

Marília Mota Bessa

**EFEITO DA  $\alpha$ -AMIRINA SOBRE O FILTRO SENSÓRIO-  
MOTOR DE RATOS: ENVOLVIMENTO DE RECEPTORES CB<sub>1</sub>  
E TRPV<sub>1</sub> CENTRAIS**

Dissertação submetida ao Programa de  
Pós-Graduação em Farmacologia da  
Universidade Federal de Santa  
Catarina para a obtenção do Grau de  
Mestre em Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Reinaldo Naoto  
Takahashi

Florianópolis  
2013

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária  
da UFSC.

Bessa, Marília Mota

Efeito da  $\alpha$ -amirina sobre o filtro sensório-motor de ratos : envolvimento de receptores CB1 e TRPV1 centrais / Marília Mota Bessa ; orientador, Reinaldo Naoto Takahashi - Florianópolis, SC, 2013.

100 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

Inclui referências

1. Farmacologia. 2.  $\alpha$ -amirina. 3. Receptor CB1. 4. Receptor TRPV1. 5. Filtro Sensório-Motor. I. Takahashi, Reinaldo Naoto. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Farmacologia. III. Título.

Marília Mota Bessa

**EFEITO DA  $\alpha$ -AMIRINA SOBRE O FILTRO SENSÓRIO-  
MOTOR DE RATOS: ENVOLVIMENTO DE RECEPTORES CB<sub>1</sub>  
E TRPV<sub>1</sub> CENTRAIS**

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Farmacologia e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Farmacologia.

Local, 18 de Março de 2013.

---

Prof. xxx, Dr.  
Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof.<sup>a</sup> xxxx, Dr.<sup>a</sup>  
Orientadora  
Universidade xxxx

---

Prof.<sup>a</sup> xxxx, Dr.<sup>a</sup>  
Corientadora  
Universidade xxxx

---

Prof. xxxx, Dr.  
Universidade xxxxxx



Este trabalho é dedicado aos meus pais, Mauro e Claudete, e irmãos, Olívia e Guilherme.



## AGRADECIMENTOS

À minha família, pois sem eles nada disso teria valido a pena.

Aos meus pais, que sempre me amaram, apoiaram e acreditaram em mim.

Aos meus irmãos, que me ensinaram desde cedo que a vida não é tão fácil assim, mas que compartilhar é um aprendizado constante.

Aos meus amigos, que nada contribuíram para esse trabalho, mas muito me ajudaram a ser quem sou hoje.

Ao meu orientador, Professor Dr. Reinaldo Naoto Takahashi, pela oportunidade ao abrir seu laboratório pro meu estágio e ao me aceitar pro mestrado, pela dedicada orientação neste trabalho e pelas enriquecedoras conversas durante nossa convivência.

Aos professores: Silvânia Vasconcelos, Thereza de Lima e Leandro Bertoglio, pela contribuição para o aprimoramento deste trabalho.

Aos demais professores do Departamento de Farmacologia e Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, em especial aos professores José Eduardo Santos e Tadeu Lemos, pela contribuição para a minha formação. À professora Thereza, pela colaboração ao disponibilizar o aparelho de PPI.

Aos colegas do Laboratório de Psicofarmacologia, pelos ensinamentos, amizade, conversas e agradável convivência nesses anos.

Aos amigos do Laboratório de Neurofarmacologia, pelas alimentações, conversas e desabafos que compartilhamos.

Aos demais amigos do Departamento de Farmacologia, pelas estimulantes conversas de corredor e companheirismo.

Aos colegas da vigésima turma de mestrado, pois fomos nossos apoios e famílias quando estávamos sós e perdidos nessa jornada.

À todos que, de alguma maneira, contribuíram para a realização desse trabalho.

À Capes e FAPESC pelo apoio financeiro.

À ciência e a todos que colaboram para seu progresso e divulgação.





“A loucura, objeto dos meus estudos, era até agora  
uma ilha perdida no oceano da razão; começo a  
suspeitar que é um continente.”  
(Machado de Assis, 1882)



## RESUMO

A atividade anti-inflamatória e antinociceptiva da mistura de  $\alpha$ -amirina ( $\alpha$ AMI) e  $\beta$ -amirina ( $\beta$ AMI), triterpenos pentacíclicos encontrados na resina de plantas do gênero *Protium*, parece relacionada a sua capacidade de estimular receptores canabinóides tipo 1 (CB<sub>1</sub>) e 2 (CB<sub>2</sub>). Apesar do potencial para manejo de dor e inflamação, canabinóides são pouco usados na clínica devido aos seus efeitos adversos psicotrópicos. A mistura de  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI também parece interagir com o sistema vanilóide, uma vez que reverte a nocicepção induzida por capsaicina, o agonista protótipo de receptor de potencial transitório vanilóide tipo 1 (TRPV<sub>1</sub>). Há poucos estudos sobre o envolvimento dos receptores TRPV<sub>1</sub> em psicopatologias. A inibição pré-pulso do reflexo de sobressalto (PPI) é uma medida operacional do filtro sensorio-motor. Déficits de PPI são observados em esquizofrênicos, bem como humanos e animais sob efeito de drogas psicotomiméticas, como agonistas canabinóides e o antagonista do receptor NMDA de glutamato, MK801. O objetivo desse trabalho foi verificar os efeitos da  $\alpha$ AMI no modelo de PPI, bem como investigar as influências do receptor CB<sub>1</sub> e TRPV<sub>1</sub> sobre suas ações. A  $\alpha$ AMI causa déficit no PPI e habituação em doses abaixo da que afeta a locomoção. Essas alterações foram prevenidas com o bloqueio do receptor CB<sub>1</sub>, mas não do TRPV<sub>1</sub>. O déficit de PPI induzido pela  $\alpha$ AMI e MK801 foi revertido pela ativação de TRPV<sub>1</sub> por capsaicina, mas só o tratamento com esse vanilóide não alterou o PPI *per se*. Esses dados apontam para uma possível atividade psicotomimética da  $\alpha$ AMI administrada centralmente, bem como confirma parcialmente sua ação canabimimética. A reversão das alterações comportamentais induzidas por um antagonista de NMDA e pela  $\alpha$ AMI sugere uma ação antipsicótica para a ativação central de receptores TRPV<sub>1</sub>.

**Palavras-chave:**  $\alpha$ -amirina, CB<sub>1</sub>, TRPV<sub>1</sub>, PPI, Filtro Sensorio-Motor.



## ABSTRACT

The anti-inflammatory and antinociceptive effects of the mixture of  $\alpha$ -amyrin ( $\alpha$ AMI) and  $\beta$ -amyrin ( $\beta$ AMI), pentacyclic triterpenes found in resin of plants of the genus *Protium*, seem related to its capacity to stimulate cannabinoid receptor type 1 (CB<sub>1</sub>) and 2 (CB<sub>2</sub>). Despite the potential for management of pain and inflammation, cannabinoids are not used in practice because of its adverse psychotropic effects. The mixture  $\alpha$ AMI and  $\beta$ AMI also appears to interact with the vanilloid system since it reverses nociception induced by capsaicin, the prototype agonist for transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV<sub>1</sub>). There are few studies about the involvement of TRPV<sub>1</sub> receptors in psychopathology. The prepulse inhibition of the startle reflex (PPI) is an operational measure of sensorimotor gating. PPI deficits are observed in schizophrenics, as well as in humans and animals under influence of psychotomimetic drugs, such as cannabinoid agonists and the glutamate NMDA receptor antagonist, MK801. The aim of this study was to ascertain the effects of  $\alpha$ AMI in the PPI model and to investigate the influences of the CB<sub>1</sub> and TRPV<sub>1</sub> receptors on its actions. The  $\alpha$ AMI causes deficits in PPI and habituation in doses lower than that affects locomotion. Blocking the CB<sub>1</sub> receptor, but not TRPV<sub>1</sub>, prevented these alterations. The PPI deficit induced by  $\alpha$ AMI and MK801 was reversed by capsaicin-induced activation of TRPV<sub>1</sub>, but treatment only with this vanilloid did not influence PPI *per se*. These data point to a possible psychotomimetic activity for centrally administered  $\alpha$ AMI and partially confirms its cannabimimetic action. Reversal of behavioral changes induced by a NMDA antagonist and  $\alpha$ AMI suggests an antipsychotic-like action for central TRPV<sub>1</sub> receptors activation.

**Keywords:**  $\alpha$ -amyrin, CB<sub>1</sub>, TRPV<sub>1</sub>, PPI, Sensorimotor Gating.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química de $\alpha$ -amirina e $\beta$ -amirina .....	22
Figura 2. Circuito córtico-estriado-talâmico generalizado .....	27
Figura 3. Esquema simplificado da hipótese da sinapse córtico-estriatal .....	30
Figura 4. Inibição pré-pulso do reflexo de sobressalto.....	31
Figura 5. Aparelho de sobressalto e inibição pré-pulso do reflexo do sobressalto. .....	38
Figura 6. Monitor de atividade. ....	39
Figura 7. Esquema experimental 1: efeitos da $\alpha$ AMI.....	40
Figura 8. Esquema experimental 2: efeito do tratamento prévio com AM251 nas alterações comportamentais induzidas pela $\alpha$ AMI.....	41
Figura 9. Esquema experimental 3: efeito de CAP e CPZ.....	42
Figura 10. Esquema experimental 4: efeito do tratamento prévio com CAP ou CPZ nas alterações comportamentais induzidas pela $\alpha$ AMI.....	43
Figura 11. Esquema experimental 5: efeito de MK801.....	44
Figura 12. Esquema experimental 6: efeito do tratamento com CAP nas alterações comportamentais induzidas por MK801.....	45
Figura 13. Efeito da $\alpha$ AMI no PPI.....	46
Figura 14. Efeito da $\alpha$ AMI na atividade locomotora.....	47
Figura 15. Influência do antagonismo dos receptores CB <sub>1</sub> na alteração de PPI induzida pela $\alpha$ AMI.....	48
Figura 16. Atividade locomotora dos grupos pré-tratados com AM251 e tratados com $\alpha$ AMI.....	48
Figura 17. Efeito de CAP no PPI.....	49
Figura 18. Efeito de CPZ no PPI .....	50
Figura 19. Locomoção dos grupos tratados com CAP ou CPZ.....	50
Figura 20. Influência da estimulação e antagonismo dos receptores TRPV <sub>1</sub> na alteração de PPI induzida pela $\alpha$ AMI .....	51
Figura 21. Locomoção dos grupos tratados com CAP e $\alpha$ AMI.....	52
Figura 22. Efeito de MK801 no PPI.....	53
Figura 23. Efeito de MK801 na locomoção.....	53
Figura 24. Influência da estimulação dos receptores TRPV <sub>1</sub> na alteração de PPI induzida por MK801.....	54
Figura 25. Locomoção dos grupos tratados com CAP e MK801 .....	55
Figura 26. Pequena concentração de anandamida na sinapse córtico-estriatal. 62	
Figura 27. Alta concentração de anandamida na sinapse córtico-estriatal .....	63
Figura 28. Possível efeito da $\alpha$ AMI na sinapse córtico-estriatal .....	64
Figura 29. Ação do antagonista de NMDA na sinapse córtico-estriatal.....	65
Figura 30. Possível efeito da CAP na sinapse córtico-estriatal .....	66





## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-AG	2-Araquidonoilglicerol
5-HT <sub>2/AC</sub>	Receptores serotoninérgicos tipo 2A/C
AEA	Anandamida
CAP	Capsaicina
CB <sub>1</sub>	Receptor canabinóide do tipo 1
CB <sub>2</sub>	Receptor canabinóide do tipo 2
CBD	Canabidiol
CCET	Circuito córtico-estriado-talâmico
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CPZ	Capsazepina
D <sub>1</sub>	Receptor dopaminérgico do tipo 1
D <sub>2</sub>	Receptor dopaminérgico do tipo 2
DA	Dopamina
DMSO	Dimetilsulfóxido
DOI	2,5-Dimetoxi-4-iodo-anfetamina
eCB	Endocanabinóide
GABA	Ácido gama-aminobutírico
Glu	Glutamato
H	Habituação
icv	Intracerebroventricular
ip	Intraperitoneal
LSD	Dietilamida do ácido lisérgico
MA	Monitor de atividade
µg/rato	Micrograma/rato
MK801	Dizocilpina
NMDA	Receptor glutamatérgico tipo N-metil D-aspartato
P	Pulso (estímulo de 120 dB por 40 ms)
PBS	Tampão fosfato-salina
PP	Pré-pulso seguido de pulso
pP	Pré-pulso
PPI	Inibição pré-pulso do reflexo do sobressalto
SAL	Solução salina (NaCl 0,9%)
SNC	Sistema nervoso central
SNpc	Parte compacta da substância negra
SS	Sobressalto
THC	Δ <sup>9</sup> -Tetraidrocanabinol
TRPV <sub>1</sub>	Receptor de potencial transitório vanilóide do tipo 1
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
VTA	Área tegmentar ventral



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>21</b>
1.1 $\alpha$ -amirina ( $\alpha$ AMI).....	21
1.2 Percepção sensorial e filtro sensório-motor.....	25
1.3 Inibição pré-pulso do reflexo de sobressalto (PPI) e modelos de déficit no filtro sensório-motor.....	30
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>35</b>
2.1 Objetivo Geral .....	35
2.2 Objetivos Específicos .....	35
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>36</b>
3.1 Considerações éticas.....	36
3.2 Animais.....	36
3.3 Drogas.....	36
3.4 Cirurgia estereotáxica .....	36
3.5 Testes Comportamentais.....	37
3.6 Delineamento experimental.....	39
3.7 Análise estatística .....	45
<b>4 RESULTADOS .....</b>	<b>46</b>
4.1 Experimento 1.....	46
4.2 Experimento 2.....	47
4.3 Experimento 3.....	49
4.4 Experimento 4.....	51
4.5 Experimento 5.....	52
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>56</b>
<b>6 CONCLUSÃO .....</b>	<b>69</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>70</b>
<b>APÊNDICE A – Resultados de sobressalto e habituação .....</b>	<b>91</b>
<b>APÊNDICE B – Gráficos PPI com pP de 70 e 80 dB .....</b>	<b>93</b>
<b>ANEXO A – Parecer de aprovação do CEUA/UFSC .....</b>	<b>100</b>



## 1 INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais para alívio do sofrimento, seja físico ou psíquico, é antigo na história das civilizações. Antes do desenvolvimento de tecnologias de síntese química, os produtos naturais eram a base da terapêutica. Todavia, ainda hoje constituem uma importante fonte de pesquisa para a descoberta de compostos com atividade farmacológica de relevância terapêutica (BUTLER, 2004). Nos países em desenvolvimento, a exemplo do Brasil, produtos naturais são amplamente utilizados, ora como alternativa natural ora como adjuvante à medicina ocidental (BOOKER *et al.*, 2012). É interessante incorporar essas tecnologias à clínica, porém, a falta de evidências científicas que atestem eficácia e segurança a esses produtos impõe uma barreira para a entrada desses no mercado farmacêutico (JORDAN *et al.*, 2010).

A utilização do método científico para avaliar a suposta atividade medicinal de produtos naturais auxilia na descoberta de novas moléculas, podendo ser um atalho para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas. Sobretudo, essa ferramenta pode ser uma alternativa para o manejo de doenças que ainda não possuem tratamento adequado ou cujos fármacos utilizados na clínica apresentam perfil de efeitos colaterais que dificultam a aderência ao tratamento (HOUGHTON, 1995).

Os terpenos ou terpenóides constituem o maior grupo dos chamados metabólitos secundários vegetais. Esses compostos são encontrados em óleos essenciais aromáticos, outros são utilizados como repelentes de insetos (VERPOORTE *et al.*, 2000). Quanto a relevância farmacológica, alguns terpenos são a base de medicamentos convencionais e plantas contendo derivados terpênicos têm sido utilizadas na medicina popular e na clínica, devido às suas ações como anti-inflamatório, fungicida, antiviral, antitumoral, além de efeitos sobre o SNC como a promoção de analgesia, atividades ansiolítica, antidepressiva e sedativa (PADUCH *et al.*, 2007). Devido à grande ocorrência e diversidade de efeitos biológicos, os triterpenos pentacíclicos têm recebido destaque na literatura.

### 1.1 $\alpha$ -amirina ( $\alpha$ AMI)

Diversas plantas da família Burceraceae, incluindo as espécies do gênero *Protium*, popularmente como breu branco verdadeiro, almecegueira cheirosa, almecegueira de cheiro, almecegueira vermelha,

almecegueiro bravo, araouaou, haiawa e ubirasiguá, produzem uma resina oleosa conhecida como breu branco. Análises fitoquímicas de frações solúveis em éter obtidas a partir da resina dessas plantas revelaram a presença de triterpenos pentacíclicos, principalmente dos isômeros (fig 1)  $\alpha$ -amirina ( $\alpha$ AMI) e  $\beta$ -amirina ( $\beta$ AMI) (SUSUNAGA *et al.*, 2001; BANDEIRA *et al.*, 2002; VIEIRA *et al.*, 2005).

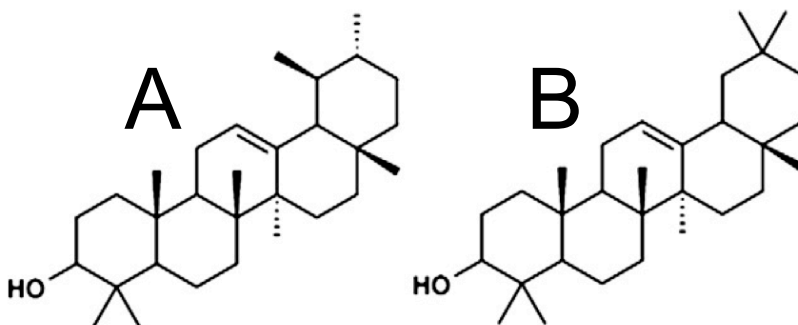


Figura 1. Estrutura química de  $\alpha$ -amirina (A) e  $\beta$ -amirina (B). Retirado de SIMÃO DA SILVA *et al.* (2011).

No Brasil, a resina e folhas destas espécies são popularmente utilizadas no tratamento de inflamações, úlceras (CORRÊA *et al.*, 1984) e dores de cabeça (RODRIGUES *et al.*, 2010). A partir de relatos do uso popular da resina oleosa de plantas do gênero *Protium* buscou-se a comprovação de tais efeitos de acordo com o método científico.

Estudos pré-clínicos relataram que o extrato etéreo da resina de *Protium heptaphyllum*, rico em  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI, possui ações anti-inflamatórias sistêmica (SIANI *et al.*, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 2004) e tópica (OTUKI *et al.*, 2005b), e antinociceptivas (OTUKI *et al.*, 2001; OTUKI *et al.*, 2005a; OTUKI *et al.*, 2005b). Outros trabalhos mostraram que a mistura de compostos  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI isolada de plantas do gênero *Protium* apresenta atividade antinociceptiva (OTUKI *et al.*, 2001), atenua dor aguda e visceral (OLIVEIRA *et al.*, 2005; OTUKI *et al.*, 2005a; LIMA-JUNIOR *et al.*, 2006) e é capaz de inibir o processo inflamatório decorrente da colite experimental (VITOR *et al.*, 2009).

Os trabalhos desenvolvidos com a  $\alpha$ AMI isolada corroboram os resultados observados em estudos que utilizaram extratos contendo uma mistura dos dois isômeros, ou seja, demonstram que a  $\alpha$ AMI isolada apresenta atividade antinociceptiva (KWEIFIO-OKAI *et al.*, 1994;

OTUKI *et al.*, 2005a; MEDEIROS *et al.*, 2007), anti-inflamatória (VITOR *et al.*, 2009; MELO *et al.*, 2010; MELO *et al.*, 2011) e gastroprotetora (ALVAREZ *et al.*, 2009).

Esses triterpenos também são encontrados em outras plantas medicinais com potencial anti-inflamatório, antinociceptivo (SANTOS *et al.*, 2011; WU *et al.*, 2011) e gastroprotetor (MEYRE-SILVA *et al.*, 2009). Interessante notar que outras plantas contendo apenas a  $\alpha$ AMI também apresentam tais potenciais terapêuticos (LI *et al.*, 2012). Derivados sintéticos de  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI também apresentam perfil analgésico (SOLDI *et al.*, 2008) e o mais potente desses antinociceptivos estudados, o octanoato de  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI, teve sua ação sistêmica atenuada quando os animais foram tratados neonatal com capsaicina (CAP) (MARCON *et al.*, 2009).

Os efeitos periféricos foram extensamente investigados na literatura, porém poucos dados relatam ação central para esses triterpenos. A mistura isomérica da  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI administrada sistemicamente, atua sobre o sistema nervoso central (SNC), produzindo efeitos como: supressão da atividade locomotora, sedação e comportamentos do tipo antidepressivo e ansiolítico em roedores (ARAGÃO *et al.*, 2006).

Em um elegante estudo realizado por Simão da Silva e colaboradores (2011), a atividade anti-inflamatória e antinociceptiva da mistura isomérica da  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI foi correlacionada à capacidade desse composto em interagir com receptores canabinóides do tipo 1 (CB<sub>1</sub>) e 2 (CB<sub>2</sub>), provavelmente ligando-se a eles. Nesse estudo, o tratamento oral com a mistura de  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI foi eficiente em prevenir inflamação e nocicepção em dois modelos de dor persistente. Esses efeitos foram abolidos pelo pré-tratamento com antagonistas dos receptores canabinóides, bem como em animais que não expressavam esses receptores (através da inativação dos genes dos receptores CB<sub>1</sub> e CB<sub>2</sub> pela técnica de “*knock-down*”). Além disso, foi demonstrada alta afinidade da mistura racêmica por receptores canabinóides CB<sub>1</sub> encefálico e, em menor proporção, por CB<sub>2</sub> do baço de ratos.

Contrariando o estudo anteriormente citado, outro trabalho que investigou separadamente as ações da  $\alpha$ AMI e da  $\beta$ AMI sobre componentes do sistema endocanabinóide (eCB) demonstrou que a ligação dos isômeros ao receptor canabinóide CB<sub>1</sub> humano foi fraca. Apesar de não afetarem o metabolismo do eCB anandamida (AEA), ambos os compostos foram capazes de inibir a hidrólise do principal agonista endógeno dos receptores canabinóides, o 2-araquidonilglicerol (2-AG). A  $\beta$ AMI inibiu 35–40% a degradação de 2-AG na concentração

de 10 mM. Esse isômero mostrou-se mais potente que a  $\alpha$ AMI, que inibiu cerca de 20% na mesma concentração. Contestando a ideia proposta por SIMÃO DA SILVA e colaboradores (2011), em que  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI atuariam por ativar diretamente receptores canabinóides, esses dados apontam para uma ação canabimimética indireta desses triterpenos, por aumentarem os níveis de um eCB (2-AG) ao impedir sua degradação (CHICCA *et al.*, 2012).

A atividade antinociceptiva de agonistas seletivos e não seletivos dos receptores canabinóides tem sido demonstrada em modelos animais de inflamação crônica e dor neuropática (ASHTON e MILLIGAN, 2008). Essa ação é evidenciada pela localização, tanto central quanto periférica, dos receptores canabinóides em áreas relacionadas à regulação da dor, além da presença de eCBs capazes de modular os mecanismos de dor a nível central (PEAT, 2010). Apesar do potencial terapêutico para o manejo da dor, a polêmica sobre o uso de canabinóides como analgésicos provém dos seus efeitos psicotrópicos. Nos últimos anos vêm se destacando estudos que relacionam o abuso de plantas do gênero *Cannabis* e o desenvolvimento de sintomas psicóticos em indivíduos vulneráveis (DI FORTI *et al.*, 2007). O  $\Delta$ 9-tetraidrocanabinol (THC), primeiro canabinóide identificado e principal constituinte psicoativo dessa planta, apresenta efeito psicotomimético em voluntários sadios (D'SOUZA *et al.*, 2004) e parece piorar os sintomas psicóticos e cognitivos de pacientes esquizofrênicos (D'SOUZA *et al.*, 2005).

Além do sistema canabinóide, a  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI (bem como seus derivados (MARCON *et al.*, 2009)) também parece interagir com o sistema vanilóide, mostrando-se eficiente em reverter o modelo de dor aguda, visceral (OLIVEIRA *et al.*, 2005) e orofacial (PINTO *et al.*, 2008) induzida pelo agonista dos receptores vanilóides, CAP. Além disso, a atividade gastroprotetora de  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI parece envolver, pelo menos em parte, a ativação de neurônios aferentes primários sensíveis à CAP (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

O modelo de nocicepção induzido pela CAP está entre os mais empregados na triagem pré-clínica de compostos com potencial analgésico (LAMOTTE *et al.*, 2011). A CAP é conhecida como o ativo pungente das pimentas e essa sensação é provocada devido à sua capacidade de ativar receptores de potencial transitório vanilóide do tipo 1 (TRPV<sub>1</sub>) (SZALLASI *et al.*, 2007). Além da abertura estimulada por agonistas - permitindo a entrada de íons, com alguma seletividade para cálcio (Ca<sup>2+</sup>) (SZALLASI *et al.*, 2007) - tais receptores também são ativados por estímulos nocivos, como temperaturas acima de 43 °C e pH



baixo. Inicialmente os canais TRPV<sub>1</sub> foram identificados em neurônios sensoriais periféricos (CATERINA *et al.*, 1997), mas sua ampla distribuição no SNC foi demonstrada, pouco depois, por Mezey e colaboradores (2000). Mesmo expressos em áreas corticais e nos núcleos da base, as funções centrais de canais TRPV<sub>1</sub> estão na fase inicial de investigação (DI MARZO *et al.*, 2008) e ainda faltam evidências diretas que liguem canais TRPV<sub>1</sub> a psicopatologias (CHAHL, 2007).

A destruição de fibras sensoriais com a administração neonatal de CAP leva a uma privação somato-sensorial intrínseca. Evidências sugerem que essa privação sensorial durante os primeiros dias de vida afeta o desenvolvimento do sistema nervoso de roedores. O tratamento neonatal com CAP produz alterações no cérebro de ratos que são semelhantes aos encontrados em esquizofrênicos, além de induzir comportamento correlato a agitação psicomotora manifestada pelos pacientes com esquizofrenia, a hiperatividade locomotora (NEWSON *et al.*, 2005). Também foi observada modificação na expressão central de receptores dos sistemas canabinóide, monoaminérgico e colinérgico (ZAVITSANOU *et al.*, 2010) nesses animais. Trabalhos clínicos recentes demonstraram que pacientes esquizofrênicos apresentam alterações na percepção a estímulos dolorosos, respaldando essa possível conexão entre privação somato-sensorial e psicopatologias tipo-psicose (LEVESQUE *et al.*, 2012).

## 1.2 Percepção sensorial e filtro sensorio-motor

As psicoses observadas em pacientes psiquiátricos e as induzidas por drogas perturbadoras do SNC – a exemplo de *Cannabis*, LSD, fenciclidina e anfetaminas - apresentam diversas características em comum, por exemplo dificuldade de desconsiderar estímulos sensoriais irrelevantes (VOLLENWEIDER, 1998). Déficits na filtragem e seleção das informações sensoriais prejudicam a compreensão e processamento dos estímulos verdadeiramente salientes. Por consequência, a sobrecarga de estímulos acarreta problemas na percepção e interpretação do meio, o que pode estimular comportamentos como delírios, alucinações e estereotipias (BOB e MASHOUR, 2011). Esses comportamentos estranhos são também características do estado psicótico (FISCHMAN, 1983).

Um rápido e eficiente julgamento da relevância das ameaças e oportunidades apresentadas é imprescindível para a sobrevivência das espécies (LEDOUX, 1998) e a resposta comportamental às mesmas é

baseada no retrato do ambiente que o SNC produz com as informações que a ele são transmitidas pelos sentidos. A percepção é a função mental que dá significado aos estímulos sensoriais (HAMPE e GRADY, 2005), de forma que os sentidos relatam o contexto ao encéfalo e esse, influenciado pelas vivências passadas, esculpirá a realidade na mente de cada ser (STERNBERG, 2008). O cérebro ou telencéfalo - composto pelo córtex, núcleos da base e sistema límbico - parece ser o responsável por processamentos de ordem superior (MIDDLETON e STICK, 1994), como associação entre traços de memórias e deliberação da melhor estratégia a adotar (PATERNOSTER e POGARSKY, 2009).

O filtro sensorio-motor age como um protetor do processamento de informações. Ao limitar a entrada de informações sensoriais, esse protetor evita sobrecarga no processamento cortical e as consequentes alterações na percepção dos estímulos (NORRIS e BLUMENTHAL, 1996). Alexander e colaboradores (1986) sugerem quatro circuitos córtico-estriado-talâmicos (CCETs), que parecem atuar como filtros sensorio-motor (DELONG *et al.*, 1983): motor, oculomotor, cognitivo e límbico. Tais circuitos atuam como o substrato neural que regula a transmissão de informações sensoriais, a interpretação do meio em tempo real e a seleção do comportamento mais adequado (NUSBAUM e CONTRERAS, 2004).

Problemas no circuito CCET límbico estão relacionados a distúrbios associativos e alucinações. Pacientes esquizofrênicos, além de apresentarem alterações nesse circuito, também sofrem com prejuízos no CCET cognitivo (DREVETS *et al.*, 1997; GRAYBIEL, 1997). Assim como nas psicopatologias, manipulações farmacológicas, em especial nas sinapses córtico-estriatais, também afetam o filtro sensorio-motor (WAN e SWERDLOW, 1996).

Nesse contexto, o córtex cerebral atua como um processador neuronal. Em sua arquitetura, rica em neurônios, possui áreas responsáveis pelo primeiro processamento das informações vindas de neurônios aferentes; áreas vinculadas a processamentos refinados, como percepção, imaginação, pensamento, julgamento e decisão (JACOBSEN, 1935); e áreas que controlam a execução de comportamentos motores voluntários (WOOLSEY, 1958). As áreas sensitivas são compostas pelos córtices primários e secundários dos sentidos, mas antes que as informações sensoriais cheguem ao córtex, elas são reorganizadas pelo tálamo, para serem direcionadas aos devidos córtices sensoriais (SHERMAN e GUILLERY, 2002). Essa capacidade talâmica é influenciada pelos CCETs (COENEN e VENDRIK, 1972). Controlado por projeções GABAérgicas dos núcleos da base (PENNEY

e YOUNG, 1981), o tónus talâmico permite a passagem apenas de informações consideradas relevantes, a fim de não sobrecarregar o processador cortical.

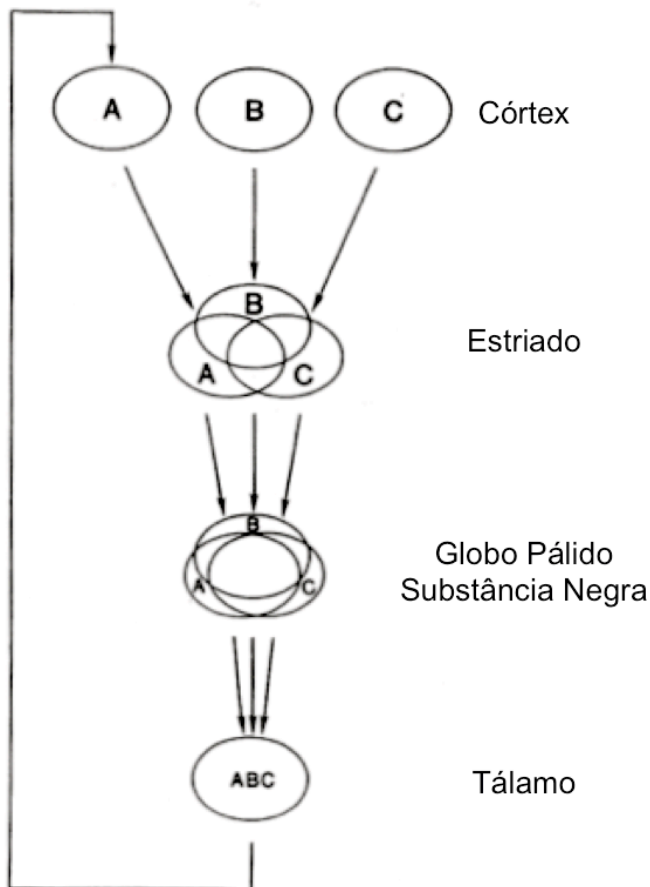


Figura 2. Circuito córtico-estriado-talâmico generalizado. Informações de várias áreas corticais (A, B e C) chegam ao estriado, a medida que são processadas simultaneamente, se sobrepõem parcialmente. O estriado envia mais projeções convergentes para o globo pálido ou substância negra, que projetará para o tálamo. Por fim, uma nova informação, com associação de A, B e C, é formada e influenciará o processamento cortical de informações, fechando o circuito. Retirado de ALEXANDER *et al.*, 1986).

Os núcleos da base funcionam como uma unidade inibitória coesa em forma de “funil”, integrando projeções de todo o córtex e promovendo uma via de transmissão das informações das áreas associativas límbicas e corticais até as áreas motoras (fig 2) (ALLEN e TSUKAHARA, 1974). O estriado é a principal entrada de informações nos núcleos da base e os neurônios espinhosos médios constituem 90-95% da população neuronal dessa estrutura. Esses neurônios espinhosos médios são classificados em dois grupos, que expressam diferentes tipos de receptores de dopamina (DA): neurônios GABAérgicos da via direta expressam receptores D<sub>1</sub> e os da via indireta expressam receptores D<sub>2</sub> (WILSON e KAWAGUCHI, 1996).

A liberação de glutamato (Glu) na sinapse córtico-estriatal estimula receptores NMDA do neurônio espinhoso médio, o que diminui o limiar para o disparo do potencial de ação dessa célula GABAérgica pós-sináptica (fig 3A). A sinapse córtico-estriatal é modulada por fibras dopaminérgicas provenientes da área tegmentar ventral (VTA) e parte compacta da substância negra (fig 3B).

As ações de DA sobre os neurônios GABAérgicos estriatais dependerão do receptor estimulado. Os receptores D<sub>2</sub> estão relacionados a incorporação de comportamentos psicomotores (FLORESCO, 2007), enquanto receptores D<sub>1</sub> estão associados à antecipação de recompensa e estímulos salientes (SCHULTZ, 2002). Foi sugerido que o estado psicótico deriva de uma saliência aberrante produzida por excesso de estimulação dos receptores D<sub>2</sub> do estriado (KAPUR *et al.*, 2005).

A ativação de receptores dopaminérgicos D<sub>2</sub> em neurônios estriatais estimula a liberação de eCBs por essas células. Os eCBs inibem a liberação de glutamato (Glu) (MATHUR e LOVINGER, 2012), entre outros neurotransmissores, por agirem como mensageiros retrógrados ao ativar receptores CB<sub>1</sub> pré-sinápticos (DIANA *et al.*, 2002). Isso diminui as chances de propagação do potencial de ação da célula pós-sináptica, que depende da ativação de receptores NMDA pelo Glu (GERDEMAN *et al.*, 2002). A exemplo do THC, o princípio ativo da *Cannabis* e agonista CB<sub>1</sub> que altera a percepção em humanos (SEWELL *et al.*, 2012), canabinóides diminuem a inibição tônica do tálamo, afetando o filtro sensorio-motor e permitindo que estímulos irrelevantes, que antes seriam barrados pelo tálamo, cheguem ao córtex.

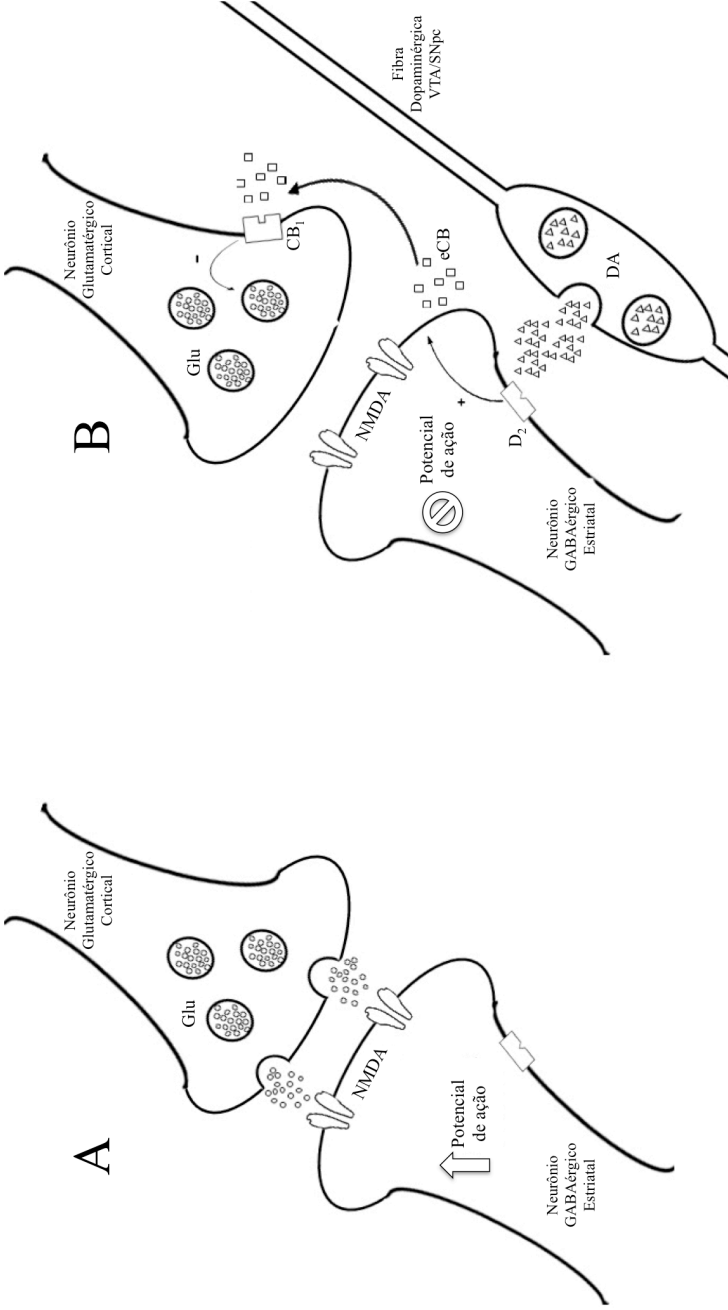


Figura 3. Esquema simplificado da hipótese da sinapse córtico-estriatal. A) Projeções excitatórias chegam do córtex no estriado. A estimulação de receptores NMDA pelo glutamato (Glu) pré-sináptico diminui o limiar para a deflagração do potencial de ação. B) Fibras da parte compacta da substância negra (SNpc) e área tegmentar ventral (VTA) liberam dopamina (DA) nos neurônios do estriado, ativando receptores  $D_2$ . Isso induz a liberação de endocanabinóides (eCB), que atuarão nos receptores  $CB_1$  pré-sinápticos, inibindo a liberação de Glu e, por consequência, o potencial de ação da célula pós-sináptica. Adaptado de MORRISON e MURRAY (2009).

### 1.3 Inibição pré-pulso do reflexo de sobressalto (PPI) e modelos de déficit no filtro sensorio-motor

Uma forma de se estudar a integridade do filtro sensorio-motor em humanos e em modelos animais é através do teste de inibição pré-pulso do reflexo do sobressalto (PPI). O reflexo de SS é uma resposta motora estereotipada frente a estímulos repentinos e intensos (SWERDLOW *et al.*, 2006). No fenômeno de PPI, a diminuição da resposta ao pulso (P), estímulo repentino e intenso, ocorre quando esse é precedido de um pré-pulso (pP), estímulo menos intenso (fig 4). Assim, o PPI reflete a ação protetora do filtro sensorio-motor contra interferências: o estímulo mais fraco não só desencadeia o seu processamento, como também é capaz de suprimir o processamento de um estímulo mais forte subsequente (GRAHAM, 1975).

Em seres humanos, a resposta de SS geralmente é avaliada por eletromiografia através do piscar de olhos (LÜTHY *et al.*, 2003). O estudo em modelos pré-clínicos das bases neurobiológicas do comportamento se baseia na homologia na circuitaria neural que regula o comportamento de humanos e de outros animais (SOUSA *et al.*, 2006). Em todas as espécies de mamíferos testadas, incluindo humanos, o pP reduz ou impede a resposta de SS causada pelo P, demonstrando ser um fenômeno translacional robusto (BRAFF *et al.*, 2001). Em animais, a resposta de estremecimento corpóreo provocado por estímulos, usualmente auditivos, é medida por um acelerômetro, sensível a movimentos dinâmicos (GEYER, 2006).

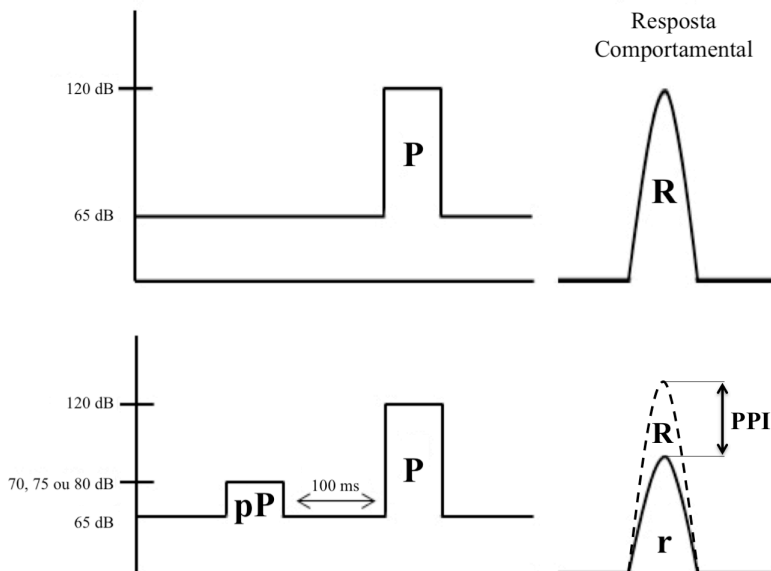


Figura 4. Inibição pré-pulso do reflexo de sobressalto (PPI). A figura representa a situação em que um estímulo forte (pulso, P) gera uma resposta (R), mas na presença de um estímulo fraco prévio (pré-pulso, pP), a resposta ao pulso é diminuída (r). O fenômeno de PPI é calculado a partir da diferença entre a resposta comportamental sem e com pré-pulso. Adaptado de KOCH e SCHNITZLER (1997).

O baixo nível de PPI representa problemas no filtro sensorio-motor e parece refletir uma atividade anormal do CCET (SWERDLOW *et al.*, 2008). Drogas perturbadoras do SNC - sejam agonistas canabinóides, dopaminérgicos, serotoninérgicos (5-HT<sub>2A/C</sub>), bem como antagonistas glutamatérgicos de NMDA - afetam tais circuitos e reduzem o PPI (BROSDA *et al.*, 2011). Por ser considerada um endofenótipo (ou marcador biológico) de esquizofrenia, a diminuição de PPI leva à especulação de que alterações no filtro sensorio-motor possam contribuir para a sintomatologia dessas doenças (BRAFF *et al.*, 2001). O PPI pode ser considerado um marcador biológico estado-dependente em pacientes esquizofrênicos, uma vez que maiores déficits estão associados a comportamentos estranhos e a alterações grave do pensamento formal. Essa redução de PPI observado em pacientes desaparece após a melhora clínica (MEINCKE *et al.*, 2004) e, corroborando essa ideia, alguns antipsicóticos usados na clínica são

eficazes em reverter o déficit de PPI apresentado pelos pacientes (WEIKE *et al.*, 2000; KUMARI e SHARMA, 2002).

O uso crônico, mas não agudo, de *Cannabis* está associado a prejuízo de PPI em indivíduos saudáveis de maneira semelhante ao observado em esquizofrênicos. Porém, essa alteração parece ser secundária a problemas de atenção sustentada (SCHOLES e MARTIN-IVERSON, 2009) e não um prejuízo global do filtro sensório-motor (QUEDNOW *et al.*, 2004). De maneira similar, pacientes esquizofrênicos usuários dessa planta também apresentam problemas de atenção sustentada, quando comparado a outros pacientes não usuários (SCHOLES-BALOG e MARTIN-IVERSON, 2011), destacando a importância do uso de *Cannabis* e perturbações observadas durante o estado psicótico.

Em modelos animais, o fitocanabinóide THC parece prejudicar ainda mais o filtro-sensório motor de ratos que cresceram em isolamento, que já apresentam déficit de PPI (MALONE e TAYLOR, 2006). O tratamento sistêmico com os agonistas canabinóides sintéticos WIN 55,212-2 (SCHNEIDER e KOCH, 2002) e CP 55,940 (MARTIN *et al.*, 2003) prejudica o PPI, mas tal alteração parece depender da exposição durante um período crítico do desenvolvimento (SCHNEIDER e KOCH, 2003). Ainda, o aumento de eCBs pela ação do AM404, um inibidor da receptação de eCBs e agonista TRPV<sub>1</sub>, prejudica o PPI por prolongar a ativação do receptor canabinóide CB<sub>1</sub>, efeito prevenido pelo pré-tratamento com o antagonista canabinóide rimonabanto (FERNANDEZ-ESPEJO e GALAN-RODRIGUEZ, 2004).

ECBs, como a AEA (ROSS, 2009) e o N-arachidonoil-dopamina (SAGAR *et al.*, 2004), apresentam afinidade pelo receptor TRPV<sub>1</sub> e alguns dos seus efeitos parecem mediados pela ativação desse canal. Apesar das ações centrais de TRPV<sub>1</sub> serem ainda pouco elucidadas, a ativação desse receptor parece responsável pela ação tipo-antipsicótica observada com o cannabidiol (CBD), um fitocanabinóide não psicotrópico, no PPI de ratos (LONG *et al.*, 2005).

Nesse sentido, decifrar os mecanismos neuronais e a farmacologia dos fenômenos que influenciam PPI favorece o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes para psicopatologias associadas ao filtro sensório-motor. Isso permite explorar o potencial terapêutico de moléculas que revertam disfunções do filtro sensório-motor, uma vez que existe uma necessidade urgente de melhores ferramentas farmacológicas para o tratamento de transtornos psicóticos. (ELLENBROEK, 2012). Apesar da ação psicomimética, drogas perturbadoras do SNC também podem ter papel relevante na clínica



psiquiátrica, em particular no tratamento de psicopatologias do espectro afetivo, como ansiedade e depressão (VOLLENWEIDER e KOMETER, 2010).

Entre as manipulações farmacológicas que reduzem o PPI estão: estimulação dos receptores  $D_2$ ; ativação do sistema serotoninérgico, especialmente os receptores 5-HT<sub>2A/C</sub>; bloqueio de canais NMDA (GEYER *et al.*, 2001) e ativação de receptores CB<sub>1</sub> (SCHNEIDER e KOCH, 2002). Porém, a diminuição do PPI não é um fenômeno encontrado apenas entre pacientes esquizofrênicos ou indivíduos sob efeitos de psicotomiméticos (SWERDLOW *et al.*, 2008). Pacientes que sofrem de transtorno obsessivo-compulsivo e síndrome de Gilles de la Tourette (KOHL *et al.*, 2012) também apresentam níveis anormalmente baixos de PPI. Para conectar os resultados de estudos com PPI com possíveis efeitos em quadros de psicose, se faz necessário que a manipulação apresente outras similaridades com a fisiopatologia da doença. Nesse contexto, o MK801, um antagonista do receptor glutamatérgico NMDA amplamente utilizado na pesquisa pré-clínica, se mostra um modelo farmacológico acessível para se estudar o potencial antipsicótico de novos compostos (ANDINÉ *et al.*, 1999; MANAHAN-VAUGHAN *et al.*, 2008). Visto que em roedores esse antagonista glutamatérgico induz comportamentos correlatos de sintomas apresentados por pacientes esquizofrênicos, esse modelo farmacológico de psicose demonstra uma boa validade de construto (RUJESCU *et al.*, 2006).

Conforme mencionado anteriormente, evidências relacionam canabinóides com psicoses em humanos, assim como indução de prejuízos em modelos animais genéticos, farmacológicos e desenvolvimental dessa doença (ARNOLD *et al.*, 2012). Apesar do efeito analgésico de  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI via ativação canabinóide não induzir a tétrade comportamental (SIMÃO DA SILVA *et al.*, 2011), já foi reportada atividade sobre o SNC quando a mistura de  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI foi administrada sistemicamente (ARAGÃO *et al.*, 2006). A  $\alpha$ AMI ainda demonstrou ação analgésica em modelos animais de dor induzido pela CAP e o efeito analgésico periférico de um derivado da mistura de triterpenos parece envolver neurônios aferentes que expressam o receptor TRPV<sub>1</sub>. Além disso, a atividade antipsicótica de CBD provavelmente envolve a ativação desses canais. Portanto, a hipótese desse trabalho é de que  $\alpha$ AMI, um dos constituintes da mistura de triterpenos e que também possui atividade antinociceptiva quando isolada, poderia prejudicar o filtro sensorio-motor de maneira similar a compostos que ativam o sistema canabinóide. Também foi escopo desse

trabalho investigar o envolvimento dos receptores vanilóides TRPV<sub>1</sub> centrais nos efeitos da  $\alpha$ AMI no PPI. Em vista da pouca literatura que correlaciona receptores vanilóides TRPV<sub>1</sub> e PPI, a ação da ativação e bloqueio desse canal também foi investigada.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos da administração central de  $\alpha$ AMI sobre o filtro sensorio-motor em ratos Wistar machos, assim como o envolvimento de receptores  $CB_1$  e  $TRPV_1$  para esses efeitos.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar os efeitos da administração icv de  $\alpha$ AMI sobre PPI;
- Avaliar o efeito do tratamento prévio com o antagonistas  $CB_1$ , AM251, nas alterações comportamentais induzidas pela  $\alpha$ AMI sobre PPI;
- Avaliar o possível papel do receptor  $TRPV_1$  sobre PPI;
- Avaliar o efeito do tratamento prévio com o agonista, CAP, e antagonista, capsazepina (CPZ), de  $TRPV_1$  nas alterações comportamentais induzidas pela  $\alpha$ AMI sobre PPI;
- Avaliar o efeito do tratamento com o agonista, CAP, do receptor  $TRPV_1$  nas alterações comportamentais induzidas por MK801 sobre PPI;
- Avaliar o efeito dos tratamentos utilizados sobre a locomoção dos animais.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Considerações éticas

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Para o Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Santa Catarina (PP00645/CEUA/UFSC). O número de animais utilizado foi o mínimo suficiente para a obtenção de análises estatísticas confiáveis e foram usadas as estratégias cabíveis que visassem minimizar os níveis de estresse e sofrimento dos animais em quaisquer das fases experimental ou de manutenção no biotério.

#### 3.2 Animais

Ratos *Wistar* machos, de 250 a 350 g (no dia da cirurgia, em torno de 75 dias de idade), fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina foram utilizados para esses experimento. Os animais foram mantidos em caixas de moradia, em grupos de 5-6, em ambiente com temperatura ( $21 \pm 2^\circ \text{C}$ ) e ciclo de claro/escuro (12/12 h) controlados. Os animais tiveram livre acesso a ração e água, a exceção do período dos experimentos comportamentais.

#### 3.3 Drogas

O antagonista do receptor glutamatérgico NMDA, MK801 (RBI, Natick, MA, EUA) foi diluído em solução salina (SAL, NaCl 0,9%), essa foi usada como seu controle intraperitoneal (ip).  $\alpha$ AMI (Sigma, St. Louis, MD, EUA), CAP, CPZ e AM251 (Tocris, Bristol, RU) foram diluídos no veículo intracerebroventricular (icv), que consiste de 1:2:7 Tween80@:DMSO:PBS, usado como solução controle icv. Os esquemas de tratamento e doses utilizadas foram baseadas em trabalhos publicados na literatura, bem como experimentos pilotos realizados no laboratório, conforme detalhado na seção 3.6 – delineamento experimental.

#### 3.4 Cirurgia estereotáxica

Seguindo o protocolo usado no laboratório (BITENCOURT *et al.*, 2008), os animais foram anestesiados com cetamina 100 mg/kg e xilazina 5 mg/kg ip e, assim que perdiam os reflexos, colocados no aparelho estereotáxico (Kopf, modelo 957, EUA). Feita a tricotomia, uma solução anestésica local e vasoconstritora (cloridrato de lidocaína

2% com norepinefrina 1:200.000 Lidocaína Geyer 2%, Brasil) foi administrada via subcutânea. Uma incisão expôs a calota craniana, o periósteo foi retirado e a calota limpa com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10%. Três furo foram feitos na calota craniana com o auxílio de uma broca ortodôntica: 2 para os parafusos que ajudam na fixação do capacete de acrílico e um para a inserção da cânula-guia (22 G, 10 mm) no ventrículo lateral direito, conforme o atlas *The Rat Brain: In Stereotaxic Coordinates* (PAXINOS e WATSON, 2007). As coordenadas foram calculadas em relação ao bregma: AP=-0,8 mm; ML=-1,6 mm; DV= -3,6 mm. Por fim, a cânula e os parafusos foram fixados ao crânio com resina acrílica autopolimerizável e mandris de aço inox (n° 26 de 0,35 mm de diâmetro) introduzidos nas cânulas a fim de evitar obstrução durante o período pós-operatório. Após o procedimento cirúrgico, os animais foram mantidos em local aquecido até a recuperação da anestesia, sendo posteriormente alojados em caixas moradias com água e comida *ad libitum* e acompanhados diariamente até a realização dos experimentos, entre 5 a 7 dias após a cirurgia.

### 3.5 Testes Comportamentais

#### 3.5.1 Aparelho de sobressalto e inibição pré-pulso do reflexo do sobressalto (PPI)

Os ratos foram colocados em uma gaiola de arame (16,5 x 5,1 x 7,6 cm) suspensa no interior de uma estrutura de PVC (25 x 9 x 9 cm) ligada através de quatro parafusos à plataforma com um acelerômetro, que capta a resposta de SS do animal. A gaiola e a plataforma ficam dentro de uma câmara (64 x 60 x 40 cm) ventilada e acusticamente isolada. A reação de SS dos ratos gera uma pressão sobre o acelerômetro e sinais analógicos são amplificados, digitalizados e analisados por um software do sistema de medida de SS (Insight, São Paulo, Brasil). Esse sistema também controla outros parâmetros do teste (intensidade do estímulo acústico, intervalo entre estímulos, etc.). Dois alto-falantes foram utilizados como fonte de estímulo sonoro. Os procedimentos de calibração do acelerômetro foram realizados diariamente antes de cada experimento para assegurar uma equivalência de sensibilidade da plataforma.



Figura 5. Aparelho de SS e inibição pré-pulso do reflexo do sobressalto.

No início de cada sessão, os animais foram colocados na câmaras de SS por 5 min, para um período de aclimatização e expostos a um ruído branco de fundo de 65 dB, que persistiu durante o restante da sessão.

Para o teste, foram disparadas 70 estímulos: 2 blocos SS, cada um com 10 estímulos de P (120 dB por 40 ms), foram disparados no início (SS<sub>1</sub>) e no fim da sessão de teste (SS<sub>2</sub>), para verificar a resposta basal e se essa resposta se manteve após o teste.

A habituação (H) foi utilizada como parâmetro de aprendizagem e calculada como a redução na magnitude de sobressalto entre o primeiro e o último bloco:  $H = [100 - 100 * (SS_1) / (SS_2)]$ .

Entre os blocos SS<sub>1</sub> e SS<sub>2</sub>, os animais passaram por 50 estímulos pseudorandomizadas: 10 P (120 dB por 40 ms), 30 PP (pP seguido de P, com 10 estímulos para cada intensidade de pP: 5, 10 e 15 dB acima do barulho de fundo e intervalo entre estímulos de 100 ms) e 10 estímulos sem estímulo. O intervalo entre cada estímulo foi de 15 s. A porcentagem de inibição pré-pulso do reflexo de sobressalto (PPI) induzida por cada uma das três intensidades de pP foi calculada como:  $PPI = [100 - 100(PP)/(P)]$ .

### 3.5.2 Monitor de atividade (MA)

Os ratos foram colocados na gaiola de motilidade EP-145 (Insight SP) medindo (50 x 48 x 50 cm) por 15 min e, através de 16 fotocélulas

em cada eixo (X, Y e Z), os movimentos do animal foram registrados e analisados em blocos de 5 min através do software do sistema do MA (Insight, São Paulo, Brasil).

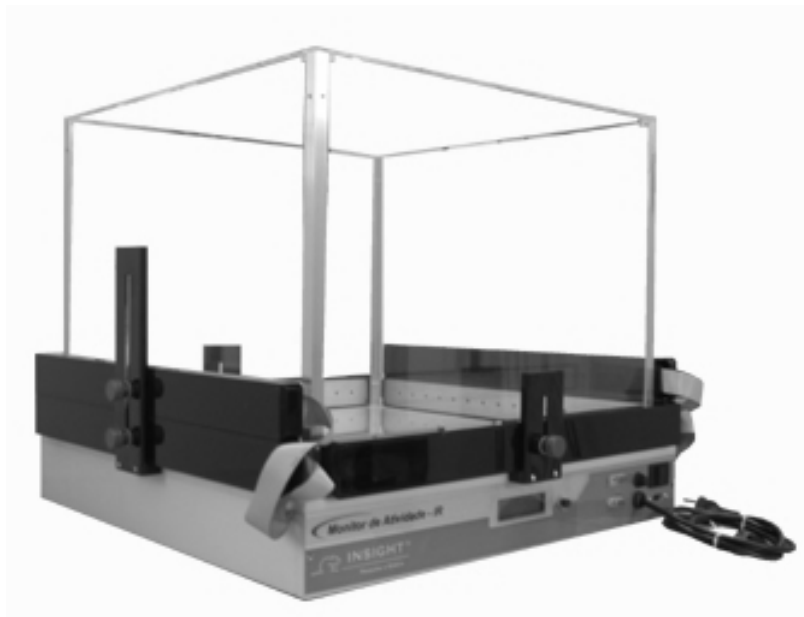


Figura 6. Monitor de atividade.

### 3.6 Delineamento experimental

Inicialmente, foram conduzidos experimentos para padronização do modelo nas condições experimentais do laboratório e validação das doses inicialmente testadas, que foram baseadas na literatura. A seleção de doses para os experimentos posteriores buscou a menor dose (a fim de evitar ligações inespecíficas) que apresentasse efeito sobre o PPI e, preferencialmente, sem afetar a locomoção. Os tratamentos ip (SAL ou MK801), no volume de 1 ml/kg, aconteceram 30 min antes dos animais serem postos nos aparelhos de experimentação. Já os tratamentos icv foram no volume de 1  $\mu$ l/rato, imediatamente antes de entrar no aparelho ou, quando ocorreu tratamento com duas drogas, 5 min e imediatamente antes de entrar no aparelho.

Os animais passaram por cirurgia estereotáxica para a implantação da cânula-guia de administração icv, com exceção apenas dos animais utilizados no experimento de curva dose-resposta de

MK801 (experimento 5 - 3.6.5), os quais não foram operados. Os animais tiveram entre 5-7 dias de recuperação cirúrgica.

Após esse período, no dia do teste de PPI, os animais foram transferidos para uma antessala, onde ambientaram por, pelo menos, 30 min antes do início do experimento, que foram conduzidos durante o dia, entre às 8 e 16 h. Após 5-7 dias do teste de PPI, intervalo no qual os animais não foram tratados nem manipulados, esses foram randomizados para o teste no MA. No teste com o MA, os primeiros 5 min foram considerados como atividade exploratória no ambiente novo e os 10 min seguintes, como atividade locomotora. Esse experimento foi utilizado como controle psicomotor, uma vez que alterações na locomoção, como a sedação, podem interferir no teste de PPI.

### 3.6.1 Experimento 1 – Avaliar os efeitos da $\alpha$ AMI no PPI

O objetivo desse experimento foi avaliar se a  $\alpha$ AMI afeta o PPI de ratos, bem como selecionar a menor dose que alterasse o PPI, mas não afetasse a atividade locomotora, para os experimentos posteriores.

Conforme descrito na figura 7, os testes comportamentais ocorreram imediatamente após o tratamento icv com veículo ou  $\alpha$ AMI 0,1; 1,0 ou 10,0  $\mu$ g/rato.

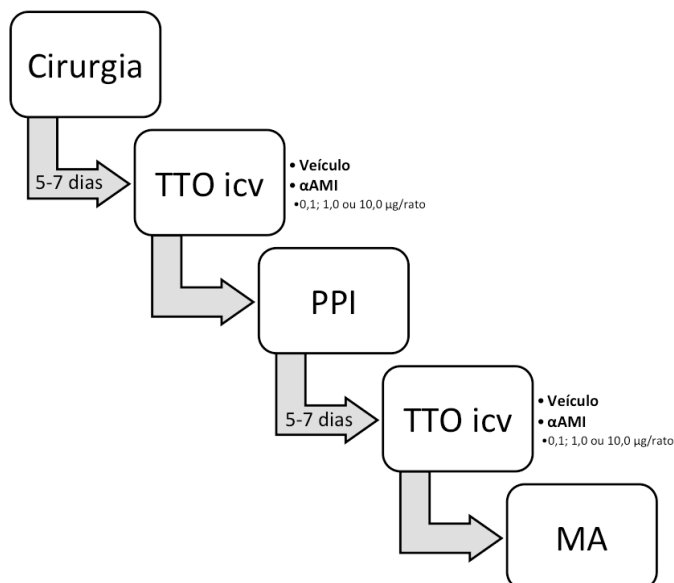


Figura 7. Esquema experimental 1: efeitos da  $\alpha$ AMI.



### 3.6.2 Experimento 2 – Avaliar o efeito do tratamento prévio com o antagonista CB<sub>1</sub>, AM251, nas alterações comportamentais induzidas pela $\alpha$ AMI sobre PPI

A fim de avaliar se o efeito da  $\alpha$ AMI sobre PPI é por uma ação dependente do receptor CB<sub>1</sub>, o objetivo desse experimento foi investigar a possível envolvimento desse receptor canabinoide, através do seu bloqueio com o antagonista seletivo AM251, nas alterações comportamentais induzidas pela administração central de  $\alpha$ AMI no PPI de ratos. A dose de usada AM251 já demonstrou reverter ações via CB<sub>1</sub> de eCBs (UMATHE *et al.*, 2012). Conforme descrito na figura 8, foram injetados o veículo ou AM251 1,0  $\mu$ g/rato e, 5 min após, veículo ou  $\alpha$ AMI 0,1  $\mu$ g/rato. Os testes comportamentais ocorreram imediatamente após o último tratamento icv.

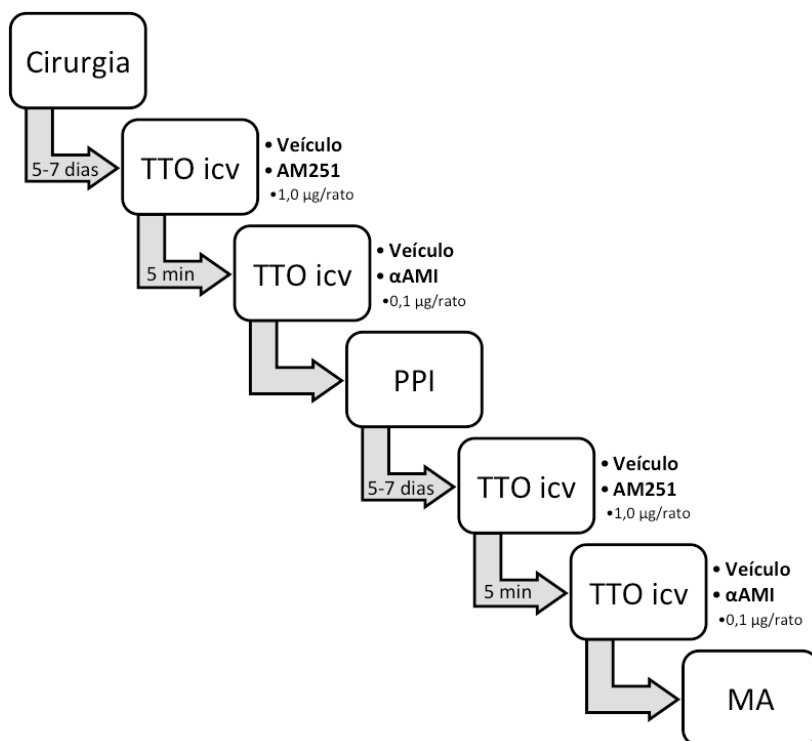


Figura 8. Esquema experimental 2: efeito do tratamento prévio com AM251 nas alterações comportamentais induzidas pela  $\alpha$ AMI.

### 3.6.3 Experimento 3 – Avaliar os efeitos per se do agonista e antagonista do receptor TRPV<sub>1</sub> sobre PPI

Em vista dos poucos trabalho com receptores TRPV<sub>1</sub> em modelos de PPI, primeiramente foi estabelecida uma curva dose-resposta do agonista e antagonista desse receptor para posteriores experimentos com  $\alpha$ AMI. Foi objetivo desse experimento também investigar a possível ação de CAP e CPZ no PPI de ratos. A faixa de doses escolhida para os ligantes vanilóides já demonstrou efeito central em outros modelos animais (MANNA e UMATHE, 2011).

Conforme descrito nas figuras 9, os testes comportamentais ocorreram imediatamente após o tratamento icv com veículo, CAP ou CPZ.

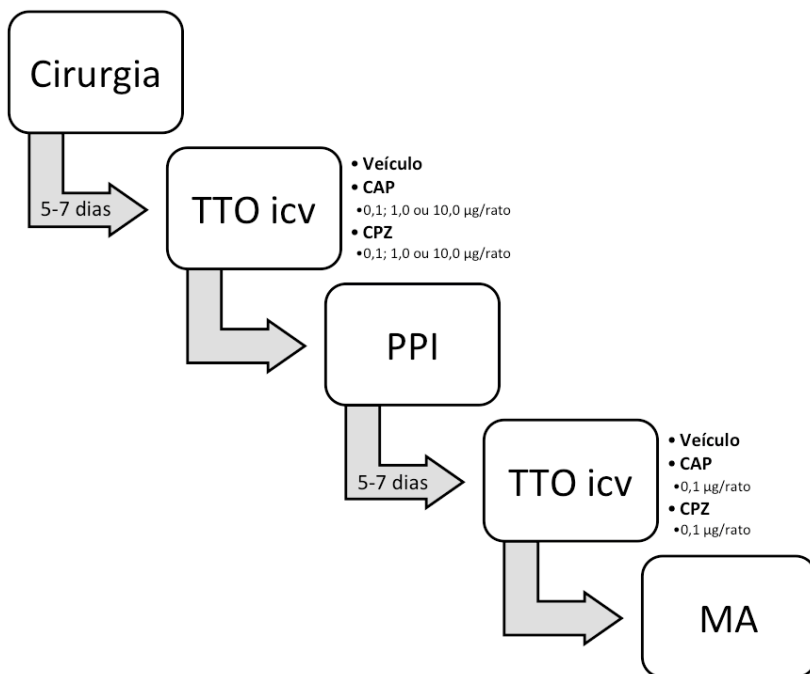


Figura 9. Esquema experimental 3: efeito de CAP e CPZ.

### 3.6.4 Experimento 4 – Avaliar o envolvimento do receptor TRPV<sub>1</sub> nas alterações comportamentais induzidas pela $\alpha$ AMI sobre PPI;

O objetivo desse experimento foi avaliar se o efeito da  $\alpha$ AMI sobre o PPI é influenciada pelo receptor TRPV<sub>1</sub>. Conforme descrito na figura 10, foram administrados veículo, CAP 0,1  $\mu$ g/rato ou CPZ 0,1  $\mu$ g/rato e, 5 min após, veículo ou  $\alpha$ AMI 0,1  $\mu$ g/rato. Os testes comportamentais ocorreram imediatamente após o último tratamento icv.

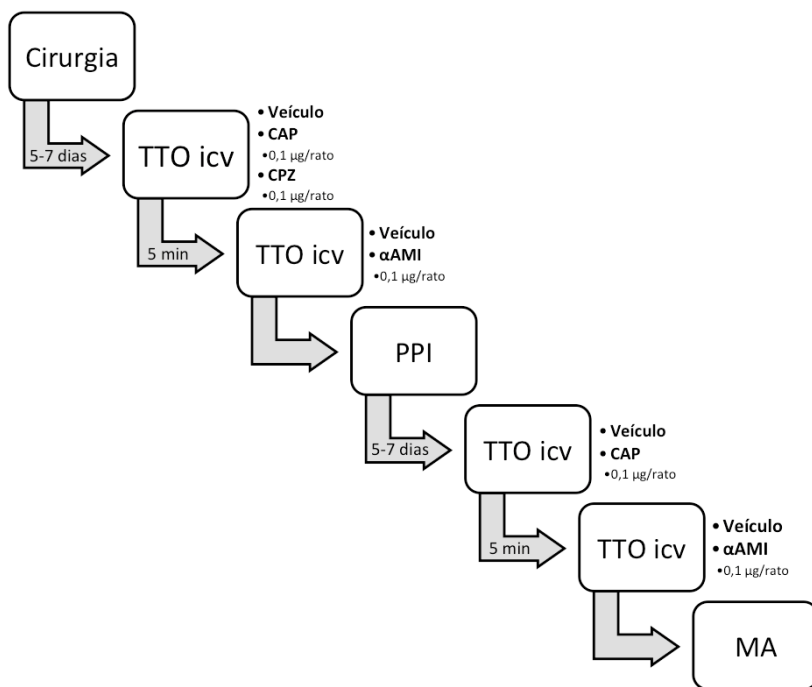


Figura 10. Esquema experimental 4: efeito do tratamento prévio com CAP ou CPZ nas alterações comportamentais induzidas pela  $\alpha$ AMI.

### 3.6.5 Experimento 5 – Avaliar a influência do receptor TRPV<sub>1</sub> nas alterações comportamentais induzidas por MK801 no PPI;

Uma vez que a CAP foi capaz reverter o déficit de PPI induzido pela  $\alpha$ AMI, o objetivo desse experimento foi investigar se essa ação também reverte o prejuízo induzido pela administração sistêmica de um antagonista do receptor glutamatérgico NMDA, validado como um

modelo farmacológico na triagem de compostos antipsicóticos (ANDINÉ *et al.*, 1999). Para esses experimentos, as doses de MK801 testadas foram baseadas na literatura (BAKSHI e GEYER, 1995; DEPOORTERE *et al.*, 1999; KESBY *et al.*, 2006) e os animais não passaram por cirurgia estereotáxica pois só receberam administrações ip de salina ou MK801 (0,05; 0,1 e 0,2 mg/kg). Conforme descrito na figura 11, os testes comportamentais ocorreram 30 min após o tratamento ip.

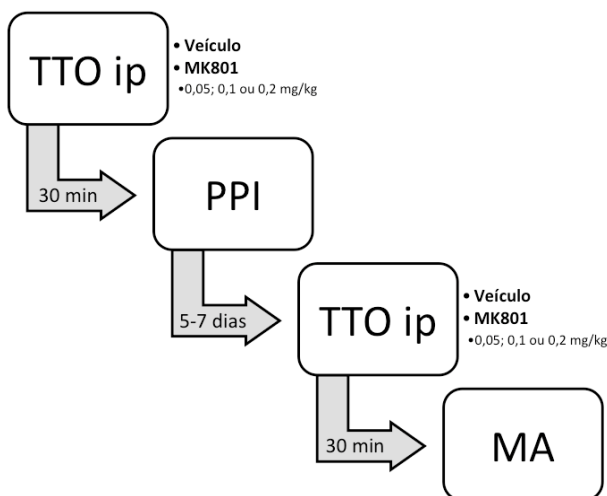


Figura 11. Esquema experimental 5: efeito de MK801.

Uma vez estabelecida a curva dose-resposta de MK801 nos teste de PPI e locomoção, doses que alteraram esses comportamentos foram usadas para experimentos posteriores com CAP.

A fim de avaliar uma possível ação benéfica da ativação de TRPV<sub>1</sub> sob o déficit induzido pelo modelo com MK801, conforme descrito na figura 12, o animais operados foram tratados com salina ou MK801 (0,2 mg/kg para teste de PPI e 0,1 mg/kg para teste de locomoção) e, 30 min após, veículo ou CAP 0,1 µg/rato. Os testes comportamentais ocorreram imediatamente após o tratamento icv.

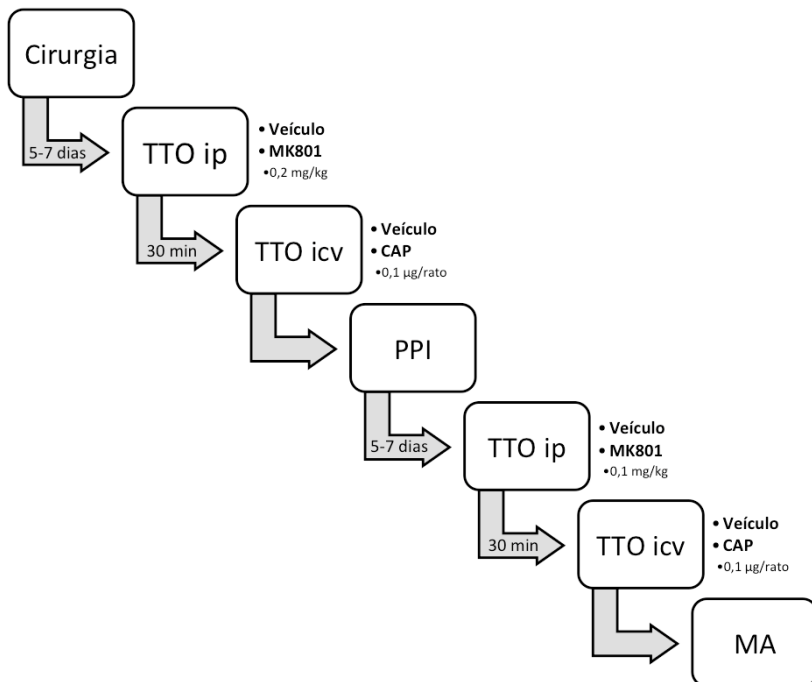


Figura 12. Esquema experimental 6: efeito do tratamento com CAP nas alterações comportamentais induzidas por MK801.

### 3.7 Análise estatística

Os dados foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) de uma via (tratamento) ou de duas vias (pré-tratamento x tratamento) no programa Statistica® 10.0 (StatSoft Inc., EUA). Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes e, quando apropriado, a análise *post hoc* de Newman-Keuls foi utilizada. Os gráficos foram construídos utilizando a média e erro padrão da média (EPM) no programa PrismGraph® 5.0.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Experimento 1. Efeito da administração aguda de $\alpha$ AMI sobre PPI de ratos

ANOVA de uma via revelou diferença significativa do tratamento ( $p < 0,05$ ) no PPI nas três diferentes intensidades de pP utilizadas: 70 ( $F_{3,28}=10,41$ ), 75 ( $F_{3,28}=8,27$ ) e 80 ( $F_{3,28}=13,07$ ) dB. Além disso, o tratamento com  $\alpha$ AMI também alterou os parâmetros de H ( $F_{3,28}=6,89$ ) e atividade locomotora ( $F_{3,25}=3,16$ ) dos animais. A análise *post hoc* de Newman-Keuls demonstrou que o tratamento com  $\alpha$ AMI, nas 3 doses, causou diminuição de PPI (fig 13) e da H (apêndice A). Os gráficos de PPI com pP de 70 e 80 dB estão ilustrados no apêndice B.

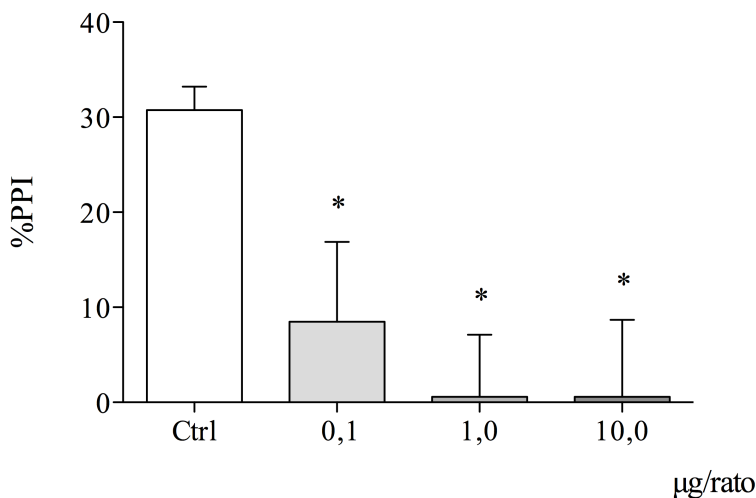


Figura 13. Efeito da  $\alpha$ AMI (0,1; 1,0 ou 10,0  $\mu$ g/rato) no PPI, com pP de 75 dB. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA/Newman-Keuls,  $n=7-10$  animais. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.

O teste de Newman-Keuls revelou ainda que somente a dose mais alta de  $\alpha$ AMI (10,0  $\mu$ g/rato) diminuiu a atividade locomotora (fig 14) dos animais. Por prejudicar o PPI, mas sem afetar a locomoção dos

animais, a dose de  $\alpha$ AMI 0,1  $\mu$ g/rato foi adotada nos experimentos posteriores.

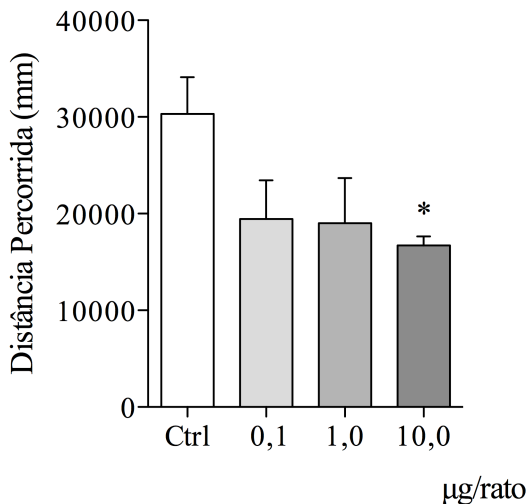


Figura 14. Efeito da  $\alpha$ AMI (0,1; 1,0 ou 10,0  $\mu$ g/rato) na atividade locomotora. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA/Newman-Keuls, n=6-8 animais. \*p<0,05 em comparação ao grupo controle.

#### 4.2 Experimento 2. Efeito do pré-tratamento com antagonista seletivo dos receptores canabinóides CB<sub>1</sub> no déficit de PPI induzido pela $\alpha$ AMI em ratos

Os resultados ilustrados na figura 15 foram analisados por ANOVA de duas vias, que revelou diferença (p<0,05) do tratamento ( $F_{1,30}=7,03$ ), mas sem efeito do pré-tratamento ( $F_{1,30}=3,04$ , p=0,09). Houve interação significativa (p<0,05) entre estes os fatores no PPI, nas três diferentes intensidades de pP utilizadas: 70 ( $F_{1,30}=16,30$ ), 75 ( $F_{1,30}=12,64$ ) e 80 ( $F_{1,30}=12,64$ ) dB; além de interação na H ( $F_{1,30}=5,90$ ). A análise *post hoc* de Newman-Keuls demonstrou que, embora o pré-tratamento com AM251 (1,0  $\mu$ g/rato) não tenha alterado os parâmetros analisados, as respostas induzidas pela  $\alpha$ AMI foram prevenidas com o pré-tratamento com esse antagonista seletivo CB<sub>1</sub>. A administração de  $\alpha$ AMI (0,1  $\mu$ g/rato) reduziu PPI nas intensidades de pP de 70 e 75 dB (fig 15). Com pP de 80 dB não houve diminuição significativa de PPI, mas

sim uma tendência ( $p=0,07$ ). Em relação a H, o tratamento com  $\alpha$ AMI reduziu esse parâmetro e o bloqueio dos receptores  $CB_1$  também reverteu essa alteração. Os gráficos de PPI com pP de 70 e 80 dB estão ilustrados no apêndice B. Nenhum tratamento alterou a locomoção dos animais (fig 16).

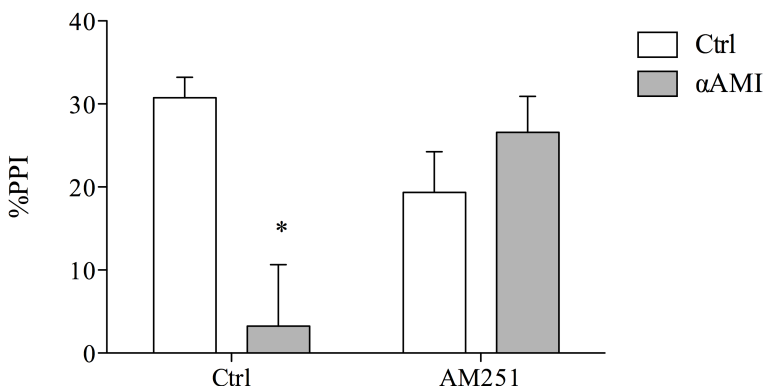


Figura 15. Influência do antagonismo dos receptores  $CB_1$ , após o pré-tratamento com AM251 (1,0  $\mu$ g/rato), na alteração de PPI, com pP de 75 dB, induzida pela  $\alpha$ AMI (0,1  $\mu$ g/rato). Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA de duas vias/Newman-Keuls,  $n=8-9$  animais. \* $p<0,05$  em comparação ao grupo controle.

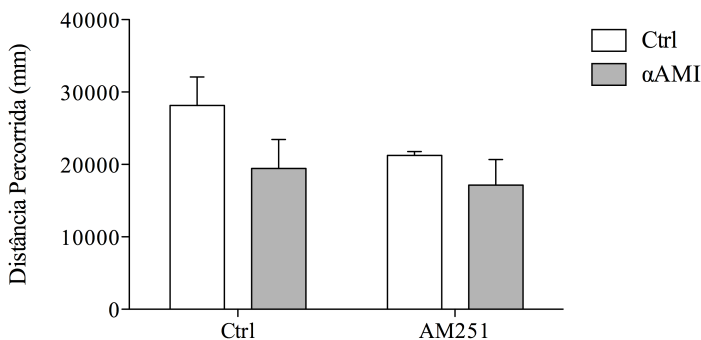


Figura 16. Atividade locomotora dos grupos pré-tratados com AM251 (1,0  $\mu$ g/rato) e tratados com  $\alpha$ AMI (0,1  $\mu$ g/rato). Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA de duas vias,  $n=6-8$  animais.



### 4.3 Experimento 3. Efeito da administração aguda do agonista e antagonista dos receptores TRPV<sub>1</sub> sobre PPI de ratos

ANOVA de uma via não revelou diferença significativa dos fatores em nenhum dos parâmetros analisados. O PPI não foi afetado pelo tratamento com CAP [70 ( $F_{3,29}=0,45$ ), 75 ( $F_{3,29}=0,18$ ) e 80 dB ( $F_{3,29}=0,71$ )], nem CPZ [70 ( $F_{3,30}=0,30$ ), 75 ( $F_{3,30}=1,57$ ) e 80 dB ( $F_{3,30}=0,11$ )], indicando que nem a ativação nem bloqueio de TRPV<sub>1</sub> afeta diretamente o PPI. As figuras 17 e 18 ilustram os gráficos de PPI com pP de 75 dB para CAP e CPZ, respectivamente. Os gráficos de PPI com pP de 70 e 80 dB estão ilustrados no apêndice B. As menores doses testadas no PPI também não alteraram a atividade locomotora dos animais ( $F_{2,20}=2,04$ , fig 19). Devido a ausência de efeito sobre o PPI com as doses testadas, a menor dose do agonista e do antagonista TRPV<sub>1</sub> foram eleitas para os experimentos posteriores.

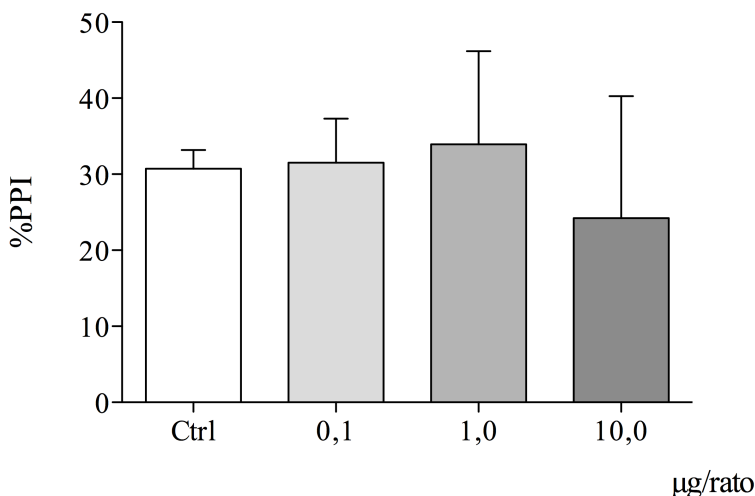


Figura 17. Efeito de CAP (0,1; 1,0 ou 10,0 µg/rato) no PPI, com pP de 75 dB. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA, n=8-10 animais.

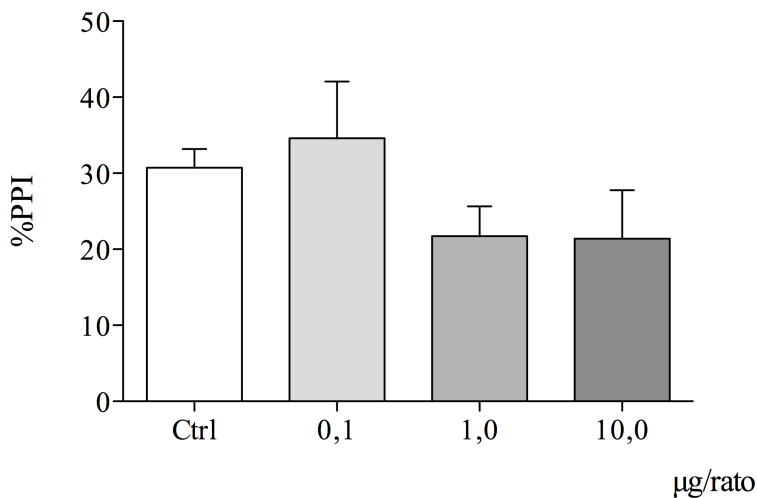


Figura 18. Efeito de CPZ (0,1; 1,0 ou 10,0 µg/rato) no PPI, com pP de 75 dB. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA, n=8-10 animais.

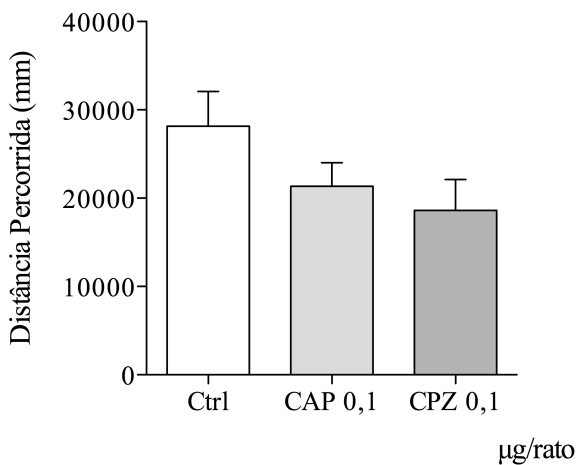


Figura 19. Locomoção dos grupos tratados com CAP (0,1 µg/rato) ou CPZ (0,1 µg/rato). Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA, n=7-8 animais.

#### 4.4 Experimento 4. Efeito do pré-tratamento com agonista e antagonista dos receptores vanilóides TRPV<sub>1</sub> no déficit de PPI induzido pela $\alpha$ AMI em ratos

ANOVA de duas vias revelou diferença ( $p < 0,05$ ) do tratamento ( $F_{1,43}=15,35$ ), bem como do pré-tratamento ( $F_{2,43}=4,27$ ). Houve interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre estes fatores no PPI nas intensidades de pP de 70 dB ( $F_{2,43}=3,72$ ) e 75 dB ( $F_{2,43}=4,17$ ; fig 20), além de uma tendência com pP de 80 dB ( $F_{2,43}=3,01$ ,  $p=0,059$ ). Os gráficos de PPI com pP de 70 e 80 dB estão ilustrados no apêndice B. A análise *post hoc* de Newman-Keuls demonstrou que o tratamento com  $\alpha$ AMI (0,1  $\mu$ g/rato) causou diminuição de PPI nas 3 intensidades utilizadas. Apesar de não revelar interação entre os tratamentos no parâmetro H ( $F_{2,43}= 0,57$ ,  $p=0,56$ ), ANOVA mostrou que o fator  $\alpha$ AMI apresenta efeito significativo ( $F_{1,43}= 8,80$ ,  $p < 0,05$ ).

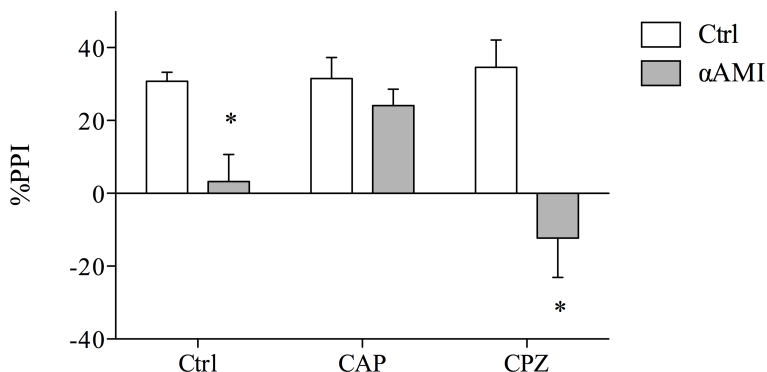


Figura 20. Influência da estimulação e antagonismo dos receptores TRPV<sub>1</sub>, após o pré-tratamento com CAP (0,1  $\mu$ g/rato) ou CPZ (0,1  $\mu$ g/rato), na alteração de PPI, com pP de 75 dB, induzida pela  $\alpha$ AMI (0,1  $\mu$ g/rato). Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA de duas vias/Newman-Keuls,  $n=8-10$  animais. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.

Quanto à atividade locomotora (fig 21), uma vez que apenas a CAP afetou a ação da  $\alpha$ AMI e CPZ *per se* não alterou a locomoção, somente a ação do agonista de TRPV<sub>1</sub> foi testada. Não houve influência do tratamento com  $\alpha$ AMI ou CAP, bem como não houve interação,

sobre distância percorrida durante a atividade locomotora ( $F_{1,25}=0,17$ ,  $p=0,68$ ).

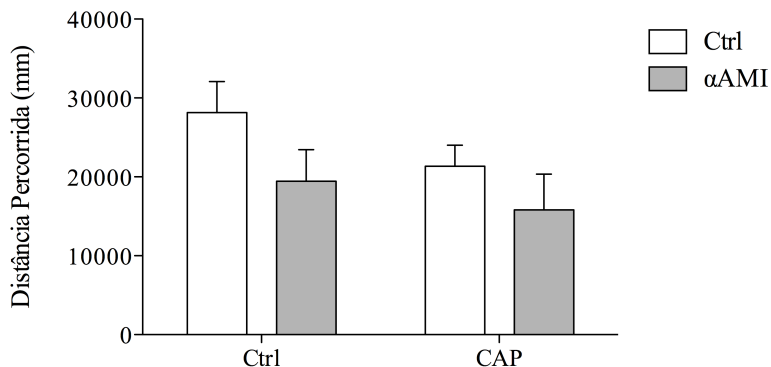


Figura 21. Locomoção dos grupos tratados com CAP (0,1  $\mu\text{g}/\text{rato}$ ) e  $\alpha\text{AMI}$  (0,1  $\mu\text{g}/\text{rato}$ ). Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA de duas vias,  $n=7-8$  animais.

#### 4.5 Experimento 5. Efeito do pré-tratamento com agonista dos receptores vanilóides TRPV<sub>1</sub> no déficit de PPI induzido por MK801 em ratos

ANOVA de uma via revelou influência significativa ( $p<0,05$ ) do tratamento com MK801 nos parâmetros SS ( $F_{3,25}=5,08$ ), H ( $F_{3,25}=5,50$ ) e PPI, nas três diferentes intensidades de pP: 70 ( $F_{3,25}=6,78$ ), 75 ( $F_{3,25}=6,06$ ) e 80 ( $F_{3,25}=8,60$ ) dB. A análise *post hoc* de Newman-Keuls demonstrou que o tratamento com MK801 0,1 mg/kg aumentou SS, diminuiu da H (apêndice B) e aumentou a atividade locomotora (fig 23). Já MK801 0,2 mg/kg diminuiu a inibição (PPI, fig 22) nas 3 intensidades diferentes de pP, além de aumentar a atividade locomotora (fig 23) dos animais. Os gráficos de PPI com pP de 70 e 80 dB estão ilustrados no apêndice B. Assim, a dose de 0,2 mg/kg foi utilizada no experimento de PPI subsequente, por diminuir o PPI, mas sem alterar os outros parâmetros do teste, enquanto a dose 0,1 mg/kg foi escolhida para o experimento de locomoção, por ser a menor dose a aumentar a atividade locomotora.

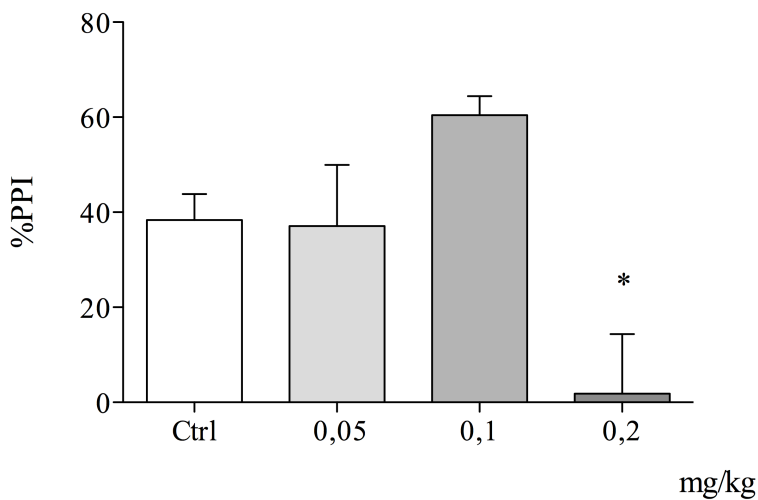


Figura 22. Efeito de MK801 (0,05; 0,1 ou 0,2 mg/kg) no PPI, com pP de 75 dB. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA/Newman-Keuls, n=6-8 animais. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.

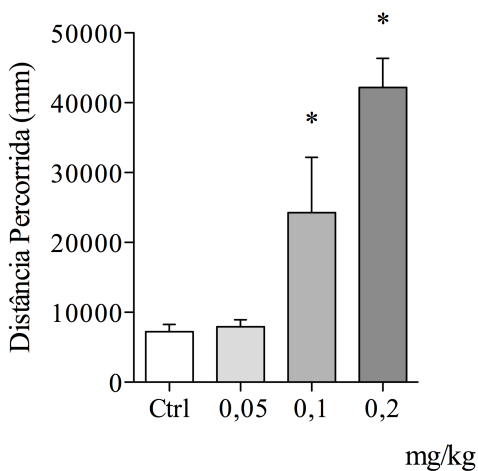


Figura 23. Efeito de MK801 (0,05; 0,1 ou 0,2mg/kg) na locomoção. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA/Newman-Keuls, n=6-8 animais. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.

ANOVA de duas vias revelou interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre os fatores nos parâmetros PPI, quando o pP foi de 70 dB ( $F_{1,31}=6,73$ ,  $p < 0,05$ ) e atividade locomotora ( $F_{1,25}=150,43$ ). O teste estatístico também demonstrou tendência à significância nas intensidades de 75 ( $F_{1,31}=3,87$ ,  $p=0,058$ ) e 80 dB ( $F_{1,31}=4,11$ ,  $p=0,051$ ). A análise *post hoc* de Newman-Keuls demonstrou que o tratamento com MK801 reduziu PPI, nas três intensidades de pP, e o tratamento com CAP 0,1  $\mu\text{g}/\text{rato}$  reverteu esse déficit (fig 24). Os gráficos de PPI com pP de 70 e 80 dB estão ilustrados no apêndice B. O teste de Newman-Keuls também apontou que o tratamento com MK801 aumentou a atividade locomotora dos animais de maneira semelhante ao observado no experimento anterior. A hiperlocomoção induzida por MK801 foi atenuada (fig 25) pelo tratamento com CAP ( $F_{1,25}=5,18$ ).

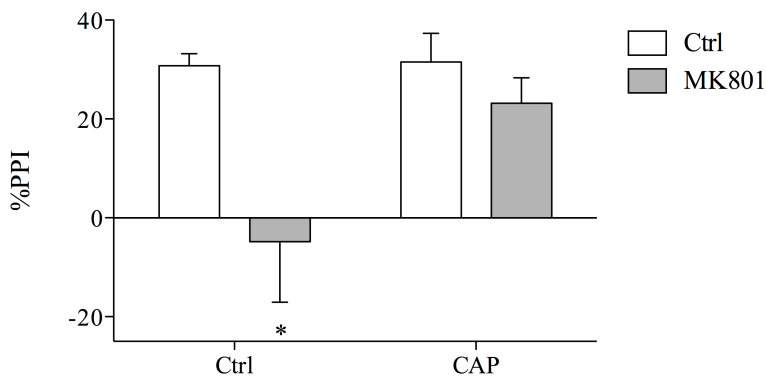


Figura 24. Influência da estimulação dos receptores TRPV<sub>1</sub>, pelo tratamento com CAP (0,1  $\mu\text{g}/\text{rato}$ ), na alteração de PPI, com pP de 75 dB, induzida por MK801 0,2 mg/kg. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA de duas vias/Newman-Keuls,  $n=8-9$  animais. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.

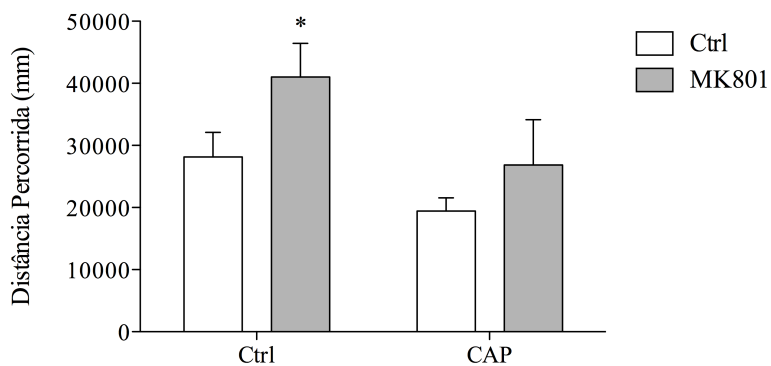


Figura 25. Locomoção dos grupos tratados com CAP (0,1  $\mu\text{g}/\text{rato}$ ) e MK801 0,1 mg/kg. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA de duas vias/Newman-Keuls, n=7-8 animais.

## 5 DISCUSSÃO

O presente estudo buscou investigar os efeitos da  $\alpha$ AMI sobre o filtro sensorio-motor e os resultados demonstraram que a injeção icv de  $\alpha$ AMI prejudicou o PPI, porém esse déficit foi prevenido com o bloqueio do receptor CB<sub>1</sub>. O bloqueio dos receptores TRPV<sub>1</sub> não afetou o PPI, nem as ações da  $\alpha$ AMI nesse protocolo. No entanto, a ativação desses canais reverteu o prejuízo de PPI induzido pela  $\alpha$ AMI e pelo MK801, mas sem afetar o PPI *per se*. É importante salientar que esses resultados foram encontrados com doses que não interferiram na locomoção dos animais, a exceção do tratamento com MK801.

O PPI é um paradigma comportamental que foi utilizado nesse estudo a fim de avaliar a integridade do filtro sensorio-motor após o tratamento com  $\alpha$ AMI e ligantes dos receptores NMDA, CB<sub>1</sub> e TRPV<sub>1</sub>. Os parâmetros de SS e H dos animais também foram avaliados durante o teste de PPI. Ao referir-se à redução progressiva da resposta a um estímulo quando esse é apresentado repetidamente, a H é considerada a forma mais simples de aprendizagem e plasticidade comportamental (GROVES e THOMPSON, 1970). Essa pode ser farmacologicamente manipulada (GEYER e TAPSON, 1988) e estudos indicam que, assim como no PPI, problema de H pode ser um marcador fenotípico para déficits no processamento de informações em certas psicopatologias, como esquizofrenia (BRAFF *et al.*, 1992; LUDEWIG *et al.*, 2003). Adicionalmente, foi avaliada a locomoção dos animais, sobre influência dos tratamentos já descritos, no MA.

As três doses de  $\alpha$ AMI testadas causaram diminuição de PPI em todas as intensidades de pP testadas e essas alterações foram observadas inclusive em doses que não diminuíram a atividade locomotora dos animais. Perfil semelhante a esse é produzido por drogas perturbadoras do SNC e pelos modelos animais de psicose mais estudados (GEYER, 1998; GEYER e SWERDLOW, 2001). Apesar da ausência de hiperlocomoção, característica comum em modelos farmacológicos glutamatérgicos e dopaminérgicos preditivos de comportamentos do tipo psicótico (DEUTSCH *et al.*, 2006), o prejuízo do filtro sensorio-motor sugere uma possível ação psicotomimética induzida pela administração central da  $\alpha$ AMI. A administração central da  $\alpha$ AMI também prejudicou a H dos animais, indicando um prejuízo na atenção e no processamento da informação, considerado um aspecto bastante preponderante na esquizofrenia. Este resultado sobre a habituação aos estímulos se assemelha ao que ocorre com outras drogas psicotomiméticas, como a



fenciclidina e a *d*-anfetamina, em modelos animais (KLAMER *et al.*, 2004).

Em relação a ambulação, a maior dose de  $\alpha$ AMI testada prejudicou a atividade locomotora. Considerando que a sedação pode diminuir a resposta de SS dos animais e mascarar ações no PPI, a menor dose de  $\alpha$ AMI foi utilizada nos experimentos posteriores, por causar redução do PPI sem alterar a ambulação dos animais. Um estudo anterior mostrou que a administração sistêmica de  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI, em doses acima de 10 mg/kg ip (ARAGÃO *et al.*, 2006), promove uma redução da atividade locomotora no teste do campo aberto, sem alterar a coordenação motora no teste de rotarod. Esse resultado indica que a  $\alpha$ AMI possivelmente não induz a perda da coordenação motora, fator que poderia prejudicar a interpretação dos resultados de PPI e locomoção. A redução da ambulação dos animais tratados com altas doses de  $\alpha$ AMI contrapõe a hiperlocomoção induzida por modelos animais clássicos com a administração de MK801 (MANAHAN-VAUGHAN *et al.*, 2008) e anfetamina (WHITE *et al.*, 2006). Todavia, outras drogas perturbadoras do SNC, como os agonistas serotoninérgicos LSD e DOI, ainda que prejudiquem o filtro sensorio-motor, não reproduzem o aumento da ambulação observada com antagonistas glutamatérgicos de NMDA e agonistas dopaminérgicos. De fato, esses alucinógenos diminuem a locomoção espontânea de ratos (KREBS-THOMSON *et al.*, 1998), de modo semelhante aos agonistas canabinóides (AMERI, 1999).

Aragão e colaboradores (2006) propõe um efeito do tipo-benzodiazepínico para as ações sedativa e ansiolítica da mistura de  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI, avaliadas no teste do campo aberto e labirinto em cruz elevado. Estudos sugerem envolvimento dos receptores CB<sub>1</sub> para tais efeitos dos benzodiazepínicos (GARCÍA-GUTIÉRREZ e MANZANARES, 2010), bem como atividades sedativa (MURILLO-RODRIGUEZ *et al.*, 2001) e ansiolítica (BERRENDERO e MALDONADO, 2002) para agonistas canabinóides já foram descritas. De modo que os achados, em relação à hipolocomoção e prejuízo do filtro sensorio-motor induzidos pela  $\alpha$ AMI encontrada nesse trabalho, são comparáveis à drogas que potencializam o sistema eCB e reforçam a ideia de uma suposta atividade canabimimética para esse triterpeno.

O presente estudo mostrou que o prejuízo de PPI e de H promovidos pela  $\alpha$ AMI foram abolidos quando o receptor CB<sub>1</sub> foi previamente bloqueado pelo antagonista seletivo AM251. Em contrapartida, o prejuízo induzido pela  $\alpha$ AMI nos mesmos parâmetros comportamentais não foram afetados pelo antagonismo dos receptores

TRPV<sub>1</sub>. Esses resultados sugerem que os possíveis efeitos psicotomiméticos desse triterpeno possam ser mediados pela ativação de CB<sub>1</sub>, mas não de TRPV<sub>1</sub>. Visto que fármacos com diferentes mecanismos de ação podem prejudicar o filtro sensorio-motor (BROSDA *et al.*, 2011), é possível especular que os efeitos comportamentais avaliados neste trabalho sejam, ao menos em parte, mediados por receptores canabinóides CB<sub>1</sub>. Corroborando essa alegação, já foi proposto que outros efeitos farmacológicos dos triterpenos  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI sejam mediados pelo sistema eCB (SIMÃO DA SILVA *et al.*, 2011; CHICCA *et al.*, 2012).

O papel dos receptores canabinóides sobre o filtro sensorio-motor ainda não está bem estabelecido. A supressão do gene que codifica o receptor CB<sub>1</sub> não altera o PPI em roedores, no entanto, os animais com a inativação aguda desse gene na vida adulta apresentam déficit de PPI e esse prejuízo foi revertido quando o gene voltou a ser expresso (MARONGIU *et al.*, 2012). Ademais, drogas que aumentam o tônus canabinóide, sejam agonistas diretos (SCHNEIDER e KOCH, 2002; MARTIN *et al.*, 2003) ou indiretos dos receptores canabinóides CB<sub>1</sub> (FERNANDEZ-ESPEJO e GALAN-RODRIGUEZ, 2004), prejudicam o filtro sensorio-motor de ratos, de maneira semelhante à  $\alpha$ AMI neste estudo. Em conjunto, essas evidências sobre o receptor CB<sub>1</sub> estão de acordo com o possível efeito psicotomimético do THC em humanos (D'SOUZA *et al.*, 2004).

Contudo, o efeito do antagonismo do receptor canabinóide CB<sub>1</sub> sobre o filtro sensorio-motor ainda não está claro. Por um lado, evidências apontam que os antagonistas CB<sub>1</sub> rimonabanto e AM251 revertem o déficit de PPI induzido por fenciclidina e MK801 (BALLMAIER *et al.*, 2007). Os antagonistas NMDA são considerados modelos com boa validade analógica para os sintomas psicóticos (MOGHADDAM e JACKSON, 2003). Por outro lado, um outro estudo (MARTIN *et al.*, 2003) mostrou que o pré-tratamento com doses não efetivas de rimonabanto reverteu a redução do PPI induzida pelo agonista canabinóide CP55940. Todavia, nesse mesmo estudo, o rimonabanto não foi efetivo de reverter o comportamentos do tipo psicose (déficit no PPI, hiperatividade e estereotipia) induzidos pela administração de agentes psicotomiméticos protótipos como a apomorfina, anfetaminas e MK801 em ratos.

Dessa forma, não há dados suficientes para apontar que apenas o bloqueio dos receptores CB<sub>1</sub> seja suficiente para uma atividade antipsicótica. Apesar dos resultados promissores dos antagonistas CB<sub>1</sub> revertendo déficits comportamentais causados por modelos pré-clínicos

de psicose, o rimonabanto não obteve o mesmo sucesso em teste clínicos (MELTZER *et al.*, 2004). Portanto, é possível que o efeito do AM251 encontrado nesse estudo revertendo os déficits causados pela  $\alpha$ AMI seja apenas pelo bloqueio do mecanismo de ação desse triterpeno e não um potencial efeito antipsicótico do antagonismo em CB<sub>1</sub>.

A importância dos receptores canabinóides na dor inflamatória (CLAYTON *et al.*, 2002) é evidenciada pela atividade analgésica decorrente da ativação de CB<sub>1</sub> (MENG *et al.*, 1998) e pelo efeito anti-inflamatório e antinociceptivo de ligantes desse receptor (GUINDON e HOHMANN, 2009; LUCAS, 2012). Assim como agonistas endógenos do receptor CB<sub>1</sub>, a lipoxina A4 também deriva do ácido araquidônico e apresenta propriedades anti-inflamatórias (PAMPLONA *et al.*, 2012). Esse composto atua como um potencializador alostérico do receptor CB<sub>1</sub>, aumentando a sua afinidade por AEA. Do mesmo modo que a lipoxina A4,  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI, há indícios que outros compostos anti-inflamatórios também possam modular o receptor CB<sub>1</sub> (CHENG e HITCHCOCK, 2007). Por apresentar efeitos semelhantes à lipoxina A4 em modelos de dor e inflamação, os triterpenos  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI também poderiam exercer seus efeitos biológicos através da modulação alostérica desse receptor. Estudos com essa abordagem podem aprofundar o entendimento da relação entre os efeitos farmacológicos desses triterpenos e o sistema eCB.

Nesse estudo foi avaliado, pela primeira vez, os efeitos do agonista protótipo, CAP, e do antagonista mais usado em experimentos animais, CPZ, no protocolo de PPI. Em razão da escassez de estudos na literatura relacionando o sistema vanilóide com o filtro sensorio-motor, inicialmente doses que não afetassem *per se* esse paradigma foram escolhidas para estudos posteriores com a  $\alpha$ AMI. Nenhuma das doses dos ligantes vanilóides afetou o SS, H, PPI e locomoção dos animais. Corroborando esses achados, resultados negativos também foram encontrados para o agonista e antagonista do receptor TRPV<sub>1</sub> em protocolos semelhantes ao do presente trabalho. Em camundongos, a administração central de CAP e CPZ, na mesma faixa de doses aqui investigada, não apresentou efeito sobre a locomoção (MANNA e UMATHE, 2011), assim como a administração sistêmica de CPZ não alterou *per se* o PPI (LONG *et al.*, 2005).

Uma vez que os efeitos da  $\alpha$ AMI sobre o filtro sensorio-motor não foram alterados pelo bloqueio dos receptores TRPV<sub>1</sub> é provável que esses canais não estejam diretamente envolvidos no mecanismo de ação desse triterpeno sobre o PPI. Porém, a ativação desses receptores com CAP foi capaz de reverter somente o déficit de PPI induzido pela  $\alpha$ AMI,

sem alterar suas ações prejudiciais sobre a H do teste, como fez o antagonista CB<sub>1</sub>. Logo, é plausível que a reversão do déficit induzido por  $\alpha$ AMI promovido pela CAP seja indício de uma possível atividade antipsicótica com o aumento do tônus vanilóide. Essa hipótese foi reforçada pela reversão, através da administração central de CAP, do déficit de PPI induzido pelo MK801.

Os resultados encontrados nesse trabalho reiteram algumas descobertas anteriores, indicando que o tratamento com MK801 aumenta resposta de SS e diminui PPI (MANSBACH e GEYER, 1989; KEITH *et al.*, 1991; WĘDZONY *et al.*, 1994). MK801 0,1 mg/kg aumentou a SS e diminuiu a H. Os efeitos observados sobre a H podem ser decorrentes do aumento da SS, que é base para o cálculo da H. Essa dose ainda aumentou a atividade locomotora dos animais. Já a dose de MK801 0,2 mg/kg causou déficit de PPI, nas três intensidades de pP testadas, todavia não afetou a SS nem H. Esse perfil de resposta foi encontrado também por LONG e colaboradores (2005), quando a dose de MK801 que diminui o PPI é maior que a dose que aumenta o SS.

De forma pioneira, foi demonstrada que a estimulação de TRPV<sub>1</sub> centrais podem reverter prejuízos induzidos por um antagonista de NMDA, porém dados indiretos sobre a possível ação antipsicótica de TRPV<sub>1</sub> já foram observadas em tarefas semelhantes às estudadas nesse trabalho. Essa alegada ação benéfica com a ativação do tônus vanilóide pode estar relacionada à facilitação da transmissão glutamatérgica no estriado, decorrente da ativação de TRPV<sub>1</sub> (MUSELLA *et al.*, 2009).

Corroborando a hipótese da possível ação antipsicótica promovida pela ativação do receptor TRPV<sub>1</sub> levantada nesse estudo, Tzavara e colaboradores (2006) demonstraram que a ativação de TRPV<sub>1</sub> também parece melhorar alterações comportamentais e neuroquímicas induzida por um modelo animal relevante para psicose (*et al.*, 2006). Nesse estudo, camundongos com deleção do gene para DAT (o transportador de DA) são modelo de hiperdopaminergia. Os animais apresentam hiperlocomoção espontânea, aumento da ligação a TRPV<sub>1</sub> e diminuição dos níveis de AEA no estriado. O tratamento com fármacos que melhoram a sinalização de AEA (inibidores da sua receptação e degradação) reverteu a hiperlocomoção desses animais, por uma via depende da ativação de TRPV<sub>1</sub>. Sobre a relação entre AEA e DA, foi demonstrado que um inibidor da recaptação desse eCB é capaz de reverter alterações comportamentais decorrentes da ativação de receptores D<sub>2</sub> (BELTRAMO *et al.*, 2000).

Outra evidência que reforça essa ideia é que o CBD parece reverter do déficit de PPI induzido pelo MK801 por uma via dependente

da ativação de TRPV<sub>1</sub>, uma vez que o pré-tratamento com CPZ preveniu o efeito benéfico desse composto (LONG *et al.*, 2005). O CBD é um fitocanabinóide que não parece atuar sob o sistema eCB da mesma maneira que o THC. A potencial atividade antipsicótica desse canabinóide não-psicotrópico foi atestada em estudos pré-clínicos (ZUARDI *et al.*, 1995; ZUARDI *et al.*, 2006) e clínicos (BHATTACHARYYA *et al.*, 2009; ZUARDI *et al.*, 2009; HALLAK *et al.*, 2010). Novas evidências clínicas apontam que a melhora dos sintomas psicóticos com o tratamento CBD seja pelo aumento da sinalização de AEA (LEWEKE *et al.*, 2012). Esse mesmo grupo de pesquisadores já havia observado anteriormente que a concentração de AEA no líquido cefalorraquidiano de pacientes esquizofrênicos aparece aumentada (LEWEKE *et al.*, 1999), contudo está negativamente correlacionada à severidade dos sintomas psicóticos. Ainda, a remissão clínica parece acompanhada por uma diminuição significativa dos níveis de AEA, bem como o tratamento com antipsicótico típico parece restaurar os níveis desse eCB/endovanilóide (DE MARCHI *et al.*, 2003).

Considerados em conjunto, esses dados apontam para uma possível atividade antipsicótica da AEA. Mas, considerando que a ativação do receptor CB<sub>1</sub> parece relacionada a uma ação psicomimética, é provável que AEA exerça seus efeitos antipsicóticos através de outros alvos farmacológicos. Uma ação de AEA que tem ganho destaque é a de agonista de receptores TRPV<sub>1</sub> (ROSS, 2009). Em baixas concentrações, a AEA atua como agonista CB<sub>1</sub> (fig 26), mas em maior concentração, ela ativa o receptor TRPV<sub>1</sub> (fig 27) (SULCOVA *et al.*, 1998), facilitando a despolarização celular. A relevância comportamental para essa ação bifásica da AEA - ora inibindo a transmissão sináptica via CB<sub>1</sub>, ora facilitando por ativar TRPV<sub>1</sub> - foi recentemente observada em modelos animais para psicopatologias, como transtorno obsessivo-compulsivo (UMATHE *et al.*, 2012), medo e ansiedade (MOREIRA *et al.*, 2012).

A possível função adaptativa do eCB AEA em pacientes esquizofrênicos está em aparente contraste com a associação entre o abuso de canabinóides exógenos e o desenvolvimento de sintomas psicóticos em indivíduos vulneráveis (HAMBRECHT e HAFNER, 2000). Um aumento na severidade dos sintomas em esquizofrênicos, especialmente cognitivos, também está correlacionado ao uso de *Cannabis* (D'SOUZA *et al.*, 2005; PENCER *et al.*, 2005). Porém, um estudo com pacientes em primeiro episódio de psicose mostrou que o uso frequente de *Cannabis* leva à regulação negativa dos níveis de AEA do líquido cefalorraquidiano nesses pacientes, mas não em voluntários

sadios (LEWEKE *et al.*, 2007). Frente a essa evidência clínica, é possível especular que o aumento da transmissão de AEA funcione como um protetor contra a desorganização do comportamento. A diminuição da sinalização desse eCB – pelo uso crônico de canabinóides exógenos - pode resultar em sensibilização a estados psicóticos (FERNANDEZ-ESPEJO *et al.*, 2009). Portanto, é plausível uma suposta atividade antipsicótica com o aumento do tônus vanilóide, seja pela ativação do receptor TRPV<sub>1</sub> com a CAP, conforme visto nesse trabalho, ou com o aumento da disponibilidade do ligante endógeno AEA.

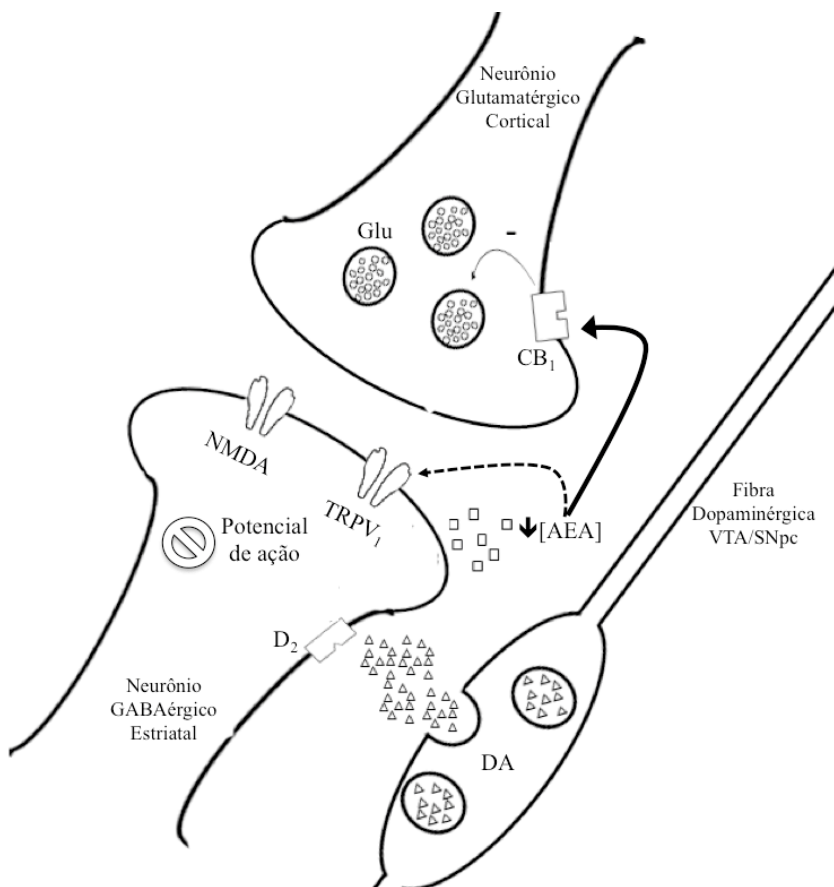


Figura 26. Pequena concentração de anandamida (AEA) na sinapse córtico-estriatal. Em baixas doses, a AEA apresenta maior afinidade pelo receptor CB<sub>1</sub>, inibindo a liberação de glutamato (Glu) e o potencial de ação da célula pós-sináptica. Adaptado de MORRISON e MURRAY (2009).

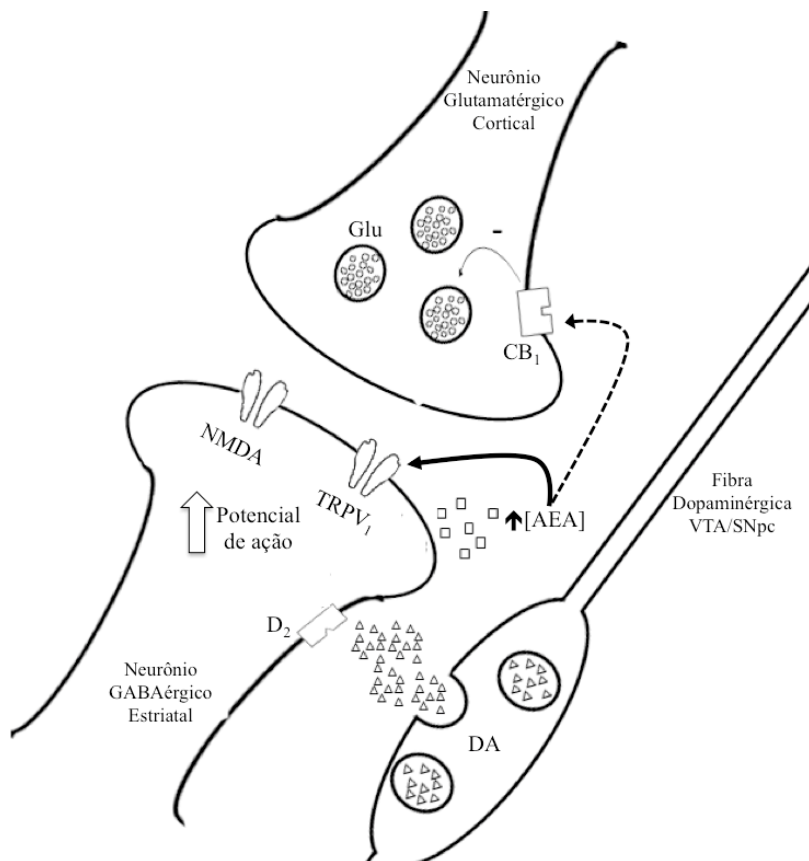


Figura 27. Alta concentração de anandamida (AEA) na sinapse córtico-estriatal. Em altas doses, a AEA apresenta afinidade pelos receptores TRPV<sub>1</sub>, que facilitará a transmissão na sinapse córtico-estriatal. Adaptado de MORRISON e MURRAY (2009).

No protocolo adotado nesse estudo, a  $\alpha$ AMI parece atuar via ativação de CB<sub>1</sub>. Aparentemente, é possível especular que a  $\alpha$ AMI estaria prejudicando a transmissão sináptica córtico-estriatal através da ativação dos receptores CB<sub>1</sub> pré-sinápticos, o que inibem a liberação de Glu na fenda (fig 28). Isso afeta o filtro sensorio motor e, por consequência, diminui o PPI. Reiterando essa hipótese, foi demonstrado que a mistura de  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI reduz a hiperalgesia periférica produzida por Glu, mas sem afetar a ligação desse neurotransmissor a seus sítios de ação no córtex cerebral (OTUKI *et al.*, 2005a). Um

derivado desses triterpenos que mantém as propriedades ansiolíticas, o acetato de  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI, é capaz de reduzir o conteúdo de Glu e GABA no estriado (ARAGÃO *et al.*, 2009), ratificando a hipótese proposta.

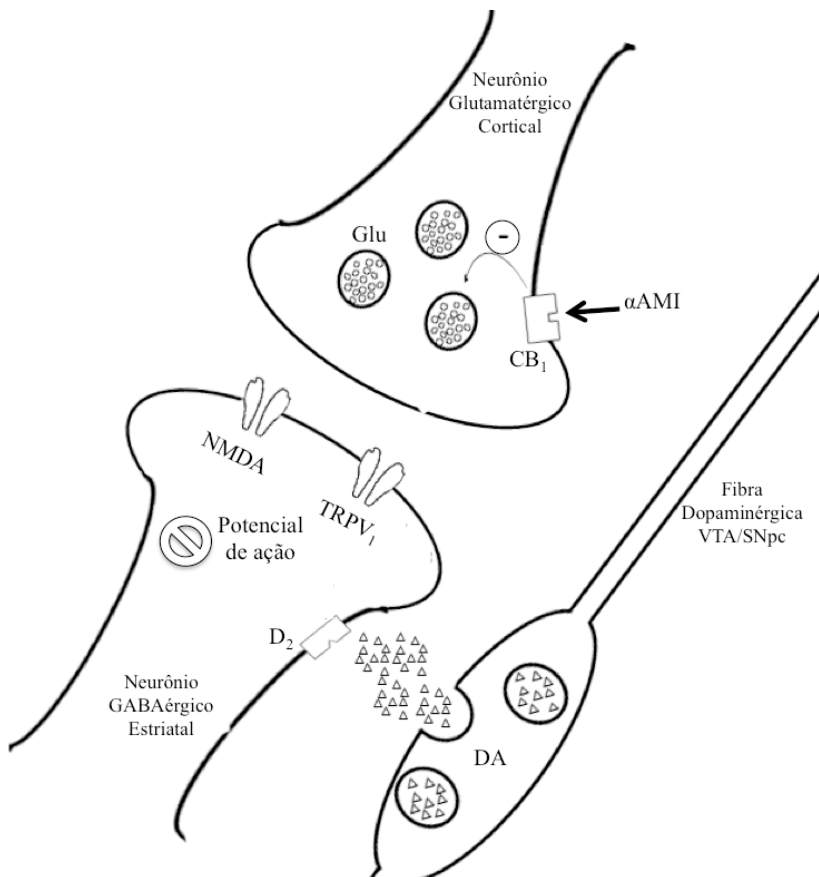


Figura 28. Possível efeito da  $\alpha$ AMI na sinapse córtico-estriatal. Ao ativar os receptores CB<sub>1</sub>, de forma direta ou indireta, o  $\alpha$ AMI inibe a liberação de Glu e o potencial de ação do neurônio estriatal. Adaptado de MORRISON e MURRAY (2009).



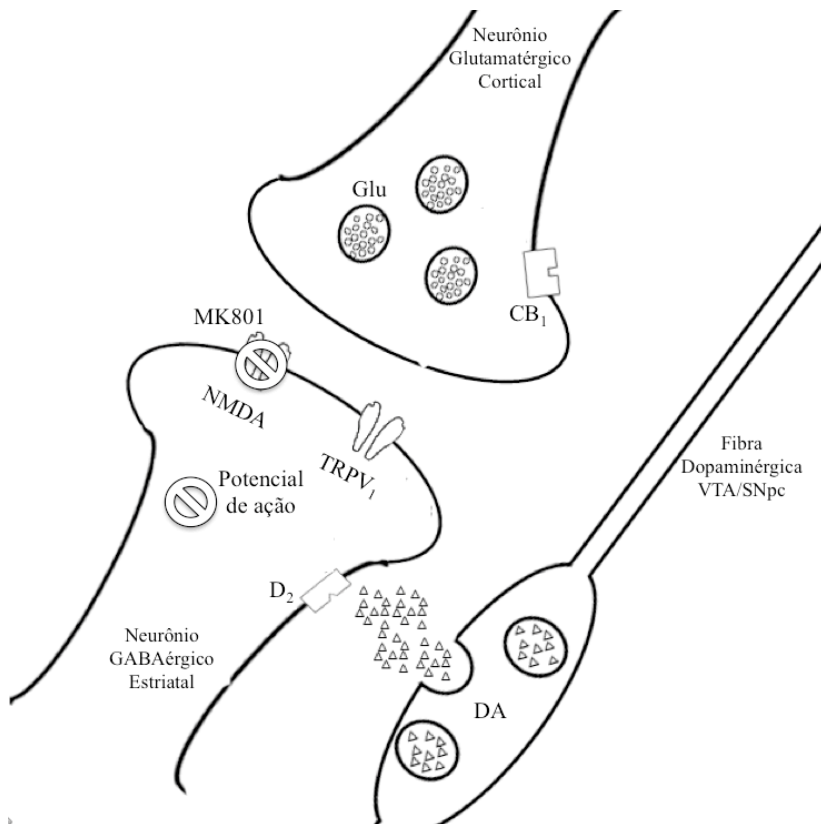


Figura 29. Ação do antagonista de NMDA na sinapse córtico-estriatal. Mesmo com liberação de Glu pelo neurônio cortical, o bloqueio dos receptores NMDA promovido pelo MK801 impedirá a deflagração do potencial de ação da célula pós sináptica. Adaptado de MORRISON e MURRAY (2009).

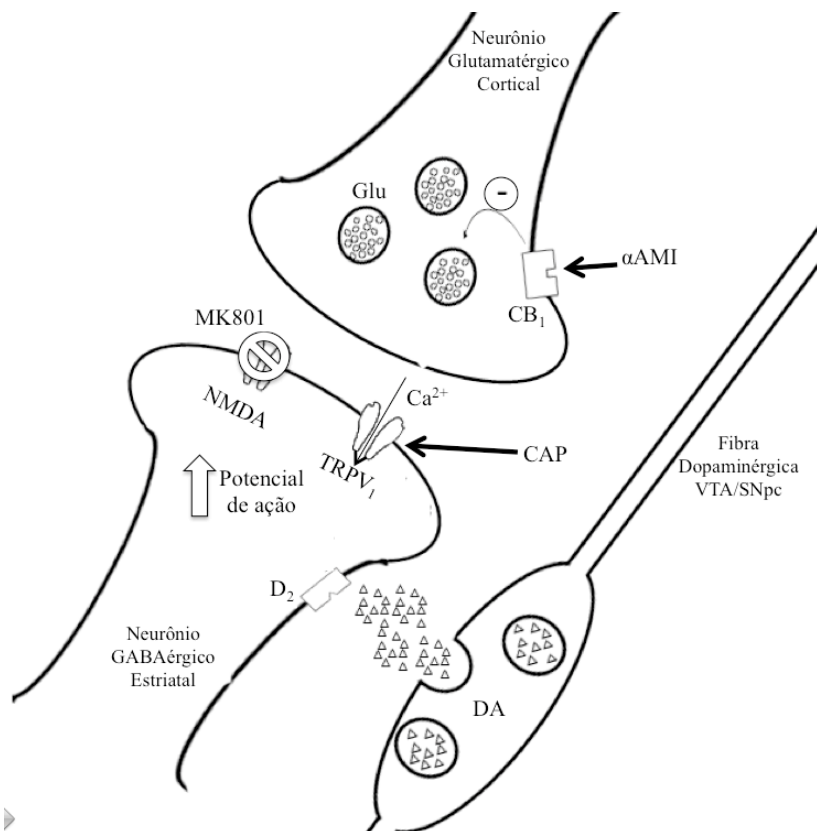


Figura 30. Possível efeito da CAP na sinapse córtico-estriatal. A CAP ativa os receptores TRPV<sub>1</sub>, promovendo a entrada de íons (em especial Ca<sup>2+</sup>) na célula pós-sináptica. Isso facilita a transmissão sináptica córtico-estriatal, mesmo com a liberação de Glu inibida pela ação canabimimética da αAMI ou pelo bloqueio dos receptores NMDA de Glu pelo MK801. Adaptado de MORRISON e MURRAY (2009).

Os canabinóides parecem prejudicar a transmissão glutamatérgica responsável pela regulação do filtro talâmico, porém apresentam outras ações que têm ganhado destaque na literatura e podem ser exploradas pela medicina (BAKER *et al.*, 2003). Assim como outros perturbadores do SNC que diminuem o PPI (SESSA, 2005), canabinóides demonstram potencial no manejo de transtornos de ansiedade e humor (MARTIN *et al.*, 2002). De maneira semelhante a outros compostos canabimiméticos (HILL e GORZALKA, 2005), atividades ansiolíticas e tipo-antidepressivas também foram demonstradas para a αAMI e βAMI em

modelos animais (ARAGÃO *et al.*, 2006). Reiterando a importância do sistema eCB nos transtornos de humor, o antagonista dos receptores CB<sub>1</sub> rimonabanto saiu do mercado por seus efeitos colaterais, em especial sob psicopatologias associadas a depressão e ansiedade (MITCHELL e MORRIS, 2007).

Plantas que contém  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI são usadas na medicina popular e algumas das suas propriedades medicinais foram comprovadas, conforme mencionadas no início desse trabalho. Paralelamente, a planta *Cannabis sativa*, principal fonte natural de THC e CBD, é usada para fins medicinais por diferentes povos e culturas há milhares de anos (ZUARDI, 2006). Apesar de seu uso ser proibido na maior parte do mundo, seu uso medicinal é permitidos em alguns países e quase 20 estados dos Estados Unidos da América. Entre suas indicações estão o tratamento de náusea e vômitos, perda de apetite, insônia, espasmos musculares e dor. Por esses efeitos o uso de *Cannabis* medicinal é recomendada para pacientes que sofrem com esclerose múltipla, câncer, complicações em decorrência da AIDS, entre outros (BEN AMAR, 2006; JOHNSON, 2013).

Além do já citado efeito analgésico e anti-inflamatório dos triterpenos, sua atividade antimicrobiana (MALLAVADHANI *et al.*, 2004; DÍAZ-RUIZ *et al.*, 2012) é também comparável a canabinóides (NOVAK *et al.*, 2001). Esses dados podem motivar a investigação de outras ações terapêuticas semelhante a agonistas CB<sub>1</sub> para  $\alpha$ AMI. Um outro exemplo de sua ação terapêutica é o uso no tratamento de glaucoma (JÄRVINEN *et al.*, 2002), por exemplo, e o uso tópico desses compostos pode contornar os efeitos psicotrópicos devido a ativação canabinóide. Dessa forma, testar a possível ação de  $\alpha$ AMI sobre a pressão intraocular pode revelar outro alvo terapêutico para esse triterpeno. Porém, apesar das evidencias que correlacionam  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI a canabinóides, mais estudos precisam ser realizados, buscando esclarecer como ocorre a interação entre o sistema canabinóide e esses compostos, além da investigação de outros potenciais alvos de ação para esses triterpeno.

Entre as limitações desse trabalho estão a falta de investigação dos efeitos aqui encontrados em outros modelos relevantes para a triagem de antipsicóticos, a exemplo de estereotipia e redução da interação social (MOHN *et al.*, 1999). Adicionalmente, a falta de um controle positivo, com um agonista do receptor canabinóide CB<sub>1</sub>, dificulta o paralelo entre o efeito da  $\alpha$ AMI sobre o PPI e a ação de agonistas diretos e indiretos do receptor canabinóide. O envolvimento de outros alvos de ação para os eCBs também não foi investigado, expondo

outra limitação desse estudo. Estudos pré-clínicos (ORTEGA-ALVARO *et al.*, 2011) e clínicos (ISHIGURO *et al.*, 2010) apontam que mutações genéticas com perda da funcionalidade do receptor CB<sub>2</sub> estão relacionadas com esquizofrenia. Mas, apesar das evidências da participação dos receptores CB<sub>2</sub> nas psicoses, diversos estudos relataram que ligantes seletivos do receptor CB<sub>2</sub> são desprovidos de efeitos psicotrópicos (ROCHE e FINN, 2010). Inclusive, a ação analgésica na dor neuropática decorrente da ativação de CB<sub>2</sub> parece se dar por receptores presentes na periferia e não no SNC (IBRAHIM *et al.*, 2003). Adicionalmente, ações no SNC de ligantes não-seletivos de CB<sub>2</sub> são atribuídos a atividade em CB<sub>1</sub> ou em outros sítios de ação de canabinóides. É possível que essa relação entre psicose e CB<sub>2</sub> seja um efeito compensatório, com maior ativação CB<sub>1</sub> pelos eCBs tentando suprir a falta do outro receptor canabinóide.

No presente estudo, foi visto que as ações da  $\alpha$ AMI sobre o filtro sensorio-motor depende da ativação do receptor CB<sub>1</sub>. Entretanto, apesar das evidências do envolvimento canabinóide nas ações de  $\alpha$ AMI e  $\beta$ AMI, a forma como esses triterpenos interagem com o sistema eCB não está claro. Um estudo aponta para a ligação com receptores CB<sub>1</sub> e CB<sub>2</sub> (SIMÃO DA SILVA *et al.*, 2011), enquanto outro indica inibição da degradação de um eCB (CHICCA *et al.*, 2012). Frente a hipótese do aumento a disponibilidade do 2-AG pela  $\alpha$ AMI, a investigação dos efeitos desse triterpeno em outros alvos do 2-AG precisa ser considerada. Contudo, é necessário considerar o resultado da suposta atividade canabinóide de  $\alpha$ AMI apenas como parcial, já que outros alvos de canabinóides, como o receptor órfão GPR55 e CB<sub>2</sub>, não foram avaliados.

Ainda que esse estudo seja preliminar, a hipótese levantada nessa investigação foi parcialmente respondida nos resultados dos experimentos. A  $\alpha$ AMI foi capaz de prejudicar o filtro sensorio-motor por uma via dependente da ativação do receptor canabinóide CB<sub>1</sub>, demonstrando uma possível atividade psicotomimética desse triterpeno. O efeito da  $\alpha$ AMI foi prevenido com a ativação de receptores TRPV<sub>1</sub>, que também foi capaz de reverter a alteração comportamental induzida por um modelo farmacológico de psicose, demonstrando uma possível ação antipsicótica com a ativação desse canal.

## 6 CONCLUSÃO

Esse estudo mostrou que a ação central da  $\alpha$ AMI prejudicando PPI pode ocorrer por um mecanismo dependente da ativação parcial de receptores canabinóides, mas não vanilóides, apontando para uma possível ação psicotomimética dessa droga. Contudo, a estimulação de TRPV<sub>1</sub>, com a administração central de CAP, parece prevenir os prejuízos induzido pela  $\alpha$ AMI e por MK801, antagonista NMDA amplamente utilizado na triagem pré-clínica de antipsicóticos como modelo farmacológico. Essas evidências sugerem uma possível atividade antipsicótica para o aumento do tônus vanilóide no SNC. O resultado desse trabalho, ainda que sob uma análise especulativa, pode contribuir para uma nova abordagem na busca de fármacos para o tratamento de doenças que estejam relacionadas a alterações no filtro sensorio-motor, como ocorre em psicoses. De maneira geral, estudos adicionais são necessários para elucidar os mecanismos envolvidos nesses processos e confirmar, em outros modelos animais, os dados observados nesse trabalho.

## REFERÊNCIAS

- ALEXANDER, G; DELONG, M; STRICK, P. Parallel organization of functionally segregated circuits linking basal ganglia and cortex. **Annual Review of Neuroscience**, v. 9, p. 357-81, 1986.
- ALLEN, G; TSUKAHARA, N. Cerebrocerebellar communication systems. **Physiological Reviews**, v. 54, n. 4, p. 957-1006, 1974.
- ALVAREZ, M; OLIVEIRA, L; OLIVEIRA, F; PEDRAZZOLI, J; RAO, V; MENDONÇA, S. **Anti-*Helicobacter* Activity and Gastroprotective Effect of the Mixture of Alpha and Beta Amyrin from *Protium heptaphyllum***. 22nd International Workshop on *Helicobacter* and Related Bacteria in Chronic Digestive Inflammation and Gastric Cancer. Porto, Portugal. v. 14, n. 4, p. 406-06, 2009.
- AMERI, A. The effects of cannabinoids on the brain. **Progress in Neurobiology**, v. 58, n. 4, p. 315-48, 1999.
- ANDINÉ, P; WIDERMARK, N; AXELSSON, R; NYBERG, G; OLOFSSON, U; MÅRTENSSON, E; SANDBERG, M. Characterization of MK-801-induced behavior as a putative rat model of psychosis. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 290, n. 3, p. 1393-408, 1999.
- ARAGÃO, G; CARNEIRO, L; JUNIOR, A; VIEIRA, L; BANDEIRA, P; LEMOS, T; VIANA, G. A possible mechanism for anxiolytic and antidepressant effects of alpha-and beta-amyrin from *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March. **Pharmacology, biochemistry and behavior**, v. 85, n. 4, p. 827-34, 2006.
- ARAGÃO, G; LYVIA, M; CARNEIRO, A; JUNIOR, P; LEMOS, TL; GLAUCE, S. Evidence for excitatory and inhibitory amino acids participation in the neuropharmacological activity of alpha-and beta-amyrin acetate. **Open Pharmacology Journal**, v. 3, p. 9-16, 2009.
- ARNOLD, J; BOUCHER, A; KARL, T. The Yin and Yang of *Cannabis*-induced Psychosis: the Actions of 9-Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol in Rodent Models of Schizophrenia. **Current pharmaceutical design**, v. 18, n. 32, p. 5113-30, 2012.

ASHTON, J; MILLIGAN, E. Cannabinoids for the treatment of neuropathic pain: Clinical evidence. **Current Opinion in Investigational Drugs**, v. 9, n. 1, p. 65-75, 2008.

BAKER, D; PRYCE, G; GIOVANNONI, G; THOMPSON, A. The therapeutic potential of *cannabis*. **The Lancet Neurology**, v. 2, n. 5, p. 291-8, 2003.

BAKSHI, V; GEYER, M. Antagonism of phencyclidine-induced deficits in prepulse inhibition by the putative atypical antipsychotic olanzapine. **Psychopharmacology**, v. 122, n. 2, p. 198-201, 1995.

BALLMAIER, M; BORTOLATO, M; RIZZETTI, C; ZOLI, M; GESSA, G; HEINZ, A; SPANO, P. Cannabinoid receptor antagonists counteract sensorimotor gating deficits in the phencyclidine model of psychosis. **Neuropsychopharmacology**, v. 32, n. 10, p. 2098-107, 2007.

BANDEIRA, P; PESSOA, O; TREVISAN, M; LEMOS, T. Secondary metabolites of *Protium heptaphyllum* march. **Quimica Nova**, v. 25, n. 6B, p. 1078-80, 2002.

BELTRAMO, M; DE FONSECA, F; NAVARRO, M; CALIGNANO, A; GORRITI, M; GRAMMATIKOPOULOS, G; SADILE, A; GIUFFRIDA, A; PIOMELLI, D. Reversal of dopamine D<sub>2</sub> receptor responses by an anandamide transport inhibitor. **The Journal of Neuroscience**, v. 20, n. 9, p. 3401-7, 2000.

BEN AMAR, M. Cannabinoids in medicine: A review of their therapeutic potential. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 105, n. 1, p. 1-25, 2006.

BERRENDERO, F; MALDONADO, R. Involvement of the opioid system in the anxiolytic-like effects induced by Delta-9-tetrahydrocannabinol. **Psychopharmacology**, v. 163, n. 1, p. 111-7, 2002.

BHATTACHARYYA, S; MORRISON, P; FUSAR-POLI, P; MARTIN-SANTOS, R; BORGWARDT, S; WINTON-BROWN, T; NOSARTI, C; O' CARROLL, C; SEAL, M; ALLEN, P; MEHTA, M; STONE, J;

TUNSTALL, N; GIAMPIETRO, V; KAPUR, S; MURRAY, R; ZUARDI, A; CRIPPA, J; ATAKAN, Z; MCGUIRE, P. Opposite Effects of [Delta]-9-Tetrahydrocannabinol and Cannabidiol on Human Brain Function and Psychopathology. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 3, p. 764-74, 2009.

BITENCOURT, R; PAMPLONA, F; TAKAHASHI, R. Facilitation of contextual fear memory extinction and anti-anxiogenic effects of AM404 and cannabidiol in conditioned rats. **European Neuropsychopharmacology**, v. 18, n. 12, p. 849-59, 2008.

BOB, P; MASHOUR, G. Schizophrenia, dissociation and consciousness. **Consciousness and Cognition**, v. 20, n. 4, p. 1042-9, 2011.

BOOKER, A; JOHNSTON, D; HEINRICH, M. Value chains of herbal medicines-research needs and key challenges in the context of ethnopharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 140, n. 3, p. 624-33, 2012.

BRAFF, D; GEYER, M; LIGHT, G; SPROCK, J; PERRY, W; CADENHEAD, K; SWERDLOW, N. Impact of prepulse characteristics on the detection of sensorimotor gating deficits in schizophrenia. **Schizophrenia Research**, v. 49, n. 1-2, p. 171-8, 2001.

BRAFF, D; GRILLON, C; GEYER, M. Gating and habituation of the startle reflex in schizophrenic patients. **Archives of General Psychiatry**, v. 49, n. 3, p. 206-15, 1992.

BROSDA, J; HAYN, L; KLEIN, C; KOCH, M; MEYER, C; SCHALLHORN, R; WEGENER, N. Pharmacological and parametrical investigation of prepulse inhibition of startle and prepulse elicited reactions in Wistar rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 99, n. 1, p. 22-8, 2011.

BUTLER, M. The role of natural product chemistry in drug discovery. **Journal of Natural Products**, v. 67, n. 12, p. 2141-53, 2004.

CATERINA, M; SCHUMACHER, M; TOMINAGA, M; ROSEN, T; LEVINE, J; JULIUS, D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. **Nature**, v. 389, n. 6653, p. 816-24, 1997.



CHAHL, L. TRP's: Links to schizophrenia? **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) -Molecular Basis of Disease**, v. 1772, n. 8, p. 968-77, 2007.

CHENG, Y; HITCHCOCK, S. Targeting cannabinoid agonists for inflammatory and neuropathic pain. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v. 16, n. 7, p. 951-65, 2007.

CHICCA, A; MARAZZI, J; GERTSCH, J. The antinociceptive triterpene beta-amyrin inhibits 2-arachidonoylglycerol (2-AG) hydrolysis without directly targeting cannabinoid receptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 167, n. 8, p. 1596-608, 2012.

CLAYTON, N; MARSHALL, F; BOUNTRA, C; O'SHAUGHNESSY, C. CB<sub>1</sub> and CB<sub>2</sub> cannabinoid receptors are implicated in inflammatory pain. **Pain**, v. 96, n. 3, p. 253-60, 2002.

COENEN, A; VENDRIK, A. Determination of transfer ratio of cats geniculate neurons through quasi-intracellular recordings and relation with level of alertness. **Experimental Brain Research**, v. 14, n. 3, p. 227-42, 1972.

CORRÊA, M; DE AZEREDO PENNA, L; INSTITUTO BRASILEIRO DE DESENVOLVIMENTO FLORESTAL. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984.

D'SOUZA, D; ABI-SAAB, W; MADONICK, S; FORSELIUS-BIELEN, K; DOERSCH, A; BRALEY, G; GUEORGUIEVA, R; COOPER, T; KRYSTAL, J. Delta-9-tetrahydrocannabinol effects in schizophrenia: Implications for cognition, psychosis, and addiction. **Biological Psychiatry**, v. 57, n. 6, p. 594-608, 2005.

D'SOUZA, D; PERRY, E; MACDOUGALL, L; AMMERMAN, Y; COOPER, T; WU, Y; BRALEY, G; GUEORGUIEVA, R; KRYSTAL, J. The psychotomimetic effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: Implications for psychosis. **Neuropsychopharmacology**, v. 29, n. 8, p. 1558-72, 2004.

DE MARCHI, N; DE PETROCELLIS, L; ORLANDO, P; DANIELE, F; FEZZA, F; DI MARZO, V. Endocannabinoid signalling in the blood of patients with schizophrenia. **Lipids in health and disease**, v. 2, n. 1, p. 5, 2003.

DELONG, M; GEORGOPOULOS, A; CRUTCHER, M. Cortico-basal ganglia relations and coding of motor performance. **Experimental Brain Research**, v. 7, n. suplemento, p. 30-40, 1983.

DEPOORTERE, R; PERRAULT, G; SANGER, D. Prepulse inhibition of the startle reflex in rats: effects of compounds acting at various sites on the NMDA receptor complex. **Behavioural Pharmacology**, v. 10, n. 1, p. 51, 1999.

DEUTSCH, S; LONG, K; ROSSE, R; TIZABI, Y; WEIZMAN, R; ELLER, J; MASTROPAOLO, J. Animal models of psychosis. **Transgenic and Knockout Models of Neuropsychiatric Disorders**, p. 193-220, 2006.

DI FORTI, M; MORRISON, P; BUTT, A; MURRAY, R. *Cannabis* use and psychiatric and cognitive disorders: the chicken or the egg? **Current Opinion in Psychiatry**, v. 20, n. 3, p. 228-34, 2007.

DI MARZO, V; GOBBI, G; SZALLASI, A. Brain TRPV<sub>1</sub>: a depressing TR(i)P down memory lane? **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 29, n. 12, p. 594-600, 2008.

DIANA, M; LEVENES, C; MACKIE, K; MARTY, A. Short-term retrograde inhibition of GABAergic synaptic currents in rat Purkinje cells is mediated by endogenous cannabinoids. **The Journal of Neuroscience**, v. 22, n. 1, p. 200-8, 2002.

DÍAZ-RUIZ, G; HERNÁNDEZ-VÁZQUEZ, L; LUNA, H; WACHER-RODARTE, M; NAVARRO-OCAÑA, A. Growth inhibition of *streptococcus* from the oral cavity by  $\alpha$ -amyrin esters. **Molecules**, v. 17, n. 11, p. 12603-11, 2012.

DREVETS, W; PRICE, J; SIMPSON, J; TODD, R; REICH, T; VANNIER, M; RAICHEL, M. Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. **Nature**, v. 386, n. 6627, p. 824-7, 1997.

ELLENBROEK, B. Psychopharmacological treatment of schizophrenia: what do we have, and what could we get? **Neuropharmacology**, v. 62, n. 3, p. 1371-80, 2012.

FERNANDEZ-ESPEJO, E; GALAN-RODRIGUEZ, B. Sensorimotor gating in mice is disrupted after AM404, an anandamide reuptake and degradation inhibitor. **Psychopharmacology**, v. 175, n. 2, p. 220-4, 2004.

FERNANDEZ-ESPEJO, E; VIVEROS, M-P; NÚÑEZ, L; ELLENBROEK, B; RODRIGUEZ DE FONSECA, F. Role of *cannabis* and endocannabinoids in the genesis of schizophrenia. **Psychopharmacology**, v. 206, n. 4, p. 531-49, 2009.

FISCHMAN, L. Dreams, hallucinogenic drug states, and schizophrenia: a psychological and biological comparison. **Schizophrenia bulletin**, v. 9, n. 1, p. 73-94, 1983.

FLORESCO, S. Dopaminergic regulation of limbic-striatal interplay. **Journal of Psychiatry & Neuroscience**, v. 32, n. 6, p. 400-11, 2007.

GARCÍA-GUTIÉRREZ, M; MANZANARES, J. The cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor is involved in the anxiolytic, sedative and amnesic actions of benzodiazepines. **Journal of Psychopharmacology**, v. 24, n. 5, p. 757-65, 2010.

GERDEMAN, G; RONESI, J; LOVINGER, D. Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. **Nature Neuroscience**, v. 5, n. 5, p. 446-51, 2002.

GEYER, M. Behavioral studies of hallucinogenic drugs in animals: Implications for schizophrenia research. **Pharmacopsychiatry**, v. 31, n. suplemento 2, p. 73-9, 1998.

GEYER, M. The family of sensorimotor gating disorders: comorbidities or diagnostic overlaps? **Neurotoxicity research**, v. 10, n. 3, p. 211-20, 2006.

GEYER, M; KREBS-THOMSON, K; BRAFF, D; SWERDLOW, N. Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor

gating deficits in schizophrenia: a decade in review. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 156, n. 2-3, p. 117-54, 2001.

GEYER, M; SWERDLOW, N. Measurement of startle response, prepulse inhibition and habituation. **Current Protocols in Neuroscience**, v. 8, p. 8.7, 2001.

GEYER, M; TAPSON, G. Habituation of tactile startle is altered by drugs acting on serotonin-2 receptors. **Neuropsychopharmacology**, v. 1, n. 2, p. 135-47, 1988.

GRAHAM, F. The more or less startling effects of weak prestimulation. **PSYCHOPHYSIOLOGY**, v. 12, n. 3, p. 238-48, 1975.

GRAYBIEL, A. The basal ganglia and cognitive pattern generators. **Schizophrenia bulletin**, v. 23, n. 3, p. 459-69, 1997.

GROVES, P; THOMPSON, R. Habituation: a dual-process theory. **Psychological review**, v. 77, n. 5, p. 419-50, 1970.

GUINDON, J; HOHMANN, A. The endocannabinoid system and pain. **CNS & Neurological Disorders - Drug Targets**, v. 8, n. 6, p. 403-21, 2009.

HALLAK, J; MACHADO-DE-SOUSA, J; CRIPPA, J; SANCHES, R; TRZESNIAK, C; CHAVES, C; BERNARDO, S; REGALO, S; ZUARDI, A. Performance of schizophrenic patients in the Stroop Color Word Test and electrodermal responsiveness after acute administration of cannabidiol (CBD). **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 32, n. 1, p. 56-61, 2010.

HAMBRECHT, M; HAFNER, H. *Cannabis*, vulnerability, and the onset of schizophrenia: an epidemiological perspective. **Australian and New Zealand Journal of Psychiatry**, v. 34, n. 3, p. 468-75, 2000.

HAMPE, B; GRADY, J. **From perception to meaning: Image schemas in cognitive linguistics**. Mouton de Gruyter, 2005.

HILL, M; GORZALKA, B. Pharmacological enhancement of cannabinoid CB<sub>1</sub> receptor activity elicits an antidepressant-like response

in the rat forced swim test. **European Neuropsychopharmacology**, v. 15, n. 6, p. 593-9, 2005.

HOUGHTON, P. The role of plants in traditional medicine and current therapy. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 1, n. 2, p. 131-43, 1995.

IBRAHIM, M; DENG, H; ZVONOK, A; COCKAYNE, D; KWAN, J; MATA, H; VANDERAH, T; LAI, J; PORRECA, F; MAKRIYANNIS, A. Activation of CB<sub>2</sub> cannabinoid receptors by AM1241 inhibits experimental neuropathic pain: pain inhibition by receptors not present in the CNS. **Science Signalling**, v. 100, n. 18, p. 10529-33, 2003.

ISAACSON, R. **Limbic system**. Segunda edição. Plenum, New York, 1982.

ISHIGURO, H; HORIUCHI, Y; ISHIKAWA, M; KOGA, M; IMAI, K; SUZUKI, Y; MORIKAWA, M; INADA, T; WATANABE, Y; TAKAHASHI, M. Brain cannabinoid CB<sub>2</sub> receptor in schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 67, n. 10, p. 974-82, 2010.

JACOBSEN, C. Functions of frontal association area in primates. **Archives of Neurology and Psychiatry**, v. 33, n. 3, p. 558-69, 1935.

JÄRVINEN, T; PATE, D; LAINE, K. Cannabinoids in the treatment of glaucoma. **Pharmacology & therapeutics**, v. 95, n. 2, p. 203-20, 2002.

JOHNSON, B. Medical marijuana. **Mental health practitioner's guide to HIV/AIDS**: Springer New York, 2013.

JORDAN, S; CUNNINGHAM, D; MARLES, R. Assessment of herbal medicinal products: challenges, and opportunities to increase the knowledge base for safety assessment. **Toxicology and Applied pharmacology**, v. 243, n. 2, p. 198-216, 2010.

KAPUR, S; MIZRAHI, R; LI, M. From dopamine to salience to psychosis - linking biology, pharmacology and phenomenology of psychosis. **Schizophrenia Research**, v. 79, n. 1, p. 59-68, 2005.

KEITH, V; MANSBACH, R; GEYER, M. Failure of haloperidol to block the effects of phencyclidine and dizocilpine on prepulse inhibition of startle. **Biological Psychiatry**, v. 30, n. 6, p. 557-66, 1991.

KESBY, J; BURNE, T; MCGRATH, J; EYLES, D. Developmental vitamin D deficiency alters MK 801-induced hyperlocomotion in the adult rat: An animal model of schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 60, n. 6, p. 591-6, 2006.

KLAMER, D; PÅLSSON, E; REVESZ, A; ENGEL, J; SVENSSON, L. Habituation of acoustic startle is disrupted by psychotomimetic drugs: differential dependence on dopaminergic and nitric oxide modulatory mechanisms. **Psychopharmacology**, v. 176, n. 3, p. 440-50, 2004.

KOCH, M; SCHNITZLER, H-U. The acoustic startle response in rats - circuits mediating evocation, inhibition and potentiation. **Behavioural Brain Research**, v. 89, n. 1, p. 35-49, 1997.

KOHL, S; HEEKEREN, K; KLOSTERKOTTER, J; KUHN, J. Prepulse inhibition in psychiatric disorders - Apart from schizophrenia. **Journal of Psychiatric Research**, v. 47, n. 4, p. 445-52, 2012.

KREBS-THOMSON, K; PAULUS, M; MARK, A. Effects of hallucinogens on locomotor and investigatory activity and patterns: Influence of 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. **Neuropsychopharmacology**, v. 18, n. 5, p. 339-51, 1998.

KUMARI, V; SHARMA, T. Effects of typical and atypical antipsychotics on prepulse inhibition in schizophrenia: a critical evaluation of current evidence and directions for future research. **Psychopharmacology**, v. 162, n. 2, p. 97-101, 2002.

KWEIFIO-OKAI, G; DEMUNK, F; RUMBLE, B; MACRIDES, T; CROPLEY, M. Antiarthritic mechanisms of amyrin triterpenes. **Research Communications in Molecular Pathology and Pharmacology**, v. 85, n. 1, p. 45-55, 1994.

LAMOTTE, R; SHIMADA, S; SIKAND, P. Mouse models of acute, chemical itch and pain in humans. **Experimental Dermatology**, v. 20, n. 10, p. 778-82, 2011.

LEDoux, J. **The emotional brain: the mysterious underpinnings of emotional life.** Simon & Schuster, 1998.

LEVESQUE, M; POTVIN, S; MARCHAND, S; STIP, E; GRIGNON, S; PIERRE, L; LIPP, O; GOFFAUX, P. Pain Perception in Schizophrenia: Evidence of a Specific Pain Response Profile. **Pain Medicine**, v. 13, n. 12, p. 1571-9, 2012.

LEWEKE, F; PIOMELLI, D; PAHLISCH, F; MUHL, D; GERTH, C; HOYER, C; KLOSTERKÖTTER, J; HELLMICH, M; KOETHE, D. Cannabidiol enhances anandamide signaling and alleviates psychotic symptoms of schizophrenia. **Translational Psychiatry**, v. 2, n. 3, p. e94, 2012.

LEWEKE, F; GIUFFRIDA, A; KOETHE, D; SCHREIBER, D; NOLDEN, B; KRANASTER, L; NEATBY, M; SCHNEIDER, M; GERTH, C; HELLMICH, M. Anandamide levels in cerebrospinal fluid of first-episode schizophrenic patients: impact of *cannabis* use. **Schizophrenia Research**, v. 94, n. 1, p. 29-36, 2007.

LEWEKE, F; GIUFFRIDA, A; WURSTER, U; EMRICH, H; PIOMELLI, D. Elevated endogenous cannabinoids in schizophrenia. **Neuroreport**, v. 10, n. 8, p. 1665-9, 1999.

LI, X; ZHANG, J; GAO, W; WANG, H. Study on chemical composition, anti-inflammatory and anti-microbial activities of extracts from Chinese pear fruit (*Pyrus bretschneideri* Rehd.). **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 10, p. 3673-9, 2012.

LIMA-JUNIOR, R; OLIVEIRA, F; GURGEL, L; CAVALCANTE, I; SANTOS, K; CAMPOS, D; VALE, C; SILVA, R; CHAVES, M; RAO, V; SANTOS, F. Attenuation of visceral nociception by alpha- and beta-amyrin, a triterpenoid mixture isolated from the resin of *Protium heptaphyllum*, in mice. **Planta Medica**, v. 72, n. 1, p. 34-9, 2006.

LONG, L; MALONE, D; TAYLOR, D. Cannabidiol reverses MK-801-induced disruption of prepulse inhibition in mice. **Neuropsychopharmacology**, v. 31, n. 4, p. 795-803, 2005.

LUCAS, P. *Cannabis* as an adjunct to or substitute for opiates in the treatment of chronic pain. **Journal of Psychoactive Drugs**, v. 44, n. 2, p. 125-33, 2012.

LUDEWIG, K; GEYER, M; VOLLENWEIDER, F. Deficits in prepulse inhibition and habituation in never-medicated, first-episode schizophrenia. **Biological Psychiatry**, v. 54, n. 2, p. 121-8, 2003.

LÜTHY, M; BLUMENTHAL, T; LANGEWITZ, W; KISS, A; KELLER, U; SCHÄCHINGER, H. Prepulse inhibition of the human startle eye blink response by visual food cues. **Appetite**, v. 41, n. 2, p. 191-5, 2003.

MALLAVADHANI, U; MAHAPATRA, A; JAMIL, K; REDDY, P. Antimicrobial activity of some pentacyclic triterpenes and their synthesized 3-O-lipophilic chains. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 10, p. 1576-9, 2004.

MALONE, D; TAYLOR, D. The effect of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol on sensorimotor gating in socially isolated rats. **Behavioural Brain Research**, v. 166, n. 1, p. 101-9, 2006.

MANAHAN-VAUGHAN, D; VON HAEBLER, D; WINTER, C; JUCKEL, G; HEINEMANN, U. A single application of MK801 causes symptoms of acute psychosis, deficits in spatial memory, and impairment of synaptic plasticity in rats. **Hippocampus**, v. 18, n. 2, p. 125-34, 2008.

MANNA, S; UMATHE, S. Transient receptor potential vanilloid 1 channels modulate the anxiolytic effect of diazepam. **Brain Research**, v. 1425, n. 24, p. 75-82, 2011.

MANSBACH, R; GEYER, M. Effects of phencyclidine and phencyclidine biologists on sensorimotor gating in the rat. **Neuropsychopharmacology**, v. 2, n. 4, p. 299-308, 1989.

MARCON, R; LUIZ, A; DE PAULA WERNER, M; FREITAS, C; HATSUKO BAGGIO, C; PINTO DO NASCIMENTO, F; SOLDI, C; PIZZOLATTI, M; SOARES SANTOS, A. Evidence of TRPV<sub>1</sub> receptor and PKC signaling pathway in the antinociceptive effect of amyirin octanoate. **Brain Research**, v. 1295, n. 12, p. 76-88, 2009.



MARONGIU, M; PODDIE, D; PORCU, S; MANCHINU, M; CASTELLI, M; SOGOS, V; BINI, V; FRAU, R; CAREDDA, E; COLLU, M. Reversible disruption of pre-pulse inhibition in hypomorphic-inducible and reversible CB<sub>1</sub><sup>-/-</sup> mice. **Plos One**, v. 7, n. 4, p. e35013, 2012.

MARTIN, M; LEDENT, C; PARMENTIER, M; MALDONADO, R; VALVERDE, O. Involvement of CB<sub>1</sub> cannabinoid receptors in emotional behaviour. **Psychopharmacology**, v. 159, n. 4, p. 379-87, 2002.

MARTIN, R; SECCHI, R; SUNG, E; LEMAIRE, M; BONHAUS, D; HEDLEY, L; LOWE, D. Effects of cannabinoid receptor ligands on psychosis-relevant behavior models in the rat. **Psychopharmacology**, v. 165, n. 2, p. 128-35, 2003.

MATHUR, B; LOVINGER, D. Endocannabinoid-dopamine interactions in striatal synaptic plasticity. **Frontiers in Pharmacology**, v. 3, n. 66, 2012.

MEDEIROS, R; OTUKI, M; AVELLAR, M; CALIXTO, J. Mechanisms underlying the inhibitory actions of the pentacyclic triterpene alpha-amyrin in the mouse skin inflammation induced by phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. **European Journal of Pharmacology**, v. 559, n. 2-3, p. 227-35, 2007.

MEINCKE, U; MÖRTH, D; VOS, T; THELEN, B; GEYER, M; GOUZOU LIS-MAYFRANK, E. Prepulse inhibition of the acoustically evoked startle reflex in patients with an acute schizophrenic psychosis - A longitudinal study. **European archives of psychiatry and clinical neuroscience**, v. 254, n. 6, p. 415-21, 2004.

MELO, C; CARVALHO, K; NEVES, L; MORAIS, T; RAO, V; SANTOS, F; BRITO, G; CHAVES, M. Alpha,beta-amyrin, a natural triterpenoid ameliorates L-arginine-induced acute pancreatitis in rats. **World Journal of Gastroenterology**, v. 16, n. 34, p. 4272-80, 2010.

MELO, C; MORAIS, T; TOME, A; BRITO, G; CHAVES, M; RAO, V; SANTOS, F. Anti-inflammatory effect of alpha,beta-amyrin, a triterpene

from *Protium heptaphyllum*, on cerulein-induced acute pancreatitis in mice. **Inflammation Research**, v. 60, n. 7, p. 673-81, 2011.

MELTZER, H; ARVANITIS, L; BAUER, D; REIN, W. Placebo-controlled evaluation of four novel compounds for the treatment of schizophrenia and schizoaffective disorder. **American Journal of Psychiatry**, v. 161, n. 6, p. 975-84, 2004.

MENG, I; MANNING, B; MARTIN, W; FIELDS, H. An analgesia circuit activated by cannabinoids. **Nature**, v. 395, n. 6700, p. 381-3, 1998.

MEYRE-SILVA, C; PETRY, C; BERTE, T; BECKER, R; ZANATTA, F; DELLE-MONACHE, F; CECHINEL, V; ANDRADE, S. Phytochemical Analyses and Gastroprotective Effects of *Eugenia umbelliflora* (Myrtaceae) on Experimental Gastric Ulcers. **Natural Product Communications**, v. 4, n. 7, p. 911-6, 2009.

MEZEY, E; TOTH, Z; CORTRIGHT, D; ARZUBI, M; KRAUSE, J; ELDE, R; GUO, A; BLUMBERG, P; SZALLASI, A. Distribution of mRNA for vanilloid receptor subtype 1 (VR1), and VR1-like immunoreactivity, in the central nervous system of the rat and human. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 97, n. 7, p. 3655-60, 2000.

MIDDLETON, F; STICK, P. Anatomical evidence for cerebellar and basal ganglia involvement in higher cognitive function. **Science**, v. 266, n. 5184, p.458-61, 1994.

MITCHELL, P; MORRIS, M. Depression and anxiety with rimonabant. **The Lancet**, v. 370, n. 9600, p. 1671-2, 2007.

MOGHADDAM, B; JACKSON, M. Glutamatergic animal models of schizophrenia. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1003, p. 131-7, 2003.

MOHN, A; GAINETDINOV, R; CARON, M; KOLLER, B. Mice with reduced NMDA receptor expression display behaviors related to schizophrenia. **Cell**, v. 98, n. 4, p. 427-36, 1999.

MOREIRA, F; AGUIAR, D; TERZIAN, A; GUIMARAES, F; WOTJAK, C. Cannabinoid type 1 receptors and transient receptor potential vanilloid type 1 channels in fear and anxiety-two sides of one coin? **Neuroscience**, v. 204, n. 1, p. 186-92, 2012.

MORRISON, P; MURRAY, R. From real-world events to psychosis: the emerging neuropharmacology of delusions. **Schizophrenia bulletin**, v. 35, n. 4, p. 668-74, 2009.

MURILLO-RODRIGUEZ, E; CABEZA, R; MENDEZ-DIAZ, M; NAVARRO, L; PROSPERO-GARCIA, O. Anandamide-induced sleep is blocked by SR141716A, a CB<sub>1</sub> receptor antagonist and by U73122, a phospholipase C inhibitor. **Neuroreport**, v. 12, n. 10, p. 2131-6, 2001.

MUSELLA, A; DE CHIARA, V; ROSSI, S; PROSPERETTI, C; BERNARDI, G; MACCARRONE, M; CENTONZE, D. TRPV<sub>1</sub> channels facilitate glutamate transmission in the striatum. **Molecular and Cellular Neuroscience**, v. 40, n. 1, p. 89-97, 2009.

NEWSON, P; FRAME, A; ROACH, R; BENNETT, S; CARR, V; CHAHL, L. Intrinsic sensory deprivation induced by neonatal capsaicin treatment induces changes in rat brain and behaviour of possible relevance to schizophrenia. **British Journal of Pharmacology**, v. 146, n. 3, p. 408-18, 2005.

NORRIS, C; BLUMENTHAL, T. A relationship between inhibition of the acoustic startle response and the protection of prepulse processing. **Psychobiology**, v. 24, n. 2, p. 160-8, 1996.

NOVAK, J; ZITTERL-EGLESEER, K; DEANS, S; FRANZ, C. Essential oils of different cultivars of *Cannabis sativa* L. and their antimicrobial activity. **Flavour and fragrance journal**, v. 16, n. 4, p. 259-62, 2001.

NUSBAUM, M; CONTRERAS, D. Sensorimotor gating: startle submits to presynaptic inhibition. **Current Biology**, v. 14, n. 6, p. R247-9, 2004.

OLIVEIRA, F; COSTA, C; CHAVES, M; ALMEIDA, F; CAVALCANTE, I; LIMA, A; LIMA, R; SILVA, R; CAMPOS, A; SANTOS, F; RAO, V. Attenuation of capsaicin-induced acute and visceral nociceptive pain by alpha- and beta-amyrin, a triterpene mixture

isolated from *Protium heptaphyllum* resin in mice. **Life Sciences**, v. 77, n. 23, p. 2942-52, 2005.

OLIVEIRA, F; VIEIRA-JUNIOR, G; CHAVES, M; ALMEIDA, F; FLORENCIO, M; LIMA, R; SILVA, R; SANTOS, F; RAO, V. Gastroprotective and anti-inflammatory effects of resin from *Protium heptaphyllum* in mice and rats. **Pharmacological Research**, v. 49, n. 2, p. 105-11, 2004.

ORTEGA-ALVARO, A; ARACIL-FERNÁNDEZ, A; GARCÍA-GUTIÉRREZ, M; NAVARRETE, F; MANZANARES, J. Deletion of CB<sub>2</sub> cannabinoid receptor induces schizophrenia-related behaviors in mice. **Neuropsychopharmacology**, v. 36, n. 7, p. 1489-504, 2011.

OTUKI, M; FERREIRA, J; LIMA, F; MEYRE-SILVA, C; MALHEIROS, N; MULLER, L; CANI, G; SANTOS, A; YUNES, R; CALIXTO, J. Antinociceptive properties of mixture of alpha-amyrin and beta-amyrin triterpenes: Evidence for participation of protein kinase C and protein kinase A pathways. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 313, n. 1, p. 310-8, 2005a.

OTUKI, M; LIMA, F; MALHEIROS, A; CECHINEL-FILHO, V; MONACHE, F; YUNES, R; CALIXTO, J. Evaluation of the antinociceptive action caused by ether fraction and a triterpene isolated from resin of *Protium kleinii*. **Life Sciences**, v. 69, n. 19, p. 2225-36, 2001.

OTUKI, M; VIEIRA-LIMA, F; MALHEIROS, Â; YUNES, RA; CALIXTO, JB. Topical antiinflammatory effects of the ether extract from *Protium kleinii* and  $\alpha$ -amyrin pentacyclic triterpene. **European Journal of Pharmacology**, v. 507, n. 1-3, p. 253-9, 2005b.

PADUCH, R; KANDEFER-SZERSZEŃ, M; TRYTEK, M; FIEDUREK, J. Terpenes: substances useful in human healthcare. **Archivum immunologiae et therapiae experimentalis**, v. 55, n. 5, p. 315-27, 2007.

PAMPLONA, F; FERREIRA, J; DE LIMA, O; DUARTE, F; BENTO, A; FORNER, S; VILLARINHO, J; BELLOCHIO, L; WOTJAK, C; LERNER, R; MONORY, K; LUTZ, B; CANETTI, C; MATIAS, I; CALIXTO, J; MARSICANO, G; GUIMARÃES, M; TAKAHASHI, R.

Anti-inflammatory lipoxin A4 is an endogenous allosteric enhancer of CB<sub>1</sub> cannabinoid receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 109, n. 51, p. 21134-9, 2012.

PATERNOSTER, R; POGARSKY, G. Rational choice, agency and thoughtfully reflective decision making: the short and long-term consequences of making good choices. **Journal of Quantitative Criminology**, v. 25, n. 2, p. 103-27, 2009.

PAXINOS, G; WATSON, C. **The rat brain in stereotaxic coordinates**. Academic press, 2007.

PEAT, S. Using cannabinoids in pain and palliative care. **International Journal of Palliative Nursing**, v. 16, n. 10, p. 481-5, 2010.

PENCER, A; ADDINGTON, J; ADDINGTON, D. Outcome of a first episode of psychosis in adolescence: a 2-year follow-up. **Psychiatry Research**, v. 133, n. 1, p. 35-43, 2005.

PENNEY, J; YOUNG, A. GABA as the pallidothalamic neurotransmitter: implications for basal ganglia function. **Brain Research**, v. 207, n. 1, p. 195-9, 1981.

PINTO, S; PINTO, L; GUEDES, M; CUNHA, G; CHAVES, M; SANTOS, F; RAO, V. Antinoceptive effect of triterpenoid alpha,beta-amyrin in rats on orofacial pain induced by formalin and capsaicin. **Phytomedicine**, v. 15, n. 8, p. 630-4, 2008.

QUEDNOW, B; KÜHN, K-U; HOENIG, K; MAIER, W; WAGNER, M. Prepulse inhibition and habituation of acoustic startle response in male MDMA ('ecstasy') users, *cannabis* users, and healthy controls. **Neuropsychopharmacology**, v. 29, n. 5, p. 982-90, 2004.

ROCHE, M; FINN, D. Brain CB<sub>2</sub> receptors: implications for neuropsychiatric disorders. **Pharmaceuticals**, v. 3, n. 8, p. 2517-53, 2010.

RODRIGUES, E; DUARTE-ALMEIDA, J; PIRES, J. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicas. Parte I.

**Revista Brasileira De Farmacognosia-Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, p. 981-91, 2010.

ROSS, R. Anandamide and vanilloid TRPV<sub>1</sub> receptors. **British Journal of Pharmacology**, v. 140, n. 5, p. 790-801, 2009.

RUJESCU, D; BENDER, A; KECK, M; HARTMANN, A; OHL, F; RAEDER, H; GIEGLING, I; GENIUS, J; MCCARLEY, R; MÖLLER, H-J; GRUNZE, H. A pharmacological model for psychosis based on N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction: molecular, cellular, functional and behavioral abnormalities. **Biological Psychiatry**, v. 59, n. 8, p. 721-9, 2006.

SAGAR, D; SMITH, P; MILLNS, P; SMART, D; KENDALL, D; CHAPMAN, V. TRPV<sub>1</sub> and CB<sub>1</sub> receptor-mediated effects of the endovanilloid/endocannabinoid N-arachidonoyl-dopamine on primary afferent fibre and spinal cord neuronal responses in the rat. **European Journal of Neuroscience**, v. 20, n. 1, p. 175-84, 2004.

SANTOS, E; LIMA, J; NOLDIN, V; CECHINEL, V; RAO, V; LIMA, E; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G; SOUSA, P; MARTINS, D. Anti-inflammatory, antinociceptive, and antipyretic effects of methanol extract of *Cariniana rubra* stem bark in animal models. **Anais Da Academia Brasileira De Ciencias**, v. 83, n. 2, p. 557-66, 2011.

SCHNEIDER, M; KOCH, M. The cannabinoid agonist WIN 55,212-2 reduces sensorimotor gating and recognition memory in rats. **Behavioural Pharmacology**, v. 13, n. 1, p. 29-37, 2002.

SCHNEIDER, M; KOCH, M. Chronic pubertal, but not adult chronic cannabinoid treatment impairs sensorimotor gating, recognition memory, and the performance in a progressive ratio task in adult rats. **Neuropsychopharmacology**, v. 28, n. 10, p. 1760-9, 2003.

SCHOLES, K; MARTIN-IVERSON, M. Alterations to pre-pulse inhibition (PPI) in chronic *cannabis* users are secondary to sustained attention deficits. **Psychopharmacology**, v. 207, n. 3, p. 469-84, 2009.

SCHOLES-BALOG, K; MARTIN-IVERSON, M. *Cannabis* use and sensorimotor gating in patients with schizophrenia and healthy controls.

**Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental**, v. 26, n. 6, p. 373-85, 2011.

SCHULTZ, W. Getting formal with dopamine and reward. **Neuron**, v. 36, n. 2, p. 241-63, 2002.

SESSA, B. Can psychedelics have a role in psychiatry once again? **The British Journal of Psychiatry**, v. 186, n. 6, p. 457-8, 2005.

SEWELL, R; SCHNAKENBERG, A; ELANDER, J; RADHAKRISHNAN, R; WILLIAMS, A; SKOSNIK, P; PITTMAN, B; RANGANATHAN, M; DSOUZA, D. Acute effects of THC on time perception in frequent and infrequent *cannabis* users. **Psychopharmacology**, v. 226, n. 2, p. 1-13, 2012.

SHERMAN, S; GUILLERY, R. The role of the thalamus in the flow of information to the cortex. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences**, v. 357, n. 1428, p. 1695-708, 2002.

SIANI, A; RAMOS, M; MENEZES-DE-LIMA, O; RIBEIRO-DOS-SANTOS, R; FERNADEZ-FERREIRA, E; SOARES, R; ROSAS, E; SUSUNAGA, G; GUIMARAES, A; ZOGHBI, M; HENRIQUES, M. Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, n. 1, p. 57-69, 1999.

SIMÃO DA SILVA, K; PASZCUK, A; PASSOS, G; SILVA, E; BENTO, A; MEOTTI, F; CALIXTO, J. Activation of cannabinoid receptors by the pentacyclic triterpene  $\alpha$ ,  $\beta$ -amyrin inhibits inflammatory and neuropathic persistent pain in mice. **Pain**, v. 152, n. 8, p. 1872-87, 2011.

SOLDI, C; PIZZOLATTI, M; LUIZ, A; MARCON, R; MEOTTI, F; MIOTO, L; SANTOS, A. Synthetic derivatives of the alpha- and beta-amyrin triterpenes and their antinociceptive properties. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 6, p. 3377-86, 2008.

SOUSA, N; ALMEIDA, O; WOTJAK, C. A hitchhiker's guide to behavioral analysis in laboratory rodents. **Genes, Brain and Behavior**, v. 5, n. suplemento 2, p. 5-24, 2006.

STERNBERG, R. **Psicologia cognitiva**. Artmed, 2008.

SULCOVA, E; MECHOULAM, R; FRIDE, E. Biphasic effects of anandamide. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 59, n. 2, p. 347-52, 1998.

SUSUNAGA, G; SIANI, A; PIZZOLATTI, M; YUNES, R; DELLE MONACHE, F. Triterpenes from the resin of *Protium heptaphyllum*. **Fitoterapia**, v. 72, n. 6, p. 709-11, 2001.

SWERDLOW, N; BRAFF, D; GEYER, M. Cross-species Studies of Sensorimotor Gating of the Startle Reflex. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 877, n. 1, p. 202-16, 2006.

SWERDLOW, N; WEBER, M; QU, Y; LIGHT, G; BRAFF, D. Realistic expectations of prepulse inhibition in translational models for schizophrenia research. **Psychopharmacology**, v. 199, n. 3, p. 331-88, 2008.

SZALLASI, A; CORTRIGHT, D; BLUM, C; EID, S. The vanilloid receptor TRPV<sub>1</sub>: 10 years from channel cloning to antagonist proof-of-concept. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 6, n. 5, p. 357-72, 2007.

TZAVARA, E; LI, D; MOUTSIMILLI, L; BISOGNO, T; DI MARZO, V; PHEBUS, L; NOMIKOS, G; GIROS, B. Endocannabinoids activate transient receptor potential vanilloid 1 receptors to reduce hyperdopaminergia-related hyperactivity: therapeutic implications. **Biological Psychiatry**, v. 59, n. 6, p. 508-15, 2006.

UMATHE, S; MANNA, S; JAIN, N. Endocannabinoid analogues exacerbate marble-burying behavior in mice via TRPV<sub>1</sub> receptor. **Neuropharmacology**, v. 62, n. 5-6, p. 2024-33, 2012.

VERPOORTE, R; VAN DER HEIJDEN, R; MEMELINK, J. Engineering the plant cell factory for secondary metabolite production. **Transgenic research**, v. 9, n. 4, p. 323-43, 2000.

VIEIRA, G; DE SOUZA, C; CHAVES, M. The *Protium heptaphyllum* resin: Isolation, structural characterization and evaluation of thermal properties. **Quimica Nova**, v. 28, n. 2, p. 183-7, 2005.



VITOR, C; FIGUEIREDO, C; HARA, D; BENTO, A; MAZZUCO, T; CALIXTO, J. Therapeutic action and underlying mechanisms of a combination of two pentacyclic triterpenes, alpha- and beta-amyrin, in a mouse model of colitis. **British Journal of Pharmacology**, v. 157, n. 6, p. 1034-44, 2009.

VOLLENWEIDER, F. Advances and pathophysiological models of hallucinogenic drug actions in humans: a preamble to schizophrenia research. **Pharmacopsychiatry**, v. 31, n. suplemento 2, p. 92-103, 1998.

VOLLENWEIDER, F; KOMETER, M. The neurobiology of psychedelic drugs: implications for the treatment of mood disorders. **Nature Reviews Neuroscience**, v. 11, n. 9, p. 642-51, 2010.

WAN, F-J; SWERDLOW, N. Sensorimotor gating in rats is regulated by different dopamine-glutamate interactions in the nucleus accumbens core and shell subregions. **Brain Research**, v. 722, n. 1, p. 168-76, 1996.

WĘDZONY, K; GOŁEMBIOWSKA, K; ZAZULA, M. Differential effects of CGP 37849 and MK-801, competitive and noncompetitive NMDA antagonists, with respect to the modulation of sensorimotor gating and dopamine outflow in the prefrontal cortex of rats. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 350, n. 5, p. 555-62, 1994.

WEIKE, A; BAUER, U; HAMM, A. Effective neuroleptic medication removes prepulse inhibition deficits in schizophrenia patients. **Biological Psychiatry**, v. 47, n. 1, p. 61-70, 2000.

WILSON, C; KAWAGUCHI, Y. The origins of two-state spontaneous membrane potential fluctuations of neostriatal spiny neurons. **The Journal of neuroscience**, v. 16, n. 7, p. 2397-2410, 1996.

WHITE, I; WHITAKER, C; WHITE, W. Amphetamine-induced hyperlocomotion in rats: Hippocampal modulation of the nucleus accumbens. **Hippocampus**, v. 16, n. 7, p. 596-603, 2006.

WOOLSEY, C. Organization of somatic sensory and motor areas of the cerebral cortex. **Biological and biochemical bases of behavior**, v. 61, p. 73-166, 1958.

WU, C; HSEU, Y; LIEN, J; LIN, L; LIN, Y; CHING, H. Triterpenoid Contents and Anti-Inflammatory Properties of the Methanol Extracts of *Ligustrum* Species Leaves. **Molecules**, v. 16, n. 1, p. 1-15, 2011.

ZAVITSANOU, K; DALTON, V; WANG, H; NEWSON, P; CHAHL, L. Receptor changes in brain tissue of rats treated as neonates with capsaicin. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 39, n. 4, p. 248-55, 2010.

ZUARDI, A; CRIPPA, J; HALLAK, J; MOREIRA, F; GUIMARAES, F. Cannabidiol, a *Cannabis sativa* constituent, as an antipsychotic drug. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 39, n. 4, p. 421-9, 2006.

ZUARDI, A; CRIPPA, J; HALLAK, J; PINTO, J; CHAGAS, M; RODRIGUES, G; DURSUN, S; TUMAS, V. Cannabidiol for the treatment of psychosis in Parkinsons disease. **Journal of Psychopharmacology**, v. 23, n. 8, p. 979-83, 2009.

ZUARDI, A. History of *Cannabis* as a Medicine: A Review. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, v. 28, n. 2, p. 153-57, 2006.

ZUARDI, A; MORAIS, S; GUIMARÃES, F; MECHOULAM, R. Antipsychotic effect of cannabidiol. **Journal of Clinical Psychiatry**, v. 56, n. 10, p. 485-6, 1995.

## APÊNDICE A – Resultados de sobressalto e habituação

Tabela 1 – Efeito dos tratamentos icv sobre o sobressalto (SS) e habituação (h).

Tratamento icv ( $\mu\text{g}/\text{rato}$ )	SS (média $\pm$ E.P.M.)		H(média $\pm$ E.P.M.)		
<b>Controle</b>	126,9	$\pm 5,23$	-0,22	$\pm 3,52$	
<b><math>\alpha</math>AMI</b>	<b>0,1</b>	158,4	$\pm 19,34$	-33,68	$\pm 11,67^*$
	<b>1,0</b>	104,0	$\pm 6,57$	-23,26	$\pm 4,92^*$
	<b>10,0</b>	149,2	$\pm 12,34$	-35,87	$\pm 4,65^*$
<b>AM251</b>		114,0	$\pm 10,36$	6,69	$\pm 4,21$
<b>AM251 x <math>\alpha</math>AMI</b>		124,5	$\pm 5,67$	1,32	$\pm 6,51$
<b>CAP</b>	<b>0,1</b>	113,3	$\pm 9,93$	-4,57	$\pm 4,71$
	<b>1,0</b>	103,5	$\pm 35,96$	3,93	$\pm 14,25$
	<b>10,0</b>	114,5	$\pm 14,61$	-1,34	$\pm 14,36$
<b>CPZ</b>	<b>0,1</b>	111,6	$\pm 17,30$	-1,22	$\pm 3,90$
	<b>1,0</b>	108,6	$\pm 14,84$	-7,31	$\pm 2,11$
	<b>10,0</b>	105,2	$\pm 7,70$	-1,20	$\pm 3,06$
<b>MK801<sup>ip</sup></b>		155,1	$\pm 22,62$	6,34	$\pm 10,70$
<b>CAP x MK801<sup>ip</sup></b>		140,7	$\pm 14,53$	0,64	$\pm 6,52$
<b>CAP x <math>\alpha</math>AMI</b>		111,0	$\pm 12,33$	-19,95	$\pm 13,45^*$
<b>CPZ x <math>\alpha</math>AMI</b>		127,4	$\pm 14,85$	-47,46	$\pm 18,12^*$

\* $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.

MK801<sup>ip</sup> - Conforme descrito na figura 12, esquema experimental 6, o tratamento com MK801 0,2 mg/kg foi intraperitoneal 30 minutos antes do teste de sobressalto.

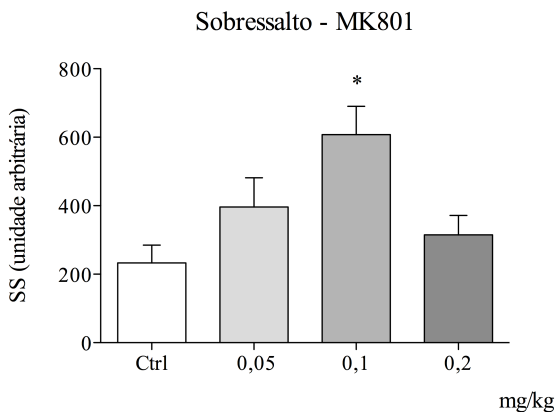


Figura 31. Efeito de MK801 (0,05; 0,1 ou 0,2mg/kg) na amplitude de sobressalto. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA/Newman-Keuls, n=6-8 animais. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.

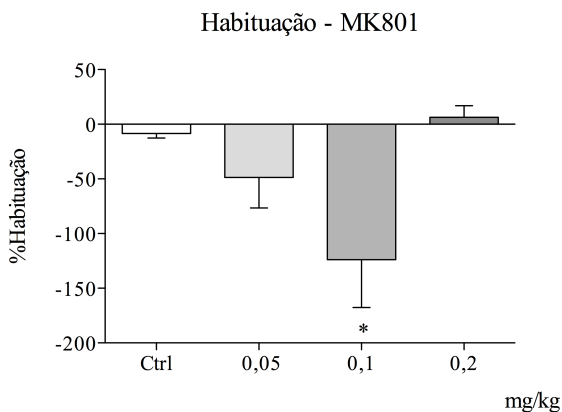


Figura 32. Efeito de MK801 (0,05; 0,1 ou 0,2mg/kg) na habituação. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA/Newman-Keuls, n=6-8 animais. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.

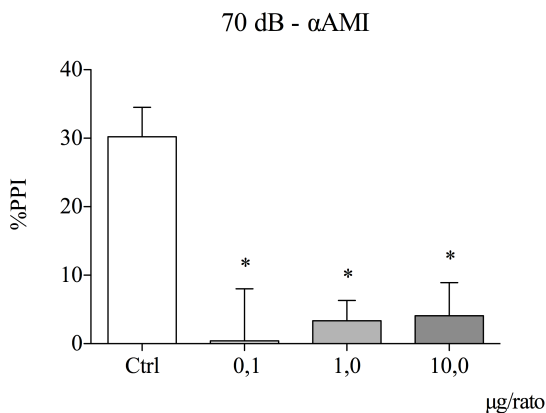
**APÊNDICE B – Gráficos PPI com pP de 70 e 80 dB**

Figura 33. Efeito da  $\alpha$ AMI (0,1; 1,0 ou 10,0  $\mu$ g/rato) no PPI, com pP de 70 dB. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA/Newman-Keuls, n=7-10 animais. \*p<0,05 em comparação ao grupo controle.

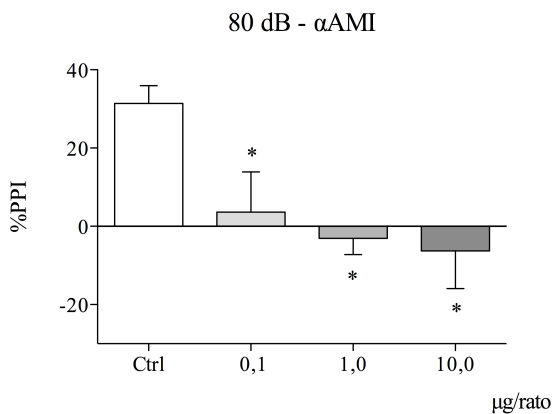


Figura 34. Efeito da  $\alpha$ AMI (0,1; 1,0 ou 10,0  $\mu$ g/rato) no PPI, com pP de 80 dB. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA/Newman-Keuls, n=7-10 animais. \*p<0,05 em comparação ao grupo controle.

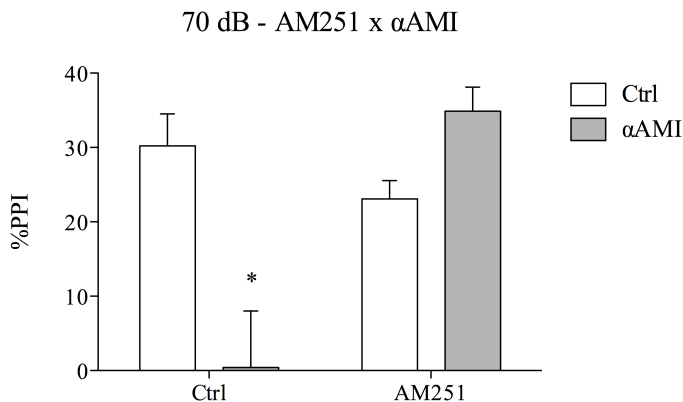


Figura 35. Influência do antagonismo dos receptores  $CB_1$ , via pré-tratamento com AM251 (1,0  $\mu$ g/rato), na alteração de PPI, com pP de 70 dB, induzida pela  $\alpha$ AMI (0,1  $\mu$ g/rato). Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA de duas vias/Newman-Keuls, n=8-9 animais. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.

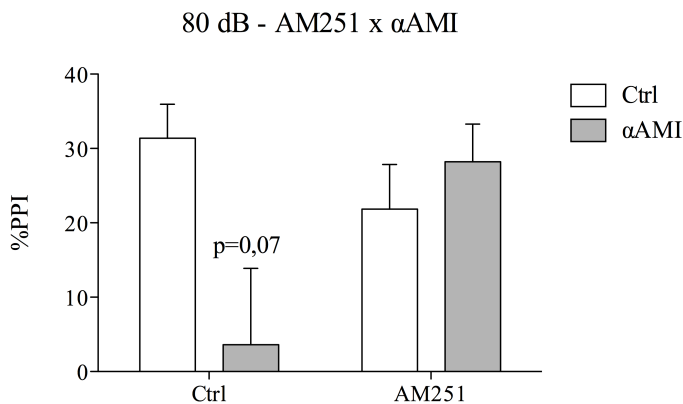


Figura 36. Influência do antagonismo dos receptores  $CB_1$ , via pré-tratamento com AM251 (1,0  $\mu$ g/rato), na alteração de PPI, com pP de 80 dB, induzida pela  $\alpha$ AMI (0,1  $\mu$ g/rato). Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA de duas vias/Newman-Keuls, n=8-9 animais. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.

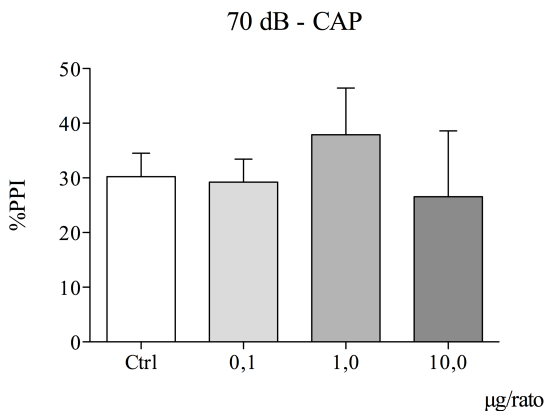


Figura 37. Efeito de CAP (0,1; 1,0 ou 10,0 µg/rato) no PPI, com pP de 70 dB. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA, n=8-10 animais.

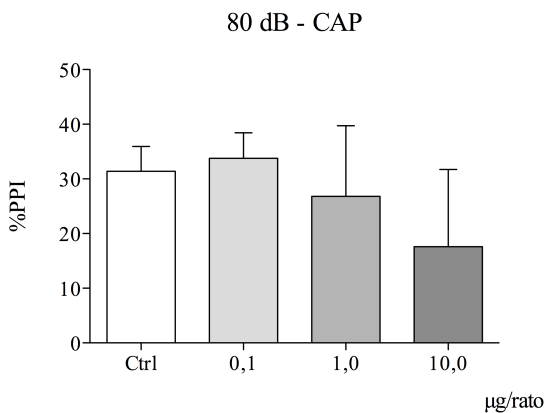


Figura 38. Efeito de CAP (0,1; 1,0 ou 10,0 µg/rato) no PPI, com pP de 80 dB. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA, n=8-10 animais.

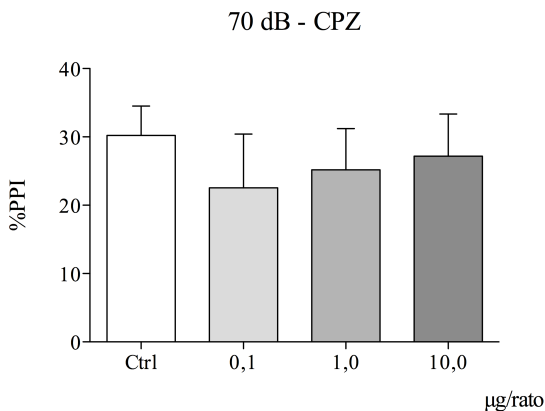


Figura 39. Efeito de CPZ (0,1; 1,0 ou 10,0 µg/rato) no PPI, com pP de 70 dB. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA, n=8-10 animais.

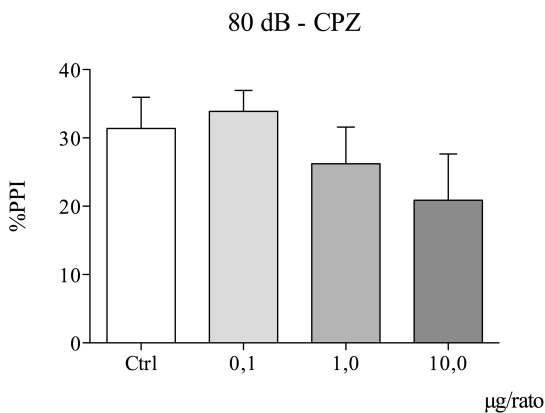


Figura 40. Efeito de CPZ (0,1; 1,0 ou 10,0 µg/rato) no PPI, com pP de 80 dB. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA, n=8-10 animais.



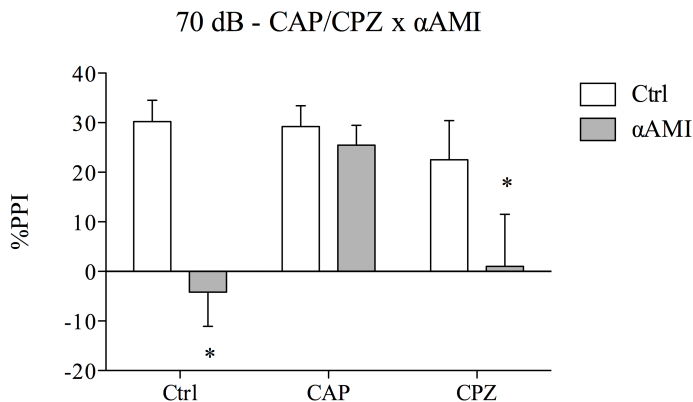


Figura 41. Influência da estimulação e antagonismo dos receptores TRPV<sub>1</sub>, via pré-tratamento com CAP (0,1  $\mu$ g/rato) ou CPZ (0,1  $\mu$ g/rato), na alteração de PPI, com pP de 70 dB, induzida pela  $\alpha$ AMI (0,1  $\mu$ g/rato). Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA de duas vias/Newman-Keuls, n=8-10 animais. \*p<0,05 em comparação ao grupo controle.

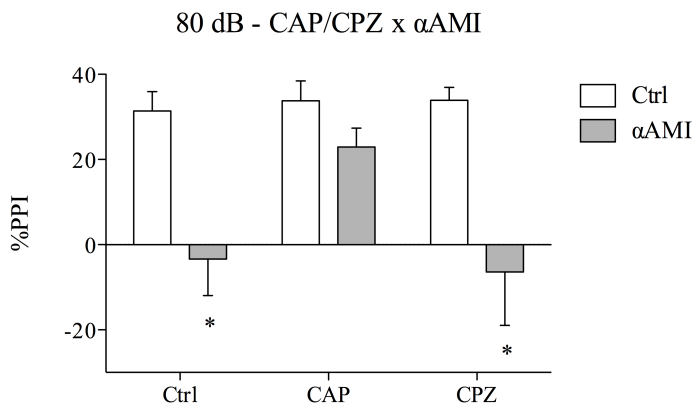


Figura 42. Influência da estimulação e antagonismo dos receptores TRPV<sub>1</sub>, via pré-tratamento com CAP (0,1  $\mu$ g/rato) ou CPZ (0,1  $\mu$ g/rato), na alteração de PPI, com pP de 80 dB, induzida pela  $\alpha$ AMI (0,1  $\mu$ g/rato). Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA de duas vias/Newman-Keuls, n=8-10 animais. \*p<0,05 em comparação ao grupo controle.

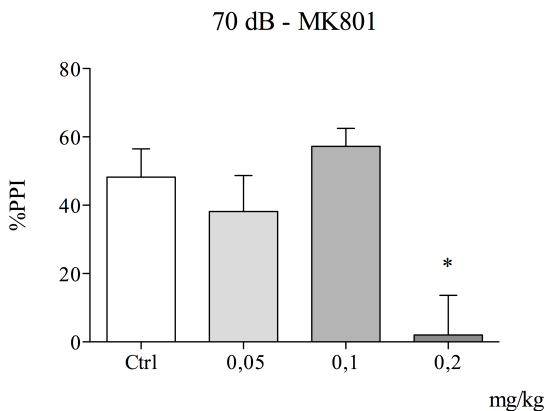


Figura 43. Efeito de MK801 (0,05; 0,1 ou 0,2mg/kg) no PPI, com pP de 70 dB. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA/Newman-Keuls, n=6-8 animais. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.

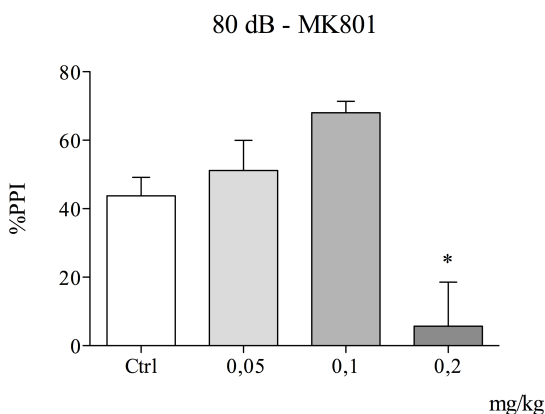


Figura 44. Efeito de MK801 (0,05; 0,1 ou 0,2mg/kg) no PPI, com pP de 80 dB. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA/Newman-Keuls, n=6-8 animais. \* $p < 0,05$  em comparação ao grupo controle.

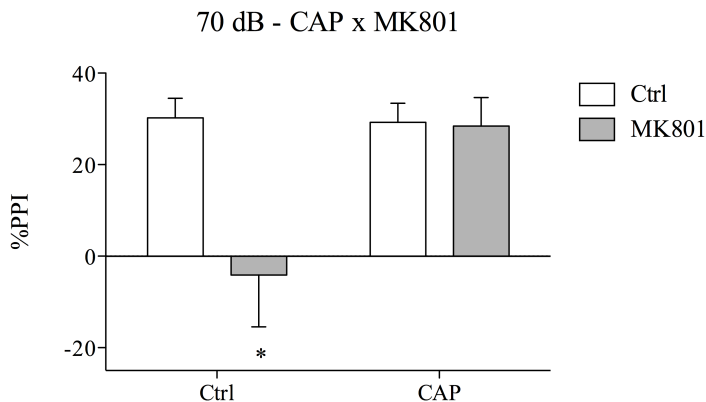


Figura 45. Influência da estimulação dos receptores TRPV<sub>1</sub>, via pré-tratamento com CAP (0,1 µg/rato), na alteração de PPI, com pP de 70 dB, induzida por MK801 0,2 mg/kg. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA de duas vias/Newman-Keuls, n=8-9 animais. \*p<0,05 em comparação ao grupo controle.

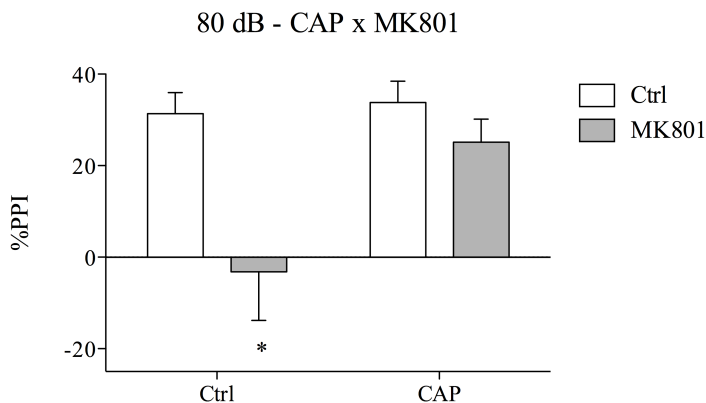


Figura 46. Influência da estimulação dos receptores TRPV<sub>1</sub>, via pré-tratamento com CAP (0,1 µg/rato), na alteração de PPI, com pP de 80 dB, induzida por MK801 0,2 mg/kg. Dados expressos como média+EPM e analisados por ANOVA de duas vias/Newman-Keuls, n=8-9 animais. \*p<0,05 em comparação ao grupo controle.

## ANEXO A – Parecer de aprovação do CEUA/UFSC

### PARECER

Referente ao protocolo CEUA/PP00645, sob coordenação do professor Reinaldo Naoto Takahashi/Departamento de Farmacologia/ Centro de Ciências Biológicas (CCB), intitulado: "Investigação de mecanismos canabinóides em modelos animais de esquizofrenia".

Resposta do pesquisador aos questionamentos:

1. "No item II.A.2 (condições de criação e alojamento), a temperatura do macroambiente ( $21\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) não está em acordo com o que a CEUA vem aconselhando, a qual seria de  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ "; Agradecemos a sugestão e iremos adequar nosso biotério conforme aconselhamento do CEUA.

2. "O item II.A.6 cita o uso de Lidocaina 2% e noradrenalina 0,04% (0,2 mL/via Sub cutânea) como pré-anestesia, porém na descrição do procedimento cirúrgico (cirurgia estereotáxica) o uso desse recurso não é relatado"; O uso da pré-anestésia local tem por finalidade reduzir a dor no pós-operatório e diminuir o aporte de sangue no local da incisão, por isso é administrado no escalpo, por via subcutânea, 2 minutos antes da incisão, com o animal já anestesiado e imobilizado no aparelho estereotáxico.

3. "Com relação ao número de animais por grupo experimental, os subitens (a-g) descrevem o número do sub-total de animais, porém, estes somados não equivalem ao total de animais solicitados pelo projeto"; Obrigado por apontar tal erro de digitação que será corrigido para a nova versão do projeto\*.

\*OBS: O número total de animais solicitados para o projeto foi reduzido de 342 para 332 animais.

Considerando os questionamentos esclarecidos, sou favorável à aprovação do referido protocolo.

Florianópolis, 09 de agosto de 2011.