Překlad článku publikovaného autory: Rudolf Likar, Markus Köstenberger, Stefan Neuwersch-Sommeregger, a Gerhard Nahler, publikovaném v časopise Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Research.

**Experimentální studie a první retrospektivní klinická data naznačující přínos kanabidiolu (CBD) při onemocnění COVID-19**

***SARS-CoV-2 poškozuje lidské buňky a orgány mnoha mechanismy. Předklinické studie překvapivě ukázaly, že kanabidiol (CBD) může mnoha způsoby interagovat se vstupem viru a buněčným stresem na jedné straně a se zánětlivými mechanismy ovlivňujícími plíce a další orgány na straně druhé. Řada velmi nedávných studií in vitro a in silico ukazuje, že CBD může být schopno ovlivnit vysoký počet různých proteinů, které se podílejí na procesu infekce, mezi nimi například glukózou regulovaný protein 78, hemoxygenáza 1 (HO1), virus specifická proteáza SARS-CoV-2 Mpro a apelin. Řada studií na zvířatech dále nezávisle na sobě potvrdila protizánětlivé a orgánově ochranné vlastnosti CBD. Vzhledem k tomu, že dosud není známa žádná optimální léčba, byla do standardní terapie COVID-19 jako doplňkového protizánětlivého léčiva zahrnuta vysoce purifikovaná magisteriální fyto-CBD. Retrospektivní analýza údajů o 30 pacientech hospitalizovaných pro COVID-19, kteří dostávali adjuvantní nízkou dávku CBD (až 300 mg / den), ukazuje výraznější snížení virové zátěže, normalizaci počtu lymfocytů a dalších abnormálních laboratorních parametrů do neshodné skupiny pacientů, kteří nedostávali CBD.***

Virus SARS-CoV-2 přes dostupnost vakcín nikdy nezmizí. Mutace způsobují varianty viru, které mohou mít vliv na mechanismy infekce a na účinnost vakcín. Proto je pokračující výzkum účinné a dobře snášené léčby jako doplňkové strategie povinný. Od začátku roku 2020 bylo pro COVID-19 obnoveno velké množství léků a kombinací. Zaměřují se na velmi odlišné mechanismy související s infekčním procesem a / nebo s vrozenou reakcí lidského organismu. Mnoho věděckých článků také argumentuje o možné roli kanabidiolu (CBD) a dalších kanabinoidů při infekci SARS-CoV-2, ale potenciální inhibiční účinky CBD na vstup viru a buněčný stres nebyly - podle našich nejlepších znalostí - nikdy shrnuto. Kromě toho dosud nebyly zveřejněny žádné výsledky léčby, a to navzdory tomu, že fyto-CBD farmaceutické kvality obdrželo rozhodnutí o registraci ve Spojených státech již v červnu 2018 a v Evropském společenství v září 2019. Kromě toho je CBD po mnoho let volně dostupné pro lékařský předpis v Rakousku a Německu; v některých případech je hrazena také ze sociálního pojištění. Na základě preklinických studií, které jsou stručně shrnuty níže, byla ke standardní léčbě pacientů trpících COVID-19 přidána vysoce purifikovaná magisteriální fyto-CBD. Pozorování byla porovnána nepřímo s kohortou pacientů, kteří nedostávali CBD.

**Potenciální přínosy CBD**

Kanabidiol (CBD) může interferovat s útokem SARS-CoV-2 na hostitelské buňky několika mechanismy. Primárním cílem SARS CoV-2 je membránově vázaný receptor 2 angiotensin konvertujícího enzymu (ACE2), přičemž spike protein (S) funguje jako „otvírák dveří“. ACE2 je exprimován většinou typů buněk, i když s různou hustotou. **Nedávno bylo prokázáno, že 13 z 22 extraktů z konopí s vysokým obsahem CBD down-reguluje expresi receptoru ACE2 a hladinu proteinu ACE2 v umělých 3D modelech orálních, dýchacích a intestinálních lidských tkání. Teoreticky by to omezilo vstup viru SARS-CoV-2 a progresi onemocnění.** Čistá CBD bohužel nebyla do této studie zahrnuta a k účinkům mohly přispět i jiné fyto-sloučeniny. Spolu lokalizovaný s ACE2 je další enzym, membránově vázaná transmembránová proteáza serin subtypu 2 (TMPRSS2), o níž je známo, že aktivuje in vitro a in vivo širokou škálu virů, jako jsou chřipkové a koronové viry, včetně SARS-CoV-2 [2] . Tento enzym se nachází specificky v buňkách sekrečního epitelu dýchacích cest a štěpí (připravuje) špičkový protein SARS-CoV-2, což usnadňuje fúzi s hostitelskou buňkou. Protože extrakty s vysokým obsahem CBD ve studii zmíněné výše inhibovaly také TMPRSS2, může to dále snížit invazi viru. Kromě TMPRSS2 může SARS-CoV-2 využívat k primování také jiné proteázy, zejména katepsin B a L (CatB / L) a furin. Jelikož množství mechanismů štěpení zvyšuje účinnost infekce SARS-CoV-2, současná inhibice proteáz používaných virem by zvýšila účinnost blokády buněčné invaze.

Po připojení k receptorům dochází v dalším kroku k fúzi s membránou hostitelské buňky; další absorpce viru je zprostředkována endocytózou. Další protein, o kterém se předpokládá, že bude působit jako ko-receptor pro usnadnění vazby SARS-CoV-2 na hostitelskou buňku, je protein regulovaný glukózou 78 (GRP78). GRP78 je vysoce konzervovaný protein, který se obvykle nachází uvnitř buňky, kde řídí správné skládání proteinů. Za stresových podmínek, jako je množení virů, je exprese GRP78 značně zvýšena a GRP78 je aktivně translokován z endoplazmatického retikula (ER) na povrch buňky, kde působí jako ko-receptor pro spike protein. Bylo skutečně zjištěno, že hladiny GRP78 byly významně zvýšeny u pacientů s COVID-19. V in vitro modelu neuronální toxicity indukované kadmiem (Cd) nízká koncentrace CBD (1 µM) významně zabránila zvýšení GRP78 a stresu ER. Snížená exprese GRP78 také snižuje jeho translokaci na buněčnou membránu a dostupnost co-receptoru. Další protein potenciálně cílený CBD je virově specifická proteáza SARS-CoV-2 Mpro (také známá jako nsp5 nebo 3CLpro, která štěpí kontinuální virový polypeptid a generuje nestrukturální proteiny. Na základě in silico a in vitro molekulárních dokovacích studií to bylo zjištěno, že CBD stejně jako další kanabinoidy se silně váží na SARS-CoV-2 Mpro, což vede ke stabilní konformaci.

**V této studii byla CBD nejúčinnější z pěti fyto-kanabinoidů (kanabidiol, kyselina kanabidiolová, delta-9-tetrahydrokanabinol, delta 9-tetrahydrokanabinolová kyselina, kanabinol) a ještě účinnější než referenční léky lopinavir, chlorochin a remdesivir.** Je zajímavé, že CBD se může vázat také na protein špice, jak bylo prokázáno v nedávné studii in silico. Dalším peptidem, který pravděpodobně hraje více než jen jednu roli v časné infekci, je apelin. Apelin je přírodní, všudypřítomný protizánětlivý peptid s vazodilatačními a pozitivními inotropními účinky; interferuje s ACE2. Při virové infekci klesá hladina apelinu. CBD (5 mg ip / kg živé hmotnosti, každý druhý den po dobu tří injekcí), téměř normalizované hladiny apelinu u myšího modelu, kde byl syndrom akutní respirační tísně (ARDS) indukován intranasálním podáním polyinosinové látky: kyseliny polycytidylové, syntetického analogu pletená RNA. Souběžně to snížilo také příznaky ARDS.

Protože apelin slouží jako substrát pro ACE2, může soutěžit s vazbou virů. Posledním krokem v životním cyklu CoV je vylučování viru. Viry mohou proniknout do infikovaných buněk mnoha způsoby; pro SARS-CoV-2 byl nedávno navržen nekonvenční mechanismus prostřednictvím lysozomálních vezikul. V současné době však není známo, zda to představuje jediný a výlučný mechanismus, či nikoli. Proto stojí za zmínku, že ve dvou různých modelech, bakteriálních a rakovinových buňkách [12,13], byla CBD schopna inhibovat uvolňování exosomů a mikrovezikul in vitro. Další kanabinoid, blízce příbuzný delta-9-tetrahydrokanabinol (THC), snižoval ve farmakologické dávce 0,18 mg / kg extracelulární vezikuly v krvi makaků infikovaných virem opičího opičení (SIV). Dále byla u pacientů infikovaných HIV s vysokou konzumací konopí pozorována snížená plazmatická virová zátěž HIV-1 RNA. Vezmeme-li všechna tato pozorování dohromady, lze spekulovat, že CBD může mít vliv na tvorbu lysosomů naplněných viry a / nebo na uvolňování extracelulárních vezikul, i když je stále třeba je zkoumat. Je třeba si uvědomit, že CBD je vysoce lipofilní látka, která interferuje s celou řadou membránově vázaných receptorů, iontových kanálů a dalších cílů. A konečně, lymfopenie, zejména T-lymfocytů, je dobře známou charakteristikou COVID-19. Jelikož přirozené zabíječské buňky hrají důležitou roli v imunitní odpovědi na virové infekce, je zvláště pozoruhodné pozorování, že nízké dávky 2,5 mg CBD i.p. / kg způsobily významné zvýšení celkového počtu NK- a NKT-buněk u potkanů.

**CBD jako účinná ochrana buněk a orgánů proti SARS-CoV-2 způsobeným škodám In Vivo**

Jakmile virus unesl buňku, virová RNA se uvolní do cytoplazmy; začíná transkripce a replikace, přičemž virus využívá značně strojní zařízení hostitele pro syntézu a sestavování virových proteinů. Jak již bylo zmíněno, infekce způsobuje oxidační stres endoplazmatického retikula (ER), místa syntézy proteinů. CBD významně zabránila stresu ER a zvýšení GRP78 v modelu in vitro. Oxidačním stresem je také indukována hemoxygenáza 1 (HO1), cytoprotektivní enzym regulovaný nukleárním transkripčním faktorem Nrf2, jehož CBD je nepřímým agonistou cestou gama (PPARy) receptoru aktivovaného proliferátorem peroxisomu. HO1 degraduje hem, vytváří biliverdin / bilirubin, železo / feritin a oxid uhelnatý. Hraje rozhodující roli v prevenci vaskulárního zánětu a přežití endoteliálních buněk. CBD (6 a 10 µM) zvyšuje in vitro Nrf2 a expresi HO1, a proto zmírňuje tvorbu feritinu. Infekce viry nebo bakteriemi indukují produkci vysoce reaktivních forem kyslíku (ROS) v mitochondriích. Ve výsledku se tvoří lipidové a proteinové peroxidové produkty, které vyvolávají silnou zánětlivou reakci, která může skončit syndromem uvolnění cytokinů (CRS), nazývaným také „cytokinová bouře“, a to i při absenci (další) virové replikace. CBD v nízkých až středních koncentracích prokázal protizánětlivé a imunomodulační vlastnosti u mnoha modelů, jak bylo nedávno přezkoumáno. Je cytoprotektivní, snižuje oxidační stres buněk působením ROS a chrání před syndromem uvolnění cytokinů (CRS), přičemž CBD působí jako antioxidant prostřednictvím enzymatických i neenzymatických mechanismů (jako lapač radikálů). Stimuluje na jedné straně transkripci cytoprotektivních proteinů aktivací, i když slabě, nukleárního faktoru Nrf2, a na druhé straně reguluje transkripci prozánětlivých cytokinů inhibicí NFκB. V důsledku toho to snižuje uvolňování zánětlivých cytokinů, jako je IL-6, TNFa a IFNy, a také uvolňování LDH, které je markerem poškození buněk.

**…..**

Endokanabinoidní systém (ECS) také hraje roli v imunitně patogenní reakci na virové infekce. Když byly myši infikovány respiračním syncyciálním virem (RSV), bylo pozorováno, že infekce dýchacích cest významně vyvolala expresi receptorů CB1 v plicních buňkách. Aktivace receptorů CB1 s JZL184, selektivním nepřímým agonistou, snížila příliv imunitních buněk a produkci cytokinů / chemokinů a zmírnila poškození plic [22]. V jiném zvířecím modelu, modelu „poranění jednoho plic“, inhibice amidhydrolázy mastných kyselin (FAAH) oslabila poškození plic a zlepšila ventilaci [23]. Interference CBD s FAAH nepřímo zvyšuje hladiny anandamidu (AEA), agonisty CB1, který může mít ochranné účinky proti poškození plic. Tento terapeutický potenciál zánětu dýchacích cest CBD byl nedávno přezkoumán [24]. Když byla u myší indukována ARDS intranazální aplikací syntetické RNA, snížila nízká dávka CBD (5 mg / kg ip, každý druhý den, celkem tři dávky) hladinu prozánětlivých cytokinů a zlepšila klinické příznaky ARDS [ 21]. V jiných myších modelech poškození plic CBD (20 mg i.p. / kg) snížilo akutní plicní zánět vyvolaný lipopolysacharidem (LPS) [25,26]. A konečně u myšího modelu alergického astmatu vyvolaného ovalbuminem CBD (5 nebo 10 mg i.p./kg) zlepšilo mechaniku plic a snížilo obsah kolagenových vláken v dýchacích cestách, stejně jako zánětlivé a remodelační procesy [27,28]. Obzvláště zranitelnou skupinou jsou pacienti s plicní arteriální hypertenzí. Ačkoli je to u COVID-19 neobvyklé, stojí za zmínku, že CBD (10 mg / kg / den) dokázala snížit plicní arteriální hypertenzi vyvolanou monokrotalinem u dvou zvířecích modelů. Protože poškození plic v COVID-19 může být zvýšeno hypoxickým ischemickým poškozením mozku, mají další důležitost vlastnosti CBD chránící mozek.

**CBD redukující nervové záněty**

Mezitím bylo opakovaně hlášeno, že SARS-CoV-2 vykazuje neurotropismus mozku. Několik zvířecích modelů prokázalo, že CBD může chránit před neurozáněty. CBD (5 mg i.p. / kg) denně od 1. do 7. dne po infekci prokázalo protizánětlivé účinky na virovém modelu roztroušené sklerózy [31]. Ošetření gliových buněk U373 MG nízkými koncentracemi CBD (0,5 uM) může zvýšit sekreci neuroprotektivního neurotropinu (NTF3) a expresi genů růstového faktoru 1- (IGF-1) podobného inzulínu [32]. Kromě toho velké množství modelů hypoxie-ischemie prokázalo, že nízké dávky CBD (mezi 0,1 a 5 mg / kg) významně snížily poškození mozku, poruchy myelinace vyvolané neonatální hypoxií-ischemií, hemodynamické poškození a funkční deficity, i když byla použita CBD hodiny až dny po hypoxické události [33]. Je zajímavé, že hypoxémie mozku, často tichá, se vyskytuje také u COVID-19, což potenciálně vyvolává dlouhodobé následky i po remisi. Kromě toho CBD zmírňuje in vivo široce odlišné formy kardiomyopatií, jak bylo prokázáno na různých zvířecích modelech, včetně ischemických / reperfuzních arytmií, infarktu myokardu, autoimunitní myokarditidy nebo diabetické kardiomyopatie (nedávno přezkoumáno [34,35]). To zahrnuje i myší model kardiotoxicity vyvolané doxorubicinem [36]. U většiny modelů byly použity velmi nízké až střední dávky CBD mezi 0,05 a 10 mg / kg. Stručně řečeno, na základě řady předklinických studií in vitro a in vivo lze očekávat přínos CBD při ochraně orgánů a při omezování progrese a závažnosti COVID-19. Hypoteticky by CBD mohla zmírnit COVID-19 na dvou úrovních, infekci buněk SARS-CoV-2 a ochranu hostitelských buněk a orgánů před stresem a přestřelením („cytokinová bouře“). Na základě toho jsme zahrnuli nízkou dávku adjuvantní CBD do standardní léčby COVID-19 v naší nemocnici, kde se magisterská CBD běžně používá již mnoho let, za řady podmínek a v souladu s příslušnými předpisy.

**Metoda**

Během druhé vlny pandemie v Rakousku, mezi zářím a listopadem 2020, byli pacienti do naší nemocnice odesíláni ošetřujícími lékaři. Při přijetí byla diagnóza infekce SARS-CoV-2 respektive COVID-19 potvrzena reverzní transkriptázou v reálném čase –Polymerázová řetězová reakce (RT PCR), CT nebo rentgenové zobrazování a zahrnovala také rutinní laboratorní testy. U většiny PCR testů byla k dispozici také prahová hodnota cyklu (ct). Pacienti dostávali okamžitě kyslík podle potřeby a standardní léčbu skládající se z dexamethasonu 6 mg / d po dobu 10 dnů, zinku-orotátu 40 mg / d a vitaminu C, 500 mg / d po dobu jejich pobytu v nemocnici. Pacienti, kteří byli vážně nemocní a potřebovali intubaci, nebyli schopni polykat nebo spolupracovat, byli vyloučeni. CBD byl podáván orálně jako podpůrná protizánětlivá léčba, počínaje dvakrát 100 mg CBD / den během prvního týdne, následovanou dávkou 300 mg / den po další dva týdny. Tobolky, každá obsahující 100 mg, byly připraveny v místní lékárně. Omezené množství CBD (magisteriální fyto-CBD, čistota> 99,8%) poskytla zdarma společnost Trigal Pharma GmbH, Vídeň, Rakousko. Při propuštění dostávali pacienti po zbývající dobu alikvotní část kapslí CBD. Místní etická komise souhlasila s použitím CBD. Další léčba včetně antibiotik byla podávána podle potřeby. Pacienti také nadále užívali obvyklé léky v případě souběžných poruch. Do analýzy byli zahrnuti všichni pacienti s laboratorním výsledkem před propuštěním a alespoň jedním dalším výsledkem testu při přijetí. Hodnocení bylo retrospektivně; kohorta 30 pacientů, kteří dostávali CBD, byla srovnávána s 24 pacienty, kteří dostávali stejnou standardní péči kromě CBD jako bezkonkurenční kontrolní skupina. Žádný z pacientů neměl v anamnéze očkování proti SARS-CoV-2.

**Výsledky**

Skupina s CBD byla mladší (průměrný věk 65,6 roku oproti 79,5 roku) a procento mužů bylo vyšší (57% vs. 42%). Komorbidity byly časté (skupina CBD: 50% oproti 79% u kontrolních pacientů); arteriální hypertenze byla nejčastější doprovodnou poruchou s 66,7%, respektive 68,4%. Pohlaví a věk jsou široce přijímanými rizikovými faktory pro průběh léčby přípravkem COVID-19, přičemž ženská pohlaví a mladší věk upřednostňují lepší prognózu. Průměrné trvání mezi nástupem onemocnění a hospitalizací bylo srovnatelné (6,6 oproti 6,9 dnům), stejně jako doba hospitalizace (8,7 vs. 9,0 dnů). Mezi laboratorními parametry, které byly opakovaně uváděny jako markery pro COVID-19, byl analyzován počet lymfocytů, hladina laktátdehydrogenázy (LDH), C-reaktivního proteinu (CRP), feritinu a interleukinu 6 (IL-6). užší, protože mohou odrážet hypotetický mechanismus CBD. Výsledky jsou shrnuty níže (tabulka 2) a jsou uvedeny jako počet pacientů s abnormální hodnotou příslušného parametru při přijetí a normální výsledek testu při propuštění z celkového počtu pacientů s hodnotami dostupnými pro analýzu. Jak je vidět, největší rozdíly se týkají snížení infekčnosti (hodnota ct, 88,5% vs. 52,2%), normalizace počtu lymfocytů (76,5% vs. 31,3%), hodnoty CRP (18,5% vs. 0 %), LDH (30,8% vs. 0%) a feritin (17,6% vs. 0%). To naznačuje zvýšenou clearance viru, i když výsledky je třeba vidět s opatrností kvůli retrospektivnímu hodnocení, nízkému počtu pacientů a heterogenitě skupin. Při současném užívání CBD se neobjevily žádné nežádoucí účinky. Stručně řečeno, řada předklinických údajů naznačuje, že CBD může mít široké spektrum prospěšných vlastností v boji proti infekcím SARS-CoV-2 tím, že bude interferovat s připojením virů SARS, sníží intracelulární stres, zvýší počet lymfocytů a zmírní zánět. . Předběžná pozorování u pacientů s COVID-19 by nakonec mohla podpořit experimentální výsledky. Naše údaje o pacientech infikovaných SARS-CoV-2 jsou však stále velmi omezené a z mnoha důvodů je nutné je interpretovat opatrně. Pro přesvědčivou demonstraci účinnosti CBD v COVID-19 by byly nutné randomizované kontrolované klinické studie.