisno o endokanabinoidnom tonusu tog pacijenta” (MACCALLUM i RUSSO, 2018.).

## **5.1 Omjer doziranja**

Omjer doziranja je uporaba formulacija kanabisa koje sadrže i THC i CBD u specifičnim proporcijama u odnosu jedan na drugoga. Cilj ovoga pristupa je dvojaki:

1. Omogućava razvoj tolerancije na THC kroz inicijalnu uporabu više koncentracije CBD-a u odnosu na niski THC (THC:CBD/1:25) kako bi se izbjegli psihoaktivni učinci, dok se uspostavlja tolerancija na nepoželjne učinke THC-a.

2. Jednom kada se tolerancija uspostavi, doza THC frakcije u ovoj formuli se onda može sigurno podići. Podizanje doze THC-a će također povećati i dozu CBD-a koja se primjenjuje, što može biti još poželjnije kod određenih stanja.

Ako se utvrdi da pacijent treba veću količinu THC-a kako bi se postigli bolji medicinski učinci, no ne treba i veću količinu CBD-a, onda se sugerira prebacivanje na formulaciju s jednakim omjerom THC-a i CBD-a. Jednaki omjer formulacije THC:CBD (1:1) se koristi empirijski i učinkovito kod pacijenata sa srednjom do teškom boli i kod onkoloških pacijenata kod kojih primjena proizvoda s niskim udjelom THC-a ne donosi zadovoljavajuću protuneoplastičnu aktivnost ili ublažavanje onkoloških nuspojava od terapeutika ili same bolesti. THC:CBD/4:1 je najčešći omjer koji se koristi. U rijetkim situacijama kod životinja, nužno je primjenjivati formulaciju sa visokim postotkom THC-a, kako bi se poboljšala kontrola boli i uspješnije reguliralo stanje onkološkog pacijenta. Uporaba ove formulacije nosi i veću opasnost od nepoželjnih učinaka od one sa niskim udjelom THC-a. U svim slučajevima uporabe THC-a kod životinja, važno je razviti prvo toleranciju primjenom proizvoda sa malo ili ništa THC-a prva 2 tjedna terapije kako bi se izbjegle nuspojave i potrebe za eventualnom hitnom pomoći.

### **5.1.1. Nuspojave**

Proljev i sedacija su dominantni nepoželjni učinci. Povišenje razine serumske ALP je također zabilježena kao značajan pronalazak pri višim dozama. Druge testirane jetrene funkcije, kao što su žučne kiseline i ALT, su bile u normalnim granicama (MCGRATH i sur., 2018.). SELLERS i sur. (2013.) su pronašli da uporaba omjera 1:1 THC:CBD u obliku sublingvalnog spreja, Sativex™, je bila povezana sa znatno manje nuspojave od 100 % čiste sintetičke THC kapsule, Marinol™. Ovo ilustrira pozitivan učinak dodatka CBD-a u formulaciju sa THC-om ili sintetičkim THC-om (SELLERS i sur., 2013.). Russo izvještava da pojavnost nuspojave povezanih sa lijekom Sativex™, odobrenim diljem svijeta za spastičnost mišića kod multiple skleroze, je bila znatno manja, kada je lijek postepeno titriran do odgovora pacijenta. Ova studija je utvrdila da većina nuspojave prolazi brzo i pojavljuje se rano, kod strategije doziranja koja se temelji na niskoj početnoj dozi s postupnim povećanjem do postignuća kliničkog učinka (RUSSO i sur., 2011.).

### **5.1.2. Sigurnost dugotrajne primjene visoke doze CBD-a u pasa**

Studija koja je istraživala sigurnost kanabidiola u pasa provedena je na uzorku od 30 zdravih biglova su nasumično dodijeljene 1 od 3 formulacije: mikroenkapsulirane uljne kuglice, CBD-prožeto ulje ili CBD-prožeta transdermalna krema, kao 10 i 20 mg/kg/dan. Kompletna krvna slika, kemijski paneli, analiza urina te pre- i postprandijalne žučne kiseline su ispitane u intervalima 0, 2, 4 i nakon 6 tjedana. Povećanja enzima ALP u visini duplo od referentnih vrijednosti (140 IU/L) su opažena kod nekih pasa (11/30:36 %) nakon 4 tjedna primjene CBD-a, iako je zabilježeno i povećanje kod nekih pasa i nakon 2 tjedna. Nijedan od pasa koji su primali transdermalne formulacije nije razvio povećane razine ALP-a. Svi psi su dobili blagi proljev ali bez korelacije sa formulacijom ili dozom. 6 od 30 pasa je razvilo povraćanje, također bez značajne korelacije s dozom ili formulacijom. Eritem uške je bio najčešći klinički znak. Ove otičke promjene su zapažene kod 36 % pasa i nakon 2 tjedna su napredovale u doznoj grupi od 10 mg/kg/dan kod sve tri formulacije. Transdermalne kreme su uzrokovale najčešće otičke promjene u odnosu na oralni ili transmukozalni način primjene, što je i razumljivo s obzirom da je krema aplicirana upravo na unutrašnju stranu uške. Rjeđe zapaženi znakovi su bili očni iscjedak kod 10/30 pasa (33 %) i nosni iscjedak kod također 10/30 pasa (33 %). Pet pasa (17 %) je imalo mrlje od slina na nogama i rjeđe, na ventralnoj strani abdomena. Dva psa su imala spontani prolaps žlijezde treće očne vjeđe. Jedan pas je imao povišenje tjelesne temperature (40°C). Neki psu su slinili nakon primjene uljnih formulacija prožetih CBD-om kod oba dozna ranga. Istraživanje je zaključilo da psi dobro podnose CBD kod viših doza, no naglašava da veća i dugotrajnija studija je nužna, kako bi se utvrdili kronični učinci CBD-a na jetru, i povezanost s pojavom proljeva (MCGRATH i sur., 2018.).

### **5.1.3. Evaluacija trenda toksikoze marihuanom kod pasa iz država sa legalnom medicinskom marihuanom: 125 pasa (2005.–2010.)**

Ova studija je pratila korelaciju broja dozvola za medicinski kanabis u državi Colorado od 2005. do 2010. godine i broj zahtjeva za hitnom veterinarskom pomoći zbog trovanja marihuanom. Ukupno 125 pasa je primljeno zbog trovanja marihuanom ili sumnje na isto, bez ili sa testom za urin (UDST). Značajna korelacija je utvrđena između broja dozvola za medicinsku marihuanu i slučajeva toksikoza marihuanom u dvije veterinarske bolnice u Coloradu. Ingestija pečenih pripravaka, spravljenih od visoko potentnih THC maslačnih ekstrakcija je rezultirala dvama smrtima. Autori su naglasili da zbog razlika u metabolitima

urina kod pasa u odnosu na čovjeka, UDST eventualno nije validan kod pasa. Važno je još naglasiti da nije bilo zabilježenih smrti u više stotina godina ljudske primjene marihuane. U oba slučaja čokoladni kolačići su bili spravljeni od velikih količina THC maslaca, i oba psa, relativno sitne građe, su pojeli vrlo velike količine čokolade s kanabisom. Autori nisu mogli direktno povezati nijednu smrt sa THC-om i smatrali su da je glavni letalni faktor bila čokolada i njena količina (MEOLA i sur., 2012.).

## **5.2. Interakcije lijekova sa kanabisom**

U humanoj medicini nisu zamjećene značajne interakcije s lijekovima kod primjene medicinske marihuane. MACCALLUM I RUSSO (2018.) tvrde “ne postoji lijek koji se ne može koristiti zajedno sa kanabisom, ako je potrebno”. Ovisno o stupnju afiniteta metabolita za citokrom, serumske razine kanabinoida ili farmaceutika se mogu povisiti inhibitorima ili sniziti enzimskim induktorima. Poznato je da THC i CBD kod čovjeka oksidiraju p450 citokromi (CYP2C9, 2C19 i 3A4). Pretpostavka je da se slično događa kod psa i drugih životinja, no, ipak je nužno provesti istraživanje na temu kako bi se utvrdile međuvrsne razlike. Kod ljudi je utvrđeno da visoka doza CBD-a interferira s metabolizmom klobazama, stoga je potencijalno nužno smanjenje doze kada se koristi zajedno s CBD-om (DEVINSKY i sur., 2017.). U studiji refraktorne epilepsije mjerene su razine fenobarbitala i kalijevog bromida nakon primjene CBD-a, no nisu nađene razlike između tretiranih i placebo grupa, što pokazuje da unatoč potencijalnoj interakciji CBD i P450-metaboliziranih lijekova, bar što se tiče pasa na terapiji antikonvulzivima, interferencija nije klinički značajna (MCGRATH i sur., 2019.). Naravno, dobra je klinička praksa retestiranje serumskih razina lijekova 2 tjedna nakon početka CBD terapije, posebice kod protokola s primjenom makrodoza.

## **5.3. Testiranje proizvoda**

Kontrola kvalitete je kritični aspekt bilo kojeg proizvodnog procesa. Bez QC (quality control) testiranja, proizvođači ne bi bili u mogućnosti proizvoditi proizvode standardiziranih koncentracija. Nadalje, može doći i do kontaminacije, i jedini način da se osigura nepromjenjivost i kvaliteta proizvoda je kontrola vjerodostojnim metodama testiranja u analitičkom laboratoriju. Tvrtke koje koriste vlastiti laboratorij moraju rezultate potvrditi i

trećim nezavisnim laboratorijem. Nekoliko je glavnih sumnji koje se moraju testiranjem otkloniti.

Testiranje potencije kanabinoida i terpena je apsolutno esencijalno kako bi se postiglo učinkovito i dosljedno doziranje pacijenta. Točna analiza za svaku proizvedenu seriju je potrebna da bi se podudarale sa strogim smjericama za hranu i lijekove. Sadržaj treba biti označen na deklaraciji i u reklamnim materijalima kako bi kliničar mogao preciznije odlučiti o učinkovitoj doznoj strategiji. Proizvođači mogu nekad određenim nazivima i izrazima na deklaraciji novoditi kupce da dobiju bolji dojam o proizvodu. To predstavlja ozbiljan zdravstveni rizik. Certifikati analize proizvoda dobivenih od kanabisa trebaju imati informaciju o potenciji i potencijalnim dozama proizvoda.

Kontaminacija pesticidima-Primjena pesticida je dugo bila dio standardne prakse u uzgoju kanabisa. Pesticidi predstavljaju specifičan zdravstveni rizik za životinje i ljude. Preporučljivo je napraviti multirezidualnu analizu na pesticide za bilo koji organski proizvod od kanabisa.

Mikrobiološka kontaminacija - testiranja hrane su odavno postavila standard za utvrđivanje odsustva mikroorganizama u proizvodima namijenjenim za prehranu. Dok je vrlo neuobičajeno pronaći organizme poput *E.coli* ili salmonelle na kanabisu, vrlo često se može naći *Aspergillus* sp, plijesan prevalentna u vanjskom uzgoju kanabisa. *Aspergillus* predstavlja specifičan rizik za zdravlje, posebice za pacijente sa kompromitiranim imunim sustavom. Ako životinja ima neki tip imunskog poremećaja, imperativ je da kupljeni proizvod dolazi sa certifikatom analize koji obećava odsutnost mikroorganizama i toksina plijesni.

Kontaminacija teškim metalima- Kanabis je poznat kao bioakumulator što znači da apsorbira kontaminante iz zemlje. Arsen, kadmij, živa i olovo su najopasniji, stoga bi trebalo provoditi testiranje na teške metale za sve biljne proizvode. Poseban oprez se preporučuje kod biljaka uzgojenih u državama sa slabim zakonima o regulaciji okoliša.



## 6. ZAKLJUČAK

- ECS igra ključnu ulogu u moduliranju diferencijacije stanica, staničnoj proliferaciji i staničnoj smrti te utječe na embrionalni razvoj, neuroplastičnost, neurozaštitu, imunost, upalu, karcinogenezu, bol, emocionalno pamćenje, glad, hranjenje i metabolizam.
- U humanoj medicini nisu zamjećene značajne interakcije s lijekovima kod primjene medicinske marihuane. MACCALLUM i RUSSO (2018.) su izjavili, “ne postoji lijek koji se ne može koristiti zajedno sa kanabisom, ako je potrebno” (MACCALLUM i RUSSO, 2018.).
- Istraživanja su pokazala da su razine kanabinoida u krvi i doze proporcionalne i da je oralni tekući CBD apsorbiran transmukozalno, superioran u odnosu na druge testirane formulacije.
- Doze lijekova na bazi kanabisa moraju biti individualno utvrđene (učinkovite doze za specifične pacijente) ovisno o individualnom endokanabinoidnom tonusu (MACCALLUM i RUSSO, 2018.).
- THC ima značajno niži afinitet za endogenim CB<sub>1</sub> receptorom i ne posjeduje iste psihoaktivne učinke kao pripravci koji sadrže aktivirani THC.
- ECS je uključen u etiologiju raznih neurodegenerativnih stanja, i kanabinoidi su pokazali neurozaštitničke kvalitete i mogućnost ublažavanja neuropale te promicanje neurogeneze (JIANG i sur., 2005.; SAITO i sur., 2012.; VAN DER STELT i sur., 2001.). Sindrom eCB deficijencije je etiološki uzročnik migrena, fibromialgije, IBS, psiholoških poremećaja i drugih stanja. (MCPARTLAND, 2014.).
- Kanabinoidi induciraju autofagiju, apoptozu, zastoj staničnog ciklusa, smanjuju angiogenezu, tkivnu invaziju i metastaziranje, bez da utječu na zdrave stanice. Ovo ih čini vrlo privlačnom terapijskom opcijom i kliničaru i skrbniku životinja.
- Primijećene koristi od uporabe kanabisa uključuju: smanjenje anksioznosti, olakšanje boli i poboljšanje mobilnosti u životinja s OA, smanjenje veličine tumora, poboljšana kontrola dijabetesa tipa 2, upalnih stanja i epileptičnih napadaja, ublažavanje gastrointestinalnih poremećaja, tretiranje stanja poput kemoterapijom inducirane mučnine i povraćanja, te simptoma bolesti poput anoreksije i pretilosti.

Bez obzira na negativne subjektivne dojmove o marihuani, postoje jasni i objektivni znanstveno - medicinski dokazi o pozitivnim učincima kanabinoida na zdravlje, ponašanje i kontrolu kroničnih poremećaja. Prema članku 39. Uredbe (EZ-a) br. 73/2009, u Hrvatskoj i većini EU zemalja dozvoljen je uzgoj konoplje ako udio THC-a nije veći od 0.2 %, stoga s dolaskom CBD ulja na tržište i sa službenim odobrenjem njegove uporabe u zdravstvene svrhe, za nas se veterinare otvorio novi svijet mogućnosti terapijanja oboljelih životinja. Proizvodi CBD-a dostupni su na web trgovinama proizvođača ulja čija se konoplja uzgaja u državama članicama EU. Iako su to najčešće Njemačka ili Slovenija, otkud se zatim proizvod uvozi u RH, postoje i isključivo hrvatski uzgajivači i proizvođači. Moguća je i dostava visokokvalitetnog CBD ulja primjerice iz Colorada, USA (NuLeaf Naturals). Ulje se također može pronaći i u specijaliziranim prodavaonicama te kupiti i kod nekih veterinarara. Kao i kod svakog proizvoda koji se primjenjuje kod životinja, uvijek treba birati proizvod namijenjen ili odobren za tu primjenu i od proizvođača koji su transparentni i vjerodostojni, te su im proizvodi slobodni od pesticida, fungicida i drugih eventualnih toksina te ujedno testirani i od strane trećih nezavisnih laboratorija na sve parametre ispravnosti i naglašavam, potencije.

Definitivno je potrebno više veterinarskih studija i to ne samo za CBD, već i druge fitosastavnice marihuane (THC, THCA, CBG i dr.) prvenstveno na psima, mačkama i konjima te inicijalne studije na reptilima i pticama - o učinkovitosti, sigurnosti te prije svega interakciji s različitim razredima lijekova, zbog dobro utvrđenog djelovanja CBD-a na inhibiciju jetrenog enzima, citokrom P450, koji sudjeluje u metaboliziranju većine lijekova.

Kod određenih poremećaja ili stanja idealno bi bilo primarno započeti sa kanabinoidnom terapijom, no svijest o primjeni takvog pristupa liječenja je trenutno nerealna za očekivati i uporaba konvencionalnih lijekova ili metoda liječenja je nažalost i dalje gotovo uvijek prvi izbor, unatoč brojnim indikacijama kanabinoidne terapije za razna stanja (bol, OA, karcinom, anksioznost i dr. bihevioralni poremećaji, epileptični ili epileptoidni napadaji, problemi s kožom, poremećaji imunskog sustava, probave, bolesti očiju itd.).

Na temelju višegodišnjeg iskustva primjene kanabinoidne terapije na svojim kućnim ljubimcima (psi i mačke) i sebi samoj, te kao budući veterinar, tvrdim da primjena fitokanabinoida kako u humanoj tako i u veterinarskoj medicini, može biti superioran izbor u terapiji određenih bolesti i stanja u odnosu na neke konvencionalne lijekove koji sa sobom „nose“ opasne nuspojave i posljedice, a terapijski učinak im je jednak ili čak slabiji od kanabinoida. No, napominjem da u komunikaciji sa skrbnicima životinja, važno je napomenuti

da kanabinoidna terapija, unatoč zaista moćnim pozitivnim terapijskim svojstvima ne može se ipak smatrati „panacejom“ ili čak i lijekom, već dodatkom prehrani koji prvenstveno olakšava simptomatologiju, a tek rijetko uklanja primarni izvor bolesti. Kad je pomoć neuspješna, ne smijemo osuditi kanabinoidnu terapiju zbog neučinkovitosti, nego moramo biti svjesni da svaki organizam ima granicu do koje mu još možemo pomoći.

Najčešće skrbnici životinja biraju marihuanu kao pomoć svojim životinjama kada su im njihovi veterinari kao jedino „rješenje“ preporučili eutanaziju. Zahvaljujući informacijama na internetu dostupnim svima, te iskustvima skrbnika koji razmatraju sve mogućnosti za spas svoje životinje, žalosna je činjenica da su upravo skrbnici životinja više educirani o ovoj vrsti terapije nego sami veterinari. Kako medicina napreduje i mijenjaju se trendovi liječenja, vrijeme je i da se veterinari kao stručnjaci interesiraju, priključe trendu i doprinesu razvoju ove relativno nove i zasigurno rastuće vrste terapije i tako omoguće svojim pacijentima još jedan siguran i učinkovit izbor terapije.

## 7. LITERATURA

1. AGGARWAL, B. B., S. SHISHODIA (2006): Molecular targets of dietary agents for prevention and therapy of cancer. *Biochem Pharmacol* 71:1397–1421
2. AHMED, S.A., S. A. ROSS, D. SLADE (2008): Cannabinoid ester constituents from high-potency *Cannabis sativa*. *J Nat Prod* 71:536–542PubMedPubMedCentral
3. AL-OMARI, S. M. (2007): The effect of thujone and myrcene on diabetes mellitus in albino rats. Faculty of Graduate Studies University of Jordan
4. AYDIN, E., H. TÜRKEZ, Ş. TAŞDEMİR (2013): Anticancer and antioxidant properties of terpinolene in rat brain cells. *Arch Ind Hyg Toxicol* 64:415–42
5. BABSON K. A., J. SOTTILE, D. MORABITO (2017): Cannabis, cannabinoids, and sleep: A review of the literature. *Curr Psychiatry Rep* 19:23
6. BARTNER L. R., S. MCGRATH, S. RAO, L. K. HYATT (2018): Pharmacokinetics of cannabidiol administered by three delivery methods at 2 different dosages to healthy dogs. *Can J Vet Res* 82:178–183
7. BASAVARAJAPPA, B. S. (2007): Neuropharmacology of the endocannabinoid signaling system-molecular mechanisms,biological actions and synaptic plasticity.*Curr Neuropharmacol* 5:81 97
8. BÁTKAI, S. (2004): Endocannabinoids acting at cannabinoid-1 receptors regulate cardiovascular function in hypertension. *Circulation* 110:1996–2002
9. BERGAMASCHI, M. M., R. H. QUEIROZ, M.H. CHAGAS (2011): Cannabidiol reduces the anxiety induced by simulated public speaking in treatment-naive social phobia patients. *Neuropsychopharmacology* 36(6):1219–1226
10. BIFULCO M., A. M. MALFITANO, S. PISANTI, C. LAEZZA (2008): Endocrine-Related Cancer, Endocannabinoids in endocrine and related tumours 15 391–408

11. BOLOGNINI, D. (2013): Cannabidiolic acid prevents vomiting in *suncus murinus* and nausea-induced behaviour in rats by enhancing 5-HT<sub>1A</sub> receptor activation. *Br J Pharmacol* 168:1456–1470
12. BORRELLI, F., I. FASOLINO, B. ROMANO (2013): Beneficial effect of the non-psychoactive plant cannabinoid cannabigerol on experimental inflammatory bowel disease. *Biochem Pharmacol* 85(9):1306–1316
13. BRENNEISEN, R., M. A. ELSOHLY (1988): Chromatographic and spectroscopic profiles of cannabis of different origins: Part I. *J Forensic Sci* 33:1385–1404
14. CALLEJA, M. A., J.M. VIEITES, T. MONTERO-METERDEZ (2013): The antioxidant effect of  $\beta$ -caryophyllene protects rat liver from carbon tetrachloride-induced fibrosis by inhibiting hepatic stellate cell activation. *Br J Nutr* 109:394–401
15. CAMILLERI, M., G. J. KOLAR, M. I. VAZQUEZ-ROQUE (2013): Cannabinoid receptor 1 gene and irritable bowel syndrome: phenotype and quantitative traits. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 304(5):G553–G560
16. CAMPORA, L., V. MIRAQLIOTTA, E. RICCI (2012): Cannabinoid receptor type 1 and 2 expression in the skin of healthy dogs and dogs with atopic dermatitis. *Am J Vet Res* 73:988–995
17. CARLINI, E.A., J. M. CUNHA (1981): Hypnotic and antiepileptic effects of cannabidiol. *J Clin Pharmacol* 21:417S–427S
18. CHANG, Y. H., D.M. WINDISH (2009): Cannabinoid hyperemesis relieved by compulsive bathing. In: *Mayo Clinic Proceedings*, vol 1. Elsevier, Amsterdam, pp 76–78
19. CHAVES, J. S., P. C. LEAL, L. PIANOWISKY (2008): Pharmacokinetics and tissue distribution of the sesquiterpene  $\alpha$ -humulene in mice. *Planta Med* 74:1678–1683
20. CHIOCA, L. R. (2013): Anxiolytic-like effect of lavender essential oil inhalation in mice: participation of serotonergic but not GABA<sub>A</sub>/benzodiazepine neurotransmission. *J Ethnopharmacol* 147:412–418
21. CIFTCI, O., I. OZDEMIR, S. TANYILDIZI (2011): Antioxidative effects of curcumin,  $\beta$ -myrcene and 1, 8-cineole against 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced oxidative stress in rats liver. *Toxicol Ind Health* 27:447–453

22. CONSROE, P., A. WOLKIN (1977): Cannabidiol-antiepileptic drug comparisons and interactions in experimentally induced seizures in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 201:26
23. CRIPPA, J. A., A. W. ZUARDI, R. MARTIN-SANTOS (2009): Cannabis and anxiety: a critical review of the evidence. *Hum Psychopharmacol* 24(7):515–523
24. DALL'AGLIO, C., F. MERCATI, L. PASCUCCI (2010): Immunohistochemical localization of CB1 receptor in canine salivary glands. *Vet Res Commun* 34:9–12
25. DE PETROCELLIS, L., D. MELCK, T. BISOGNO (1999): Finding of the endocannabinoid signalling system in Hydra, a very primitive organism: possible role in the feeding response. *Neuroscience* 92:377–387
26. DEVANE, W. A., L. HANUS, A. BREUER (1992): Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 258:1946–1949
27. DEVINSKY, O., J. H. CROSS, S. WRIGHT (2017): Trial of cannabidiol for drug-resistant seizures in the Dravet syndrome. *N Engl J Med* 376(21):2011–2020
28. DEWEY, W. L. (1986): Cannabinoid pharmacology. *Pharmacol Rev* 38(2):151–178
29. DI MARZO, V., M. BIFULCO, L. DE PETROCELLIS (2004): The endocannabinoid system and its therapeutic exploitation. *Nature Reviews. Drug Discovery* 3 771–784
30. COLIN, T., J. DOURISH, J. P. H. WILDING, C. G. HALFORD (2008): Animal and Translational Models for CNS Drug Discovery Chapter 8 - Anti-obesity Drugs: From Animal Models to Clinical Efficacy
31. DO VALE, T. G., E. C. FURTADO, J. R. SANTOS J (2002): Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) NE Brown. *Phytomedicine* 9:709–714
32. ELSOHLY, M. A., D. SLADE (2005): Chemical constituents of marijuana: the complex mixture of natural cannabinoids. *Life Sci* 78:539–548
33. ESPOSITO, G., D. DE FILIPPIS, R. CARNUCCIO (2006): The marijuana component cannabidiol inhibits  $\beta$ -amyloid-induced tau protein hyperphosphorylation through Wnt/ $\beta$ -catenin pathway rescue in PC12 cells. *J Mol Med* 84:253–258

34. ESPOSITO, G., C. SCUDERI, C. SAVANI (2007): Cannabidiol in vivo blunts  $\beta$ -amyloid induced neuroinflammation by suppressing IL-1 $\beta$  and iNOS expression. *Br J Pharmacol* 151:1272–1279
35. FERNANDES, E. S., G. F. PASSOS, R. MEDEIROS (2007): Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. *Eur J Pharmacol* 569:228–236
36. FREUNDT-REVILLA, J., K. KEGLER, W. BAUMGÄRTNER (2017): Spatial distribution of cannabinoid receptor type 1 (CB1) in normal canine central and peripheral nervous system. *PLoS One* 12:e0181064
37. GALLILY, R., Z. YEKHTIN, L. O. HANUŠ (2015): Overcoming the bell-shaped dose-response of cannabidiol by using cannabis extract enriched in cannabidiol. *Pharmacol Pharm* 6:75–85
38. GAMBLE, L. (2018): Pharmacokinetics, safety, and clinical efficacy of cannabidiol treatment in osteoarthritic dogs. In: Proceedings of the World Rehabilitation Summit (IAVRPT), ACVSMR track; July 31, Knoxville, TN
39. GAONI, Y., R. MECHOULAM (1964): Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish. *J Am Chem Soc* 86:1646–1647
40. GESELL, F. K., A. A. ZOERNER, C. BRAUER (2013): Alterations of endocannabinoids in cerebrospinal fluid of dogs with epileptic seizure disorder. *BMC Vet Res* 9:262
41. GULLUNI, N., T. RE, I. AOIACONO (2018): Cannabis essential oil: a preliminary study for the evaluation of the brain effects. *Evid Based Complement Altern Med* 2018:1709182
42. GUZMÁN, M., B. DUARTE, C. BLÁZQUEZ (2006): A pilot clinical study of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol in patients with recurrent glioblastoma multiforme. *Br J Cancer* 95, 197–203doi:10.1038/sj.bjc.6603236
43. GUZMÁN-GUTIÉRREZ, S. L., H. BONILLA-JAIME (2015): Linalool and  $\beta$ -pinene exert their antidepressant-like activity through the monoaminergic pathway. *Life Sci* 128:24–29
44. HAMPSON, A., M. GRIMALDI, J. AXELROD (1998): Cannabidiol and (-)  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:8268–8273

45. HARTSEL, J. A., J. EADES, B. HICKORY, A. MAKRIYANNIS (2016): Nutraceuticals, efficacy, safety and toxicity: Cannabis sativa and Hemp. Elsevier, Amsterdam, pp 735–754
46. HARTSEL, J., K. BOYAR, A. PHAM, R. SILVER, A. MAKRIYANNIS (2019): Cannabis in Veterinary Medicine: Cannabinoid Therapies for Animals. 10.1007/978-3-030-04624-8\_10.
47. HAUSTEIN, M., R. RAMER, M. LINNEBACHER (2014): Cannabinoids increase lung cancer cell lysis by lymphokine-activated killer cells via upregulation of ICAM-1. *Biochem Pharmacol* 92:312–325
48. HEITLAND, I., F. KLUMPERS, R. S. OOSTING (2012): Failure to extinguish fear and genetic variability in the human cannabinoid receptor 1. *Transl Psychiatry* 2:e162
49. HEPBURN, C., S. WALSH, C. WAINWRIGHT (2011): 17-Cannabidiol as an anti-arrhythmic, the role of the CB1 receptors. *Heart* 97:e8
50. HILL, A. J., C. M. WILLIAMS, B. J. WHALLEY (2012): Phytocannabinoids as novel therapeutic agents in CNS disorders. *Pharmacol Ther* 133:79–97
51. HIROTA, R. (2012): Limonene inhalation reduces allergic airway inflammation in *Dermatophagoides farinae*-treated mice. *Inhal Toxicol* 24:373–381
52. IZZO, A. A., F. BORRELLI, R. CAPASSO (2009): Non-psychotropic plant cannabinoids: new therapeutic opportunities from an ancient herb. *Trends Pharmacol Sci* 30:515–527
53. JIANG, W., Y. ZHANG, L. XIAO (2005): Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects. *J Clin Invest* 115:3104–3116
54. KLAUKE, A. L., I. RACZ, B. PRADIER (2014): The cannabinoid CB2 receptor-selective phytocannabinoid beta-caryophyllene exerts analgesic effects in mouse models of inflammatory and neuropathic pain. *Eur Neuropsychopharmacol* 24:608–620
55. KOCH, M., L. VARELA, J. G. KIM (2015): Hypothalamic POMC neurons promote cannabinoid-induced feeding. *Nature* 519:45
56. KOGAN, L., P. HELLYER, N. ROBINSON (2015): Consumers' perceptions of animal hemp products. *J Am Holist Vet Med Assoc* 14:34–35



57. KOGAN, L., P. HELLYER, R, SCHOENFELD-TACHER (2018): Dog owner's use and perceptions of cannabis products. *J Am Holist Vet Med Assoc* 4:34–35
58. LAFOURCADE, M., T. LARRIEU, S. MATO (2011): Nutritional omega-3 deficiency abolishes endocannabinoid-mediated neuronal functions. *Nat Neurosci* 14:345
59. LE FOLL, B., J. M. TRIGO, K. A. SHARKEY (2013): Cannabis and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) for weight loss? *Med Hypotheses* 80:564–567
60. LEGAULT, J., A. PICHETTE (2007): Potentiating effect of  $\beta$ -caryophyllene on anticancer activity of  $\alpha$ -humulene, isocaryophyllene and paclitaxel. *J Pharm Pharmacol* 59:1643–1647
61. LIGRESTI, A., A. S. MORIELLO, K. STAROWICZ (2006): Antitumor activity of plant cannabinoids with emphasis on the effect of cannabidiol on human breast carcinoma. *J Pharmacol Exp Ther* 318:1375–1387PubMed
62. LISSONI, P., M. RESENTINI, R. MAURI (1986): Effects of tetrahydrocannabinol on melatonin secretion in man. *Horm Metabol Res* 18:77–78
63. LORENZETTI, B. B., G. E. SOUZA, S. J. SARTI (1991): Myrcene mimics the peripheral analgesic activity of lemongrass tea. *J Ethnopharmacol* 34:43–48
64. MACCALLUM, C. A., E. B. RUSSO (2018): Practical considerations in medical cannabis administration and dosing. *Eur J Intern Med* 49:12–19
65. MACKIE, K. (2006): Cannabinoid receptors as therapeutic targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 46:101–122
66. MACKIE, K. (2008): Cannabinoid receptors: where they are and what they do. *J Neuroendocrinol* 20:10–14
67. MAKRIYANNIS, A. (2014): Division of medicinal chemistry award address. Trekking the cannabinoid road: a personal perspective. *J Med Chem* 57:3891–3911
68. MCALLISTER, S. D., R. T. CHRISTIAN, M. P. HOROWITZ (2007): Cannabidiol as a novel inhibitor of Id-1 gene expression in aggressive breast cancer cells. *Mol Cancer Ther* 6:2921–2927PubMed
69. MCGRATH, S. (2018): Cannabis clinical trials in dogs—CSU paving the way. In: *Proceedings of the AVMA Annual Conference, Denver, CO, July, 2018*

70. MCGRATH, S., L. BARTNER, S. RAO (2018): A report of adverse effects associated with the administration of cannabidiol in healthy dogs. *J Am Holistic Vet Med Assoc.* Fall 2018
71. MCGRATH, S., L. BARTNER, S. RAO(2019): Randomized blinded controlled clinical trial to assess the effect of oral cannabidiol administration in addition to conventional antiepileptic treatment on seizure frequency in dogs with intractable idiopathic epilepsy. *Gustafson Journal of the American Veterinary Medical Association*, June 1, 2019, Vol. 254, No. 11 , Pages 1301-1308
72. MCPARTLAND, J., V. D. MARZO, L. D. PETROCELLIS (2001): Cannabinoid receptors are absent in insects. *J Comp Neurol* 436:423–429
73. MECHOULAM, R., S. BEN-SHABAT, L. HANUS (1995): Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 50:83–90
74. MEOLA, S. D., C. C. TEARNEY, S. A. HAAS (2012): Evaluation of trends in marijuana toxicosis in dogs living in a state with legalized medical marijuana: 125 dogs (2005–2010). *J Vet Emerg Crit Care* 22:690–696
75. MERCATI, F., C. DALL'AGLIO, L. PASCUCCI (2012): Identification of cannabinoid type 1 receptor in dog hair follicles. *Acta Histochem* 114:68–71
76. MIYAZAWA, M., C. YAMAFUJI (2005): Inhibition of acetylcholinesterase activity by bicyclic monoterpenoids. *J Agric Food Chem* 53:1765–1768
77. MORELLO, G., R. IMPERATORE, L. PALOMBA (2016): Orexin-A represses satiety-inducing POMC neurons and contributes to obesity via stimulation of endocannabinoid signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 113:4759–4764
78. MORENA, M., S. PATEL, J. S. BAINS (2016): Neurobiological interactions between stress and the endocannabinoid system. *Neuropsychopharmacology* 41:80
79. MORENO-SANZ, G. (2016): Can you pass the acid test? Critical review and novel therapeutic perspectives of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinolic acid A. *Cannabis Cannabinoid Res* 1(1):124–130
80. MUNIYAPPA, R., S. SABLE, R. OUWEKERK (2013): Metabolic effects of chronic cannabis smoking. *Diabetes Care* 36:2415–2422

81. NADAL, X., C. DEL RÍO, S. CASANO (2017): Tetrahydrocannabinolic acid is a potent PPAR $\gamma$  agonist with neuroprotective activity. *Br J Pharmacol* 174:4263–4276
82. NDONG, C., D. O'DONNELL, S. AHMAD (2011): Cloning and pharmacological characterization of the dog cannabinoid CB2 receptor. *Eur J Pharmacol* 669:24–31
83. NIEDERHOFFER, N., B. SZABO (1999): Effect of the cannabinoid receptor agonist WIN55212-2 on sympathetic cardiovascular regulation. *Br J Pharmacol* 126(2):457–466
84. NIEDERHOFFER, N., B. SZABO (2000): Cannabinoids cause central sympathoexcitation and bradycardia in rabbits. *J Pharmacol Exp Ther* 294(2):707–713
85. NISSEN, L., A. ZATTA, I. STEFANINI (2010): Characterization and antimicrobial activity of essential oils of industrial hemp varieties (*Cannabis sativa* L.). *Fitoterapia* 81:413–419
86. OTTANI, A., S. LEONE, M. SANDRINI (2006): The analgesic activity of paracetamol is prevented by the blockade of cannabinoid CB1 receptors. *Eur J Pharmacol* 531:280–281
87. PARRAY, H. A., J. W. YUN (2016): Cannabidiol promotes browning in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Cell Biochem* 416:131–139
88. PATEL, S., P. J. KINGSLEY, K. MACKIE (2009): Repeated homotypic stress elevates 2-arachidonoylglycerol levels and enhances short-term endocannabinoid signaling at inhibitory synapses in basolateral amygdala. *Neuropsychopharmacology* 34:2699
89. PERTWEE, R. G. (2000): Cannabinoid receptor ligands: clinical and neuropharmacological considerations, relevant to future drug discovery and development. *Exp Opin Invest Drugs* 9:1553–1571
90. PERTWEE, R. G. (2001): Cannabinoid receptors and pain. *Prog Neurobiol* 63:569–611PubMed
91. PERTWEE, R. G. (2008): The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids:  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabivarin. *Br J Pharmacol* 153:199–215PubMed
92. PERTWEE, R. G. (2014): Handbook of Cannabis, <https://www.biblio.com/book/handbook-cannabis-roger-pertwee>

93. PIRONE, A., C. LENZI, A. COLI (2015): Preferential epithelial expression of type-1 cannabinoid receptor (CB1R) in the developing canine embryo. *Springerplus* 4:804
94. POLLAN, M. (2001): The botany of desire: a plant's-eye view of the world. In: How to change your mind: what the new science of psychedelics teaches us about consciousness, dying, addiction, depression, and transcendence. Random house trade paperbacks
95. PRATES ONG, T., M. TESTONI CARDOZO, A. DE CONTI (2012): Chemoprevention of hepatocarcinogenesis with dietary isoprenic derivatives: cellular and molecular aspects. *Curr Cancer Drug Targets* 12:1173–1190
96. RADWAN, M. M., M. A. ELSOHLI, D. SLADE(2008): Non-cannabinoid constituents from a high potency Cannabis sativa variety. *Phytochemistry* 69(14):2627–2633
97. RAO, V., A. MENEZES, G. VIANA (1990): Effect of myrcene on nociception in mice. *J Pharm Pharmacol* 42:877–878
98. REDDY, A. T., S. P. LAKSHMI, R. C. REDDY(2012): Murine model of allergen induced asthma. *J Visual Exp, JoVE* Google Scholar
100. RIBEIRO, A. (2015): Cannabidiol improves lung function and inflammation in mice submitted to LPS-induced acute lung injury. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 37:35–41
101. RIEDEL, G., P. FADDA, S. MCKILLOP-SMITH (2009): Synthetic and plant-derived cannabinoid receptor antagonists show hypophagic properties in fasted and non-fasted mice. *Br J Pharmacol* 156:1154–1166
102. ROCK, E. M., L. A. PARKER (2013): Effect of low doses of cannabidiolic acid and ondansetron on LiCl-induced conditioned gaping (a model of nausea-induced behaviour) in rats. *Br J Pharmacol* 169:685–692
103. ROCK, E., R. KOPSTICK, C. LIMEBEER (2013): Tetrahydrocannabinolic acid reduces nausea-induced conditioned gaping in rats and vomiting in *Suncus murinus*. *Br J Pharmacol* 170:641–648
104. ROCK, E. M. (2014): A comparison of cannabidiolic acid with other treatments for anticipatory nausea using a rat model of contextually elicited conditioned gaping. *Psychopharmacology* 231:3207–3215

105. ROEHRS, T., T. ROTH (2017): Medication and substance abuse. In: Principles and practice of sleep medicine, 6th edn. Elsevier, Philadelphia, pp 1380–1389.e1384
106. ROGERIO, A. P., E. L. ANDRADE, D. F. LEITE (2009): Preventive and therapeutic anti-inflammatory properties of the sesquiterpene  $\alpha$ -humulene in experimental airways allergic inflammation. *Br J Pharmacol* 158:1074–1087
107. ROMANO, B., F. BORRELLI, E. PAGANO (2014): Inhibition of colon carcinogenesis by a standardized Cannabis sativa extract with high content of cannabidiol. *Phytomedicine* 21:631–639
108. RUFINO, A. T., M. RIBEIRO, C. SOUSA (2015): Evaluation of the anti-inflammatory, anti-catabolic and pro-anabolic effects of E-caryophyllene, myrcene and limonene in a cell model of osteoarthritis. *Eur J Pharmacol* 750:141–150
109. RUSSO, E. B. (2011): Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *Br J Pharmacol* 163:1344–1364
110. RUSSO, E. B. (2016a): Beyond cannabis: plants and the endocannabinoid system. *Trends Pharmacol Sci* 37:594–605
111. RUSSO, E. B. (2016b): Clinical endocannabinoid deficiency reconsidered: Current research supports the theory in migraine, fibromyalgia, irritable bowel, and other treatment-resistant syndromes. *Cannabis Cannabinoid Res* 1:154–165
112. RUSSO, E. B., T. ETGES, C. STOTT (2011): Sativex safety profile is improving over time. International Cannabinoid Research Society, St Charles, pp 1122–1131
113. SAITO, V. M., R. M. REZENDE, A. L. TEIXEIRA (2012): Cannabinoid modulation of neuroinflammatory disorders. *Curr Neuropharmacol* 10:159–166
114. SALIBA, S. W., A. R. MARCOTEQUI, E. FORTWÄNGLER (2017): AM404, paracetamol metabolite, prevents prostaglandin synthesis in activated microglia by inhibiting COX activity. *J Neuroinflammation* 14:246
115. SATSU, H., T. MATSUDA, T. TOSHIMITSU (2004): Regulation of interleukin-8 secretion in human intestinal epithelial Caco-2 cells by  $\alpha$ -humulene. *Biofactors* 21:137–139

116. SCHMITT, S., U. F. SCHAEFER, L. DOEBLER (2009): Cooperative interaction of monoterpenes and phenylpropanoids on the in vitro human skin permeation of complex composed essential oils. *Planta Med* 75:1381–1385
117. SCIALDONE, M. A. (2017): U.S. Patent Application No. 15/613,633
118. SELLERS, E. M., K. SCHOEDEL, C. BARTLETT (2013): A multiple-dose, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group QT/QTc study to evaluate the electrophysiologic effects of THC/CBD spray. *Clin Pharmacol Drug Dev* 2(3):285–294
119. SHARAFI, G., H. HE, M. NIKFARJAM (2019): Potential use of cannabinoids for the treatment of pancreatic cancer, *Journal of Pancreatic Cancer* 5:1, 1–7, DOI: 10.1089/pancan.2018.0019.
120. SILVER, R., DVM, MS, CVA (2016): Cannabis and Cancer, Wild West Veterinary Conference, Rx Vitamins for Pets
121. SILVER, R., DVM, MS, CVA (2017): What every veterinarian needs to know, Wild West Veterinary Conference, Rx Vitamins for Pets, (/members/cms/project/defaultadv1.aspx?pld=19026&authorId=71291)
122. SILVESTRI, C., D. PARIS, A. MARTELLA (2015): Two non-psychoactive cannabinoids reduce intracellular lipid levels and inhibit hepatosteatosis. *J Hepatol* 62(6):1382–1390
123. SMITH, D. R., C. STANLEY, T. FOSS (2017): Rare genetic variants in the endocannabinoid system genes CNR1 and DAGLA are associated with neurological phenotypes in humans. *PLoS One* 12:e0187926
124. STANLEY, C. P., W. H. HIND, S. E. O'SULLIVAN (2013): Is the cardiovascular system a therapeutic target for cannabidiol? *Br J Clin Pharmacol* 75:313–322
125. TAKEDA, S., K. MISAWA, I. YAMAMOTO (2008): Cannabidiolic acid as a selective cyclooxygenase-2 inhibitory component in cannabis. *Drug Metab Dispos* 36:1917–1921
126. TASHKIN, D. P., B. J. SHAPIRO, I. M. FRANK (1974): Acute effects of smoked marijuana and oral  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol on specific airway conductance in asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis* 109:420–428

127. TISHCLER, J. (2018): Microdosing for the medical market: Why who and how. Paper presented at the Institute for Cannabis Research, Colorado State University, Pueblo, April 27–28 2018
128. TORRES, S., M. LORENTE, F. RODRÍGUEZ-FORNÉS (2011): A Combined Preclinical Therapy of Cannabinoids and Temozolomide against Glioma, *Mol Cancer Ther* January 2011 (10) (1) 90-103; DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0688
129. TRUMBLY, B. (1990): Double-blind clinical study of cannabidiol as a secondary anticonvulsant. In: Presented at Marijuana '90 international Conference on Cannabis and Cannabinoids, Kolympari (Crete) Google Scholar
130. ULBRICHT, C. (2011): Focus: Diabetes. *J Diet Suppl* 8:239–256
131. VACCANI, A., P. MASSI, A. COLOMBO (2005): Cannabidiol inhibits human glioma cell migration through a cannabinoid receptor-independent mechanism. *Br J Pharmacol* 144:1032–1036
132. VAN DER STELT, M., W. VELDHUIS, P. BÄR (2001): Neuroprotection by  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol, the main active compound in marijuana, against ouabain-induced in vivo excitotoxicity. *J Neurosci* 21:6475–6479
133. VELASCO, G. (2016): “Anticancer mechanisms of cannabinoids.” *Current oncology* (Toronto, Ont.) vol. 23,2 : S23-32. doi:10.3747/co.23.3080
134. VERESS, T., J. SZANTO, L. LEISZTNER (1990): Determination of cannabinoid acids by high-performance liquid chromatography of their neutral derivatives formed by thermal decarboxylation: I. Study of the decarboxylation process in open reactors. *J Chromatogr A* 520:339–347
135. WAGNER, J. A., K. VARGA, G. KUNOS (1998): Cardiovascular actions of cannabinoids and their generation during shock. *J Mol Med* 76(12):824–836
136. WARGENT, E., M. S. ZAIBI, C. SILVESTRI (2013): The cannabinoid  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabivarin (THCV) ameliorates insulin sensitivity in two mouse models of obesity. *Nutr Diabetes* 3:e68

137. WEISS, L., M. ZEIRA, S. REICH, M. HAR-NOY, R. MECHOULAM, S. SLAVIN, R. GALLILY (2006): Cannabidiol lowers incidence of diabetes in non-obese diabetic mice, *Autoimmunity*, 143-151128.

138. Zakon o izmjenama i dopunama zakona o suzbijanju zlouporabe droga, Narodne novine, broj 18/12, 57/16 i 39/19

139. ZUARDI, A. W., R. A. COSME, F. G. GRAEFF (1993): Effects of ipsapirone and cannabidiol on human experimental anxiety. *J Psychopharmacol* 7(1 Suppl):82–88



## 8. SAŽETAK

Veterinarska medicina još nije dostigla napredak u odnosu na humanu medicinu, u vidu broja dostupnih objektivnih i nepristranih znanstvenih dokaza za uporabu medicinskog kanabisa. To je dijelom, zbog činjenice što legalizirajuća tijela ne predviđaju jednake legalne privilegije za veterinare kakve liječnici imaju za preporučivanje kanabisa svojim pacijentima, unatoč jasnim dokazima o sigurnosti kanabinoida kod životinja. Ipak, danas postoji nekoliko sveučilišnih, prospektivnih, dvostruko-slijepih, placebo-kontroliranih i nasumičnih kliničkih studija koje su ispitale sigurnost i farmakokinetiku CBD-a izoliranog iz konoplje, u terapiji osteoartritisa i epilepsije, te postoji dostatan broj dokaza koji podupiru uporabu kanabisa kod veterinarskih pacijenata sa karcinomom. Zbog gotovo univerzalne distribucije ECS-a u svih kralježnjaka i kod mnogih beskralježnjaka, iste ili slične dobrobiti kanabinoida dokazane kod ljudi, također se mogu očekivati kod većine životinja. Liječenje kanabinoidima je vrlo specifično zato što još uvijek nisu definirane službene smjernice za njegovu uporabu, stoga je potrebno pomno praćenje pacijenata. Primijećene koristi od uporabe kanabisa uključuju: smanjenje anksioznosti, olakšanje boli, poboljšanje mobilnosti u životinja s osteoartritisom, smanjenje veličine tumora, poboljšanje apetita, poboljšana kontrola dijabetesa tipa 2 i ublažavanje gastrointestinalnih poremećaja, upalnih stanja, te bolja kontrola epileptičnih napadaja. Ove koristi nisu univerzalne, i uspješni tretmani se temelje na doziranju obzirom na vrstu i težinu stanja, brzini metabolizma i čimbenicima povezanim s biokemijskom raznolikošću, gustoćom i raspodjelom ECS-a među članovima iste vrste. Veterinari, veterinarski istraživači i skrbnici životinja koji nemaju predrasude i prihvaćaju terapiju na bazi kanabisa, željno traže dokaze koji bi podržali sigurnu i učinkovitu primjenu kanabinoida za njihove ljubimce ili pacijente, te je nužno bolje razumjeti ovu fascinantnu i emergentnu vrstu terapije. Shvaćanjem njenog principa djelovanja, uspješnije se mogu određivati kanabinoidne terapije i formulirati učinkovitiji kanabinoidni lijekovi.

**Ključne riječi:** ECS, medicinski kanabis, konoplja, kanabinoidi, farmakokinetika, sigurnost, učinkovitost, emergentna terapija, veterinarska istraživanja

## **9. SUMMARY**

### **MEDICAL MARIJUANA IN VETERINARY MEDICINE**

Veterinary medicine hasn't reached the same advances in comparison to human medicine in terms of objective and unbiased scientific evidence available for the use of medical cannabis. This is in part, due to the fact, that the legalizing bodies do not provide the same legal privileges for veterinarians as doctors have for recommending cannabis to their human patients, despite sufficient evidence of proven safety of cannabinoids for veterinary patients. Nevertheless, today, there are several university, prospective, double-blinded, placebo-controlled, and randomized clinical studies that have examined the safety and pharmacokinetics of CBD isolated from hemp and the efficacy of hemp oil extract in the treatment of osteoarthritis and epilepsy, as well as there are sufficient data supporting cannabis use in veterinary cancer patients. Due to the almost universal distribution of ECS in all vertebrates, and in many invertebrates, the same or similar capabilities of cannabinoids proven in humans can also be applied in most veterinary species. Cannabinoid treatment is very specific, as no formal guidance for its use and dosages have been defined yet, so close monitoring of patients is required. Cannabis has been observed to help with: reducing anxiety, facilitating increased mobility in animals with osteoarthritis, reducing tumor size, increasing appetite, improving control of type 2 diabetes and alleviating GI disorders, inflammatory conditions, and better control of seizures. These results were not universal, and successful treatments were based on dosages with respect to type and severity of the condition, metabolic rate, factors including biochemical diversity, density and distribution of ECS among the members of the same species. Veterinarians, veterinary researchers and caregivers that are open minded and receptive of cannabis-based therapies, are eager to find scientific evidence of safety and efficiency of cannabinoid therapies for their pets or patients, so it is an imperative to better research this fascinating and extraordinary new therapy and by understanding its principle of action to more successfully prescribe cannabinoid therapies and formulate more efficient cannabinoid drugs.

**Keywords:** ECS, medical cannabis, hemp, cannabinoids, pharmacokinetics, safety, efficiency, new therapy, veterinary research

## 10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 10. studenoga 1993. godine u Splitu. Godine 2012. završila sam Drugu jezičnu gimnaziju u Splitu i iste godine upisala Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Godine 2019. diplomiram na Fitnes učilištu u Splitu. Tijekom studija volontirala sam u stacionaru za ranjenike skloništa za napuštene životinje Noina Arka. Također, 2017. godine uz odobrenje dekana i predstojnice zavoda te uz pomoć kolegice Mirne Mišetić, kravu Milavu sa Zavoda za internu medicinu, nakon 10 odsluženih godina u obrazovanju studenata, uspješno udomljam u utočište za farmske životinje Plavi Križ u Vrbovcu gdje i danas živi. Uz oca liječnika internistu naučila sam puno o medicini, principima liječenja i poštovanju života. Zajedno s obitelji skrbim o velikom broju udomljenih i spašenih životinja, bavim se sportom i radim kao instruktor fitnesa u Splitu.