

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS CHAPECÓ
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

BRUNNA VARELA DA SILVA

**EFEITO TIPO ANTIDEPRESSIVO DO ÓLEO DE Cannabis sativa DE ESPECTRO
COMPLETO NA MODULAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E SISTEMA
PURINÉRGICO EM RATOS SUBMETIDOS A ESTRESSE NO INÍCIO DA VIDA**

CHAPECÓ

2024

BRUNNA VARELA DA SILVA

**EFEITO TIPO ANTIDEPRESSIVO DO ÓLEO DE Cannabis sativa DE ESPECTRO
COMPLETO NA MODULAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E SISTEMA
PURINÉRGICO EM RATOS SUBMETIDOS A ESTRESSE NO INÍCIO DA VIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas.

Orientador: Prof^ª. Dr^ª Zuleide Maria Ignácio

Coorientador: Prof. Dr. Aderbal Silva Aguiar Júnior

CHAPECÓ

2024

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Silva, Brunna Varela da

Efeito tipo Antidepressivo do Óleo de Cannabis sativa de Espectro Completo na Modulação do Estresse Oxidativo e Sistema Purinérgico em Ratos Submetidos a Estresse no Início da Vida / Brunna Varela da Silva. -- 2024.

74 f.

Orientador: Dr^a Zuleide Maria Ignácio

Co-orientador: Dr Aderbal Silva Aguiar Júnior

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas, Chapecó, SC, 2024.

1. Transtorno Depressivo Maior. 2. Cannabis sativa. 3. Sistema Endocanabinoide. 4. Sistema Purinérgico. 5. Estresse Oxidativo. I. Ignácio, Zuleide Maria, orient. II. Júnior, Aderbal Silva Aguiar, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

BRUNNA VARELA DA SILVA

**EFEITO TIPO ANTIDEPRESSIVO DO ÓLEO DE Cannabis sativa DE ESPECTRO
COMPLETO NA MODULAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO E SISTEMA
PURINÉRGICO EM RATOS SUBMETIDOS A ESTRESSE NO INÍCIO DA VIDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biomédicas da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 14/08/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Zuleide Maria Ignácio – UFFS
Orientadora

Prof. Dr. Aderbal Silva Aguiar Júnior – UFSC
Coorientador

Prof.^a Dr.^a Margarete Dulce Bagattini – UFFS
Avaliadora

Prof. Dr. Jozimar Carlos Szczepanik – UFSC
Avaliador

Prof.^a Dr.^a Filomena Marafon – UFFS
Avaliadora

RESUMO

O Transtorno Depressivo Maior (TDM) possui uma etiologia complexa e multifatorial, na qual tanto eventos traumáticos quanto estresse crônico desempenham papéis significativos, resultando em disfunções biológicas neurais e sistêmicas. Esses fatores podem afetar o indivíduo desde as fases iniciais da vida até a idade adulta. O estresse crônico durante a infância compromete o desenvolvimento cerebral e, quando combinado com falta de suporte social na vida adulta, pode levar ao desenvolvimento de depressão severa e à resistência aos tratamentos antidepressivos. Os fármacos disponíveis na clínica, além de necessitarem de um longo tempo para o início do efeito antidepressivo, não conseguem exercer efeito terapêutico em um percentual significativo de pacientes. Por essas razões, a busca por agentes mais efetivos para o TDM tem incluído as plantas medicinais como estratégias terapêuticas que possam interferir em mecanismos biológicos relevantes nesse transtorno. O objetivo do estudo foi avaliar o comportamento tipo depressivo e mecanismos envolvidos no sistema endocanabinoide, sistema purinérgico e estresse oxidativo em ratos submetidos ao estresse de privação materna (PM) nos primeiros dias de vida, associado ao isolamento social (IS) em adultos jovens, bem como avaliar o efeito do tratamento com óleo de *Cannabis sativa* de espectro completo. Os animais, ratos Wistar machos, foram divididos em quatro grupos (N= 10 cada grupo): Controle sem estresse + salina; PM+IS + salina; PM+IS + Escitalopram; PM+IS + óleo de *C. sativa* de espectro completo. Os ratos foram submetidos ao modelo de estresse por PM e IS no início da fase adulta, exceto o grupo controle. Posteriormente, receberam tratamento crônico por 14 dias de acordo com o objetivo de cada grupo. Ao final do tratamento, os animais foram submetidos aos protocolos comportamentais de atividade locomotora no campo aberto e mobilidade no teste de natação forçada. Após os testes comportamentais, os animais foram eutanasiados e as amostras biológicas coletadas, para análise de biomarcadores de estresse oxidativo e sistema purinérgico. O grupo PM+IS + salina apresentou maior tempo de imobilidade no teste de natação forçada em comparação com os outros grupos, sugerindo que o protocolo de PM+IS induziu comportamento tipo depressivo. O protocolo de estresse também induziu estresse oxidativo, no grupo PM + salina e aumento na atividade de MPO no plasma quando comparado ao grupo controle + salina. O tratamento com óleo de *C. sativa* de espectro completo reverteu o comportamento tipo depressivo, além de reduzir a atividade da MPO e os níveis de TBARS no plasma. Além disso, o grupo tratado com o óleo apresentou maior hidrólise dos biomarcadores do sistema purinérgico ATP, ADP e AMP, em comparação a todos os outros grupos. Esses achados

indicam um aumento na atividade das ectonucleotidasas CD39 e CD73, implicando efeitos fisiológicos na ativação dos receptores purinérgicos. O tratamento crônico com o óleo de espectro completo de *C. sativa* demonstrou, portanto, efeitos moduladores significativos tanto no estresse oxidativo quanto no sistema purinérgico, contribuindo para a compreensão dos mecanismos envolvidos no tratamento do TDM.

Palavras-chave: Transtorno Depressivo Maior; *Cannabis sativa*; Sistema Endocanabinoide; Sistema Purinérgico; Estresse Oxidativo.

ABSTRACT

Major Depressive Disorder (MDD) has a complex and multifactorial etiology, where both traumatic events and chronic stress play significant roles, leading to neural and systemic biological dysfunctions. These factors can affect individuals from early developmental stages through to adulthood. Chronic stress during childhood impairs brain development, and when combined with a lack of social support in adulthood, it can lead to severe depression and resistance to antidepressant treatments. Clinical medications not only require a long time to manifest antidepressant effects but also fail to provide therapeutic benefits for a significant percentage of patients. Consequently, the search for more effective treatments for MDD has included medicinal plants as therapeutic strategies that may influence relevant biological mechanisms in this disorder. The objective of this study was to evaluate depressive-like behavior and mechanisms involved in the endocannabinoid system, purinergic system, and oxidative stress in rats subjected to maternal deprivation (MD) during early life, combined with social isolation (SI) in young adulthood, as well as to assess the effect of treatment with *full spectrum C. sativa* oil. Male Wistar rats were divided into four groups (N = 10 per group): Control without stress + saline; MD+SI + saline; MD+SI + Escitalopram; MD+SI + *full spectrum C. sativa* oil. The rats underwent the MD and SI stress model at the beginning of adulthood, except for the control group. Subsequently, they received chronic treatment for 14 days according to their group's objective. At the end of the treatment, the animals were subjected to behavioral protocols assessing locomotor activity in the open field and mobility in the forced swimming test. After the behavioral tests, the animals were euthanized, and biological samples were collected for analysis of oxidative stress and purinergic system biomarkers. The MD+SI + saline group showed increased immobility time in the forced swimming test compared to the other groups, indicating that the MD+SI protocol induced depressive-like behavior. The stress protocol also induced oxidative stress in the MD + saline group, evidenced by increased MPO activity in plasma compared to the control + saline group. Treatment with *full spectrum C. sativa* oil reversed depressive-like behavior and reduced MPO activity and TBARS levels in plasma. Furthermore, the oil-treated group exhibited increased hydrolysis of purinergic system biomarkers ATP, ADP, and AMP compared to all other groups. These findings suggest enhanced activity of ectonucleotidases CD39 and CD73, which may have physiological effects on purinergic receptor activation. Therefore, chronic treatment with *full spectrum C. sativa* oil demonstrated significant

modulatory effects on both oxidative stress and the purinergic system, contributing to the understanding of mechanisms involved in the treatment of MDD

Keywords: Major Depressive Disorder; *Cannabis sativa*; Endocannabinoid System; Purinergic System; Oxidative Stress.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Sistema endocanabinoide: distribuição dos receptores CB1 e CB2.....	26
Figura 3 - Efeito comitiva.....	33
Figura 4 - Desenho experimental.....	37
Figura 5 - Teste de Natação Forçada.....	43
Figura 6 - Teste de Campo Aberto.....	44
Figura 7 - Quantificação de ATP Extracelular – Plasma.....	45
Figura 8 - Hidrólise de ATP, ADP e AMP - PBMCs.....	46
Figura 9 - Atividade da MPO.....	47
Figura 10 - Atividade de TBARS.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	graus Celsius
3'	extremidade 3' da fita DNA
5'	extremidade 5' da fita DNA
5-HT	5-hidroxitriptofano
A1	receptores de adenosina A1
A1R	receptores de adenosina A1R
A2A	receptores de adenosina A2A
A2AR	receptores de adenosina A2AR
A2B	receptores de adenosina A2B
A3	receptores de adenosina A3
AAP	aminoantipirina
Abs	absorbância
ADO	adenosina
ADP	adenosina difosfato
AM	grupo estresse + ácido madecássico (AM)
AMP	adenosina monofosfato
ANOVA	análise de variância
ASC	domínio de recrutamento de caspases
ATP	adenosina 5-trifosfato
ATP	adenosina trifosfato
BH4	tetrahidrobiopterina
BHE	barreira hematoencefálica
BIOCHUFFS	biotério setorial da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Chapecó
<i>C. sativa</i>	<i>Cannabis sativa</i>

CA	grupo estresse + <i>C. asiatica</i>
CD26	adenosina deaminase ADA
CD39	enzima NTPDase-1
CD73	enzima 5'-nucleotidase
cDNA	ácido desoxirribonucleico complementar
CEUA	comitê de ética no uso de animais
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
CS	grupo controle + salina (CS)
DAMP	padrão molecular associado ao dano
DMEM	meio de Eagle modificado por Dulbecco
DNase	enzima de degradação do DNA
DTNB	2,2'-dinitro-5,5'-ditiodibenzoico
DTT	ditiotreitól
E-NPPs	ectonucleotídeofosfodiesterase/pirofosfatase
EROS	espécies reativas de oxigênio
ROS	espécies reativas de oxigênio
ES	grupo estresse + salina (ES)
ESC	grupo estresse + escitalopram (ESC)
EUA	Estados Unidos da América
F2	2-isoprostanos
FC	fator de correção
Fe	ferro
g/L	gramas por litro
Gi	proteína-G Gi
Gq	proteína-G Gq
h	hora
H2O2	peróxido de hidrogênio
HOCl	ácido hipocloroso
HPA	hipotálamo-hipófise-adrenal

I	complexo um mitocondrial
IDO	indoleamina 2,3-dioxigenase
IFN- γ	interferon-gama
IL-1	interleucina-1
IL-18	interleucina 18
IL-1 α	interleucina-1 α
IL-1 β	interleucina-1 β
IL-2	interleucina-2
IL-6	interleucina-6
IS	isolamento social
K	potássio
LRR	domínio de repetição rica em leucina
M	molar
MDA	malondialdeído
mg	magnésio
mg	miligrama
mg/kg	miligramas por quilograma
min	minuto
ml	mililitro
mm	milímetro
Na	sódio
NACHT	proteína 3 que contém domínio de pirina da família NLR
ng	nanograma
NK	células natural killer
NLRP3	família NLR3 contendo 3 domínios de pirina
nM	nanomolar
NMDA	receptor N-metil-D-aspartato
nmol	nanomole
NPSH	tióis não-proteicos
P	valor de significância

P1	família de receptores purinérgico de nucleosídeo
P2	família de receptores purinérgico de nucleotídeos
P2X	receptores purinérgicos P2X
P2X1	receptores purinérgicos P2X1
P2X7	receptores purinérgicos P2X7
P2Y	receptores purinérgicos P2Y
P2Y1	receptores purinérgicos P2Y1
P2Y11	receptores purinérgicos P2Y11
P2Y13	receptores purinérgicos P2Y13
P2Y14	receptores purinérgicos P2Y14
P2Y2	receptores purinérgicos P2Y2
P2Y4	receptores purinérgicos P2Y4
P2Y6	receptores purinérgicos P2Y6
pH	potencial hidrogeniônico
PM	privação maternal
PYD	domínio pirina tipo PYD
PYRIN	domínio pirina
RNA	ácido ribonucleico
rpm	rotações por minuto
SNC	sistema nervoso central
SNS	sistema nervoso simpático
TBA	ácido tiobarbitúrico
TBARS	substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCA	ácido tricloroacético
TDM	transtorno depressivo maior
TLRs	receptores semelhantes a Toll
TNF- α	fator de necrose tumoral-alfa
TRX	tio-redoxina
TXNIP	thioredoxin-interacting protein

$\mu\text{g/ml}$	micrograma por mililitro
μL	microlitro
μM	micromolar
α	alfa
β	beta
γ	gama

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVOS.....	19
2.1	OBJETIVO GERAL.....	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
3.1	TDM, ESTRESSE CRÔNICO E MODELOS ANIMAIS.....	20
3.2	IMPACTO DO ESTRESSE OXIDATIVO NO TDM.....	22
3.3	O PAPEL DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE NA FISIOPATOLOGIA DO TDM.....	24
3.4	SISTEMA PURINÉRGICO NA REGULAÇÃO IMUNOLÓGICA E INFLAMATÓRIA	27
3.5	POTENCIAL TERAPÊUTICO DA <i>CANNABIS SATIVA</i> NO TDM.....	30
4	METODOLOGIA.....	34
4.1	ASPECTOS ÉTICOS.....	34
4.2	ANIMAIS EXPERIMENTAIS.....	34
4.3	TRATAMENTOS FARMACOLÓGICOS.....	35
4.3.1	Óleo de <i>Cannabis sativa</i> de espectro completo.....	35
4.3.2	Escitalopram.....	36
4.4	PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL.....	36
4.5	PROTOCOLO DE TRATAMENTO.....	36
4.6	TESTES COMPORTAMENTAIS.....	37
4.6.1	Teste de campo aberto.....	37
4.6.2	Teste de nado forçado.....	38
4.7	COLETA DE SANGUE E TECIDOS.....	38
4.8	ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	39
4.8.1	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	39
4.8.2	Mieloperoxidase (MPO).....	39
4.8.3	Enzimas do sistema purinérgico.....	40
4.8.3.1	<i>Normalização das proteínas.....</i>	40
4.8.3.2	<i>Avaliação das enzimas que hidrolisam nucleotídeos e nucleosídeo de adenina....</i>	40
4.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	41
5	RESULTADOS.....	42

5.1	EFEITOS DA PM, DO IS E DOS TRATAMENTOS NO TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA.....	42
5.2	EFEITOS PM + IS E TRATAMENTOS NO TESTE DE CAMPO ABERTO	43
5.3	ANÁLISE DO SISTEMA PURINÉRGICO.....	44
5.3.1	Quantificação de ATP Extracelular	44
5.3.2	Hidrólise de ATP, ADP e AMP - PBMC.....	45
5.4	ANÁLISE DO ESTRESSE OXIDATIVO.....	46
5.4.1	Atividade da Mieloperoxidase (MPO).....	46
5.4.2	Atividade de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	47
6	DISCUSSÃO.....	49
6.1	COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO E PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL.....	49
6.2	EFEITOS DO TRATAMENTO SOBRE O COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO EM RATOS QUE SOFRERAM PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL.....	51
6.3	EFEITOS DA PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL E TRATAMENTO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO.....	53
6.4	EFEITOS DA PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL E TRATAMENTO SOBRE O SISTEMA PURINÉRGICO.....	55
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59
	REFERÊNCIAS.....	61

1 INTRODUÇÃO

O transtorno depressivo maior (TDM), conhecido popularmente como depressão, é um transtorno psiquiátrico caracterizado pela presença de sintomas como humor deprimido, perda de interesse ou prazer nas atividades cotidianas e diminuição da energia, manifestados de forma persistente por pelo menos duas semanas (DSM, 2023). As projeções revelam que o TDM representa uma condição de extrema relevância, marcada por uma alta incidência e impacto global, na qual mais de 300 milhões de pessoas em todo o mundo são afetadas, destacando-se como uma das principais causas de incapacidade (Evans-Lacko *et al.*, 2018; Woody *et al.*, 2017).

O TDM possui uma etiologia multifatorial, englobando eventos traumáticos e estresse crônico tanto em fases iniciais da vida quanto na fase adulta. Essa complexidade etiológica é associada a diversas comorbidades, que contribuem para uma redução na qualidade de vida dos indivíduos afetados. Pacientes que enfrentam episódios graves de depressão apresentam elevados índices de morbidade e mortalidade, acarretando consequências de ordem econômica e social (Nemeroff; Owens, 2002).

Entretanto, a fisiopatologia subjacente ao TDM permanece, até o momento, insuficientemente elucidada. Embora ainda não haja um entendimento completo, diversas teorias convergem para elucidar alguns aspectos dessa condição. Estudos apontam que elementos ambientais estressores e fatores genéticos estabelecem interconexões que desencadeiam modificações estruturais e funcionais (Park *et al.*, 2019; Frodl *et al.*, 2010). Essas alterações resultam em disfunções em vários sistemas, incluindo o sistema purinérgico e o sistema endocanabinoide, além de aumentar o estresse oxidativo, o que reflete nos sintomas típicos associados ao TDM (Gallego-Landin *et al.*, 2021; Ortiz *et al.*, 2015; Jiménez-Fernández *et al.*, 2015).

Estressores ambientais, como maus tratos na infância, conflitos interpessoais e traumas, emergem como contribuintes significativos para o desenvolvimento e progressão de transtornos mentais, destacando o TDM. Esses fatores ambientais podem persistir ao longo da vida, influenciando até a idade adulta (Franklin *et al.*, 2010).

Alterações no sistema purinérgico têm sido associadas à patogênese do TDM. Esse sistema, que inclui nucleotídeos como o ATP e receptores específicos, desempenha um papel crucial na regulação de processos inflamatórios. A ativação excessiva dos receptores P2X7, que são ativados pelo ATP e amplamente expressos em células microgлияis, leva a um aumento na liberação de citocinas pró-inflamatórias, contribuindo para a neuroinflamação e

os sintomas depressivos. Além disso, a sinalização alterada dos receptores adenosinérgicos A2A, pode interferir na liberação de neurotransmissores essenciais para a regulação do humor, como a dopamina e o glutamato (Pasquini *et al.*, 2022).

Paralelamente, o sistema endocanabinoide, que inclui os receptores CB1 e CB2, endocanabinoides e enzimas que controlam sua síntese e degradação, também está intimamente ligado à modulação do humor e à resposta ao estresse. Alterações na expressão e na função dos receptores CB2, predominantemente localizados em células imunológicas, também têm sido observadas em indivíduos diagnosticados com TDM (Maes *et al.*, 2023). A ativação dos receptores CB2 tem demonstrado efeitos neuroprotetores significativos, ajudando a mitigar a neuroinflamação e o estresse oxidativo, processos intimamente relacionados aos mecanismos subjacentes ao transtorno. Estudos sugerem que a modulação desses receptores pode oferecer novas vias terapêuticas para o tratamento da depressão (Morcuende *et al.*, 2022).

Além dos mecanismos relacionados aos sistemas endocanabinoide e purinérgico, o estresse oxidativo emerge como componente relevante na patogênese do TDM. Esse fenômeno se caracteriza pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a capacidade antioxidante do organismo, resultando em danos a macromoléculas celulares, como proteínas, lipídios e DNA. Vários estudos demonstraram alterações em parâmetros indicativos de estresse oxidativo tanto em pacientes com TDM (Rawdin *et al.*, 2013) quanto em modelos animais expostos a estresse e apresentando comportamentos depressivos (Ekeanyanwu; Njoku, 2015; Shahzad *et al.*, 2014; Grolli *et al.*, 2023). Adicionalmente, o estresse oxidativo tem sido associado à gravidade do TDM e à depressão resistente ao tratamento (DRT) (Mokoena *et al.*, 2015).

Em virtude desses eventos, o manejo terapêutico da depressão se mostra desafiador, uma vez que os fármacos antidepressivos convencionais agem primariamente em processos neuroquímicos e neurobiológicos (Kupfer; Frank; Phillips, 2012), demonstrando eficácia na remissão de sintomas em menos da metade dos indivíduos afetados (Casacalenda; Perry; Looper, 2002). Além disso, esses medicamentos geralmente necessitam de um período de aproximadamente duas semanas para começar a apresentar efeitos terapêuticos, o que pode ser um período crítico para pacientes em estado de depressão severa (Ibanez *et al.*, 2014; Cunha; Gandini, 2009).

Diante das limitações das abordagens terapêuticas convencionais, que muitas vezes falham em proporcionar alívio adequado para todos os pacientes, a exploração de novas estratégias terapêuticas é essencial (Casacalenda; Perry; Looper, 2002). A *Cannabis sativa*,

uma planta medicinal com base em milhares de anos de experiência humana, surge como uma potencial alternativa promissora. Seus compostos bioativos, especialmente os canabinoides, possuem propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e moduladoras de sistemas neuroquímicos que são relevantes na fisiopatologia do TDM (Poleszak *et al.*, 2018). O óleo de *Cannabis sativa* de espectro completo tem mostrado potencial em estudos pré-clínicos e clínicos iniciais, especialmente devido ao sinergismo dos diversos compostos presentes, que trabalham em conjunto para modular múltiplas vias neuroquímicas e neurobiológicas. Esse efeito sinérgico não só amplia a eficácia terapêutica, mas também pode potencializar os resultados de outras intervenções, oferecendo uma abordagem mais integrada e eficaz no tratamento do TDM resistente à terapia convencional (Ferber *et al.*, 2020; Russo, 2011).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar comportamentos tipo depressivos e possíveis alterações no balanço oxidativo e sistema purinérgico em ratos adultos machos submetidos a estresse de privação maternal (PM) nos primeiros dias de vida e isolamento social na vida adulta jovem.

- Avaliar o efeito do tratamento crônico com óleo de espectro completo da espécie *C. sativa* sobre comportamentos tipo depressivos e modulação de componentes do sistema purinérgico e do estresse oxidativo em células de ratos machos submetidos a estresse de privação maternal nos primeiros dias de vida e protocolo de isolamento social na vida adulta jovem.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito do estresse de PM nos primeiros dias de vida e de IS na vida adulta jovem sobre parâmetros de mobilidade e imobilidade no teste de natação forçada em ratos machos adultos;

- Avaliar o efeito do tratamento crônico com óleo de *C. sativa* de espectro completo sobre parâmetros de mobilidade e imobilidade no teste de natação forçada em ratos adultos machos submetidos ao efeito do estresse de PM nos primeiros dias de vida e IS na vida adulta jovem;

- Avaliar o efeito do estresse de PM e IS e tratamento crônico com óleo de *C. sativa* de espectro completo na hidrólise dos nucleotídeos ATP, ADP e AMP em células mononucleares do sangue periférico (PBMCs) em ratos adultos machos submetidos a estresse de PM nos primeiros dias de vida e IS na vida adulta jovem;

- Avaliar o efeito do estresse de PM e IS e tratamento crônico com óleo de *C. sativa* de espectro completo nos níveis de ATP extracelular no plasma de ratos adultos machos submetidos a estresse de PM nos primeiros dias de vida e IS na vida adulta jovem;

- Avaliar o efeito do estresse de PM e IS e tratamento crônico com óleo de *C. sativa* de espectro completo em parâmetros de estresse oxidativo: MPO e TBARS no plasma de ratos adultos machos submetidos a estresse de PM nos primeiros dias de vida e IS na vida adulta jovem;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 TDM, ESTRESSE CRÔNICO E MODELOS ANIMAIS

O TDM representa uma condição clínica significativa, impactando adversamente a qualidade de vida e emergindo como uma das formas mais prevalentes de doença mental (Larsen *et al.*, 2010). Tanto o TDM quanto os transtornos de ansiedade são caracterizados por uma diversidade de processos biológicos, os quais, juntamente com manifestações comportamentais, constituem foco de investigação em uma ampla gama de protocolos, tanto em estudos clínicos quanto em pré-clínicos. A complexidade desses distúrbios, possivelmente atribuída a uma heterogeneidade de fatores, contribui para a inconsistência nas respostas aos tratamentos disponíveis (Belmaker; Agam, 2008).

Um grande percentual de indivíduos com TDM não apresenta resposta terapêutica aos antidepressivos disponíveis ou outras estratégias terapêuticas (De Carlo; Calati; Serretti, 2016). Elucidar as interações complexas entre fatores biológicos e comportamentais, bem como a investigação das comorbidades associadas, torna-se crucial para a formulação de estratégias terapêuticas mais eficazes e personalizadas no contexto do TDM.

Estudos destacam que a exposição ao estresse na infância emerge como um dos fatores mais impactantes na manifestação de um genótipo suscetível ao TDM (Daskalakis *et al.*, 2013; Ignácio *et al.*, 2014). O modelo de privação materna (PM) constitui um protocolo animal validado, amplamente empregado nas investigações sobre a fisiopatologia e busca por estratégias terapêuticas no contexto do TDM. Uma característica desse protocolo é sua capacidade de mimetizar uma situação severa, envolvendo elementos como violência, perda e negligência no cuidado, fenômenos que, quando reproduzidos, são considerados alguns dos estressores naturais mais influentes durante o desenvolvimento (Ignácio *et al.*, 2017).

Outro modelo estressor que compartilha semelhanças com as condições psicossociais na espécie humana é o isolamento social (IS) em roedores (Djordjevic *et al.*, 2010). O estresse induzido pelo IS não apenas desencadeia comportamentos associados à depressão e ansiedade em animais, mas também ocasiona modificações em diversas funções biológicas observadas no TDM. Essas alterações estão intrinsecamente relacionadas a mecanismos funcionais e estruturais que influenciam negativamente a plasticidade neuronal, especialmente nas regiões cerebrais límbicas (Adzic *et al.*, 2009; Djordjevic *et al.*, 2010).

A fisiopatologia do TDM é caracterizada por ser de natureza multifatorial e complexa, envolvendo interações entre fatores genéticos, neuroquímicos, hormonais e ambientais. A

compreensão exata dos mecanismos subjacentes à depressão permanece em constante aprimoramento, mas inúmeras pesquisas sugerem que alterações biológicas e neuroquímicas desempenham um papel crucial nesse transtorno (Kennis *et al.*, 2020).

Diversas hipóteses são propostas para explicar a fisiopatologia do TDM. A primeira teoria com evidência substancial sobre a neurobiologia da depressão considerou o sistema monoaminérgico como um fator crucial na manifestação dos sintomas depressivos. Essa teoria emergiu na década de 1950 após a observação de que a reserpina, um medicamento anti-hipertensivo, apresentava alguns sintomas adversos característicos da depressão (Freis, 1954). De acordo com essa hipótese, a diminuição na disponibilidade ou atividade dessas monoaminas está associada a uma diminuição da neurotransmissão e possui relação com sintomas característicos da depressão, como humor deprimido, anedonia, fadiga e alterações cognitivas. Essa hipótese tornou-se robusta com o avanço dos medicamentos antidepressivos que agem aumentando os níveis de monoaminas no sistema nervoso central, a exemplo dos antidepressivos tricíclicos, inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) e inibidores da monoaminoxidase (iMAO) (Pereira; Hiroaki-Sato, 2018).

A desregulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal (HPA) pelo estresse é um fator crítico na patogênese da depressão. O eixo HPA é regulado negativamente pelo cortisol, que inibe a liberação de CRH no hipotálamo e ACTH na glândula pituitária por meio de um mecanismo de feedback negativo. No entanto, em pacientes com TDM, essa regulação é frequentemente comprometida. Mesmo com níveis elevados de cortisol, o sistema de feedback negativo não responde adequadamente, resultando em uma hiperatividade persistente do eixo HPA (Keller *et al.*, 2017).

Essa disfunção do eixo HPA está intimamente ligada a alterações nos neurotransmissores, como serotonina, noradrenalina, dopamina e glutamato, que são cruciais para a modulação do eixo HPA. Desregulações nesses neurotransmissores, comumente observadas na depressão, podem exacerbar a disfunção do eixo HPA. Além disso, a desregulação do eixo HPA pode contribuir para o desenvolvimento de inflamação e neuroinflamação, que desempenham papéis significativos na depleção da serotonina cerebral e na modulação do eixo HPA (Marin *et al.*, 2011).

Evidências clínicas e pré-clínicas sugerem que a neuroinflamação é um fator importante na depleção da serotonina e na desregulação do eixo HPA. Condições inflamatórias crônicas aumentam os marcadores circulantes de inflamação, que podem atravessar a barreira hematoencefálica e ativar a microglia, exacerbando a neuroinflamação e contribuindo para o quadro depressivo (Troubat *et al.*, 2021).

A ideia de que as citocinas desempenham um papel na depressão foi inicialmente proposta por Smith na forma da "teoria dos macrófagos da depressão", e posteriormente estudada por Maes no início da década de 1990. De acordo com essa hipótese, a ativação dos macrófagos leva à produção de citocinas pró-inflamatórias que podem afetar o funcionamento do cérebro e contribuir para o desenvolvimento dos sintomas depressivos. Isso sugere uma interação entre o sistema imunológico e o sistema nervoso na etiologia da depressão, destacando a importância da inflamação como um possível mecanismo subjacente ao TDM (Maes, 2011; Smith, 1991).

Entre as substâncias pró inflamatórias, as citocinas mais estudadas e discutidas em relação à depressão, destacam-se a interleucina-1 beta (IL-1 β), o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a interleucina-6 (IL-6) e a interleucina-10 (IL-10). Pacientes com humor deprimido têm níveis elevados de IL-1 β , IL-6 e TNF- α , que desempenham um papel multifuncional no TDM (Miller; Maletic; Raison, 2009). A IL-6 pode mediar a comunicação entre o sistema imunológico e o sistema nervoso central, afetando os mecanismos neurobiológicos do transtorno. Por outro lado, a IL-10 é uma citocina anti-inflamatória que visa modular a resposta imunológica. Pacientes com depressão podem apresentar redução nos níveis de IL-10, o que pode contribuir para a persistência da inflamação e a gravidade dos sintomas depressivos (Dantzer *et al.*, 2008).

3.2 IMPACTO DO ESTRESSE OXIDATIVO NO TDM

O estresse oxidativo resulta de um desequilíbrio entre a produção de compostos oxidantes e a capacidade dos sistemas antioxidantes em neutralizá-los. Radicais livres e outras espécies reativas são produzidos durante o metabolismo do oxigênio, com as mitocôndrias, através da cadeia respiratória, sendo a principal fonte desses radicais. Os sistemas antioxidantes têm a função de mitigar e minimizar os danos causados por esses radicais livres e outras espécies reativas (Sies, 2015).

No contexto do TDM, o estresse oxidativo é considerado um fator significativo na patogênese da doença. Primeiramente, o estresse oxidativo pode induzir danos diretos às células neuronais, resultando na diminuição dos fatores neurotróficos essenciais, como o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). O BDNF é fundamental para a plasticidade neuronal e a adaptação ao estresse, e sua redução tem sido associada a alterações negativas no humor e na função cognitiva (Zhou *et al.*, 2013; Correia; Cardoso; Vale, 2023).

Pacientes com TDM frequentemente apresentam níveis elevados de espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs), como peróxido e óxido nítrico (NO) (Maes *et al.*, 2011). Além disso, observa-se uma redução na atividade da glutathiona peroxidase cerebral (GSH-Px), uma enzima crucial na defesa antioxidante (Gawryluk *et al.*, 2011). Esses radicais livres causam modificações nas macromoléculas celulares, incluindo proteínas, lipídios e DNA, prejudicando a integridade celular e a função neuronal (Birben *et al.*, 2012). O cérebro, devido à sua alta demanda de oxigênio e à produção intrínseca de radicais livres, é particularmente suscetível ao estresse oxidativo (Cobley; Fiorello; Bailey, 2018).

Intervenções que reduzem as citocinas pró-inflamatórias e a produção de EROs/ERNs, ou que aumentem as defesas antioxidantes, podem oferecer estratégias terapêuticas eficazes para o tratamento do TDM (Lee *et al.*, 2013). Em condições normais, a produção de EROs é balanceada por sistemas antioxidantes intra e extracelulares. No entanto, quando há um excesso de EROs, que supera a capacidade antioxidante do organismo, ocorre o estresse oxidativo. As EROs são intermediários altamente reativos baseados em oxigênio, e o equilíbrio entre a produção e a eliminação dessas espécies é crucial para a homeostase celular (Birben *et al.*, 2012).

O tratamento com antidepressivos tem mostrado melhorar o estresse oxidativo, sugerindo que esses medicamentos podem ter um efeito benéfico além de suas ações primárias sobre o sistema de neurotransmissão (Réus *et al.*, 2015). A progressão do TDM, como a cronicidade da doença e a resistência aos tratamentos, tem sido associada a marcadores neurais de avanço, incluindo aumento do estresse oxidativo, diminuição dos antioxidantes e danos ao DNA/RNA relacionados ao estresse oxidativo (Czarny *et al.*, 2017; Sowa-Kućma *et al.*, 2018; Talarowska *et al.*, 2014).

Além dos danos diretos às células, o estresse oxidativo também pode desencadear uma resposta inflamatória crônica. Marcadores como TBARS (Malondialdeído) e Mieloperoxidase (MPO) são frequentemente utilizados para avaliar o estresse oxidativo e a inflamação em indivíduos com TDM. O Malondialdeído (MDA) é um produto final da peroxidação lipídica, um processo em que lipídios nas membranas celulares são danificados por radicais livres. A quantificação de TBARS, que inclui o MDA, é uma medida comum do estresse oxidativo e dos danos aos lipídios celulares. A elevação dos níveis de TBARS tem sido associada a várias doenças, incluindo o TDM. Em pacientes com TDM, os níveis elevados de TBARS indicam uma maior peroxidação lipídica, refletindo um aumento do estresse oxidativo e dos danos celulares (Stefanescu; Ciobica, 2012).

A Mieloperoxidase é uma enzima produzida principalmente por neutrófilos e desempenha um papel crucial na resposta inflamatória. Ela catalisa a formação de ácido hipocloroso a partir de peróxido de hidrogênio e cloreto, um potente agente oxidante que contribui para o estresse oxidativo e o dano tecidual. A atividade elevada de MPO é frequentemente associada à inflamação e ao estresse oxidativo crônico, ambos implicados na patogênese do TDM. Estudos apontam que pacientes com TDM apresentam níveis elevados de MPO, o que sugere um papel importante da inflamação e do estresse oxidativo na progressão do transtorno (Vacarino *et al.*, 2008).

No contexto do TDM, o estresse oxidativo e a inflamação crônica estão interligados e podem exacerbar os sintomas da depressão. O aumento dos níveis de TBARS e MPO reflete um estado de oxidação celular e uma resposta inflamatória exacerbada, que pode contribuir para a disfunção neuronal e a persistência dos sintomas depressivos (Grolli *et al.*, 2023; Correia; Cardoso; Vale, 2023).

3.3 O PAPEL DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE NA FISIOPATOLOGIA DO TDM

A descoberta do sistema endocanabinoide (SEC) representa um marco significativo na compreensão dos complexos mecanismos de regulação fisiológica no corpo humano. Este sistema foi identificado inicialmente na década de 1960, quando os pesquisadores Raphael Mechoulam e Yechiel Gaoni isolaram e caracterizaram o composto psicoativo principal da *Cannabis sativa*, o delta-9-tetraidrocanabinol (THC). A identificação posterior de receptores específicos para o THC no cérebro humano sugeriu a existência de um sistema de sinalização endógeno (Bab, 2011; Devane *et al.*, 1992).

Composto por dois principais tipos de receptores de canabinoides, conhecidos como CB1 e CB2 (Figura 1), além de ligantes endógenos, os endocanabinoides, esse sistema exerce um impacto significativo em processos como regulação do humor, controle do sono, modulação do apetite e resposta ao estresse (Lowe *et al.*, 2021). Os receptores CB1 e CB2, distribuídos amplamente em várias regiões encefálicas e em tecidos periféricos, atuam como mediadores nas respostas biológicas desencadeadas pelos endocanabinoides.

Entre esses ligantes endógenos, a anandamida (AEA) e o 2-araquidonilglicerol (2-AG) são os mais estudados, destacando-se por sua influência em processos fisiológicos e neuroquímicos (Joshi; Onaivi, 2019). A anandamida, frequentemente referida como a "molécula da felicidade", e o 2-AG demonstraram desempenhar papéis cruciais na homeostase e na regulação adaptativa do organismo em face de estímulos ambientais. Sua

interação com os receptores CB1 e CB2 desencadeia uma cascata de eventos intracelulares que modulam a liberação de neurotransmissores e a atividade neuronal, afetando assim o equilíbrio de sistemas fundamentais (SCHERMA *et al.*, 2019).

Dado que a exposição repetida ao estresse é um fator contribuinte para o desencadeamento do TDM, um grupo de pesquisas investigou a hipótese de que os endocanabinoides circulantes estão desregulados nesse contexto. Em dois estudos, foram encontradas concentrações séricas significativamente reduzidas de 2-AG em mulheres deprimidas em comparação com controles correspondentes (Hill *et al.*, 2009). Além disso, observou-se uma correlação entre as concentrações de 2-AG e a duração do episódio depressivo, indicando que períodos mais prolongados de depressão estavam associados a menores concentrações de 2-AG (Hill *et al.*, 2008).

Evidências farmacológicas, bioquímicas e genéticas apoiam a hipótese de que o SEC hipotativo contribui para a depressão (Christensen *et al.*, 2007). Alterações na expressão e na atividade dos receptores CB1 foram observadas em regiões do encéfalo associadas ao processamento emocional, como o córtex pré-frontal e o hipocampo (Poleszak *et al.*, 2018). O SEC também exerce efeitos moduladores no sistema de neurotransmissores, incluindo a serotonina, a noradrenalina e o glutamato, que estão envolvidos na fisiopatologia da depressão. A ativação dos receptores CB1 pode influenciar a liberação desses neurotransmissores e modular a plasticidade sináptica, o que pode afetar positivamente o humor e reduzir os sintomas depressivos (Sales *et al.*, 2018).

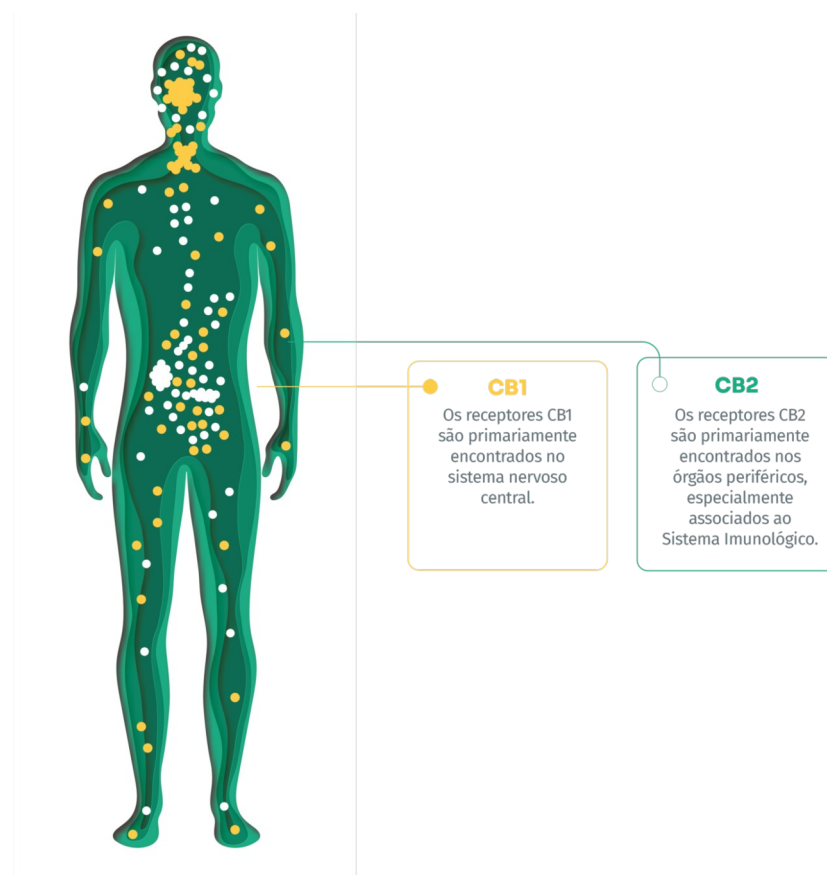
Os fitocanabinoides, como o THC e o CBD, interagem com o SEC de maneiras distintas. O THC atua predominantemente como um agonista parcial dos receptores CB1, influenciando a neurotransmissão e modulando o humor, a percepção sensorial e a função cognitiva. O CBD, por outro lado, possui uma afinidade muito baixa pelos receptores canabinoides clássicos, mas exerce seus efeitos por meio de múltiplos mecanismos, incluindo a modulação indireta dos receptores CB1 e CB2, a inibição da recaptação de anandamida e a ativação de receptores não canabinoides, como os receptores de serotonina 5-HT_{1A} e os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma gama (PPAR γ). Essas interações complexas permitem que o CBD exerça efeitos ansiolíticos, anti-inflamatórios e neuroprotetores sem os efeitos psicoativos associados ao THC (Peng *et al.*, 2022; Zou; Kumar, 2018; Lowe *et al.*, 2018).

Devido ao papel do SEC na regulação do humor e à sua disfunção no TDM, algumas pesquisas têm explorado o uso de canabinoides como tratamento potencial para essa condição. O receptor CB₂, em particular, tem atraído atenção significativa devido à sua influência na

resposta imune e na sua potencial contribuição para condições patológicas como a depressão. Estudos recentes destacam que o receptor CB2 está envolvido na regulação da resposta inflamatória, influenciando a liberação de citocinas e modulando a atividade das células imunológicas, como macrófagos e linfócitos (Hill *et al.*, 2009).

Os receptores CB2 são amplamente expressos em células mononucleares do sangue periférico (PBMCs), incluindo monócitos e linfócitos T e B. Estudos pré-clínicos e clínicos têm mostrado resultados promissores, sugerindo que a ativação dos receptores CB2 pode inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina-1 beta (IL-1 β), e estimular a secreção de citocinas anti-inflamatórias, como a interleucina-10 (IL-10). Esses efeitos são importantes em contextos patológicos onde a regulação da resposta inflamatória é crítica (Hill *et al.*, 2009). Portanto, a compreensão dos mecanismos de ação do SEC, particularmente dos receptores CB2, na regulação do humor, da resposta ao estresse e da inflamação, pode fornecer novas abordagens terapêuticas para o tratamento da depressão.

Figura 1 - Sistema endocanabinoide: distribuição dos receptores CB1 e CB2



Fonte: CBfarma (2021).

3.4 SISTEMA PURINÉRGICO NA REGULAÇÃO IMUNOLÓGICA E INFLAMATÓRIA

O sistema purinérgico, fundamental para a sinalização mediada por nucleotídeos de purina, desempenha um papel crucial em diversas funções biológicas. A regulação desta sinalização é particularmente relevante para a função das células mononucleares do sangue periférico (PBMCs), incluindo linfócitos T, linfócitos B e monócitos, que são componentes centrais da resposta imune e da regulação inflamatória. A regulação dessas sinalizações é vital para a homeostase do organismo, e a hidrólise dos componentes do sistema purinérgico constitui um processo bioquímico central nesse contexto (Di Virgilio; Vuerich, 2015; Burnstock; Boeynaems, 2014).

A adenosina trifosfato (ATP) e a adenosina difosfato (ADP), nucleotídeos fundamentais no sistema purinérgico, são alvos da ação de enzimas específicas chamadas ectonucleotidases. Essas enzimas catalisam a hidrólise dos fosfatos desses nucleotídeos, resultando na liberação de adenosina, um neuromodulador e imunomodulador essencial no sistema purinérgico. A hidrólise de ATP e ADP ocorre tanto na membrana celular quanto em compartimentos extracelulares, onde ectonucleotidases como NTPDase (CD39) e 5'-nucleotidase (CD73) desempenham papéis críticos. A CD39 converte ATP em ADP, e a CD73 converte ADP em adenosina. Essas reações enzimáticas regulam a concentração de adenosina disponível para interagir com os receptores purinérgicos, influenciando a sinalização intracelular e extracelular (Burnstock, 2018;).

A adenosina, resultante da hidrólise de nucleotídeos como ATP, atua como um importante modulador fisiológico, exercendo efeitos inibitórios sobre a resposta inflamatória e a atividade de PBMCs. Ao interagir com receptores como A_{2A} e A_{2B}, a adenosina inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias e reduz a atividade de linfócitos T e macrófagos, desempenhando um papel anti-inflamatório. Além disso, os receptores P_{2X7}, sensíveis ao ATP, estão associados à promoção de respostas inflamatórias e apoptose celular. A regulação das concentrações de nucleotídeos purinérgicos e a atividade das ectonucleotidases têm implicações diretas na modulação da resposta imune

das PBMCs e, por conseguinte, na manutenção do equilíbrio inflamatório (Giuliani; Sarti; Di Virgilio, 2021).

Além de suas funções imunomoduladoras, a adenosina influencia a neurotransmissão através de sua ligação a receptores purinérgicos, classificados em duas principais famílias: P1 e P2. Os receptores P1, incluindo os subtipos A1 e A2A, são acoplados a proteínas G e estão envolvidos na modulação da neurotransmissão inibitória, afetando processos como o ritmo cardíaco e a condução nervosa. Os receptores P2, subdivididos em P2X (canal iônico) e P2Y (receptor acoplado a proteína G), desempenham papéis distintos na comunicação neuronal, mediando respostas rápidas e lentas, respectivamente (Zarrinmayeh; Territo, 2020).

Os receptores P2, sensíveis a nucleotídeos como ATP e ADP, emergem como peças-chave na compreensão do TDM. Os receptores P2X e P2Y desempenham um papel crucial na modulação da neurotransmissão e da plasticidade sináptica, processos diretamente relacionados aos circuitos cerebrais associados ao controle do humor (Diezmos; Bertrand, Liu, 2016). A relação entre o sistema purinérgico e TDM também está associada a eventos neuroinflamatórios. A liberação de ATP durante processos inflamatórios pode desencadear respostas exacerbadas, amplificando os sintomas depressivos, evidenciando uma interconexão crítica entre a sinalização purinérgica e o estado inflamatório cerebral (Morandini; Savio; Coutinho-Silva, 2014).

A análise das concentrações dos mediadores purinérgicos, incluindo seus receptores e ectonucleotidases, pode fornecer informações cruciais sobre as respostas inflamatórias descompensadas em condições patológicas, como no TDM que envolve aumento do estresse fisiológico (Diezmos; Bertrand, Liu, 2016). Nesse contexto, há uma correlação entre a liberação excessiva de ATP através de canais celulares e a ativação do receptor purinérgico P2X7, um receptor ionotrópico que, quando ativado, está associado à apoptose celular (Sluyter, 2017). Em tais situações, a elevação dos níveis de ectonucleotidases parece ser benéfica, pois a degradação do ATP, que é liberado em excesso durante a inflamação, contribui para a redução da ativação dos receptores P2X7

(Morandini; Savio; Coutinho-Silva, 2014). Em resumo, as concentrações dos componentes do sistema purinérgico influenciam as respostas inflamatórias tanto em condições fisiológicas quanto patológicas no organismo de mamíferos.

A compreensão aprofundada dessas interações fornece subsídios robustos para intervenções terapêuticas inovadoras, como o uso medicinal de *Cannabis sativa*. Pesquisas têm explorado como ocorrem as interações entre o sistema purinérgico e os compostos presentes na planta, como o CBD. Os resultados indicam que o CBD inibe a captação de adenosina, sugerindo que esse mecanismo pode induzir um agonismo indireto nos receptores adenosinérgicos (Carriba *et al.*, 2007; McPartland *et al.*, 2015). Esses receptores estão expressos em diversos tipos celulares, participando de inúmeros processos fisiológicos e patológicos, além de desempenharem um papel regulatório nos processos inflamatórios (Guerrero, 2018). A adenosina e seus agonistas apresentam atividade anti-inflamatória *in vivo* (Noji *et al.*, 2002). Assim, a liberação de adenosina é considerada um dos mecanismos de imunossupressão durante a inflamação, e agonistas dos receptores de adenosina reduzem os níveis de TNF- α (Haskó, 2004; Carrier; Auchampach; Hillard, 2006; Ribeiro *et al.*, 2012). Corroborando essa hipótese, os efeitos benéficos do CBD em modelos animais de inflamação são revertidos pela administração de antagonistas dos receptores de adenosina A2A (McPartland *et al.*, 2015).

O CBD, ao ativar os receptores de adenosina A2A, demonstrou ser capaz de reduzir os níveis da molécula de adesão celular vascular (VCAM-1) em células endoteliais de camundongos, promovendo um mecanismo para o controle de doenças neuroinflamatórias (Mecha *et al.*, 2013). Além disso, observou-se que a ativação dos receptores A2A pode prevenir as consequências da reperfusão e aliviar o estresse oxidativo nas mitocôndrias (Xu *et al.*, 2017). Esses achados sugerem que o CBD exerce efeitos protetores contra o estresse oxidativo por meio da ativação dos receptores A2A. Estudos adicionais evidenciaram que os receptores A2A podem formar heterômeros com os receptores CB1 em neurônios CA1 e no hipocampo de camundongos (Aso *et al.*, 2019).

O CBD tem a capacidade de modular a atividade dos heterômeros de receptores, afetando a ativação de dois grupos distintos de receptores que desempenham papéis críticos na regulação do equilíbrio redox e na resposta inflamatória. Evidências destacam a importância da sinalização purinérgica nas PBMCs para a compreensão dos distúrbios inflamatórios. A interação entre nucleotídeos purinérgicos e seus receptores nas PBMCs pode ter um impacto significativo na patogênese do TDM e em outras condições inflamatórias (Burnstock, 2017).

A regulação desses mecanismos é fundamental para o avanço de novas estratégias terapêuticas. O CBD exerce influência significativa sobre a resposta inflamatória e a homeostase imunológica por meio da modulação dos receptores de adenosina. Sua interação com esses receptores pode alterar a funcionalidade das PBMCs, ajustando a sinalização purinérgica e, conseqüentemente, impactando o manejo de processos inflamatórios e condições associadas, como o TDM. A investigação detalhada desses mecanismos é indispensável para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas inovadoras e eficazes que envolvem compostos da *C. sativa*, como o CBD.

3.5 POTENCIAL TERAPÊUTICO DA *Cannabis Sativa* NO TDM

O uso de plantas de forma terapêutica já vem da antiguidade, estando intimamente ligado à nossa própria evolução. Para usar plantas como remédios, os antigos fizeram uso de suas próprias experiências e observação do uso de plantas por animais (Oliveira *et al.*, 2006). O uso medicinal da *C. sativa* remonta a milhares de anos, com registros históricos de sua aplicação em diversas condições de saúde, desde a antiguidade até os tempos modernos (ElSohly *et al.*, 2016; ElSohly; Slade, 2005).

A variabilidade genética da *C. sativa* é vasta, a espécie apresenta mais de 540 compostos naturais, incluindo mais de 100 compostos identificados como fitocanabinoides, devido às estruturas químicas compartilhadas (Allsop *et al.*, 2014; ElSohly *et al.*, 2016). Dentre eles, destacam-se o THC e o canabidiol (CBD). O THC é o componente psicotomimético predominante, enquanto o CBD é o principal composto não

psicoativo e tem sido objeto de estudos devido às suas potenciais propriedades terapêuticas, incluindo efeitos ansiolíticos e antidepressivos (Amin; Ali, 2019).

Uma temática a ser discutida é sobre as proporções dos canabinoides indicadas a cada tipo de patologia, consideradas efetivas quando conseguem amenizar os principais sintomas. As proporções entre os fitocannabinoides contrastam entre o uso medicinal e o recreativo. Variedades de *Cannabis* com maiores proporções de THC são usadas de forma recreativa, enquanto no sentido oposto tem se optado por proporções mais equilibradas de THC e CBD para uso medicinal (Lopes *et al.*, 2020).

Estudos que avaliaram os efeitos da combinação de THC e CBD sobre os sintomas depressivos ainda são escassos (Cuttler; Spradlin; McLaughlin, 2018), embora os efeitos desses fitocannabinoides administrados de forma isolada, especialmente o CBD, já estejam sendo avaliados há mais tempo e com resultados promissores (Crippa *et al.*, 2005). Com o crescente interesse no uso da espécie *C. sativa* como tratamento adjuvante na depressão, o óleo de *C. sativa* de espectro completo pode ser considerado uma opção terapêutica. Ao usar óleos ou extratos da planta, é essencial buscar formulações que preservem a sinergia entre os diferentes componentes para maximizar os benefícios terapêuticos (Legare; Raup-Konsavage; Vrana, 2022).

A presença de vários canabinoides e terpenos pode levar a uma interação sinérgica, conhecida como "efeito entourage", em que os componentes trabalham em conjunto para produzir efeitos mais pronunciados. O efeito entourage destaca a importância de considerar a composição química completa da *C. sativa*, em vez de focar exclusivamente em um único composto, como o THC ou o CBD (Ferber *et al.*, 2020).

Embora os mecanismos biológicos alvos dos compostos ativos da espécie para uma possível ação terapêutica antidepressiva ainda não estejam elucidados, alguns estudos apontam para uma ação agonista parcial do CBD no receptor 5-HT_{1A} como um mecanismo subjacente ao potencial efeito terapêutico (Wieckiewicz *et al.*, 2022; Zanelati *et al.*, 2010). Além do receptor 5-HT_{1A}, estudos vêm mostrando que o CBD tem efeito neuroprotetor, através de vários mecanismos fisiológicos, tais como: atuação no balanço

oxidativo, redução de citocinas inflamatórias e ativação de células microgлияis. O CBD parece também ativar o receptor PPAR γ . A ativação do PPAR γ inibe a transcrição de genes pró inflamatórios e está associada com proteção neuronal através de vários mecanismos fisiológicos (Campos *et al.*, 2016).

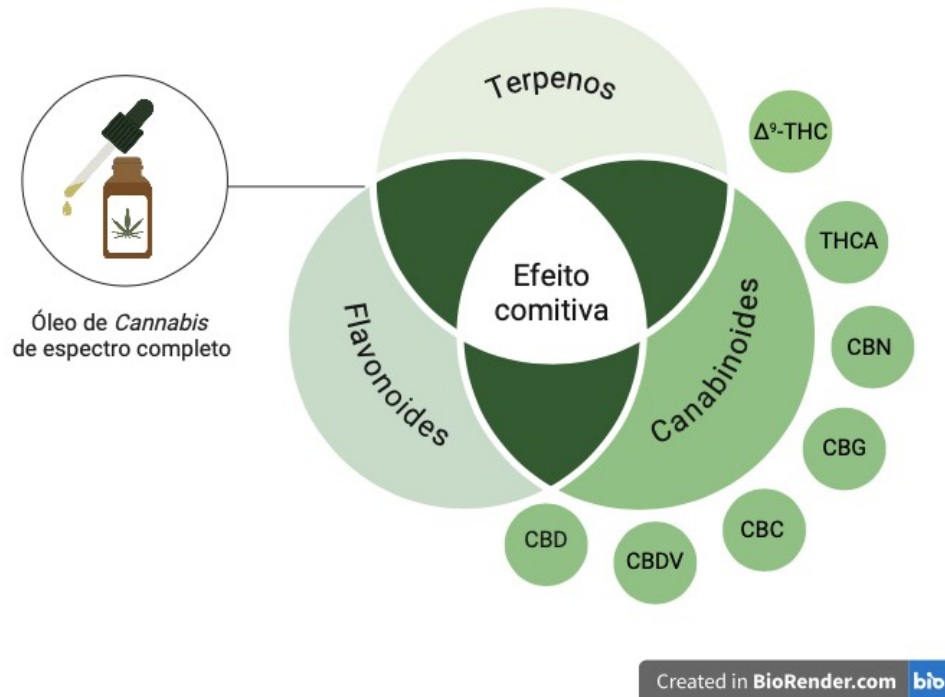
O efeito tipo antidepressivo do CBD em camundongos foi associado com aumentada expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) no córtex pré frontal e hipocampo de camundongos, e parece ter envolvido a via de sinalização BDNF/TrkB/mTOR, exercendo assim um efeito na plasticidade neuronal e neuroproteção (Sales *et al.*, 2019). Estudos também mostram que uma combinação de CBD com THC parece mais eficaz na indução de diversos efeitos neuroprotetores (Campos *et al.*, 2016). Ainda são necessárias mais pesquisas que possam avaliar os efeitos da combinação de THC e CBD sobre os sintomas depressivos (Cutler; Spradlin; McLaughlin, 2018), mesmo que os efeitos desses fitocanabinoides administrados de forma isolada, especialmente o CBD, já estejam sendo avaliados há mais tempo e com resultados promissores (Crippa *et al.*, 2005).

De forma geral, os estudos sobre a *C. sativa* sugerem sua relevância como estratégia farmacológica terapêutica para o TDM, bem como sua função em mecanismos biológicos subjacentes. A literatura científica, até o momento, não possui informação sobre o efeito do óleo de espectro completo da espécie *C. sativa*, em relação a mecanismos do SEC, e as pesquisas publicadas até o momento destacam a importância de novas investigações para preencher as lacunas de conhecimento e responder a questões fundamentais que permanecem em aberto.

As estratégias propostas neste estudo têm como objetivo investigar o efeito do óleo de espectro completo, com foco na interação sinérgica de seus principais constituintes (Figura 3). O estudo busca compreender como o efeito entourage, resultante da combinação desses canabinoides com outros compostos presentes no óleo, como terpenos e flavonoides, contribui para a eficácia terapêutica. Os resultados obtidos poderão contribuir significativamente para o entendimento da fisiopatologia do TDM e para o

desenvolvimento de tratamentos mais efetivos destinados aos pacientes com transtornos depressivos graves e resistentes aos tratamentos convencionais disponíveis.

Figura 3 - Efeito comitiva



Fonte: Elaboração Própria.

4 METODOLOGIA

Este estudo adota uma metodologia experimental de natureza quantitativa analítica. Foram selecionadas variáveis específicas que foram controladas rigorosamente para observar seus efeitos sobre o objeto de estudo. As condições experimentais foram predefinidas, e as variáveis foram quantificadas em termos de dados numéricos, sendo posteriormente classificadas e analisadas utilizando métodos estatísticos (Fontelles *et al.*, 2009).

4.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto de pesquisa intitulado “Efeito do estresse na infância sobre comportamentos depressivos na vida adulta: potencial estratégia terapêutica do óleo de *Cannabis sativa* de espectro completo” foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), sob o protocolo nº 2911170423 (Anexo A).

O emprego de modelos animais durante a pesquisa teve como único propósito o avanço do conhecimento científico. O uso do número mínimo de animais necessário foi adotado para garantir a obtenção de resultados conclusivos, minimizando, assim, o sacrifício desnecessário. Foram dedicadas todas as atenções ao bem-estar dos animais, proporcionando-lhes condições adequadas de alojamento, alimentação e higiene.

Os pesquisadores passaram por treinamento específico para garantir o mínimo de desconforto durante a manipulação dos ratos. Em consonância com esses princípios, os testes foram realizados apenas após a conclusão do treinamento, visando evitar qualquer forma de sofrimento desnecessário. Para a eutanásia dos animais, foi adotado o método de decapitação, justificado pela sua não interferência nos resultados bioquímicos essenciais para a pesquisa e pela capacidade de extrair estruturas cerebrais sem afetar possíveis alterações biológicas. Este método foi escolhido considerando que outras técnicas de eutanásia poderiam comprometer os resultados comportamentais.

4.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados quarenta ratos machos da linhagem Wistar, provenientes do Biotério Setorial da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Chapecó - BIOCHUFFS. O experimento com o uso de animais foi realizado nas instalações do BIOCHUFFS, o qual possui uma infraestrutura de criação e experimentação registrada no Cadastro de Instituições de Uso Científico de Animais (CIUCA), com o CIAEP/CONCEA nº 02.0118.2019 e seguiu rigorosamente as orientações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Foram utilizados ratos Wistar machos. Os animais foram acondicionados em grupos de cinco por caixa, exceto para os grupos que passaram pelo protocolo de isolamento social (IS) por 30 dias, com ciclo claro/escuro de 12 horas (07:00 às 19:00, com luz iniciando às 07:00), comida e água ad libitum. O ambiente foi mantido à temperatura de $23 \pm 1^\circ\text{C}$. Os protocolos experimentais foram realizados de acordo com os princípios éticos de experimentação animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Todos os procedimentos experimentais foram realizados somente após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFFS.

4.3 TRATAMENTOS FARMACOLÓGICOS

4.3.1 Óleo de *Cannabis sativa* de espectro completo

O óleo de *C. sativa* de espectro completo foi produzido e analisado pela Associação Alternativa de Apoio à Cannabis Medicinal do Brasil - AAACMB (Imbituba - SC) inscrita no Cadastro da Pessoa Jurídica (CNPJ) sob o número 45.458.633/0001-86. Apresentado em forma líquida, contendo CBD e THC em uma proporção de 20:1, respectivamente. O certificado de análise foi fornecido como suporte informativo, revelando que o óleo possui 81,31% de canabinoides totais. O CBD é o principal canabinoide, representando 71,76%, seguido pelo THC com 3,61%, enquanto outros canabinoides totalizam 5,94%. A análise foi realizada utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), um método cromatográfico reconhecido por sua precisão na quantificação de resinas e óleos, conforme descrito por Carvalho *et al.*, 2020. Estudos recentes demonstraram efeitos significativos no comportamento do tipo anedônico, além de diminuir o comportamento do tipo depressivo com a administração oral repetida do óleo de *C. sativa* de espectro completo na dose de 1 mg/kg (Ferrarini *et al.*, 2022). Considerando as evidências e limitações para obtenção da substância e tratamento em diferentes concentrações, a dose do óleo de *C. sativa* de espectro completo foi realizada de acordo com modelos de estresse crônico semelhantes a estudos anteriores.

4.3.2 Escitalopram

No grupo de controle positivo, o escitalopram foi administrado como tratamento. Em um modelo de estresse crônico leve de depressão em ratos, o escitalopram demonstrou eficácia, destacando-se por iniciar a ação mais rapidamente em comparação com outros antidepressivos disponíveis (Montgomery *et al.*, 2001). A dose de escitalopram foi determinada conforme descrito na literatura científica (Bertollo *et al.*, 2024). O medicamento foi adquirido na forma líquida, em frascos de 15 mL, com uma concentração de 20 mg/mL do princípio ativo, produzido pela Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A., localizada em Guarulhos, estado de São Paulo, Brasil.

4.4 PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL

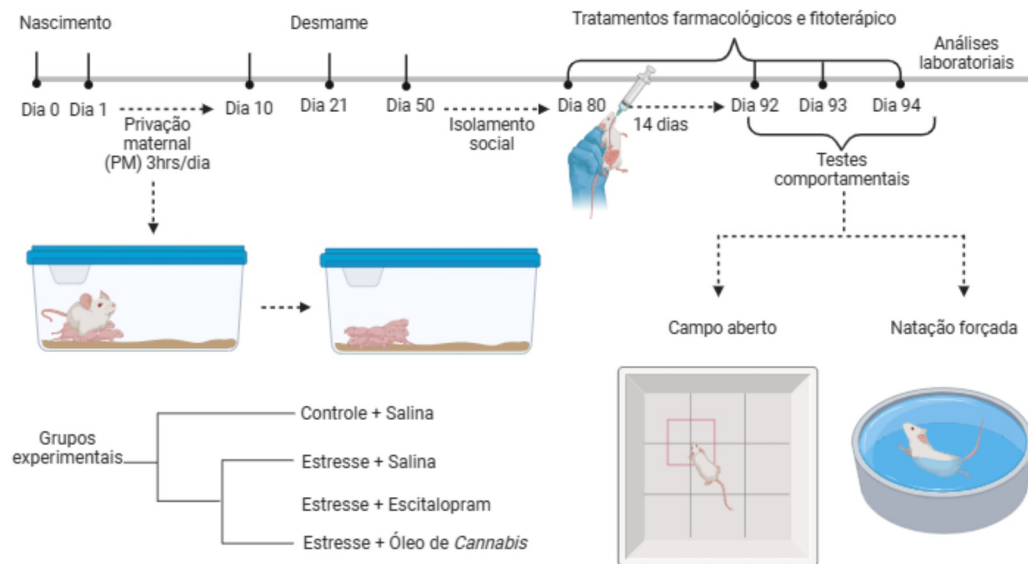
A PM envolveu a remoção diária dos filhotes da gaiola da mãe por 3 horas nos primeiros 10 dias após o nascimento. Durante este período, os filhotes foram transferidos para uma gaiola separada e posteriormente reintegrados à gaiola compartilhada com a mãe após o período de privação. Os animais que não passaram por essa privação constituíram o grupo controle sem estresse, permanecendo sem interrupções na gaiola original com a mãe. Ao completarem 21 dias de vida, tanto os filhotes privados quanto os não privados foram desmamados e transferidos permanentemente para outras gaiolas, mantidos em grupos de cinco animais por gaiola e separados por sexo (Abeleira; Réus; Quevedo, 2013). No dia 50, iniciou-se o protocolo de IS, no qual cada animal foi alojado individualmente por um período de 30 dias (DJORDJEVIC *et al.*, 2012). Após o período de isolamento, foi iniciado o tratamento farmacológico específico durante os 14 dias subsequentes, conforme o grupo experimental designado. Os animais que não foram isolados foram mantidos em grupos de cinco por gaiola durante todo o experimento. O detalhamento do desenho experimental foi descrito na figura 4.

4.5 PROTOCOLO DE TRATAMENTO

Os quarenta animais (N= 40) foram divididos em 4 grupos (N= 10 cada grupo). O grupo controle sem estresse foi tratado com veículo salina (soro fisiológico 0,9%). O grupo estresse + tratamento controle também foi tratado com salina. O grupo estresse + tratamento

controle positivo foi tratado com escitalopram 10 mg/kg. Enquanto que o grupo estresse + óleo de espectro completo de *Cannabis sativa* recebeu 1 mg/kg.

Figura 4 - Desenho experimental



Fonte: Elaboração Própria.

4.6 TESTES COMPORTAMENTAIS

Todos os testes comportamentais foram conduzidos por um observador cego aos grupos experimentais, durante o período da manhã (8:00 - 12:00) e foram iniciados 60 minutos após cada tratamento.

4.6.1 Teste de campo aberto

A avaliação da atividade locomotora dos animais foi conduzida no teste de campo aberto, utilizando uma caixa de dimensões 40 x 60 cm cercada por três paredes de madeira, uma parede frontal de vidro e assoalho dividido em 9 retângulos iguais por linhas pretas. Cada rato foi posicionado no centro da caixa e pode explorar livremente o ambiente por 5 minutos. Durante este período, foi registrado o número de cruzamentos das linhas pretas e a frequência com que o rato se ergueu nas patas traseiras para explorar o ambiente (levantamentos). O teste de campo aberto foi utilizado para avaliar a resposta exploratória e locomotora do animal frente às intervenções farmacológicas, fitoterápicas e estressoras (Vuralli *et al.*, 2019).

4.6.2 Teste de nado forçado

O teste de nado forçado (TNF), desenvolvido por Porsolt em 1977, é um protocolo comportamental amplamente usado para testar a eficácia de novos antidepressivos. Este teste envolve a colocação de roedores, geralmente ratos, em um cilindro de água do qual não podem escapar. Durante a primeira exposição ao teste, os animais nadam vigorosamente e tentam escalar as paredes do cilindro. Após essa fase inicial de esforço, os ratos entram em um estado de imobilidade, onde realizam apenas os movimentos necessários para manter a cabeça acima da água. Este comportamento de imobilidade é interpretado como um sinal de desespero comportamental, sugerindo que o animal reconhece a impossibilidade de escapar da situação estressante (Porsolt; Le Pichon; Jalfre, 1977). A eficácia dos antidepressivos é medida pela capacidade desses fármacos de reduzir o tempo de imobilidade. Antidepressivos eficazes tendem a diminuir significativamente a duração da imobilidade, indicando uma ação tipo antidepressiva. Além disso, o teste permite a comparação direta dos efeitos de diferentes compostos e tratamentos dentro de um ambiente controlado (Castagné; Porsolt; Moser, 2009). Para a realização do teste, cada animal foi colocado individualmente em um cilindro de água mantido a $23 \pm 2^\circ\text{C}$, com água suficiente para impedir que apoiassem as patas no fundo. O teste foi conduzido em dois dias: no 13º dia de tratamento, os ratos nadaram por 15 minutos como pré-teste, e no 14º dia, nadaram por 5 minutos. Foram avaliados parâmetros de imobilidade, como imobilidade completa ou movimento apenas para manter a cabeça fora da água sem intenção de escapar. Parâmetros de locomoção, como o tempo que os animais passaram nadando e escalando as paredes do cilindro na tentativa de escapar, também foram analisados.

4.7 COLETA DE SANGUE E TECIDOS

Após o último teste comportamental, os animais foram submetidos à eutanásia por decapitação. O sangue foi coletado do tronco do corpo do animal. As amostras de cada animal foram acondicionadas em eppendorfs individuais e armazenadas em ultra-freezer -80°C para posterior análise dos parâmetros bioquímicos.

4.8 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

4.8.1 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A quantificação dos níveis de TBARS nas amostras foi realizada conforme a metodologia de Jentsch (Jentsch *et al.*, 1996), que se destina a medir a formação de malondialdeído (MDA), um produto da peroxidação lipídica. Esse processo ocorre quando espécies reativas de oxigênio interagem com lipídios de membrana, levando a alterações na membrana, como permeabilidade comprometida, perda de seletividade e perturbação dos componentes da matriz extracelular. A peroxidação lipídica é avaliada pela reação entre o malondialdeído e o ácido tiobarbitúrico (ATB), formando um complexo de coloração rosada que pode ser quantificado com um espectrofotômetro a 532 nm (Choi *et al.*, 2012; Noh *et al.*, 2015). A curva padrão foi estabelecida usando uma solução de MDA a 0,03 mM. As amostras, compostas por plasma, foram analisadas em triplicata. Em cada tubo, foram pipetados 55 µL de água destilada, 100 µL de ácido ortofosfórico 1%, 25 µL de TBA 0,1 M e 20 µL da amostra. Após o preparo, as amostras foram incubadas por 45 minutos a 90°C e, posteriormente, medidas no espectrofotômetro de microplacas com absorvância a 532 nm. Para o cálculo dos resultados, as médias das absorvâncias foram multiplicadas pelo fator de correção (FC), divididas pelo volume da amostra e expressas em nmol de MDA/mL (Choi *et al.*, 2012; Noh *et al.*, 2015).

4.8.2 Mieloperoxidase (MPO)

Os parâmetros de mieloperoxidase (MPO) foram analisados no plasma. O plasma foi coletado em um tubo contendo heparina. O tubo passou por processo de centrifugação através de uma centrífuga modelo Sigma 3-16L durante 15 minutos a 3.500 rpm (rotações por minuto) para separação do sangue total. A MPO é uma heme peroxidase produzida por mediadores inflamatórios e liberada pelos leucócitos em locais de lesão. Reflete o nível de ativação de leucócitos e neutrófilos durante infecções ou estados oxidativos. Na presença de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), a MPO catalisa a reação de íons de cloreto com o H₂O₂, produzindo o ácido hipocloroso (HOCl), um potente oxidante no combate às bactérias, que compreende ERO com alta capacidade reativa para formação de oxigênio singleto e do radical hidroxil. Esta técnica foi realizada na presença de H₂O₂ como agente oxidante, no qual a MPO catalisou o acoplamento oxidativo de fenol e da aminoantipirina (AAP), produzindo um

produto de cor rosa, a quinoneimina, com uma absorvância que pode ser lida em 492 nm no espectrofotômetro (Choi *et al.*, 2012; Noh *et al.*, 2015). As leituras espectrofotométricas foram efetuadas em espectrofotômetro de microplacas Multiskan™ GO, da Thermo Fischer Scientific. Todas as amostras foram analisadas em duplicata. Na placa, pipetou-se 12 µL de amostra, 148 µL de 2,5 mM de AAP e 170 µL de H₂O₂ 1,7 mM. Em seguida, a placa foi incubada por 30 min a 37°C antes da leitura. Para o cálculo, multiplicou-se a média das absorvâncias pelo fator de correção (FC), tendo, por fim, resultados expressos em mM de quinoneimina formada em 30 minutos (Choi *et al.*, 2012; Noh *et al.*, 2015).

4.8.3 Enzimas do sistema purinérgico

4.8.3.1 Normalização das proteínas

Para realizar as análises do sistema purinérgico, a quantidade de proteínas nas amostras de linfócitos foi normalizada em concentrações de 0,1-0,2 mg/mL. Mediante diluição em solução salina para obter a concentração desejada. A quantificação de proteínas foi realizada utilizando a técnica de Bradford (Bradford *et al.*, 1976), que normaliza as proteínas através de uma curva padrão usando a correção do Comassie, com albumina bovina (0,1 mg/mL) como padrão de referência. Em cada poço, foram adicionados 250 µL de solução filtrada de Azul de Comassie e 5 µL da amostra. Para calcular a concentração de proteínas, utilizou-se a seguinte fórmula: $(\text{Absorbância da amostra} - \text{Absorbância do branco}) \times \text{FC} / 0,05$ (5 µL).

4.8.3.2 Avaliação das enzimas que hidrolisam nucleotídeos e nucleosídeo de adenina

As atividades das enzimas purinérgicas foram avaliadas utilizando amostras de células mononucleares do sangue periférico (PBMC) de ratos dos respectivos grupos experimentais. Para investigar as alterações nas atividades das enzimas do sistema purinérgico, foram analisadas as hidrólises de nucleotídeos como ATP e ADP (NTPDase1, CD39) e AMP (E-5'-nucleotidase, CD73). Inicialmente, as amostras de PBMCs foram ajustadas quanto à concentração proteica. Em seguida, 20 µL de cada amostra foi adicionada a misturas reacionais específicas para cada enzima e pré-incubadas a 37°C por 10 minutos. A reação enzimática foi iniciada com a adição dos substratos específicos: ATP e ADP para CD39 e AMP para CD73. Após 70 minutos de incubação a 37°C, as reações foram interrompidas pela

adição de ácido tricloroacético a 10%. O fosfato inorgânico liberado pela hidrólise dos nucleotídeos ATP, ADP e AMP foi quantificado utilizando o reagente colorimétrico verde malaquita. Para assegurar a precisão das medições, foi elaborada uma curva padrão com KH_2PO_4 (fosfato monopotássico) e controles foram realizados para corrigir qualquer hidrólise não enzimática. A absorbância das amostras foi medida a 630 nm, e as atividades específicas das enzimas foram expressas em nanomoles de fosfato inorgânico liberado por minuto por miligramas de proteína (nmol Pi/min/mg de proteína) (Lunkes *et al.*, 2003).

4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Na análise estatística do comportamento foi utilizado o teste de normalidade Shapiro-wilk. Após, foi realizada ANOVA one-way com múltiplas comparações, seguido do teste post-hoc de Tukey. Para a análise estatística de elementos do sistema purinérgico e parâmetros oxidativos, foi utilizado o teste de normalidade Shapiro-wilk. Após, foi realizada ANOVA one-way com múltiplas comparações, seguido do teste Holm-sidak. Foi utilizado o software GraphPad Prism 9.0.0. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. As médias dos grupos são apresentadas em gráficos em barras. Os resultados são expressos por média \pm desvio padrão da média ($M \pm \text{DPM}$)

5 RESULTADOS

5.1 EFEITOS DA PM, DO IS E DOS TRATAMENTOS NO TESTE DE NATAÇÃO FORÇADA

Os efeitos da PM + IS e dos tratamentos com óleo de *C. sativa* de espectro completo (1 mg/kg), e escitalopram (10 mg/kg) nos parâmetros avaliados no teste de natação forçada estão ilustrados na figura 5. No protocolo de natação forçada a ANOVA de uma via revelou uma interação significativa no tempo de imobilidade entre os grupos sem estresse e os grupos privados matematicamente e isolados socialmente e entre os tratamentos ($F = 10,34$; $p < 0,0001$). O teste Post hoc de Tukey revelou que a PM + IS elevou significativamente o tempo de imobilidade ($p < 0,05$) no teste de natação forçada e os tratamentos com óleo de *C. sativa* de espectro completo ($p < 0,01$) e escitalopram ($p < 0,05$) reverteram o efeito da PM + IS. Em relação ao tempo de nado, observou-se na ANOVA de uma via uma interação significativa entre os grupos sem estresse e os grupos privados matematicamente e isolados socialmente e entre os tratamentos ($F = 5,622$; $p = 0,0030$). O teste de Post hoc de Tukey revelou que a PM + IS apresentou menor tempo de natação em comparação ao grupo sem estresse ($p < 0,01$) e em relação ao grupo tratado com óleo de *C. sativa* de espectro completo ($p < 0,05$). Por fim, no teste de escalada, houve diferença estatística significativa entre os grupos privados matematicamente e isolados socialmente e entre os tratamentos ($F = 4,108$; $p = 0,0148$). O teste Post hoc de Tukey revelou que o estresse reduziu significativamente a escalada e os tratamentos reverteram este comportamento ($p < 0,05$).

Figura 5 - Teste de Natação Forçada

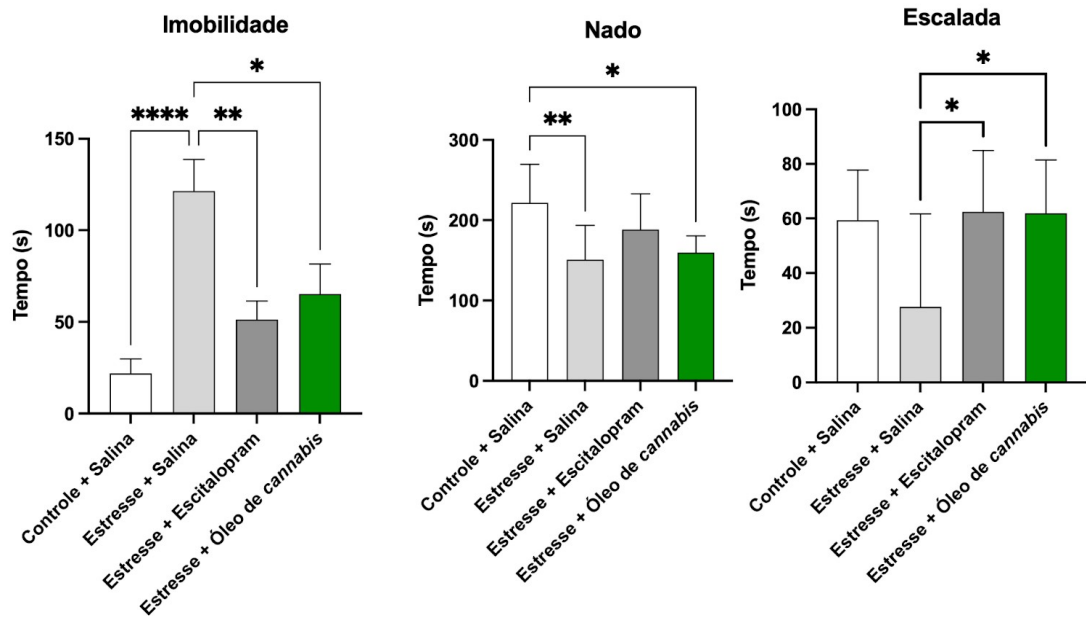


Figura 5 - Avaliação da mobilidade no teste de natação forçada. Efeitos do estresse de PM + IS e dos tratamentos com óleo de *C. sativa* de espectro completo (1 mg/kg), e escitalopram (10 mg/kg) sobre a os parâmetros de mobilidade no teste de natação forçada em machos. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média, e significância estatística foi definida para valores de p de *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 e ****p < 0,0001.

5.2 EFEITOS PM + IS E TRATAMENTOS NO TESTE DE CAMPO ABERTO

Os efeitos da PM + IS e dos tratamentos com óleo de *C. sativa* de espectro completo (1 mg/kg), e escitalopram (10 mg/kg) nos parâmetros avaliados no teste de campo aberto estão ilustrados na figura 6. No teste de campo aberto, a ANOVA de uma via não revelou interação significativa entre os grupos sem estresse e os grupos estressados. Tanto os protocolos de PM + IS quanto os tratamentos não induziram alterações significativas na atividade locomotora, avaliada através dos números de cruzamentos ($F = 1,145$; $p = 0,3398$) e levantamentos ($F = 1,596$; $p = 0,2015$) no teste do campo aberto.

Figura 6 - Teste de Campo Aberto

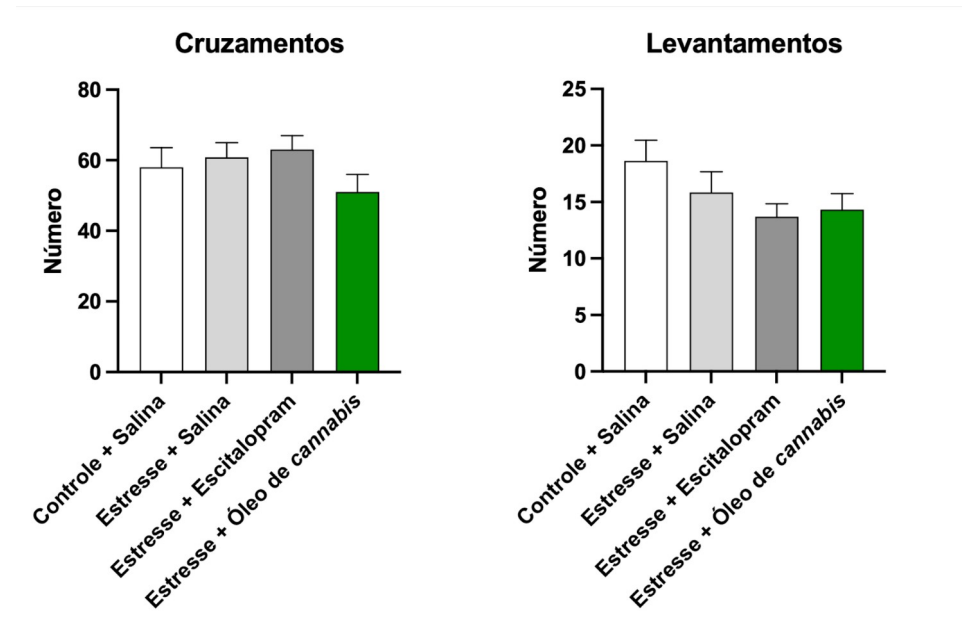


Figura 6 - Atividade locomotora no teste de campo aberto. Efeitos do estresse de PM + IS e dos tratamentos com óleo de *C. sativa* de espectro completo (1 mg/kg), e escitalopram (10 mg/kg) sobre a atividade motora exploratória em machos. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média.

5.3 ANÁLISE DO SISTEMA PURINÉRGICO

5.3.1 Quantificação de ATP Extracelular

Os efeitos do estresse e dos tratamentos com óleo de CBD (1 mg/kg) e escitalopram (10 mg/kg) nos níveis de ATP extracelular no plasma estão ilustrados na figura 7. A ANOVA de uma via não revelou diferenças significativas nos níveis de ATP extracelular entre os diferentes grupos experimentais ($F = 2,028$; $p = 0,1684$).

Figura 7 - Quantificação de ATP Extracelular – Plasma

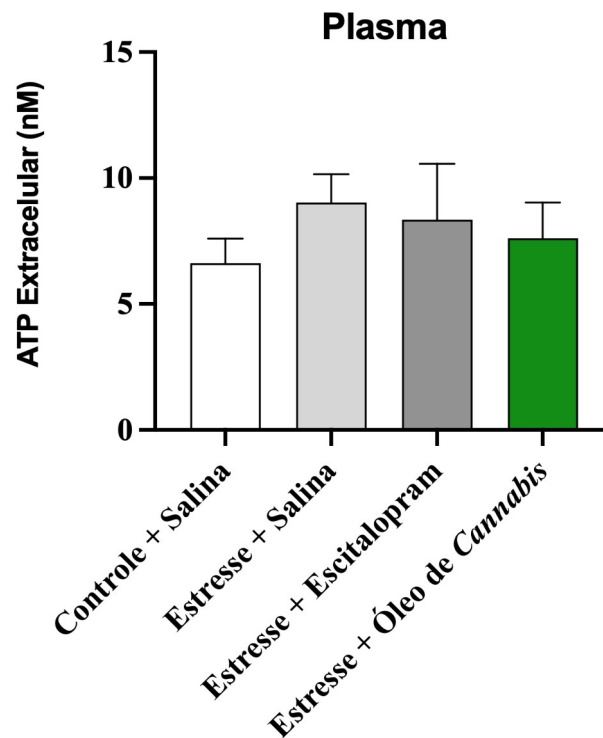


Figura 7 : Efeitos do estresse de PM + IS e dos tratamentos com óleo de *Cannabis sativa* de espectro completo (1 mg/kg) e escitalopram (10 mg/kg) nos níveis de ATP extracelular em plasma de ratos Wistar. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM).

5.3.2 Hidrólise de ATP, ADP e AMP - PBMC

Os efeitos da PM + IS e dos tratamentos com óleo de *C. sativa* de espectro completo (1 mg/kg), e escitalopram (10 mg/kg) nos parâmetros de hidrólise de ATP, ADP e AMP em PBMCs estão ilustrados na Figura 8. A ANOVA de uma via revelou interação significativa nos níveis de hidrólise de ATP, ADP e AMP entre os diferentes grupos experimentais. A análise mostrou diferenças significativas na hidrólise de ATP entre os grupos ($F = 17,35$; $p < 0,0001$). O teste *Holm-sidak* revelou que o grupo tratado com óleo de *C. sativa* de espectro completo apresentou um aumento significativo na hidrólise de ATP quando comparado ao grupo estresse salina ($p < 0,0001$). Similarmente, para a hidrólise de ADP, a ANOVA indicou uma interação significativa ($F = 31,59$; $p < 0,0001$). O grupo tratado com óleo de *C. sativa* de espectro completo também mostrou um aumento significativo na hidrólise de ADP em

comparação ao grupo estresse salina ($p < 0,0001$). No caso da hidrólise de AMP, a ANOVA revelou uma interação significativa entre os grupos ($F = 10,82$; $p < 0,0001$). O teste *Holm-sidak* revelou que o grupo tratado com óleo de *C. sativa* de espectro completo apresentou um aumento significativo na hidrólise de AMP comparado ao grupo estresse salina ($p < 0,001$). Esses resultados sugerem que o tratamento com óleo de *C. sativa* de espectro completo, aumenta significativamente a atividade das ectonucleotidases, em hidrólise de ATP, ADP e AMP em PBMCs de ratos, indicando um efeito modulador potencialmente benéfico do conjunto CBD e THC em condições de estresse.

Figura 8 - Hidrólise de ATP, ADP e AMP - PBMCs

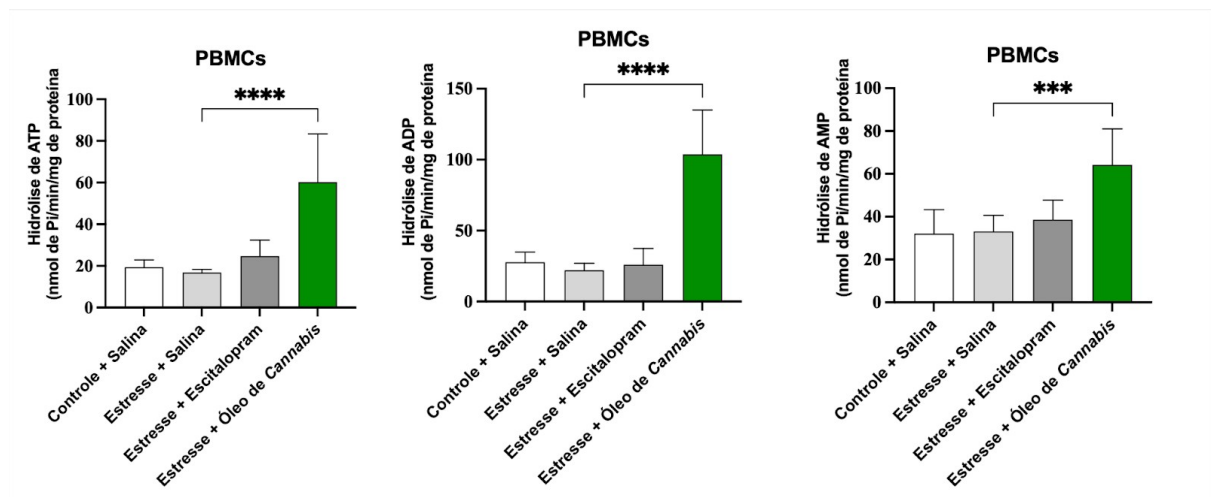


Figura 8 - Hidrólise de ATP, ADP e AMP em PBMCs de ratos machos submetidos a estresse de PM + IS e dos tratamentos com óleo de *C. sativa* de espectro completo (1 mg/kg) e escitalopram (10 mg/kg). A atividade da E-NTPDase1 foi medida pela hidrólise de ATP e ADP, enquanto a hidrólise de AMP mediu 5'-NT. Os dados são apresentados como média \pm SEM. Análise estatística: ANOVA de uma via seguida do teste de Holm-Sidak. Valores com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. **A:** É visível um aumento significativo na hidrólise de ATP nas PBMCs dos ratos tratados com óleo de *C. sativa* de espectro completo em comparação ao grupo estresse salina. A significância estatística foi $****p < 0,0001$. **B:** Observa-se um aumento significativo na hidrólise de ADP nas PBMCs dos ratos tratados com óleo de *C. sativa* de espectro completo em comparação ao grupo estresse salina. A significância estatística foi $****p < 0,0001$. **C:** A hidrólise de AMP nas PBMCs foi significativamente maior nos ratos tratados com Óleo EC *C sativa* em comparação ao grupo estresse salina. A significância estatística foi $***p < 0,001$.

5.4 ANÁLISE DO ESTRESSE OXIDATIVO

5.4.1 Atividade da Mieloperoxidase (MPO)

Os efeitos da PM + IS e dos tratamentos com óleo de *C. sativa* de espectro completo (1 mg/kg), e escitalopram (10 mg/kg) nos níveis séricos de MPO são ilustrados na Figura 9.

A ANOVA de uma via revelou interações significativas nos níveis de MPO entre os diferentes grupos experimentais ($F=14,36$; $p < 0,0001$). O teste Holm-sidak revelou que o grupo estresse salina apresentou aumento significativo da atividade da MPO no plasma em comparação ao grupo controle ($p < 0,001$), inferindo em maior atividade da MPO frente ao estresse de PM+IS. Enquanto que o grupo estressado por PM+IS que recebeu tratamento com óleo de *C. sativa* de espectro completo ($p < 0,0001$) foi capaz de reverter o efeito estressor da PM+IS sobre a atividade da MPO.

Figura 9 - Atividade da MPO

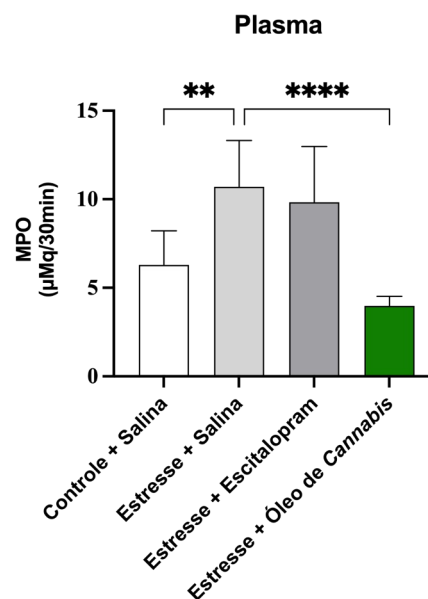


Figura 9 - Atividade da MPO no plasma. Efeitos do estresse de PM + IS e dos tratamentos com óleo de *Cannabis sativa* de espectro completo (1 mg/kg), e escitalopram (10 mg/kg) nos níveis séricos de mieloperoxidase (MPO). Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média, e significância estatística foi definida para valores de p de * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$.

5.4.2 Atividade de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Os efeitos da PM + IS e dos tratamentos com óleo de *C. sativa* de espectro completo (1 mg/kg), e escitalopram (10 mg/kg) nos níveis plasmáticos de TBARS são ilustrados na Figura 10. A ANOVA de uma via revelou interações significativas nos níveis de TBARS entre os diferentes grupos experimentais. O teste Holm-sidak revelou que o grupo tratado com óleo de *C. sativa* de espectro completo apresentou diminuição significativa nos níveis de TBARS quando comparado ao grupo estresse salina ($F=4,197$; $p < 0,01$). Assim, o grupo estressado que recebeu tratamento com óleo de *C. sativa* parece ter revertido o efeito da PM+IS no estresse oxidativo.

Figura 10 - Atividade de TBARS

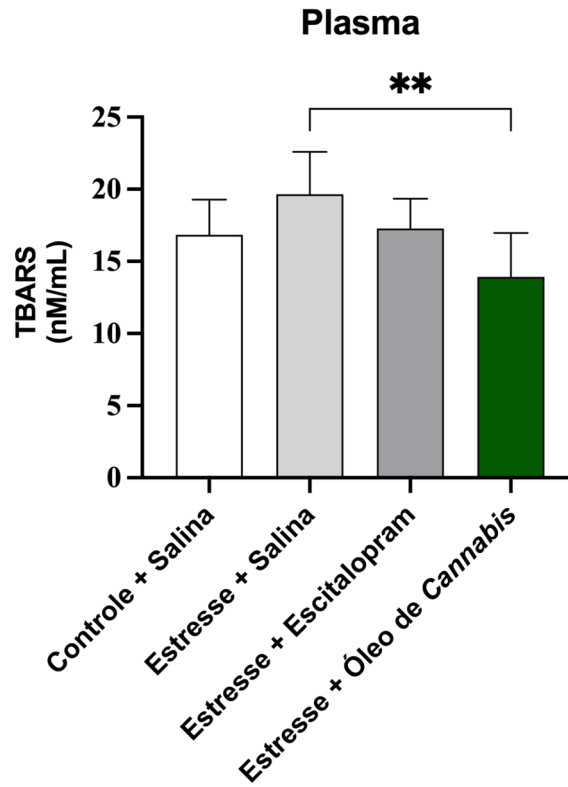


Figura 10 - Atividade de TBARS no plasma. Efeitos do estresse de PM + IS e dos tratamentos com óleo de *C. sativa* de espectro completo (1 mg/kg), e escitalopram (10 mg/kg) sobre os níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) no plasma. Os dados são apresentados como média \pm erro padrão da média, e significância estatística foi definida para valores de p de * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$.

6 DISCUSSÃO

Este estudo avaliou o efeito do estresse na infância sobre comportamentos depressivos na vida adulta e marcadores do estresse oxidativo e sistema purinérgico no plasma de ratos adultos jovens, assim como o efeito do tratamento do óleo de *C. sativa* de espectro completo sobre os comportamentos tipo depressivos e marcadores oxidativos e sistema purinérgico.

6.1 COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO E PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL

Evidências sugerem que a exposição a eventos estressantes durante os estágios iniciais da vida tem impactos profundos e duradouros no desenvolvimento cerebral e no comportamento, elevando o risco de desenvolver transtornos de humor, como o (TDM) (Anacker *et al.*, 2014; Heim *et al.*, 2010; Kessler *et al.*, 2010; Lupien *et al.*, 2009; Norman *et al.*, 2012). Em modelos animais, a privação maternal (PM) é capaz de simular o estresse crônico precoce, semelhante ao vivido em situações de abandono, abuso e negligência (Nishi, 2020). Nesse contexto, os achados atuais indicam que a PM pode induzir comportamentos semelhantes aos depressivos em ratos machos adultos (Marais *et al.*, 2008; Vetulani, 2013).

Em roedores, a ausência de interação social, especialmente durante períodos críticos do desenvolvimento, pode resultar em alterações comportamentais e neurobiológicas que se assemelham aos sintomas do TDM em humanos. Ratos privados de interação social exibem uma resposta exacerbada ao estresse, incluindo níveis elevados de corticosterona, o equivalente ao cortisol humano. Isso sugere uma hiperatividade do eixo HPA, que é frequentemente associado ao TDM (Lukkes, 2009).

Os resultados obtidos corroboram com pesquisas anteriores que demonstraram que a privação maternal (PM) e o isolamento social (IS) induzem comportamentos semelhantes aos do TDM em animais submetidos a essas condições. Isso é evidenciado pelo aumento do tempo de imobilidade no teste de natação forçada (TNF) em comparação com os animais

controle. O aumento no tempo de imobilidade no TNF reflete uma falha na persistência do comportamento de fuga, uma alteração frequentemente associada à fisiopatologia do TDM (Cryan; Holmes, 2005; Cryan; Markou; Lucki, 2002). Este aumento do tempo de imobilidade no TNF já foi descrito em estudos anteriores que avaliaram ratos machos submetidos à PM e IS (Aisa *et al.*, 2007; El Khoury *et al.*, 2006; Lambás-Señas *et al.*, 2009).

O TNF é amplamente empregado para avaliar comportamentos tipo depressivos em animais submetidos a estresse crônico e efeitos de fármacos e outras estratégias que possam interferir nos comportamentos. Neste teste é analisada a resposta comportamental dos animais diante de uma situação extremamente estressante e inescapável, observando se os animais continuam tentando escapar ou adotam uma estratégia passiva de espera (Hoffman, 2016). No contexto do TNF, os comportamentos de desamparo comportamental são similares a alguns comportamentos que emergem da depressão em humanos (Caspi *et al.*, 2003; Doron *et al.*, 2014; Kaufman *et al.*, 2006). Além disso, o tratamento farmacológico com antidepressivos, especialmente os inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRSs), têm demonstrado eficácia na redução da imobilidade no TNF (Bogdanova *et al.*, 2013; Cryan; Holmes, 2005; Detke; Lucki, 1995; Révéré; Bouvard; Stinus, 2002; Steiner *et al.*, 2014). A diminuição da imobilidade após tratamento agudo com antidepressivos apoia o uso do TNF como uma ferramenta rápida para a triagem de compostos com potencial atividade antidepressiva (Hoffman, 2016).

No teste de campo aberto, a atividade locomotora foi utilizada como um importante indicador dos efeitos sedativos dos tratamentos, conforme descrito por Katz, Roth e Carroll (1981). Os dados obtidos demonstram que os tratamentos farmacológicos não provocaram modificações nos parâmetros de mobilidade durante o teste. Dessa forma, não há evidências de que as drogas administradas tenham causado um efeito sedativo significativo capaz de influenciar a mobilidade dos modelos animais.

6.2 EFEITOS DO TRATAMENTO SOBRE O COMPORTAMENTO DO TIPO DEPRESSIVO EM RATOS QUE SOFRERAM PRIVAÇÃO MATERNA E ISOLAMENTO SOCIAL

Os tratamentos com óleo de *C. sativa* de espectro completo e escitalopram demonstraram significativa redução no tempo de imobilidade no TNF em ratos submetidos à PM+IS. Esses resultados indicam que tanto o óleo de *C. sativa* de espectro completo quanto o escitalopram são capazes de reverter o comportamento tipo depressivo induzido pela PM+IS. O escitalopram foi utilizado como controle positivo, sendo um antidepressivo da classe dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS) conhecido por atuar de maneira positiva em diversos mecanismos biológicos relevantes para a proteção neuronal e redução da inflamação. Este tratamento reverteu o comportamento tipo depressivo observado nos animais submetidos à PM+IS no TNF, corroborando estudos anteriores (Dionisie *et al.*, 2021; Seo; Lee; Park, 2019).

No contexto do potencial terapêutico da *C. sativa*, o grupo tratado com o óleo de espectro completo também exibiu menor imobilidade no TNF. Esses resultados são condizentes com estudos anteriores que investigaram o canabidiol em modelos animais de depressão, nos quais o tratamento demonstrou redução no tempo de imobilidade e aumento no tempo de natação no TNF (Réus *et al.*, 2011).

A redução do tempo de imobilidade observada no TNF no grupo tratado com *C. sativa* sugere que esta planta e seus canabinóides possuem potencial efeito antidepressivo. Estudos adicionais têm explorado os efeitos neuroprotetores e antidepressivos, bem como o potencial aumento do desempenho cognitivo associado ao tratamento com óleo de *C. sativa*, tanto de espectro completo quanto com canabinóides isolados (Cryan; Markou; Lucki, 2002; Bhunia *et al.*, 2022).

Em relação ao tempo de escalada no TNF, os tratamentos com óleo de *C. sativa* de espectro completo e escitalopram demonstraram aumento significativo no tempo de escalada no TNF em ratos submetidos à PM+IS. Pesquisas sugerem que o aumento do tempo de

escalada está associado a um efeito positivo no sistema noradrenérgico dos animais (Detke; Johnson; Lucki, 1997). Para corroborar essa constatação, um estudo investigou o papel da serotonina na mediação de comportamentos ativos no TNF após o tratamento com dois medicamentos antidepressivos, o inibidor seletivo da recaptação da serotonina, a fluoxetina e o inibidor seletivo da recaptação da norepinefrina, a desipramina. Os inibidores seletivos da recaptação de serotonina aumentaram o tempo de natação, enquanto as drogas que atuam principalmente para aumentar os níveis extracelulares de norepinefrina ou dopamina aumentaram o tempo de escalada (Page *et al.*, 1999). Nesse sentido, os benefícios observados da *C. sativa* no TNF podem ser atribuídos à sua potencial modulação positiva do sistema noradrenérgico.

Outro resultado avaliado no TNF é o tempo de natação. O grupo estresse salina apresentou diminuição do tempo de natação em relação ao grupo controle. O grupo PM+IS tratado com óleo de *C. sativa* de espectro completo apresentou maior tempo de natação quando comparado ao grupo submetido à PM+IS. O aumento do tempo de natação e a redução do tempo de imobilidade no teste de nado forçado estão associados à ativação do sistema serotoninérgico e ao aumento da concentração de serotonina na fenda sináptica (Abdul Aziz *et al.*, 2020; Dias Elpo Zomkowski *et al.*, 2004). De maneira semelhante, tratamentos com antidepressivos clássicos que modulam o sistema serotoninérgico têm sido observados reduzindo o tempo de imobilidade e aumentando o tempo de natação (Detke; Johnson; Lucki, 1997; Krügel *et al.*, 2013). Outros estudos apontam demais mecanismos que aumentam a biodisponibilidade de serotonina na fenda sináptica, conforme descrevem Khanzode *et al.*, 2003, ao apontarem o papel de antioxidantes na diminuição da recaptação de 5-HT. Paralelamente, as propriedades antioxidantes da *C. sativa* têm sido extensivamente estudadas.

Com base nos resultados do TNF, foi observado que o tratamento com óleo de *C. sativa* de espectro completo foi capaz de reverter comportamentos do tipo depressivo

induzidos pela privação maternal e isolamento social em ratos adultos machos. Esses efeitos podem estar relacionados ao potencial neuroprotetor do fitofármaco administrado.

6.3 EFEITOS DA PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL E TRATAMENTO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO

Os níveis de MPO aumentaram significativamente nos animais submetidos a PM+IS em comparação com o grupo controle, indicando maior atividade da MPO em resposta ao estresse crônico. O estresse oxidativo, associado à fisiopatologia do TDM, foi intensificado nesses animais. Em apoio a esses resultados, o estudo de Bertollo *et al.* (2024) evidenciou que a exposição a condições de estresse crônico também leva a um aumento significativo nos níveis de MPO e acentua a resposta inflamatória, reforçando a conexão entre estresse oxidativo e disfunção associada ao TDM.

No que se refere aos níveis de TBARS, embora não tenha sido encontrada uma diferença estatisticamente significativa entre o grupo estresse salina e o grupo controle, foi observada uma tendência de aumento nos níveis de TBARS no grupo estresse salina. Essa tendência sugere que o estresse crônico pode contribuir para um aumento na peroxidação lipídica, ainda que a variabilidade individual ou o tamanho da amostra possam ter limitado a capacidade de detectar uma diferença estatisticamente significativa.

O tratamento com óleo de *C. sativa* de espectro completo foi eficaz em reverter o aumento da atividade da MPO induzido pelo estresse de PM e IS. Especificamente, o óleo de *C. sativa* normalizou os níveis de MPO ($p < 0,0001$). Além disso, esse tratamento resultou em uma redução estatisticamente significativa nos níveis de TBARS em comparação com o grupo estresse salina ($p < 0,01$), evidenciando uma diminuição na peroxidação lipídica e sugerindo que o óleo de *C. sativa* pode mitigar os danos oxidativos associados ao estresse crônico.

É relevante notar que a literatura atual não apresenta estudos específicos sobre o impacto do óleo de *C. sativa* ou seus canabinoides na atividade da MPO. Esta lacuna destaca a originalidade dos nossos achados, que fornecem novas evidências sobre a modulação da

atividade da MPO e a peroxidação lipídica pelo óleo de *C. sativa* de espectro completo. Embora a literatura seja rica em informações sobre o potencial antioxidante dos canabinoides, como CBD e THC, que têm sido associados à neutralização de espécies reativas de oxigênio (ROS) e à modulação da atividade de enzimas antioxidantes endógenas como superóxido dismutase (SOD) e glutatona peroxidase (GPx) (Pagano *et al.*, 2023), não há dados específicos sobre a interação desses compostos com a MPO. Assim, nossos resultados não apenas corroboram a literatura existente sobre os efeitos antioxidantes dos canabinoides, mas também introduzem novos dados que ampliam a compreensão do papel do óleo de *C. sativa* na proteção contra o estresse oxidativo associado ao estresse crônico.

Estudos pré-clínicos utilizando modelos animais de estresse crônico, como a privação materna e o isolamento social, apoiam essas associações ao revelar modificações significativas na função do eixo HPA e na neuroinflamação. Esses estudos mostram um aumento nos níveis de marcadores de estresse oxidativo e uma diminuição das defesas antioxidantes, semelhantes às observadas em humanos com TDM (Bertollo *et al.*, 2024). Esses achados estão alinhados com a metanálise de Palta *et al.* (2014) já havia demonstrado um aumento do estresse oxidativo e uma redução das defesas antioxidantes em pacientes com TDM, reforçando a relação entre o estresse crônico e o aumento da peroxidação lipídica. De forma congruente, nossos dados mostram uma tendência elevada nos níveis de TBARS, sugerindo que o estresse crônico pode induzir um ambiente pró-oxidante. Esses achados reforçam a ideia de que a disfunção oxidativa associada ao estresse crônico é um fator relevante na patogênese do TDM.

A ação antioxidante dos compostos bioativos presentes na *C. sativa* pode ser atribuída a múltiplos mecanismos. Os canabinoides podem atuar como varredores de radicais livres, neutralizando ROS e protegendo as células de danos oxidativos (Pagano *et al.*, 2023). Além disso, modulam a atividade de enzimas antioxidantes endógenas, aumentando a capacidade das células de combater o estresse oxidativo. Isso é particularmente relevante no

contexto do TDM, onde o estresse oxidativo contribui para a patogênese e progressão da doença (Maes *et al.*, 2011).

Os resultados deste estudo fornecem evidências convincentes sobre os efeitos deletérios da privação maternal combinada com o isolamento social em modelos animais, assim como os benefícios terapêuticos do óleo de *C. sativa* de espectro completo e do escitalopram. O óleo de *C. sativa* mostrou potencial terapêutico no tratamento de transtornos depressivos relacionados ao estresse crônico, atenuando comportamentos tipo depressivo em modelos animais. A capacidade de reverter o estresse oxidativo pode ser um dos mecanismos subjacentes ao efeito antidepressivo observado.

6.4 EFEITOS DA PRIVAÇÃO MATERNAL E ISOLAMENTO SOCIAL E TRATAMENTO SOBRE O SISTEMA PURINÉRGICO

Este estudo também investigou os efeitos do estresse combinado com o tratamento de óleo de *C. sativa* de espectro completo e escitalopram nos níveis de ATP extracelular e na hidrólise de nucleotídeos em modelos animais submetidos à privação maternal (PM) e isolamento social (IS). A análise dos níveis de ATP extracelular no plasma não revelou diferença estatística entre os grupos experimentais. Apesar de uma tendência de aumento nos níveis de ATP extracelular no grupo estresse salina em comparação com o controle, esta alteração não foi suficiente para alcançar significância estatística.

A ativação dos receptores CB2 pelos canabinoides desempenha um papel crucial na modulação da liberação de ATP durante processos inflamatórios e de estresse celular. Os receptores CB2 são expressos em células do sistema imunológico, como monócitos, macrófagos e células T, onde sua ativação pode ocorrer em resposta a estímulos inflamatórios (Simard *et al.*, 2022). Durante estados inflamatórios, as células imunes frequentemente liberam ATP como um mediador de sinalização purinérgica. O ATP extracelular atua como um sinal de perigo (DAMP), alertando outras células para a presença de danos ou infecção (Di Virgilio; Sarti; Coutinho-Silva, 2020). No entanto, a ativação dos receptores CB2 pelos canabinóides pode reduzir essa liberação de ATP (Haj-Mirzaian *et al.*, 2019).

Canabinóides como o CBD, ao se ligarem aos receptores CB2, iniciam uma cascata de sinalização que inibe a exocitose de vesículas contendo ATP. Isso ocorre, em parte, pela inibição da adenilato ciclase e pela ativação de canais de potássio dependentes de cálcio, que regulam a secreção de ATP. Além da inibição da adenilato ciclase, a ativação dos receptores CB2 pode resultar na abertura de canais de potássio dependentes de cálcio na membrana celular. Esses canais são sensíveis à concentração intracelular de cálcio e regulam o fluxo de potássio através da membrana. A abertura desses canais hiperpolariza a membrana celular e reduz a excitabilidade da célula, além de influenciar a secreção de ATP. Portanto, a ativação dos receptores CB2 pelos canabinóides não apenas modula a resposta imunológica através da regulação direta da liberação de ATP, mas também representa um mecanismo potencial para o controle da inflamação em condições patológicas onde a resposta imune exacerbada pode contribuir para o dano tecidual e a progressão da doença (Condie *et al.*, 1996).

Em relação à hidrólise de nucleotídeos, o grupo tratado com o óleo aumentou a hidrólise significativamente comparado ao grupo estresse salina. Esses achados sugerem que o óleo de *C. sativa* de espectro completo pode aumentar a atividade das ectonucleotidases, como NTPDase1/CD39 e CD73, que são responsáveis pela clivagem de nucleotídeos e pela modulação das respostas inflamatórias.

A sinalização purinérgica, mediada pela hidrólise de nucleotídeos, desempenha um papel crucial na regulação das respostas inflamatórias. A enzima NTPDase1/CD39 cliva o ATP a ADP e o ADP em AMP, enquanto a ecto-5'-nucleotidase CD73 converte AMP em adenosina. A adenosina, por sua vez, exerce efeitos anti-inflamatórios ao se ligar aos receptores P1, reduzindo a inflamação (Antonioli *et al.*, 2013). Em nosso estudo, observou-se um aumento na hidrólise de ATP, ADP e AMP nos grupos tratados com óleo de *C. sativa* de espectro completo, sugerindo uma modulação favorável do ambiente inflamatório. Esse efeito está em consonância com a literatura existente, que aponta que a adenosina pode exercer efeitos antidepressivos ao reduzir a inflamação e melhorar a neuroquímica (Wang *et al.*,

2023). Portanto, os resultados indicam que o óleo de *C. sativa* pode oferecer benefícios terapêuticos significativos ao reduzir a inflamação e promover efeitos antidepressivos.

O efeito anti-inflamatório do CBD tem sido amplamente investigado, proporcionando uma visão detalhada sobre seu potencial terapêutico. Evidências demonstram que o CBD pode influenciar a função dos receptores A2A através de vários mecanismos. Um dos modos de ação propostos é a capacidade do CBD de aumentar os níveis extracelulares de adenosina ao inibir a enzima adenosina desaminase, que degrada a adenosina. Esse aumento na concentração de adenosina pode levar a uma maior ativação dos receptores A2A, amplificando seus efeitos anti-inflamatórios (Mecha *et al.*, 2013).

A formação de heterômeros entre os receptores A2A e outros tipos de receptores, como os canabinoides CB1 e CB2, pode ser modulada pela presença do CBD. Heterômeros são complexos formados pela união de dois ou mais tipos diferentes de receptores, que juntos podem exibir propriedades farmacológicas únicas, diferentes das propriedades dos receptores individuais. Por exemplo, a interação entre os receptores A2A e CB1 pode influenciar a modulação da neurotransmissão dopaminérgica, relevante em várias condições neurológicas e psiquiátricas (Aso *et al.*, 2019).

A formação de heterômeros A2A-CB1 ou A2A-CB2 pode resultar em efeitos sinérgicos ou antagônicos na sinalização celular. A presença do CBD pode favorecer a formação desses heterômeros, modificando a resposta celular aos estímulos inflamatórios. Por exemplo, a ativação conjunta dos receptores A2A e CB2 em células imunológicas pode potencializar a resposta anti-inflamatória, promovendo a resolução da inflamação de maneira mais eficaz do que a ativação de cada receptor individualmente (Mecha *et al.*, 2013).

Adicionalmente, diversos estudos têm demonstrado que o CBD pode inibir a ativação do inflamassoma NLRP3, um complexo proteico envolvido em respostas inflamatórias agudas e em várias doenças crônicas, incluindo transtornos neuropsiquiátricos como a depressão. A ativação do inflamassoma NLRP3 leva à liberação de citocinas pró-

inflamatórias, como IL-1 β e IL-18, que podem atravessar a barreira hematoencefálica e desencadear processos neuroinflamatórios (Zhan *et al.*, 2023).

Além disso, a adenosina exerce efeitos anti-inflamatórios através dos receptores A2A, também podendo inibir a ativação do inflamassoma NLRP3 e modulando a resposta inflamatória. O aumento dos níveis de adenosina, mediado pela atividade das ectonucleotidases que convertem ATP em adenosina, promove um ambiente anti-inflamatório, sinergizando com os efeitos do CBD (Haskó *et al.*, 2008).

Assim, tanto o CBD quanto a adenosina atuam em vias complementares para suprimir a ativação do inflamassoma NLRP3 e, conseqüentemente, reduzir a inflamação. Esta interação destaca o potencial terapêutico do CBD e da adenosina na modulação de respostas inflamatórias exacerbadas, contribuindo para a prevenção de danos teciduais e a progressão de doenças inflamatórias e a inflamação subjacente a transtornos psiquiátricos.

Atualmente, a literatura científica carece de estudos específicos que investiguem como *Cannabis sativa* e seus canabinoides, de forma geral, influenciam a atividade das ectonucleotidases, como NTPDase1/CD39 e CD73, que são essenciais para a regulação do sistema purinérgico. Essas ectonucleotidases desempenham papéis cruciais na hidrólise de nucleotídeos e na modulação da resposta inflamatória, afetando o equilíbrio redox e a homeostase celular em diversos contextos patológicos. A ausência de investigações focadas nessa interação sublinha a originalidade e a relevância dos nossos achados. Este estudo fornece novas evidências sobre como o óleo de *C. sativa* de espectro completo pode impactar a atividade das ectonucleotidases, promovendo uma regulação mais eficaz da resposta inflamatória e do estresse oxidativo. Ao demonstrar o efeito do óleo de *C. sativa* na modulação do sistema purinérgico, nossos resultados destacam o potencial dos canabinoides como alvos terapêuticos inovadores. Esta descoberta abre novas possibilidades para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas à modulação do sistema purinérgico em condições inflamatórias e estressantes, reforçando a importância do estudo contínuo nesta área para futuras aplicações clínicas.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os achados deste estudo sugerem que o estresse decorrente da PM+IS nos primeiros dias de vida induz comportamentos do tipo depressivo na vida adulta. Animais submetidos a PM+IS sem tratamento apresentaram maiores tempos de imobilidade no TNF em comparação aos demais grupos, corroborando a hipótese de que o estresse precoce tem um impacto duradouro no comportamento. Esses animais também apresentaram um aumento significativo na atividade dos biomarcadores de estresse oxidativo, como a MPO, em comparação com o grupo controle.

Os tratamentos com óleo de *C. sativa* de espectro completo e escitalopram induziram uma redução significativa no tempo de imobilidade no TNF em ratos submetidos a PM+IS, corroborando outros estudos que demonstraram o efeito desses compostos em reverter comportamentos do tipo depressivo induzidos pelo estresse precoce. O escitalopram, um antidepressivo da classe dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina (ISRS), atuou como controle positivo e confirmou seu efeito na reversão ou redução dos sintomas depressivos. O óleo de *C. sativa* de espectro completo mostrou-se igualmente eficaz, o que pode ser atribuído às suas propriedades neuroprotetoras e antioxidantes.

O aumento da atividade da MPO observado nos animais submetidos a PM+IS indica que o estresse precoce intensifica o estresse oxidativo. O tratamento com óleo de *C. sativa* de espectro completo foi eficaz em reverter esse aumento, normalizando os níveis de MPO. Isso sugere que esse tratamento possui propriedades antioxidantes significativas, capazes de modular o estresse oxidativo associado ao estresse precoce.

Em relação ao sistema purinérgico, a análise dos níveis de ATP extracelular no plasma não revelou diferença estatística entre os grupos experimentais, apesar de uma tendência de aumento nos níveis de ATP extracelular no grupo estresse salina em comparação com o controle. Entretanto, o grupo tratado com óleo de *C. sativa* demonstrou uma modulação positiva da atividade das ectonucleotidases, como NTPDase1/CD39 e CD73, sugerindo uma potencial ação anti-inflamatória.

Esses resultados fornecem evidências convincentes dos efeitos deletérios da privação maternal combinada com o isolamento social em modelos animais, bem como dos benefícios terapêuticos do óleo de *C. sativa* de espectro completo. O óleo de *C. sativa* mostrou um potencial terapêutico promissor no tratamento de transtornos depressivos relacionados ao estresse crônico, atenuando comportamentos do tipo depressivo em modelos animais e revertendo o estresse oxidativo.

Dessa forma, o óleo de *C. sativa* de espectro completo emerge como uma alternativa terapêutica potencialmente eficaz e segura para o tratamento de transtornos depressivos, com efeitos benéficos que podem ser atribuídos às suas propriedades neuroprotetoras e antioxidantes. Estudos futuros são necessários para elucidar os mecanismos subjacentes a esses efeitos e para explorar seu potencial clínico em seres humanos.

REFERÊNCIAS

- ABELEIRA, H. M.; REUS, G. Z.; QUEVEDO, J. Animal models as tools to study the pathophysiology of depression. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 35, n. suppl 2, p. S112–S120, 2013.
- ABDUL AZIZ, N. U. *et al.* Antidepressant-Like Properties of Fish Oil on Postpartum Depression-Like Rats Model: Involvement of Serotonergic System. **Brain Sciences**, v. 10, n. 10, p. 733, 13 out. 2020.
- ADZIC, Miroslav *et al.* The role of phosphorylated glucocorticoid receptor in mitochondrial functions and apoptotic signalling in brain tissue of stressed Wistar rats. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, [s. l.], v. 41, n. 11, p. 2181–2188, 2009.
- AISA, B. *et al.* Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. **Psychoneuroendocrinology**, v. 32, n. 3, p. 256–266, 1 abr. 2007.
- ALLSOP, David J. *et al.* Nabiximols as an Agonist Replacement Therapy During Cannabis Withdrawal: A Randomized Clinical Trial. **JAMA Psychiatry**, [s. l.], v. 71, n. 3, p. 281, 2014.
- AMIN, Md Ruhul; ALI, Declan W. Pharmacology of Medical Cannabis. *In*: BUKIYA, Anna N. (org.). **Recent Advances in Cannabinoid Physiology and Pathology**. Cham: Springer International Publishing, 2019. (Advances in Experimental Medicine and Biology). v. 1162, p. 151–165. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-21737-2_8. Acesso em: 24 jan. 2024.
- ANACKER, C.; O'DONNELL, K. J.; MEANEY, M. J. Early life adversity and the epigenetic programming of hypothalamic-pituitary-adrenal function. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, v. 16, n. 3, p. 321–333, set. 2014.
- ANTONIOLI, L. *et al.* CD39 and CD73 in immunity and inflammation. **Trends in Molecular Medicine**, v. 19, n. 6, p. 355–367, 1 jun. 2013.
- ASO, E. *et al.* Adenosine A2A-Cannabinoid CB1 Receptor Heteromers in the Hippocampus: Cannabidiol Blunts Δ 9-Tetrahydrocannabinol-Induced Cognitive Impairment. **Molecular Neurobiology**, v. 56, n. 8, p. 5382–5391, 2019.
- BAB, Itai. Themed issue on cannabinoids in biology and medicine. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 163, n. 7, p. 1327–1328, 2011.
- BELMAKER, R.H.; AGAM, Galila. Major Depressive Disorder. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 358, n. 1, p. 55–68, 2008.
- BERTOLLO, A. G. *et al.* Hydroalcoholic Extract of *Centella asiatica* and Madecassic Acid Reverse Depressive-Like Behaviors, Inflammation and Oxidative Stress in Adult Rats Submitted to Stress in Early Life. **Molecular Neurobiology**, 4 maio 2024.

BIRBEN, E. *et al.* Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **World Allergy Organization Journal**, v. 5, n. 1, p. 9–19, 1 dez. 2012.

BRADFORD, Marion M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0003269776905273>>. Acesso em: 20 jul. 2024.

BHUNIA, S. *et al.* Cannabidiol for neurodegenerative disorders: A comprehensive review. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 989717, 25 out. 2022.

BOGDANOVA, O. V. *et al.* Factors influencing behavior in the forced swim test. **Physiology & Behavior**, v. 118, p. 227–239, 2013.

BURNSTOCK, G.; BOEYNAEMS, J.-M. Purinergic signalling and immune cells. **Purinergic Signalling**, v. 10, n. 4, p. 529–564, dez. 2014.

BURNSTOCK, G. Purinergic Signalling: Therapeutic Developments. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, 25 set. 2017.

BURNSTOCK, G. Purine and purinergic receptors. **Brain and Neuroscience Advances**, v. 2, p. 239821281881749, 2018.

CAMPOS, Alline C. *et al.* Cannabidiol, neuroprotection and neuropsychiatric disorders. **Pharmacological Research**, [s. l.], v. 112, p. 119–127, 2016.

CARRIBA, P. *et al.* Striatal Adenosine A2A and Cannabinoid CB1 Receptors Form Functional Heteromeric Complexes that Mediate the Motor Effects of Cannabinoids. **Neuropsychopharmacology**, v. 32, n. 11, p. 2249–2259, nov. 2007.

CARVALHO, H. M. C. P. **Comportamento de ratos machos e fêmeas submetidos a sessões de nado forçado crônico e a um posterior teste no labirinto em cruz elevado**. 2009. 51 f. Dissertação (Mestrado em Análise do Comportamento) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

CASACALENDA, Nicola; PERRY, J. Christopher; LOOPER, Karl. Remission in Major Depressive Disorder: A Comparison of Pharmacotherapy, Psychotherapy, and Control Conditions. **American Journal of Psychiatry**, [s. l.], v. 159, n. 8, p. 1354–1360, 2002.

CASPI, A. *et al.* Influence of Life Stress on Depression: Moderation by a Polymorphism in the 5-HTT Gene. **Science**, v. 301, n. 5631, p. 386–389, 18 jul. 2003.

CASTAGNÉ, V.; PORSOLT, R. D.; MOSER, P. Use of latency to immobility improves detection of antidepressant-like activity in the behavioral despair test in the mouse. **European Journal of Pharmacology**, v. 616, n. 1, p. 128–133, 15 ago. 2009.

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, 16 maio 2006.

CHRISTENSEN, Robin *et al.* Efficacy and safety of the weight-loss drug rimonabant: a meta-analysis of randomised trials. **The Lancet**, [s. l.], v. 370, n. 9600, p. 1706–1713, 2007.

CHOI, Anna L.; SUN, Guifan; ZHANG, Ying; *et al.* Developmental Fluoride Neurotoxicity: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Environmental Health Perspectives**, v. 120, n. 10, p. 1362–1368, 2012. Disponível em: <<https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.1104912>>. Acesso em: 20 jul. 2024.

CRIPPA, José Alexandre *et al.* Efeitos cerebrais da maconha: resultados dos estudos de neuroimagem. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, [s. l.], v. 27, n. 1, p. 70–78, 2005.

CRYAN, J. F.; HOLMES, A. The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. **Nature Reviews. Drug Discovery**, v. 4, n. 9, p. 775–790, set. 2005.

CRYAN, J. F.; MARKOU, A.; LUCKI, I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 23, n. 5, p. 238–245, maio 2002.

COBLEY, J. N.; FIORELLO, M. L.; BAILEY, D. M. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. **Redox Biology**, v. 15, p. 490–503, 1 maio 2018.

CONDIE, R. *et al.* Cannabinoid Inhibition of Adenylate Cyclase-mediated Signal Transduction and Interleukin 2 (IL-2) Expression in the Murine T-cell Line, EL4.IL-2. **Journal of Biological Chemistry**, v. 271, n. 22, p. 13175–13183, 1996.

CORREIA, A. S.; CARDOSO, A.; VALE, N. Oxidative Stress in Depression: The Link with the Stress Response, Neuroinflammation, Serotonin, Neurogenesis and Synaptic Plasticity. **Antioxidants**, v. 12, n. 2, p. 470, fev. 2023.

CUNHA, M. D. F.; GANDINI, R. D. C. Adesão e não-adesão ao tratamento farmacológico para depressão. **Psicologia: Teoria e Pesquisa**, v. 25, n. 3, p. 409–418, 2009.

CUTTNER, Carrie; SPRADLIN, Alexander; MCLAUGHLIN, Ryan J. A naturalistic examination of the perceived effects of cannabis on negative affect. **Journal of Affective Disorders**, [s. l.], v. 235, p. 198–205, 2018.

CZARNY, P. *et al.* Impact of Single Nucleotide Polymorphisms of Base Excision Repair Genes on DNA Damage and Efficiency of DNA Repair in Recurrent Depression Disorder. **Molecular Neurobiology**, v. 54, n. 6, p. 4150–4159, ago. 2017.

DANTZER, Robert *et al.* From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. **Nature Reviews Neuroscience**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 46–56, 2008.

DASKALAKIS, Nikolaos P. *et al.* The three-hit concept of vulnerability and resilience: Toward understanding adaptation to early-life adversity outcome.

Psychoneuroendocrinology, [s. l.], v. 38, n. 9, p. 1858–1873, 2013.

DE CARLO, Vera; CALATI, Raffaella; SERRETTI, Alessandro. Socio-demographic and clinical predictors of non-response/non-remission in treatment resistant depressed patients: A systematic review. **Psychiatry Research**, [s. l.], v. 240, p. 421–430, 2016.

DEVANE, William A. *et al.* Isolation and Structure of a Brain Constituent That Binds to the Cannabinoid Receptor. **Science**, [s. l.], v. 258, n. 5090, p. 1946–1949, 1992.

DETKE, M. J.; JOHNSON, J.; LUCKI, I. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. **Experimental and Clinical Psychopharmacology**, v. 5, n. 2, p. 107–112, 1997.

DI VIRGILIO, F.; VUERICH, M. Purinergic signaling in the immune system. **Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical**, v. 191, p. 117–123, set. 2015.

DI VIRGILIO, F.; SARTI, A. C.; COUTINHO-SILVA, R. Purinergic signaling, DAMPs, and inflammation. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 318, n. 5, p. C832–C835, 1 maio 2020.

DIAS ELPO ZOMKOWSKI, A. *et al.* Evidence for serotonin receptor subtypes involvement in agmatine antidepressant like-effect in the mouse forced swimming test. **Brain Research**, v. 1023, n. 2, p. 253–263, 2004.

DIEZMOS, E. F.; BERTRAND, P. P.; LIU, L. Purinergic Signaling in Gut Inflammation: The Role of Connexins and Pannexins. **Frontiers in Neuroscience**, v. 10, p. 311, 29 jun. 2016.

DIONISIE, V. *et al.* Escitalopram Targets Oxidative Stress, Caspase-3, BDNF and MeCP2 in the Hippocampus and Frontal Cortex of a Rat Model of Depression Induced by Chronic Unpredictable Mild Stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 14, p. 7483, 13 jul. 2021.

DJORDJEVIC, Jelena *et al.* Chronic Social Isolation Compromises the Activity of Both Glutathione Peroxidase and Catalase in Hippocampus of Male Wistar Rats. **Cellular and Molecular Neurobiology**, [s. l.], v. 30, n. 5, p. 693–700, 2010.

DORON, R. *et al.* A novel herbal treatment reduces depressive-like behaviors and increases BDNF levels in the brain of stressed mice. **Life Sciences**, v. 94, n. 2, p. 151–157, 2014.

EL KHOURY, A. *et al.* Adult life behavioral consequences of early maternal separation are alleviated by escitalopram treatment in a rat model of depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 30, n. 3, p. 535–540, 2006.

ELSOHLY, Mahmoud A. *et al.* Changes in Cannabis Potency Over the Last 2 Decades (1995–2014): Analysis of Current Data in the United States. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 79, n. 7, p. 613–619, 2016.

ELSOHLY, Mahmoud A.; SLADE, Desmond. Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids. **Life Sciences**, [s. l.], v. 78, n. 5, p. 539–548, 2005.

- EVANS-LACKO, S. *et al.* Socio-economic variations in the mental health treatment gap for people with anxiety, mood, and substance use disorders: results from the WHO World Mental Health (WMH) surveys. **Psychological Medicine**, [s. l.], v. 48, n. 9, p. 1560–1571, 2018.
- FERBER, Sari Goldstein *et al.* The “Entourage Effect”: Terpenes Coupled with Cannabinoids for the Treatment of Mood Disorders and Anxiety Disorders. **Current Neuropharmacology**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 87–96, 2020.
- FERRARINI, Eduarda Gomes *et al.* Broad-spectrum cannabis oil ameliorates reserpine-induced fibromyalgia model in mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 154, p. 113552, 2022.
- FONTELLES, M. J. *et al.* Metodologia da pesquisa científica: diretrizes para a elaboração de um protocolo de pesquisa. **Rev. para. med**, 2009.
- FRANKLIN, Tamara B. *et al.* Epigenetic Transmission of the Impact of Early Stress Across Generations. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 68, n. 5, p. 408–415, 2010.
- FREIS, Edward D. Mental Depression in Hypertensive Patients Treated for Long Periods with Large Doses of Reserpine. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 251, n. 25, p. 1006–1008, 1954.
- FREUND, Tamás F.; KATONA, István; PIOMELLI, Daniele. Role of Endogenous Cannabinoids in Synaptic Signaling. **Physiological Reviews**, [s. l.], v. 83, n. 3, p. 1017–1066, 2003.
- FRODL, T. *et al.* Childhood Stress, Serotonin Transporter Gene and Brain Structures in Major Depression. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 6, p. 1383–1390, maio 2010.
- GALLEGO-LANDIN, I. *et al.* Reviewing the Role of the Endocannabinoid System in the Pathophysiology of Depression. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 6 dez. 2021.
- GIULIANI, A. L.; SARTI, A. C.; DI VIRGILIO, F. Ectonucleotidases in Acute and Chronic Inflammation. **Frontiers in Pharmacology**, v. 11, 3 fev. 2021.
- GUERRERO, A. A2A Adenosine Receptor Agonists and their Potential Therapeutic Applications. An Update. **Current Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 30, p. 3597–3612, 27 set. 2018.
- GROLLI, R. E. *et al.* Quetiapine effect on depressive-like behaviors, oxidative balance, and inflammation in serum of rats submitted to chronic stress. **Naunyn-Schmiedeberg’s Archives of Pharmacology**, v. 396, n. 7, p. 1423–1433, 1 jul. 2023.
- HAJ-MIRZAIAN, A. *et al.* Activation of ATP-sensitive K-channel promotes the anticonvulsant properties of cannabinoid receptor agonist through mitochondrial ATP level reduction. **Epilepsy & Behavior**, v. 93, p. 1–6, 2019.
- HASKÓ, G. *et al.* Adenosine receptors: therapeutic aspects for inflammatory and immune diseases. *Nature reviews. Drug discovery*, v. 7, n. 9, p. 759–770, set. 2008.

- HASKÓ, G. Adenosine: an endogenous regulator of innate immunity. **Trends in Immunology**, v. 25, n. 1, p. 33–39, 2004.
- HEIM, C. *et al.* Neurobiological and psychiatric consequences of child abuse and neglect. **Developmental Psychobiology**, v. 52, n. 7, p. 671–690, nov. 2010.
- HILL, Matthew N. *et al.* Circulating endocannabinoids and N-acyl ethanolamines are differentially regulated in major depression and following exposure to social stress. **Psychoneuroendocrinology**, [s. l.], v. 34, n. 8, p. 1257–1262, 2009.
- HILL, M. *et al.* Serum Endocannabinoid Content is Altered in Females with Depressive Disorders: A Preliminary Report. **Pharmacopsychiatry**, [s. l.], v. 41, n. 2, p. 48–53, 2008.
- HILL, Matthew N; PATEL, Sachin. Translational evidence for the involvement of the endocannabinoid system in stress-related psychiatric illnesses. **Biology of Mood & Anxiety Disorders**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 19, 2013.
- HILLARD, Cecilia J.; LIU, Qing-song. Endocannabinoid signaling in the etiology and treatment of major depressive illness. **Current Pharmaceutical Design**, [s. l.], v. 20, n. 23, p. 3795–3811, 2014.
- HILLARD, C.J.; WEINLANDER, K.M.; STUHR, K.L. Contributions of endocannabinoid signaling to psychiatric disorders in humans: genetic and biochemical evidence. **Neuroscience**, [s. l.], v. 204, p. 207–229, 2012.
- HOFFMAN, K. L. 1 - What is an animal model of a neuropsychiatric disorder? Em: HOFFMAN, K. L. (Ed.). **Modeling Neuropsychiatric Disorders in Laboratory Animals**. [s.l.] Woodhead Publishing, 2016. p. 1–33.
- HUNGUND, B L *et al.* Upregulation of CB1 receptors and agonist-stimulated [35S]GTP γ S binding in the prefrontal cortex of depressed suicide victims. **Molecular Psychiatry**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 184–190, 2004.
- IBANEZ, G. *et al.* Adesão e dificuldades relacionadas ao tratamento medicamentoso em pacientes com depressão. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 67, n. 4, p. 556–562, 2014.
- IGNÁCIO, Z.M. *et al.* Epigenetic and epistatic interactions between serotonin transporter and brain-derived neurotrophic factor genetic polymorphism: Insights in depression. **Neuroscience**, [s. l.], v. 275, p. 455–468, 2014.
- IGNÁCIO, Z.M. *et al.* Maternal Deprivation☆. In: REFERENCE MODULE IN NEUROSCIENCE AND BIOBEHAVIORAL PSYCHOLOGY. [S. l.]: Elsevier, 2017. p. B9780128093245003527. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128093245003527>. Acesso em: 13 jan. 2024.
- JENTZSCH, Axel M.; BACHMANN, Heini; FÜRST, Peter; *et al.* Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 2, p.

251–256, 1996. Disponível em:

<<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0891584995020438>>. Acesso em: 29 jun. 2024.

JESULOLA, Emmanuel; MICALOS, Peter; BAGULEY, Ian J. Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model - are we there yet?. **Behavioural Brain Research**, [s. l.], v. 341, p. 79–90, 2018.

JIMÉNEZ-FERNÁNDEZ, S. *et al.* Oxidative Stress and Antioxidant Parameters in Patients With Major Depressive Disorder Compared to Healthy Controls Before and After Antidepressant Treatment: Results From a Meta-Analysis. **The Journal of Clinical Psychiatry**, v. 76, n. 12, p. 13705, 23 dez. 2015.

JOSHI, Neal; ONAIVI, Emmanuel S. Endocannabinoid System Components: Overview and Tissue Distribution. *In*: BUKIYA, Anna N. (org.). **Recent Advances in Cannabinoid Physiology and Pathology**. Cham: Springer International Publishing, 2019. (Advances in Experimental Medicine and Biology). v. 1162, p. 1–12. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-21737-2_1. Acesso em: 24 jan. 2024.

KATZ, R. J.; ROTH, K. A.; CARROLL, B. J. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: Implications for a model of depression. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 5, n. 2, p. 247–251, 1981.

KAUFMAN, J. *et al.* Brain-Derived Neurotrophic Factor–5-HTTLPR Gene Interactions and Environmental Modifiers of Depression in Children. **Biological Psychiatry**, v. 59, n. 8, p. 673–680, 2006.

KELLER, J *et al.* HPA axis in major depression: cortisol, clinical symptomatology and genetic variation predict cognition. **Molecular Psychiatry**, [s. l.], v. 22, n. 4, p. 527–536, 2017.

KENNIS, M *et al.* Prospective Biomarkers of Major Depressive Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Molecular Psychiatry**, v. 25, n. 2, p. 321–, 2020.

KESSLER, R. C. *et al.* Childhood adversities and adult psychopathology in the WHO World Mental Health Surveys. **The British Journal of Psychiatry**, v. 197, n. 5, p. 378–385, nov. 2010.

KHANZODE, S. D. *et al.* Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. **Redox Report**, v. 8, n. 6, p. 365–370, 2003.

KRÜGEL, U. *et al.* Antidepressant effects of TNF- α blockade in an animal model of depression. **Journal of Psychiatric Research**, v. 47, n. 5, p. 611–616, 2013.

KUPFER, David J; FRANK, Ellen; PHILLIPS, Mary L. Major depressive disorder: new clinical, neurobiological, and treatment perspectives. **The Lancet**, [s. l.], v. 379, n. 9820, p. 1045–1055, 2012.

LAMBÁS-SEÑAS, L. *et al.* Functional correlates for 5-HT_{1A} receptors in maternally deprived rats displaying anxiety and depression-like behaviors. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 33, n. 2, p. 262–268, 2009.

LARSEN, Marianne H. *et al.* Regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the chronic unpredictable stress rat model and the effects of chronic antidepressant treatment. **Journal of Psychiatric Research**, [s. l.], v. 44, n. 13, p. 808–816, 2010.

LEE, S.-Y. *et al.* Oxidative/nitrosative stress and antidepressants: targets for novel antidepressants. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 46, p. 224–235, 1 out. 2013.

LEGARE, Christopher A.; RAUP-KONSAVAGE, Wesley M.; VRANA, Kent E. Therapeutic Potential of Cannabis, Cannabidiol, and Cannabinoid-Based Pharmaceuticals. **Pharmacology**, [s. l.], v. 107, n. 3–4, p. 131–149, 2022.

LOPES, G. H. B. *et al.* CANNABIS: VARIEDADES E INDIFERENÇAS NO MBITO MEDICINAL MEDIANTE SUA PRÓPRIA LEGALIZAÇÃO. ETIC - ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA - ISSN 21-76-8498, v. 16, n. 16, 2020.

LOWE, Henry *et al.* The Endocannabinoid System: A Potential Target for the Treatment of Various Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 22, n. 17, p. 9472, 2021.

LOWE, D. J. E. *et al.* Cannabis and Mental Illness: A Review. **European archives of psychiatry and clinical neuroscience**, v. 269, n. 1, p. 107–120, fev. 2019.

LUNKES, G. I. *et al.* Enzymes that hydrolyze adenine nucleotides in diabetes and associated pathologies. **Thrombosis Research**, v. 109, n. 4, p. 189–194, fev. 2003.

LUKKES, J. L. *et al.* Adult rats exposed to early-life social isolation exhibit increased anxiety and conditioned fear behavior, and altered hormonal stress responses. **Hormones and Behavior**, v. 55, n. 1, p. 248–256, 2009.

LUPIEN, S. J. *et al.* Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. **Nature Reviews. Neuroscience**, v. 10, n. 6, p. 434–445, jun. 2009.

MAES, Michael. Depression is an inflammatory disease, but cell-mediated immune activation is the key component of depression. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 664–675, 2011.

MAES, M. *et al.* A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 35, n. 3, p. 676–692, 2011.

MAES, M. *et al.* **Role of T and B lymphocyte cannabinoid type 1 and 2 receptors in major depression and suicidal behaviors: effects of in vitro cannabidiol administration.** medRxiv, , 25 abr. 2023. Disponível em:

<<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2023.04.19.23288847v1>>. Acesso em: 3 ago. 2024

MARIN, M.-F. *et al.* Chronic stress, cognitive functioning and mental health. **Neurobiology of Learning and Memory**, v. 96, n. 4, p. 583–595, nov. 2011.

MALHEIRO, R. F. *et al.* Cannabinoid-mediated targeting of mitochondria on the modulation of mitochondrial function and dynamics. **Pharmacological Research**, v. 187, p. 106603, 2023.

MARAIS, L. *et al.* Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the hippocampus. **Neuroscience Research**, v. 61, n. 1, p. 106–112, 1 maio 2008.

MARIN, Marie-France *et al.* Chronic stress, cognitive functioning and mental health. **Neurobiology of Learning and Memory**, [s. l.], v. 96, n. 4, p. 583–595, 2011.

MECHA, M. *et al.* Cannabidiol provides long-lasting protection against the deleterious effects of inflammation in a viral model of multiple sclerosis: A role for A2A receptors. **Neurobiology of Disease**, v. 59, p. 141–150, 2013.

MCPARTLAND, J. M. *et al.* Are cannabidiol and Δ^9 -tetrahydrocannabinol negative modulators of the endocannabinoid system? A systematic review. **British Journal of Pharmacology**, v. 172, n. 3, p. 737–753, 2015.

MILLER, Andrew H.; MALETIC, Vladimir; RAISON, Charles L. Inflammation and Its Discontents: The Role of Cytokines in the Pathophysiology of Major Depression. **Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 65, n. 9, p. 732–741, 2009.

MONTGOMERY, S. A. *et al.* Escitalopram (S-enantiomer of citalopram): clinical efficacy and onset of action predicted from a rat model. **Pharmacology & Toxicology**, v. 88, n. 5, p. 282–286, maio 2001.

MORANDINI, A. C.; SAVIO, L. E. B.; COUTINHO-SILVA, R. The role of P2X7 receptor in infectious inflammatory diseases and the influence of ectonucleotidases. **Biomedical Journal**, v. 37, n. 4, p. 169–177, 2014.

MORCUENDE, A. *et al.* Immunomodulatory Role of CB2 Receptors in Emotional and Cognitive Disorders. **Frontiers in Psychiatry**, v. 13, 15 abr. 2022.

MURPHY, Therese M *et al.* Risk and protective genetic variants in suicidal behaviour: association with SLC1A2, SLC1A3, 5-HTR1B & NTRK2 polymorphisms. **Behavioral and Brain Functions**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 22, 2011.

NEMEROFF, Charles B.; OWENS, Michael J. Treatment of mood disorders. **Nature Neuroscience**, [s. l.], v. 5, n. S11, p. 1068–1070, 2002.

NOH, Mi Ra; KIM, Jee In; HAN, Sang Jun; *et al.* C/EBP homologous protein (CHOP) gene deficiency attenuates renal ischemia/reperfusion injury in mice. *Biochimica et Biophysica*

Acta (BBA) - **Molecular Basis of Disease**, v. 1852, n. 9, p. 1895–1901, 2015. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925443915001702>>. Acesso em: 20 jul. 2024.

NOJI, T. *et al.* KF24345, an Adenosine Uptake Inhibitor, Suppresses Lipopolysaccharide-Induced Tumor Necrosis Factor- α Production and Leukopenia via Endogenous Adenosine in Mice. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 300, n. 1, p. 200–205, 1 jan. 2002.

NORMAN, R. E. *et al.* The Long-Term Health Consequences of Child Physical Abuse, Emotional Abuse, and Neglect: A Systematic Review and Meta-Analysis. **PLoS Medicine**, v. 9, n. 11, p. e1001349, 27 nov. 2012.

OLIVEIRA, A. B. *et al.* A normatização dos fitoterápicos no Brasil. *Visão Acadêmica.*, v. 7, n. 2, 2006.

ORTIZ, R. *et al.* Purinergic system dysfunction in mood disorders: a key target for developing improved therapeutics. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 57, p. 117–131, 3 mar. 2015.

PAGE, M. E. *et al.* Serotonergic mediation of the effects of fluoxetine, but not desipramine, in the rat forced swimming test. **Psychopharmacology**, v. 147, n. 2, p. 162–167, 19 nov. 1999.

PALTA, P. *et al.* Depression and Oxidative Stress: Results From a Meta-Analysis of Observational Studies. **Psychosomatic medicine**, v. 76, n. 1, p. 12–19, jan. 2014.

PARK, C. *et al.* Stress, epigenetics and depression: A systematic review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 102, p. 139–152, 1 jul. 2019.

PASQUINI, S. *et al.* Adenosine Receptors in Neuropsychiatric Disorders: Fine Regulators of Neurotransmission and Potential Therapeutic Targets. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1219, jan. 2022.

PENG, J. *et al.* A narrative review of molecular mechanism and therapeutic effect of cannabidiol (CBD). **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 130, n. 4, p. 439–456, 2022.

PEREIRA, Vitor Silva; HIROAKI-SATO, Vinícius Antonio. A brief history of antidepressant drug development: from tricyclics to beyond ketamine. **Acta Neuropsychiatrica**, [s. l.], v. 30, n. 6, p. 307–322, 2018.

PINTO, W. B. V. DE R. *et al.* Teste de labirinto em cruz elevado: aplicações e contribuições no estudo de doenças neuropsiquiátricas em modelos animais. *R. Soc. bras. Ci. Anim. Lab.*, p. 102–120, 2012.

POLESZAK, Ewa *et al.* Cannabinoids in depressive disorders. **Life Sciences**, [s. l.], v. 213, p. 18–24, 2018.

PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, n. 5604, p. 730–732, 21 abr. 1977.

- RÉNÉRIC, J.-P.; BOUVARD, M.; STINUS, L. In the rat forced swimming test, chronic but not subacute administration of dual 5-HT/NA antidepressant treatments may produce greater effects than selective drugs. **Behavioural Brain Research**, v. 136, n. 2, p. 521–532, 2002.
- RÉUS, G. Z. *et al.* Administration of cannabidiol and imipramine induces antidepressant-like effects in the forced swimming test and increases brain-derived neurotrophic factor levels in the rat amygdala. **Acta Neuropsychiatrica**, v. 23, n. 5, p. 241–248, 2011.
- RÉUS, G. Z. *et al.* A single dose of S -ketamine induces long-term antidepressant effects and decreases oxidative stress in adulthood rats following maternal deprivation. **Developmental Neurobiology**, v. 75, n. 11, p. 1268–1281, 2015.
- RIBEIRO, A. *et al.* Cannabidiol, a non-psychotropic plant-derived cannabinoid, decreases inflammation in a murine model of acute lung injury: Role for the adenosine A2A receptor. **European Journal of Pharmacology**, v. 678, n. 1–3, p. 78–85, 2012.
- RUSSO, E. B. Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. **British Journal of Pharmacology**, v. 163, n. 7, p. 1344–1364, 2011.
- SALES, Amanda J. *et al.* Antidepressant-like effect induced by Cannabidiol is dependent on brain serotonin levels. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 86, p. 255–261, 2018.
- SALES, Amanda J. *et al.* Cannabidiol Induces Rapid and Sustained Antidepressant-Like Effects Through Increased BDNF Signaling and Synaptogenesis in the Prefrontal Cortex. **Molecular Neurobiology**, [s. l.], v. 56, n. 2, p. 1070–1081, 2019.
- SCHIER, Alexandre *et al.* Antidepressant-Like and Anxiolytic-Like Effects of Cannabidiol: A Chemical Compound of *Cannabis sativa*. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, [s. l.], v. 13, n. 6, p. 953–960, 2014.
- SCHUMACHER DIMECH, Annemarie *et al.* The role of sex and gender differences in precision medicine: the work of the Women’s Brain Project. **European Heart Journal**, [s. l.], v. 42, n. 34, p. 3215–3217, 2021.
- SLUYTER, R. The P2X7 Receptor. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 1051, p. 17–53, 2017.
- SEO, Mi Kyoung *et al.* Effects of escitalopram and paroxetine on mTORC1 signaling in the rat hippocampus under chronic restraint stress. **BMC Neuroscience**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 39, 2017.
- SEO, M. K.; LEE, J. G.; PARK, S. W. Effects of escitalopram and ibuprofen on a depression-like phenotype induced by chronic stress in rats. **Neuroscience Letters**, v. 696, p. 168–173, 2019.
- SERPYTIS, Pranas *et al.* Gender-Based Differences in Anxiety and Depression Following Acute Myocardial Infarction. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s. l.], 2018. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0066-782X2018005012104. Acesso em: 24 jan. 2024.

SIES, H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. **Redox Biology**, v. 4, p. 180–183, 2 jan. 2015.

SIMARD, M. *et al.* Expression and Functions of the CB2 Receptor in Human Leukocytes. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, 22 fev. 2022.

SMITH, R.S. The macrophage theory of depression. **Medical Hypotheses**, [s. l.], v. 35, n. 4, p. 298–306, 1991.

SOSKIN, David P. *et al.* The Inflammatory Hypothesis of Depression. **FOCUS**, [s. l.], v. 10, n. 4, p. 413–421, 2012.

SOWA-KUĆMA, M. *et al.* Are there differences in lipid peroxidation and immune biomarkers between major depression and bipolar disorder: Effects of melancholia, atypical depression, severity of illness, episode number, suicidal ideation and prior suicide attempts. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 81, p. 372–383, 2018.

STEFANESCU, C.; CIOBICA, A. The relevance of oxidative stress status in first episode and recurrent depression. **Journal of Affective Disorders**, v. 143, n. 1, p. 34–38, 20 dez. 2012.

STEINER, H. *et al.* Life-long consequences of juvenile exposure to psychotropic drugs on brain and behavior. Em: **Progress in Brain Research**. [s.l.] Elsevier, 2014. v. 211p. 13–30.

TALAROWSKA, M. *et al.* Manganese superoxide dismutase gene expression and cognitive functions in recurrent depressive disorder. **Neuropsychobiology**, v. 70, n. 1, p. 23–28, 2014.

TROUBAT, Romain *et al.* Neuroinflammation and depression: A review. **European Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 53, n. 1, p. 151–171, 2021.

VACCARINO, V. *et al.* Association of Major Depressive Disorder with Serum Myeloperoxidase and Other Markers of Inflammation: A Twin Study. **Biological Psychiatry, Neurostimulatory and Neuroablative Treatments for Depression**. v. 64, n. 6, p. 476–483, 15 set. 2008.

VETULANI, J. Early maternal separation: a rodent model of depression and a prevailing human condition. **Pharmacological Reports**, v. 65, n. 6, p. 1451–1461, 2013.

VURALLI, D. *et al.* Behavioral and cognitive animal models in headache research. **The Journal of Headache and Pain**, v. 20, n. 1, p. 11, 31 jan. 2019.

WANG, M. *et al.* Lateral septum adenosine A2A receptors control stress-induced depressive-like behaviors via signaling to the hypothalamus and habenula. **Nature Communications**, v. 14, n. 1, p. 1880, 5 abr. 2023.

WIECKIEWICZ, Gniewko *et al.* Cannabidiol (CBD) in the Self-Treatment of Depression- Exploratory Study and a New Phenomenon of Concern for Psychiatrists. **Frontiers in Psychiatry**, [s. l.], v. 13, p. 837946, 2022.

WOODY, C.A. *et al.* A systematic review and meta-regression of the prevalence and incidence of perinatal depression. **Journal of Affective Disorders**, [s. l.], v. 219, p. 86–92, 2017.

ZANELATI, Tv *et al.* Antidepressant-like effects of cannabidiol in mice: possible involvement of 5-HT 1A receptors. **British Journal of Pharmacology**, [s. l.], v. 159, n. 1, p. 122–128, 2010.

ZARRINMAYEH, H.; TERRITO, P. R. Purinergic Receptors of the Central Nervous System: Biology, PET Ligands, and Their Applications. **Molecular Imaging**, v. 19, p. 1536012120927609, 2020.

ZHAN, X. *et al.* The mechanism of NLRP3 inflammasome activation and its pharmacological inhibitors. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 18 jan. 2023.

ZHOU, Q. *et al.* Neuronal nitric oxide synthase contributes to chronic stress-induced depression by suppressing hippocampal neurogenesis. **Journal of Neurochemistry**, v. 103, n. 5, p. 1843–1854, 2007.

ZOU, S.; KUMAR, U. Cannabinoid Receptors and the Endocannabinoid System: Signaling and Function in the Central Nervous System. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 3, p. 833, 13 mar. 2018.

XU, J. *et al.* Adenosine A₂ receptor activation ameliorates mitochondrial oxidative stress upon reperfusion through the posttranslational modification of NDUFV2 subunit of complex I in the heart. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 106, p. 208–218, 2017.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito do Estresse na Infância sobre Comportamentos Depressivos na Vida Adulta - Potencial Estratégia Terapêutica do Óleo de Cannabis sativa de Espectro Completo", protocolada sob o CEUA nº 2911170423 (ID 000503), sob a responsabilidade de **Zuleide Maria Ignácio e equipe; Amanda Gollo Bertollo; Maiqueli Eduarda Dama Mingoti; Jesiel de Medeiros; Brunna Varela da Silva** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Fronteira Sul (CEUA/UFFS) na reunião de 19/05/2023.

We certify that the proposal "Effect of Early Life Stress on Depressive Behaviors in Adult Life - Potential Therapeutic Strategy of Full Spectrum Cannabis sativa Oil", utilizing 40 Heterogenics rats (40 males), protocol number CEUA 2911170423 (ID 000503), under the responsibility of **Zuleide Maria Ignácio and team; Amanda Gollo Bertollo; Maiqueli Eduarda Dama Mingoti; Jesiel de Medeiros; Brunna Varela da Silva** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of South Border (CEUA/UFFS) in the meeting of 05/19/2023.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **07/2023** a **06/2025** Área: **Ciências da Saúde**

Origem: **Aplicável ao Biotério**

Espécie: **Ratos heterogênicos**

Linhagem: **Wistar**

sexo: **Machos**

idade: **0 a 95 dias**

Quantidade: **40**

Peso: **6 a 400 g**

Realeza, 20 de dezembro de 2024



Profa. Dra. Fabíola Dalmolin
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Fronteira Sul



Biol. Cássio Batista Marcon
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Fronteira Sul

