



UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL

CAMPUS DE CERRO LARGO

CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – LICENCIATURA

LEANDRO EBLING FLORES

**EFEITO NEUROPROTETOR, ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIOXIDANTE
DO CANABIDIOL: CONTRIBUIÇÕES PARA O ESTUDO E O TRATAMENTO
DE DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS.**

CERRO LARGO

2016

LEANDRO EBLING FLORES

**EFEITO NEUROPROTETOR, ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTIOXIDANTE
DO CANABIDIOL: PERSPECTIVAS E CONTRIBUIÇÕES PARA ESTUDO E
O TRATAMENTO DE DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Ciências Biológicas- Licenciatura da
Universidade Federal da Fronteira Sul como
requisito para obtenção do título de Licenciado em
Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof. Dr. Lauren Lúcia Zamin

CERRO LARGO

2016

DGI/DGCI - Divisão de Gestão de Conhecimento e Inovação

Flores, Leandro Ebling

Efeito neuroprotetor, anti-inflamatório e antioxidante do Canabidiol : contribuições para o estudo e o tratamento de doenças neurodegenerativas / Leandro Ebling Flores. -- 2016.

39 f.:il.

Orientador: Lauren Lúcia Zamin.

Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de Ciências Biológicas- licenciatura , Cerro Largo, RS, 2016.

1. Fitocanabinóides. 2. Neuroproteção. 3. Distúrbios neurodegenerativos. I. Zamin, Lauren Lúcia, orient. II. Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.



Ministério da Educação

Universidade Federal do Espírito Santo

Campus Cerro Largo
Rua Major Antônio Cardoso, 593
Cerro Largo-RS CEP 97900-000

(51) 3359-3950
www.ufes.edu.br



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CERRO LARGO
COORDENAÇÃO DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – LICENCIATURA

Acadêmico: Leandro Ebling Flores

Título do Trabalho: Efeito neuroprotetor, anti-inflamatório e antioxidante do canabidiol: contribuições para o estudo e o tratamento de doenças neurodegenerativas.

Banca Examinadora:

Lauren L. Zamin

Profª Dra. Lauren Lucia Zamin - Orientadora

Erica do Espírito Santo Hermel

Profª Dra. Erica do Espírito Santo Hermel - Avaliador 1

César Augusto Brünning

Prof. Dr. César Augusto Brünning - Avaliador 2

Cerro Largo, 28 de setembro de 2016.

“We Are Made Of Star Stuff”

Carl Sagan

RESUMO

A planta *Cannabis sativa* é considerada uma das espécies mais antigas que o homem tem conhecimento e foi uma das primeiras a serem cultivadas na antiguidade. São conhecidos mais de 60 compostos derivados da planta, os quais são chamados de canabinóides, e subdivididos em três grupos, os endocanabinóides, os canabinóides sintéticos e os fitocanabinóides. Os fitocanabinóides são compostos naturais extraídos diretamente dos tecidos da planta, dos quais o Canabidiol (CBD) é o mais conhecido e estudado por apresentar inúmeras propriedades farmacológicas como propriedades sedativas, antipsicóticas, antioxidantes, ansiolíticas, anticonvulsivantes, anti-inflamatórias e neuroprotetoras as quais vem sendo investigadas em modelos de diversas doenças incluindo doenças anti-inflamatórias e neurodegenerativas. Dessa forma o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica acerca do potencial neuroprotetor, antioxidante e anti-inflamatório do CBD, investigando sua ação sobre a morte e degradação neuronal, tal como ocorre na Doença de Alzheimer (DA), na Doença de Parkinson (DP) e na Doença de Huntington (DH), a fim de descrever padrões atuais de resultados obtidos com seu uso no sentido de prevenir ou retardar neurodegeneração, progressão da doença, ou déficit cognitivo induzido por essas patologias. Foram utilizados nesse processo de pesquisa artigos disponíveis nos sites PubMed, Scielo e Scopus publicados entre 1998, quando foi publicado o primeiro estudo relatando as propriedades neuroprotetoras do CBD, e 2016. As principais palavras chaves utilizadas na busca de referências foram: “*Neurodegenerative diseases and cannabidiol*”; “*Cannabidiol and neuroprotection*”; e “*Cannabidiol and anti-oxidation*”. Além disso, foi realizada leitura do título e do resumo dos artigos encontrados, como pré-seleção, para avaliar se a temática abordada no trabalho coincidia com o objetivo desta revisão, e aqueles que não se enquadravam foram descartados e, ao final desse processo obteve-se 10 artigos. A revisão mostrou que o CBD é uma molécula bastante promissora no tratamento e particularmente na prevenção de doenças neurodegenerativas principalmente no que diz respeito ao controle da citotoxicidade e regulação o ciclo celular, evitando ou retardando a apoptose, devido ao controle de enzimas relacionadas como a Caspase 3 e 9 e principalmente pelo fato de equilibrar o estresse oxidativo controlando as ROS. Entretanto, mesmo considerando todos os aspectos promissores da molécula, ainda são necessários estudos adicionais no intuito de melhor esclarecer os mecanismos de ação que conferem suas propriedades, assim como conhecer seus possíveis efeitos colaterais, antes de transpor o uso de CBD para humanos.

ABSTRACT

The *Cannabis sativa* plant is considered one of the oldest species that man has knowledge and was one of the first to be cultivated in antiquity. More than 60 are known compounds derived from plants, which are called cannabinoids and subdivided into three groups, endocannabinoids, synthetic cannabinoids and phytocannabinoids. The phytocannabinoids are extracted natural compounds directly from plant tissue, including cannabidiol (CBD) is the best known and studied by presenting numerous pharmacological properties as sedative, antipsychotic, antioxidants, anxiolytic, anticonvulsant, anti-inflammatory and neuroprotective which comes being investigated in animal models of various diseases including anti-inflammatory and neurodegenerative diseases. Thus the aim of this study was to perform a literature review about the potential neuroprotective, antioxidant and anti-inflammatory effects of CBD, investigating its effect on death and neuronal degradation, as occurs in Alzheimer's disease (AD) in Parkinson's disease (PD), and Huntington's disease (HD) in order to describe current patterns results obtained with its use in order to prevent or delay neurodegeneration, disease progression, or cognitive deficit induced by these conditions. Were used in this research process articles available on PubMed site, SciELO, Scopus published between 1998, when it was published the first study reporting the neuroprotective properties of CBD and 2016. The main keywords used in search referrals were "Neurodegenerative diseases and cannabidiol "; "Cannabidiol and neuroprotection"; "Cannabidiol and anti-oxidation." In addition, it was read the title and summary of the articles found, as a pre-selection, to assess whether the thematic of the work coincided with the purpose of this review, and those that did not fit were discarded and at the end of this process got If articles 10. The review showed that CBD is a very promising molecule for the treatment and prevention particularly of neurodegenerative diseases especially as regards the control of toxicity factors that lead to neuronal death. However, even with all the promising aspects of the molecule, it is still required additional studies in order to better clarify the mechanism of action that give their properties, as well as know their possible side effects, before crossing the use of CBD for humans.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Estrutura Química de alguns dos endocanabinóides mais estudados.....	12
Figura 2- Sinalização do sistema endocanabinóide.....	13

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
1.1. RECEPTORES CANABINÓIDES E O SISTEMA ENDOCANABINÓIDE.....	10
1.2. MECANISMOS DE AÇÃO DOS ENDOCANABINÓIDES.....	12
1.3. MECANISMOS DE AÇÃO DO CBD.....	14
1.4. DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS: DEFINIÇÃO, DADOS EPIDEMIOLÓGICOS E FATORES RELACIONADOS À SUA ORIGEM.....	15
2. DESENVOLVIMENTO	19
2.1. ARTIGO CIENTÍFICO.....	19
3. CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	32

1. INTRODUÇÃO

A planta *Cannabis sativa* é considerada uma das espécies mais antigas que o homem tem conhecimento. Ela foi uma das primeiras plantas cultivadas, sendo utilizada durante muitos séculos para diversos fins, tais como alimentação, rituais religiosos e práticas medicinais (HONÓRIO, ARROIO, SILVA, 2006). É uma planta nativa da Ásia Central e pertence à família botânica *Cannabaceae*, descrita em 1753 pelo botânico Carolus Linnaeus (MECHOULAM et al., 1970).

Os primeiros relatos de sua utilização medicinal deram-se há aproximadamente 4000 anos, quando foi mencionada na Farmacopeia Chinesa (RAYMUNDO; SOUZA, 2007). Segundo historiadores partes da planta, extratos e óleos foram utilizados como anticonvulsivante, analgésico, ansiolítico, antiemético, remédio para o alívio de espasmos musculares, asma e enxaqueca durante séculos por muitos povos, mas nenhum deles conhecia as propriedades farmacológicas e químicas dos componentes da planta, nem seus mecanismos de ação a nível cerebral (ROBSON, 2013). Atualmente partes desses mecanismos são conhecidos, tanto é que a Academia Americana de Neurologia (AAN) reconhece a eficácia e a segurança do uso terapêutico da maconha e seus derivados no tratamento de diversas doenças (KOPPEL et al., 2014).

Sabe-se ainda, que potencialidades medicinais da planta estão diretamente relacionadas à grande quantidade de moléculas químicas encontradas em seu extrato. Hoje são conhecidas mais de 60 dessas moléculas, das quais os fitocanabinóides são os mais importantes farmacologicamente, pelo fato de se tratar de um grupo de moléculas que engloba compostos naturais extraídos diretamente dos tecidos da planta (ZUARDI, 2006).

Os dois fitocanabinóides mais conhecidos e estudados são o Canabidiol (CBD) que não apresenta propriedades psicoativas e Δ^9 -tetraidrocanabinol (THC) que é o principal responsável pelos efeitos psicoativos oriundos do uso da maconha (CRIPPA et al., 2009). A natureza lipídica desses compostos e a presença de uma grande quantidade de substâncias bioativas na planta de *Cannabis* dificultaram significativamente o estudo químico das moléculas de THC e de CBD, que mesmo tendo sido sintetizadas na década de 40 tiveram sua estrutura química exata elucidada em 1964 (MECHOULAM et al., 1970).

A partir do isolamento e da respectiva descrição da estrutura química do CBD e do THC foi possível estudar de forma mais aprofundada os mecanismos de interação e os efeitos terapêuticos atribuídos à utilização da planta, que permaneciam obscuros desde a antiguidade (PASSOS et al., 2009) abrindo-se assim um novo campo na pesquisa farmacológica (ZUARDI, 2008).

O estudo do THC culminou no desenvolvimento de moléculas análogas que ficaram conhecidas como canabinóides sintéticos e passaram a ser comercializadas como medicamentos, os quais foram introduzidos na medicina clínica por volta da década de 80 (BATISTA; NUNES; MOREIRA, 2014) sendo indicados para estimulação de apetite, como antiemético em doentes oncológicos, para tratamento de pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida (SIDA), Esclerose Múltipla, glaucoma e doenças cardiovasculares, assim como para o alívio da dor e controle de distúrbios do movimento (FONSECA et al., 2013).

O estudo farmacológico em torno desses medicamentos e da própria molécula de THC teve grande importância na consolidação do conhecimento e na descoberta da existência de um sistema endocanabinóide e de seus respectivos receptores canabinóides, assim como proporcionou que o CBD emergisse como alvo de estudos, os quais, ao longo de tempo evidenciaram grandes propriedades terapêuticas oriundas da molécula.

1.1. RECEPTORES CANABINÓIDES E O SISTEMA ENDOCANABINÓIDE

Inicialmente acreditava-se que os medicamentos a base de THC exerciam suas atividades características através da interação direta com a membrana celular neuronal devido a sua natureza hidrofóbica. Entretanto, investigações aprofundadas permitiram identificar locais de ação desses medicamentos a nível cerebral, possibilitando a descrição de receptores Canabinóides (CB) específicos. O Receptor Canabinóide do tipo 1 (CB1) foi clonado de cérebros de ratos em 1988 (DEVANE et al., 1988; MATSUDA et al., 1990) e o denominado Receptor Canabinóide do tipo 2 (CB2) foi identificado por homologia de sequência em 1993 (MUNRO; THOMAS; ABU-SHAAR, 1993).

Os receptores CB1 localizam-se no sistema nervoso central (SNC) principalmente nas regiões do encéfalo importantes para o controle motor, a memória, o humor e a ansiedade, como os núcleos da base, o hipocampo, o córtex pré-frontal e a

amígdala (HERKENHAM et al., 1990), mas também podem ser encontrado em menor quantidade em outras estruturas tais como baço, tonsila, glândula adrenal, coração, útero, ovário, testículos e nervos simpáticos (MATSUDA et al., 1990). Os receptores CB2, por sua vez são abundantemente encontrados nos órgãos e tecidos periféricos, em regiões do baço, nas tonsilas e principalmente nas células do sistema imunológico onde parece ter importante papel de modulação, sendo que altos níveis de expressão são encontrados em linfócitos B e em células *natural killer* (NK) (AMERI, 1999).

Ambos os receptores CB pertencem à família de receptores acoplados à proteína G e apresentam sete domínios transmembrana, sendo uma porção N-terminal extracelular e uma porção C-terminal intracelular (MARZO et al., 1999; MARZO; MATIAS, 2005). Vale ainda ressaltar que os receptores CB são bem conservados ao longo da evolução e estão presentes em diversas espécies de mamíferos, peixes, anfíbios, moluscos, hidras e sanguessugas exatamente idênticos àqueles expressos em seres humanos. Entretanto parece não serem expressos em invertebrados mesmo existindo evidências de ação farmacológica dos CBs e suas enzimas de degradação em certos filos, tais como Celenterados, Moluscos, Anelídeos e Equinodermos (LUTZ, 2002).

A descoberta de que havia receptores específicos aos quais o THC e seus análogos se ligavam desencadeando eventos de sinalização foi um claro indício de que deveriam existir compostos endógenos que atuavam na modulação de sinais intracelulares apresentando função de neurotransmissor ou hormônio sobre os receptores CB1 e CB2 (KREITZER; STELLA, 2009), iniciando assim uma busca por ligantes endógenos que poderiam vir a existir.

Desta maneira foram identificados e descritos agonistas endógenos dos receptores CB (Fig.1) como o N-aracdonoil-etanolamida (N-AEA) e o 2-aracdonoil-glicerol (2-AG) em 1992 e 1995 respectivamente (SUGIURA et al., 1995), e nos anos seguintes, outros endocanabinóides como a *N*-araquidonildopamina e a virodamina (FONSECA et al., 2013). Dentre eles, os mais estudados são a AEA e o 2-AG. Entretanto todos eles são derivados do ácido graxo ω 6-polinsaturado provenientes da dieta, o qual deriva de outros ácidos graxos essenciais (PIOMELLI et al., 2003).

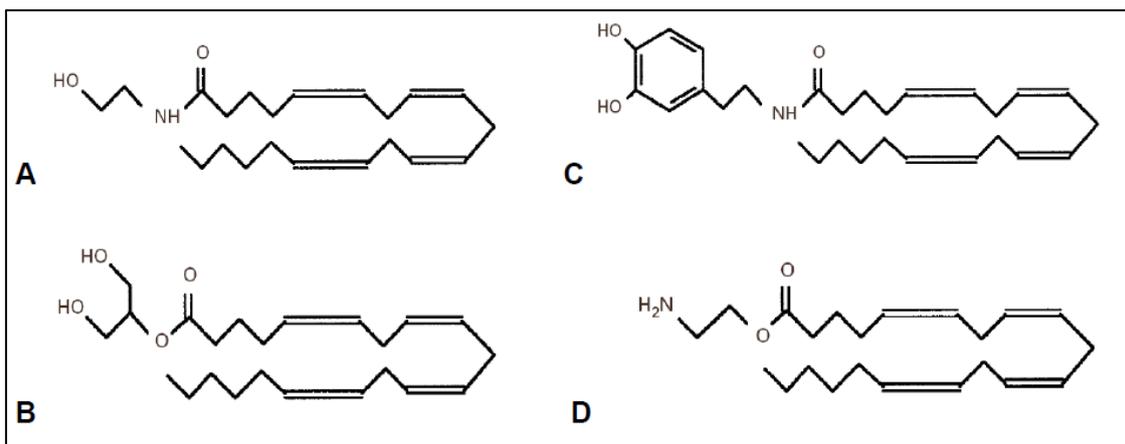


Figura 1: Estrutura Química de alguns dos endocanabinóides mais estudados. (A): AEA(B): 2-AG (C): N-araquidonildopamina e (D): virodamina.

A partir da identificação dos receptores CB específicos e da descrição de agonistas endógenos existentes no SNC e periférico consolidou-se o chamado Sistema endocanabinóide (ECS). Estudos recentes apontam que o ECS encontra-se envolvido em muitos processos fisiológicos relevantes para o entendimento de mecanismos relacionados ao sistema endócrino e imunológico, a dor, a homeostase, ao apetite, ao balanço energético e à fertilidade (FONSECA et al., 2010; MONTECUCCO; MARZO, 2012). Ainda há estudos que apontam papel fulcral do ECS no processo embrionário de desenvolvimentos do encéfalo, (RAMOS et al., 2002; LEONELLI et al., 2005) no estabelecimento de mecanismos neuroprotetores em diversos modelos de neurotoxicidade (STELT; MARZO, 2005) e como mediador de processos de plasticidade em diversas estruturas do SNC (TAGLIAFERRO et al., 2006; HASHIMOTODANI; OHNO-SHOSAKU; KANO, 2007).

1.2. MECANISMOS DE AÇÃO DOS ENDOCANABINÓIDES

De modo geral, os endocanabinóides são liberados por neurônios pós-sinápticos após estimulação e agem nos receptores CB dos neurônios pré-sinápticos reduzindo a liberação de outros neurotransmissores, entretanto os endocanabinóides não se encontram armazenados em vesículas e são sintetizados apenas sob estímulo (FREUND et al., 2003; FONSECA et al., 2010). O precursor da AEA é a N-araquidonilfosfatidiletanolamina (N-ArPE) que é formado através da ação da N-aciltransferase (NAT). N-ArPE é clivada por N-acilfosfatidiletanolamina-fosfolipase-D (NAPE-PLD) originando AEA e ácido fosfatídico. Já a biossíntese de 2-AG é iniciada

pelo Ca^{2+} intracelular que induz a formação do diacilglicerol (DAG) na membrana através da estimulação da via de fosfatidil-inositol-fosfolipase (PI-PLC) (PIOMELLI et al., 2003).

A inativação dos endocanabinóides, principalmente da AEA, é mediada por uma molécula chamada transportador de Anandamida da membrana celular (AMT) que a leva para dentro das células para que essa sofra degradação enzimática mediada pela enzima Acido Graxo Amina Hidroxilase (FAAH). O 2-AG também é transportado pela AMT, entretanto sofre degradação intracelular pela enzima monoacilglicerol lipase (MAGL) ou também pela FAAH, dependendo das condições fisiológicas. Quando inativados, os endocanabinóides, mesmo sendo sintetizados e liberados extracelularmente, não interagem com os receptores CB devido às altas concentrações de FAAH e MAGL, não iniciando assim a sinalização e modulação do ECS (PASSOS et al., 2009).

Entretanto, quando um endocanabinóide não é inativado e se liga a um receptor CB, desencadeia uma série de reações intracelulares, às quais podem ser resumidamente descritas em três eventos importantes (I) inibição da Adenil ciclase (AC) levando a uma diminuição de AMPc intracelular e de proteínas quinases A, (II) estimulação de proteínas quinases ativadas por mitógeno (MAP-quinase) e (III) inibição dos canais de Ca^{2+} e estimulando canais de K^{+} , resultando em uma diminuição do influxo de cálcio e em um aumento do influxo de potássio, contribuindo para a inibição e inativação da liberação de neurotransmissores em geral (Fig.3).

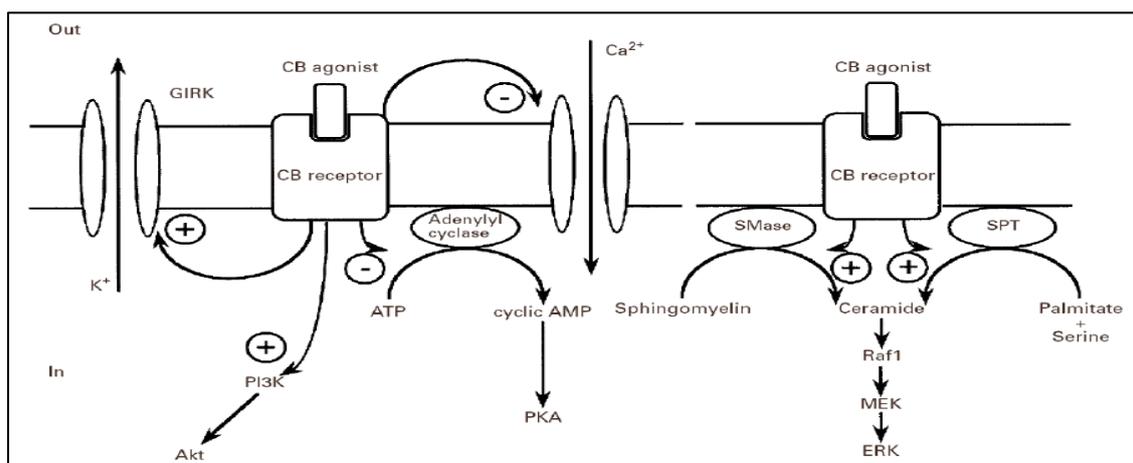


Figura 2: Sinalização do sistema endocanabinóide. No terminal pré-sináptico a AEA e o 2-AG ativam os receptores CB acoplados a proteína G modulando a permeabilidade da membrana aos íons cálcio e potássio, e a atividade da AC afetando a liberação ou a ação dos neurotransmissores. Fonte: (HILEY & FORD, 2004).

1.3. MECANISMOS DE AÇÃO DO CBD

Os mecanismos de ação do CBD ainda hoje não estão totalmente elucidados, entretanto é provável que o CBD não atue no receptor CB1, mas apresenta baixa afinidade com o receptor CB2 (CONTE et al., 2009). Seu mecanismo de ação é complexo devido a sua interação com muitos neurotransmissores e neuromoduladores, incluindo a dopamina, acetilcolina, GABA, histamina, serotonina, glutamato, noradrenalina, prostaglandinas e peptídeos e opióides (ADAMS, HUNT, CLARK, 1940).

Além disso, o CBD é capaz de facilitar a sinalização dos endocanabinóides através da hidrólise enzimática da AEA (MECHOULAM; HANUS, 2002) apresentando também propriedades agonísticas nos receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT1A (RUSSO et al., 2005; GOMES et al., 2010), pelo fato de que promove a ativação de um canal iônico denominado receptor vanilóide do tipo 1 (BISOGLIO et al., 2001) aumentando dessa forma a sinalização mediada pela adenosina através da inibição de sua receptação (CARRIER; AUCHAMPACH; HILLARD, 2006).

Entretanto, o envolvimento desses mecanismos nas propriedades terapêuticas da molécula não é comprovado, mas sabe-se que de certa forma elas estão relacionadas à eficácia do CBD em aumentar a disponibilidade de AEA a nível cerebral, mediando principalmente efeitos neuroprotetores e antioxidantes (SCHUBART et al., 2014). Apesar do longo histórico de uso de *Cannabis sativa* e diante de diversos avanços ao longo dos anos, os conhecimentos acerca da ação da interação dos componentes da planta, especialmente do CBD, permanecem incertos quando observado através de uma perspectiva clínica (HONÓRIO; ARROIO; SILVA, 2006).

Na década de 1970 estudou-se em larga escala as propriedades antiepiléticas e sedativas do CBD, assim como sua interação com o THC e o sistema endocanabinóide. Também foram investigados os efeitos do CBD sobre as doenças motoras, assim como suas propriedades ansiolíticas e antipsicóticas. Nos últimos anos, estudos passaram a relatar atividades farmacológicas do CBD baseadas em suas propriedades anti-inflamatória, anti-oxidativa e neuroprotetora (ZUARDI, 2008). Tais propriedades vêm sendo investigadas em modelos de diversas doenças, incluindo estudos na doença de Parkinson e Alzheimer, isquemia cerebral, diabetes, náusea, câncer, artrite reumatóide e doenças inflamatórias (BRUCKI et al., 2015).

1.4. DOENÇAS NEURODEGENERATIVAS: DEFINIÇÃO, DADOS EPIDEMIOLÓGICOS E FATORES RELACIONADOS À SUA ORIGEM.

O SN é uma extensa e complexa rede de comunicação celular que coordena todas as atividades voluntárias e involuntárias, assim como transmite sinais entre as diferentes partes do organismo, regulando as atividades corporais. Ele é composto pelo SNC, constituído pelo encéfalo e pela medula espinal, cuja função é interpretar e processar as informações obtidas e elaborar respostas adequadas, e pelo Sistema Nervoso Periférico (SPN) constituído pelos nervos e gânglios nervosos cuja função é conduzir as informações entre os órgãos e o SNC (BEAR et al., 2008).

Os neurônios são as principais células do SN, altamente especializadas, que transmitem impulsos elétricos e têm uma variedade de formas, tamanhos e papéis. São responsáveis pela condução do impulso nervoso, ou seja, da informação, por meio de sinapses que podem ser de origem elétrica ou de origem química, sendo que as químicas acontecem por meio de modulação e sinalização celular mediada pela liberação de neurotransmissores, produzidos pelos próprios neurônios (PASTERNAK, 2007).

Doenças neurodegenerativas são condições debilitantes e incuráveis que resultam na degeneração progressiva devido a morte de neurônios, que entre outras coisas causam ataxias, problemas como o movimento e com funcionamento cerebral. Durante o envelhecimento normal, a densidade das sinapses assim como a densidade da população de neurônios declina, e quando a perda neuronal e sináptica é maior que 40% temos o desenvolvimento de doenças que não fazem parte do processo de envelhecimento normal e se estabelecem clinicamente como patologia (SHIMADA et al., 2003).

Dados sugerem que em 2015 cerca de 46,8 milhões de pessoas sofriam com algum tipo de demência associada a alguma doença neurodegenerativa. Espera-se que esse número dobre a cada 20 anos chegando a 131,5 milhões de pessoas acometidas em 2050 (THE GLOBAL IMPACT OF DEMENTIA, 2015). Além disso, o custeio financeiro para tratamento de doenças neurodegenerativas no mundo chegou a 118 bilhões de dólares em 2015, e estima-se que, nos próximos 3 anos, os gastos passem a 1 trilhão de dólares, chegando a dois trilhões em 2030 (THE GLOBAL IMPACT OF DEMENTIA, 2015).

Hoje a DA corresponde a dois terços dos casos diagnosticados de demência e, à medida que a população envelhece, esse número aumenta, o que a torna a quarta principal causa de morte após as mortes por doenças cardíacas, câncer e acidente vascular cerebral (AVC). Suas características clínicas e neuropatológicas foram descritas pelo neurologista alemão Alois Alzheimer em 1907, sendo que o nome da doença foi designado em sua homenagem. Os danos neurológicos causados pela DA ainda são considerados irreversíveis e o prognóstico do paciente costuma ser entre 5 e 10 anos, período em que apresenta perda gradual de memória e das demais funções cognitivas, tornando-se com a progressão da doença profundamente incapacitado, mudo e imóvel (PASTERNAK, 2007).

Dentre os principais fatores de risco associados à DA, a idade é a que exerce maior influência, entretanto a expressão do alelo E4 e do gene da apo-E, o sexo feminino, injúrias cerebrais prévias e doenças cardiovasculares aumentam os riscos de desenvolver a patologia. Duas formas da doença são descritas, uma de origem familiar designada como DA Familiar (DAF), caracterizada por ocorrência precoce devido a mutações em genes como o da proteína precursora amilóide (APP) ou das presenilinas I e II, e outra conhecida como DA do tipo esporádico, a qual representa 95% dos casos, sendo mais lenta e surgindo após os 50 anos de idade (SUH, 2002).

A DA é uma doença de origem complexa e os mecanismos associados a sua ocorrência ainda não foram bem entendidos, o que se sabe, até o momento, é que a patologia resulta da formação de placas senis extracelulares e emaranhados neurofibrilares intracelulares nas células neuronais, mas não se sabe qual a origem dessas placas e emaranhados nem o que desencadeia a progressão da doença. Entretanto, há duas hipóteses que tentam explicar a patologia da doença, que são a hipótese da cascata β -amilóide e a hipótese da degeneração do citoesqueleto neuronal (SUH, 2002; ZINSER; HARTMANN; GRIMM, 2007).

A DP foi descrita em 1817 sendo definida como uma doença neurológica caracterizada por sintomas motores como rigidez, tremor de repouso e instabilidade postural, assim como distúrbios neuropsiquiátricos, do sono, autossômicos e sensitivos. A doença é mais decorrente em idosos, principalmente do sexo masculino. Com a evolução da doença, as complicações levam a um quadro de demência grave que resulta na incapacitação do indivíduo. Estima-se que esse distúrbio acomete cerca de 1% da

população mundial com mais de 65 anos, sendo que é a segunda doença neurológica mais recorrente, ficando atrás apenas da DA.

A DP deve ser caracterizada pela presença de disfunções monoaminérgicas múltiplas, incluindo déficits dos sistemas dopaminérgicos, colinérgicos e serotoninérgicos. O sistema dopaminérgico, junto com os neurônios de melanina, sofre despigmentação e, devido a essa despigmentação, tem-se a depleção do neurotransmissor dopamina, que resulta da degeneração de neurônios dopaminérgicos da substância negra, os quais são críticos para o controle do processamento da informação, reduzindo assim a atividade das áreas motoras do córtex cerebral e desencadeando a diminuição dos movimentos voluntários (TEIVE,2005).

A DH é um distúrbio catastrófico que afeta 1 em cada 10.000 pessoas em todo o mundo e seus primeiros sinais aparecem por volta dos 35 anos de idade, embora a doença possa ter início em qualquer período da vida. Quando tem recorrência hereditária nas famílias, a DH apresenta-se cada vez mais cedo nas gerações sucessivas. Os sintomas iniciais são leves prejuízos à coordenação muscular, esquecimentos, desorganização cognitiva e mudanças de personalidade, passando em estágios mais avançados para descontrole de movimentos voluntários e involuntários, assim como graves condições psiquiátricas e, nos estágios finais, os pacientes ficam mudos, não funcionais cognitivamente, imóveis e em posições contorcidas como resultado das articulações rígidas (PASTERNAK, 2007).

As características patológicas da DH ocorrem devido à degeneração neuronal seletiva que começa pelo córtex cerebral, núcleo caudado e putâmen, com menor dano a substância negra. Emaranhados neurofibrilares similares aos da DA são encontrados próximos aos neurônios afetados, sendo que nos estágios finais o cérebro perde cerca de 25% de seu peso inicial. As mudanças pronunciadas dos movimentos que acompanham a patologia são consequências de distúrbios de neurônios que interconectam o córtex cerebral, os gânglios da base e o tálamo (NUSSBAUM; MCINNES; WILLARD, 2008).

A mutação responsável pela DH é constituída por uma expansão contínua de repetições CAG na porção terminal do gene HD localizado no braço curto do cromossomo 4 (4p16.3). Conseqüentemente, a huntingtina mutante apresenta uma cauda de resíduos de glutamina que se alinham de forma consecutiva no terminal amínico (NH₂-) (MACDONALD, 1993). Ao longo da progressão da DH, a disfunção

intracelular induzida pela huntingtina mutante conduz à degeneração de vias neuronais importantes e à perda celular no estriado, no córtex cerebral e noutras regiões cerebrais. Apesar de não resultarem necessariamente de um efeito direto da proteína mutante, os mecanismos de excitotoxicidade, toxicidade dopaminérgica, desregulação metabólica, disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, apoptose e autofagia têm sido implicados na patologia da DH, promovendo-se mutuamente e culminando na morte neuronal (GIL-MOHAPEL; REGO, 2011).

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é realizar uma revisão bibliográfica acerca do potencial neuroprotetor, anti-inflamatório e antioxidante do CBD, investigando sua ação sobre a morte neuronal, que ocorrem na a Doença de Alzheimer (DA), Doença de Parkinson (DP) e Doença de Huntington (DH), a fim de descrever padrões atuais de resultados obtidos com o uso de CBD para prevenir ou retardar neurodegeneração, progressão da doença ou déficit cognitivo induzindo por essas patologias.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1. ARTIGO CIENTÍFICO

Manuscrito de acordo com as normas da Revista de Ciências Médicas e Biológicas (anexo A) que será encaminhado à publicação após apreciação da banca examinadora.

Potencial neuroprotetor, antioxidante e anti-inflamatório do Canabidiol: relevância e perspectivas para o tratamento de doenças neurodegenerativas.

Potential neuroprotective, antioxidant and anti-inflammatory of Cannabidiol: relevance and prospects for the treatment of neurodegenerative diseases.

Leandro Ebling Flores ^{1,2}, Lauren Lúcia Zamin ^{2,3}.

Resumo: A incidência de doenças neurodegenerativas tem aumentado nos últimos anos, passando a constituir um problema de saúde pública. Frente a isso se faz necessário o desenvolvimento de novas modalidades terapêuticas visando evitar, recuperar ou impedir as alterações celulares que possam levar à morte neuronal. O Canabidiol (CBD), um dos fitocanabinóides extraído dos tecidos de *Cannabis sativa*, tem ganhado destaque nesse cenário, pelo fato de apresentar inúmeras propriedades farmacológicas particularmente relacionadas a processos de neuroproteção. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica acerca do potencial neuroprotetor, antioxidante e anti-inflamatório do CBD, investigando sua ação sobre processos neurodegenerativos associados à doença de Alzheimer, Parkinson e Huntington, através de artigos disponíveis nos sites PubMed, Scielo e Scopus. Foram selecionados 10 artigos que tratavam do tema e todos eles mostraram que o CBD induziu propriedades neuroprotetoras, antioxidantes e anti-inflamatórias em diferentes modelos de citotoxicidade, estresse oxidativo e neurodegeneração. Tais resultados refletem que o CBD pode ser um importante agente terapêutico no tratamento e, principalmente, na prevenção de doenças neurodegenerativas e reversão de lesões oriundas dessas patologias. Entretanto, há necessidade de reforçar estudos e ensaios em modelos animais, antes de transpor o uso do CBD para humanos, no sentido de elucidar sua farmacodinâmica, sua farmacocinética, seus mecanismos de ação e interação e os possíveis efeitos colaterais no uso desse composto.

Palavras-chave: Neuroproteção; Revisão; Fitocanabinóide; CBD.

¹ Aluno do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas- leandro.ebl@hotmail.com; ² Universidade Federal da Fronteira Sul/UFFS/Campus Cerro Largo/Avenida Jacob Reinaldo Haupenthal, 1580, Cerro Largo/RS, 97900-000, Brasil. ³ Professora, Doutora em Biologia Celular e Molecular pelo Universidade Federal do Rio Grande do Sul/UFRGS- lauren.zamin@gmail.com.

Abstract: The incidence of neurodegenerative diseases has increased in recent years, began to constitute a public health problem. Because of that the development of new therapeutic modalities is necessary in order to avoid, recover or prevent cell changes that may lead to neuronal death. Cannabidiol (CBD), one of phytocannabinoids extracted from *Cannabis sativa* tissue has gained prominence in this scenario, because it has numerous pharmacological properties particularly related to neuroprotection processes. The objective of this study was to perform a literature review about the neuroprotective potential, antioxidant and anti-inflammatory effects of CBD, investigating its effect on neurodegeneration associated with Alzheimer's disease, Parkinson's and Huntington, through articles available on PubMed website, SciELO and Scopus . We selected 10 articles that dealt with the subject, and they all showed that CBD induced neuroprotective, antioxidant and anti-inflammatory in different models of cytotoxicity, oxidative stress and neurodegeneration. These results reflect the CBD can be an important therapeutic agent in the treatment, and especially in the prevention of neurodegenerative diseases and reversing injuries from such diseases. However, there is need to strengthen studies and trials in animal models, before crossing the use of CBD to humans, in order to elucidate its pharmacodynamics, pharmacokinetics, mechanisms of action and interaction and possible side effects in the use of this compound.

Keywords: Neuroprotection; Review; Phytocannabinoids; CBD.

Introdução

A incidência de casos diagnosticados de doenças neurodegenerativas tem aumentado com o passar do tempo, devido à elevação da expectativa média de vida da população, e também devido à evolução da medicina, que através do desenvolvimento e aplicação de novas tecnologias na área terapêutica aumenta as chances de que as pessoas atinjam a velhice, fazendo com que cresçam os índices de problemas de saúde relacionados à idade (MAGALHÃES; SANDBERG, 2005).

Essas patologias progridem à medida que ocorre a degradação celular de certos grupos de neurônios, o que configura um quadro progressivo de declínio da função cognitiva, afetando a memória, o comportamento, a linguagem e o pensamento dos pacientes. As doenças neurodegenerativas mais decorrentes e comuns são a doença de

Alzheimer (DA), a doença de Parkinson (DP) e a doença de Huntington (DH) (NUSSBAUM; MCINNES; WILLARD, 2008).

Estima-se que em 2015 cerca de 46,8 milhões de pessoas apresentavam manifestação clínica de pelo menos alguma dessas patologias. Além disso, se essas doenças continuarem a se expressar na mesma frequência atual é esperado que a cada 20 anos o número de pessoas afetadas dobre, chegando a 131,5 milhões de pessoas em 2050 (THE GLOBAL IMPACT OF DEMENTIA, 2015).

Tais doenças têm grande impacto social, e com o passar do tempo, têm se configurado como um problema de saúde pública (JOSEPH et al., 2009), primeiro devido ao fato de que são a quarta principal causa de morte no mundo, ficando atrás apenas dos índices de morte por doenças cardíacas, câncer e acidente vascular cerebral (AVC), e também por fatores relacionados ao contingenciamento econômico pois, somente em 2015 foram gastos 118 bilhões de dólares no custeio financeiro para tratamento dessas doenças em todo o mundo (THE GLOBAL IMPACT OF DEMENTIA, 2015).

Dessa forma, nos últimos tempos, uma gama de estudos experimentais e clínicos tem proposto diversas modalidades terapêuticas, visando evitar, recuperar ou impedir as alterações celulares que possam levar a morte neuronal. Tais estudos vêm contribuindo para a elucidação de um conhecimento mais esclarecido dessas patologias, e, além disso, buscam alternativas viáveis e seguras para desenvolver um tratamento focado em retardar ou minimizar a progressão dessas doenças.

Muitas substâncias com propriedades neuroprotetoras, antioxidantes e anti-inflamatórias têm sido descritas e utilizadas em estudos relacionados ao processo de regeneração e plasticidade sináptica, no intuito de evitar a morte neuronal após lesões (PEREZ, 2013). Nesse cenário o Canabidiol (CBD) vem ganhando destaque, pois um grande número de efeitos farmacológicos tem sido atribuído à molécula (SCUDERI et al., 2009), incluindo efeitos anticonvulsivantes, sedativos, ansiolíticos, antipsicóticos, anti-inflamatórias, antioxidantes e neuroprotetores, assim como efeitos sobre o sistema imunológico e circulatório (ZUARDI, 2008).

O CBD é o principal componente não psicotrópico de *Cannabis sativa* que foi isolado na década de 1940 e teve sua estrutura química exata elucidada em 1964 (MECHOULAM et al. 1970) e pelo fato de não apresentar potencial psicotrópico

característico dos derivados da maconha, o CBD se constitui, um dos constituintes bioativos com o maior potencial de uso clínico (CRIPPA *et al.*, 2009).

Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica acerca do potencial neuroprotetor, anti-inflamatório e antioxidante do CBD, investigando sua ação sobre doenças neurodegenerativas, no intuito de discutir seu uso e sua relevância clínica em patologias como a DA a DP e a DH, a fim de descrever padrões atuais de resultados obtidos com o uso de CBD para prevenir ou retardar neurodegeneração.

Material e métodos

Foi realizado um estudo descritivo, qualitativo e desenvolvido na forma de revisão bibliográfica relacionada à investigação da ação neuroprotetora, antioxidante e anti-inflamatória do CBD quando utilizado em modelos biológicos de doenças neurodegenerativas. Foram usado no processo de pesquisa artigos disponíveis no site PubMed, Scielo e Scopus e o período de referência utilizado foi aquele compreendido entre os anos de 1998, quando foi publicado o primeiro estudo relatando as propriedades neuroprotetoras do CBD, e de 2016, sendo que foi dado maior destaque para os artigos publicados após o ano de 2010. As principais palavras chaves utilizadas na busca de referências foram: “*Neurodegenerative diseases and cannabidiol*”; “*Cannabidiol and neuroprotection*”; “*Cannabidiol and anti-oxidation*”. Foi realizada a leitura do título e do resumo dos artigos encontrados, como pré-seleção, para avaliar se a temática abordada no trabalho coincidia com o objetivo desta revisão, e aqueles que não se enquadravam foram descartados.

Resultados e Discussões

Foram encontrados 10 artigos na literatura que atendiam aos objetivos dessa revisão. Um dos primeiros trabalhos a demonstrar o potencial neuroprotetor e antioxidante do CBD foi realizado por Hampson *et al.* (1998). Nele os autores utilizaram culturas de neurônios corticais de ratos expostos a níveis tóxicos do neurotransmissor excitatório glutamato o que provocou a morte neuronal por estimulação de receptores como NMDAR (N-metil-D-Aspartato) e AMPA, os quais contribuem para a acentuação do estresse metabólico causado pelo acúmulo de cálcio intracelular. Foi verificado através de espectrofluorimetria que o CBD impede a morte celular, quando administrado entre 18 e 20 horas após a exposição da cultura ao

glutamato. Além disso, o CBD diminuiu a estimulação dos receptores NMDAR e AMPA e mostrou-se mais eficiente do que a ação de antioxidantes clássicos, como o escorbato e o α -tocoferol, pois, foi capaz de reduzir a presença de espécies reativas de oxigênio (ROS). Tais resultados sugerem que o CBD possa mediar processos neuroprotetores e, principalmente antioxidantes em patologias como a Doença de Parkinson, no sentido de neutralizar ou minimizar a progressão da doença.

Iuvone et al. (2004) estudaram o efeito do CBD sobre a toxicidade induzida pelo peptídeo β -amilóide em células PC12 cultivadas, de rato Wistar. Os autores quantificaram os danos celulares através da técnica de *Western Blotting*, evidenciando redução da sobrevivência celular devido ao aumento das espécies reativas de oxigênio (ROS), produção e peroxidação de lipídeos, bem como aumento da expressão de Caspase 3 (enzima chave na cascata de sinalização celular para apoptose), fragmentação de DNA e aumento do cálcio intracelular. O tratamento das células com CBD antes da exposição ao β -peptídeo aumentou a quantidade de células sobreviventes significativamente em relação ao grupo controle, que não recebeu o tratamento com CBD. Além disso, em todas as concentrações observou-se a diminuição da produção de ROS, da peroxidação lipídica, dos níveis de Caspase 3, da fragmentação do DNA, e diminuição do cálcio intracelular. Os resultados indicam que, o a CBD exerce de forma combinada, efeitos neuroprotetores, anti-inflamatórios e anti-apoptótica inibindo a Caspase 3 e atuando sobre a toxicidade do β -peptídeo, o que pode desempenhar um papel importante na neutralização ou diminuição da progressão da morte celular de neurônios como ocorre, por exemplo, na doença de Alzheimer.

Esposito et al. (2007), investigaram as propriedades anti-inflamatórias do CBD em um modelo *in vivo* de neuroinflamação relacionada a Doença de Alzheimer, em ratos. Os peptídeos β -amilóides humanos foram inoculados no hipocampo dorsal dos ratos e os mesmos foram tratados diariamente com CBD nas doses de 2,5 e 10 mg/kg durante 7 dias. A presença de mRNA para a Proteína Glial Fibrilar Ácida (GFAP) foi avaliada através da hibridização *in situ* e, a expressão de GFAP, iNOS e IL-1 β que caracteristicamente são expressas em processos inflamatórios foram determinadas pela análise de imunofluorescência. Em contraste com o grupo controle, nos animais tratados com CBD observou-se que foi inibida a expressão de GFAP e seus mRNAs, assim

como diminuíram a expressão de proteínas β -amilóide nos de maneira dose dependente. Além disso, o CBD ainda equilibrou os níveis de NO celular, devido à regulação da expressão da enzima iNOS e da proteína IL-1 β . O CBD mostrou-se eficiente na reversão e regulação de processos neuroinflamatórios quando utilizado *in vivo*, e os resultados mostram-se promissores como ferramenta farmacológica para atenuar a toxicidade celular e a neuroinflamação que leva a morte neuronal em processos neurodegenerativos.

Sagredo et al. (2007) estudaram o efeito neuroprotetor do CBD em um modelo de atrofia do estriado gerado pela exposição tóxica de 3-NP (Ácido 3- nitropropiónico). Os ratos utilizados foram submetidos a duas injeção por dia de 3-NP durante 5 dias e uma dose de 10mg/kg de CBD 4 horas após feita cada injeção. Todos os animais foram mortos 90min após receberem a ultima injeção e imediatamente seus cérebros foram removidos para avaliação neuroquímica do grau de lesão neuronal causada por 3-NP. Quantificou-se que a administração de 3NP causou uma depleção significativa no conteúdo de GABA no corpo estriado, acompanhada de uma redução paralela dos níveis de mRNA de vários marcadores GABAérgicos de neurônios estriados, resultando em um processo de degeneração neuronal. Os animais que receberam as doses de CBD apresentaram uma acentuada diminuição da atrofia neuronal, pois o CBD verteu completamente as reduções induzidas pela 3NP no conteúdo GABA. Os resultados indicando que o CBD exerceu seus efeitos neuroprotetores agindo preferencialmente em neurónios do estriado que se projetam para substância nigra e que ele pode ter importante papel terapêutico para patologias neurodegenerativas, como a doença de Huntington, na qual é caracterizada pela perda de neurônios estriados.

García-arencibia et al. (2007) usaram um modelo experimental de DP desenvolvido através da aplicação de 6-hidroxiopamina a nível cerebral, o que induziu a morte de grande parte dos neurônios nigroestriatais dopaminérgicos. O CBD foi capaz de recuperar a depleção induzida por 6-hidroxiopamina quando foi administrado imediatamente após a lesão, ou nas primeiras 16 horas após a lesão, mas ele não conseguiu fazer isso quando o tratamento começou uma semana depois da aplicação de 6-hidroxiopamina. Além disso, o efeito neuroprotetor e antioxidante do CBD deu-se pela regulação positiva dos níveis de mRNA para a superóxido-dismutase, uma enzima

chave na defesa endógena contra o estresse oxidativo. Acredita-se que esse efeito foi independente de receptores e, ainda, que o canabidiol foi eficiente, na medida em que forneceu a neuroproteção contra a degeneração progressiva dos neurônios, sendo que sua principal contribuição foi induzir a diminuição dos níveis de radicais livres. Uma observação muito importante em relação a esse estudo é que o CBD pode ser um preventivo no tratamento da Doença de Parkinson, para pacientes que, por exemplo, sejam portadores de mutação no gene precursor da doença, visto que foi observado que ele é eficiente somente nos momentos iniciais da patologia.

Castillo et al. (2010) também relataram as propriedades neuroprotetoras do CBD, investigando sua ação em um modelo *in vitro* de hipóxia-isquêmica, desenvolvida em fatias do córtex frontal de cérebros de ratos recém-nascidos através da privação de oxigênio e glicose (OGD). Os resultados indicam que o CBD diminuiu a morte celular através da inibição da Caspase 9, e ainda que ele foi capaz de modular a liberação de glutamato e a expressão de COX-2 e iNOS, duas importantes enzimas presentes em processos de inflamação e citotoxicidade. Os autores observaram ainda que os principais receptores que mediarão a ação do CBD foram o receptor canabinoide do tipo 2 (CB2) e receptores de adenosina, principalmente do tipo A2A. Os resultados contribuem para o melhor entendimento de como o CBD melhora a função cerebral, e consequentemente é capaz de recuperar lesões no sistema nervoso central, podendo ser empregado para melhorar a função cognitiva após processos lesivos.

Fagherazzi et al. (2011) estudaram os efeitos do CBD utilizando um modelo animal de deficiência cognitiva induzida por sobrecarga de ferro a fim de testar seus efeitos no tratamento de déficits cognitivos associados a presença de patologias neurodegenerativas. Para tanto, ratos foram preliminarmente treinados para a tarefa de reconhecimento de novo objeto. Após o período de treinamento receberam injeções intraperitoneais de ferro nos dias pós-natais 12-14. Com a idade de 2 meses, parte dos ratos recebeu uma injeção intraperitoneal aguda de CBD nas doses de 5,0 ou 10,0 mg / kg, e foram novamente submetidos a sessões de treino para tarefa de reconhecimento do novo objeto. O restante dos ratos, a fim de investigar os efeitos do uso crônico do CBD, receberam injeções intraperitoneais de CBD durante os próximos 14 dias, e ao final do tratamento foram também submetidos novamente ao teste de reconhecimento de novo

objeto. Foi observado que uma única injeção de CBD na dose mais elevada foi capaz de recuperar parcialmente a memória de ratos tratados com ferro, evidenciou-se ainda que, com o tratamento crônico a memória dos ratos melhorou em relação ao teste de reconhecimento do objeto, indicando que foi possível reverter os danos cognitivos induzidos pelo acúmulo de ferro quando o tratamento com CBD foi aplicado de forma contínua. Além disso, doses de CBD agudas e crônicas não tiveram influência na memória dos ratos do grupo controle. Os resultados sugerem um possível uso do CBD para tratamento ou prevenção de quadros de déficits cognitivos associados à presença de doenças neurodegenerativas

Pazos et al. (2012) avaliaram o efeito neuroprotetor do CBD em um modelo experimental de hipóxia cerebral isquêmica, utilizando ratos Wistar neonatos, através da privação de oxigênio e glicose e redução do fluxo sanguíneo. A hipóxia isquêmica leva a um prejuízo funcional e cognitivo. Nos primeiros 7 e 30 dias após a lesão todos os ratos foram submetidos a testes neurocomportamentais (rotarod, teste de cilindro traseiro (CRT), e reconhecimento de objetos (NOR)). Dessa forma observou-se que os ratos tratados com CBD apresentaram um comportamento funcional melhor em relação à execução das atividades tanto no sétimo dia, quanto após o primeiro mês decorrente do tratamento. Tal fato indica que o CBD exerceu sua ação neuroprotetora de forma prolongada e efetiva. Os autores ainda demonstraram, utilizando as técnicas de *Western Blotting* e ressonância magnética, que o CBD reduziu o volume da lesão em 30% sete dias após a lesão e 14% no trigésimo quarto dia após a lesão neuronal. A análise histológica mostrou que o CBD está associado à modulação do estresse oxidativo, inflamação e excitotoxicidade, além disso, seu uso não foi associado com efeitos colaterais. Sendo que o CBD atua como agente preventivo, pois como se percebe quanto maior o tempo de ocorrência da lesão, menos é o índice de redução do volume da lesão.

Silva et al. (2013) analisaram o efeito do CBD na reversão dos danos causados pelo acúmulo de ferro no cérebro de ratos, que receberam 30mg/kg de Fe^{2+} do 12º ao 14º dia pós-natal. Os níveis proteicos e a expressão gênica no hipocampo e córtex foram quantificados através de *Western blotting*, e constatou-se que logo após o tratamento com ferro houve a redução de DNMI1L no hipocampo e OPA1 no córtex, proteínas que são importantes na regulação e controle dos processos de fissão e fusão mitocondrial.

Além disso, o ferro ainda induziu a um aumento nos níveis de Caspase 3 tanto no hipocampo quanto no córtex, acompanhado por redução dos níveis de sinaptofisina, o que levaria a perda sináptica e a morte celular. Quando os ratos chegaram à idade adulta, foram tratados com CBD durante 14 dias, e mortos 24 horas após a última injeção para análise do hipocampo e córtex cerebral. Foi observado através de Western blotting que o CBD reverteu os efeitos induzidos pelo ferro, trazendo os níveis hipocampais de DNMI1L, Caspase 3 e sinaptofisina de volta aos valores comparáveis ao grupo controle. Os resultados sugerem que o ferro afetou a dinâmica mitocondrial e desencadeou perda sináptica e morte celular por apoptose, o que foi revertido pelo tratamento com CBD, indicando que este exerceu atividade neuroprotetora e pode ser um importante agente terapêutico em casos de degeneração neuronal causada pelo acúmulo de ferro, como é característico nas DP e DA.

Santos et al. (2015) estudaram os efeitos neuroprotetores do CBD em um modelo de toxicidade celular, em que células PC12 de ratos foram expostas a níveis tóxicos de MPP⁺. Foram investigados os fatores relacionados à neuritogênese, a ação dos receptores de NGF (TrkA) e das proteínas neuronais nos mecanismos associados a neuroproteção endógena desencadeada contra a toxicidade MPP⁺ nas células. O teste *Western blotting* evidenciou que o CBD protege contra a morte celular e a perda de neurônios induzido pela neurotoxina MPP⁺ em células PC12. A neuroproteção não é dependente ou mediada pelo NGF, sendo que pode estar associada a receptores TrkA e o aumento da expressão de proteínas neuronais entretanto o CBD parece não ativar receptores TrkB e TrkC. Tais resultados mostram-se importantes principalmente no que diz respeito a doença de Parkinson, pois nessa patologia ocorre com frequência influência do MPP⁺ na citotoxicidade neuronal.

Conclusões

A revisão mostrou que o CBD é uma molécula bastante promissora no que diz respeito ao tratamento de doenças neurodegenerativa. No entanto seus mecanismos de ação são diversos, e parecem ainda não estarem bem elucidados. O que se sabe até o momento é que a molécula exerce suas propriedades neuroprotetoras através do equilíbrio de fatores relacionados à toxicidade celular, que levam na maioria das vezes à morte neuronal gradual, o que acarreta, com o passar do tempo, um quadro de declínio

cognitivo que conseqüentemente evolui para o aparecimento de uma patologia neurodegenerativa. Além disso, o CBD atua sobre o estresse oxidativo controlando as ROS e também em processos apoptóticos controlando principalmente a ação da Caspase 3 e Caspase 9. Mesmo considerando todos os aspectos promissores da molécula há a necessidade de reforçar esses estudos, no sentido de melhor compreender seus mecanismos de ação, sua farmacocinética, farmacodinâmica e principalmente os possíveis efeitos colaterais do uso desse composto.

Referências

CASTILLO, A. *et al.* The neuroprotective effect of cannabidiol in an in vitro model of newborn hypoxic–ischemic brain damage in mice is mediated by CB2 and adenosine receptors. **Neurobiology of Disease**, v. 37, n. 2, p.434-440, 2010.

CRIPPA, J. A. *et al.* Cannabis and anxiety: a critical review of the evidence. **Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental**, v. 24, n. 7, p.515-523, 2009.

ESPOSITO, G. *et al.* Cannabidiol inhibits inducible nitric oxide synthase protein expression and nitric oxide production in β -amyloid stimulated PC12 neurons through p38 MAP kinase and NF- κ B involvement. **Neuroscience Letters**, v. 399, n. 1, p.91-95, 2006.

FAGHERAZZI, E. V. *et al.* Memory-rescuing effects of cannabidiol in an animal model of cognitive impairment relevant to neurodegenerative disorders. **Psychopharmacology**, v. 219, n. 4, p.1133-1140, 2011.

GARCÍA-ARENCIBIA, M. *et al.* Evaluation of the neuroprotective effect of cannabinoids in a rat model of Parkinson's disease: Importance of antioxidant and cannabinoid receptor-independent properties. **Brain Research**, v. 1134, p.162-170, 2007.

HAMPSON, A. J. *et al.* Cannabidiol and (-) 9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. **Proceedings of The National Academy of Sciences**, v. 95, n. 14, p.8268-8273, 1998.

IUVONE, T. *et al.* Neuroprotective effect of cannabidiol, a non-psychoactive component from Cannabis sativa, on beta-amyloid-induced toxicity in PC12 cells. **Journal Of Neurochemistry**, v. 89, n. 1, p.134-141, 2004.

JOSEPH, J. *et al.* Nutrition, Brain Aging, and Neurodegeneration. **Journal Of Neuroscience**, v. 29, n. 41, p.12795-12801, 2009.

MAGALHÃES, J. P; SANDBERG, A. Cognitive aging as an extension of brain development: A model linking learning, brain plasticity, and neurodegeneration. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 126, n. 10, p.1026-1033, 2005.

MARTIN-MORENO, A. M. *et al.* Cannabidiol and Other Cannabinoids Reduce Microglial Activation In Vitro and In Vivo: Relevance to Alzheimer's Disease. **Molecular Pharmacology**, v. 79, n. 6, p.964-973, 2011.

MECHOULAM, R. *et al.* Chemical Basis of Hashish Activity. **Science**, v. 169, n. 3945, p.611-612, 1970.

NUSSBAUM, R. L; MCINNES, R. R; WILLARD, H. F. **Genética Médica**. 7 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

PAZOS, M. *et al.* Cannabidiol administration after hypoxia–ischemia to newborn rats reduces long-term brain injury and restores neurobehavioral function. **Neuropharmacology**, v. 63, n. 5, p.776-783, 2012.

PEREZ, M. **Papel neuroprotetor do canabidiol em ratos neonatos após transecção do nervo isquiático**. 2013. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Estrutural, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

SAGREDO, O. *et al.* Cannabidiol reduced the striatal atrophy caused 3-nitropropionic acid in vivo by mechanisms independent of the activation of cannabinoid, vanilloid TRPV1 and adenosine A2A receptors. **European Journal of Neuroscience**, v. 26, n. 4, p.843-851, 2007.

SANTOS, N. A. G. *et al.* The neuroprotection of cannabidiol against MPP+ induced toxicity in PC12 cells involves TrkA receptors, upregulation of axonal and synaptic proteins, neuritogenesis, and might be relevant to Parkinson's disease. **Toxicology In Vitro**, v. 30, n. 1, p.231-240, 2015.

SCUDERI, C. *et al.* Cannabidiol in medicine: a review of its therapeutic potential in CNS disorders. **Phyther. Res.**, v. 23, n. 5, p.597-602, 2009.

SILVA, V. K. *et al.* Cannabidiol Normalizes Caspase 3, Synaptophysin, and Mitochondrial Fission Protein DNMI1L Expression Levels in Rats with Brain Iron Overload: Implications for Neuroprotection. **Molecular Neurobiology**, v. 49, n. 1, p.222-233, 2013.

THE GLOBAL IMPACT OF DEMENTIA: An analysis of prevalence, incidence, cost and trends. London: Alzheimer's Disease International, 2015.

ZUARDI, A. W. Cannabidiol: from an inactive cannabinoid to a drug with wide spectrum of action. **Rev. Bras. Psiquiatria**, v. 30, n. 3, p.271-280, 2008.

3. CONCLUSÃO

A revisão demonstrou que o CBD atua mediando o controle de processos neurodegenerativos de forma eficiente, apresentando-se assim, como uma ferramenta importante no controle dessas patologias principalmente no que diz respeito à prevenção de danos neuronais, lesões ou déficits cognitivos associados à morte neuronal. O CBD apresentou propriedades neuroprotetoras por controlar a citotoxicidade e regular o ciclo celular, evitando ou retardando a apoptose, devido ao controle de enzimas relacionadas como a Caspase 3 e 9 e principalmente pelo fato de equilibrar o estresse oxidativo controlando as ROS. Entretanto, mesmo considerando todos os aspectos promissores da molécula há a necessidade de reforçar esses estudos, no sentido de melhor compreender seus mecanismos de ação, sua farmacocinética, sua farmacodinâmica e principalmente os possíveis efeitos colaterais do uso desse composto.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R.; HUNT, M.; CLARK, J. H. Structure of Cannabidiol, a Product Isolated from the Marijuana Extract of Minnesota Wild Hemp. **I. J. Am. Chem. Soc.**, v. 62, n. 1, p.196-200, 1940.
- AMERI, A. The effects of cannabinoids on the brain. **Progress in Neurobiology**, v. 58, n. 4, p.315-348, 1999.
- BATISTA, L. A. C. S; NUNES, P. H. G; MOREIRA, F. A. Aspecto dual da maconha na ansiedade e no humor. **Revista da Biologia**, v. 13, n. 1, p. 36-42, 2014.
- BEAR, M. F. et al. **Neurociências::** desvendando o Sistema nervoso. Porto Alegre: 3ed. Artmed, 2008.
- BISOGNO, T. et al. Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. **British Journal of Pharmacology**, v. 134, n. 4, p.845-852, 2001.
- BRUCKI, S. M. D. *et al.* Cannabinoids in neurology – Brazilian Academy of Neurology. **Arq. Neuro-psiquiatr.**, v. 73, n. 4, p.371-374, 2015.
- CARRIER, E. J.; AUCHAMPACH, J. A.; HILLARD, C. J. Inhibition of an equilibrative nucleoside transporter by cannabidiol: A mechanism of cannabinoid immunosuppression. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 20, p.7895-7900, 2006.
- CONTE, A. et al. Cannabinoid-induced effects on the nociceptive system: A neurophysiological study in patients with secondary progressive multiple sclerosis. **European Journal of Pain**, v. 13, n. 5, p.472-477, 2009.
- CRIPPA, J. A. et al. Cannabis and anxiety: a critical review of the evidence. **Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental**, v. 24, n. 7, p.515-523, 2009.
- DEVANE, W. A. et al. Determination and Characterization of a Cannabinoid Receptor in Rat Brain. **Molecular Pharmacology**, v. 34, n. 5, p.605-613, 1988.
- FONSECA, B. et al. Endogenous cannabinoids revisited: A biochemistry perspective. **Prostaglandins & Other Lipid Mediators**, v. 102-103, p.13-30, 2013.
- FONSECA, B. et al. The endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol (2-AG) and metabolizing enzymes during rat fetoplacental development: A role in uterine remodelling. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 42, n. 11, p.1884-1892, 2010.

- FREUND, T. F. et al. Role of Endogenous Cannabinoids in Synaptic Signaling. **Physiological Reviews**, v. 83, n. 3, p.1017-1066, 2003.
- GIL-MOHAPPEL, J. M.; REGO, A. C. Doença de Huntington: uma revisão dos aspectos fisiopatológicos. **Revista Neurociências**, v. 4, n. 19, p.724-734, 2011.
- GOMES, F. V. et al. Cannabidiol injected into the bed nucleus of the stria terminalis reduces the expression of contextual fear conditioning via 5-HT1A receptors. **Journal of Psychopharmacology**, v. 26, n. 1, p.104-113, 2010.
- HASHIMOTODANI, Y.; OHNO-SHOSAKU, T.; KANO, M. Endocannabinoids and Synaptic Function in the CNS. **The Neuroscientist**, v. 13, n. 2, p.127-137, 2007.
- HERKENHAM, M. et al. Cannabinoid receptor localization in brain. **Proceedings of The National Academy of Sciences Of The United States Of America**, v. 87, n. 5, p.1932-1936, 1990.
- HILEY, C. R; FORD, W. Cannabinoid pharmacology in the cardiovascular system: potential protective mechanisms through lipid signalling. **Biological Reviews**, v. 79, n. 1, p.187-205, 2004.
- HONÓRIO, K M; ARROIO, A; SILVA, A. B. F. Aspectos terapêuticos de compostos da planta Cannabis sativa. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p.318-325, 2006.
- KOPPEL, B. S. et al. Systematic review: Efficacy and safety of medical marijuana in selected neurologic disorders. **Neurology**, v. 82, n. 17, p.1556-1563, 2014.
- KREITZER, F. R; STELLA, N. The therapeutic potential of novel cannabinoid receptors. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 122, n. 2, p.83-96, 2009.
- LEONELLI, M et al. Developmental expression of cannabinoid receptors in the chick retinotectal system. **Developmental Brain Research**, v. 156, n. 2, p.176-182, 2005.
- LUTZ, B. Molecular biology of cannabinoid receptors. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 66, n. 2-3, p.123-142, 2002.
- MACDONALD, M. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. **Cell**, v. 72, n. 6, p.971-983, mar. 1993.
- MARZO, V. *et al.* Endocannabinoids: endogenous cannabinoid receptor ligands with neuromodulatory action. **Trends In Neurosciences**, v.21, n. 2, p. 521–528, 1999.
- MARZO, V.; MATIAS, I. Endocannabinoid control of food intake and energy balance. **Nature Neuroscience**, v. 8, n. 5, p.585-589, 2005.

- MATSUDA, L. et al. Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned DNA. **Nature**, v. 346, n. 6284, p.561-564, 1990.
- MECHOULAM, R. et al. Chemical Basis of Hashish Activity. **Science**, v. 169, n. 3945, p.611-612, 1970.
- MONTECUCCO, F; MARZO, V. At the heart of the matter: the endocannabinoid system in cardiovascular function and dysfunction. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 33, n. 6, p.331-340, 2012.
- MUNRO, S; THOMAS, K L.; ABU-SHAAR, M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. **Nature**, v. 365, n. 6441, p.61-65, 1993.
- PASSOS, C. S. et al. Terpenóides com atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC). **Revista Brasileira Farmacognésia**, v. 19, n. 1, p.140-149, 2009.
- PASTERNAK, J. **Uma Introdução à Genética Molecular Humana: Mecanismos das Doenças Hereditárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.
- PETROCELLIS, L; CASCIO, M. G; MARZO, V. The endocannabinoid system: a general view and latest additions. **British Journal of Pharmacology**, v. 141, n. 5, p.765-774, 2004.
- PIOMELLI, D. et al. The molecular logic of endocannabinoid signalling. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 4, n. 11, p.873-884, 2003.
- RAMOS, J. A. et al. Exposure to cannabinoids in the development of endogenous cannabinoid system. **Neurotox Res**, v. 4, n. 4, p.363-372, 2002.
- RAYMUNDO, P.G.; SOUZA, P. R. K. Cannabis Sativa L.: os prós e contras do uso terapêutico de uma droga de abuso. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, São Paulo, v. 13, n. 3, p.23-30, 2007.
- ROBSON, P. J. Therapeutic potential of cannabinoid medicines. **Drug Test Analysis**, v. 6, n. 12, p.24-30, 2013.
- RUSSO, E. B. et al. Agonistic Properties of Cannabidiol at 5-HT_{1a} Receptors. **Neurochem Res**, v. 30, n. 8, p.1037-1043, 2005.
- SCHUBART, C. et al. Cannabidiol as a potential treatment for psychosis. **European Neuropsychopharmacology**, v. 24, n. 1, p.51-64, 2014.
- SHIMADA, A et al. Age-related loss of synapses in the frontal cortex of SAMP10 mouse: A model of cerebral degeneration. **Synapse**, v. 48, n. 4, p.198-204, 2003.

- STELT, M. D; MARZO, V. Cannabinoid Receptors and Their Role in Neuroprotection. **Nmm**, v. 7, n. 1-2, p.037-050, 2005.
- SUGIURA, T. et al. 2- Arachidonoylglycerol: A Possible Endogenous Cannabinoid Receptor Ligand in Brain. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, v. 215, n. 1, p.89-97, 1995.
- SUGIURA, T. et al. 2-Arachidonoylglycerol: A Possible Endogenous Cannabinoid Receptor Ligand in Brain. **Biochemical And Biophysical Research Communications**, v. 215, n. 1, p.89-97, 1995.
- SUH, Y. Amyloid Precursor Protein, Presenilins, and alpha -Synuclein: Molecular Pathogenesis and Pharmacological Applications in Alzheimer's Disease. **Pharmacological Reviews**, v. 54, n. 3, p.469-525, 2002.
- TAGLIAFERRO, P et al. Neuronal cytoskeleton and synaptic densities are altered after a chronic treatment with the cannabinoid receptor agonist WIN 55212-2. **Brain Research**, v. 1085, n. 1, p.163-176, 2006.
- TEIVE H. Etiopatogenia da Doença de Parkinson. **Revista Neurociências**, v.13, n.4, p.201-214, 2005.
- THE GLOBAL IMPACT OF DEMENTIA:** An analysis of prevalence, incidence, cost and trends. London: Alzheimer's Disease International, 2015.
- ZINSER, G.; HARTMANN, T; GRIMM, M O. Amyloid beta-protein and lipid metabolism. **Acta Biomembranes**, v. 1768, n. 8, p.1991-2001, 2007.
- ZUARDI, A W. Cannabidiol: from an inactive cannabinoid to a drug with wide spectrum of action. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 30, n. 3, p.271-280, 2008.
- ZUARDI, A W. History of cannabis as a medicine: a review. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 28, n. 2, p.153-157, 2006.