

Université de Montréal

L'effet du cannabidiol sur les marqueurs inflammatoires de personnes ayant un trouble de
l'usage de la cocaïne

Par

Florence Morissette

Sciences biomédicales, Faculté de Médecine

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de maîtrise en Sciences biomédicales, option
Sciences psychiatriques

Janvier 2023

Université de Montréal
Unité académique : Faculté de médecine

Ce mémoire intitulé

Effets du cannabidiol sur les marqueurs inflammatoires de personnes ayant un trouble de
l'usage de la cocaïne

Présenté par

Florence Morissette

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Nathalie Grandvaux

Président-rapporteur

Didier Jutras-Aswad

Directeur de recherche

Guillaume Dumas

Membre du jury

Résumé

Problématique: Chaque année, plus de 18 millions de personnes mondialement consomment de la cocaïne. De ces consommateurs, 16% développeront un trouble de l'usage de la cocaïne (TUC). Le TUC est associé à des problèmes physiques, sociaux et psychologiques, représentant un problème majeur de santé publique. Chez les individus ayant un TUC, la consommation excessive et répétée de cocaïne induit un stress oxydatif favorisant une réponse inflammatoire systémique et une neuroinflammation. Le cannabidiol (CBD) a gagné en intérêt pour ses propriétés anti-inflammatoires dans les études précliniques ainsi que pour son profil sécuritaire et tolérable. À notre connaissance, une seule étude clinique a évalué les effets du CBD sur trois marqueurs inflammatoires spécifiques. Les propriétés anti-inflammatoires du CBD doivent être confirmées chez l'humain, et notamment chez les personnes avec un trouble lié à l'usage de substances.

Objectifs: L'objectif de cette étude est de déterminer si l'administration de CBD module les concentrations plasmatiques de divers marqueurs inflammatoires comparativement au placebo chez les personnes ayant un TUC.

Méthodologie: Nous avons réalisé une analyse exploratoire des données provenant d'un essai clinique randomisé contrôlé unicentrique dont l'objectif primaire était de déterminer l'effet du CBD sur la rechute et les envies intenses de consommer. 78 participants âgés de 18 à 65 ans et ayant reçu un diagnostic de TUC ont été randomisés (1:1), de manière stratifiée pour le sexe et la sévérité de la dépendance à la cocaïne, au traitement CBD ou placebo. Les participants ont reçu 800 mg/jour de leur traitement attitré pendant 92 jours. Des échantillons sanguins ont été prélevés avant le début du traitement, puis au jour 8, aux semaines 4 et 12. Ces derniers ont été analysés par immunodosage multiplexé pour déterminer les concentrations de diverses cytokines et par cytométrie de flux pour déterminer les phénotypes cellulaires. Des comparaisons entre les groupes ont été effectuées en utilisant des estimations d'équation généralisées (GEE).

Résultats: Les niveaux de facteur de croissance de l'endothélium vasculaire, d'interleukine-6, de monocyte intermédiaire et de cellule tueuse naturelle faiblement cytotoxique étaient significativement inférieurs chez les participants recevant du CBD que chez ceux recevant du

placebo. Comparativement au groupe placebo, les lymphocytes CD25+CD4+T étaient augmentés dans le groupe CBD. Les niveaux de lymphocytes B étaient similaires dans les deux groupes.

Conclusion: Le CBD démontre certaines propriétés anti-inflammatoires chez les personnes avec un TUC. D'autres études seront nécessaires pour répliquer les résultats et pour évaluer les bénéfices cliniques de la diminution des marqueurs inflammatoires par le CBD.

Mots-clés : Cannabidiol, Cocaïne, Troubles liés à la cocaïne, Inflammation, Immunomodulation, Marqueurs inflammatoires, Humains.

Abstract

Issue: More than 18 million people worldwide use cocaine each year. Of these users, 16% will develop cocaine use disorder (CUD). CUD is associated with physical, social and psychological problems, representing a major public health problem. Repeated and excessive cocaine use induces oxidative stress leading to a systemic inflammatory response and neuroinflammation. Cannabidiol (CBD) has gained interest for its anti-inflammatory properties in preclinical studies as well as for its safe and tolerable profile. To our knowledge, only one clinical study has evaluated the effects of CBD on three specific inflammatory markers. The anti-inflammatory properties of CBD need to be confirmed in humans, particularly in people with substance use disorders.

Objectives: The objective of this study is to determine whether CBD administration modulates plasma concentrations of various inflammatory markers compared to placebo in individuals with CUD.

Methodology: We conducted an exploratory analysis of data from a single-center randomized controlled trial whose primary objective was to determine the effect of CBD on relapse and intense cravings. 78 participants aged 18 to 65 years with a CUD diagnosis were randomized (1:1) to CBD treatment or placebo. Randomization was stratified for gender and severity of cocaine dependence. Participants received 800 mg per day of their assigned treatment for 92 days. Blood samples were taken before the start of treatment and then at day 8, week 4 and week 12. These blood samples were analyzed by multiplexed immunoassay for concentrations of various cytokines and by flow cytometry for cellular phenotypes. Comparisons between groups were made using generalized estimating equations (GEE).

Results: Levels of vascular endothelial growth factor, interleukin-6, intermediate monocyte, and low cytotoxic natural killer cell were significantly lower in participants receiving CBD than in those receiving placebo. Compared to the placebo group, CD25+CD4+T lymphocytes were increased in the CBD group. B-cell levels were similar in both groups.

Conclusion: CBD demonstrates some anti-inflammatory properties in people with CUD. Further studies will be needed to replicate the results and to evaluate the clinical benefits of CBD-mediated reduction of inflammatory markers.

Keywords: Cannabidiol, Cocaine, Cocaine-related disorders, Inflammation, Immunomodulation, Inflammatory markers, Humans.

Table des matières

Résumé	3
Abstract.....	5
Table des matières.....	7
Liste des tableaux	10
Liste des figures	11
Liste des sigles et abréviations	12
Remerciements	15
Chapitre 1 – Trouble de l’usage de la cocaïne.....	17
1.1 Définition	17
1.2 Épidémiologie	17
1.3 Conséquences	18
1.3.1 Impact sociétal	18
1.3.2 Comorbidités psychologiques et neurocognitives	19
1.3.3 Comorbidités physiques.....	20
Chapitre 2 – Mécanismes menant à une inflammation systémique dans le TUC.....	29
2.1 Stress oxydatif.....	29
2.1.1 Définition du stress oxydatif	29
2.1.2 Lien entre le stress oxydatif et l’inflammation.....	30
2.1.3 Stress oxydatif entraîné par la cocaïne	31
2.2 Dérégulation de l’axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien.....	33
2.2.1 Rôle de l’axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien	33
2.2.2 Cortisol	34
2.2.3 Activation de l’axe HHS par la cocaïne	36
Chapitre 3 – Mécanismes menant à la neuroinflammation dans le TUC	37
3.1 Dysfonction de la barrière hématoencéphalique	37
3.1.1 Rôle de la barrière hématoencéphalique.....	37
3.1.2 Atteinte des protéines de jonctions serrées	38
3.1.3 Augmentation de l’adhésion et de la migration des leucocytes	39
3.2 Activation des cellules microgliales	39
Chapitre 4 – Inflammation comme cible de traitements pour le trouble de l’usage de la cocaïne	41
Chapitre 5 – Cannabidiol & système endocannabinoïde.....	43
5.1 Mécanisme d’action du cannabidiol	43
5.1.1 Effet du cannabidiol sur le système endocannabinoïde	44
5.1.2 Effet du cannabidiol en dehors du système endocannabinoïde	46
5.2 Effets du cannabidiol sur les marqueurs inflammatoires dans les études précliniques	48
5.3 Effets du cannabidiol sur les marqueurs inflammatoires dans les études cliniques	49
5.4 Sécurité du cannabidiol chez l’humain.....	49

Chapitre 6 – Objectifs & hypothèses	50
6.1 Objectifs.....	50
6.2 Hypothèses	50
Chapitre 7 – Méthodologie	51
7.1 Devis de recherche	51
7.2 Participants	51
7.2.1 Critères d’inclusion.....	51
7.2.2 Critères d’exclusion	51
7.2.3 Recrutement	52
7.2.4 Compensation	52
7.2.5 Éthique	53
7.3 Procédure	53
7.3.1 Randomisation	53
7.3.2 Intervention	53
7.3.3 Mise à l’aveugle.....	54
7.4 Mesures	54
7.4.1 Analyse des cytokines et des phénotypes cellulaires.....	54
7.4.2 Concentrations plasmatiques de CBD	56
7.4.3 Effets secondaires	56
7.5 Analyses statistiques	56
7.5.1 Taille d’échantillon	56
7.5.2 Méthodes statistiques.....	57
Chapitre 8 – Présentation de l’article	59
Participants.....	63
Sample size	63
The sample size for the RCT was calculated based on the primary outcomes as reported elsewhere (Mongeau-Perusse et al., 2021). Full biobanking was done only for the first 48 participants enrolled before September 27, 2018 (CBD, n=24; placebo, n=24) due to funding restrictions.	63
Flow cytometry.....	64
Cytokines measurements.....	65
Statistical analyses.....	65
Chapitre 9 – Discussion	112
9.1 Pertinence de notre étude.....	112
9.2 Validité interne	113
9.2.1 Biais d’observation	113
9.2.2 Biais de sélection.....	113
9.2.3 Facteurs confondants.....	114
9.3 Validité externe.....	115
9.4 Limites	116
9.4.1 Phase exploratoire	116
9.4.2 Analyses multiples.....	116
9.4.3 Taille d’échantillon	117
9.4.4 Consommation de cocaïne et d’autres drogues	117
9.4.5 Dose fixe et unique	118
Chapitre 10 – Pistes de recherches futures & conclusion.....	120
10.1 Effet du CBD sur l’inflammation comme issue primaire	120

10.2 Effet de différentes doses de CBD sur l'inflammation	120
10.3 Effet du CBD sur l'inflammation à long terme	120
10.4 Effet du CBD chez des populations ayant différentes maladies inflammatoires.....	120
Références bibliographiques.....	122

Liste des tableaux

Tableau 1. – Répartition des coûts attribuables à la consommation de cocaïne au Canada en 2017	19
Tableau 2. – Les principales sources et fonctions des cytokines.....	22
Tableau 3. – Les principales sources et fonctions des cellules inflammatoires selon l'expression des clusters de différenciation (CD).....	23
Tableau 4. – L'expression des clusters de différenciation des cellules inflammatoires.....	25

Liste des figures

Figure 1. –	Réponse inflammatoire aux dommages tissulaires.....	30
Figure 2. –	Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.	34
Figure 3. –	Réponse au cortisol en phase de stress aigu et chronique.....	35
Figure 4. –	Effets du cannabidiol sur les principaux récepteurs membranaires.....	44

Liste des sigles et abréviations

A : Récepteur de l'adénosine

ACTH : Hormone adrénocorticotrope (de l'anglais *Adrenocorticotrophine Hormone*)

AEA : Anandamide

2-AG : 2-Arachidonylglycérol

ANCOVA : Analyse de covariance

B : Coefficient d'estimation beta

BHE : Barrière hématoencéphalique

CB1 : Récepteur cannabinoïde 1

CB2 : Récepteur cannabinoïde 2

CBD : Cannabidiol

CD : Cluster de différenciation (de l'anglais *Cluster of differentiation*)

CD4 : Lymphocytes T *helper*

CD8 : Lymphocytes T cytotoxiques

CHUM : Centre Hospitalier de l'Université de Montréal

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

COX : Cyclooxygénases

CRH : Corticolibérine (de l'anglais *Corticotropin-Releasing Hormone*)

CRP : Protéine C-réactive (de l'anglais *C-Reactive Protein*)

DAGL : Diacylglycérole lipase

DAMP : Motifs moléculaires associés aux dégâts (de l'anglais *Damage Associated Molecular Pattern*)

Dim : diminué

DSM : Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux

EDTA : Éthylènediaminetétraacétique

ELAM : Molécules d'adhésion des leucocytes endothéliaux (de l'anglais *Endothelial Leucocyte Adhesion Molecule*)

FAAH : Hydrolase des amides d'acides gras (de l'anglais *Fatty Acid Amide Hydrolase*)

GEE : Équations d'estimation généralisées (de l'anglais *Generalized Estimating Equation*)

GSH : Glutathion

5-HT : Récepteur sérotoninergique

HHS : Hypothalamo-hypophyso-surrénalien

Hi : Élevé (de l'anglais *high*)

HLA-DR : antigène leucocytaire humain-DR (de l'anglais *human leukocyte antigen-DR*)

HNPC : Cellules progénitrices neuronales humaines (de l'anglais *Human Neural Progenitor Cells*)

HPLC-ESI-MS/MS : chromatographie liquide à haute performance en phase inverse avec ionisation par électronebulisation et spectrométrie de masse en tandem (de l'anglais *High-Performance Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry*)

IFN : Interféron

ICAM : Molécules d'adhésion intracellulaires (de l'anglais *InterCellular Adhesion Molecule*)

IgD : immunoglobuline delta

IL : Interleukine

JAM : Molécules d'adhésion jonctionnelle (de l'anglais *Junctional Adhesion Molecule*)

LPS : Lipopolysaccharides

MAGL: Monoacylglycérol lipase

MDC : chimiokine dérivée des macrophages (de l'anglais *macrophage derived chemokine*)

MIP : protéine inflammatoire des macrophages-1 β (de l'anglais *macrophage inflammatory protein*)

MSD : *Meso Scale Discovery*

NAPE-PLD : Phospholipase D N-acylphosphatidylethanolamine-specific

Neg : négatif

NF-kB : Facteur de transcription nucléaire kappa B (de l'anglais *Nuclear Factor-kappa B*)

NK : *Natural killer*

NLR : Ratio neutrophile sur lymphocyte (de l'anglais *Neutrophil to Lymphocyte Ratio*)

NO : Oxyde nitrique (de l'anglais *Nitric Oxide*)

NOS : Oxyde nitrique synthase (de l'anglais *Nitric Oxide Synthase*)

PAMP : Motifs moléculaires associés aux pathogènes (de l'anglais *Pathogene Associated Molecular Pattern*)

PBMC : Cellules mononuclées du sang périphérique (de l'anglais *Peripheral Blood Mononuclear Cell*)

PBS : Solution saline tamponnée au phosphate (de l'anglais *Phosphate-Buffered Saline*)

PPAR: Récepteur activé par les proliférateurs de peroxyosomes (de l'anglais *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor*)

RNS : Dérivés réactifs de l'azote (de l'anglais *Reactive Nitrogen Species*)

ROS : Dérivés réactifs de l'oxygène (de l'anglais *Reactive Oxygen Species*)

SAFTEE-GI : *Systematic Assessment for Treatment Emergent Events – General Inquiry*

SNC : Système nerveux central

SOD : Superoxydes dismutases

TE : Taille d'effet

THC : Delta-9-tétrahydrocannabinol

TLR : Récepteurs de type Toll (de l'anglais *Toll-Like Receptors*)

TNF: Facteur de nécrose tumoral (de l'anglais *Tumor Necrosis Factor*)

TRP : Protéine transmembranaire (de l'anglais *Transient Potential Receptor*)

TRPV : Récepteur vanilloïde (de l'anglais *Transient Receptor Potential Vanilloïde*)

TUC : Trouble de l'usage de la cocaïne

VCAM : Molécules d'adhésion des cellules vasculaires (de l'anglais *Vascular Cell Adhesion Molecule*)

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

XAMP : Motifs moléculaires associés aux xénobiotiques (de l'anglais *Xenobiotics Associated Molecular Pattern*)

ZO : Zonula occludens

Remerciements

Je remercie sincèrement mon directeur de recherche, Dr Didier Jutras-Aswad, pour son soutien scientifique exceptionnel et pour ses encouragements continuels à me dépasser. Ce fut un honneur de prendre part aux projets de votre laboratoire.

Je suis très reconnaissante de la contribution scientifique du point de vue immunologique de Paméla Thébault et de Dr Jean-François Cailhier.

Je remercie chaleureusement Léa Gagnon pour son souci du détail. Ses commentaires m'ont toujours permis d'améliorer mes travaux.

Je remercie ma collègue et amie Violaine, pour tous ces échanges de discussion zoom m'ayant permis de clarifier mes idées.

À tous mes collègues et professeurs, je les remercie d'avoir suscité en moi cette curiosité scientifique. Vous côtoyer fut des plus agréables.

Je ne pourrais passer sous silence le support intemporel de mes parents, Isabelle et Érik.

Un merci tout particulier à mes deux compagnons sur quatre pattes, Charbon & Flocon, d'avoir rendu le télétravail plus agréable.

Je ne saurais comment remercier à sa juste valeur mon formidable copain, Jonathan, à qui je dédie ce mémoire pour son appui inconditionnel tant dans les sphères professionnelles que personnelles

Chapitre 1 – Trouble de l’usage de la cocaïne

Le trouble de l’usage de la cocaïne (TUC) est une problématique chronique prévalente mondialement. Le chapitre 1 abordera l’épidémiologie du TUC puis ces conséquences sociétales, psychologiques et physiques, notamment inflammatoires.

1.1 Définition

La 5^e version du manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux (DSM-V) classe le TUC dans la grande section des troubles liés à une substance, sous la section des troubles liés aux stimulants (American Psychiatric Association, 2013). Le DSM-V définit les troubles liés aux stimulants comme étant une consommation inadaptée d’un stimulant engendrant une souffrance cliniquement significative ou une altération du fonctionnement sur une période minimale de 12 mois (American Psychiatric Association, 2013). Au moins deux symptômes sur les 11 énoncés par le DSM-V doivent aussi être présents. Ces symptômes se traduisent par une perte de contrôle, une altération du fonctionnement social, une prise de risques injustifiée ainsi que par un effet physique de tolérance et de sevrage. Selon le nombre de critères présents, le trouble de l’usage peut être classé comme étant léger (2-3 symptômes), modéré (4-5 symptômes) ou sévère (6 symptômes ou plus).

1.2 Épidémiologie

Le World Drug Report estime que plus de 18 millions de personnes mondialement ont consommé de la cocaïne en 2019 (United Nations Office on Drugs and Crime, 2019). L’Amérique du Nord est le continent le plus touché, avec 2,1% de sa population rapportant en avoir consommé (United Nations Office on Drugs and Crime, 2019). Selon des données tirées de l’Enquête canadienne sur le tabac, l’alcool et les drogues, 2.5% des Canadiens de 15 ans et plus ont déclaré avoir consommé de la cocaïne dans la dernière année en 2017, ce qui correspond à une hausse considérable par rapport au chiffre de 0.9% obtenu en 2013 (Centre canadien sur les dépendances et l’usage de substances, 2019). La consommation de cocaïne est prédominante dans la tranche d’âge des 20-

24 ans, où elle atteint une prévalence de 6.2% en 2017 (Centre canadien sur les dépendances et l'usage de substances, 2019). La cocaïne se classe donc au 4^e rang des substances les plus consommées au Canada après l'alcool, le tabac et le cannabis (Centre canadien sur les dépendances et l'usage de substances, 2019). Les personnes les plus à risques de consommer de la cocaïne sont les hommes, les personnes non mariées ou divorcées, les personnes ayant une personnalité de type B, les personnes ayant un trouble de l'usage d'autres substances ou ayant un historique familial de trouble de l'usage (Blanco, Florez-Salamanca, Secades-Villa, Wang, & Hasin, 2018). Des consommateurs de cocaïne, 16% développeront un TUC (Florez-Salamanca et al., 2013).

1.3 Conséquences

Le TUC représente un enjeu majeur de santé publique par son association à plusieurs conséquences sociétales, psychologiques et physiques (Farrell et al., 2019). Voyons brièvement les impacts du TUC sur ces trois sphères, avant de se concentrer sur les conséquences inflammatoires entraînées par la cocaïne.

1.3.1 Impact sociétal

En 2017 au Canada, l'utilisation abusive de cocaïne a mené à 2 965 hospitalisations et à 1 215 décès (Centre canadien sur les dépendances et l'usage de substances, 2017). Le total des coûts globaux attribuables à l'usage de substances s'élevait à 45 milliards et de ce montant, plus de trois milliards étaient attribuables à la consommation de cocaïne (Centre canadien sur les dépendances et l'usage de substances, 2017). Le tableau 1 présente la répartition des coûts attribuables à la consommation de cocaïne selon les secteurs de soins de santé, de justice et de productivité au travail.

Tableau 1. – Répartition des coûts attribuables à la consommation de cocaïne au Canada en 2017

Répartition des coûts	\$ CAN
Soins de santé	150 292 844
Visite à l'urgence	8 554 633 \$
Hospitalisations	31 604 556 \$
Chirurgie d'un jour	349 348 \$
Rémunération des médecins	50 753 715 \$
Médicaments sur ordonnance	34 848 467 \$
Perte de productivité	983 489 901 \$
Années potentielles de vie productive perdues	905 039 702 \$
Invalité de courte durée	24 172 585 \$
Invalité de longue durée	54 277 614 \$
Justice pénale	2 565 856 578 \$
Procédures judiciaires	471 374 568 \$
Services correctionnels	586 756 076 \$
Autres coûts	13 388 126 \$
Recherche et prévention	3 201 830 \$
Programme d'aide aux employés	546 682 \$
Dépistage de la drogue au travail	624 182 \$
Administration des indemnités des accidents au travail	409 989 \$
Total des coûts	3 713 027 449 \$

Source: Rapport du Centre canadien sur les dépendances et l'usage de substances, 2017.

1.3.2 Comorbidités psychologiques et neurocognitives

La consommation de cocaïne est fréquemment comorbide avec d'autres troubles psychiatriques. Une revue systématique et méta-analyse révèle que la consommation d'amphétamine est associée à un risque plus élevé de psychose (OR = 2.0), de violence (OR= 2.2), de suicide (OR=4.4) et de dépression (OR=1.6) (McKetin et al., 2019). La consommation de cocaïne est également fréquemment associée à la consommation d'autres substances telles que le cannabis, l'alcool et autres stimulants (Farrell et al., 2019). Au niveau neurocognitif, la consommation chronique de cocaïne peut entraîner une altération des capacités d'attention, de la mémoire et des fonctions

exécutives (Spronk, van Wel, Ramaekers, & Verkes, 2013). La consommation de cocaïne serait également impliquée dans la progression de la démence associée au VIH vu sa capacité d'altérer le système nerveux central (SNC) et de faciliter l'entrée et la réplication du virus dans le cerveau (Dahal, Chitti, Nair, & Saxena, 2015). De plus, elle augmenterait les risques d'accident vasculo-cérébraux ischémiques et de pathologies microvasculaires (Sajja, Rahman, & Cucullo, 2016).

1.3.3 Comorbidités physiques

Infections

L'utilisation chronique de cocaïne est associée à une augmentation de l'incidence de maladies infectieuses telles le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), l'hépatite C, les infections transmises sexuellement, les infections de la peau et des tissus mous, les endocardites bactériennes et les infections pulmonaires (Butler, Rehm, & Fischer, 2017; Larney, Peacock, Mathers, Hickman, & Degenhardt, 2017; Lavender & McCarron, 2013). Cette augmentation des risques d'infection est principalement due à l'utilisation de matériel d'injection non stérile.

Atteintes cardiovasculaires

La cocaïne peut causer une toxicité cardiovasculaire par atteinte des cardiomyocytes et des structures vasculaires (Stankowski, Kloner, & Rezkalla, 2015). La cocaïne peut induire une vasoconstriction coronaire et systémique, causer des arythmies, favoriser le dépôt d'athérosclérose, mener à des infarctus du myocarde et à des accidents vasculaires cérébraux (Graziani et al., 2017; Stankowski et al., 2015).

Mortalité

Les personnes consommant des stimulants auraient un risque de mortalité 6 fois plus élevé que la population générale, ce qui correspondait à un surplus de mortalité de 178 000 décès en 2017 (Farrell et al., 2019). Ce surplus de mortalité de toute cause s'explique principalement par l'incidence plus élevée de suicides, de blessures accidentelles et d'homicides comparativement à la population générale (Farrell et al., 2019). Chez 1722 personnes décédées par suicide, de la cocaïne a été détectée dans le sang de 8.4% des corps, ce qui est largement supérieur à la prévalence de consommation de la population générale estimée à 2.1% (Bailey et al., 2021).

Inflammation

La consommation excessive et répétée de cocaïne entraîne une réponse inflammatoire systémique et une neuroinflammation.

Rôle de l'inflammation

L'inflammation est le mécanisme de défense de notre corps contre les insultes exogènes et endogènes. La réponse inflammatoire peut être aigue ou chronique. La réponse inflammatoire aigue survient suite à une invasion microbienne, à un trauma, à un composé nocif à titre d'exemples. L'inflammation aigue dure de quelques heures à quelques jours et implique principalement les cytokines et les neutrophiles. L'inflammation chronique survient lorsqu'il y a un échec à éliminer l'agent pathogène, lorsque l'exposition à un irritant persiste, lorsque les épisodes d'inflammation aigue sont récurrents et lorsque le système immunitaire reconnaît un élément normal de notre organisme comme étant étranger pour ne nommer que quelques exemples. L'inflammation chronique peut persister de plusieurs jours à plusieurs années. Elle implique principalement le recrutement des lymphocytes B et T par les monocytes, les macrophages et les cellules dendritiques (Kumar, Abbas, & Aster, 2018).

Les cytokines sont une grande famille de molécules de signalisation. Le tableau 2 présente les sources et les fonctions des principales cytokines discutées dans ce mémoire. Les cytokines comprennent les interleukines (IL), les facteurs de nécrose tumorale (TNF, de l'anglais *Tumor Necrosis Factor*), les chimiokines et les facteurs de croissance. Elles permettent aux différentes cellules de communiquer entre elles. Elles envoient des messages d'activation, de prolifération et de différenciation cellulaire entre autres. Les chimiokines, par leur forte capacité de chimiotactisme, aident à la migration et au recrutement au site lésé de plusieurs autres molécules inflammatoires. Les premières molécules inflammatoires à arriver au site lésé en aigue sont les neutrophiles qui ont une importante capacité de phagocytose. Les macrophages et les cellules dendritiques arrivent en renfort. Ils découlent des monocytes sanguins et ont un rôle de phagocytose, de présentation d'antigènes et de recrutement d'autres molécules inflammatoires par la libération de cytokines (Kumar et al., 2018).

Tableau 2. – Les principales sources et fonctions des cytokines

Cytokines		Principale source	Fonction
Interleukine	IL-1 β	Monocytes et macrophages	Prolifération cellulaire, différenciation et apoptose
	IL-6	Monocytes et macrophages	Induction de la synthèse de protéines
	IL-10	Monocytes, macrophages, cellules dendritiques, cellules NK, lymphocytes T et B	Régulation de l'inflammation, inhibition de la production de molécules inflammatoires
	IL-16	Lymphocytes CD8+T	Chimiotactisme, modulateur de l'activation cellulaire
Chimiokine	MIP-1 β	Monocytes et macrophages	Chimiotactisme, recrutement de cellules inflammatoires, cicatrisation des plaies, inhibition des cellules souches
	MDC	Monocytes et macrophages	Chimiotactisme, recrutement de cellules inflammatoires
Facteur de croissance	VEGF	Plusieurs cellules	Angiogenèse, chimiotactisme
Facteur de nécrose tumorale	TNF- α	Monocytes et macrophages	Stimulation de l'apoptose, de l'expression des cytokines, du CMH I et II, des molécules d'adhésion, contribution à la cytotoxicité

MDC, chimiokine dérivée des macrophages (de l'anglais *macrophage derived chemokine*); MIP, protéine inflammatoire des macrophages (de l'anglais *macrophage inflammatory protein*); IL, interleukine; TNF, facteur de nécrose tumorale (de l'anglais *tumor necrosis factor*); VEGF, facteur de l'endothélium vasculaire (de l'anglais *vascular endothelial growth factor*).

Sources : Cluster of differentiation antigen (Cruse, Lewis, & Wang, 2007), plateforme en ligne *Genes* du *National Institutes of Health*.

Les lymphocytes T et B représentent la dernière ligne de défense. Ils jouent un rôle crucial dans la médiation de l'inflammation par plusieurs mécanismes. Il existe deux types de lymphocytes T : les lymphocytes T *helper* (CD4) et les lymphocytes T cytotoxiques (CD8). Tout comme leur nom l'indique, les CD4 aident les autres cellules à exercer leurs fonctions. Quant aux lymphocytes CD8, ils ont la capacité de tuer d'autres cellules. Tout comme les CD8, la cellule *natural killer* (NK) a une capacité cytotoxique importante. La cellule NK tue toute cellule anormale de manière plus rapide, mais moins spécifique que le CD8. La fonction principale des lymphocytes B est de produire et

sécréter des anticorps (Kumar et al., 2018). En somme, plusieurs cellules sont impliquées dans la réponse inflammatoire. Les principales molécules inflammatoires discutées dans ce mémoire sont résumées dans les tableaux 3 et 4.

Tableau 3. – Les principales sources et fonctions des cellules inflammatoires selon l’expression des clusters de différenciation (CD)

CD	Expression principale	Fonction
CD3	Lymphocytes T et B	Transduction du signal, assemblage et expression du complexe récepteur des lymphocytes T
CD4	Lymphocytes T helper, monocytes, macrophages	Co-récepteur dans l'activation des lymphocytes T induite par l'antigène, régulation de l'adhésion des lymphocytes T-B, liaison au CMH de classe II
CD8	Lymphocytes T cytotoxiques, NK	Molécule coréceptrice, liaison au CMH de classe I
CD11b	Cellules myéloïdes et NK	Adhésion des neutrophiles polymorphonucléaires et des monocytes au fibrinogène, à l'endothélium ICAM-1, extravasation, chimiotactisme, apoptose
CD11c	Cellules myéloïdes, NK, macrophages, lymphocytes T activés	Adhésion des neutrophiles polymorphonucléaires et des monocytes au fibrinogène, à l'endothélium ICAM-1
CD14	Monocytes, macrophages	Récepteur de lipopolysaccharide
CD16	Cellules NK, macrophages, mastocytes, monocytes	Récepteur à faible affinité pour les IgG
CD19	Lymphocytes B et précurseurs, cellules dendritiques folliculaires	Transduction du signal qui régule le développement, l'activation et la différenciation des cellules B
CD24	Lymphocytes B et granulocytes matures	Modulation des signaux de croissance et de différenciation cellulaire
CD25	Lymphocytes T et B activées, monocytes et macrophages stimulés	Chaîne α du récepteur de l'IL-2

CD27	Lymphocytes T matures, sous-ensemble de cellules B, cellules NK	Costimulation pour l'activation des lymphocytes T, régulation de l'activation des cellules B et de la synthèse des immunoglobulines
CD33	Cellules myéloïdes, majorité des monocytes	Régulation négative de la production de cytokines et de l'activation des monocytes
CD38	Cellules plasmatiques, majorité des cellules hématopoïétiques	Régulation de l'activation et de la prolifération cellulaire, impliqué dans l'adhésion des lymphocytes et des cellules endothéliales
CD43	Plusieurs, sauf cellules B au repos	Activation spécifique de l'antigène des cellules T
CD45RA	Lymphocytes T naïfs au repos	Régulation de la signalisation des récepteurs d'antigènes des cellules T et B
CD56	Cellules NK, sous-ensemble de lymphocytes T	Adhésion cellulaire, interaction des cellules avec la matrice, migration cellulaire, stimulation de l'expansion des lymphocytes
CD62L	Lymphocytes T et B, monocytes, granulocytes, certaines cellules NK	Méiateur de l'orientation des lymphocytes vers les veinules hautement endothéliales ou le tissu lymphoïde périphérique et du roulement des leucocytes sur l'endothélium activé dans les sites inflammatoires
CD69	Lymphocytes T et B activés, cellules NK, neutrophiles	Activation des lymphocytes, des monocytes et des plaquettes
CD134	Lymphocytes T activés	Transduction de signal co-stimulateur de l'activation médiée par les récepteurs des lymphocytes T, participation à l'adhésion cellulaire.
CD137	Lymphocytes T	Contribution à l'expansion clonale, à la survie et au développement des cellules T, induction de la prolifération de monocytes périphériques
CD278	Lymphocytes T activés	Signalisation cellulaire, régulation de la prolifération cellulaire
HLA-DR	Lymphocytes B, cellules dendritiques, monocytes	Présentation d'antigène, reconnaissance immunitaire, compose le CMH de classe II
IgD	Lymphocytes B	Participation à la maturation, à l'activation et à l'inhibition des cellules B, récepteur d'antigènes

CD, cluster de différenciation (de l'anglais *cluster of differentiation*); CMH, complexe majeur d'histocompatibilité; HLA-DR, antigène leucocytaire humain-DR (de l'anglais *human leukocyte antigen-DR*); IgD, immunoglobuline delta; IL, interleukine; NK, tueuses naturelles (de l'anglais *natural killer*).

Sources : Cluster of differentiation antigen (Cruse et al., 2007), plateforme en ligne *Genes* du *National Institutes of Health*.

Tableau 4. – L’expression des clusters de différenciation des cellules inflammatoires

Cellules inflammatoires	Principaux CD impliqués
Monocytes classiques	CD14+, CD16-
Monocytes intermédiaires	CD14+, CD16+
Monocytes non-classiques	CD14dim, CD16+
Cellules dendritiques (DC)	CD11c, CD11b, CD14, CD33
Cellules tueuses naturelles (NK)	CD3-, CD56+, CD16
NK fortement cytotoxiques	CD56dim, CD16hi
NK moyennement cytotoxiques	CD56hi, CD16neg
NK faiblement cytotoxiques	CD56neg, CD16hi
Lymphocytes B	CD19, CD24, CD38, IgD
Lymphocytes pro-B	CD38, IgDhi
Lymphocytes pré-B	CD38, IgDdim
Lymphocytes T	CD3, CD4, CD8, CD25, DC69, CD134, CD137
Lymphocytes T helper	CD4
Lymphocytes T cytotoxiques	CD8
Lymphocytes T naifs (Tn)	CD45RAhi CD62Lhi
Lymphocytes T effecteurs mémoires (Tem)	CD45RAdim CD62dim
Lymphocytes T effecteurs mémoires re-exprimant CD45RA (Temra)	CD45RAhi CD62Ldim
Lymphocytes T mémoires centraux (Tcm)	CD45RAdim CD62hi

CD, cluster de différenciation (de l'anglais *cluster of differentiation*); dim, diminué; hi, élevé (de l'anglais *high*); neg, négatif.

Inflammation dans le TUC

Plusieurs études ont démontré que les personnes ayant un TUC avaient une dérégulation de leurs marqueurs inflammatoires. Des niveaux augmentés de cytokines pro-inflammatoires telles IL-1 β , IL-6, TNF- α et une diminution des cytokines anti-inflammatoires telles IL-10 ont été notés chez les consommateurs chroniques de cocaïne. De plus, une augmentation de marqueurs non spécifiques de l’inflammation tels le ratio neutrophile sur lymphocyte (NLR, de l’anglais

Neutrophil to Lymphocyte Ratio) et la protéine C-réactive (CRP, de l'anglais *C-Reactive Protein*) a été observée chez les utilisateurs de cocaïne.

Une étude cas-contrôle pour laquelle une prise de sang a été prélevée chez 12 personnes consommant de la cocaïne et 24 contrôles démontre une augmentation significative d'IL-6 et une diminution significative d'IL-10 ainsi qu'une augmentation du ratio IL-6/IL-10 chez les personnes consommant de la cocaïne comparativement aux contrôles (Moreira et al., 2016). Une autre étude cas-contrôle réalisée chez des femmes avec TUC en cours de traitement a également démontré une augmentation d'IL-6 chez les 42 femmes souffrant d'un TUC comparativement aux 52 contrôles. Cette étude souligne également la corrélation entre l'augmentation des niveaux d'IL-6 et la diminution des fonctions exécutives (Levandowski, Hess, Grassi-Oliveira, & de Almeida, 2016). Ce même groupe d'auteurs ont également comparé les niveaux inflammatoires de 108 femmes ayant un TUC sous traitement d'abstinence rapportant de la maltraitance durant l'enfance (n=53) ou non (n=55) à 24 femmes en santé. Seulement les femmes rapportant de la maltraitance durant l'enfance avaient des niveaux d'IL-6 et de TNF- α plus élevés que le groupe contrôle (Levandowski, Viola, et al., 2016), ce qui soulève l'influence des problèmes psychologiques sur l'inflammation. Une étude démontre les niveaux significativement plus élevés de sécrétions d'IL-6 chez les consommateurs de cocaïne comparativement aux contrôles en réponse à un stimuli dégoûtant (Ersche et al., 2014). Une étude transversale pour laquelle une prise de sang a été prélevée chez 37 personnes souffrant d'un trouble de l'usage à la cocaïne et 27 contrôles démontre une augmentation significative de TNF α , d'IL-1 β et d'IL-10 chez les personnes consommant de la cocaïne comparativement aux contrôles (Narvaez et al., 2013). Cette augmentation contradictoire de l'IL-10 est expliquée par les auteurs comme étant un mécanisme compensatoire mis en place par le corps pour tenter de contrôler l'inflammation (Narvaez et al., 2013). Fox et al. ont comparé sensiblement les mêmes marqueurs chez des personnes avec TUC (n=28) et des consommateurs d'alcool occasionnels (n=27) et ont observé une augmentation de TNF α chez les personnes avec TUC suite à l'exposition à un stressor (Fox et al., 2012). Ils ont également observé un niveau basal d'IL-10 significativement plus bas chez les personnes avec TUC que chez les consommateurs d'alcool sociaux (Fox et al., 2012). Une revue systématique et méta-analyse portant sur l'association entre l'utilisation de différentes drogues

et l'inflammation systémique conclut que la taille d'effet est non significative pour les niveaux d'IL-6 (2 études incluses : Moreira et al. 2016 et Levandowski et al. 2016) et d'IL-10 (3 études incluses : Moreira et al. 2016, Levandowski et al. 2016 et Fox et al. 2012) chez les consommateurs de cocaïne (Doggui, Elsayy, Conti, & Baldacchino, 2021). Le nombre restreint d'études incluses par cette méta-analyse limite la portée des résultats.

Une étude de Zaparte et al. a observé l'effet de la consommation chronique de la cocaïne sur une variété de cytokines et de phénotypes cellulaires chez des femmes en traitement de désintoxication (n=50) comparativement à des femmes saines (n=18) (Zaparte et al., 2019). Des niveaux plus élevés d'IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF α , IFN- γ et des pourcentages plus élevés de lymphocytes T auxiliaires, de lymphocytes T auxiliaires à différenciation intermédiaire et de lymphocytes B ont été observées chez les femmes avec TUC comparativement aux femmes saines. Le pourcentage de lymphocytes T auxiliaires à différenciation précoce ainsi que de lymphocytes T naïfs étaient toutefois plus faibles chez les femmes avec TUC.

Le NLR, marqueur non spécifique de l'inflammation associé à une morbidité et mortalité élevées, était significativement augmenté chez les personnes souffrant de TUC (n=107, NLR=2.38) comparativement aux adultes du même âge sans TUC (n=1309, NLR=1.71) (Soder et al., 2020). La CRP, était également deux fois plus élevée chez les consommateurs de cocaïne (n=31, CRP=6,31 mg/L) que chez les contrôles sains (n=30, CRP=3,00 mg/L) (Ersche et al., 2014).

Bien que la consommation chronique de cocaïne semble augmenter les marqueurs inflammatoires tel que vu précédemment, une dose aiguë pourrait diminuer les niveaux d'inflammation. Halpern et al. ont observé des niveaux plus bas d'IL-6 chez les sujets 4h post-administration de 0.4 mg/kg de cocaïne IV comparativement aux contrôles recevant une injection de salin (Halpern et al., 2003). Cette diminution en aiguë d'IL-6 peut être expliquée par la stimulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS) par la cocaïne qui relâcherait du cortisol, ayant un effet anti-inflammatoire (Halpern et al., 2003). Toutefois, la dérégulation de l'axe HHS secondaire à la chronicité de la cocaïne finirait par produire l'effet inverse d'augmentation de l'inflammation. Les mécanismes seront détaillés dans le Chapitre 2.

Neuroinflammation dans le TUC

Le cerveau est un organe fragile et difficilement accessible, ce qui rend son étude chez l'humain très complexe. De nombreuses études précliniques réalisées *in vivo* sur des souris et des rats et *in vitro* sur des cellules humaines et des cerveaux humains post-mortem démontrent que la cocaïne entraîne une neuroinflammation (Cisneros, Erdenizmenli, Cunningham, Paessler, & Dineley, 2018; Clark, Wiley, & Bradberry, 2013; Moretti et al., 2019; Pimentel, Sivalingam, Doke, & Samikkannu, 2020; Sajja et al., 2016; Sil et al., 2019). À titre d'exemple, une étude sur des cerveaux post-mortem de personnes ayant un trouble de l'usage et étant décédées d'une intoxication à la cocaïne révèle une neuroinflammation reflétée par le recrutement augmenté de lymphocytes et l'expression augmentée de molécules d'adhésion (Moretti et al., 2019). Une autre étude sur des cerveaux post-mortem de personnes ayant un historique d'utilisation de cocaïne a révélé des niveaux de microglie activée significativement plus élevés chez les utilisateurs de cocaïne comparativement aux contrôles (Little et al., 2009).

En somme, la consommation chronique de cocaïne semble déréguler la réponse inflammatoire et favoriser une inflammation systémique et une neuroinflammation. La différence de réponse entre la consommation aiguë et chronique de cocaïne peut expliquer en partie certains résultats contradictoires dans la littérature. D'autres études seront nécessaires pour confirmer et caractériser de manière plus exhaustive la réponse inflammatoire entraînée par la consommation abusive de cocaïne. Les chapitres 2 et 3 présenteront les mécanismes possiblement en cause dans la réponse inflammatoire systémique et la neuroinflammation secondaire à la consommation chronique de cocaïne.

Chapitre 2 – Mécanismes menant à une inflammation systémique dans le TUC

Le chapitre 1 soulevait que la cocaïne altère la réponse inflammatoire des consommateurs chroniques. Par quels mécanismes cette réponse inflammatoire se produit-elle? Une question bien complexe pour laquelle la littérature n'a à ce jour que peu de réponses. Le stress oxydatif secondaire aux métabolites de la cocaïne et la surstimulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS) sont les deux principales hypothèses pouvant expliquer cette réponse inflammatoire systémique.

2.1 Stress oxydatif

La cocaïne entraîne un stress oxydatif dans les cellules de plusieurs organes de notre corps incluant le cœur, le foie, les reins et le système nerveux central (SNC) (Kovacic, 2005; Liao et al., 2016).

2.1.1 Définition du stress oxydatif

Le stress oxydatif est le résultat du déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants. Les oxydants sont des molécules qui ont acquis un nombre instable d'électrons, ce qui les rend très réactifs (Chatterjee, 2016). Bien que les réactions d'oxydoréductions soient essentielles à l'homéostasie de plusieurs processus biologiques tels le contrôle du pH, les surplus d'oxydant peuvent réagir avec les composantes de nos cellules et les dénaturer (Chatterjee, 2016; Sies, Berndt, & Jones, 2017). Les principaux oxydants sont les dérivés réactifs de l'oxygène (ROS, de l'anglais *Reactive Oxygen Species*) et les dérivés réactifs de l'azote (RNS, de l'anglais *Reactive Nitrogen Species*) (Chatterjee, 2016). À titre d'exemples, les ROS incluent les ions superoxydes et le peroxyde d'hydrogène et les RNS incluent l'oxyde nitrique (NO, de l'anglais *Nitric Oxide*). Les antioxydants ont pour rôle de neutraliser les oxydants avant qu'ils ne réagissent avec les composantes de nos cellules (Chatterjee, 2016). Les principaux antioxydants sont les superoxydes dismutases (SOD), le glutathion (GSH) et les catalases (Chatterjee, 2016). En d'autres termes, le

stress oxydatif est le résultat d'une production accrue d'oxydants et/ou d'une incapacité de notre système antioxydatif à éliminer efficacement les oxydants.

2.1.2 Lien entre le stress oxydatif et l'inflammation

En situation de stress oxydatif, les oxydants réagissent avec les lipides, les protéines et les acides nucléiques, ce qui peut entraîner respectivement une altération des fonctions des protéines, des dommages aux membranes cellulaires et des mutations au niveau de l'ADN (Kumar et al., 2018). Ces changements de conformation altèrent le fonctionnement normal de la cellule, menant à une dysfonction cellulaire. (Atalay, Jarocka-Karpowicz, & Skrzydlewska, 2019). Les cellules lésées libèrent des motifs moléculaires associés aux dégâts (DAMP, de l'anglais *Damage Associated Molecular Pattern*) qui seront détectés par les récepteurs de type Toll (TLR, de l'anglais *Toll-Like Receptors*) des cellules avoisinantes (Bauer & Teixeira, 2019). La liaison au TLR entraînera l'activation du facteur de transcription nucléaire kappa B (NF- κ B, de l'anglais *Nuclear Factor-kappa B*) qui induira la transcription de gènes codant pour des protéines inflammatoires telles les cytokines, les chimiokines et les molécules d'adhésion (Chatterjee, 2016; Lawrence, 2009). En bref, les dommages oxydatifs enclenchent des cascades inflammatoires qui sont au cœur de la dérégulation du système immunitaire, tel qu'illustré par la Figure 1.

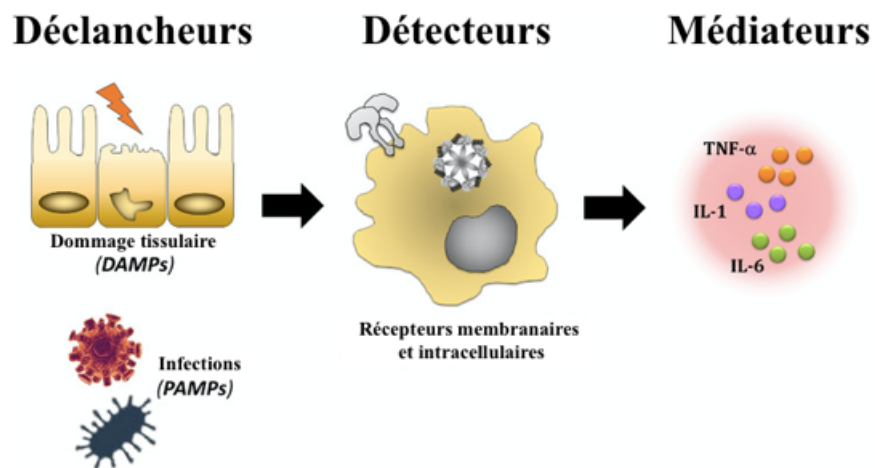


Figure 1. – Réponse inflammatoire aux dommages tissulaires.

Le stress oxydatif entraîne des dommages cellulaires menant à l'activation de la cascade inflammatoire. Image adaptée avec permission (Bauer & Teixeira, 2019).

2.1.3 Stress oxydatif entraîné par la cocaïne

Lorsque la cocaïne est métabolisée par l'organisme, certains de ses métabolites, dont la cocaïne iminium, le radical nitroxyde, et la norcocaïne nitrosonium, entraînent une production importante d'oxydants en plus d'altérer la capacité du corps à produire des antioxydants en quantité suffisante pour neutraliser le surplus d'oxydants (Beiser & Yaka, 2019; Kovacic, 2005).

Augmentation des oxydants

Des études démontrent que la cocaïne entraîne une formation accrue d'oxydants via l'activité augmentée de l'oxyde nitrique synthase (NOS, de l'anglais *Nitric Oxide Synthase*) qui synthétise des NO, et via l'augmentation des niveaux d'ions superoxydes et peroxydes d'hydrogène (Elliott, Ijames, & Lysle, 2003; Muriach et al., 2010; Portugal-Cohen, Numa, Yaka, & Kohen, 2010). Muriach et al. ont observé une augmentation de l'activité de la forme neuronale de NOS dans l'hippocampe de rats ayant reçu de la cocaïne sur une période de 20 jours (Muriach et al., 2010). Elliott et al. ont aussi observé une augmentation de l'expression de la forme induite de NOS dans le foie, la rate et les poumons de rats suite à l'administration de cocaïne et ce, tant après une consommation aigue raisonnable de cocaïne qu'un «binge» de cocaïne (Elliott et al., 2003). L'administration systémique de cocaïne occasionnerait même une augmentation de la forme induite de NOS au niveau de la peau des rats (Portugal-Cohen et al., 2010). Cette augmentation a d'ailleurs été abolie par l'ajout d'inhibiteur de NOS (Portugal-Cohen et al., 2010). Cette même étude a également démontré que les cellules épithéliales exposées *in vivo* à de la cocaïne avaient une formation accrue d'ions superoxyde et de peroxyde d'hydrogène (Portugal-Cohen et al., 2010).

L'augmentation de l'oxydation se reflète également par des modifications au niveau de la conformation des molécules telles la carbonylation des protéines et la libération de 4-hydroxynonanal suite à la peroxydation des lipides (Poon, Abdullah, Mullan, Mullan, & Crawford, 2007). En effet, les niveaux de protéines carbonylées et de 4-hydroxynonanal étaient significativement plus élevés chez les cellules progénitrices neuronales humaines (HNPC, de l'anglais *Human Neural Progenitor Cells*) exposées à de la cocaïne comparativement à celles non exposées (Poon et al., 2007). Cette augmentation du stress oxydatif témoignée par

l'augmentation des protéines carbonylées et de 4-hydroxynonanal dès 48h post-exposition à la cocaïne était suivie par une augmentation de la mort cellulaire 72h post-exposition (Poon et al., 2007).

Diminution des antioxydants

Des études démontrent que la cocaïne diminue les niveaux d'antioxydants tels la catalase, le GSH, et le SOD (Lipton et al., 2003; Lopez-Pedrajas et al., 2015; Macedo et al., 2005; Muriach et al., 2010; Poon et al., 2007; Portugal-Cohen et al., 2010; Walker et al., 2014). En effet, une simple injection de cocaïne a causé une diminution de l'activité de la catalase dans le striatum et le cortex préfrontal de souris (Macedo et al., 2005). Chez des rats en gestation n'ayant jamais été exposés aux drogues, une injection unique de cocaïne a réduit de manière significative les niveaux de GSH dans le cerveau de leurs fœtus (Lipton et al., 2003). Muriach et al. ont aussi observé une diminution de la concentration de GSH et de son activité peroxydase au niveau de l'hippocampe de rats ayant reçu des injections de cocaïne pendant 20 jours (Muriach et al., 2010). Au niveau du cervelet de rats ayant reçu de la cocaïne, le ratio GSH/GSH oxydé et l'activité du GSH peroxydase étaient aussi diminués (Lopez-Pedrajas et al., 2015). Les niveaux de GSH étaient également réduits suite à l'exposition *in vitro* des HNPC à de la cocaïne (Poon et al., 2007). L'administration systémique de cocaïne aurait même un impact au niveau de la peau des rats, comme démontré par la diminution de 73 ± 8 % des niveaux de GSH sur leur peau 15 jours après l'injection de cocaïne (Portugal-Cohen et al., 2010). Chez l'humain, une étude évaluant l'activité des antioxydants dans le sang de 124 personnes ayant un trouble de l'usage de la cocaïne comparativement à 30 volontaires sains révèle une diminution significative de l'activité de SOD et de 53% de la capacité antioxydative totale (Walker et al., 2014). Toutefois, aucune différence significative n'a été observée pour les niveaux d'activité du GSH et de catalase (Walker et al., 2014).

En résumé, la cocaïne entraîne un stress oxydatif par l'augmentation de l'activité oxydante et la diminution de l'activité antioxydante, donnant un bilan oxydatif positif. Cette oxydation marquée cause une dysfonction cellulaire, menant à une réponse inflammatoire.

2.2 Dérégulation de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien

Le deuxième mécanisme par lequel la cocaïne entraînerait un état inflammatoire serait par la surstimulation de l'axe HHS.

2.2.1 Rôle de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien

L'axe HHS relie le SNC et le système endocrinien. Cet axe est impliqué dans la réponse aux stressseurs physiques et psychologiques. Son rôle principal est de mobiliser de l'énergie pour permettre à l'organisme de répondre à un combat ou une fuite (de l'anglais *Fight-or-Flight*). Comme son nom l'indique, cet axe est composé de l'hypothalamus, de l'hypophyse et des glandes surrénales. L'hypothalamus, situé dans la partie ventrale du diencephale, a pour rôle de maintenir l'homéostasie interne (White, Harrison, & Mehlmann, 2019). Il est le chef d'orchestre de plusieurs fonctions neuroendocrines, dont celles de l'axe HHS. Plus précisément, c'est le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus qui dirige l'axe HHS (White et al., 2019). Ce noyau sécrète l'hormone corticolibérine (CRH, de l'anglais *Corticotropin-Releasing Hormone*), qui va atteindre l'adénohypophyse (lobe antérieur de l'hypophyse) via le système porte hypothalamo-hypophysaire (White et al., 2019). Le CRH stimulera alors les cellules corticotropes de l'adénohypophyse à sécréter l'hormone adrénocorticotrope (ACTH, de l'anglais *Adrenocorticotrophine Hormone*) (White et al., 2019). L'ACTH sera relâchée dans la circulation sanguine et atteindra le cortex des glandes surrénales (White et al., 2019). La zone fasciculaire du cortex des glandes surrénales relâchera alors des glucocorticoïdes (White et al., 2019). Les glucocorticoïdes, dont le principal chez l'humain est le cortisol, pourront circuler dans le sang et atteindre leurs tissus cibles (Ramamoorthy & Cidlowski, 2016). La figure 2 illustre l'axe HHS.

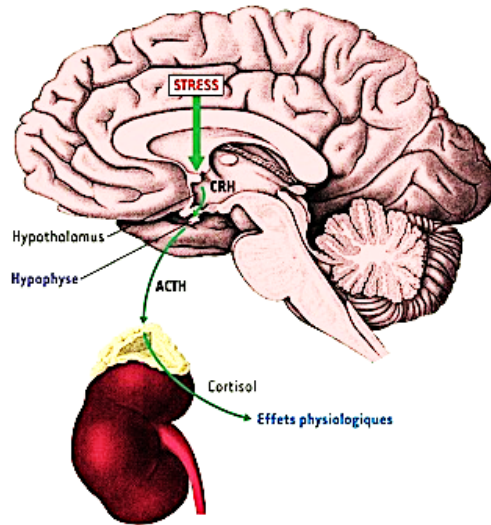


Figure 2. – Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.

Un stressueur active l’hypothalamus à sécréter du CRH. Le CRH stimulera l’hypophyse à libérer de l’ACTH. L’ACTH atteindra la glande surrénale, qui relâchera du cortisol. Image utilisée avec permission (Rostène, 2005).

2.2.2 Cortisol

Le cortisol régule une variété de processus biologiques via sa liaison aux récepteurs glucocorticoïdes se situant dans les noyaux des cellules de notre corps (White et al., 2019). En aigu, le cortisol a une activité immunosuppressive et hyperglycémiant (White et al., 2019). Les glucocorticoïdes entraînent l’apoptose des cellules T, diminuent la production d’anticorps des lymphocytes B et diminuent la cytotoxicité des lymphocytes NK (Sternberg, 2006). Lorsque le cortisol se lie au récepteur glucocorticoïde, il se produit une inhibition du NF- κ B, qui ne peut alors plus activer la transcription de molécules inflammatoires (Bauer & Teixeira, 2019; Rhen & Cidlowski, 2005). Il s’ensuit donc une diminution de l’inflammation. Par ailleurs, dans l’optique d’élever les niveaux de glucose sanguin disponible pour utilisation lors d’un combat ou d’une fuite, le cortisol active une gluconéogenèse, une lipolyse et un catabolisme protéinique entre autres (White et al., 2019).

Une exposition prolongée au cortisol peut toutefois entraîner une réponse maladaptée. Une exposition chronique au cortisol peut entraîner une désensibilisation des récepteurs

glucocorticoïdes et une dysfonction mitochondriale. La désensibilisation des récepteurs glucocorticoïdes survient suite à une sursimulation de ces récepteurs (Bauer & Teixeira, 2019). Les récepteurs glucocorticoïdes deviendront plus difficilement activables et par le fait même, inhiberont moins NF-κB. NF-κB sera alors en mesure d'activer la transcription de diverses molécules inflammatoires (Bauer & Teixeira, 2019). En ce qui a trait à la dysfonction mitochondriale, elle survient suite à la toxicité entraînée par l'hypercortisolémie et l'hyperglycémie prolongée (Aluksanasuwan, Plumworasawat, Malaitad, Chaiyarit, & Thongboonkerd, 2020; Picard, Juster, & McEwen, 2014). Les mitochondries sont des organites clés du métabolisme énergétique cellulaire par leur production d'ATP, leur participation à l'homéostasie calcique et leur contrôle de l'apoptose cellulaire. Une dysfonction mitochondriale entraîne une augmentation de la production de ROS (Aluksanasuwan et al., 2020; Picard et al., 2014). La dysfonction mitochondriale entraînée par l'hypercortisolémie et l'hyperglycémie secondaire à la sursimulation de l'axe HHS serait donc une autre hypothèse expliquant les niveaux de stress oxydatif plus élevés chez les personnes ayant un TUC.

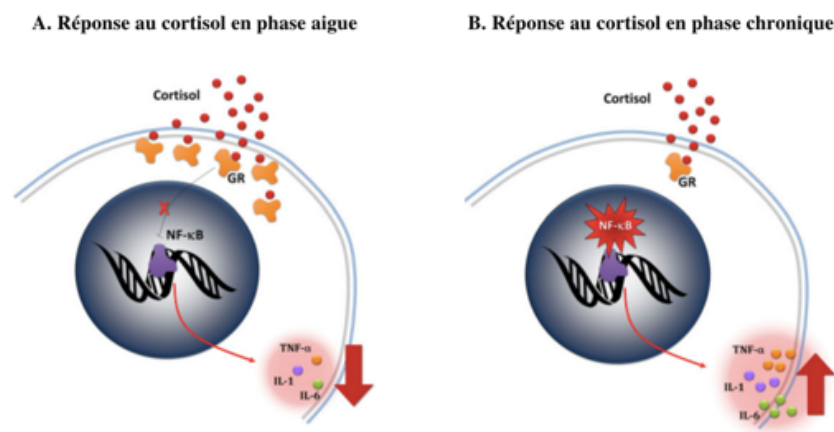


Figure 3. – Réponse au cortisol en phase de stress aigu et chronique.

A. En aigu, les récepteurs glucocorticoïdes activés sont transloqués dans le noyau pour inhiber les voies de signalisations inflammatoires, notamment le NF-κB, ce qui diminue la transcription des cytokines pro-inflammatoires. B. En chronique, les récepteurs glucocorticoïdes se désensibilisent et ont donc une moins bonne capacité à inhiber la cascade de signalisation inflammatoire. Image adaptée avec permission (Bauer & Teixeira, 2019).

2.2.3 Activation de l'axe HHS par la cocaïne

L'administration aiguë de cocaïne active de manière dose-dépendante l'axe HHS. En effet, une étude réalisée chez des rats pour lesquels de la cocaïne intraveineuse a été injectée démontre une augmentation dose-dépendante des niveaux plasmatiques d'ACTH (Rivier & Vale, 1987). Lorsque River et al. ont injecté un antisérum de CRH, la cocaïne n'a plus eu d'effet sur les niveaux d'ACTH, suggérant que le mécanisme par lequel la cocaïne active l'axe HHS implique la stimulation de l'hypothalamus à libérer du CRH, qui stimulera à son tour l'hypophyse à sécréter de l'ACTH. Cette hypothèse est d'ailleurs appuyée par le fait que l'exposition des cellules hypophysaires à de la cocaïne *in vitro* n'a pas eu d'effet sur la sécrétion d'ACTH alors que l'exposition des cellules hypophysaire au CRF a augmenté de manière dose-dépendante la sécrétion d'ACTH (Rivier & Vale, 1987). Des études chez l'humain ont aussi observé une augmentation des niveaux d'ACTH plasmatique suite à l'administration de cocaïne et ce, de manière dose-dépendante (Halpern et al., 2003; Manetti, Cavagnini, Martino, & Ambrogio, 2014; Mendelson et al., 2002; Sholar et al., 1998). Cette activation de l'axe HHS se reflète par une augmentation des niveaux de glucocorticoïdes en aigu, mais par des niveaux basaux de glucocorticoïdes diminués lorsque l'axe est surstimulé. Une étude évaluant l'effet de l'auto-administration de cocaïne sur une période de 14 jours comparativement à celle de salin chez des rats ont observé des changements persistants de l'axe HHS se reflétant par des niveaux basaux de corticostérone abaissés et une réponse de corticostérone augmentée lors d'un stressor (Mantsch et al., 2007). D'ailleurs, une étude évaluant l'expression du gène du récepteur de glucocorticoïde (*NR3C1*) chez 126 consommateurs chroniques de cocaïne comparativement à 98 contrôles a démontré que les consommateurs chroniques de cocaïne avaient une expression diminuée de *NR3C1*, ce qui vient appuyer l'hypothèse de la désensibilisation des récepteurs glucocorticoïdes suite à une consommation répétée et excessive de cocaïne (Schote et al., 2018).

En résumé, la cocaïne surstimule l'axe HHS, ce qui pourrait mener à la longue à une diminution de la sensibilité des récepteurs glucocorticoïdes. Cette diminution de la sensibilité des récepteurs entraînerait une augmentation de la transcription de molécules inflammatoires.

Chapitre 3 – Mécanismes menant à la neuroinflammation dans le TUC

La consommation chronique de cocaïne cause une dysfonction de la barrière hématoencéphalique (BHE) en plus d'augmenter l'activation des cellules microgliales, ce qui mène progressivement à une neuroinflammation (Pimentel et al., 2020). Cette neuroinflammation se traduit entre autres par une augmentation des risques d'accidents cérébraux vasculaires ischémiques et de pathologies microvasculaires (Sajja et al., 2016).

3.1 Dysfonction de la barrière hématoencéphalique

La consommation de cocaïne entraîne une dysfonction de la BHE menant à une augmentation de sa perméabilité (Pimentel et al., 2020). Deux principaux mécanismes ont été mis en cause, soit l'atteinte des protéines de jonctions serrées et l'augmentation de l'adhésion et de la migration des leucocytes (Dhillon et al., 2008; Moretti et al., 2019; Pimentel et al., 2020; Sajja et al., 2016; Yao, Duan, & Buch, 2011).

3.1.1 Rôle de la barrière hématoencéphalique

La BHE est le terme utilisé pour désigner la barrière physiologique entre la circulation sanguine et le SNC. La BHE est composée d'astrocytes, de péricytes et de vaisseaux sanguins aux propriétés uniques (Daneman & Prat, 2015). Les astrocytes, par leur forme étoilée, relient les vaisseaux et les neurones. Ils ont un rôle de support structural et de transport sélectif. Les péricytes ont pour rôle de réguler le débit sanguin par leurs fonctions contractiles. Les vaisseaux sanguins de la BHE sont composés de capillaires continus et non-fenestrés (c.-à-d. de cellules endothéliales reliées par des jonctions serrées sans perforation reposant sur une lame basale continue) permettant de contrôler finement les molécules qui peuvent atteindre le cerveau (Daneman & Prat, 2015). Ces vaisseaux dressent une barrière très étanche empêchant les pathogènes, les molécules inflammatoires et toute autre molécule toxique pour le cerveau d'y pénétrer (Daneman & Prat, 2015). En somme, la BHE permet de maintenir l'homéostasie afin que le SNC ait un environnement stable permettant un fonctionnement optimal des neurones. Lorsque les

propriétés de la BHE sont atteintes, les molécules initialement non admises peuvent désormais accéder au cerveau, ce qui vient altérer l'homéostasie cérébrale. Cette perte de l'homéostasie entraîne une réponse inflammatoire menant éventuellement à la dysfonction et à la dégénération des neurones. La dysfonction de la BHE est donc en cause dans la progression de nombreuses pathologies neurodégénératives telles la sclérose en plaques et l'Alzheimer (Daneman & Prat, 2015). Discutons des principaux mécanismes pouvant entraîner une dysfonction de la BHE dans un contexte de consommation chronique de cocaïne.

3.1.2 Atteinte des protéines de jonctions serrées

Les jonctions serrées sont un complexe de protéines transmembranaires reliant les cellules endothéliales entre elles et assurant ainsi l'étanchéité des vaisseaux de la BHE. Les jonctions serrées jouent donc un rôle essentiel dans le maintien de perméabilité de la BHE. Les principales protéines composant les jonctions serrées sont les claudines, les occludines, les molécules d'adhésion jonctionnelle (JAM, de l'anglais *Junctional Adhesion Molecule*) et les zonula occludens (ZO) (Pimentel et al., 2020). Une atteinte des protéines de jonctions serrées entraîne une augmentation de la perméabilité de la BHE, permettant aux cellules inflammatoires de la périphérie ainsi qu'aux pathogènes de plus facilement atteindre le SNC (Pimentel et al., 2020). La cocaïne semble affecter particulièrement les ZO. Une étude *in vitro* réalisée sur des cellules endothéliales microvasculaires du cerveau humain (HBMECs, de l'anglais *Human Brain Microvascular Endothelial Cells*) a démontré que la cocaïne diminuait l'expression des ZO-1 (Dhillon et al., 2008). Deux autres études similaires réalisées également *in vitro* sur des HBMECs ont observé une diminution de l'expression de ZO-1 (Gandhi et al., 2010; Yao et al., 2011). Toutefois, Moretti et al. n'ont pas observé de différence significative entre l'expression de ZO-1 chez les cerveaux post-mortem de personnes ayant un historique de trouble de l'usage décédées d'une intoxication de cocaïne comparativement au groupe contrôle (Moretti et al., 2019). Notons que leur taille d'échantillon très petite (n cocaïne = 10, n contrôles = 10) a pu nuire à la puissance de leur étude à détecter une différence significative entre les groupes. JAM-2 et claudine-5 seraient également affectées par la cocaïne (Pimentel et al., 2020; Sajja et al., 2016).

3.1.3 Augmentation de l'adhésion et de la migration des leucocytes

Au-delà de la perte d'étanchéité de la BHE, la cocaïne augmente l'expression de molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales des vaisseaux de la BHE (Gan et al., 1999; Moretti et al., 2019). Cette augmentation de l'expression des molécules d'adhésion permet aux cellules inflammatoires, dont les leucocytes, de transmigrer plus facilement la BHE. Gan et al. ont démontré que la cocaïne augmente l'expression des molécules d'adhésion intracellulaire (ICAM, de l'anglais *InterCellular Adhesion Molecule*)-1, des molécules d'adhésion des cellules vasculaires (VCAM, de l'anglais *Vascular Cell Adhesion Molecule*)-1 et des molécules d'adhésion des leucocytes endothéliaux (ELAM, de l'anglais *Endothelial Leucocyte Adhesion Molecule*)-1 sur un modèle de BHE construit *in vitro* à l'aide d'HBMECs et d'astrocytes (Gan et al., 1999). Cette augmentation de l'expression des molécules d'adhésion s'est reflétée par l'augmentation de l'adhésion des monocytes de 280% et de celle des neutrophiles de 282%. Puisque l'adhésion facilite la transmigration à travers la BHE, cette augmentation de l'adhésion s'est reflétée par une augmentation de la transmigration de 176% (Gan et al., 1999). L'effet de la cocaïne sur la BHE était comparable à celui des stimuli inflammatoires TNF α et lipopolysaccharides (LPS) (Gan et al., 1999). Moretti et al. ont eux aussi observé une augmentation de l'expression de ICAM-1 chez des cerveaux post-mortem de personnes avec un historique de trouble de l'usage décédées d'une intoxication aiguë de cocaïne comparativement au groupe contrôle (Moretti et al., 2019). Toutefois, ils n'ont pas observé de différence dans l'expression de VCAM-1, ce qui pourrait être expliqué par sa plus courte durée de vie (Moretti et al., 2019).

En sommes, plusieurs études concluent que la cocaïne entraîne une atteinte des jonctions serrées et une augmentation de l'adhésion des molécules inflammatoires, ce qui cause une augmentation de la perméabilité de la BHE favorisant une neuroinflammation.

3.2 Activation des cellules microgliales

L'augmentation de la perméabilité de la BHE permet à plus de molécules de la périphérie normalement non admises ou peu admises dans le SNC de s'y rendre telles les cellules inflammatoires, les pathogènes et la cocaïne. Une fois en circulation dans le SNC, ces molécules qui sont respectivement des DAMPs, des motifs moléculaires associés aux agents pathogènes

(PAMPs, de l'anglais *Pathogene Associated Molecular Pattern*) et des motifs moléculaires associés aux xénobiotiques (XAMPs, de l'anglais *Xenobiotic Associated Molecular Pattern*), sont détectées par des récepteurs de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR, de l'anglais *Pattern Recognition Receptor*) dont le type le plus fréquent est le récepteur de type Toll (TLR, de l'anglais *Toll-Like Receptors*). Les TLR se trouvent principalement sur les cellules microgliales, cellules qui composent l'environnement des neurones et qui constituent la population de macrophages résidents du SNC (Clark et al., 2013). La microglie joue donc un rôle phagocytaire qui est essentiel à la défense immunitaire du SNC. La liaison d'un DAMP, PAMP ou XAMP à un TLR active le NF- κ B. NF- κ B régule la transcription de plusieurs gènes codant pour des protéines inflammatoires telles les cytokines, les chimiokines, les oxydases et les protéases. L'activation des TLR sur la microglie mène donc à la relâche de molécules pro-inflammatoires dans le SNC.

Une étude réalisée *in vitro* sur des cellules microgliales démontre que l'exposition à la cocaïne entraîne une augmentation de l'expression et de la phosphorylation des TLR et par le fait même une augmentation de l'activation de la microglie (Liao et al., 2016). En effet, cette étude révèle une augmentation de la phosphorylation et la translocation de NF- κ B entraînant une augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires (Liao et al., 2016). Cette même étude a également observé une augmentation de la production de ROS par les cellules de la microglie suite à l'exposition à la cocaïne, contribuant à la relâche de molécules pro-inflammatoires (Liao et al., 2016). Cette augmentation de la production de cytokines pro-inflammatoires et de ROS contribue à la dysfonction de la BHE, ce qui enclenche un cercle vicieux. D'autres études rapportent des résultats similaires en ce qui a trait à l'activation des cellules microgliales et la relâche de molécules pro-inflammatoires secondairement à l'exposition à la cocaïne (Buch et al., 2012; Clark et al., 2013).

Chapitre 4 – Inflammation comme cible de traitements pour le trouble de l'usage de la cocaïne

À ce jour, aucune pharmacologie n'est approuvée pour le trouble de l'usage de la cocaïne malgré les essais de nombreuses pharmacologies potentielles dans les dernières années (Brandt, Chao, Comer, & Levin, 2021). Les anticonvulsivants (ex. topiromate, tiagabine, vigabatrin, carbamazépine), les antidépresseurs (ex. fluoxétine, bupropion, desipramine), les antipsychotiques (ex. quétiapine, olanzapine, aripiprazole, halopéridol), les agonistes de la dopamine (ex. pergolide), les opioïdes (ex. méthadone, buprénorphine) et les psychostimulants (ex. modafinil, amphetamine, methamphetamine) se sont avérés peu efficaces jusqu'à présent pour réduire la consommation de cocaïne selon une récente revue systématique et méta-analyse (Bentzley et al., 2021). Le vaccin TA-CD, composé de succinylnorcocaïne couplé à une sous-unité recombinante de la toxine cholérique B, a également été étudié jusqu'en phase III (Truong & Kosten, 2022). Ce vaccin n'a pas réduit le nombre d'échantillons positif à la cocaïne comparativement au groupe placebo (Kosten et al., 2014). Les approches psychosociales demeurent alors les thérapies de choix pour le traitement du TUC jusqu'à présent. Plusieurs types de psychothérapies sont utilisés pour le traitement du TUC: thérapie cognitivo-comportementale, counseling individuel ou de groupe, intervention motivationnelle et gestion de contingence (Kampman, 2019). Toutefois, selon cette même revue systématique et méta-analyse, seulement la thérapie par gestion de contingence était associée à une probabilité statistiquement significative d'avoir un résultat de test urinaire négatif à la cocaïne (OR, 2.13; IC95%, 1.62-2.80) (Bentzley et al., 2021). Bien que les traitements psychosociaux aient l'avantage de ne pas présenter d'effets secondaires, ils ne s'avèrent pas particulièrement efficaces chez un bon nombre de personnes. En effet, le taux de rétention aux psychothérapies est faible et la période d'abstinence à la cocaïne est souvent temporaire (Kampman, 2019). Considérant la prévalence importante du TUC et la chronicité de cette pathologie, il y a un intérêt pour l'étude de nouvelles cibles thérapeutiques. Une pharmacothérapie efficace pourrait être bénéfique pour la qualité de vie et la réduction des comorbidités des individus souffrant de TUC en plus d'avoir des retombées sociétales non négligeables au niveau de la diminution des coûts engendrés par ces pathologies

chroniques sur le système de santé et sur les invalidités au travail entre autres. Tel que vu dans les chapitres précédents, la cocaïne altère la réponse inflammatoire. Cette voie de traitement n'a toutefois jamais été explorée à notre connaissance. Le système endocannabinoïde, par son rôle sur l'inflammation qui sera abordée dans le prochain chapitre, pourrait être une cible prometteuse pour le traitement du TUC. Le cannabidiol (CBD), un ligand exogène du système endocannabinoïde, a d'ailleurs démontré une potentielle efficacité dans le trouble de l'usage des opioïdes, où il a permis de réduire le désir intense de consommer induit par des signaux de consommation chez les utilisateurs d'héroïnes comparativement au placebo (Hurd et al., 2019).

Chapitre 5 – Cannabidiol & système endocannabinoïde

Cannabis sativa est une plante de laquelle il est possible d'extraire plus d'une centaine de cannabinoïdes (ElSohly, Radwan, Gul, Chandra, & Galal, 2017). Le cannabis a été légalisé au Canada en octobre 2018. Les deux cannabinoïdes les plus étudiés sont le delta-9-tétrahydrocannabinol (THC) et le CBD. Le CBD a démontré des propriétés analgésiques, anticonvulsivantes, anxiolytiques, neuroprotectrices, anti-inflammatoires, et antioxydantes entre autres (National Center for Biotechnology Information, 2021). Par son profil sécuritaire et tolérable, le CBD est d'un intérêt grandissant pour la communauté scientifique (Bonaccorso, Ricciardi, Zangani, Chiappini, & Schifano, 2019; Larsen & Shahinas, 2020; Lattanzi et al., 2018). Le CBD est présentement un traitement indiqué pour l'épilepsie associée au syndrome de Lennox-Gastaut, au syndrome de Dravet et à la sclérose tubéreuse de Bourneville (Meissner & Cascella, 2022). Santé Canada autorise également le CBD à des fins médicales pour le traitement de la douleur neuropathique, pour le traitement des nausées associées au cancer ou à la chimiothérapie, pour diminuer la perte de poids chez les personnes souffrant de cancer, VIH/SIDA et anorexie, pour le traitement de la spasticité chez les personnes souffrant de sclérose en plaque et dans l'approche de soins palliatifs (Santé Canada, 2018). Le CBD est à l'étude pour plusieurs autres conditions telles l'anxiété, la douleur chronique, les maladies inflammatoires et les maladies neurodégénératives (Meissner & Cascella, 2022).

Les prochains paragraphes élucideront le mécanisme d'action du CBD puis s'attarderont aux propriétés anti-inflammatoires du CBD démontrées par les études précliniques et cliniques. La sécurité du CBD sera discutée à la toute fin.

5.1 Mécanisme d'action du cannabidiol

Le mécanisme d'action du CBD est complexe et n'est pas encore totalement compris. Le CBD semble agir au niveau de plusieurs récepteurs, ce qui expliquerait son action pharmacologique très vaste. Le CBD est un ligand exogène du système endocannabinoïde par sa capacité de se lier aux récepteurs CB1 et CB2 en plus d'augmenter l'activité endogène de ce système par l'inhibition de l'hydrolase des amides d'acides gras (FAAH, de l'anglais *Fatty Acid Amide Hydrolase*). Le CBD

aurait également un effet sur plusieurs autres récepteurs tels les récepteurs sérotoninergiques (5-HT)_{1A}, les récepteurs activés par les proliférateurs de peroxysoxe (PPAR, de l'anglais *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor*) γ , les récepteurs de l'adénosine (A)_{2A} et les récepteurs vanilloïdes (TRPV, de l'anglais *Transient Receptor Potential Vanilloïde*)-1. La Figure 4 illustre l'interaction du CBD avec ces différents récepteurs (Atalay et al., 2019).

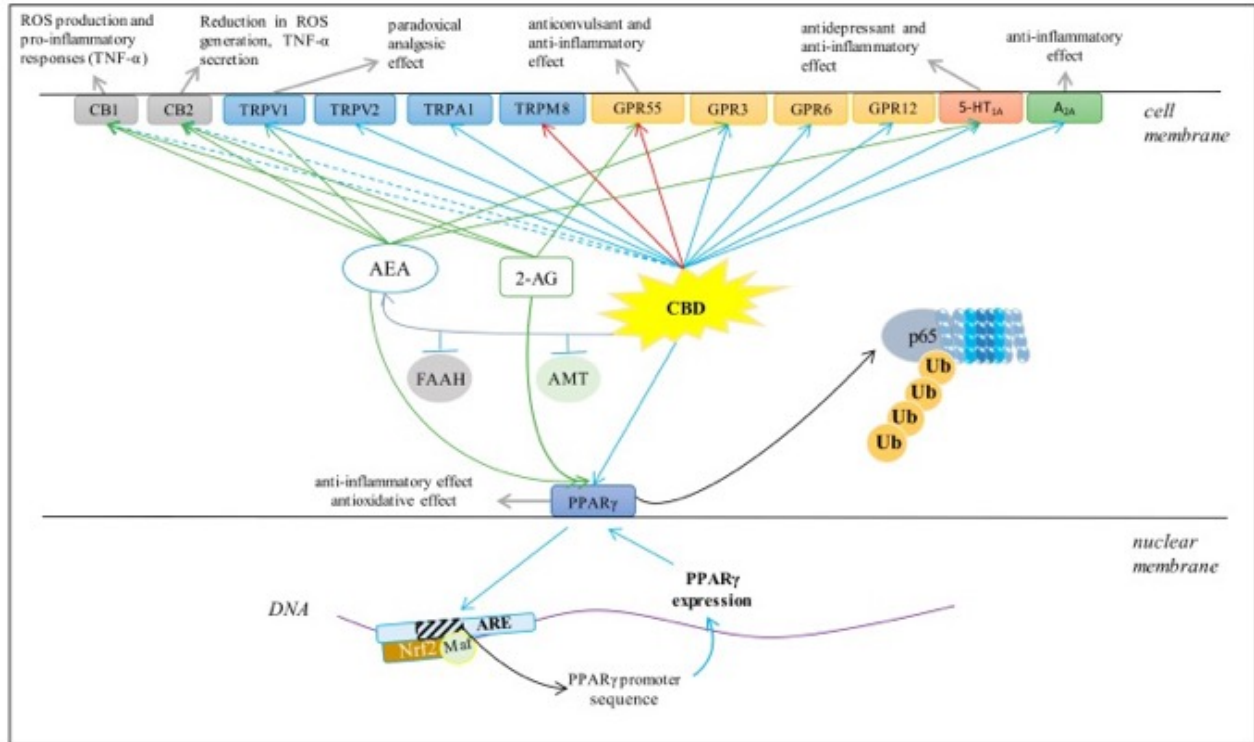


Figure 4. – Effets du cannabidiol sur les principaux récepteurs membranaires.

Image utilisée avec permission (Atalay et al., 2019).

5.1.1 Effet du cannabidiol sur le système endocannabinoïde

Le système endocannabinoïde est un système complexe de neuromodulation dont le rôle est de maintenir l'homéostasie des processus biologiques de base, tels la réponse immunitaire, la mémoire, la cognition, les mouvements, la sécrétion neuroendocrine et la modulation de la douleur (Croxford & Yamamura, 2005). Le système endocannabinoïde est composé de récepteurs cannabinoïdes, de ligands endogènes et d'enzymes de synthèse et de dégradation (Spanagel, 2020).

Récepteurs cannabinoïdes

Bien qu'il soit clairement démontré que le CBD agit sur les récepteurs endocannabinoïde CB1 et CB2, son action exacte sur ces récepteurs est encore mal comprise. Le CBD serait un modulateur allostérique négatif de CB1 (Laprairie, Bagher, Kelly, & Denovan-Wright, 2015), alors que d'autres études ont également proposé que le CBD serait un agoniste faible et même un antagoniste de CB1 (Atalay et al., 2019; De Almeida & Devi, 2020; McPartland, Duncan, Di Marzo, & Pertwee, 2015). En ce qui a trait au récepteur CB2, le CBD en serait un agoniste faible bien que certaines études ont aussi suggéré qu'il pourrait en être un agoniste inverse (Atalay et al., 2019). Les récepteurs CB1 se retrouvent principalement dans le SNC, entre autres au niveau de l'hippocampe, de la substance noire, du noyau accumbens, du putamen et du globus pallidus (Svizenska, Dubovy, & Sulcova, 2008) alors que les récepteurs CB2 se situent principalement sur le système nerveux périphérique, sur les cellules immunitaires et les organes lymphoïdes (Svizenska et al., 2008). Ce serait donc principalement l'effet du CBD sur les récepteurs CB2 des cellules immunitaires et des organes lymphoïdes qui contribueraient à l'action anti-inflammatoire du CBD, bien que les recherches tendent à démontrer qu'il y aurait des récepteurs CB1 sur les cellules immunitaires dans une moindre mesure (Martin-Fontecha et al., 2018; Turcotte, Chouinard, Lefebvre, & Flamand, 2015). L'activation de CB2 inhiberait l'adénylate cyclase et l'activation de la voie MAPkinase, ce qui diminuerait les fonctions immunitaires (Pellati et al., 2018). D'ailleurs, l'activation des récepteurs CB2 chez des rongeurs a réduit la réponse inflammatoire induite par les LPS (Gomez-Galvez, Palomo-Garo, Fernandez-Ruiz, & Garcia, 2016). À l'inverse, l'inactivation génétique des récepteurs CB2 a aggravé la réponse inflammatoire induite par les LPS (Gomez-Galvez et al., 2016), ce qui met en lumière la nécessité des récepteurs CB2 pour le contrôle de la réponse inflammatoire. L'activation de CB2 et également de CB1 a permis de diminuer l'inflammation dans plusieurs modèles auto-immuns et infectieux alors que les animaux déficients en ces récepteurs ont vu leurs niveaux inflammatoires augmenter (Turcotte et al., 2015).

Ligands endogènes

Les deux principaux ligands endogènes du système endocannabinoïde sont le N-arachidonylethanolamide mieux connu sous le nom d'anandamide (AEA) et le 2-arachidonyl-

glycerol (2-AG). Ces molécules bioactives sont synthétisées sur demande par la membrane cellulaire à partir d'acide arachidonique et ne peuvent pas être stockées dans des vésicules (Osafo, Yeboah, Antwi, & Ainooson, 2020; Spanagel, 2020). L'augmentation des niveaux d'AEA et de 2-AG a entraîné une diminution de l'inflammation dans divers modèles animaux *in vivo*, dont des modèles d'hépatites, d'hypoxie, d'Alzheimer, de traumatismes crâniens et d'ostéoarthrite entre autres (Turcotte et al., 2015). Ces molécules exercent leur effet anti-inflammatoire grâce à leur grande affinité pour les récepteurs CB1 et CB2 (Maccarrone, Guzman, Mackie, Doherty, & Harkany, 2014). Plusieurs études ont observé une augmentation des niveaux d'AEA suite à l'administration du CBD (Patricio, Morales-Andrade, Patricio-Martinez, & Limon, 2020). L'effet du CBD sur le 2-AG est encore très peu étudié, mais certaines études rapportent une augmentation des niveaux de 2-AG suite à l'exposition au CBD (Aviello et al., 2012; Maione et al., 2011; McPartland et al., 2015).

Enzymes de synthèse et de dégradation

La phospholipase D N-acylphosphatidylethanolamine-specific (NAPE-PLD) et la diacylglycérole lipase (DAGL) sont les enzymes de synthèse de l'AEA et du 2-AG respectivement alors que le FAAH et la monoacylglycérone lipase (MAGL) sont les enzymes de dégradation de l'AEA et du 2-AG respectivement (Oddi, Scipioni, & Maccarrone, 2020; Piomelli, 2003). Plusieurs études ont démontré la capacité du CBD à inhiber l'enzyme de dégradation de l'anandamide, le FAAH (De Almeida & Devi, 2020; McPartland et al., 2015). De ce fait, le CBD augmente les concentrations d'AEA dans le corps (Leweke et al., 2012). L'augmentation des niveaux d'AEA secondaire à l'inhibition du FAAH par le CBD contribue donc à l'effet anti-inflammatoire. Les effets du CBD sur les autres enzymes de synthèse et de dégradation du CBD sont encore très peu étudiés.

5.1.2 Effet du cannabidiol en dehors du système endocannabinoïde

Récepteur 5-HT_{1A}

Le CBD serait un agoniste des récepteurs 5-HT_{1A}. Au-delà des propriétés anxiolytiques et antinociceptives associées aux récepteurs sérotoninergiques (Resstel et al., 2009), ces récepteurs auraient également des propriétés antioxydatives (Biswal et al., 2015). L'AEA est également un agoniste de 5-HT_{1A}.

Récepteur PPAR γ

Le CBD serait un agoniste du récepteur PPAR γ (Atalay et al., 2019; O'Sullivan, 2016). L'activation du récepteur PPAR γ mène à l'inhibition du signalment de NF-kB (Atalay et al., 2019; Vallee, Lecarpentier, Guillevin, & Vallee, 2017). Tel que vu dans le chapitre 2, l'inhibition de NF-kB entraîne l'inhibition de la transcription génique de molécules inflammatoires, ce qui permet de réduire l'inflammation. L'activation de PPAR γ entraînerait également par une cascade complexe la réduction du stress oxydatif (Atalay et al., 2019; Vallee et al., 2017).

Canaux TRPV-1

Les récepteurs de potentiel transitoire (TRP, de l'anglais *Transient Potential Receptor*) sont une famille de protéines transmembranaires modulant une variété de stimuli chimiques et physiques tels la sensation de température, la pression, le pH et la perception de la douleur (Muller, Morales, & Reggio, 2018). Les canaux TRPV-1, aussi connus sous le nom de récepteurs capsaïcines, se situent principalement sur les neurones nociceptifs et sont particulièrement importants pour la détection de stimuli nocifs. Le CBD, tout comme l'AEA, est un agoniste des récepteurs TRPV-1 (Atalay et al., 2019). L'activation de canal TRPV-1 permet aux ions de traverser la membrane cellulaire. Une série de processus calcium-dépendant se produisent, menant à la désensibilisation du canal TRPV-1 qui entre alors en période réfractaire. La désensibilisation du récepteur entraîne un effet analgésique (Muller et al., 2018). L'affinité élevée du CBD pour les canaux TRPV-1 expliquerait en partie son efficacité à diminuer la douleur associée à l'inflammation.

Récepteurs adénosines

Le CBD serait un agoniste des récepteurs A_{2A} (Carrier, Auchampach, & Hillard, 2006). Il inhiberait également un transporteur équilibrant des nucléosides, menant à des niveaux plus élevés d'adénosine extracellulaire (Carrier et al., 2006). Les agonistes A_{2A} ont une activité anti-inflammatoire importante par leur capacité à inhiber la prolifération des cellules immunitaires et la production de cytokines pro-inflammatoires (Hasko & Pacher, 2008). Chez des souris traitées avec 1mg/kg de CBD avant l'injection de LPS, une diminution significative de la production du marqueur pro-inflammatoire TNF- α a été observée comparativement aux souris traitées avec le véhicule (Carrier et al., 2006). Cet effet anti-inflammatoire du CBD fut d'ailleurs renversé par

l'ajout d'un antagoniste des récepteurs A_{2A} (Carrier et al., 2006). De plus, les souris n'ayant pas le récepteur A_{2A} traitées avec le CBD n'avaient pas de réduction de leurs niveaux de TNF- α (Carrier et al., 2006). Chez des souris pour lesquelles une lésion pulmonaire aigüe a été induite par le LPS, le CBD a permis de diminuer la production de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire comparativement au véhicule (Ribeiro et al., 2012). Une fois de plus, l'ajout d'un antagoniste hautement sélectif des récepteurs A_{2A} a atténué les propriétés anti-inflammatoires du cannabidiol initialement observées (Ribeiro et al., 2012).

5.2 Effets du cannabidiol sur les marqueurs inflammatoires dans les études précliniques

Les propriétés anti-inflammatoires du CBD ont été largement mises en évidence dans les études précliniques. Une récente revue systématique a recensé les effets *in vivo* des cannabinoïdes sur les cytokines (Henshaw, Dewsbury, Lim, & Steiner, 2021). Vingt-six études réalisées sur des modèles animaux ont été incluses dans leur analyse, dont 20 études portaient sur le CBD spécifiquement. Les cytokines pro-inflammatoires les plus fréquemment étudiées étaient le TNF- α , l'IL-1 β , l'IL-6 et IFN- γ . Toutes ces cytokines étaient significativement diminuées par le CBD dans la majorité des études. Selon cette même revue systématique, les niveaux du marqueur anti-inflammatoire IL-10 étaient augmentés suite à l'administration de CBD dans la majorité des études (Henshaw et al., 2021). Une autre revue de la littérature plus vaste rapportant les effets du CBD à la fois pour les études *in vitro* et *in vivo* démontre que le CBD diminue plusieurs IL (IL-1, IL-6, IL-12, IL-17), chimiokines, TNF, IFN, ROS, prostaglandines, cyclooxygénases (COX), molécules d'adhésion, lymphocytes et monocytes entre autres (Nichols & Kaplan, 2020). Par ailleurs, l'effet anti-inflammatoire du CBD semble être dose-dépendant. Szekely et al. ont observé une réduction dose-dépendante des niveaux d'IL-6 suite à l'exposition de 10 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$ et 100 $\mu\text{g/mL}$ de CBD à des cellules sanguines humaines *in vitro* (Szekely, Ingbir, Bentur, Hochner, & Porat, 2020).

5.3 Effets du cannabidiol sur les marqueurs inflammatoires dans les études cliniques

À notre connaissance, seulement une étude clinique a évalué l'effet du CBD sur les marqueurs inflammatoires chez une population humaine. Cette étude clinique visait à déterminer l'efficacité et la sécurité du CBD sur la glycémie et les taux lipidiques de personnes diabétiques sur une période de 13 semaines (Jadoon et al., 2016). Comme issue tertiaire, trois marqueurs inflammatoires ont été évalués : TNF- α , CRP et IL-6. Aucune différence significative entre les groupes CBD et placebo n'a été observée à la fin des 13 semaines. Soulignons que seulement un petit échantillon de 13 participants a été assigné au CBD, ce qui diminue la puissance de l'étude. De plus, la dose de CBD administrée était faible (100 mg BID) (Larsen & Shahinas, 2020).

5.4 Sécurité du cannabidiol chez l'humain

Les revues systématiques et méta-analyses à ce jour soulèvent le profil sécuritaire et tolérable du cannabidiol chez l'humain. Selon une méta-analyse publiée en 2018 portant sur l'efficacité et la sécurité du cannabidiol dans le traitement de l'épilepsie, le CBD n'a pas été associé à des effets psychoactifs et n'a pas causé d'effets secondaires majeurs. Les effets indésirables les plus fréquemment rapportés étaient la somnolence, la diminution de l'appétit, la diarrhée et l'augmentation des aminotransférases (Lattanzi et al., 2018). Une revue systématique publiée en 2019 portant sur l'efficacité et la sécurité du cannabidiol dans le traitement des troubles psychiatriques mentionne que seule la somnolence fut rapportée comme effet secondaire. (Bonaccorso et al., 2019). Pour des doses de CBD allant de 16 mg à 1000 mg par jour, la plupart des études dont l'administration se faisait sur plusieurs semaines rapporte des effets secondaires légers à modérés tandis que les études dont l'administration ne se faisait qu'une seule fois ne rapportent en général aucun effet secondaire (Larsen & Shahinas, 2020). En somme, la littérature actuelle semble obtenir un consensus quant au profil sécuritaire du CBD. Toutefois, il s'avère nécessaire d'évaluer la sécurité à long terme du CBD lors de prochaines études (Larsen & Shahinas, 2020).

Chapitre 6 – Objectifs & hypothèses

Les précédents chapitres ont démontré que le TUC induisent un stress oxydatif favorisant une réponse inflammatoire systémique et une neuroinflammation. Le cannabidiol (CBD) a gagné en intérêt pour ses propriétés anti-inflammatoires dans les études précliniques ainsi que pour son profil sécuritaire et tolérable. À notre connaissance, une seule étude clinique a évalué les effets du CBD sur trois marqueurs inflammatoires spécifiques. Les propriétés anti-inflammatoires du CBD demeurent à être confirmées chez l'humain, et notamment chez les personnes avec un trouble lié à l'usage de substances.

6.1 Objectifs

L'objectif de ce mémoire est d'évaluer comment le CBD module les marqueurs inflammatoires dans un échantillon de personnes ayant un TUC comparativement au placebo.

6.2 Hypothèses

Les études précliniques ont révélé plusieurs propriétés anti-inflammatoires du CBD tant chez l'animal que sur les cellules humaines *in vitro*. En se basant sur ces résultats, l'hypothèse de travail est que le CBD diminuera les marqueurs pro-inflammatoires et augmentera les marqueurs anti-inflammatoires chez les participants traités avec le CBD comparativement à ceux traités avec le placebo.

Chapitre 7 – Méthodologie

7.1 Devis de recherche

Un essai clinique randomisé contrôlé à double insu et unicentrique a été mené au Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM). Soixante-dix-huit (78) participants ont été randomisés au traitement CBD ou placebo pour une période de 92 jours.

7.2 Participants

La population ciblée était les individus ayant un TUC actif. Tous les individus souhaitant participer à l'étude devaient respecter les critères d'inclusion et d'exclusion suivants.

7.2.1 Critères d'inclusion

1. Âgé entre 18 et 65 ans inclusivement;
2. TUC modéré ou sévère selon les critères du DSM-5;
3. Consommation de cocaïne dans les deux semaines précédant l'admission dans l'étude confirmée par le questionnaire *Timeline Follow Back*;
4. Consentement pour la phase d'hospitalisation au CHUM;
5. Capacité à donner un consentement éclairé;
6. Capacité à parler et à lire le français ou l'anglais.

7.2.2 Critères d'exclusion

1. Condition médicale sévère ou instable qui compromettrait la sécurité du participant selon le médecin;
2. Condition psychiatrique sévère (schizophrénie, trouble schizoaffectif ou trouble bipolaire), psychose aigüe courante, manie ou suicidalité, évalués par le *Mini International Neuropsychiatric Interview 7.0*;
3. Autre trouble de l'usage courant et sévère ou nécessitant un traitement pharmacologique durant l'étude (excepté un traitement pour la nicotine);

4. Personnes immunosupprimées (exemple pour les participants ayant le VIH : VIH détectable ou compte de lymphocytes CD4 < 350 cells/ μ L), ayant un cancer ou ayant un syndrome auto-immun;
5. Hypersensibilité aux cannabinoïdes;
6. Médication qui pourrait interagir avec le CBD (c.-à-d. médication psychotrope telle les benzodiazépines, anticonvulsivants);
7. Grossesse ou allaitement;
8. Personnes prévoyant concevoir un enfant dans les 12 prochains mois;
9. Femmes en âge de procréer refusant d'utiliser une contraception efficace pendant l'étude et jusqu'à 3 mois suivants la fin de l'étude;
10. Hommes avec un historique de problèmes de fertilité;
11. Condition médicale ou psychiatrique grave empêchant la personne de donner son consentement.

7.2.3 Recrutement

Les participants ont été recrutés par les programmes cliniques et de recherches de toxicomanie du CHUM. Des publicités dans les journaux et sur internet (kijiji, craigslist) ont également été utilisées, en plus du bouche-à-oreille. Les participants du projet de recherche HEPCO, une étude codirigée par la Dre Julie Bruneau affiliée au CHUM sur les liens entre la santé mentale et les comportements à risque liés à la transmission du VIH et du VHC chez les consommateurs de stimulants et d'opioïdes, étaient également recrutés s'ils étaient éligibles.

Des lits ont été mis à disposition au CHUM pour permettre le recrutement d'au moins 3 à 4 participants par mois.

7.2.4 Compensation

Les participants ont reçu une compensation pouvant atteindre 400\$. Vingt (20) dollars leur ont été donnés suite à la visite d'éligibilité, 50\$ à la fin de l'hospitalisation, 25\$ à chacune des 10 visites de suivi et 40\$ lors de deux visites de suivi particulièrement importantes (semaines 4 et 12).

7.2.5 Éthique

Cet essai clinique randomisé contrôlé a été approuvé par le comité éthique de la recherche du CHUM. Cette étude a également été menée conformément à la Déclaration de Helsinki et aux normes canadiennes et internationales de bonnes pratiques cliniques (lignes directrices de Santé Canada et de la conférence internationale sur l'harmonisation). L'essai a été enregistré sur clinicaltrials.gov avant le recrutement du premier participant. Pour respecter les normes de confidentialité, les données des participants ont été anonymisées, gardées sous clé lorsqu'en format papier et sous code lorsqu'en format informatisé.

7.3 Procédure

7.3.1 Randomisation

Les participants ont été randomisés dans un ratio 1 pour 1 au traitement CBD ou placebo. La randomisation a été stratifiée en bloc de 4 selon le sexe (Fox et al., 2006) et la sévérité de la dépendance à la cocaïne (Ferri, Dunn, Gossop, & Laranjeira, 2004) déterminée par le *Severity of Dependence Scale* (dichotomisé par un score $<$ or \geq 10). Les variables de stratifications ont été choisies en fonction des issues primaires, soit la rechute et le désir intense de consommer. La randomisation a été effectuée par un statisticien indépendant de l'Unité de recherche clinique appliquée.

7.3.2 Intervention

Le CBD et le placebo étaient administrés oralement, sous forme de liquide une fois par jour et ce, pour une période totale de 92 jours. *Insys Therapeutics* a conçu et fourni le traitement expérimental et le placebo. Tous deux contenaient de la vitamine E, de la saccharine, des triglycérides à chaîne moyenne et de l'arôme de fraise. Le traitement expérimental contenait en plus 400 mg de CBD pour les jours 2 et 3 et 800 mg de CBD pour les jours 4 à 92. Le traitement expérimental et le placebo étaient identiques en apparence et en goût. Les participants qui ressentaient des effets secondaires insoutenables pouvaient maintenir une dose de 400 mg pour toute la durée de l'étude. La dose de 800 mg a été choisie en fonction des issues primaires de rechute et de désir intense de consommer. Hurd et al. 2019 ont démontré les bénéfices potentiels

de 400 mg et 800 mg de CBD sur le désir intense de consommer de personnes ayant un trouble de l'usage des opioïdes (Hurd et al., 2019). La dose de 800 mg par jour de CBD était considérée sécuritaire et tolérable (Iffland & Grotenhermen, 2017; Manini et al., 2015).

Lors de la phase d'hospitalisation (jours 1 à 10), l'administration supervisée du traitement se faisait à 10h (\pm 2h). Lors de la phase à la maison (semaines 1 à 12), les participants devaient se déplacer hebdomadairement à la pharmacie du centre de recherche afin d'obtenir leurs doses de traitement pour la semaine.

7.3.3 Mise à l'aveugle

Les participants et l'équipe de recherche ne connaissaient pas l'assignation du traitement. Les liquides de CBD et de placebo goûtaient la même chose et étaient visuellement semblables. Les traitements étaient conservés dans des enveloppes individuelles à la pharmacie de manière à ce que si l'insu est brisé pour un participant, il ne le sera pas pour les autres participants. L'aveuglement a d'ailleurs été conservé jusqu'à la fin des analyses statistiques.

7.4 Mesures

7.4.1 Analyse des cytokines et des phénotypes cellulaires

Échantillons sanguins

Des échantillons sanguins de 35 mL ont été prélevés à 9h du matin au CHUM à quatre moments pendant l'étude : jour 2 (base de référence), jour 8, semaine 4 et semaine 12. Pour empêcher le sang de coaguler, des tubes Vacutainer à acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) ont été utilisés.

Le plasma a été obtenu par centrifugation de 1500 g pour une période de 15 minutes et a été par la suite congelé à -80°C jusqu'au moment de l'analyse des cytokines.

Les cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC, de l'anglais *Peripheral Blood Mononuclear Cell*) ont été isolées par centrifugation en gradient de densité. Pour ce faire, une solution saline tamponnée au phosphate (PBS, de l'anglais *Phosphate-Buffered Saline*) a été ajouté à du sang

total, puis a été centrifugé dans un tube Wisent ayant un médium de séparation des lymphocytes. La centrifugation de 30 g s'est déroulée sur une période de 30 minutes sans pause. Les PBMC alors isolés ont été retirés délicatement de la surface et nettoyés à deux reprises avec un grand volume de PBS. Les PBMC ont été comptés et le pourcentage de viabilité a été estimé à l'aide d'une coloration au bleu de trypan, qui colore les cellules mortes. Les PBMC ont alors été cryopréservés dans l'azote liquide jusqu'à leur utilisation pour la détermination des phénotypes cellulaires.

Concentrations de cytokines

Les concentrations de cytokines ont été déterminées à partir du plasma. Les analytes du V-PLEX *Human Biomarker 40-Plex Kit* de *Meso Scale Discovery* (MSD) ont été utilisés pour marquer différentes protéines inflammatoires plasmatiques. Chaque analyte est immunofluorescent, ce qui permet à la machine *MSD Discovery Workbench* de les détecter et de les compter. La technologie d'immunodosage multiplexée de MSD permet d'analyser plusieurs marqueurs à la fois, ce qui réduit le temps d'analyse.

Phénotypes cellulaires

Les phénotypes cellulaires ont été déterminés à partir des PBMC précédemment isolées. Les PBMC ont premièrement été colorées à l'aide du *Live Dead Fixable Cell Kit* d'Invitrogen pour départir les cellules vivantes de mortes. Les sites de liaisons non spécifiques ont par la suite été bloqués par des gamma globulines humaines produites par *Jackson Immunoresearch*. Des anticorps monoclonaux fluorescents variés ont été ajoutés aux PBMC pendant 30 minutes à 4°C dans le noir. Les cellules ont été nettoyées avec du PBS puis remises en suspension dans du PBS. Une machine de cytométrie en flux BDSFortessa de BD Biosciences a analysé les cellules avec l'aide du logiciel FlowJo de Tree Star.

Choix de marqueurs

Dû à des limites de fond, nos analyses ont été réalisées en deux phases: une phase exploratoire et une phase finale. La phase exploratoire a permis d'analyser 40 analytes cytokiniques et 39 anticorps monoclonaux sur les échantillons des 12 premiers participants. Les marqueurs

inflammatoires pour lesquels une différence entre les groupes a été associée à un $p < 0.1$ ont alors été utilisés pour l'ensemble des 48 participants.

7.4.2 Concentrations plasmatiques de CBD

La concentration plasmatique de CBD a été déterminée par une extraction liquide/liquide en présence d'acétonitrile et d'étalon interne CBD-d3, suivi d'une dérivation au chlorure de dansyle du CBD. Le CBD a alors été mesuré par chromatographie liquide à haute performance en phase inverse avec ionisation par électronébulisation et spectrométrie de masse en tandem (HPLC-ESI-MS/MS, de l'anglais *High-Performance Liquid Chromatography/Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry*).

7.4.3 Effets secondaires

Les effets secondaires ont été récoltés à chaque visite à l'aide du *Systematic Assessment for Treatment Emergent Events – General Inquiry* (SAFTEE - GI). Le SAFTEE-GI est une échelle standardisée conçue pour collecter les informations sur les événements indésirables de santé survenant au cours d'un essai clinique, qu'ils soient suspectés ou non d'être liés au médicament (Levine & Schooler, 1986).

7.5 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées selon l'intention thérapeutique, alors tous les participants randomisés ont été inclus dans les analyses. Le logiciel SPSS Statistics version 26 a été utilisé pour effectuer les analyses.

7.5.1 Taille d'échantillon

La taille d'échantillon a été calculée en fonction des deux issues primaires : l'envie intense de consommer induite par un stimulus de drogue et le temps avant la rechute. Pour obtenir une puissance de 80% et une erreur alpha de 0.025 suite à la correction de Bonferroni, 110 participants étaient nécessaires. Dû à des limites de fonds, les prises de sang des 48 premiers participants uniquement ont été conservées pour analyses.

7.5.2 Méthodes statistiques

Statistiques descriptives

Les caractéristiques de base des participants ont été analysées à l'aide de moyennes et d'écart types pour les variables continues, et de pourcentages pour les variables catégorielles.

Équations d'estimation généralisées

Des équations d'estimation généralisées (GEE, de l'anglais *Generalized Estimating Equation*) ont été utilisées pour déterminer s'il y avait une différence pour chaque marqueur inflammatoire entre les groupes CBD et placebo. Puisque les niveaux de marqueurs inflammatoires ont été mesurés à trois moments durant l'étude (jour 8, semaine 4 et semaine 12) en plus des niveaux de base pris avant le début du traitement (jour 2), il s'avérait pertinent d'utiliser une méthode statistique prenant en considération les mesures répétées. Le GEE est un modèle linéaire généralisé permettant l'analyse de mesures répétées. Elle part de l'hypothèse que les observations sont supposées être dépendantes chez un même sujet et indépendantes entre les sujets. Une analyse par mesure répétée permet donc de diminuer l'effet de la variabilité intra-sujet. Comparativement à l'analyse de covariance (ANCOVA), le GEE a l'avantage de conserver les participants pour lesquels il y aurait une valeur manquante. Les variables de stratifications (le sexe et le score de sévérité de la dépendance (*Severity of Dependence Scale*)) étaient des covariables dans notre modèle. Considérant notre petite taille d'échantillon de 48 participants, les niveaux de base de chaque marqueur inflammatoire (jour 2) ont été ajoutés en covariable pour pallier de possibles déséquilibres entre les groupes. L'âge a également été ajouté en covariable puisque la littérature révèle que l'inflammation augmente avec le vieillissement (Chung et al., 2019; Ferrucci & Fabbri, 2018).

Analyses de sensibilité

La prise d'anti-inflammatoire n'était pas un critère d'exclusion pour cet essai clinique randomisé, bien qu'elle ait pu affecter nos niveaux inflammatoires. Les médicaments pris par les participants étaient toutefois notés. Pour vérifier l'impact potentiel de la prise d'anti-inflammatoire par certains participants, nous avons effectué deux analyses de sensibilité. La première analyse de sensibilité consistait à ajouter dans notre GEE en covariable binaire la prise ou non d'un anti-

inflammatoire. La deuxième analyse de sensibilité consistait à refaire les analyses GEE en excluant tous les participants ayant pris au moins une fois un anti-inflammatoire durant l'étude. Le paramètre d'estimation était alors comparé entre les deux groupes afin de vérifier si la tendance des résultats restait la même.

Corrélations de Pearson

Afin de vérifier si la dose fixe de CBD administrée aux participants aurait pu affecter nos résultats, nous avons effectué des corrélations de Pearson entre les niveaux des principaux marqueurs inflammatoires significatifs et le poids des participants, et entre les niveaux des principaux marqueurs inflammatoires significatifs et la concentration plasmatique de CBD.

Chapitre 8 – Présentation de l'article

Cet article a été publié dans le journal *Neuropsychopharmacology* en juillet 2022.

Exploring Cannabidiol Effects on Inflammatory Markers in Individuals with Cocaine Use Disorder: a Randomized Controlled Trial

Authors: Florence Morissette^{1,2}, Violaine Mongeau-Pérusse (MAsc)^{1,2}, Elie Rizkallah (PhD)^{1,2}, Paméla Thébault (PhD)^{2,3}, Stéphanie Lepage (MSc)^{2,3}, Suzanne Brissette (MD)^{2,4}, Julie Bruneau (MD MSc)^{2,4}, Simon Dubreucq (MD MSc)^{1,2}, Emmanuel Stip (MD PhD)^{1,2,5}, Jean-François Cailhier (MD PhD)^{2,3,6*}, Didier Jutras-Aswad (MD MSc)^{1,2,7*#}

Affiliations: ¹Department of Psychiatry and Addictology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada; ²Research Centre of Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), Montreal, Quebec, Canada; ³Montreal Cancer Institute, Montreal, Quebec, Canada; ⁴Department of Family and Emergency Medicine, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada; ⁵Department of Psychiatry and Behavioral science, College of Medicine and Health Sciences, United Arab Emirates University, Al Ain, Abu Dhabi, United Arab Emirates; ⁶Division of Nephrology, Department of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Quebec, Canada; ⁷University Institute on Addictions, Montreal, Quebec, Canada.

***Co-last authors, contributed equally to the work**

#Corresponding author: Didier Jutras-Aswad, Research Centre, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, 900 St-Denis Street, room R05.740, Montreal, Quebec, Canada, H2X 0A9, didier.jutras-aswad@umontreal.ca, Phone: +1 (514) 890-8000 #30938, Fax: +1 (514) 412-7320.

ABSTRACT

Cocaine use disorder (CUD) is a major public health issue associated with physical, social and psychological problems. Excessive and repeated cocaine use induces oxidative stress leading to a systemic inflammatory response. Cannabidiol (CBD) has gained substantial interest for its anti-inflammatory properties, safety and tolerability profile. However, CBD anti-inflammatory properties have yet to be confirmed in humans. This exploratory study is based on a single-site randomized controlled trial that enrolled participants with CUD between 18 and 65 years, randomized (1:1) to daily receive either CBD (800 mg) or placebo for 92 days. The trial was divided into a 10-day detoxification (phase I) followed by a 12-week outpatient follow-up (phase II). Blood samples were collected from 48 participants at baseline, day 8, week 4 and week 12 and were analyzed to determine monocytes and lymphocytes phenotypes, and concentrations of various inflammatory markers such as cytokines. We used generalized estimating equations to detect group differences. Participants treated with CBD had lower levels of interleukin-6 ($p=0.017$), vascular endothelial growth factor ($p=0.032$), intermediate monocytes $CD14^+CD16^+$ ($p=0.024$) and natural killer $CD56^{neg}CD16^{hi}$ ($p=0.000$) compared with participants receiving placebo. $CD25^+CD4^+$ T cells were higher in the CBD group ($p=0.007$). No significant group difference was observed for B lymphocytes. This study suggests that CBD may exert anti-inflammatory effects in individuals with CUD.

Clinical trial registration: [ClinicalTrials.gov \(NCT02559167\)](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02559167)

INTRODUCTION

Cocaine has been used in the past year by more than 18 million people worldwide (United Nations Office on Drugs and Crime, 2019) and will trigger a cocaine use disorder (CUD) in 16% of users (Florez-Salamanca et al., 2013). Excessive and repeated cocaine consumption is associated with psychological, social and physiological problems and represents a major public health issue (Farrell et al., 2019). Chronic cocaine abuse and withdrawal lead to impaired immune system, with increased pro-inflammatory cytokines and lymphocytes (Fox et al., 2012; Levandowski et al., 2014; Moreira et al., 2016; Narvaez et al., 2013; Zaparte et al., 2019). These changes may be explained by the overdrive of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis (Manetti et al., 2014; Sholar et al., 1998) and the sympathetic nervous system (Loftis & Huckans, 2013; Riezzo et al., 2012), generating oxidative stress over time and promoting a systemic inflammatory response (Cisneros et al., 2018; Kovacic, 2005; Lopez-Pedrajas et al., 2015; Picard et al., 2014; Sajja et al., 2016). Cocaine also alters tight junction proteins and cytoskeleton of the blood-brain barrier (BBB), which increases BBB permeability (Dhillon et al., 2008; Pimentel et al., 2020). This increased BBB permeability allows inflammatory cells to migrate across the BBB leading to neuroinflammation (Clark et al., 2013; Kousik, Napier, & Carvey, 2012; Moretti et al., 2019). In addition, CUD is associated with serious comorbidities such as human immunodeficiency virus (HIV) and hepatitis C virus (HCV) infections, skin and soft tissue infections, cardiovascular disease, depression and psychosis (Farrell et al., 2019). These comorbidities have an important inflammatory component (Barron, Hafizi, Andrezza, & Mizrahi, 2017; Furman et al., 2019) although their causal link with CUD inflammatory process has not been established.

Cannabidiol (CBD), one of cannabis's major cannabinoids, has gained substantial interest for its anti-inflammatory, anti-oxidative and neuroprotective properties in preclinical studies (Atalay et al., 2019; McKenna & McDougall, 2020; Nichols & Kaplan, 2020) in addition to its favourable safety and tolerability profile (Bonaccorso et al., 2019; Larsen & Shahinas, 2020; Lattanzi et al., 2018). Anti-inflammatory actions of CBD have been relatively well investigated in animals and *in vitro*. Cumulating preclinical evidence highlights that CBD decreases cytokines, monocytes and lymphocytes by several hypothetical mechanisms such as cannabinoid receptor type 2 activation,

peroxisome proliferator-activated receptor γ activation and anandamide upregulation following fatty acid amide hydrolase inhibition (Atalay et al., 2019; De Almeida & Devi, 2020; Nichols & Kaplan, 2020). Cytokines are a broad family of immune signalling molecules including interleukins (IL) and chemokines. Monocytes are precursors of antigen-presenting cells acting as messengers between the innate and adaptive immune system. Lymphocytes T and B are the principal components of the adaptive immune system while natural killer (NK) cells have an innate cytotoxic activity. All these immune molecules are key targets in the inflammatory process.

However, CBD anti-inflammatory properties have yet to be confirmed in humans. To our knowledge, only one clinical study in patients with type 2 diabetes assessed CBD effects on only three inflammatory markers: IL-6, C-reactive protein (CRP) and tumour necrosis factor- α (TNF- α) (Jadoon et al., 2016). The authors found no significant difference between CBD and placebo groups on these markers with a 100 mg CBD dose twice daily for 13 weeks. No study has yet evaluated CBD anti-inflammatory action at higher dosage and in individuals with addiction, including CUD. Consequently, it remains unclear if and how CBD modulates inflammatory markers in individuals with CUD.

This study is part of a larger randomized controlled trial (RCT) assessing CBD effects on cocaine craving and relapse in individuals with CUD (Mongeau-Perusse et al., 2021). Our exploratory aim was to examine the association between CBD and inflammatory markers in individuals with CUD. In accordance with preclinical findings, we hypothesized that treatment with daily oral CBD (800 mg) would modulate inflammation by decreasing pro-inflammatory markers and increasing anti-inflammatory markers compared with placebo in individuals with CUD.

PATIENTS AND METHODS

Trial design

The single-site RCT was conducted at Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM) in Montreal, Quebec, Canada, and is described in more details elsewhere (Mongeau-Perusse et al., 2021). The trial was approved by the CHUM research ethics committee and followed relevant

ethical guidelines (Helsinki Declaration, International Standards of Good Clinical Practice, Tri-Council Policy Statement, Health Canada division 5 guidelines). All participants gave their written informed consent prior to enrollment. The trial was divided into two phases. Phase I consisted in an inpatient detoxification period lasting 10 days. Phase II involved an outpatient follow-up period lasting 12 weeks. Participants received up to \$400 for their time.

Participants

Key inclusion criteria were adults aged between 18 and 65 years diagnosed with current CUD (Structured Clinical Interview [SCID] for DSM-V) who had consumed cocaine within two weeks prior to admission. Participants needed to speak English or French and be able to give a valid informed consent. Key exclusion criteria were severe and/or unstable medical or psychiatric conditions, immunodeficiency, other substance use disorder (except nicotine) that would require treatment during the study, hypersensitivity to cannabinoids and use of medication that could interact with CBD. Participants needed to successfully complete phase I to become eligible for phase II.

Randomization and blinding

An independent biostatistician created the computer-generated randomization sequence to assign participants to CBD or placebo group in a 1:1 ratio. The stratification variables were sex (Fox et al., 2006) and baseline severity of cocaine dependence ($<$ or ≥ 10) assessed by the Severity of Dependence Scale (SDS) (Ferri et al., 2004). Participants and research staff were blinded to treatment allocation. Blinding strategies are explained elsewhere (Mongeau-Perusse et al., 2021).

Sample size

The sample size for the RCT was calculated based on the primary outcomes as reported elsewhere (Mongeau-Perusse et al., 2021). Full biobanking was done only for the first 48 participants enrolled before September 27, 2018 (CBD, $n=24$; placebo, $n=24$) due to funding restrictions.

Interventions

Participants were admitted at the CHUM for a 10-day detoxification (phase I). They received at 10 a.m. either CBD (400 mg/day) or placebo (Insys Therapeutics) on days 2 and 3. This dose was increased to 800 mg/day from day 4 until the end of the trial for all participants except one who experienced intolerable side effects. During phase II (weeks 1-12), participants were weekly given treatment bottles at each visit. The dosage selection was based on available safety and relevant clinical data for relapse and craving (Iffland & Grotenhermen, 2017).

Data collection

Blood samples were collected at 9 a.m. at the CHUM from all participants on day 2 (baseline), day 8, week 4 and week 12 in ethylenediaminetetraacetic vacutainer tubes. Plasma was obtained by centrifugation (1500 g, 15 min) and stored at -80°C. Peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were isolated by density gradient centrifugation. Whole blood, diluted ½ with phosphate buffer saline (PBS), was layered over lymphocyte separation medium (Wisent) in a falcon tube and centrifuged 30 min at 300 g without brakes. PBMC were gently removed at the interface and washed twice with a large volume of PBS. The pelleted cells were counted and the percentage of viability was estimated using trypan blue staining. PBMC were cryopreserved in liquid nitrogen until use.

Inflammatory Markers Selection

Due to funding restrictions, we did a discovery pre-analysis with the first 12 completed participants to select markers showing a differential expression between groups ($p < 0.1$). The inflammatory multiplex V-PLEX Human Biomarker 40-Plex Kit and six panels were used for the discovery phase (corresponding author can be contacted for more details). Analyses of markers showing a differential expression between groups were extended to all 48 participants and are listed in Tables S1 and S2. Inflammatory markers were analyzed using the following methods.

Flow cytometry

PBMCs were thawed and first stained with the Live/Dead Fixable cell Kit (Invitrogen). Then, non-specific binding sites were blocked with human gamma globulin (Jackson ImmunoResearch). Cells

surface staining was performed using fluorescent dye-conjugated monoclonal antibodies (BD Biosciences, listed in Table S1) for 30 min at 4 °C in the dark. Cells were then washed with staining buffer (PBS-5 % Bovine serum albumin-0.1 % NaNO₃) and resuspended in staining buffer. Flow cytometry data were acquired using a BDFortessa instrument (BD Biosciences) and analyzed using FlowJo software (Tree Star).

Cytokines measurements

Peripheral soluble cytokines and chemokines were measured in cryopreserved plasma from participants using the V-plex Ultra-sensitive kit (Meso Scale Discovery). Table S2 lists all analytes. The kit was processed as per manufacturer's instructions. Electroluminescent data were analyzed with a four-parameter logistic curve fit using MSD Discovery Workbench.

Outcomes

The concentrations of cytokines and the percentages of monocytes and lymphocytes were measured in each treatment group at baseline (day 2), day 8, week 4 and week 12. We also measured CBD blood concentration on day 8, week 4 and week 12. Anti-inflammatory drugs used during the trial were also recorded.

Statistical analyses

Between-group comparisons were performed using generalized estimating equations (GEE) with SPSS 26 software. Sex, baseline SDS score and age were included as covariates. Considering our small sample size, we adjusted for levels of inflammatory markers at baseline (day 2) to account for possible imbalances between groups. Only p-values < 0.05 were considered statistically significant. Quantitative data were normally distributed (D'Agostino-Pearson normality test). A *posteriori* sensitivity analyses were realized to assess the effect of anti-inflammatory drug use. First, we repeated the GEE for the five main significant inflammatory markers excluding all participants taking anti-inflammatory drugs at least once during the trial. Second, anti-inflammatory drug use was added as a binary covariate in our model. To verify if our fixed CBD

dose may have affected CBD effect on inflammation, we performed *a posteriori* Pearson correlations between the five main significant inflammatory markers' level variation from baseline and weight or CBD plasma concentration. Finally, while we did not find differences in craving between CBD and placebo groups as previously reported (Mongeau-Perusse et al., 2021), hypothetical mechanisms suggest that neuroinflammation can lead to modulation of the drug-reward system and possibly of addictive behaviors such as craving (Cui, Shurtleff, & Harris, 2014). We thus conducted *a posteriori* linear regressions to determine if the five main significant inflammatory markers' level influenced drug-cue induced craving by treatment group.

RESULTS

Participant flow and numbers analyzed

Recruitment took place between July 20, 2016, and June 25, 2019. Biobanking stopped on September 27, 2018, due to funding restrictions. The first 48 (CBD, 24/40, 60.0%; placebo, 24/38, 63.2%) participants randomized before this date provided blood samples and were included in the analyses. Figure 1 presents participant's flowchart.

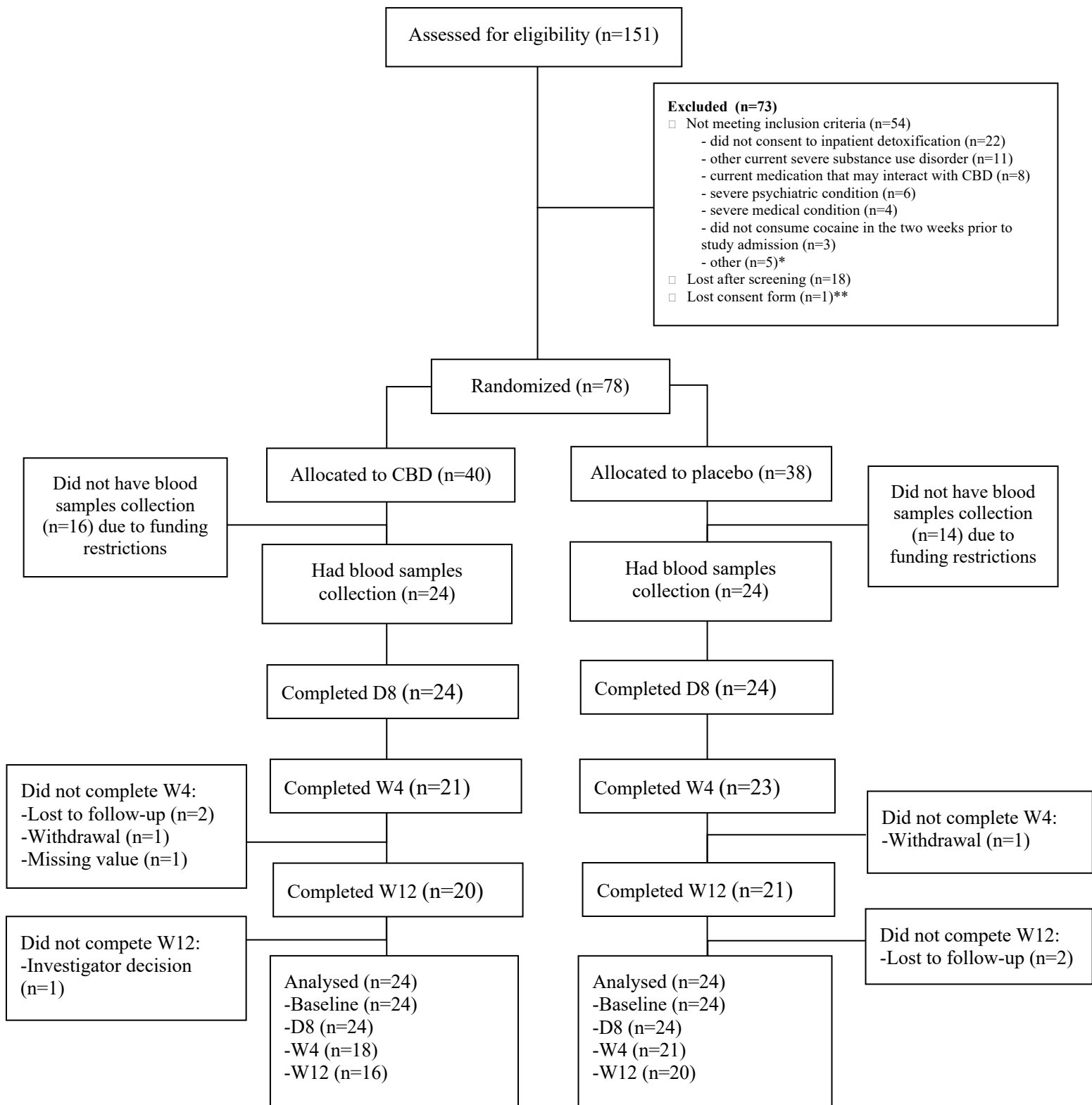


Fig. 1: Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) flowchart of participants (adapted with permission from Mongeau-Pérusse et al., 2021(Mongeau-Perusse et al., 2021)). *Other reasons for exclusion were male fertility issues (n=2), immunosuppression (n=2) and not currently moderate or severe CUD according to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition criteria (n=1). **Lost consent form and refusal to re-consent ended participation. The data safety and monitoring board requested that no data from this participant be used in the study. CBD, cannabidiol; D, day; n, number of participants; W, week.

Demographics and clinical characteristics

Table 1 presents participants' demographics and baseline characteristics. Most participants were men (n = 39/48, 81.2 %) with a mean (standard deviation, SD) age of 46.0 (11.0) years old. The mean body mass index was 25.7 (4.6) kg/m². Most participants (n = 45/48, 93.8 %) had a severe CUD based on the SCID. Last cocaine use was on average (SD) 2.9 (3.1) days before study initiation. Furthermore, 14/48 (29.2 %) participants also had another substance use disorder. All demographics and baseline characteristics were balanced between groups.

Table 1. Demographic and baseline characteristics of participants.

Characteristics	Treatment group		Total (n=48)
	CBD (n=24)	Placebo (n=24)	
Age, mean (SD), y	46.6 (10.1)	45.4 (12.0)	46.0 (11.0)
Female sex, n (%)	4 (16.7)	5 (20.8)	9 (18.8)
Weight, mean (SD), kg	74.9 (11.8)	78.7 (20.4)	76.8 (16.6)
Body mass index, mean (SD), kg/m ²	25.0 (3.3)	26.3 (5.6)	25.7 (4.6)
Time between study initiation and last cocaine use, mean (SD), days	2.1 (1.5)	3.8 (3.9)	2.9 (3.1)
Frequency of cocaine use two weeks before study initiation, mean (SD), days	7.5 (4.5)	6.0 (3.9)	6.8 (4.2)
SDS total score, mean (SD)	11.1 (2.3)	11.9 (2.7)	11.5 (2.5)
SDS group, n (%)			
Low (SDS < 10)	6 (25.0)	5 (20.8)	11 (22.9)
High (SDS ≥ 10)	18 (75.0)	19 (79.2)	37 (77.1)
Severity of Cocaine Use Disorder based on the SCID, n (%)			
Severe	22 (91.7)	23 (95.8)	45 (93.8)
Moderate	2 (8.3)	1 (4.2)	3 (6.3)

Preferred route of cocaine administration, n (%)				
	Nasal	5 (20.8)	10 (41.7)	15 (31.3)
	Smoking	15 (62.5)	13 (54.2)	28 (58.3)
	Non-intravenous injection	1 (4.2)	0 (0.0)	1 (2.1)
	Intravenous	3 (12.5)	1 (4.2)	4 (8.3)
Highest level of schooling completed, n (%)				
	Less than high school	8 (33.3)	6 (25.0)	14 (29.2)
	High school	7 (29.2)	10 (41.7)	17 (35.4)
	More than high school	9 (37.5)	8 (33.3)	17 (35.4)
Ethnicity, n (%)				
	White	20 (83.3)	21 (87.5)	41 (85.4)
	Other	4 (16.7)	3 (12.5)	7 (14.6)
Employment status, n (%)				
	Full time	7 (29.2)	11 (45.8)	18 (37.5)
	Part time	5 (20.8)	6 (25.0)	11 (22.9)
	Disability or employment insurance	2 (8.3)	4 (16.7)	6 (12.5)
	Social welfare	7 (29.2)	2 (8.3)	9 (18.8)
	Unstable condition	3 (12.5)	1 (4.2)	4 (8.3)
Marital status, n (%)				
	Married or common-law couple	0 (0.0)	2 (8.3)	2 (4.2)
	Single	24 (100.0)	22 (91.7)	46 (95.8)
Housing status, n (%)				
	Stable housing	21 (87.5)	22 (91.7)	43 (89.6)
	Homeless	3 (12.5)	2 (8.3)	5 (10.4)
Current substance use disorder, n (%)				
	Cannabis	3 (12.5)	3 (12.5)	6 (12.5)
	Alcohol	4 (16.7)	3 (12.5)	7 (14.6)
	Stimulant	1 (4.2)	0 (0.0)	1 (2.1)
	Other	2 (8.3)	0 (0.0)	2 (4.2)
Current and past medical conditions, n (%)				
	Cardiovascular	4 (16.7)	5 (20.8)	9 (18.8)
	Respiratory	6 (25.0)	6 (25.0)	12 (25.0)
	Hepatobiliary	6 (25.0)	5 (20.8)	11 (22.9)
	Gastroenterological	2 (8.3)	6 (25.0)	8 (16.7)

Genital	4 (16.7)	2 (8.3)	6 (12.5)
Hematological	0 (0.0)	1 (4.2)	1 (2.1)
Musculoskeletal	7 (29.2)	4 (16.7)	11 (22.9)
Neurological	7 (29.2)	4 (16.7)	11 (22.9)
Endocrine	0 (0.0)	3 (12.5)	3 (6.3)
Immunological	0 (0.0)	1 (4.2)	1 (2.1)
Dermatological	5 (2.8)	2 (8.3)	7 (14.6)
Allergy	6 (25.0)	1 (4.2)	7 (14.6)
Otorhinolaryngolog y	6 (25.0)	4 (16.7)	10 (20.8)
Neoplasia	0 (0.0)	1 (4.2)	1 (2.1)
Other	6 (25.0)	3 (12.5)	9 (18.8)

Modified with permission from Mongeau-Pérusse et al., 2021 (33). CBD, cannabidiol; n, number of participants; SCID, structured clinical interview for the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5th edition (DSM-V); SD, standard deviation; SDS, severity of dependence scale.

Cytokine profiles

Figure 2 presents the cytokine profiles in each treatment group. Both IL-6 (estimate (B)= -0.392, Wald=5.674, p=0.017, effect size (ES)=0.347) and vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A) (B=-14.417, Wald=4.600, p=0.032, ES=0.313) levels were significantly lower in participants receiving CBD compared with those receiving placebo. No statistically significant group difference was observed for IL-16, macrophage inflammatory protein-1 β (MIP-1 β) nor for macrophage derived chemokine (MDC). Extensive cytokines results are presented in Table S3.

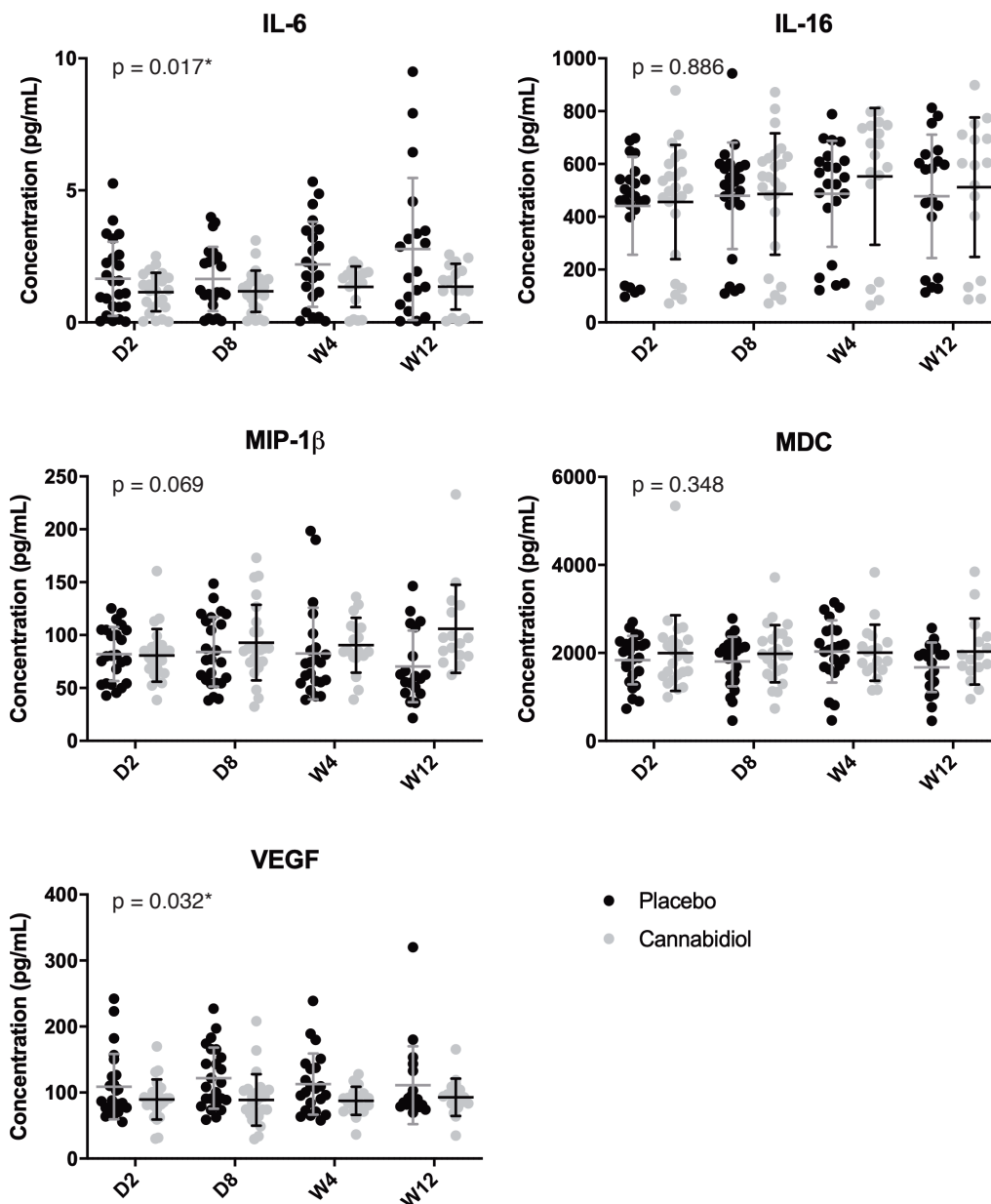


Fig. 2: Cytokines profile of the cannabidiol group compared with the placebo group at baseline (day 2), day 8, week 4 and week 12. Individual concentrations of interleukin-6 (IL-6), interleukin-16 (IL-16), macrophage inflammatory protein-1 β (MIP-1 β), macrophage derived chemokine (MDC) and vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A), are presented in column scatter plots. The mean and standard deviation (SD) are expressed with horizontal and vertical bars, respectively. *Indicates p-value < 0.05. D, day; W, week.

Monocyte profiles

Monocyte profiles

Figure 3 illustrates the monocyte profiles in each treatment group. Intermediate monocytes (CD14⁺CD16⁺) were lower in the CBD group compared with the placebo group (B=-0.468, Wald=5.082, p=0.024, ES=0.330). No statistically significant group difference was observed for total CD11c⁺ monocytes, classical (CD14⁺CD16⁻), and non-classical (CD14^{lo}CD16⁺) monocytes, dendritic cells (DC) and myeloid derived suppressor cells (MDSC). Extensive monocytes results are presented in Table S4.

Lymphocyte profiles

Figure 4 shows lymphocytes profile in each treatment group. Subpopulations of CD4⁺T and CD8⁺T are presented in the Figures S1 and S2, respectively. Total T cells, CD4⁺T and CD8⁺T did not vary between groups. However, subpopulation of CD25⁺ CD4⁺T was significantly higher in the CBD group compared with the placebo group (B=0.689, Wald=7.220, p=0.007, ES=0.393). This increase was caused by higher levels of CD25⁺ CD4⁺Tem (B=0.621, Wald=6.026, p=0.014, ES=0.358), CD25⁺ CD4⁺Temra (B=0.586, Wald=6.740, p=0.009, ES=0.378) and CD25⁺ CD4⁺Tn (B=0.511, Wald=5.419, p=0.020, ES=0.340). Total B cells, early and late B cells did not differ between groups. Extensive lymphocyte results are presented in Tables S5, S6 and S7.

Total NK cells did not differ between groups. However, a subpopulation of activated mature NK cells (CD56^{neg}CD16^{hi} cells) with poor cytotoxic activity was significantly lower in the CBD group compared with the placebo group (B=-0.736, Wald=19.552, p=0.000, ES=0.643). No statistically significant group difference was observed for the two other subpopulations of immature NK CD56^{hi}CD16^{neg} and mature NK CD56^{dim}CD16^{hi} cells.

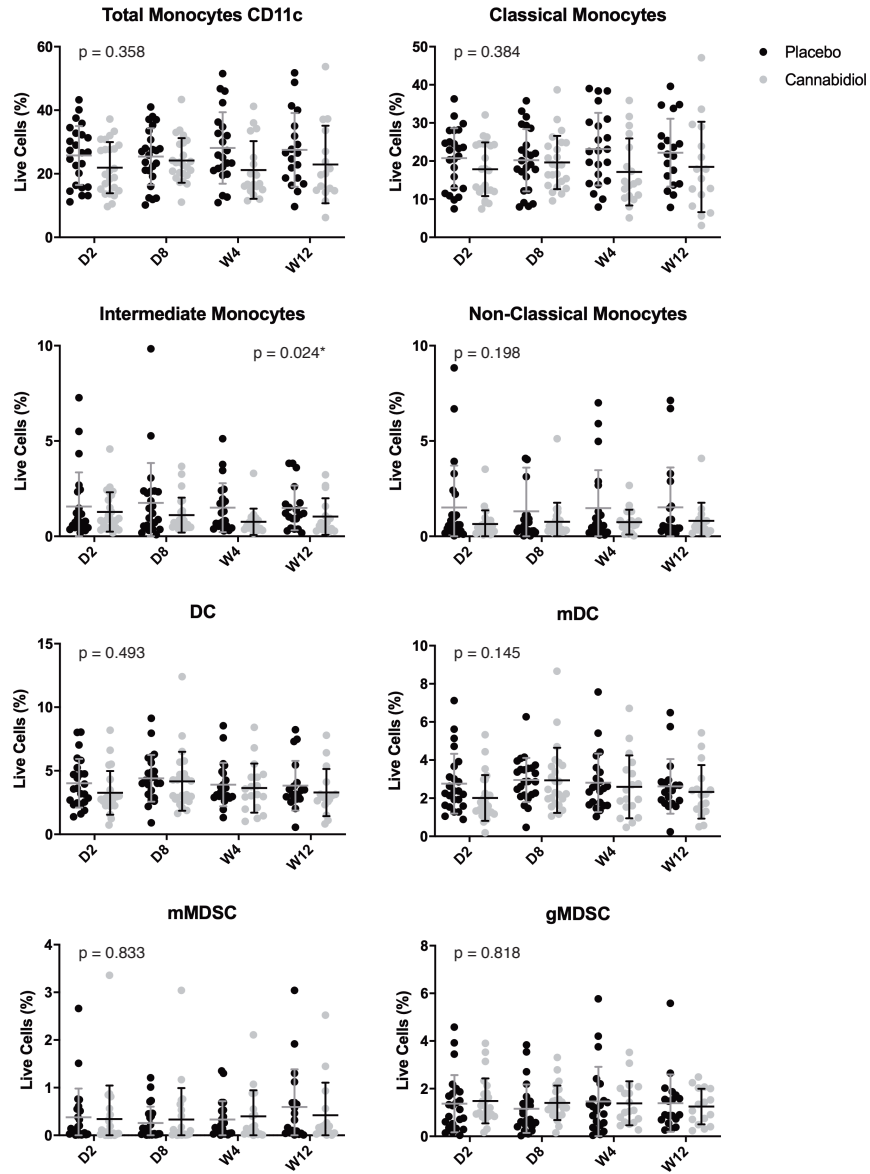


Fig. 3: Monocytes profile of the cannabidiol group compared with the placebo group at baseline (day 2), day 8, week 4 and week 12. Individual percentages of total CD11c+ monocytes, classical monocytes (CD14+CD16-), intermediate monocytes (CD14+CD16+), non-classical monocytes (CD14loCD16+), dendritic cells (DC), myeloid dendritic cells (mDC), monocyte myeloid derived suppressor cells (mMDSC), granulocytic myeloid derived suppressor cells (gMDSC), are presented in column scatter plots. The mean and standard deviation (SD) are expressed with horizontal and vertical bars, respectively. *Indicates p-value < 0.05. CD, cluster of differentiation; D, day; W, week.

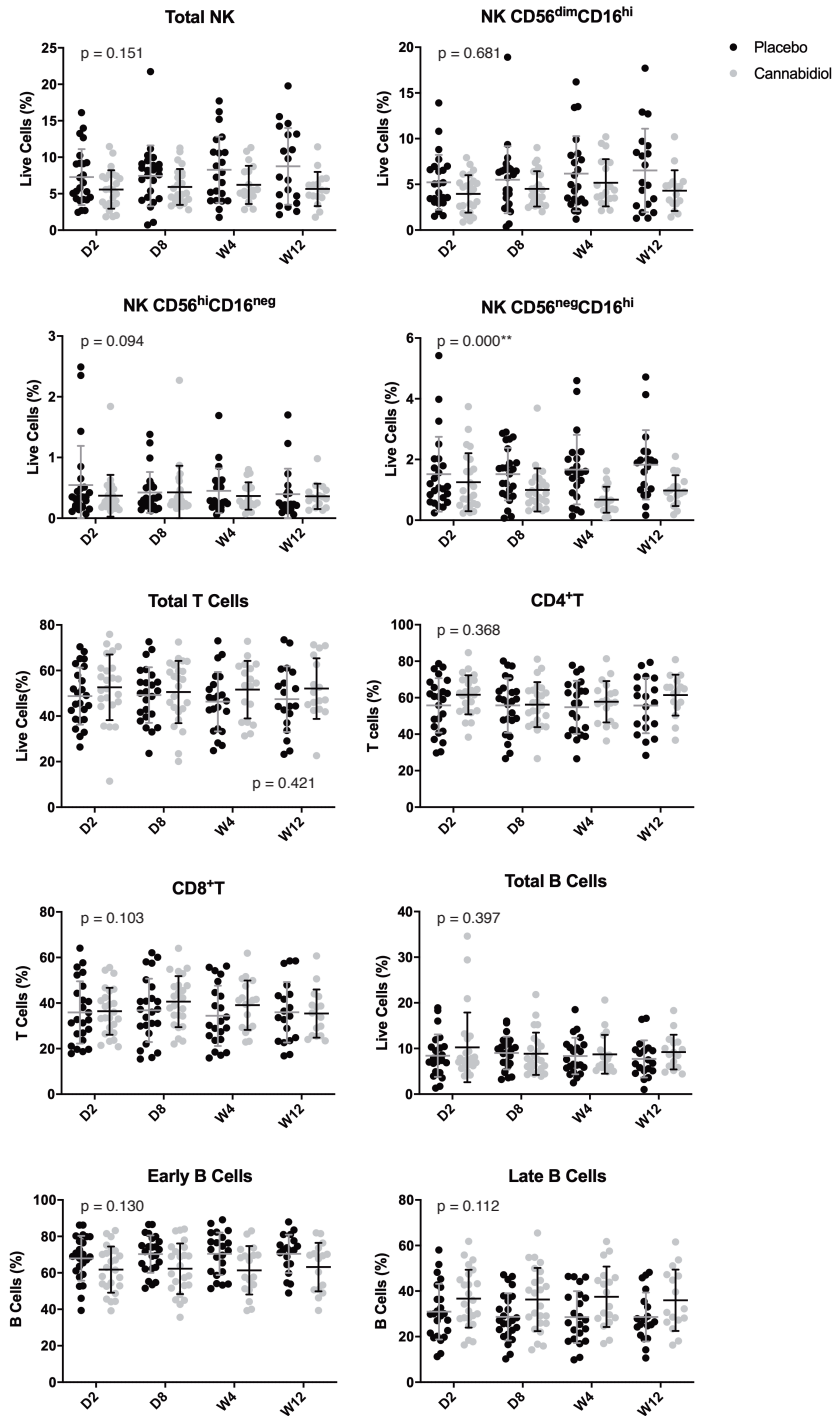


Fig. 4: Lymphocytes profile of the cannabidiol group compared with the placebo group at baseline (day 2), day 8, week 4 and week 12. Percentages of total natural killer (NK) cells, NK CD56dimCD16hi, NK CD56hiCD16neg, NK CD56negCD16hi, total T cells, CD4+T, CD8+T, total B cells, early B cells and late B cells are presented in column scatter plots. The mean and standard deviation (SD) are expressed with horizontal and vertical bars, respectively. *Indicates p-value < 0.05; **Indicates p-value < 0.01. CD, cluster of differentiation; D, day; W, week.

CBD plasma concentrations

In the CBD group, mean (\pm SD) CBD blood concentration increased during the trial from 38.79 \pm 15.73 ng/mL on day 8 to 54.37 \pm 43.28 ng/mL at week 4 and 88.11 \pm 149.05 ng/mL at week 12. CBD blood concentrations are represented in box-whisker plots in Figure S3. The placebo group had no detectable CBD blood concentration except for one participant having 0.06 ng/mL at week 12.

Anti-inflammatory drugs

Twelve (n=12/48, 25%) participants (CBD, n=6/24, 25%; placebo, n=6/24, 25%) took an anti-inflammatory drug at least once during the trial. Categories of anti-inflammatory molecules used in each treatment group are reported in Table S8. The sensitivity analysis excluding those participants revealed similar results as shown in Table S9. Reduced IL-6 and NK CD56^{neg}CD16^{hi} levels in the CBD group remained statistically significant. This was not the case for VEGF-A, intermediate monocytes CD14⁺CD16⁺ and CD25⁺CD4⁺T. However, their estimate values were similar. The sensitivity analysis in which anti-inflammatory drug use was added as a binary covariate revealed that this covariate was not significantly associated with outcomes, with p-values ranging from 0.592 to 0.923. All p-values associated with treatment group remained significant as shown in Table S10.

***A posteriori* weight correlations**

Correlations between weight and inflammatory markers levels difference from baseline were assessed for five statistically significant inflammatory markers. The only statistically significant correlation was for VEGF-A levels (p=0.027), for which weight had a weak effect (r=-0.397). Correlation coefficients are presented in Table S11.

***A posteriori* CBD plasma concentration correlations**

Correlations between CBD plasma concentration and inflammatory markers levels difference from baseline were assessed for five statistically significant inflammatory markers. No correlation was statistically significant. Correlation coefficients are presented in Table S12.

***A postertiori* linear regression**

Table S13 presents the results of the five linear regressions conducted to assess the influence of the five main significant inflammatory markers' level on drug-cue induced craving scores by treatment group. No statistically significant associations were observed.

DISCUSSION

This RCT is the first to evaluate CBD immunomodulatory properties on cytokine levels and leukocyte phenotypes in a clinical population of people who use drugs, namely cocaine. Our findings suggest that CBD may reduce several pro-inflammatory cytokines/leukocytes and increase anti-inflammatory cells, which confirms our exploratory hypothesis. We observed that CBD stabilizes and/or reduces levels of VEGF-A, IL-6, weak cytotoxic NK cells and intermediate monocytes compared with placebo. Moreover, CD25⁺CD4⁺T cells of various maturity stages, known for their regulatory properties, were higher in participants treated with CBD compared with those receiving placebo.

Our findings showed that IL-6 levels are lower following CBD administration compared with placebo, which is consistent with a recent review of preclinical studies (Nichols & Kaplan, 2020). This review showed that when animals with various inflammatory diseases were exposed to a dose range from 0.3 to 80 mg/kg/day during one to 46 days, all studies reported a decrease in IL-6 levels. More recent findings revealed an IL-6 production reduction in a dose-dependent manner after CBD exposure (10, 50 and 100 µg/mL) *in vitro* to whole human blood cells stimulated with lipopolysaccharide (Szekely et al., 2020). A near-complete inhibition of IL-6 levels was observed with CBD concentrations of 50 µg/mL and 100 µg/mL (Szekely et al., 2020). Other recent studies also portrayed similar conclusion in favour of an IL-6 reduction following CBD administration (Lowin et al., 2020; Yeisley, Arabiyat, & Hahn, 2021). However, the only *in vivo* study evaluating the CBD effect on IL-6 in 13 diabetic participants in a 13-week trial found no difference in IL-6 concentration between CBD and placebo groups (Jadoon et al., 2016). These negative results may be explained by the lower CBD dose (200 mg/day) compared with the one used in our study (800 mg/day). Considering that IL-6 is an acute phase reactant playing several roles such as immune

cells' communication differentiation and proliferation and protein synthesis's induction (Tanaka, Narazaki, & Kishimoto, 2014), IL-6 is a key target to curb the inflammatory cascade from its initiation. Interestingly, Jadoon *et al.* results for TNF- α and CRP are in line with our results from the discovery phase where no difference was found between groups on TNF- α or CRP concentrations.

In our study, CBD reduced VEGF-A compared with placebo. Similar results were observed in the BBB of diabetic rats *in vivo* (El-Remessy *et al.*, 2006) and in Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infected endothelial cells *in vitro* (Maor *et al.*, 2012) exposed to CBD. VEGF promotes vascular permeability and angiogenesis (Weis & Cheresh, 2005). VEGF increases the BBB permeability by disrupting tight junction proteins and occluding organization, promoting neuroinflammation (Argaw *et al.*, 2012; Petty & Lo, 2002; Suzuki, Nagai, & Umemura, 2016), which may result in poor psychological outcomes such as depression, anxiety, psychosis (Fourrier, Singhal, & Baune, 2019; Lurie, 2018) and neurodegenerative disorders (Chen, Zhang, & Huang, 2016). VEGF inhibition by anti-VEGF antibody has shown promising results to decrease BBB disruption in ischemic rats' brain to reduce neuroinflammation (Chi, Hunter, Liu, & Weiss, 2007; Zhang *et al.*, 2017). Considering that cocaine promotes neuroinflammation by similar mechanisms as VEGF activation, CBD capacity to decrease VEGF levels may promote BBB impermeability, thereby reducing neuroinflammation and associated psychiatric comorbidities.

Our study demonstrated a significant group difference for one of the three monocyte subtypes, intermediate monocytes, with CBD group having lower levels. Although preclinical studies did not assess monocyte phenotypes specifically, their results on total monocytes are in line with a decrease of monocytes induced by CBD. *In vitro*, CBD induces human monocyte apoptosis (Wu, Huang, Lin, Wang, & Jan, 2018). Furthermore, CBD decreases monocyte adhesion and monocyte transendothelial migration in human coronary artery endothelial cells exposed to high glucose concentrations (Rajesh *et al.*, 2007). Intermediate monocytes are involved in the production of various inflammatory molecules such as reactive oxygen species, pro-inflammatory lymphocytes (Dhanda *et al.*, 2019; Gaur, Myles, Misra, & Aggarwal, 2017; O'Brien *et al.*, 2015) and have been

related to atherosclerosis development (Franca et al., 2017; Wolf, Yanez, Barman, & Goodridge, 2019). Reducing circulating intermediate monocytes number, which play key pro-inflammatory functions by their role in linking innate and adaptive immunity, may be a useful therapeutic target in CVD patients.

We observed no significant group difference on total B cells, as well as in their maturity stage. This is inconsistent with previous preclinical studies in an allergic model reporting a decrease in B cells in rats receiving CBD (Ignatowska-Jankowska, Jankowski, Glac, & Swiergel, 2009) and a decrease in antibodies immunoglobulins M (IgM) and G (IgG) in mice exposed to CBD prior to ovalbumin sensitization (Jan, Su, Wu, & Liao, 2007), which were not assessed in our study. Similarly, no group difference was observed in total T lymphocytes nor CD4⁺T and CD8⁺T cells. It is somehow contradictory with results in rodents showing that CBD induces T cell apoptosis (Wu et al., 2008) and decreases number of total T cells as well as CD4⁺T and CD8⁺T subpopulations (Ignatowska-Jankowska et al., 2009). However, our results revealed significant higher levels of CD25⁺CD4⁺T cells of various maturity stages in the CBD group compared with the placebo group. This is consistent with a study demonstrating CBD induction of CD25⁺CD4⁺T in mice (Dhital, Stokes, Park, Seo, & Kaplan, 2017). CD25⁺CD4⁺T are recently activated T cells including regulatory T cells (Tregs) in a significant proportion (Bahador et al., 2014) as determined by intracellular expression of FoxP3, among others (Santegoets et al., 2015). Tregs are known for their immunosuppressive activity that inhibits T cell activation and proliferation both *in vitro* and *in vivo* (Corthay, 2009; Shevach, 2002). Tregs can also promote anti-inflammatory monocytes (Romano et al., 2018). Furthermore, intermediate monocytes can also modulate the presence of Tregs in patients (Guo et al., 2019). Therefore, this may suggest that CBD plays its immunosuppressive activity in humans through interactions between intermediate monocytes and Tregs. Future studies are needed to confirm the immunosuppressive properties of CBD-induced CD25⁺CD4⁺T.

We found that CBD diminished only the percentage of NK CD56^{neg}CD16^{hi}. NK CD56^{neg}CD16^{hi} is a subpopulation of NK that has a poor cytotoxic activity (Muller-Durovic, Grahlert, Devine, Akbar,

& Hess, 2019) compared with other NK populations. Although no other study investigated the effects of CBD on NK population CD56^{neg}CD16^{hi} specifically, one study assessed the total number of NK in rats. After 14 days of treatment, the number of NK was not affected by a 5 mg/kg CBD dose but was increased by a 2.5 mg/kg CBD dose compared with placebo (Ignatowska-Jankowska et al., 2009). This suggests that NK cells react differently to CBD exposure depending on its dose. Our fixed 800 mg dose corresponds to a mean (SD) of 10.9 (1.8) mg/kg. This dose in humans seems to remove the weak NK cells without affecting the effective cytotoxic NK cells essential for immune surveillance (Melaiu, Lucarini, Cifaldi, & Fruci, 2019).

This study has several limitations that should be considered when interpreting results. First, the discovery pre-analysis to select markers was only done for the first 12 participants. This may have underpowered our pre-analysis to detect group differences and some pertinent markers may have been excluded for the full analysis. Second, the small sample size for which we collected blood samples may have underpowered our full analysis. Third, our participants could use other drugs during the 12-week follow-up (phase II), which may have impacted inflammatory markers. As stated in the main article (Mongeau-Perusse et al., 2021), a high relapse rate occurred in both groups for cocaine consumption and 14/48 (29.2 %) participants also had another active substance use disorder. Concomitant use of other drugs may have masked CBD anti-inflammatory potential. However, cocaine use was similar in both groups during the trial and other substance use disorders were well balanced after randomization. Fourth, taking anti-inflammatory drugs was not prohibited during the trial, which may have decreased inflammatory markers levels. However, our sensitivity analyses revealed similar trends after excluding participants who took an anti-inflammatory drug at least once and after adding anti-inflammatory drug use as a binary covariate in our statistical model. Fifth, our high attrition rate (n=9/48, 18.75%) may have affected our external validity although it is consistent with attrition rates reported in CUD population (Chan et al., 2019). Sixth, we did not adjust for multiple comparison considering the exploratory nature of this analysis. Therefore, we should exercise caution when interpreting and generalizing our results. Seventh, mean CBD blood concentration raised over the trial, suggesting that bioavailable CBD increased with treatment duration. Despite satisfactory treatment adherence as previously

reported (Mongeau-Perusse et al., 2021), we observed relatively wide standard deviation which suggests heterogenous individual CBD metabolism. Haney *et al.* also observed notable variability in CBD plasma concentrations after supervised administration of 800 mg oral CBD, with peak concentrations varying between 1.6 and 271.9 ng/mL (mean: 77.9 ng/mL) (Haney et al., 2016). The CBD dose was fixed and a dose adjusted to participants' weight may have been more appropriate to decrease variability in plasma concentrations between participants. However, our *a posteriori* analyses revealed that CBD plasma concentration did not correlate with levels of inflammatory markers. Last, we did not look at the effects of inflammatory levels on clinical correlates except for craving, which was not significantly associated with inflammation markers.

To our knowledge, this is the first study assessing CBD effects on a broad spectrum of inflammatory markers in a human population, namely individuals with a substance use disorder. Considering increased cannabis use and accessibility worldwide due to its legalization and growing therapeutic use, it is crucial to understand the biological effects of its consumption. Our results highlighted promising anti-inflammatory properties of 800 mg per day of CBD that should be replicated in future studies. Other dosage regimen should be tested to establish the optimal CBD dose for reducing inflammation. There is also a need to further explore the clinical benefits associated with CBD inflammatory reduction. Populations with substance use disorder have many comorbidities with an inflammatory component such as cardiovascular disease, psychosis and depression (Farrell et al., 2019). CBD could potentially have long-term effects on inflammatory burden development and progression that should be explored in a harm reduction perspective. Considering its safety and tolerability profile (Bonaccorso et al., 2019; Larsen & Shahinas, 2020; Lattanzi et al., 2018), it could also be timely to assess CBD effects in other inflammatory conditions in humans.

FUNDING AND DISCLOSURES: The Canadian Institutes of Health Research (CIHR) funded this study (#125864). Insys Therapeutics provided the investigational product. DJA holds a scholar award from the Fonds de recherche du Québec en Santé. FM received scholarships from the CIHR, the Institut universitaire sur les dépendances, the Université de Montréal and the CRCHUM. JB holds the Canada Research Chair in Addiction Medicine and receives investigator-driven grants from Gilead Sciences and AbbVie for work outside this study. VMP, ER, PT, SL, SB, SD, ES and JFC reported no biomedical financial interests or potential conflicts of interest. The funders of the study and Insys Therapeutics had no role in study design, data collection, data analysis, data interpretation, writing of the report or decision to publish.

ACKNOWLEDGMENTS: We would like to thank the CIHR (#125864), the Fonds de recherche du Québec en Santé, the Université de Montréal, the CRCHUM, the Institut du Cancer de Montréal and the Institut universitaire sur les dépendances for their financial support. We thank the clinical immunomonitoring core facility of the CRCHUM for performing biobanking, immunophenotyping and cytokine measurements. We are grateful to Léa Gagnon for reviewing and editing the manuscript, and Guillaume Gazil and his team (Unité de recherche clinique appliquée) for their support in data management and statistical analysis for the main trial. The study team also wants to extend special thanks to all participants for their engagement in this study.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

FM, VM, ER and PT wrote the original draft. FM and VMP did the formal analysis. PT and SL performed biobanking, immunophenotyping and cytokine measurements. FM and PT did the visualization. SB, JB, SD, ES and DJA conceptualized the study. JFC and DJA co-supervised the project. JB, ES, DJA obtained the funding. All authors reviewed the manuscript.

REFERENCES

1. United Nations Office on Drugs and Crime. World Drug Report 2019. Vienna, Austria: United Nations Publications Sales No. E.19.XI.8; 2019.
2. Florez-Salamanca L, Secades-Villa R, Hasin DS, Cottler L, Wang S, Grant BF, et al. Probability and predictors of transition from abuse to dependence on alcohol, cannabis, and cocaine: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Am J Drug Alcohol Abuse*. 2013;39(3):168-79. doi:10.3109/00952990.2013.772618
3. Farrell M, Martin NK, Stockings E, Bórquez A, Cepeda JA, Degenhardt L, et al. Responding to global stimulant use: challenges and opportunities. *The Lancet*. 2019;394(10209):1652-67. doi:10.1016/s0140-6736(19)32230-5
4. Zaparte A, Schuch JB, Viola TW, Baptista TAS, Beidacki AS, do Prado CH, et al. Cocaine Use Disorder Is Associated With Changes in Th1/Th2/Th17 Cytokines and Lymphocytes Subsets. *Front Immunol*. 2019;10:2435. doi:10.3389/fimmu.2019.02435
5. Narvaez JC, Magalhaes PV, Fries GR, Colpo GD, Czepielewski LS, Vianna P, et al. Peripheral toxicity in crack cocaine use disorders. *Neurosci Lett*. 2013;544:80-4. doi:10.1016/j.neulet.2013.03.045
6. Moreira FP, Medeiros JR, Lhullier AC, Souza LD, Jansen K, Portela LV, et al. Cocaine abuse and effects in the serum levels of cytokines IL-6 and IL-10. *Drug Alcohol Depend*. 2016;158:181-5. doi:10.1016/j.drugalcdep.2015.11.024
7. Fox HC, D'Sa C, Kimmerling A, Siedlarz KM, Tuit KL, Stowe R, et al. Immune system inflammation in cocaine dependent individuals: implications for medications development. *Hum Psychopharmacol*. 2012;27(2):156-66. doi:10.1002/hup.1251
8. Levandowski ML, Viola TW, Wearick-Silva LE, Wieck A, Tractenberg SG, Brietzke E, et al. Early life stress and tumor necrosis factor superfamily in crack cocaine withdrawal. *J Psychiatr Res*. 2014;53:180-6. doi:10.1016/j.jpsychires.2014.02.017
9. Manetti L, Cavagnini F, Martino E, Ambrogio A. Effects of cocaine on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J Endocrinol Invest*. 2014;37(8):701-8. doi:10.1007/s40618-014-0091-8

10. Sholar MB, Mendelson JH, Mello NK, Siegel AJ, Kaufman MJ, Levin JM, et al. Concurrent pharmacokinetic analysis of plasma cocaine and adrenocorticotrophic hormone in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(3):966-8. doi:10.1210/jcem.83.3.4654
11. Riezzo I, Fiore C, De Carlo D, Pascale N, Neri M, Turillazzi E, et al. Side effects of cocaine abuse: multiorgan toxicity and pathological consequences. *Curr Med Chem.* 2012;19(33):5624-46. doi:10.2174/092986712803988893
12. Loftis JM, Huckans M. Substance use disorders: psychoneuroimmunological mechanisms and new targets for therapy. *Pharmacol Ther.* 2013;139(2):289-300. doi:10.1016/j.pharmthera.2013.04.011
13. Lopez-Pedrajas R, Ramirez-Lamelas DT, Muriach B, Sanchez-Villarejo MV, Almansa I, Vidal-Gil L, et al. Cocaine promotes oxidative stress and microglial-macrophage activation in rat cerebellum. *Front Cell Neurosci.* 2015;9:279. doi:10.3389/fncel.2015.00279
14. Cisneros IE, Erdenizmenli M, Cunningham KA, Paessler S, Dineley KT. Cocaine evokes a profile of oxidative stress and impacts innate antiviral response pathways in astrocytes. *Neuropharmacology.* 2018;135:431-43. doi:10.1016/j.neuropharm.2018.03.019
15. Picard M, Juster RP, McEwen BS. Mitochondrial allostatic load puts the 'gluc' back in glucocorticoids. *Nat Rev Endocrinol.* 2014;10(5):303-10. doi:10.1038/nrendo.2014.22
16. Kovacic P. Role of oxidative metabolites of cocaine in toxicity and addiction: oxidative stress and electron transfer. *Med Hypotheses.* 2005;64(2):350-6. doi:10.1016/j.mehy.2004.06.028
17. Sajja RK, Rahman S, Cucullo L. Drugs of abuse and blood-brain barrier endothelial dysfunction: A focus on the role of oxidative stress. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2016;36(3):539-54. doi:10.1177/0271678X15616978
18. Dhillon NK, Peng F, Bokhari S, Callen S, Shin SH, Zhu X, et al. Cocaine-mediated alteration in tight junction protein expression and modulation of CCL2/CCR2 axis across the blood-brain barrier: implications for HIV-dementia. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2008;3(1):52-6. doi:10.1007/s11481-007-9091-1

19. Pimentel E, Sivalingam K, Doke M, Samikkannu T. Effects of Drugs of Abuse on the Blood-Brain Barrier: A Brief Overview. *Front Neurosci.* 2020;14:513. doi:10.3389/fnins.2020.00513
20. Kousik SM, Napier TC, Carvey PM. The effects of psychostimulant drugs on blood brain barrier function and neuroinflammation. *Front Pharmacol.* 2012;3:121. doi:10.3389/fphar.2012.00121
21. Clark KH, Wiley CA, Bradberry CW. Psychostimulant abuse and neuroinflammation: emerging evidence of their interconnection. *Neurotox Res.* 2013;23(2):174-88. doi:10.1007/s12640-012-9334-7
22. Moretti M, Belli G, Morini L, Monti MC, Osculati AMM, Visona SD. Drug Abuse-Related Neuroinflammation in Human Postmortem Brains: An Immunohistochemical Approach. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2019;78(11):1059-65. doi:10.1093/jnen/nlz084
23. Furman D, Campisi J, Verdin E, Carrera-Bastos P, Targ S, Franceschi C, et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med.* 2019;25(12):1822-32. doi:10.1038/s41591-019-0675-0
24. Barron H, Hafizi S, Andreazza AC, Mizrahi R. Neuroinflammation and Oxidative Stress in Psychosis and Psychosis Risk. *Int J Mol Sci.* 2017;18(3). doi:10.3390/ijms18030651
25. Nichols JM, Kaplan BLF. Immune Responses Regulated by Cannabidiol. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2020;5(1):12-31. doi:10.1089/can.2018.0073
26. McKenna M, McDougall JJ. Cannabinoid control of neurogenic inflammation. *Br J Pharmacol.* 2020;177(19):4386-99. doi:10.1111/bph.15208
27. Atalay S, Jarocka-Karpowicz I, Skrzydlewska E. Antioxidative and Anti-Inflammatory Properties of Cannabidiol. *Antioxidants (Basel).* 2019;9(1). doi:10.3390/antiox9010021
28. Lattanzi S, Brigo F, Trinkka E, Zaccara G, Cagnetti C, Del Giovane C, et al. Efficacy and Safety of Cannabidiol in Epilepsy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Drugs.* 2018;78(17):1791-804. doi:10.1007/s40265-018-0992-5

29. Bonaccorso S, Ricciardi A, Zangani C, Chiappini S, Schifano F. Cannabidiol (CBD) use in psychiatric disorders: A systematic review. *Neurotoxicology*. 2019;74:282-98. doi:10.1016/j.neuro.2019.08.002
30. Larsen C, Shahinas J. Dosage, Efficacy and Safety of Cannabidiol Administration in Adults: A Systematic Review of Human Trials. *J Clin Med Res*. 2020;12(3):129-41. doi:10.14740/jocmr4090
31. de Almeida DL, Devi LA. Diversity of molecular targets and signaling pathways for CBD. *Pharmacol Res Perspect*. 2020;8(6):e00682. doi:10.1002/prp2.682
32. Jadoon KA, Ratcliffe SH, Barrett DA, Thomas EL, Stott C, Bell JD, et al. Efficacy and Safety of Cannabidiol and Tetrahydrocannabivarin on Glycemic and Lipid Parameters in Patients With Type 2 Diabetes: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel Group Pilot Study. *Diabetes Care*. 2016;39(10):1777-86. doi:10.2337/dc16-0650
33. Mongeau-Perusse V, Brissette S, Bruneau J, Conrod P, Dubreucq S, Gazil G, et al. Cannabidiol as a Treatment for Craving and Relapse in Individuals with Cocaine Use Disorder: a Randomized Placebo-Controlled Trial. *Addiction*. 2021. doi:10.1111/add.15417
34. Fox HC, Garcia M, Jr., Kemp K, Milivojevic V, Kreek MJ, Sinha R. Gender differences in cardiovascular and corticoadrenal response to stress and drug cues in cocaine dependent individuals. *Psychopharmacology (Berl)*. 2006;185(3):348-57. doi:10.1007/s00213-005-0303-1
35. Ferri CP, Dunn J, Gossop M, Laranjeira R. Factors associated with adverse reactions to cocaine among a sample of long-term, high-dose users in Sao Paulo, Brazil. *Addict Behav*. 2004;29(2):365-74. doi:10.1016/j.addbeh.2003.08.029
36. Iffland K, Grotenhermen F. An Update on Safety and Side Effects of Cannabidiol: A Review of Clinical Data and Relevant Animal Studies. *Cannabis Cannabinoid Res*. 2017;2(1):139-54. doi:10.1089/can.2016.0034
37. Cui C, Shurtleff D, Harris RA. Neuroimmune mechanisms of alcohol and drug addiction. *Int Rev Neurobiol*. 2014;118:1-12. doi:10.1016/B978-0-12-801284-0.00001-4

38. Szekely Y, Ingbir M, Bentur OS, Hochner O, Porat R. Natural cannabinoids suppress the cytokine storm in sepsis-like in vitro model. *Eur Cytokine Netw.* 2020;31(2):50-8. doi:10.1684/ecn.2020.0445
39. Yeisley DJ, Arabiyat AS, Hahn MS. Cannabidiol-Driven Alterations to Inflammatory Protein Landscape of Lipopolysaccharide-Activated Macrophages In Vitro May be Mediated by Autophagy and Oxidative Stress. *Cannabis Cannabinoid Res.* 2021. doi:10.1089/can.2020.0109
40. Lowin T, Tingting R, Zurmahr J, Classen T, Schneider M, Pongratz G. Cannabidiol (CBD): a killer for inflammatory rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Cell Death Dis.* 2020;11(8):714. doi:10.1038/s41419-020-02892-1
41. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014;6(10):a016295. doi:10.1101/cshperspect.a016295
42. El-Remessy AB, Al-Shabrawey M, Khalifa Y, Tsai NT, Caldwell RB, Liou GI. Neuroprotective and blood-retinal barrier-preserving effects of cannabidiol in experimental diabetes. *Am J Pathol.* 2006;168(1):235-44. doi:10.2353/ajpath.2006.050500
43. Maor Y, Yu J, Kuzontkoski PM, Dezube BJ, Zhang X, Groopman JE. Cannabidiol inhibits growth and induces programmed cell death in kaposi sarcoma-associated herpesvirus-infected endothelium. *Genes Cancer.* 2012;3(7-8):512-20. doi:10.1177/1947601912466556
44. Weis SM, Cheresch DA. Pathophysiological consequences of VEGF-induced vascular permeability. *Nature.* 2005;437(7058):497-504. doi:10.1038/nature03987
45. Argaw AT, Asp L, Zhang J, Navrazhina K, Pham T, Mariani JN, et al. Astrocyte-derived VEGF-A drives blood-brain barrier disruption in CNS inflammatory disease. *J Clin Invest.* 2012;122(7):2454-68. doi:10.1172/JCI60842
46. Petty MA, Lo EH. Junctional complexes of the blood–brain barrier: permeability changes in neuroinflammation. *Progress in Neurobiology.* 2002;68(5):311-23. doi:10.1016/s0301-0082(02)00128-4

47. Suzuki Y, Nagai N, Umemura K. A Review of the Mechanisms of Blood-Brain Barrier Permeability by Tissue-Type Plasminogen Activator Treatment for Cerebral Ischemia. *Front Cell Neurosci.* 2016;10:2. doi:10.3389/fncel.2016.00002
48. Lurie DI. An Integrative Approach to Neuroinflammation in Psychiatric disorders and Neuropathic Pain. *J Exp Neurosci.* 2018;12:1179069518793639. doi:10.1177/1179069518793639
49. Fourrier C, Singhal G, Baune BT. Neuroinflammation and cognition across psychiatric conditions. *CNS Spectr.* 2019;24(1):4-15. doi:10.1017/S1092852918001499
50. Chen WW, Zhang X, Huang WJ. Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review). *Mol Med Rep.* 2016;13(4):3391-6. doi:10.3892/mmr.2016.4948
51. Zhang HT, Zhang P, Gao Y, Li CL, Wang HJ, Chen LC, et al. Early VEGF inhibition attenuates blood-brain barrier disruption in ischemic rat brains by regulating the expression of MMPs. *Mol Med Rep.* 2017;15(1):57-64. doi:10.3892/mmr.2016.5974
52. Chi OZ, Hunter C, Liu X, Weiss HR. Effects of anti-VEGF antibody on blood-brain barrier disruption in focal cerebral ischemia. *Exp Neurol.* 2007;204(1):283-7. doi:10.1016/j.expneurol.2006.11.001
53. Wu HY, Huang CH, Lin YH, Wang CC, Jan TR. Cannabidiol induced apoptosis in human monocytes through mitochondrial permeability transition pore-mediated ROS production. *Free Radic Biol Med.* 2018;124:311-8. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2018.06.023
54. Rajesh M, Mukhopadhyay P, Batkai S, Hasko G, Liaudet L, Drel VR, et al. Cannabidiol attenuates high glucose-induced endothelial cell inflammatory response and barrier disruption. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293(1):H610-9. doi:10.1152/ajpheart.00236.2007
55. Dhanda AD, Williams EL, Yates E, Lait PJP, Schewitz-Bowers LP, Hegazy D, et al. Intermediate Monocytes in Acute Alcoholic Hepatitis Are Functionally Activated and Induce IL-17 Expression in CD4(+) T Cells. *J Immunol.* 2019;203(12):3190-8. doi:10.4049/jimmunol.1800742

56. Gaur P, Myles A, Misra R, Aggarwal A. Intermediate monocytes are increased in enthesitis-related arthritis, a category of juvenile idiopathic arthritis. *Clin Exp Immunol.* 2017;187(2):234-41. doi:10.1111/cei.12880
57. O'Brien EC, Abdulahad WH, Rutgers A, Huitema MG, O'Reilly VP, Coughlan AM, et al. Intermediate monocytes in ANCA vasculitis: increased surface expression of ANCA autoantigens and IL-1beta secretion in response to anti-MPO antibodies. *Sci Rep.* 2015;5:11888. doi:10.1038/srep11888
58. Franca CN, Izar MCO, Hortencio MNS, do Amaral JB, Ferreira CES, Tuleta ID, et al. Monocyte subtypes and the CCR2 chemokine receptor in cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond).* 2017;131(12):1215-24. doi:10.1042/CS20170009
59. Wolf AA, Yanez A, Barman PK, Goodridge HS. The Ontogeny of Monocyte Subsets. *Front Immunol.* 2019;10:1642. doi:10.3389/fimmu.2019.01642
60. Ignatowska-Jankowska B, Jankowski M, Glac W, Swiergel AH. Cannabidiol-induced lymphopenia does not involve NKT and NK cells. *J Physiol Pharmacol.* 2009;60 Suppl 3:99-103.
61. Jan TR, Su ST, Wu HY, Liao MH. Suppressive effects of cannabidiol on antigen-specific antibody production and functional activity of splenocytes in ovalbumin-sensitized BALB/c mice. *Int Immunopharmacol.* 2007;7(6):773-80. doi:10.1016/j.intimp.2007.01.015
62. Wu HY, Chu RM, Wang CC, Lee CY, Lin SH, Jan TR. Cannabidiol-induced apoptosis in primary lymphocytes is associated with oxidative stress-dependent activation of caspase-8. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008;226(3):260-70. doi:10.1016/j.taap.2007.09.012
63. Dhital S, Stokes JV, Park N, Seo KS, Kaplan BL. Cannabidiol (CBD) induces functional Tregs in response to low-level T cell activation. *Cell Immunol.* 2017;312:25-34. doi:10.1016/j.cellimm.2016.11.006
64. Bahador A, Hadjati J, Hassannejad N, Ghazanfari H, Maracy M, Jafari S, et al. Frequencies of CD4+ T Regulatory Cells and their CD25(high) and FoxP3(high) Subsets Augment in Peripheral Blood of Patients with Acute and Chronic Brucellosis. *Osong Public Health Res Perspect.* 2014;5(3):161-8. doi:10.1016/j.phrp.2014.04.008

65. Santegoets SJ, Dijkgraaf EM, Battaglia A, Beckhove P, Britten CM, Gallimore A, et al. Monitoring regulatory T cells in clinical samples: consensus on an essential marker set and gating strategy for regulatory T cell analysis by flow cytometry. *Cancer Immunol Immunother.* 2015;64(10):1271-86. doi:10.1007/s00262-015-1729-x
66. Shevach EM. CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol.* 2002;2(6):389-400. doi:10.1038/nri821
67. Corthay A. How do regulatory T cells work? *Scand J Immunol.* 2009;70(4):326-36. doi:10.1111/j.1365-3083.2009.02308.x
68. Romano M, Fanelli G, Tan N, Nova-Lamperti E, McGregor R, Lechler RI, et al. Expanded Regulatory T Cells Induce Alternatively Activated Monocytes With a Reduced Capacity to Expand T Helper-17 Cells. *Front Immunol.* 2018;9:1625. doi:10.3389/fimmu.2018.01625
69. Guo N, Liu L, Yang X, Song T, Li G, Li L, et al. Immunological Changes in Monocyte Subsets and Their Association With Foxp3(+) Regulatory T Cells in HIV-1-Infected Individuals With Syphilis: A Brief Research Report. *Front Immunol.* 2019;10:714. doi:10.3389/fimmu.2019.00714
70. Muller-Durovic B, Grahlert J, Devine OP, Akbar AN, Hess C. CD56-negative NK cells with impaired effector function expand in CMV and EBV co-infected healthy donors with age. *Aging (Albany NY).* 2019;11(2):724-40. doi:10.18632/aging.101774
71. Melaiu O, Lucarini V, Cifaldi L, Fruci D. Influence of the Tumor Microenvironment on NK Cell Function in Solid Tumors. *Front Immunol.* 2019;10:3038. doi:10.3389/fimmu.2019.03038
72. Chan B, Kondo K, Freeman M, Ayers C, Montgomery J, Kansagara D. Pharmacotherapy for Cocaine Use Disorder-a Systematic Review and Meta-analysis. *J Gen Intern Med.* 2019;34(12):2858-73. doi:10.1007/s11606-019-05074-8
73. Haney M, Malcolm RJ, Babalonis S, Nuzzo PA, Cooper ZD, Bedi G, et al. Oral Cannabidiol does not Alter the Subjective, Reinforcing or Cardiovascular Effects of Smoked Cannabis. *Neuropsychopharmacology.* 2016;41(8):1974-82. doi:10.1038/npp.2015.367

Supplementary materials

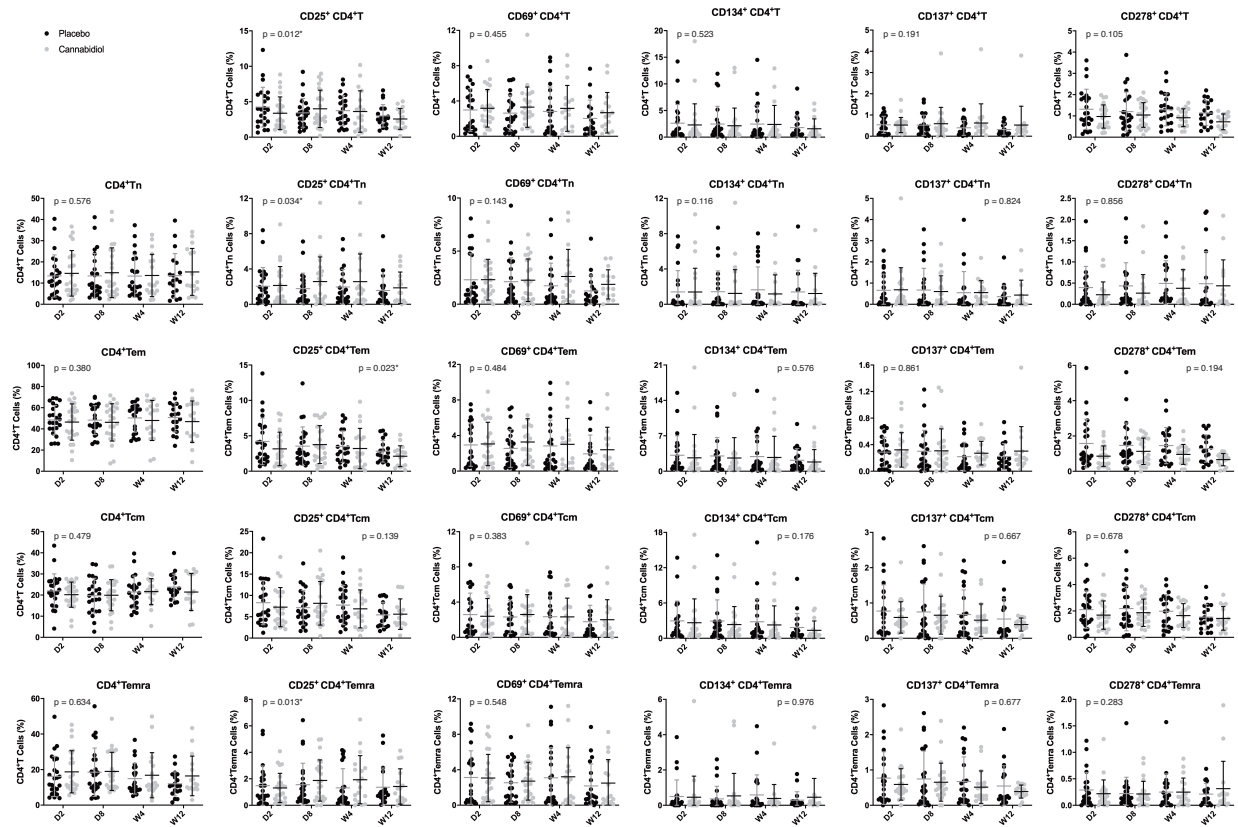


Fig. S1: Subpopulations of CD4+T lymphocytes of the cannabidiol group compared with the placebo group at baseline (day 2), day 8, week 4 and week 12. Subpopulations of CD4+T lymphocytes are presented in column scatter plots. The mean and standard deviation (SD) are expressed with horizontal and vertical bars, respectively. *Indicates p-value < 0.05. CD, cluster of differentiation; D, day; Tcm, T central memory; Tem, T effector memory; Temra, T effector memory RA; Tn, T naive; W, week.

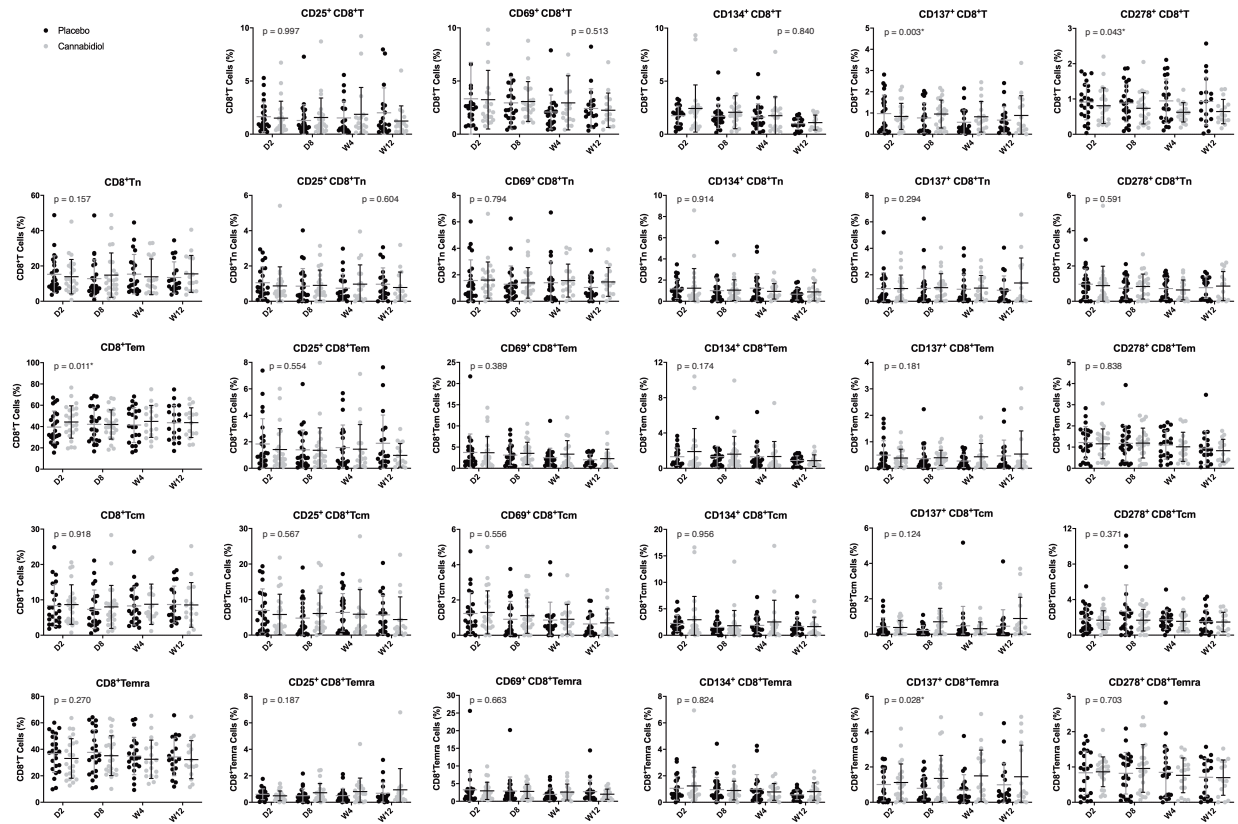


Fig. S2: Subpopulations of CD8⁺T lymphocytes of the cannabidiol group compared with the placebo group at baseline (day 2), day 8, week 4 and week 12. Subpopulations of CD8⁺T lymphocytes are presented in column scatter plots. The mean and standard deviation (SD) are expressed with horizontal and vertical bars, respectively. *Indicates p-value < 0.05; **Indicates p-value < 0.01. CD, cluster of differentiation; D, day; Tcm, T central memory; Tem, T effector memory; Temra, T effector memory RA; Tn, T naive; W, week.

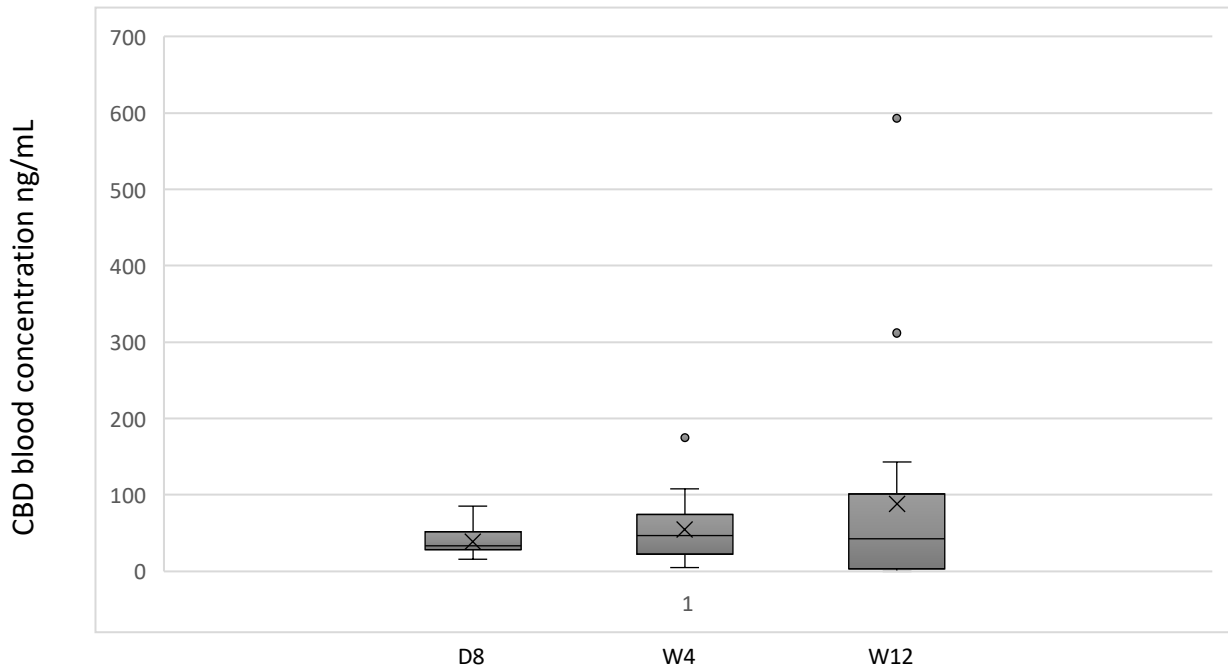


Fig. S3: Participants' CBD blood concentrations among treatment groups (adapted with permission from Mongeau-Pérusse et al., 2021(Mongeau-Perusse et al., 2021)). Minimum, 1st quartile, median, 3rd quartile and maximum values are illustrated with box-whisker plots. Mean and outlier values are illustrated with crosses and circles, respectively. CBD, cannabidiol; D, day; W, week.

Table S1. List of monoclonal antibodies.

Marker	Clone	Fluorochrome	Company
CD3	UCHT1	BUV395	BD Biosciences
CD3	UCHT1	APC-R700	BD Biosciences
CD3	UCHT1	FITC	BD Biosciences
CD4	RPA-T4	FITC	BD Biosciences
CD8	SK1	APC-H7	BD Biosciences
CD11b	ICRF44	APC-Cy7	BD Biosciences
CD11b	ICRF44	V450	BD Biosciences
CD11c	B-ly6	V450	BD Biosciences
CD14	M5E2	PerCPCy5.5	BD Biosciences
CD14	M5E2	FITC	BD Biosciences
CD16	3G8	PE-CF594	BD Biosciences
CD19	HIB21	PE	BD Biosciences
CD19	HIB21	PerCPCy5.5	BD Biosciences
CD20	2H7	APC-H7	BD Biosciences
CD24	ML5	PE-Cy7	BD Biosciences
CD25	NCAM16.2	APC-R700	BD Biosciences
CD27	M-T271	Alexa Fluor 700	BD Biosciences
CD33	WM53	APC	BD Biosciences
CD38	HIT2	PE	BD Biosciences
CD43	1G10	APC	BD Biosciences
CD45RA	HI100	PerCPCy5.5	BD Biosciences
CD56	NCAM16.2	FITC	BD Biosciences
CD62L	DREG-56	BV421	BD Biosciences
CD69	FN50	BV786	BD Biosciences
CD134	ACT35	PE-CF594	BD Biosciences
CD137	4B4-1	APC	BD Biosciences
CD278	DX29	PE	BD Biosciences
HLA-DR	G46-6	PE-Cy7	BD Biosciences
IgD	IA6-2	PE-CF594	BD Biosciences

CD, cluster of differentiation; HLA-DR, human leukocyte antigens-DR isotype; Ig, immunoglobulin.

Table S2. Peripheral soluble cytokines and chemokines receptors used.

Chemokine Panel 1	Proinflammatory Panel 1	Cytokine Panel 1
MIP-1 β	IL-6	IL-16
MDC		VEGF-A

MDC, macrophage derived chemokine; MIP-1 β , macrophage inflammatory protein-1 β ; IL, interleukine; VEGF-A, vascular endothelial growth factor-A.

Table S3. Cytokine results.

Outcomes	Parameters	Estimate	Standard Error	Wald Chi square	p	Effect size
IL-6	Intercept	-0.490	0.685	0.511	0.475	
	Treatment	-0.392	0.165	5.674	0.017	0.347
	Baseline	-0.993	0.095	108.968	0.000	
	SDS score	0.045	0.041	1.211	0.271	
	Sex	-0.341	0.238	2.054	0.152	
	Age	0.005	0.009	0.343	0.558	
IL-16	Intercept	-180.902	56.445	10.272	0.001	
	Treatment	2.448	17.133	0.020	0.886	0.021
	Baseline	-1.015	0.044	543.877	0.000	
	SDS score	2.507	3.439	0.531	0.466	
	Sex	19.886	20.454	0.945	0.331	
	Age	1.754	0.639	7.535	0.006	
MIP-1 β	Intercept	-87.314	24.840	12.356	0.000	
	Treatment	13.746	7.565	3.301	0.069	0.265
	Baseline	-0.608	0.117	27.062	0.000	
	SDS score	1.865	1.298	2.065	0.151	
	Sex	8.002	11.870	0.454	0.500	
	Age	0.270	0.321	0.704	0.401	
MDC	Intercept	-1404.405	291.097	23.276	0.000	
	Treatment	65.980	70.328	0.880	0.348	0.137
	Baseline	-0.611	0.091	44.589	0.000	
	SDS score	-3.439	14.564	0.056	0.813	
	Sex	76.750	89.650	0.733	0.392	
	Age	12.242	2.954	17.174	0.000	
VEGF-A	Intercept	-48.964	34.636	1.998	0.157	
	Treatment	-14.417	6.722	4.600	0.032	0.313
	Baseline	-0.567	0.163	12.130	0.000	
	SDS score	0.000	1.245	0.000	1.000	
	Sex	-6.442	11.633	0.307	0.580	
	Age	0.390	0.343	1.293	0.255	

IL, interleukin; MDC, macrophage derived chemokine; MIP-1 β , macrophage inflammatory protein-1 β ; p, p-value; SDS, severity of dependence scale; VEGF-A, vascular endothelial growth factor-A.

Table S4. Monocyte results.

Outcomes	Parameters	Estimate	Standard Error	Wald Chi square	p	Effect size
Total monocytes CD11c ⁺	Intercept	-13.858	7.572	3.349	0.067	0.134
	Treatment	-1.547	1.682	0.845	0.358	
	Baseline	-0.726	0.105	47.605	0.000	
	SDS score	0.362	0.317	1.304	0.254	
	Sex	-0.829	2.316	0.128	0.720	
	Age	0.078	0.082	0.906	0.341	
Classical monocytes (CD14 ⁺ CD16 ⁻)	Intercept	-10.500	5.933	3.132	0.077	0.127
	Treatment	-1.460	1.677	0.758	0.384	
	Baseline	-0.713	0.107	44.428	0.000	
	SDS score	0.275	0.276	0.991	0.319	
	Sex	-1.126	1.891	0.355	0.551	
	Age	0.063	0.070	0.794	0.373	
Intermediate monocytes (CD14 ⁺ CD16 ⁺)	Intercept	-0.032	1.036	0.001	0.975	0.330
	Treatment	-0.468	0.207	5.082	0.024	
	Baseline	-0.552	0.122	20.371	0.000	
	SDS score	0.055	0.060	0.852	0.356	
	Sex	-0.081	0.288	0.078	0.780	
	Age	-0.017	0.010	2.644	0.104	
Non-classical monocytes (CD14 ^{lo} CD16 ⁺)	Intercept	-0.962	0.358	7.230	0.007	0.187
	Treatment	0.127	0.099	1.659	0.198	
	Baseline	-0.896	0.022	1687.591	0.000	
	SDS score	0.045	0.023	3.795	0.051	
	Sex	0.049	0.124	0.153	0.696	
	Age	0.005	0.004	1.366	0.242	
DC	Intercept	-2.485	0.981	6.418	0.011	0.100
	Treatment	0.170	0.248	0.469	0.493	
	Baseline	-0.769	0.084	83.387	0.000	
	SDS score	0.043	0.052	0.691	0.406	
	Sex	-0.098	0.383	0.066	0.798	
	Age	0.018	0.012	2.253	0.133	
mDC	Intercept	-2.578	0.960	7.204	0.007	0.213
	Treatment	0.337	0.231	2.127	0.145	
	Baseline	-0.774	0.102	57.113	0.000	
	SDS score	0.019	0.043	0.204	0.652	
	Sex	0.351	0.258	1.842	0.175	
	Age	0.018	0.012	2.122	0.145	
mMDSC	Intercept	0.316	0.303	1.085	0.298	0.031
	Treatment	-0.026	0.123	0.045	0.833	

gMDSC	Baseline	-0.403	0.196	4.216	0.040	0.034
	SDS score	0.011	0.017	0.406	0.524	
	Sex	-0.149	0.209	0.507	0.476	
	Age	-0.010	0.004	6.465	0.011	
	Intercept	0.334	0.762	0.193	0.661	
	Treatment	0.030	0.128	0.053	0.818	
	Baseline	-0.766	0.135	32.037	0.000	
	SDS score	0.022	0.026	0.681	0.409	
	Sex	-0.320	0.253	1.599	0.206	
	Age	-0.011	0.007	2.579	0.108	

CD, cluster of differentiation; DC, dendritic cells; gMDSC, granulocytic myeloid derived suppressor cells; mDC, myeloid dendritic cells; mMDSC, monocytic myeloid derived suppressor cells; p, p-value; SDS, severity of dependence scale.

Table S5. Lymphocyte results.

Outcomes	Parameters	Estimate	Standard Error	Wald Chi square	p	Effect size
Total NK	Intercept	-4.794	3.029	2.505	0.113	0.210
	Treatment	-1.003	0.698	2.062	0.151	
	Baseline	-0.774	0.124	38.949	0.000	
	SDS score	0.125	0.154	0.660	0.417	
	Sex	0.916	0.805	1.297	0.255	
	Age	0.015	0.034	0.194	0.660	
	NK CD56 ^{dim} CD16 ^{hi}	Intercept	-3.435	2.583	1.768	
Treatment		-0.254	0.618	0.168	0.681	
Baseline		-0.899	0.145	38.184	0.000	
SDS score		0.064	0.147	0.186	0.666	
Sex		0.930	0.677	1.888	0.169	
Age		0.010	0.025	0.165	0.685	
NK CD56 ^{hi} CD16 ^{neg}		Intercept	-0.351	0.209	2.818	0.093
	Treatment	0.088	0.052	2.804	0.094	
	Baseline	-0.502	0.134	14.143	0.000	
	SDS score	-0.016	0.011	2.226	0.136	
	Sex	0.090	0.050	3.282	0.070	
	Age	0.004	0.003	2.296	0.130	
	NK CD56 ^{neg} CD16 ^{hi}	Intercept	-0.899	0.817	1.211	0.271
Treatment		-0.736	0.167	19.552	0.000	
Baseline		-0.430	0.072	35.759	0.000	
SDS score		0.033	0.030	1.169	0.280	
Sex		0.058	0.208	1.169	0.782	

Total B cells	Age	0.003	0.012	0.064	0.800	
	Intercept	-2.136	2.534	0.711	0.399	
	Treatment	-0.490	0.579	0.716	0.397	0.123
	Baseline	-0.457	0.069	44.359	0.000	
	SDS score	-0.015	0.100	0.023	0.879	
	Sex	-1.245	0.701	3.155	0.076	
Early B cells	Age	-0.004	0.032	0.014	0.906	
	Intercept	-7.950	4.807	2.735	0.098	
	Treatment	-2.010	1.329	2.287	0.130	0.221
	Baseline	-0.875	0.056	241.367	0.000	
	SDS score	0.156	0.230	0.462	0.497	
	Sex	-1.025	1.373	0.557	0.455	
Late B cells	Age	-0.013	0.036	0.130	0.719	
	Intercept	-4.250	4.050	1.101	0.294	
	Treatment	2.088	1.313	2.529	0.112	0.232
	Baseline	-0.874	0.056	245.400	0.000	
	SDS score	-0.159	0.233	0.469	0.494	
	Sex	1.055	1.342	0.617	0.432	
Total T cells	Age	0.007	0.035	0.043	0.835	
	Intercept	-10.539	10.037	1.103	0.294	
	Treatment	1.595	1.982	0.648	0.421	0.117
	Baseline	-0.690	0.089	59.481	0.000	
	SDS score	-0.091	0.382	0.057	0.812	
	Sex	1.173	2.606	0.203	0.653	
CD4 ⁺ T	Age	-0.110	0.096	1.305	0.253	
	Intercept	3.540	5.118	0.479	0.489	
	Treatment	1.101	1.222	0.812	0.368	0.131
	Baseline	-0.901	0.048	355.014	0.000	
	SDS score	-0.507	0.273	3.441	0.064	
	Sex	-0.322	1.180	0.075	0.785	
CD8 ⁺ T	Age	-0.064	0.053	1.445	0.229	
	Intercept	-10.415	4.383	5.646	0.017	
	Treatment	1.840	1.130	2.653	0.103	0.238
	Baseline	-0.942	0.047	394.806	0.000	
	SDS score	0.459	0.261	3.097	0.078	
	Sex	-0.266	1.053	0.064	0.801	
	Age	0.028	0.045	0.386	0.534	

CD, cluster of differentiation; NK, natural killer; p, p-value; SDS, severity of dependence scale.

Table S6. CD4+T subpopulation results.

Outcomes	Parameters	Estimate	Standard Error	Wald Chi square	p	Effect size
CD25 ⁺ CD4 ⁺ T	Intercept	-2.384	0.815	8.551	0.003	0.393
	Treatment	0.689	0.256	7.220	0.007	
	Baseline	-0.764	0.067	129.285	0.000	
	SDS score	0.036	0.050	0.519	0.471	
	Sex	0.135	0.334	0.162	0.687	
	Age	0.015	0.011	1.852	0.174	
CD69 ⁺ CD4 ⁺ T	Intercept	-1.498	0.780	3.691	0.055	0.123
	Treatment	0.224	0.266	0.710	0.400	
	Baseline	-0.893	0.069	169.763	0.000	
	SDS score	0.059	0.048	1.522	0.217	
	Sex	0.033	0.404	0.006	0.936	
	Age	0.010	0.011	0.837	0.360	
CD134 ⁺ CD4 ⁺ T	Intercept	-2.827	1.959	2.082	0.149	0.083
	Treatment	-0.232	0.409	0.322	0.570	
	Baseline	-0.634	0.086	54.977	0.000	
	SDS score	0.142	0.099	2.065	0.151	
	Sex	-0.146	0.259	0.320	0.572	
	Age	0.021	0.018	1.381	0.240	
CD137 ⁺ CD4 ⁺ T	Intercept	0.364	0.369	0.977	0.323	0.192
	Treatment	0.134	0.102	1.725	0.189	
	Baseline	-1.262	0.311	16.423	0.000	
	SDS score	0.007	0.012	0.283	0.595	
	Sex	-0.270	0.189	2.053	0.152	
	Age	-0.001	0.003	0.131	0.717	
CD278 ⁺ CD4 ⁺ T	Intercept	-0.630	0.336	3.520	0.061	0.297
	Treatment	-0.183	0.090	4.152	0.042	
	Baseline	-0.547	0.060	83.757	0.000	
	SDS score	0.035	0.017	4.370	0.037	
	Sex	-0.070	0.119	0.344	0.558	
	Age	-0.001	0.005	0.042	0.837	
CD4 ⁺ Tn	Intercept	-4.848	2.635	3.384	0.066	0.076
	Treatment	0.409	0.785	0.271	0.603	
	Baseline	-0.921	0.028	1079.234	0.000	
	SDS score	0.336	0.195	2.984	0.084	
	Sex	-1.412	0.631	5.001	0.025	
	Age	0.027	0.026	1.051	0.305	
CD25 ⁺ CD4 ⁺ Tn	Intercept	-0.629	0.786	0.640	0.424	0.340
	Treatment	0.511	0.219	5.419	0.020	
	Baseline	-0.906	0.061	222.917	0.000	
	SDS score	0.014	0.040	0.120	0.729	
	Sex	-0.407	0.219	3.452	0.063	

CD69 ⁺ CD4 ⁺ Tn	Age	0.008	0.009	0.815	0.367	0.202
	Intercept	-1.588	0.960	2.736	0.098	
	Treatment	0.373	0.269	1.922	0.166	
	Baseline	-0.789	0.054	211.295	0.000	
	SDS score	0.102	0.068	2.216	0.137	
	Sex	-0.483	0.245	3.888	0.049	
CD134 ⁺ CD4 ⁺ Tn	Age	0.009	0.008	1.109	0.292	0.240
	Intercept	-0.705	0.884	0.636	0.425	
	Treatment	-0.345	0.210	2.706	0.100	
	Baseline	-0.798	0.074	117.331	0.000	
	SDS score	0.034	0.035	0.949	0.330	
	Sex	-0.154	0.253	0.372	0.542	
CD137 ⁺ CD4 ⁺ Tn	Age	0.012	0.013	0.932	0.334	0.033
	Intercept	-0.196	0.538	0.133	0.715	
	Treatment	-0.033	0.146	0.051	0.822	
	Baseline	-0.428	0.150	8.098	0.004	
	SDS score	-0.013	0.027	0.235	0.628	
	Sex	0.042	0.226	0.035	0.851	
CD278 ⁺ CD4 ⁺ Tn	Age	0.001	0.007	0.011	0.917	0.009
	Intercept	0.110	0.380	0.084	0.772	
	Treatment	0.006	0.101	0.003	0.953	
	Baseline	-0.735	0.119	38.350	0.000	
	SDS score	0.015	0.020	0.611	0.435	
	Sex	-0.111	0.121	0.849	0.357	
CD4 ⁺ Tem	Age	-0.007	0.005	2.370	0.124	0.130
	Intercept	-2.100	6.572	0.102	0.749	
	Treatment	-1.148	1.289	0.794	0.373	
	Baseline	-0.912	0.034	736.465	0.000	
	SDS score	-0.331	0.283	1.373	0.241	
	Sex	0.132	1.145	0.013	0.908	
CD25 ⁺ CD4 ⁺ Tem	Age	0.032	0.071	0.209	0.647	0.358
	Intercept	-1.611	0.821	3.848	0.050	
	Treatment	0.621	0.253	6.026	0.014	
	Baseline	-0.765	0.059	168.135	0.000	
	SDS score	0.000	0.060	0.000	0.996	
	Sex	0.086	0.335	0.066	0.797	
CD69 ⁺ CD4 ⁺ Tem	Age	0.010	0.010	1.074	0.300	0.119
	Intercept	-2.020	0.906	4.977	0.026	
	Treatment	0.232	0.285	0.663	0.416	
	Baseline	-0.912	0.078	137.628	0.000	
	SDS score	0.062	0.050	1.510	0.219	
	Sex	0.370	0.426	0.755	0.385	
CD134 ⁺ CD4 ⁺ Tem	Age	0.013	0.013	1.066	0.302	
	Intercept	-3.239	1.992	2.645	0.104	

	Treatment	-0.211	0.443	0.226	0.634	0.069
	Baseline	-0.648	0.085	58.127	0.000	
	SDS score	0.140	0.099	1.977	0.160	
	Sex	-0.144	0.313	0.211	0.646	
	Age	0.028	0.019	2.197	0.138	
CD137 ⁺ CD4 ⁺ Tem	Intercept	0.028	0.172	0.027	0.870	
	Treatment	0.008	0.047	0.029	0.866	0.025
	Baseline	-0.625	0.108	33.534	0.000	
	SDS score	0.007	0.006	1.327	0.249	
	Sex	-0.151	0.098	2.350	0.125	
	Age	-0.001	0.003	0.051	0.821	
CD278 ⁺ CD4 ⁺ Tem	Intercept	-0.701	0.465	2.275	0.131	
	Treatment	-0.141	0.136	1.075	0.300	0.151
	Baseline	-0.497	0.056	79.497	0.000	
	SDS score	0.025	0.026	0.923	0.337	
	Sex	-0.104	0.179	0.335	0.563	
	Age	0.000	0.006	0.000	0.982	
CD4 ⁺ Tcm	Intercept	-10.407	3.197	10.598	0.001	
	Treatment	0.585	0.816	0.514	0.473	0.105
	Baseline	-0.823	0.064	164.479	0.000	
	SDS score	0.468	0.194	5.794	0.016	
	Sex	0.025	0.957	0.001	0.979	
	Age	0.021	0.040	0.281	0.596	
CD25 ⁺ CD4 ⁺ Tcm	Intercept	-4.683	1.854	6.379	0.012	
	Treatment	0.818	0.477	2.947	0.086	0.250
	Baseline	-0.744	0.063	139.802	0.000	
	SDS score	0.066	0.086	0.584	0.445	
	Sex	0.423	0.610	0.480	0.488	
	Age	0.031	0.022	2.047	0.152	
CD69 ⁺ CD4 ⁺ Tcm	Intercept	-1.120	0.870	1.657	0.198	
	Treatment	0.244	0.265	0.854	0.356	0.134
	Baseline	-0.808	0.076	114.727	0.000	
	SDS score	0.001	0.055	0.000	0.983	
	Sex	0.070	0.277	0.064	0.800	
	Age	0.010	0.012	0.742	0.389	
CD134 ⁺ CD4 ⁺ Tcm	Intercept	-2.702	2.267	1.420	0.233	
	Treatment	-0.607	0.477	1.620	0.203	0.186
	Baseline	-0.601	0.089	45.181	0.000	
	SDS score	0.142	0.118	1.454	0.228	
	Sex	-0.088	0.298	0.086	0.769	
	Age	0.020	0.021	0.946	0.331	
CD137 ⁺ CD4 ⁺ Tcm	Intercept	-0.099	0.416	0.057	0.811	
	Treatment	-0.018	0.088	0.043	0.835	0.030
	Baseline	-0.739	0.071	107.498	0.000	

	SDS score	-0.012	0.013	0.824	0.364	
	Sex	0.088	0.110	0.640	0.424	
	Age	0.000	0.005	0.004	0.947	
CD278 ⁺ CD4 ⁺ Tcm	Intercept	-1.534	0.607	6.382	0.012	
	Treatment	-0.078	0.228	0.117	0.732	0.050
	Baseline	-0.598	0.129	21.621	0.000	
	SDS score	0.077	0.032	5.793	0.016	
	Sex	-0.209	0.249	0.709	0.400	
	Age	0.005	0.008	0.385	0.535	
CD4 ⁺ Temra	Intercept	1.868	5.097	0.134	0.714	
	Treatment	0.582	1.380	0.178	0.673	0.062
	Baseline	-0.722	0.092	61.085	0.000	
	SDS score	-0.500	0.210	5.671	0.017	
	Sex	1.475	1.225	1.448	0.229	
	Age	-0.049	0.063	0.585	0.444	
CD25 ⁺ CD4 ⁺ Temra	Intercept	-0.778	0.860	0.818	0.366	
	Treatment	0.586	0.226	6.740	0.009	0.378
	Baseline	-0.969	0.072	182.830	0.000	
	SDS score	0.044	0.038	1.385	0.239	
	Sex	-0.377	0.377	0.998	0.318	
	Age	0.002	0.009	0.029	0.865	
CD69 ⁺ CD4 ⁺ Temra	Intercept	-1.630	0.953	2.927	0.087	
	Treatment	0.181	0.345	0.275	0.600	0.077
	Baseline	-0.779	0.070	124.948	0.000	
	SDS score	0.068	0.070	0.926	0.336	
	Sex	-0.313	0.300	1.092	0.296	
	Age	0.015	0.014	1.183	0.277	
CD134 ⁺ CD4 ⁺ Temra	Intercept	-0.957	0.663	2.086	0.149	
	Treatment	0.016	0.177	0.008	0.927	0.013
	Baseline	-0.506	0.081	39.299	0.000	
	SDS score	0.035	0.034	1.059	0.303	
	Sex	0.153	0.096	2.577	0.108	
	Age	0.004	0.006	0.511	0.475	
CD137 ⁺ CD4 ⁺ Temra	Intercept	-0.099	0.416	0.057	0.811	
	Treatment	-0.018	0.088	0.043	0.835	0.030
	Baseline	-0.739	0.071	107.498	0.000	
	SDS score	-0.012	0.013	0.824	0.364	
	Sex	0.088	0.110	0.640	0.424	
	Age	0.000	0.005	0.004	0.947	
CD278 ⁺ CD4 ⁺ Temra	Intercept	-0.138	0.183	0.568	0.451	
	Treatment	0.046	0.045	1.082	0.298	0.149
	Baseline	-0.565	0.139	16.573	0.000	
	SDS score	0.014	0.009	2.473	0.116	
	Sex	-0.017	0.060	0.076	0.783	

Age -0.002 0.003 0.656 0.418

CD, cluster of differentiation; p, p-value; SDS, severity of dependence scale; Tcm, T central memory; Tem, T effector memory; Temra, T effector memory RA; Tn, T naive.

Table S7. CD8+T subpopulation results.

Outcomes	Parameters	Estimate	Standard Error	Wald Chi square	p	Effect size
CD25 ⁺ CD8 ⁺ T	Intercept	-0.158	1.043	0.023	0.880	0.019
	Treatment	0.044	0.330	0.018	0.894	
	Baseline	-0.800	0.112	51.248	0.000	
	SDS score	0.048	0.044	1.202	0.273	
	Sex	-0.359	0.759	0.223	0.636	
	Age	-0.007	0.011	0.403	0.525	
CD69 ⁺ CD8 ⁺ T	Intercept	-1.314	0.912	2.079	0.149	0.121
	Treatment	0.226	0.273	0.685	0.408	
	Baseline	-0.487	0.078	39.123	0.000	
	SDS score	0.018	0.050	0.123	0.726	
	Sex	0.028	0.383	0.005	0.941	
	Age	-0.003	0.012	0.061	0.805	
CD134 ⁺ CD8 ⁺ T	Intercept	-1.576	0.647	5.932	0.015	0.008
	Treatment	0.011	0.189	0.003	0.954	
	Baseline	-0.324	0.139	5.463	0.019	
	SDS score	0.006	0.038	0.027	0.870	
	Sex	-0.072	0.265	0.074	0.785	
	Age	0.015	0.008	3.571	0.059	
CD137 ⁺ CD8 ⁺ T	Intercept	0.402	0.386	1.081	0.299	0.471
	Treatment	0.313	0.097	10.363	0.001	
	Baseline	-0.739	0.067	122.319	0.000	
	SDS score	-0.036	0.023	2.409	0.121	
	Sex	-0.065	0.121	0.290	0.590	
	Age	-0.005	0.004	1.464	0.226	
CD278 ⁺ CD8 ⁺ T	Intercept	-0.282	0.364	0.599	0.439	0.282
	Treatment	-0.168	0.087	3.778	0.052	
	Baseline	-0.756	0.090	71.342	0.000	
	SDS score	0.017	0.023	0.526	0.468	
	Sex	0.007	0.132	0.003	0.959	
	Age	0.001	0.003	0.032	0.859	
CD8 ⁺ Tn	Intercept	-4.522	3.306	1.871	0.171	0.218
	Treatment	1.425	0.954	2.233	0.135	
	Baseline	-0.910	0.031	846.535	0.000	
	SDS score	0.393	0.238	2.742	0.098	
	Sex	-1.326	1.043	1.617	0.204	
	Age	-0.004	0.036	0.011	0.917	

CD25 ⁺ CD8 ⁺ Tn	Intercept	-0.755	0.696	1.176	0.278	0.083
	Treatment	0.115	0.201	0.327	0.568	
	Baseline	-0.296	0.109	7.401	0.007	
	SDS score	-0.003	0.036	0.007	0.935	
	Sex	0.032	0.223	0.020	0.887	
	Age	0.002	0.009	0.065	0.799	
CD69 ⁺ CD8 ⁺ Tn	Intercept	-0.659	0.714	0.852	0.356	0.033
	Treatment	0.055	0.241	0.052	0.819	
	Baseline	-0.490	0.109	20.069	0.000	
	SDS score	-0.011	0.042	0.067	0.795	
	Sex	-0.038	0.270	0.019	0.889	
	Age	0.004	0.009	0.268	0.605	
CD134 ⁺ CD8 ⁺ Tn	Intercept	-1.585	0.751	4.451	0.035	0.016
	Treatment	-0.021	0.188	0.012	0.911	
	Baseline	-0.204	0.109	3.461	0.063	
	SDS score	0.024	0.033	0.526	0.468	
	Sex	-0.150	0.206	0.535	0.465	
	Age	0.017	0.008	4.140	0.042	
CD137 ⁺ CD8 ⁺ Tn	Intercept	0.081	0.827	0.010	0.922	0.141
	Treatment	0.211	0.219	0.927	0.336	
	Baseline	-0.700	0.121	33.243	0.000	
	SDS score	-0.048	0.051	0.870	0.351	
	Sex	0.116	0.294	0.154	0.694	
	Age	-0.003	0.009	0.115	0.735	
CD278 ⁺ CD8 ⁺ Tn	Intercept	-0.849	0.475	3.188	0.074	0.082
	Treatment	0.083	0.148	0.318	0.573	
	Baseline	-0.112	0.092	1.480	0.224	
	SDS score	-0.020	0.031	0.418	0.518	
	Sex	-0.028	0.153	0.035	0.853	
	Age	0.009	0.005	2.684	0.101	
CD8 ⁺ Tem	Intercept	-3.583	5.571	0.414	0.520	0.390
	Treatment	-3.526	1.318	7.154	0.007	
	Baseline	-0.940	0.043	477.391	0.000	
	SDS score	-0.171	0.287	0.356	0.551	
	Sex	0.863	1.803	0.229	0.632	
	Age	0.073	0.055	1.758	0.185	
CD25 ⁺ CD8 ⁺ Tem	Intercept	-0.105	0.850	0.015	0.902	0.062
	Treatment	-0.108	0.254	0.182	0.670	
	Baseline	-0.656	0.133	24.488	0.000	
	SDS score	-0.010	0.041	0.056	0.813	
	Sex	0.041	0.401	0.010	0.919	
	Age	-0.005	0.011	0.161	0.688	
CD69 ⁺ CD8 ⁺ Tem	Intercept	-2.349	1.141	4.240	0.039	0.145
	Treatment	0.363	0.365	0.985	0.321	

	Baseline	-0.499	0.082	36.830	0.000	
	SDS score	0.020	0.070	0.079	0.779	
	Sex	0.484	0.530	0.832	0.362	
	Age	0.005	0.016	0.096	0.757	
CD134 ⁺ CD8 ⁺ Tem	Intercept	-0.628	0.681	0.851	0.356	
	Treatment	-0.159	0.155	1.050	0.305	0.150
	Baseline	-0.386	0.106	13.196	0.000	
	SDS score	-0.003	0.032	0.011	0.915	
	Sex	0.099	0.197	0.255	0.614	
	Age	0.001	0.007	0.019	0.889	
CD137 ⁺ CD8 ⁺ Tem	Intercept	0.503	0.332	2.302	0.129	
	Treatment	0.143	0.098	2.117	0.146	0.213
	Baseline	-0.577	0.117	24.409	0.000	
	SDS score	-0.024	0.019	1.595	0.207	
	Sex	-0.115	0.184	0.389	0.533	
	Age	-0.007	0.004	4.049	0.044	
CD278 ⁺ CD8 ⁺ Tem	Intercept	-0.574	0.471	1.486	0.223	
	Treatment	-0.009	0.113	0.006	0.938	0.012
	Baseline	-0.667	0.092	52.366	0.000	
	SDS score	0.005	0.029	0.035	0.851	
	Sex	-0.003	0.179	0.000	0.989	
	Age	0.004	0.005	0.710	0.399	
CD8 ⁺ Tcm	Intercept	-3.003	1.868	2.586	0.108	
	Treatment	0.053	0.560	0.009	0.925	0.014
	Baseline	-0.790	0.071	124.905	0.000	
	SDS score	0.281	0.122	5.331	0.021	
	Sex	-0.122	0.691	0.031	0.859	
	Age	-0.032	0.020	2.621	0.105	
CD25 ⁺ CD8 ⁺ Tcm	Intercept	-2.285	2.777	0.677	0.411	
	Treatment	0.563	0.698	0.650	0.420	0.118
	Baseline	-0.766	0.099	60.445	0.000	
	SDS score	0.030	0.142	0.045	0.832	
	Sex	0.616	0.889	0.480	0.488	
	Age	0.001	0.033	0.001	0.976	
CD69 ⁺ CD8 ⁺ Tcm	Intercept	-1.210	0.607	3.966	0.046	
	Treatment	0.122	0.181	0.453	0.501	0.098
	Baseline	-0.258	0.127	4.103	0.043	
	SDS score	0.013	0.032	0.168	0.682	
	Sex	0.026	0.183	0.021	0.886	
	Age	0.009	0.008	1.207	0.272	
CD134 ⁺ CD8 ⁺ Tcm	Intercept	-0.843	1.464	0.331	0.565	
	Treatment	-0.013	0.412	0.001	0.974	0.005
	Baseline	-0.382	0.170	5.033	0.025	
	SDS score	-0.040	0.073	0.308	0.579	

	Sex	0.510	0.420	1.476	0.224	
	Age	-0.002	0.015	0.021	0.885	
CD137 ⁺ CD8 ⁺ Tcm	Intercept	0.530	0.614	0.746	0.388	
	Treatment	0.287	0.177	2.615	0.106	0.237
	Baseline	-0.319	0.230	1.919	0.166	
	SDS score	-0.059	0.036	2.680	0.102	
	Sex	0.099	0.242	0.167	0.683	
	Age	-0.010	0.008	1.918	0.166	
CD278 ⁺ CD8 ⁺ Tcm	Intercept	-0.922	1.193	0.598	0.439	
	Treatment	-0.291	0.293	0.985	0.321	0.145
	Baseline	-0.708	0.194	13.307	0.000	
	SDS score	0.034	0.056	0.367	0.545	
	Sex	-0.392	0.383	1.043	0.307	
	Age	0.010	0.017	0.344	0.558	
CD8 ⁺ Temra	Intercept	3.254	6.884	0.223	0.636	
	Treatment	1.801	1.608	1.255	0.263	0.163
	Baseline	-0.880	0.064	191.183	0.000	
	SDS score	-0.514	0.293	3.070	0.080	
	Sex	-0.319	2.497	0.016	0.898	
	Age	-0.050	0.089	0.318	0.573	
CD25 ⁺ CD8 ⁺ Temra	Intercept	0.454	0.760	0.357	0.550	
	Treatment	0.313	0.222	1.988	0.159	0.206
	Baseline	-0.674	0.204	10.900	0.001	
	SDS score	0.013	0.037	0.125	0.724	
	Sex	-0.486	0.537	0.819	0.365	
	Age	-0.011	0.008	1.691	0.193	
CD69 ⁺ CD8 ⁺ Temra	Intercept	-0.095	0.930	0.011	0.918	
	Treatment	0.163	0.267	0.373	0.541	0.089
	Baseline	-0.468	0.051	84.886	0.000	
	SDS score	-0.064	0.050	1.629	0.202	
	Sex	-0.047	0.328	0.021	0.885	
	Age	-0.006	0.012	0.265	0.607	
CD134 ⁺ CD8 ⁺ Temra	Intercept	-1.113	0.544	4.189	0.041	
	Treatment	-0.040	0.145	0.076	0.783	0.040
	Baseline	-0.207	0.067	9.484	0.002	
	SDS score	0.006	0.021	0.082	0.774	
	Sex	-0.151	0.163	0.862	0.353	
	Age	0.014	0.006	5.593	0.018	
CD137 ⁺ CD8 ⁺ Temra	Intercept	1.129	0.699	2.608	0.106	
	Treatment	0.513	0.212	5.853	0.016	0.353
	Baseline	-0.735	0.105	48.703	0.000	
	SDS score	-0.058	0.038	2.294	0.130	
	Sex	-0.399	0.416	0.923	0.337	
	Age	-0.014	0.008	3.032	0.082	

CD278 ⁺ CD8 ⁺ Temra	Intercept	-0.303	0.400	0.573	0.449	
	Treatment	0.042	0.095	0.197	0.657	0.064
	Baseline	-0.881	0.064	191.807	0.000	
	SDS score	0.000	0.033	0.000	0.993	
	Sex	0.101	0.060	2.818	0.093	
	Age	0.001	0.003	0.099	0.754	

CD, cluster of differentiation; p, p-value; SDS, severity of dependence scale; Tcm, T central memory; Tem, T effector memory; Temra, T effector memory RA; Tn, T naive.

Table S8. Anti-inflammatory drugs used by participants at least once during the trial.

Anti-inflammatory drugs, n (%)	Treatment group	
	CBD (n=24)	Placebo (n=24)
Inhaled corticosteroid	1 (4.2)	2 (8.3)
Topical corticosteroid	2 (8.3)	3 (12.5)
Nasal corticosteroid spray	2 (8.3)	0 (0.0)
Oral corticosteroid	0 (0.0)	0 (0.0)
Nonsteroidal anti-inflammatory drugs	3 (12.5)	3 (12.5)
Monoclonal antibody therapy	0 (0.0)	1 (4.2)
Total*	6 (25.0)	6 (25.0)

*Some participants took many anti-inflammatory drugs which explains why the total does not correspond to the sum. CBD, cannabidiol; n, number of participants.

Table S9. Sensitivity analysis without participants taking anti-inflammatory drugs.

Outcomes	Parameters	Estimate	Standard Error	Wald Chi square	p	Effect size
IL-6	Treatment	-0.392	0.165	5.674	0.017	0.347
	Treatment without participants taking anti-inflammatory drugs	-0.466	0.161	8.402	0.004	0.423
VEGF-A	Treatment	-14.417	6.722	4.600	0.032	0.313
	Treatment without participants taking anti-inflammatory drugs	-12.146	9.376	1.678	0.195	0.189
Intermediate monocytes (CD14 ⁺ CD16 ⁺)	Treatment	-0.468	0.207	5.082	0.024	0.330
	Treatment without participants taking anti-inflammatory drugs	-0.258	0.213	1.470	0.225	0.177
NK CD56 ^{neg} CD16 ^{hi}	Treatment	-0.736	0.167	19.552	0.000	0.643

	Treatment without participants taking anti-inflammatory drugs	-0.673	0.182	13.682	0.000	0.539
CD25 ⁺ CD4 ⁺ T	Treatment	0.689	0.256	7.220	0.007	0.393
	Treatment without participants taking anti-inflammatory drugs	0.511	0.308	2.760	0.097	0.242

CD, cluster of differentiation; IL, interleukine; NK, natural killer; p, p-value; VEGF-A, vascular endothelial growth factor-A.

Table S10. Sensitivity analysis with anti-inflammatory drug use added as a binary covariate.

Outcomes	Parameters	Estimate	Standard Error	Wald Chi square	p	Effect size
IL-6	Intercept	-0.480	0.697	0.475	0.342	
	Treatment	-0.392	0.165	5.608	0.018	0.346
	Baseline	-0.993	0.094	111.527	0.000	
	SDS score	0.045	0.040	1.283	0.257	
	Sex	-0.347	0.244	2.024	0.155	
	Age	0.005	0.008	0.347	0.556	
	Anti-inflammatory drug use	0.023	0.240	0.009	0.923	
VEGF-A	Intercept	-47.149	33.890	1.936	0.164	
	Treatment	-14.462	6.792	4.535	0.033	0.311
	Baseline	-0.564	0.160	12.497	0.000	
	SDS score	0.025	1.254	0.000	0.984	
	Sex	-7.540	12.204	0.382	0.537	
	Age	0.342	0.339	1.018	0.313	
	Anti-inflammatory drug use	4.370	8.145	0.288	0.592	
Intermediate monocytes (CD14 ⁺ CD16 ⁺)	Intercept	-0.006	1.024	0.000	0.996	
	Treatment	-0.467	0.207	5.111	0.024	0.330
	Baseline	-0.554	0.124	19.946	0.000	
	SDS score	0.056	0.060	0.862	0.353	
	Sex	-0.097	0.297	0.107	0.744	
	Age	-0.017	0.010	2.984	0.084	
	Anti-inflammatory drug use	0.090	0.202	0.200	0.655	
NK CD56 ^{neg} CD16 ^{hi}	Intercept	-0.928	0.820	1.279	0.258	
	Treatment	-0.736	0.166	19.784	0.000	0.649

CD25 ⁺ CD4 ⁺ T	Baseline	-0.427	0.073	34.490	0.000	
	SDS score	0.032	0.030	1.132	0.287	
	Sex	0.075	0.211	0.128	0.720	
	Age	0.004	0.012	0.096	0.757	
	Anti-inflammatory drug use	-0.074	0.158	0.218	0.641	
	Intercept	-2.456	0.801	9.397	0.002	
	Treatment	0.685	0.259	6.999	0.008	0.386
	Baseline	-0.759	0.069	120.789	0.000	
	SDS score	0.035	0.051	0.467	0.494	
	Sex	0.164	0.366	0.202	0.653	
	Age	0.016	0.010	2.471	0.116	
	Anti-inflammatory drug use	-0.114	0.285	0.161	0.688	

CD, cluster of differentiation; IL, interleukine; NK, natural killer; p, p-value; SDS, severity of dependence scale; VEGF-A, vascular endothelial growth factor-A.

Table S11. Correlations between weight and inflammatory markers levels.

Inflammatory markers	Pearson r	t	df	p
IL-6	-0.060	-0.284	22	0.390
VEGF-A	-0.397	-2.029	22	0.027
Intermediate monocytes	-0.198	-0.949	22	0.177
NK CD56 ^{neg} CD16 ^{hi}	0.102	0.480	22	0.682
CD25 ⁺ CD4 ⁺ T	0.149	0.706	22	0.756

CD, cluster of differentiation; df, degree of freedom; IL, interleukine; NK, natural killer; p, p-value; r, correlation coefficient; t, Student t; VEGF-A, vascular endothelial growth factor-A.

Table S12. Correlations between cannabidiol plasma concentration and inflammatory markers levels.

Inflammatory markers	Pearson r	t	df	p
IL-6	-0.032	-0.148	22	0.442
VEGF-A	0.041	0.191	22	0.575
Intermediate monocytes	0.199	0.951	22	0.824
NK CD56 ^{neg} CD16 ^{hi}	-0.134	-0.634	22	0.266
CD25 ⁺ CD4 ⁺ T	-0.199	-0.954	22	0.175

CD, cluster of differentiation; df, degree of freedom; IL, interleukine; NK, natural killer; p, p-value; r, correlation coefficient; VEGF-A, vascular endothelial growth factor-A.

Table S13. Linear regressions analysis of inflammatory markers on drug-cue induced craving by treatment group.

Model	Variables	Estimate	Standard Error	t	p
IL-6	Intercept	3.498	3.621	0.966	0.340
	Treatment	-0.823	1.577	0.522	0.604
	IL-6	0.838	0.887	0.944	0.351
	Baseline	-1.217	0.746	1.632	0.111
	SDS score	-0.108	0.187	0.576	0.568
	Sex	0.962	1.181	0.814	0.420
	Age	0.017	0.042	0.408	0.686
	Treatment*IL-6	1.118	0.980	1.140	0.261
VEGF-A	Intercept	4.550	3.689	1.233	0.225
	Treatment	2.383	2.753	0.865	0.392
	VEGF-A	-0.005	0.018	0.308	0.760
	Baseline	0.014	0.015	0.947	0.349
	SDS score	-0.133	0.199	0.669	0.508
	Sex	0.028	1.441	0.019	0.985
	Age	-0.008	0.047	0.166	0.869
	Treatment*VEGF-A	-0.018	0.025	0.728	0.471
Intermediate monocytes	Intercept	5.066	3.766	1.345	0.186
	Treatment	1.358	1.344	1.010	0.318
	Intermediate monocytes	0.218	0.484	0.451	0.655
	Baseline	0.339	0.515	0.658	0.514
	SDS score	-0.139	0.196	0.708	0.483
	Sex	-0.053	1.353	0.039	0.969
	Age	-0.016	0.046	0.339	0.737
	Treatment*Intermediate monocytes	-0.398	0.803	0.495	0.623
NK CD56 ^{neg} CD16 ^{hi}	Intercept	4.100	3.814	1.075	0.289
	Treatment	-0.140	1.808	0.078	0.939

	NK CD56 ^{neg} CD16 ^{hi}	-0.362	0.925	0.391	0.698
	Baseline	0.032	0.535	0.061	0.952
	SDS score	-0.114	0.205	0.555	0.582
	Sex	0.739	1.241	0.595	0.555
	Age	0.009	0.045	0.196	0.845
	Treatment*NK CD56 ^{neg} CD16 ^{hi}	0.660	1.233	0.536	0.595
	Intercept	3.345	4.000	0.836	0.408
	Treatment	1.231	1.764	0.698	0.489
	CD25 ⁺ CD4 ⁺ T	-0.639	0.520	1.230	0.226
	Baseline	0.523	0.355	1.475	0.148
CD25 ⁺ CD4 ⁺ T	SDS score	-0.096	0.192	0.499	0.620
	Sex	0.833	1.212	0.687	0.496
	Age	0.007	0.044	0.152	0.880
	Treatment*CD25 ⁺ CD4 ⁺ T	0.075	0.429	0.174	0.863

The dependent variable for all models was the difference between pre and post self-reported drug-cue induced craving scores (using a visual analogue scale ranging from 0 to 10). The five main significant inflammatory markers by treatment group were the independent variables in their respective model. Baseline inflammatory marker's level, SDS score, sex and age were added as covariates in all models. CD, cluster of differentiation; IL, interleukine; NK, natural killer; p, p-value; SDS, severity of dependence scale; t, Student t; VEGF-A, vascular endothelial growth factor-A.

Chapitre 9 – Discussion

9.1 Pertinence de notre étude

Dans le contexte de la légalisation du cannabis au Canada, il est plus important que jamais de bien comprendre les effets de sa consommation, notamment sur le plan biologique. Notre étude est la première à évaluer l'effet du CBD sur les marqueurs inflammatoires de personnes ayant un TUC. À notre connaissance, c'est également la première à évaluer l'effet du CBD sur une si grande variété de marqueurs inflammatoires dans une population humaine. Nos résultats démontrent que le CBD permet de diminuer plusieurs marqueurs pro-inflammatoires tels les IL-6 (Coefficient d'estimation beta (B)=-0.392, p=0.017, taille d'effet (TE)=0.347), les VEGF (B=-14.417, p=0.032, TE=0.313), les monocytes intermédiaires (B=-0.468, p=0.024, TE=0.330), les lymphocytes NK faiblement cytotoxiques (B=-0.736, p=0.000, TE=0.643) et d'augmenter certains marqueurs ayant des propriétés anti-inflammatoires tels les lymphocytes T CD25+ CD4+ de maturité variée (B=0.689, p=0.007, TE=0.393).

L'IL-6, par son rôle clé dans l'immunité innée est une cible intéressante pour tenter de freiner la cascade inflammatoire dès son initiation (Tanaka et al., 2014). La capacité du CBD à diminuer les niveaux de VEGF, favorise l'imperméabilité de la BHE, pouvant ainsi possiblement réduire la neuroinflammation et les comorbidités psychiatriques associées (Fourrier et al., 2019; Petty & Lo, 2002; Weis & Cheresch, 2005). La diminution des monocytes intermédiaires, impliqués dans la liaison de l'immunité innée à adaptative, pourrait permettre de diminuer la chronicité de l'inflammation (Wolf et al., 2019). Les lymphocytes NK ont pour rôle d'éliminer les cellules dont le fonctionnement est altéré (Melaiu et al., 2019; Muller-Durovic et al., 2019). Le CBD permet de diminuer uniquement les cellules NK faiblement cytotoxiques sans affecter les NK efficaces (fortement cytotoxiques) à la surveillance immunitaire. Les CD25+CD4+T sont des cellules T récemment activées, dont une proportion significative sont des cellules T régulatrices (Tregs)(Bahador et al., 2014; Hori, Nomura, & Sakaguchi, 2003). Les Tregs sont connus pour leur activité immunosuppressive qui inhibe l'activation et la prolifération des cellules T à la fois in vitro et in vivo (Corthay, 2009; Hori et al., 2003).

De plus, notre étude s'inscrit dans un contexte où la toxicomanie est un problème de santé chronique pour lequel peu d'options thérapeutiques efficaces ne sont disponibles. Il est donc crucial de diversifier l'arsenal thérapeutique pour cette condition. Le CBD, par son mécanisme d'action qui lui permet de moduler l'inflammation et par le peu d'effets secondaires qui lui ont été associés dans les revues systématiques et méta-analyses, pourrait s'avérer être une option thérapeutique prometteuse.

9.2 Validité interne

Notre étude comporte une bonne validité interne par le bon contrôle des biais d'observation, des biais de sélection et des facteurs confondants.

9.2.1 Biais d'observation

Notre étude découle d'un essai clinique randomisé contrôlé à double insu, méthode épidémiologique robuste, ce qui minimise grandement nos risques de biais d'observation. Les participants ont été randomisés dans un ratio 1 pour 1 au traitement CBD ou placebo par un statisticien indépendant de l'Unité de recherche clinique appliquée. Les participants et l'équipe de recherche ne connaissaient pas l'assignation du traitement. Les liquides de CBD et de placebo goûtaient la même chose et étaient visuellement identiques. Les traitements étaient conservés dans des enveloppes individuelles à la pharmacie de manière à ce que si l'insu est brisé pour un participant, il ne le sera pas pour les autres participants. L'aveuglement a d'ailleurs été conservé jusqu'à la fin des analyses statistiques. En ce qui a trait à nos mesures, la détermination des niveaux inflammatoires par des prises de sang est une méthode très objective. En conclusion, le risque de biais d'observation de notre étude est faible.

9.2.2 Biais de sélection

Les critères d'inclusion et d'exclusion étaient les mêmes pour chacun des groupes, ce qui limite les biais de sélection. Le nombre de participants dans chacun des groupes était également similaire (CBD=24 , placebo=24). Toutefois, les critères d'éligibilité n'ont pas été spécifiquement choisis pour notre analyse exploratoire sur l'inflammation, mais pour l'étude principale sur la diminution de la consommation. Ainsi, il aurait été pertinent pour notre étude que la prise d'un

anti-inflammatoire dans la semaine précédant l'étude et tout au long de l'étude soient des critères d'exclusion.

De plus, nous avons un taux d'attrition relativement élevé de 18.75% (n=9/48), bien que consistant avec celui d'autres études évaluant des populations ayant un TUC (Chan et al., 2019), connues pour être plus difficilement compliantes. Puisque la première partie de l'étude consistait en une phase de 10 jours de désintoxication au CHUM, il est possible que les participants ayant quitté l'étude soient ceux qui ressentaient un plus fort besoin de consommer, et par le fait même possiblement ceux ayant le TUC le plus sévère. Les personnes ayant un TUC plus sévère auraient probablement une charge inflammatoire plus élevée sachant que l'utilisation chronique de la cocaïne augmente les niveaux de marqueurs inflammatoires. Pour contrer ce possible effet, nous avons mis les marqueurs inflammatoires en covariables dans notre modèle. Soulignons que le taux d'attrition était similaire dans chacun des groupes. En somme, le risque de biais de sélection de notre étude demeure faible.

9.2.3 Facteurs confondants

Toutes les données démographiques et caractéristiques de bases des participants étaient comparables entre les groupes (voir *Table 1. Demographic and baseline characteristics of participants* de l'article). Nous pouvons conclure que la randomisation a bien fonctionné. Pour pallier à de possibles déséquilibres dans les taux de marqueurs inflammatoires initiaux, nous les avons ajoutés comme covariables à nos analyses statistiques.

Puisque la prise d'un anti-inflammatoire n'était pas un critère d'exclusion, nous avons fait des analyses statistiques supplémentaires pour nous assurer qu'elle n'a pas été un facteur confondant. La prise d'un anti-inflammatoire était comparable dans les groupes CBD et placebo : 25% des participants dans le groupe CBD et 25% des participants dans le groupe placebo ont pris au moins une fois un anti-inflammatoire pendant l'étude (voir *Table S8. Anti-inflammatory drugs used by participants at least once during the trial* de l'article). Les anti-inflammatoires les plus souvent rapportés étaient les anti-inflammatoires non-stéroïdiens, suivi des corticostéroïdes topiques. Puisque la prise d'anti-inflammatoire était similaire entre les deux groupes et qu'elle était ponctuelle, elle risque peu d'avoir entraîné un biais dans nos résultats. Pour vérifier cette

assomption, nous avons réalisé *a posteriori* deux analyses de sensibilité. Premièrement, nous avons refait nos analyses statistiques par GEE en excluant tous les participants ayant pris au moins une fois un anti-inflammatoire durant l'étude (voir *Table S9. Sensitivity analysis without participants taking anti-inflammatory drugs* de l'article). Puisque notre taille d'échantillon était alors très petite (n=36), la plupart de nos valeurs p n'étaient plus significatives. Toutefois, les valeurs du paramètre B étaient similaires avec et sans les 12 participants ayant pris un anti-inflammatoire, démontrant une tendance similaire de l'effet du CBD peu importe l'inclusion des participants ayant pris un anti-inflammatoire. Deuxièmement, nous avons refait notre GEE en ajoutant la covariable binaire de prise d'anti-inflammatoire ou non et nos résultats sont demeurés inchangés : toutes nos valeurs p significatives le sont demeurées (voir *Table S10. Sensitivity analysis with anti-inflammatory drug use added as a binary covariate* de l'article). Ces analyses démontrent que la prise ponctuelle d'un anti-inflammatoire ne semble donc pas avoir affecté significativement nos résultats.

9.3 Validité externe

Considérant que les critères d'inclusion et d'exclusion n'étaient pas trop stricts, les résultats de notre étude sont majoritairement généralisables à la population ayant un TUC. Des participants respectant les critères d'éligibilité, 19/97 (19.6%) n'ont pas participé à l'étude. Soulignons certaines limites à cette généralisation. La majorité (94%) de nos participants souffraient d'un TUC de niveau sévère selon le DSM-5. Nos résultats sont donc difficilement généralisables aux personnes souffrant d'un TUC léger à modéré. De plus, notre étude était unicentrique, et regroupait uniquement des participants de la région de Montréal. Considérant que plusieurs facteurs environnementaux tels la pollution et l'alimentation puissent avoir un impact sur l'inflammation (Chuang, Chan, Su, Lee, & Tang, 2007; Minihane et al., 2015), il aurait été intéressant d'inclure des participants provenant d'autres centres. Uniquement 18.8% (n=9/48) de nos participants étaient de sexe féminin. Sachant que les femmes ont une réponse inflammatoire légèrement différente de celle des hommes dus aux hormones (Klein & Flanagan, 2016; Rathod et al., 2017), il aurait été intéressant de faire des analyses selon le sexe. Malheureusement, notre petite taille d'échantillon ne nous a pas permis de faire ces analyses. Il faut donc se montrer prudents dans la généralisation de nos résultats aux participants de sexe féminin. Dernièrement,

notre population était majoritairement caucasienne (83.3%) et il faut donc faire attention lors de la généralisation à d'autres ethnicités.

9.4 Limites

Bien que notre étude détient une bonne validité interne et externe, il faut garder en tête certaines limites lors de l'interprétation de nos résultats.

9.4.1 Phase exploratoire

Premièrement, il se peut que nous ayons exclu, lors de la phase exploratoire, certains marqueurs qui auraient pu être statistiquement significatifs si appliqués à un échantillon plus grand. Il faut se rappeler que nos analyses ont été réalisées en deux phases consécutives dues à des limites de fonds : une phase exploratoire et une phase finale. Dans la phase exploratoire, les échantillons des 12 premiers participants ont été analysés à l'aide de 40 analytes cytokiniques et 39 anticorps monoclonaux. Les marqueurs inflammatoires pour lesquels une différence entre les groupes était associée à un $p < 0.1$ ont été appliqués à l'ensemble des 48 participants. Pour la phase finale, 5 analytes et 24 anticorps monoclonaux ont donc été utilisés sur les échantillons des 48 participants. Il se pourrait alors que certains marqueurs n'ont pas obtenu une différence entre les groupes associés à un $p < 0.1$ lorsque seulement 12 participants étaient inclus, alors qu'ils auraient pu être significatifs si analysés avec l'ensemble des 48 participants.

9.4.2 Analyses multiples

Notre volonté de mettre en lumière de potentiels marqueurs inflammatoires influencés par le CBD pour guider de prochaines recherches nous a poussés à analyser de nombreux marqueurs inflammatoires. Nous avons donc réalisé de nombreuses comparaisons entre les groupes sans toutefois appliquer la correction de Bonferroni pour les comparaisons multiples, ce qui entraîne un risque non négligeable d'erreur alpha. Considérant la nouveauté de nos résultats et leur aspect exploratoire, nous jugions qu'il était plus pertinent de discuter des résultats significatifs à un seuil de 0.05. Autrement, la correction de Bonferroni nous aurait donné un seuil de significativité de 0.000625 suite à nos 80 comparaisons. Nous n'aurions donc eu qu'un seul résultat à discuter, soit celui des lymphocytes NK CD56^{neg}CD16^{hi} pour lequel nous avons un $p = 0.000$. Ce résultat est donc

particulièrement robuste par rapport à celui des autres marqueurs inflammatoires. Soulignons tout de même que le risque d'erreur alpha est diminué par le fait que notre modèle GEE prenait en compte pour chaque participant les résultats de trois prises de sang réalisés à trois moments différents pendant l'étude pour tirer une conclusion sur les niveaux de marqueurs inflammatoires, ce qui diminue grandement la variabilité d'une prise de sang unique.

9.4.3 Taille d'échantillon

Dû à des limites de fonds, les échantillons sanguins ont été récoltés pour les 48 premiers participants. La taille d'échantillon semble appropriée vu l'obtention de résultats statistiquement significatifs. De plus, une étude similaire dosant les marqueurs inflammatoires chez les utilisateurs de cocaïnes comparativement à des contrôles avait obtenu des différences statistiquement significatives avec une taille d'échantillon de 36 participants (cocaïne, n=12 ; contrôle, n=24)(Moreira et al., 2016). Il s'avère toutefois difficile d'évaluer quelle taille d'échantillon aurait été optimale vu le peu d'études sur le CBD et l'inflammation chez l'humain. La seule autre étude clinique ayant évalué l'effet du CBD sur trois marqueurs inflammatoires n'a obtenu aucune différence statistiquement significative avec une taille d'échantillon de 27 participants (CBD, n=13; placebo, n=14) (Jadoon et al., 2016). Une taille d'échantillon plus grande nous aurait permis d'augmenter la puissance de notre étude à détecter des différences significatives entre les groupes. Il est possible que certains de nos résultats dont la valeur p était à la limite de la significativité se soient avérés statistiquement significatifs avec l'aide d'un plus grand nombre de données. Une plus grande taille d'échantillon nous aurait également permis d'augmenter la précision de nos résultats en diminuant l'erreur d'échantillonnage.

9.4.4 Consommation de cocaïne et d'autres drogues

Un des principaux critères d'inclusion pour participer à l'étude était d'avoir un trouble de l'usage de la cocaïne actif selon les critères du DSM-5. Il fallait alors s'attendre à ce que certains de nos participants consomment de la cocaïne pendant l'étude. De nos 48 participants, 45 (93.75%) ont rechuté et ont consommé. De plus, les participants ayant un trouble de l'usage concomitant d'une autre substance n'étant pas sous traitement étaient aussi admissibles. Il faut alors garder en tête que les niveaux inflammatoires observés ne sont pas le reflet de la consommation unique de CBD.

La prise concomitante de drogue a pu masquer l'effet du CBD tout dépendant de la fréquence et du moment de la consommation par rapport à la prise de sang. Toutefois, soulignons que les prises tant de cocaïne que d'autres drogues étaient similaires entre les deux groupes tel que démontré dans le *Table 1. Demographic and baseline characteristics of participants* de l'article, ce qui risque peu d'avoir influencé de manière différentielle nos résultats.

9.4.5 Dose fixe et unique

Nos participants recevaient une dose fixe de CBD de 800 mg par jour. Certains participants plus lourds ayant un volume de distribution plus élevé auraient pu avoir moins de variation de leurs marqueurs inflammatoires suite à l'administration de CBD comparativement aux personnes ayant un poids inférieur et donc une concentration de CBD possiblement plus grande. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons réalisé *a posteriori* des corrélations de Pearson entre le poids et les concentrations de marqueurs inflammatoires (voir *Table S11. Correlations between weight and inflammatory markers levels* de l'article) et entre les concentration plasmatique de CBD et les concentrations de marqueurs inflammatoires (voir *Table S12. Correlations between cannabidiol plasma concentration and inflammatory markers levels* de l'article). Les coefficients de corrélation se sont révélés être faibles et non significatifs. Contrairement à notre hypothèse, ni le poids ni la concentration plasmatique de CBD ne semblent avoir influencé les niveaux de marqueurs, ce qui peut être expliqué par la grande variabilité interindividuelle à métaboliser le CBD (Millar, Stone, Yates, & O'Sullivan, 2018; Ujvary & Hanus, 2016). Il aurait donc été intéressant d'ajuster la dose de CBD en fonction d'un seuil plasmatique optimal à atteindre.

De plus, notre dose était unique à 800 mg par jour, ce qui a pu créer un pic de concentration plasmatique de CBD. Les valeurs inflammatoires obtenues ont donc possiblement été influencées par le temps écoulé entre la consommation de CBD et la prise de sang. Considérant que la demi-vie du CBD oral est estimée entre 2 à 5 jours (Millar et al., 2018), nous croyons que la dose unique de CBD a pu offrir une concentration plasmatique somme toute stable dans le temps. Il aurait toutefois été intéressant de diviser la quantité de CBD sur deux ou trois doses par jour pour optimiser la stabilité des concentrations plasmatiques de CBD et par le fait même, possiblement

optimiser la stabilité des niveaux de marqueurs inflammatoires. Toutefois, les doses multiples ont le désavantage de diminuer la compliance au traitement vu le risque d'oubli plus grand.

En addition, il s'avère difficile de savoir si notre dose journalière de 800 mg était la dose optimale pour diminuer l'inflammation. En effet, une seule étude chez l'humain avait évalué l'efficacité du CBD sur uniquement trois marqueurs inflammatoires. Ils avaient utilisé une dose de 100 mg administrée deux fois par jour, pour un total journalier de 200 mg (Jadoon et al., 2016). Avec cette dose, ils n'avaient obtenu aucune différence significative entre le groupe CBD et placebo, mais il est à savoir que leur taille d'échantillon était petite (CBD, n=13; placebo, n=14). Nous avons choisi une dose de 800 mg sachant que Hurd et al. ont démontré les effets bénéfiques potentiels de 400 mg et 800 mg de CBD sur l'envie de consommer des opiacés (Hurd et al., 2019). De plus, 800 mg s'avère une posologique sécuritaire et tolérable (Iffland & Grotenhermen, 2017; Manini et al., 2015).

Il aurait été intéressant d'essayer différentes doses de CBD, par exemple 200, 400, 600, 800,1000 pour évaluer l'efficacité de celles-ci et déterminer s'il y a une corrélation dose-réponse.

Chapitre 10 – Pistes de recherches futures & conclusion

Il serait pertinent que de prochaines études investiguent les thématiques suivantes.

10.1 Effet du CBD sur l'inflammation comme issue primaire

Il serait intéressant qu'une étude évalue comme issue primaire l'effet du CBD sur les marqueurs inflammatoires chez l'humain et choisisse en conséquence des critères d'inclusion et d'exclusion spécifiques à cet objectif. À titre d'exemple, la prise d'anti-inflammatoire dans la semaine précédant l'étude devrait être un critère d'exclusion. Les participants pourraient également être stratifiés en fonction de leurs niveaux inflammatoires initiaux.

10.2 Effet de différentes doses de CBD sur l'inflammation

Il serait intéressant d'analyser l'effet de différentes doses de CBD (ex. 200, 400, 600, 800, 1000 mg) sur l'inflammation afin de déterminer s'il y a un effet dose-réponse. Il serait alors possible d'identifier la dose optimale de CBD.

10.3 Effet du CBD sur l'inflammation à long terme

Nos résultats démontrent que le CBD conserve un effet anti-inflammatoire malgré la prise concomitante d'autres drogues. Dans une optique de réduction des méfaits, l'utilisation du CBD pourrait avoir un impact positif sur les comorbidités inflammatoires de personnes qui décident de poursuivre leur consommation. Il serait donc intéressant que d'autres études se penchent sur l'impact clinique à long terme de cette réduction de l'inflammation par le CBD. À titre d'exemple, il serait intéressant d'observer si la prise de CBD à long terme réduit l'incidence d'évènements cardio-vasculaires, de dépression, de diabète et de cancer.

10.4 Effet du CBD chez des populations ayant différentes maladies inflammatoires

Il serait intéressant que les propriétés anti-inflammatoires du CBD soient étudiées sur d'autres populations ayant un état inflammatoire chronique, tels les patients avec des maladies auto-

immunes, des problèmes cardiovasculaires, le diabète et le cancer. Considérant la sécurité et la tolérabilité du CBD, il pourrait éventuellement devenir un traitement anti-inflammatoire prometteur pour diverses pathologies.

En conclusion, notre étude est la première à évaluer l'effet du CBD sur les marqueurs inflammatoires de personnes ayant un trouble de l'usage. Elle est également la première à notre connaissance à évaluer l'effet du CBD sur un large éventail de marqueurs inflammatoires dans une population humaine. Elle révèle que le CBD semble avoir des effets anti-inflammatoires intéressants chez l'humain. D'autres études seront nécessaires pour répliquer et approfondir les propriétés anti-inflammatoires du CBD chez l'humain. Dans le contexte de légalisation du cannabis au Canada et ailleurs dans le monde, une meilleure compréhension des fonctions du cannabis et de ses composantes s'avère essentielle.

Références bibliographiques

- Aluksanasuwan, S., Plumworasawat, S., Malaitad, T., Chaiyarit, S., & Thongboonkerd, V. (2020). High glucose induces phosphorylation and oxidation of mitochondrial proteins in renal tubular cells: A proteomics approach. *Sci Rep*, *10*(1), 5843. doi:10.1038/s41598-020-62665-w
- American Psychiatric Association. (2013). DSM-5: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. doi:10.1002/9781118625392
- Argaw, A. T., Asp, L., Zhang, J., Navrazhina, K., Pham, T., Mariani, J. N., . . . John, G. R. (2012). Astrocyte-derived VEGF-A drives blood-brain barrier disruption in CNS inflammatory disease. *J Clin Invest*, *122*(7), 2454-2468. doi:10.1172/JCI60842
- Atalay, S., Jarocka-Karpowicz, I., & Skrzydlewska, E. (2019). Antioxidative and Anti-Inflammatory Properties of Cannabidiol. *Antioxidants (Basel)*, *9*(1). doi:10.3390/antiox9010021
- Aviello, G., Romano, B., Borrelli, F., Capasso, R., Gallo, L., Piscitelli, F., . . . Izzo, A. A. (2012). Chemopreventive effect of the non-psychotropic phytocannabinoid cannabidiol on experimental colon cancer. *J Mol Med (Berl)*, *90*(8), 925-934. doi:10.1007/s00109-011-0856-x
- Bahador, A., Hadjati, J., Hassannejad, N., Ghazanfari, H., Maracy, M., Jafari, S., . . . Nejadeh, A. (2014). Frequencies of CD4+ T Regulatory Cells and their CD25(high) and FoxP3(high) Subsets Augment in Peripheral Blood of Patients with Acute and Chronic Brucellosis. *Osong Public Health Res Perspect*, *5*(3), 161-168. doi:10.1016/j.phrp.2014.04.008
- Bailey, J., Kalk, N. J., Andrews, R., Yates, S., Nahar, L., Kelleher, M., & Paterson, S. (2021). Alcohol and cocaine use prior to suspected suicide: Insights from toxicology. *Drug Alcohol Rev*, *40*(7), 1195-1201. doi:10.1111/dar.13260
- Barron, H., Hafizi, S., Andrezza, A. C., & Mizrahi, R. (2017). Neuroinflammation and Oxidative Stress in Psychosis and Psychosis Risk. *Int J Mol Sci*, *18*(3). doi:10.3390/ijms18030651
- Bauer, M. E., & Teixeira, A. L. (2019). Inflammation in psychiatric disorders: what comes first? *Ann N Y Acad Sci*, *1437*(1), 57-67. doi:10.1111/nyas.13712

- Beiser, T., & Yaka, R. (2019). The Role of Oxidative Stress in Cocaine Addiction. *Journal of Neurology & Neuromedicine*, 4(1), 17-21. doi:10.29245/2572.942x/2019/1.1239
- Bentzley, B. S., Han, S. S., Neuner, S., Humphreys, K., Kampman, K. M., & Halpern, C. H. (2021). Comparison of Treatments for Cocaine Use Disorder Among Adults: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*, 4(5), e218049. doi:10.1001/jamanetworkopen.2021.8049
- Biswal, M. R., Ahmed, C. M., Ildefonso, C. J., Han, P., Li, H., Jivanji, H., . . . Lewin, A. S. (2015). Systemic treatment with a 5HT1a agonist induces anti-oxidant protection and preserves the retina from mitochondrial oxidative stress. *Exp Eye Res*, 140, 94-105. doi:10.1016/j.exer.2015.07.022
- Blanco, C., Florez-Salamanca, L., Secades-Villa, R., Wang, S., & Hasin, D. S. (2018). Predictors of initiation of nicotine, alcohol, cannabis, and cocaine use: Results of the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions (NESARC). *Am J Addict*, 27(6), 477-484. doi:10.1111/ajad.12764
- Bonaccorso, S., Ricciardi, A., Zangani, C., Chiappini, S., & Schifano, F. (2019). Cannabidiol (CBD) use in psychiatric disorders: A systematic review. *Neurotoxicology*, 74, 282-298. doi:10.1016/j.neuro.2019.08.002
- Brandt, L., Chao, T., Comer, S. D., & Levin, F. R. (2021). Pharmacotherapeutic strategies for treating cocaine use disorder-what do we have to offer? *Addiction*, 116(4), 694-710. doi:10.1111/add.15242
- Buch, S., Yao, H., Guo, M., Mori, T., Mathias-Costa, B., Singh, V., . . . Su, T. P. (2012). Cocaine and HIV-1 interplay in CNS: cellular and molecular mechanisms. *Curr HIV Res*, 10(5), 425-428. doi:10.2174/157016212802138823
- Butler, A. J., Rehm, J., & Fischer, B. (2017). Health outcomes associated with crack-cocaine use: Systematic review and meta-analyses. *Drug Alcohol Depend*, 180, 401-416. doi:10.1016/j.drugalcdep.2017.08.036
- Carrier, E. J., Auchampach, J. A., & Hillard, C. J. (2006). Inhibition of an equilibrative nucleoside transporter by cannabidiol: a mechanism of cannabinoid immunosuppression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(20), 7895-7900. doi:10.1073/pnas.0511232103

- Centre canadien sur les dépendances et l'usage de substances. (2017). Coûts et méfaits de l'usage de substances au Canada (CEMUSC). Retrieved from <https://cemusc.ca/consulter-les-donnees/>
- Centre canadien sur les dépendances et l'usage de substances. (2019). Sommaire canadien sur la drogue.
- Chan, B., Kondo, K., Freeman, M., Ayers, C., Montgomery, J., & Kansagara, D. (2019). Pharmacotherapy for Cocaine Use Disorder-a Systematic Review and Meta-analysis. *J Gen Intern Med*, *34*(12), 2858-2873. doi:10.1007/s11606-019-05074-8
- Chatterjee, S. (2016). Chapter Two - Oxidative Stress, Inflammation, and Disease,. In D. A. B. Thomas Dziubla (Ed.), *Oxidative Stress and Biomaterials*, : Academic Press,.
- Chen, W. W., Zhang, X., & Huang, W. J. (2016). Role of neuroinflammation in neurodegenerative diseases (Review). *Mol Med Rep*, *13*(4), 3391-3396. doi:10.3892/mmr.2016.4948
- Chi, O. Z., Hunter, C., Liu, X., & Weiss, H. R. (2007). Effects of anti-VEGF antibody on blood-brain barrier disruption in focal cerebral ischemia. *Exp Neurol*, *204*(1), 283-287. doi:10.1016/j.expneurol.2006.11.001
- Chuang, K. J., Chan, C. C., Su, T. C., Lee, C. T., & Tang, C. S. (2007). The effect of urban air pollution on inflammation, oxidative stress, coagulation, and autonomic dysfunction in young adults. *Am J Respir Crit Care Med*, *176*(4), 370-376. doi:10.1164/rccm.200611-1627OC
- Chung, H. Y., Kim, D. H., Lee, E. K., Chung, K. W., Chung, S., Lee, B., . . . Yu, B. P. (2019). Redefining Chronic Inflammation in Aging and Age-Related Diseases: Proposal of the Senoinflammation Concept. *Aging Dis*, *10*(2), 367-382. doi:10.14336/AD.2018.0324
- Cisneros, I. E., Erdenizmenli, M., Cunningham, K. A., Paessler, S., & Dineley, K. T. (2018). Cocaine evokes a profile of oxidative stress and impacts innate antiviral response pathways in astrocytes. *Neuropharmacology*, *135*, 431-443. doi:10.1016/j.neuropharm.2018.03.019
- Clark, K. H., Wiley, C. A., & Bradberry, C. W. (2013). Psychostimulant abuse and neuroinflammation: emerging evidence of their interconnection. *Neurotox Res*, *23*(2), 174-188. doi:10.1007/s12640-012-9334-7

- Corthay, A. (2009). How do regulatory T cells work? *Scand J Immunol*, 70(4), 326-336.
doi:10.1111/j.1365-3083.2009.02308.x
- Croxford, J. L., & Yamamura, T. (2005). Cannabinoids and the immune system: potential for the treatment of inflammatory diseases? *J Neuroimmunol*, 166(1-2), 3-18.
doi:10.1016/j.jneuroim.2005.04.023
- Cruse, J., Lewis, R., & Wang, H. (2007). CLUSTER OF DIFFERENTIATION (CD) ANTIGENS. *Elsevier Public Health Emergency Collection*. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-012198382-6/50027-3>
- Cui, C., Shurtleff, D., & Harris, R. A. (2014). Neuroimmune mechanisms of alcohol and drug addiction. *Int Rev Neurobiol*, 118, 1-12. doi:10.1016/B978-0-12-801284-0.00001-4
- Dahal, S., Chitti, S. V., Nair, M. P., & Saxena, S. K. (2015). Interactive effects of cocaine on HIV infection: implication in HIV-associated neurocognitive disorder and neuroAIDS. *Front Microbiol*, 6, 931. doi:10.3389/fmicb.2015.00931
- Daneman, R., & Prat, A. (2015). The blood-brain barrier. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 7(1), a020412. doi:10.1101/cshperspect.a020412
- De Almeida, D. L., & Devi, L. A. (2020). Diversity of molecular targets and signaling pathways for CBD. *Pharmacol Res Perspect*, 8(6), e00682. doi:10.1002/prp2.682
- Dhanda, A. D., Williams, E. L., Yates, E., Lait, P. J. P., Schewitz-Bowers, L. P., Hegazy, D., . . . Lee, R. W. J. (2019). Intermediate Monocytes in Acute Alcoholic Hepatitis Are Functionally Activated and Induce IL-17 Expression in CD4(+) T Cells. *J Immunol*, 203(12), 3190-3198. doi:10.4049/jimmunol.1800742
- Dhillon, N. K., Peng, F., Bokhari, S., Callen, S., Shin, S. H., Zhu, X., . . . Buch, S. J. (2008). Cocaine-mediated alteration in tight junction protein expression and modulation of CCL2/CCR2 axis across the blood-brain barrier: implications for HIV-dementia. *J Neuroimmune Pharmacol*, 3(1), 52-56. doi:10.1007/s11481-007-9091-1
- Dhital, S., Stokes, J. V., Park, N., Seo, K. S., & Kaplan, B. L. (2017). Cannabidiol (CBD) induces functional Tregs in response to low-level T cell activation. *Cell Immunol*, 312, 25-34. doi:10.1016/j.cellimm.2016.11.006

- Dogui, R., Elsayy, W., Conti, A. A., & Baldacchino, A. (2021). Association between chronic psychoactive substances use and systemic inflammation: a systematic review and meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*. doi:10.1016/j.neubiorev.2021.02.031
- El-Remessy, A. B., Al-Shabrawey, M., Khalifa, Y., Tsai, N. T., Caldwell, R. B., & Liou, G. I. (2006). Neuroprotective and blood-retinal barrier-preserving effects of cannabidiol in experimental diabetes. *Am J Pathol*, *168*(1), 235-244. doi:10.2353/ajpath.2006.050500
- Elliott, J. C., Ijames, S. G., & Lysle, D. T. (2003). Cocaine increases inducible nitric oxide synthase expression in rats: effects of acute and binge administration. *International Immunopharmacology*, *3*(7), 1011-1018. doi:10.1016/s1567-5769(03)00099-7
- ElSohly, M. A., Radwan, M. M., Gul, W., Chandra, S., & Galal, A. (2017). Phytochemistry of Cannabis sativa L. *Prog Chem Org Nat Prod*, *103*, 1-36. doi:10.1007/978-3-319-45541-9_1
- Ersche, K. D., Hagan, C. C., Smith, D. G., Abbott, S., Jones, P. S., Apergis-Schoute, A. M., & Doffinger, R. (2014). Aberrant disgust responses and immune reactivity in cocaine-dependent men. *Biol Psychiatry*, *75*(2), 140-147. doi:10.1016/j.biopsych.2013.08.004
- Farrell, M., Martin, N. K., Stockings, E., Bórquez, A., Cepeda, J. A., Degenhardt, L., . . . McKetin, R. (2019). Responding to global stimulant use: challenges and opportunities. *The Lancet*, *394*(10209), 1652-1667. doi:10.1016/s0140-6736(19)32230-5
- Ferri, C. P., Dunn, J., Gossop, M., & Laranjeira, R. (2004). Factors associated with adverse reactions to cocaine among a sample of long-term, high-dose users in Sao Paulo, Brazil. *Addict Behav*, *29*(2), 365-374. doi:10.1016/j.addbeh.2003.08.029
- Ferrucci, L., & Fabbri, E. (2018). Inflammageing: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. *Nat Rev Cardiol*, *15*(9), 505-522. doi:10.1038/s41569-018-0064-2
- Florez-Salamanca, L., Secades-Villa, R., Hasin, D. S., Cottler, L., Wang, S., Grant, B. F., & Blanco, C. (2013). Probability and predictors of transition from abuse to dependence on alcohol, cannabis, and cocaine: results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Am J Drug Alcohol Abuse*, *39*(3), 168-179. doi:10.3109/00952990.2013.772618

- Fourrier, C., Singhal, G., & Baune, B. T. (2019). Neuroinflammation and cognition across psychiatric conditions. *CNS Spectr*, *24*(1), 4-15. doi:10.1017/S1092852918001499
- Fox, H. C., D'Sa, C., Kimmerling, A., Siedlarz, K. M., Tuit, K. L., Stowe, R., & Sinha, R. (2012). Immune system inflammation in cocaine dependent individuals: implications for medications development. *Hum Psychopharmacol*, *27*(2), 156-166. doi:10.1002/hup.1251
- Fox, H. C., Garcia, M., Jr., Kemp, K., Milivojevic, V., Kreek, M. J., & Sinha, R. (2006). Gender differences in cardiovascular and corticoadrenal response to stress and drug cues in cocaine dependent individuals. *Psychopharmacology (Berl)*, *185*(3), 348-357. doi:10.1007/s00213-005-0303-1
- Franca, C. N., Izar, M. C. O., Hortencio, M. N. S., do Amaral, J. B., Ferreira, C. E. S., Tuleta, I. D., & Fonseca, F. A. H. (2017). Monocyte subtypes and the CCR2 chemokine receptor in cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)*, *131*(12), 1215-1224. doi:10.1042/CS20170009
- Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., . . . Slavich, G. M. (2019). Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nat Med*, *25*(12), 1822-1832. doi:10.1038/s41591-019-0675-0
- Gan, X., Zhang, L., Berger, O., Stins, M. F., Way, D., Taub, D. D., . . . Fiala, M. (1999). Cocaine enhances brain endothelial adhesion molecules and leukocyte migration. *Clin Immunol*, *91*(1), 68-76. doi:10.1006/clim.1998.4683
- Gandhi, N., Saiyed, Z. M., Napuri, J., Samikkannu, T., Reddy, P. V., Agudelo, M., . . . Nair, M. P. (2010). Interactive role of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) clade-specific Tat protein and cocaine in blood-brain barrier dysfunction: implications for HIV-1-associated neurocognitive disorder. *J Neurovirol*, *16*(4), 294-305. doi:10.3109/13550284.2010.499891
- Gaur, P., Myles, A., Misra, R., & Aggarwal, A. (2017). Intermediate monocytes are increased in enthesitis-related arthritis, a category of juvenile idiopathic arthritis. *Clin Exp Immunol*, *187*(2), 234-241. doi:10.1111/cei.12880
- Gomez-Galvez, Y., Palomo-Garo, C., Fernandez-Ruiz, J., & Garcia, C. (2016). Potential of the cannabinoid CB(2) receptor as a pharmacological target against inflammation in

- Parkinson's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, *64*, 200-208.
doi:10.1016/j.pnpbp.2015.03.017
- Graziani, M., Sarti, P., Arese, M., Magnifico, M. C., Badiani, A., & Saso, L. (2017). Cardiovascular Mitochondrial Dysfunction Induced by Cocaine: Biomarkers and Possible Beneficial Effects of Modulators of Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev*, *2017*, 3034245.
doi:10.1155/2017/3034245
- Guo, N., Liu, L., Yang, X., Song, T., Li, G., Li, L., . . . Wu, H. (2019). Immunological Changes in Monocyte Subsets and Their Association With Foxp3(+) Regulatory T Cells in HIV-1-Infected Individuals With Syphilis: A Brief Research Report. *Front Immunol*, *10*, 714.
doi:10.3389/fimmu.2019.00714
- Halpern, J. H., Sholar, M. B., Glowacki, J., Mello, N. K., Mendelson, J. H., & Siegel, A. J. (2003). Diminished interleukin-6 response to proinflammatory challenge in men and women after intravenous cocaine administration. *J Clin Endocrinol Metab*, *88*(3), 1188-1193.
doi:10.1210/jc.2002-020804
- Haney, M., Malcolm, R. J., Babalonis, S., Nuzzo, P. A., Cooper, Z. D., Bedi, G., . . . Walsh, S. L. (2016). Oral Cannabidiol does not Alter the Subjective, Reinforcing or Cardiovascular Effects of Smoked Cannabis. *Neuropsychopharmacology*, *41*(8), 1974-1982.
doi:10.1038/npp.2015.367
- Hasko, G., & Pacher, P. (2008). A2A receptors in inflammation and injury: lessons learned from transgenic animals. *J Leukoc Biol*, *83*(3), 447-455. doi:10.1189/jlb.0607359
- Henshaw, F. R., Dewsbury, L. S., Lim, C. K., & Steiner, G. Z. (2021). The Effects of Cannabinoids on Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines: A Systematic Review of In Vivo Studies. *Cannabis Cannabinoid Res*, *6*(3), 177-195. doi:10.1089/can.2020.0105
- Hori, S., Nomura, T., & Sakaguchi, S. (2003). Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science*, *299*(5609), 1057-1061. doi:10.1126/science.1079490
- Hurd, Y. L., Spriggs, S., Alishayev, J., Winkel, G., Gurgov, K., Kudrich, C., . . . Salsitz, E. (2019). Cannabidiol for the Reduction of Cue-Induced Craving and Anxiety in Drug-Abstinent Individuals With Heroin Use Disorder: A Double-Blind Randomized Placebo-Controlled Trial. *Am J Psychiatry*, *176*(11), 911-922. doi:10.1176/appi.ajp.2019.18101191

- Iffland, K., & Grotenhermen, F. (2017). An Update on Safety and Side Effects of Cannabidiol: A Review of Clinical Data and Relevant Animal Studies. *Cannabis Cannabinoid Res*, 2(1), 139-154. doi:10.1089/can.2016.0034
- Ignatowska-Jankowska, B., Jankowski, M., Glac, W., & Swiergel, A. H. (2009). Cannabidiol-induced lymphopenia does not involve NKT and NK cells. *J Physiol Pharmacol*, 60 Suppl 3, 99-103. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19996489>
- Jadoon, K. A., Ratcliffe, S. H., Barrett, D. A., Thomas, E. L., Stott, C., Bell, J. D., . . . Tan, G. D. (2016). Efficacy and Safety of Cannabidiol and Tetrahydrocannabivarin on Glycemic and Lipid Parameters in Patients With Type 2 Diabetes: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Parallel Group Pilot Study. *Diabetes Care*, 39(10), 1777-1786. doi:10.2337/dc16-0650
- Jan, T. R., Su, S. T., Wu, H. Y., & Liao, M. H. (2007). Suppressive effects of cannabidiol on antigen-specific antibody production and functional activity of splenocytes in ovalbumin-sensitized BALB/c mice. *Int Immunopharmacol*, 7(6), 773-780. doi:10.1016/j.intimp.2007.01.015
- Kampman, K. M. (2019). The treatment of cocaine use disorder. *Sci Adv*, 5(10), eaax1532. doi:10.1126/sciadv.aax1532
- Klein, S. L., & Flanagan, K. L. (2016). Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol*, 16(10), 626-638. doi:10.1038/nri.2016.90
- Kosten, T. R., Domingo, C. B., Shorter, D., Orson, F., Green, C., Somoza, E., . . . Kampman, K. (2014). Vaccine for cocaine dependence: a randomized double-blind placebo-controlled efficacy trial. *Drug Alcohol Depend*, 140, 42-47. doi:10.1016/j.drugalcdep.2014.04.003
- Kousik, S. M., Napier, T. C., & Carvey, P. M. (2012). The effects of psychostimulant drugs on blood brain barrier function and neuroinflammation. *Front Pharmacol*, 3, 121. doi:10.3389/fphar.2012.00121
- Kovacic, P. (2005). Role of oxidative metabolites of cocaine in toxicity and addiction: oxidative stress and electron transfer. *Med Hypotheses*, 64(2), 350-356. doi:10.1016/j.mehy.2004.06.028
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2018). *Robbins Basic Pathology* (Elsevier Ed. Tenth ed.).

- Laprairie, R. B., Bagher, A. M., Kelly, M. E., & Denovan-Wright, E. M. (2015). Cannabidiol is a negative allosteric modulator of the cannabinoid CB1 receptor. *Br J Pharmacol*, *172*(20), 4790-4805. doi:10.1111/bph.13250
- Larney, S., Peacock, A., Mathers, B. M., Hickman, M., & Degenhardt, L. (2017). A systematic review of injecting-related injury and disease among people who inject drugs. *Drug Alcohol Depend*, *171*, 39-49. doi:10.1016/j.drugalcdep.2016.11.029
- Larsen, C., & Shahinas, J. (2020). Dosage, Efficacy and Safety of Cannabidiol Administration in Adults: A Systematic Review of Human Trials. *J Clin Med Res*, *12*(3), 129-141. doi:10.14740/jocmr4090
- Lattanzi, S., Brigo, F., Trinka, E., Zaccara, G., Cagnetti, C., Del Giovane, C., & Silvestrini, M. (2018). Efficacy and Safety of Cannabidiol in Epilepsy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Drugs*, *78*(17), 1791-1804. doi:10.1007/s40265-018-0992-5
- Lavender, T. W., & McCarron, B. (2013). Acute infections in intravenous drug users. *Clin Med (Lond)*, *13*(5), 511-513. doi:10.7861/clinmedicine.13-5-511
- Lawrence, T. (2009). The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, *1*(6), a001651. doi:10.1101/cshperspect.a001651
- Levandowski, M. L., Hess, A. R., Grassi-Oliveira, R., & de Almeida, R. M. (2016). Plasma interleukin-6 and executive function in crack cocaine-dependent women. *Neurosci Lett*, *628*, 85-90. doi:10.1016/j.neulet.2016.06.023
- Levandowski, M. L., Viola, T. W., Prado, C. H., Wieck, A., Bauer, M. E., Brietzke, E., & Grassi-Oliveira, R. (2016). Distinct behavioral and immunoendocrine parameters during crack cocaine abstinence in women reporting childhood abuse and neglect. *Drug Alcohol Depend*, *167*, 140-148. doi:10.1016/j.drugalcdep.2016.08.010
- Levandowski, M. L., Viola, T. W., Wearick-Silva, L. E., Wieck, A., Tractenberg, S. G., Brietzke, E., . . . Grassi-Oliveira, R. (2014). Early life stress and tumor necrosis factor superfamily in crack cocaine withdrawal. *J Psychiatr Res*, *53*, 180-186. doi:10.1016/j.jpsychires.2014.02.017
- Levine, J., & Schooler, N. R. (1986). SAFTEE: a technique for the systematic assessment of side effects in clinical trials. *Psychopharmacol Bull*, *22*(2), 343-381. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3774930>

- Leweke, F. M., Piomelli, D., Pahlisch, F., Muhl, D., Gerth, C. W., Hoyer, C., . . . Koethe, D. (2012). Cannabidiol enhances anandamide signaling and alleviates psychotic symptoms of schizophrenia. *Transl Psychiatry, 2*, e94. doi:10.1038/tp.2012.15
- Liao, K., Guo, M., Niu, F., Yang, L., Callen, S. E., & Buch, S. (2016). Cocaine-mediated induction of microglial activation involves the ER stress-TLR2 axis. *J Neuroinflammation, 13*, 33. doi:10.1186/s12974-016-0501-2
- Lipton, J. W., Gyawali, S., Borys, E. D., Koprach, J. B., Ptaszny, M., & McGuire, S. O. (2003). Prenatal cocaine administration increases glutathione and alpha-tocopherol oxidation in fetal rat brain. *Brain Res Dev Brain Res, 147*(1-2), 77-84. doi:10.1016/j.devbrainres.2003.08.006
- Little, K. Y., Ramssen, E., Welchko, R., Volberg, V., Roland, C. J., & Cassin, B. (2009). Decreased brain dopamine cell numbers in human cocaine users. *Psychiatry Res, 168*(3), 173-180. doi:10.1016/j.psychres.2008.10.034
- Loftis, J. M., & Huckans, M. (2013). Substance use disorders: psychoneuroimmunological mechanisms and new targets for therapy. *Pharmacol Ther, 139*(2), 289-300. doi:10.1016/j.pharmthera.2013.04.011
- Lopez-Pedrajas, R., Ramirez-Lamelas, D. T., Muriach, B., Sanchez-Villarejo, M. V., Almansa, I., Vidal-Gil, L., . . . Muriach, M. (2015). Cocaine promotes oxidative stress and microglial-macrophage activation in rat cerebellum. *Front Cell Neurosci, 9*, 279. doi:10.3389/fncel.2015.00279
- Lowin, T., Tingting, R., Zurmahr, J., Classen, T., Schneider, M., & Pongratz, G. (2020). Cannabidiol (CBD): a killer for inflammatory rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Cell Death Dis, 11*(8), 714. doi:10.1038/s41419-020-02892-1
- Lurie, D. I. (2018). An Integrative Approach to Neuroinflammation in Psychiatric disorders and Neuropathic Pain. *J Exp Neurosci, 12*, 1179069518793639. doi:10.1177/1179069518793639
- Maccarrone, M., Guzman, M., Mackie, K., Doherty, P., & Harkany, T. (2014). Programming of neural cells by (endo)cannabinoids: from physiological rules to emerging therapies. *Nat Rev Neurosci, 15*(12), 786-801. doi:10.1038/nrn3846

- Macedo, D. S., de Vasconcelos, S. M., dos Santos, R. S., Aguiar, L. M., Lima, V. T., Viana, G. S., & de Sousa, F. C. (2005). Cocaine alters catalase activity in prefrontal cortex and striatum of mice. *Neurosci Lett*, *387*(1), 53-56. doi:10.1016/j.neulet.2005.07.024
- Maione, S., Piscitelli, F., Gatta, L., Vita, D., De Petrocellis, L., Palazzo, E., . . . Di Marzo, V. (2011). Non-psychoactive cannabinoids modulate the descending pathway of antinociception in anaesthetized rats through several mechanisms of action. *Br J Pharmacol*, *162*(3), 584-596. doi:10.1111/j.1476-5381.2010.01063.x
- Manetti, L., Cavagnini, F., Martino, E., & Ambrogio, A. (2014). Effects of cocaine on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J Endocrinol Invest*, *37*(8), 701-708. doi:10.1007/s40618-014-0091-8
- Manini, A. F., Yiannoulos, G., Bergamaschi, M. M., Hernandez, S., Olmedo, R., Barnes, A. J., . . . Hurd, Y. L. (2015). Safety and pharmacokinetics of oral cannabidiol when administered concomitantly with intravenous fentanyl in humans. *J Addict Med*, *9*(3), 204-210. doi:10.1097/ADM.0000000000000118
- Mantsch, J. R., Cullinan, W. E., Tang, L. C., Baker, D. A., Katz, E. S., Hoks, M. A., & Ziegler, D. R. (2007). Daily cocaine self-administration under long-access conditions augments restraint-induced increases in plasma corticosterone and impairs glucocorticoid receptor-mediated negative feedback in rats. *Brain Res*, *1167*, 101-111. doi:10.1016/j.brainres.2007.05.080
- Maor, Y., Yu, J., Kuzontkoski, P. M., Dezube, B. J., Zhang, X., & Groopman, J. E. (2012). Cannabidiol inhibits growth and induces programmed cell death in kaposi sarcoma-associated herpesvirus-infected endothelium. *Genes Cancer*, *3*(7-8), 512-520. doi:10.1177/1947601912466556
- Martin-Fontecha, M., Angelina, A., Ruckert, B., Rueda-Zubiaurre, A., Martin-Cruz, L., van de Veen, W., . . . Palomares, O. (2018). A Fluorescent Probe to Unravel Functional Features of Cannabinoid Receptor CB1 in Human Blood and Tonsil Immune System Cells. *Bioconjug Chem*, *29*(2), 382-389. doi:10.1021/acs.bioconjchem.7b00680
- McKenna, M., & McDougall, J. J. (2020). Cannabinoid control of neurogenic inflammation. *Br J Pharmacol*, *177*(19), 4386-4399. doi:10.1111/bph.15208

- McKetin, R., Leung, J., Stockings, E., Huo, Y., Foulds, J., Lappin, J. M., . . . Degenhardt, L. (2019). Mental health outcomes associated with of the use of amphetamines: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine*, *16*, 81-97. doi:10.1016/j.eclinm.2019.09.014
- McPartland, J. M., Duncan, M., Di Marzo, V., & Pertwee, R. G. (2015). Are cannabidiol and Delta(9) -tetrahydrocannabivarin negative modulators of the endocannabinoid system? A systematic review. *Br J Pharmacol*, *172*(3), 737-753. doi:10.1111/bph.12944
- Meissner, H., & Cascella, M. (2022). Cannabidiol (CBD). *StatPearls [Internet]*. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556048/>
- Melaiu, O., Lucarini, V., Cifaldi, L., & Fruci, D. (2019). Influence of the Tumor Microenvironment on NK Cell Function in Solid Tumors. *Front Immunol*, *10*, 3038. doi:10.3389/fimmu.2019.03038
- Mendelson, J. H., Mello, N. K., Sholar, M. B., Siegel, A. J., Mutschler, N., & Halpern, J. (2002). Temporal concordance of cocaine effects on mood states and neuroendocrine hormones. *Psychoneuroendocrinology*, *27*(1-2), 71-82. doi:10.1016/s0306-4530(01)00036-1
- Millar, S. A., Stone, N. L., Yates, A. S., & O'Sullivan, S. E. (2018). A Systematic Review on the Pharmacokinetics of Cannabidiol in Humans. *Front Pharmacol*, *9*, 1365. doi:10.3389/fphar.2018.01365
- Minihane, A. M., Vinoy, S., Russell, W. R., Baka, A., Roche, H. M., Tuohy, K. M., . . . Calder, P. C. (2015). Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. *Br J Nutr*, *114*(7), 999-1012. doi:10.1017/S0007114515002093
- Mongeau-Perusse, V., Brissette, S., Bruneau, J., Conrod, P., Dubreucq, S., Gazil, G., . . . Jutras-Aswad, D. (2021). Cannabidiol as a Treatment for Craving and Relapse in Individuals with Cocaine Use Disorder: a Randomized Placebo-Controlled Trial. *Addiction*. doi:10.1111/add.15417
- Moreira, F. P., Medeiros, J. R., Lhullier, A. C., Souza, L. D., Jansen, K., Portela, L. V., . . . Oses, J. P. (2016). Cocaine abuse and effects in the serum levels of cytokines IL-6 and IL-10. *Drug Alcohol Depend*, *158*, 181-185. doi:10.1016/j.drugalcdep.2015.11.024

- Moretti, M., Belli, G., Morini, L., Monti, M. C., Osculati, A. M. M., & Visona, S. D. (2019). Drug Abuse-Related Neuroinflammation in Human Postmortem Brains: An Immunohistochemical Approach. *J Neuropathol Exp Neurol*, *78*(11), 1059-1065. doi:10.1093/jnen/nlz084
- Muller, C., Morales, P., & Reggio, P. H. (2018). Cannabinoid Ligands Targeting TRP Channels. *Front Mol Neurosci*, *11*, 487. doi:10.3389/fnmol.2018.00487
- Muller-Durovic, B., Grahlert, J., Devine, O. P., Akbar, A. N., & Hess, C. (2019). CD56-negative NK cells with impaired effector function expand in CMV and EBV co-infected healthy donors with age. *Aging (Albany NY)*, *11*(2), 724-740. doi:10.18632/aging.101774
- Muriach, M., Lopez-Pedrajas, R., Barcia, J. M., Sanchez-Villarejo, M. V., Almansa, I., & Romero, F. J. (2010). Cocaine causes memory and learning impairments in rats: involvement of nuclear factor kappa B and oxidative stress, and prevention by topiramate. *J Neurochem*, *114*(3), 675-684. doi:10.1111/j.1471-4159.2010.06794.x
- Narvaez, J. C., Magalhaes, P. V., Fries, G. R., Colpo, G. D., Czepielewski, L. S., Vianna, P., . . . Kapczinski, F. (2013). Peripheral toxicity in crack cocaine use disorders. *Neurosci Lett*, *544*, 80-84. doi:10.1016/j.neulet.2013.03.045
- National Center for Biotechnology Information. (2021). Cannabidiol. Retrieved from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cannabidiol>
- Nichols, J. M., & Kaplan, B. L. F. (2020). Immune Responses Regulated by Cannabidiol. *Cannabis Cannabinoid Res*, *5*(1), 12-31. doi:10.1089/can.2018.0073
- O'Brien, E. C., Abdulahad, W. H., Rutgers, A., Huitema, M. G., O'Reilly, V. P., Coughlan, A. M., . . . Hickey, F. B. (2015). Intermediate monocytes in ANCA vasculitis: increased surface expression of ANCA autoantigens and IL-1beta secretion in response to anti-MPO antibodies. *Sci Rep*, *5*, 11888. doi:10.1038/srep11888
- O'Sullivan, S. E. (2016). An update on PPAR activation by cannabinoids. *Br J Pharmacol*, *173*(12), 1899-1910. doi:10.1111/bph.13497
- Oddi, S., Scipioni, L., & Maccarrone, M. (2020). Endocannabinoid system and adult neurogenesis: a focused review. *Curr Opin Pharmacol*, *50*, 25-32. doi:10.1016/j.coph.2019.11.002

- Osafo, N., Yeboah, O., Antwi, A., & Ainooson, G. (2020). doi:10.22541/au.159986420.00633539
- Patricio, F., Morales-Andrade, A. A., Patricio-Martinez, A., & Limon, I. D. (2020). Cannabidiol as a Therapeutic Target: Evidence of its Neuroprotective and Neuromodulatory Function in Parkinson's Disease. *Front Pharmacol*, *11*, 595635. doi:10.3389/fphar.2020.595635
- Pellati, F., Borgonetti, V., Brighenti, V., Biagi, M., Benvenuti, S., & Corsi, L. (2018). Cannabis sativa L. and Nonpsychoactive Cannabinoids: Their Chemistry and Role against Oxidative Stress, Inflammation, and Cancer. *Biomed Res Int*, *2018*, 1691428. doi:10.1155/2018/1691428
- Petty, M. A., & Lo, E. H. (2002). Junctional complexes of the blood–brain barrier: permeability changes in neuroinflammation. *Progress in Neurobiology*, *68*(5), 311-323. doi:10.1016/s0301-0082(02)00128-4
- Picard, M., Juster, R. P., & McEwen, B. S. (2014). Mitochondrial allostatic load puts the 'gluc' back in glucocorticoids. *Nat Rev Endocrinol*, *10*(5), 303-310. doi:10.1038/nrendo.2014.22
- Pimentel, E., Sivalingam, K., Doke, M., & Samikkannu, T. (2020). Effects of Drugs of Abuse on the Blood-Brain Barrier: A Brief Overview. *Front Neurosci*, *14*, 513. doi:10.3389/fnins.2020.00513
- Piomelli, D. (2003). The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nat Rev Neurosci*, *4*(11), 873-884. doi:10.1038/nrn1247
- Poon, H. F., Abdullah, L., Mullan, M. A., Mullan, M. J., & Crawford, F. C. (2007). Cocaine-induced oxidative stress precedes cell death in human neuronal progenitor cells. *Neurochem Int*, *50*(1), 69-73. doi:10.1016/j.neuint.2006.06.012
- Portugal-Cohen, M., Numa, R., Yaka, R., & Kohen, R. (2010). Cocaine induces oxidative damage to skin via xanthine oxidase and nitric oxide synthase. *J Dermatol Sci*, *58*(2), 105-112. doi:10.1016/j.jdermsci.2010.03.010
- Rajesh, M., Mukhopadhyay, P., Batkai, S., Hasko, G., Liaudet, L., Drel, V. R., . . . Pacher, P. (2007). Cannabidiol attenuates high glucose-induced endothelial cell inflammatory response and barrier disruption. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, *293*(1), H610-619. doi:10.1152/ajpheart.00236.2007

- Ramamoorthy, S., & Cidlowski, J. A. (2016). Corticosteroids: Mechanisms of Action in Health and Disease. *Rheum Dis Clin North Am*, 42(1), 15-31, vii. doi:10.1016/j.rdc.2015.08.002
- Rathod, K., Kapil, V., Velmurugan, S., Khambata, R., Siddique, U., Khan, S., . . . Ahluwalia, A. (2017). Sex differences in the inflammatory response and inflammation-induced vascular dysfunction. *The Lancet*, 389. doi:10.1016/s0140-6736(17)30416-6
- Resstel, L. B., Tavares, R. F., Lisboa, S. F., Joca, S. R., Correa, F. M., & Guimaraes, F. S. (2009). 5-HT1A receptors are involved in the cannabidiol-induced attenuation of behavioural and cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. *Br J Pharmacol*, 156(1), 181-188. doi:10.1111/j.1476-5381.2008.00046.x
- Rhen, T., & Cidlowski, J. A. (2005). Antiinflammatory action of glucocorticoids--new mechanisms for old drugs. *N Engl J Med*, 353(16), 1711-1723. doi:10.1056/NEJMra050541
- Ribeiro, A., Ferraz-de-Paula, V., Pinheiro, M. L., Vitoretti, L. B., Mariano-Souza, D. P., Quinteiro-Filho, W. M., . . . Palermo-Neto, J. (2012). Cannabidiol, a non-psychotropic plant-derived cannabinoid, decreases inflammation in a murine model of acute lung injury: role for the adenosine A(2A) receptor. *Eur J Pharmacol*, 678(1-3), 78-85. doi:10.1016/j.ejphar.2011.12.043
- Riezzo, I., Fiore, C., De Carlo, D., Pascale, N., Neri, M., Turillazzi, E., & Fineschi, V. (2012). Side effects of cocaine abuse: multiorgan toxicity and pathological consequences. *Curr Med Chem*, 19(33), 5624-5646. doi:10.2174/092986712803988893
- Rivier, C., & Vale, W. (1987). Cocaine stimulates adrenocorticotropin (ACTH) secretion through a corticotropin-releasing factor (CRF)-mediated mechanism. *Brain Research*, 422(2), 403-406. doi:10.1016/0006-8993(87)90953-x
- Romano, M., Fanelli, G., Tan, N., Nova-Lamperti, E., McGregor, R., Lechler, R. I., . . . Scotta, C. (2018). Expanded Regulatory T Cells Induce Alternatively Activated Monocytes With a Reduced Capacity to Expand T Helper-17 Cells. *Front Immunol*, 9, 1625. doi:10.3389/fimmu.2018.01625
- Rostène, W. (2005). Claude Fortier : une grande histoire de la neuroendocrinologie. *M/S : médecine sciences*, 21(5), 551–555. doi:<https://id.erudit.org/iderudit/010969aradresse>

- Sajja, R. K., Rahman, S., & Cucullo, L. (2016). Drugs of abuse and blood-brain barrier endothelial dysfunction: A focus on the role of oxidative stress. *J Cereb Blood Flow Metab*, *36*(3), 539-554. doi:10.1177/0271678X15616978
- Santé Canada. (2018). Renseignements destinés aux professionnels de la santé - Le cannabis et les cannabinoïdes.
- Santegoets, S. J., Dijkgraaf, E. M., Battaglia, A., Beckhove, P., Britten, C. M., Gallimore, A., . . . van der Burg, S. H. (2015). Monitoring regulatory T cells in clinical samples: consensus on an essential marker set and gating strategy for regulatory T cell analysis by flow cytometry. *Cancer Immunol Immunother*, *64*(10), 1271-1286. doi:10.1007/s00262-015-1729-x
- Schote, A. B., Jäger, K., Kroll, S. L., Vonmoos, M., Hulka, L. M., Preller, K. H., . . . Quednow, B. B. (2018). Glucocorticoid receptor gene variants and lower expression of NR3C1 are associated with cocaine use. *Addiction Biology*, *24*(4), 730-742. doi:10.1111/adb.12632
- Shevach, E. M. (2002). CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol*, *2*(6), 389-400. doi:10.1038/nri821
- Sholar, M. B., Mendelson, J. H., Mello, N. K., Siegel, A. J., Kaufman, M. J., Levin, J. M., . . . Cohen, B. M. (1998). Concurrent pharmacokinetic analysis of plasma cocaine and adrenocorticotrophic hormone in men. *J Clin Endocrinol Metab*, *83*(3), 966-968. doi:10.1210/jcem.83.3.4654
- Sies, H., Berndt, C., & Jones, D. P. (2017). Oxidative Stress. *Annu Rev Biochem*, *86*, 715-748. doi:10.1146/annurev-biochem-061516-045037
- Sil, S., Niu, F., Tom, E., Liao, K., Periyasamy, P., & Buch, S. (2019). Cocaine Mediated Neuroinflammation: Role of Dysregulated Autophagy in Pericytes. *Mol Neurobiol*, *56*(5), 3576-3590. doi:10.1007/s12035-018-1325-0
- Soder, H. E., Berumen, A. M., Gomez, K. E., Green, C. E., Suchting, R., Wardle, M. C., . . . Lane, S. D. (2020). Elevated Neutrophil to Lymphocyte Ratio in Older Adults with Cocaine Use Disorder as a Marker of Chronic Inflammation. *Clin Psychopharmacol Neurosci*, *18*(1), 32-40. doi:10.9758/cpn.2020.18.1.32

- Spanagel, R. (2020). Cannabinoids and the endocannabinoid system in reward processing and addiction: from mechanisms to interventions. *Dialogues Clin Neurosci*, 22(3), 241-250. doi:10.31887/DCNS.2020.22.3/rspanagel
- Spronk, D. B., van Wel, J. H., Ramaekers, J. G., & Verkes, R. J. (2013). Characterizing the cognitive effects of cocaine: a comprehensive review. *Neurosci Biobehav Rev*, 37(8), 1838-1859. doi:10.1016/j.neubiorev.2013.07.003
- Stankowski, R. V., Kloner, R. A., & Rezkalla, S. H. (2015). Cardiovascular consequences of cocaine use. *Trends Cardiovasc Med*, 25(6), 517-526. doi:10.1016/j.tcm.2014.12.013
- Sternberg, E. M. (2006). Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nat Rev Immunol*, 6(4), 318-328. doi:10.1038/nri1810
- Suzuki, Y., Nagai, N., & Umemura, K. (2016). A Review of the Mechanisms of Blood-Brain Barrier Permeability by Tissue-Type Plasminogen Activator Treatment for Cerebral Ischemia. *Front Cell Neurosci*, 10, 2. doi:10.3389/fncel.2016.00002
- Svizenska, I., Dubovy, P., & Sulcova, A. (2008). Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures--a short review. *Pharmacol Biochem Behav*, 90(4), 501-511. doi:10.1016/j.pbb.2008.05.010
- Szekely, Y., Ingbir, M., Bentur, O. S., Hochner, O., & Porat, R. (2020). Natural cannabinoids suppress the cytokine storm in sepsis-like in vitro model. *Eur Cytokine Netw*, 31(2), 50-58. doi:10.1684/ecn.2020.0445
- Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. (2014). IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 6(10), a016295. doi:10.1101/cshperspect.a016295
- Truong, T. T., & Kosten, T. R. (2022). Current status of vaccines for substance use disorders: A brief review of human studies. *J Neurol Sci*, 434, 120098. doi:10.1016/j.jns.2021.120098
- Turcotte, C., Chouinard, F., Lefebvre, J. S., & Flaman, N. (2015). Regulation of inflammation by cannabinoids, the endocannabinoids 2-arachidonoyl-glycerol and arachidonoyl-ethanolamide, and their metabolites. *J Leukoc Biol*, 97(6), 1049-1070. doi:10.1189/jlb.3RU0115-021R

- Ujvary, I., & Hanus, L. (2016). Human Metabolites of Cannabidiol: A Review on Their Formation, Biological Activity, and Relevance in Therapy. *Cannabis Cannabinoid Res*, 1(1), 90-101. doi:10.1089/can.2015.0012
- United Nations Office on Drugs and Crime. (2019). *World Drug Report 2019*. Vienna, Austria: United Nations Publications Sales No. E.19.XI.8.
- Vallee, A., Lecarpentier, Y., Guillevin, R., & Vallee, J. N. (2017). Effects of cannabidiol interactions with Wnt/beta-catenin pathway and PPARgamma on oxidative stress and neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 49(10), 853-866. doi:10.1093/abbs/gmx073
- Walker, J., Winhusen, T., Storkson, J. M., Lewis, D., Pariza, M. W., Somoza, E., & Somoza, V. (2014). Total antioxidant capacity is significantly lower in cocaine-dependent and methamphetamine-dependent patients relative to normal controls: results from a preliminary study. *Hum Psychopharmacol*, 29(6), 537-543. doi:10.1002/hup.2430
- Weis, S. M., & Cheresch, D. A. (2005). Pathophysiological consequences of VEGF-induced vascular permeability. *Nature*, 437(7058), 497-504. doi:10.1038/nature03987
- White, B. A., Harrison, J. R., & Mehlmann, L. M. (2019). *Endocrine and Reproductive Physiology* (5 ed.): Elsevier.
- Wolf, A. A., Yanez, A., Barman, P. K., & Goodridge, H. S. (2019). The Ontogeny of Monocyte Subsets. *Front Immunol*, 10, 1642. doi:10.3389/fimmu.2019.01642
- Wu, H. Y., Chu, R. M., Wang, C. C., Lee, C. Y., Lin, S. H., & Jan, T. R. (2008). Cannabidiol-induced apoptosis in primary lymphocytes is associated with oxidative stress-dependent activation of caspase-8. *Toxicol Appl Pharmacol*, 226(3), 260-270. doi:10.1016/j.taap.2007.09.012
- Wu, H. Y., Huang, C. H., Lin, Y. H., Wang, C. C., & Jan, T. R. (2018). Cannabidiol induced apoptosis in human monocytes through mitochondrial permeability transition pore-mediated ROS production. *Free Radic Biol Med*, 124, 311-318. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2018.06.023

Yao, H., Duan, M., & Buch, S. (2011). Cocaine-mediated induction of platelet-derived growth factor: implication for increased vascular permeability. *Blood*, *117*(8), 2538-2547. doi:10.1182/blood-2010-10-313593

Yeisley, D. J., Arabiyat, A. S., & Hahn, M. S. (2021). Cannabidiol-Driven Alterations to Inflammatory Protein Landscape of Lipopolysaccharide-Activated Macrophages In Vitro May be Mediated by Autophagy and Oxidative Stress. *Cannabis Cannabinoid Res.* doi:10.1089/can.2020.0109

Zaparte, A., Schuch, J. B., Viola, T. W., Baptista, T. A. S., Beidacki, A. S., do Prado, C. H., . . . Grassi-Oliveira, R. (2019). Cocaine Use Disorder Is Associated With Changes in Th1/Th2/Th17 Cytokines and Lymphocytes Subsets. *Front Immunol*, *10*, 2435. doi:10.3389/fimmu.2019.02435

Zhang, H. T., Zhang, P., Gao, Y., Li, C. L., Wang, H. J., Chen, L. C., . . . Jiang, C. L. (2017). Early VEGF inhibition attenuates blood-brain barrier disruption in ischemic rat brains by regulating the expression of MMPs. *Mol Med Rep*, *15*(1), 57-64. doi:10.3892/mmr.2016.5974