UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGIA

Mecanismos celulares e neuroquímicos do efeito tipo-antipsicótico do canabidiol: envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e CB_2

NAIELLY RODRIGUES DA SILVA

RIBEIRÃO PRETO
2021

NAIELLY RODRIGUES DA SILVA

Mecanismos celulares e neuroquímicos do efeito tipo-antipsicótico do canabidiol: envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e CB_2

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências.
Área de Concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Francisco Silveira Guimarães

RIBEIRÃO PRETO
2021

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Rodrigues da Silva, Naielly

Mecanismos celulares e neuroquímicos do efeito tipo-antipsicótico do canabidiol: envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e CB_2/ Naielly Rodrigues da Silva; orientador: Prof. Dr. Francisco Silveira Guimarães. – Ribeirão Preto, 2021. 181 f.

Tese (Doutorado em Ciências – Área de Concentração: Farmacologia) -- Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, 2021.

1. Canabidiol 2. Redes perineuronais 3. Parvalbumina 4. Micróglia, 5. Dopamina

FOLHA DE APROVAÇÃO

Naielly Rodrigues da Silva

Mecanismos celulares e neuroquímicos do efeito tipo-antipsicótico do canabidiol: envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e CB_2

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências.
Área de Concentração: Farmacologia

Aprovado em:___/___/ 2021

Banca Examinadora

Presidente
Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a)
Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a)
Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a)
Assinatura:
Nome:
Instituição:

“Dedico este trabalho aos meus pais, Itamar e Rosemeire e ao meu irmão Vinícius que me inspiram e me apoiam incondicionalmente.”

AGRADECIMENTOS

A Deus, a natureza e a toda criação divina.

A minha mãe, Rosemeire, força motriz e inspiradora. Uma companheira de vida e de existência. A pessoa que eu mais admiro e me espelho.

Ao meu irmão, Vinícius, o curioso que me inspira. O cientista nato. O irmão que me incentiva a sonhar e acreditar nos meus sonhos.

Ao meu pai, Itamar, outro curioso. Que me mostrou o que é ciência quando eu nem poderia imaginar minha trajetória profissional. O que acredita em mim e me motiva a ser sempre mais.

Ao Prof. Dr. Francisco Silveira Guimarães, por tanto! Por me ensinar muito sobre muita coisa. Por transformar tantas pessoas e nos mostrar uma visão mais expandida do mundo. Que desde o mestrado me acolheu em seu laboratório e que me transformou profissionalmente ao longo de tantos anos. Pela ótima convivência que sempre fomentou em todos os ambientes, sempre regado a café ou um bom mate. Por confiar em mim e no meu trabalho e apoiar todas as minhas ideias. Muita gratidão por tudo!

Aos amigos do Laboratório de Psicofarmacologia, professora Sabrina, Manoela, Carla, Alice, Amanda, Isadora, Yuriê e Nicole pelo bom convívio diário e pelo companheirismo. Em especial, para Andrezinha que sempre, com muito carinho, me ajudou imensamente.

Ao Prof. Dr. Felipe Vilella Gomes, que gentilmente me ajudou durante tantos anos. Um cientista brilhante e inspirador que eu tenho muito orgulho de ter tido o privilégio de trabalhar em colaboração. Agradeço imensamente a escuta, a ajuda e os insights sempre muito interessantes que contribuíram imensamente para o desenvolvimento deste trabalho e da minha formação.

Aos estudantes do laboratório do Prof. Felipe, Thamyris, Debora Fabris, Debora Akemi, Adriana e Andreza, obrigada pelo ótimo convívio e colaborações.

A Profa. Dra. Alline Cristina de Campos, que sempre faz com que eu acredite em mim, nos meus sonhos e projetos. Uma cientista que me inspira e que abriu gentilmente as portas do seu laboratório para que eu possa aprender e criar grandes laços de amizade. Que me mostrou e me ensinou que nós, mulheres, podemos alcançar tudo que buscamos.

Aos estudantes do laboratório da Profa. Alline que se tornaram grandes amigos Rafael, Karla, Pacu, Isabela, Gabriel, Dri, Zezé, América e Tamires por sempre estarem disponíveis e solícitos para me ajudar em tudo e pela agradável amizade. Em especial a Franciele, Edu, Rafa Aguiar, Paula e Melissa por se tornarem minha família em Ribeirão Preto, por tanto tantas vezes. Eu amo vocês. Em especial do especial, pra Melissa que foi minha "coach" em momentos de desespero e que é minha companheira da ciência, economia, sonhos e muito mais. Um presente de Olorum ter te encontrado no mesmo tempo-espaço, de novo.

A Profa. Dra. Elaine Del Bel que gentilmente doou o anticorpo WFA para que as imunos de PNNs fossem realizadas inicialmente neste trabalho. Uma professora com uma ternura admirável e extremamente competente que confiou no meu trabalho e abriu muitas portas na minha trajetória profissional.

A Mariza Bortolanza, que foi uma companheira de jornada colaborando desde as imunoflorescências com WFA até os "perrengues chiques" em Berlin.

Ao professor Ismael Galve-Roperth que abriu as portas do seu laboratório na Universidade Complutense de Madrid e gentilmente me ensinou muito. Sou muito grata por seguir colaborando e confiando no meu trabalho.

Aos alunos e técnicos do Prof. Ismael e Prof. Manuel Guzmán, Irene, Carlos, Eva, Alba, José, Daniel, Tania e Javier pela parceria e imensa ajuda no castellano e na ciência.

À Profa. Dra. Cecília Scorza que me recebeu no Instituto de Investigaciones Clemente Estable, que através dessa colaboração possibilitou realizar os testes

de microdiálise presentes neste trabalho. Para além dos importantes achados científicos a professora Cecília se tornou uma amiga e companheira de trabalho que me inspira diariamente. Grande responsável também pela minha formação não somente científica, mas pessoal. Uma das mulheres cientistas que eu mais admiro e observo para, quiçá um dia, alcançar parte dessa experiência e habilidade. Que possamos seguir sempre próximas, mesmo que seja "remando en dulce de leche".

À Dra. Jessica Urbanivicius, pesquisadora incrível que gentilmente me ensinou com detalhes e maestria a técnica de microdiálise. Uma amiga que eu tenho admiração ímpar, uma das pessoas mais amáveis que eu já conheci. Um presente da vida e para a vida toda. Que faz o melhor mate da América do Sul, sem dúvidas.

Aos pesquisadores e colaboradores do laboratório da Profa. Cecília, Jose, Analia, Ximena, Gisele, Carolina, Juli y Astrid, por todo o apoyo, mates bien cebados y conversaciones bueníssimas!

Aos meus grandes amigos que eu tenho o privilégio de compartilhar a vida: Atlante, Fê Cunfli, Rafael Aguiar, Prots, Mayara, Uai, Duda, Pneumo, Fran, Pedro, Jeimison, Bruno, Aline Veloso, Juliana, Aline Roncalho, Erika, Lucas, Helô, Ivaldo obrigada pelos momentos que fazem a vida valer a pena.

Aos professores do Departamento de Farmacologia, pelos aprendizados e por contribuírem para minha formação profissional.

A banca avaliadora deste trabalho pela dedicação e contribuições.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Unión Iberoamericana de Universidades e International Brain Research Organization (IBRO) pelo apoio financeiro.

Aos técnicos Marcos Antonio, Afonso, Eleni, Inês e Tadeu (in memorian) pela

disponibilidade e pelo apoio técnico.

Aos funcionários Ramon e Gislaine, pela competência, disponibilidade e atenção com que atendem as nossas necessidades burocráticas.

Ao CAE e todos os irmãos de fé, em especial ao Sacerdote Pai Reinaldo por todo o aprendizado e sustentação durante todos estes anos. Aos meus, aos seus e aos nossos. Axé.

Aos batuques que batem forte no meu coração. Lobateria, Maracatu Ingazeiro, Maracatu Navegante e Maracatu Baque Mulher.

À Alexandra Elbakyan, criadora do sci-hub, por dedicar sua vida para a democratização da ciência.

Aos animais utilizados na pesquisa científica,
minha gratidão e respeito.

“De nuestros miedos nacen nuestros corajes y en nuestras dudas viven nuestras certezas. Los sueños anuncian otra realidad posible y los delirios otra razón.

En los extravios nos esperan hallazgos, porque es preciso perderse para volver a encontrarse”

Eduardo Galeano

Resumo

RESUMO

Rodrigues da Silva, N. **Mecanismos celulares e neuroquímicos do efeito tipo-antipsicótico do canabidiol: envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e CB_2.** 181p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

A esquizofrenia é um transtorno complexo e altamente incapacitante. Evidências sugerem que uma hipofunção dos receptores NMDA estaria envolvida nos sintomas positivos, negativos e cognitivos da esquizofrenia. Dados pré-clínicos e clínicos indicam que o canabidiol (CBD), um composto não-psicotomimético presente na planta *Cannabis sativa*, induz efeitos tipo-antipsicóticos. Estudos realizados pelo nosso grupo mostram que o tratamento repetido com CBD preveniu e atenuou as alterações comportamentais induzidas pelo tratamento repetido com MK-801, uma antagonista dos receptores NMDA, em testes relacionados com os sintomas negativos e cognitivos da esquizofrenia. Apesar das evidências indicarem o possível efeito tipo-antipsicótico do CBD, o mecanismo de ação pelo qual este composto exerce este efeito ainda não está elucidado. Acredita-se que o sistema endocanabinoide e/ou o sistema serotoninérgico possam estar evolvidos. Portanto, no presente estudo, nós avaliamos se o tratamento repetido com CBD atenuaria as alterações comportamentais e moleculares induzidas pela administração repetida de MK-801 e o possível envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e/ou CB2. Assim, camundongos C57BL/6J receberam injeções i.p. de MK-801 durante 14 dias. A partir do 15° dia, os animais receberam uma injeção de WAY100635, um antagonista de receptores 5-HT_{1A}, ou AM630, um antagonista de receptores CB_2, e 10 min depois receberam uma injeção diária de CBD durante 7 dias. Vinte e quatro horas após a última injeção, os animais foram submetidos à habituação e, no dia seguinte, foram submetidos ao teste de reconhecimento de objetos a curto prazo (ROC) e, 24 h depois, ao reconhecimento de objeto a longo prazo (ROL). Após os testes, os cérebros dos animais foram processados para avaliação de alterações moleculares. Para a avaliação dos efeitos moleculares de longo prazo, um grupo independente de animais foi submetido ao mesmo tratamento e os encéfalos foram retirados 21 dias após a última injeção de CBD. Foram avaliadas as alterações na expressão das proteínas parvalbumina e WFA, marcadores de proteína expressa em uma subclasse de interneurônios GABAérgicos e de redes perineuronais, respectivamente. Adicionalmente, foi realizada a identificação de células microgliais com o marcador Iba-1. O CBD atenuou os prejuízos nos testes de ROC e ROL induzidos por MK-801. Este efeito foi bloqueado pelo WAY100635, mas não pelo AM630. O tratamento repetido com MK-801 diminuiu a quantidade de células marcadas com PV+ e a intensidade da marcação de WFA co-localizada com PV+ (WFA/PV+) nas regiões do córtex pré-frontal (CPF) pré-límbico (PreL), área ventral do CA1 (vCA1) e subículo ventral (vSub) do hipocampo, mas não no córtex pré-frontal infra-límbico (InfraL). O CBD atenuou o efeito do MK-801 sobre a diminuição de células PV+ e WFA/PV+ no PreL, vCA1 e vSub. O efeito do CBD sobre a diminuição de células PV+ induzida por MK-801 no PreL foi observado até 21 dias após o final do tratamento. Curiosamente, os efeitos do CBD sobre a diminuição de PV+ e WFA/PV+ foi bloqueado pelo WAY100635 ou AM630 no vCA1 e vSub, mas não no PreL. Em relação à ativação microglial, o tratamento repetido com MK-801 induziu o aumento de

células Iba-1-positivas apresentando um fenótipo reativo em todas as regiões observadas. O CBD atenuou a ativação microglial em todas as regiões analisadas de maneira dependente de receptores 5-HT_{1A} ou CB_2. Além disso, considerando que o desbalanço dopaminérgico observado na esquizofrenia envolve uma diminuição de dopamina (DA) na via mesocortical, no presente estudo empregamos a técnica de microdiálise para investigar se o CBD, por meio de um mecanismo de 5-HT_{1A}, aumentaria as concentrações extracelulares de DA no CPF. Ratos Wistar tiveram cânulas de microdiálise implantadas no CPF medial. Após um período inicial de estabilização, quatro amostras basais foram coletadas (20 min cada). Em seguida, os animais foram pré-tratados i.p. com WAY100635 e 10 minutos após, receberam CBD ou veículo e amostras sucessivas de dialisado foram coletadas. As concentrações de DA foram medidas por HPLC. O aumento na liberação de DA foi potencializado pela coperfusão com nomifensina. Para avaliar o possível efeito local do CBD os animais foram infundidos, via diálise reversa, com CBD ou veículo. O CBD aumentou significativamente as concentrações de DA extracelular no CPF após a injeção. Este efeito foi bloqueado pelo tratamento prévio com WAY100635. A infusão local de CBD também causou um aumento significativo, embora menor, nas concentrações de DA. Juntos, esses resultados indicam que o CBD atenuou as alterações comportamentais tipo-esquizofrenia e as alterações moleculares observadas após a administração repetida de MK-801. Estes dados reforçam a proposta de que o CBD possui propriedades antipsicóticas e ainda, semelhante a outras drogas antipsicóticas atípicas, o CBD aumenta as concentrações de DA no CPF através de um mecanismo mediado por 5-HT_{1A}.

Palavras-chave: canabidiol, redes perineuronais, parvalbumina, micróglia, dopamina

Abstract

ABSTRACT

Rodrigues da Silva, N. **Cellular and neurochemical mechanisms of the cannabidiol antipsychotic-like effect: involvement of 5-HT_{1A} and CB_2 receptors**. 181p. Thesis (Doctorate) - Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2021.

Schizophrenia is a complex and highly disabling disorder. Evidence suggests that a hypofunction of NMDA receptors is involved in positive symptoms, as well as negative and cognitive symptoms of schizophrenia. Pre-clinical and clinical data indicate that cannabidiol (CBD), a non-psychotomimetic compound present in the *Cannabis sativa* plant, induces antipsychotic-like effects. Studies carried out by our group show that repeated treatment with CBD prevented and attenuated the behavioral changes induced by repeated treatment with MK-801, an NMDA receptor antagonist, in tests related to the negative and cognitive symptoms of schizophrenia. Although the evidence indicates the possible antipsychotic-like effect of CBD, the mechanism by which this compound exerts this effect is still unclear. It is believed that the endocannabinoid system and/or the serotonergic system may be involved. Thus, in the present study, we assessed whether repeated treatment with CBD would attenuate the behavioral and molecular changes induced by repeated administration of MK-801 and the possible involvement of 5-HT_{1A} and/or CB2 receptors. Thus, C57BL/6J mice received daily i.p. injections of MK-801 for 14 days and, from the 15th day on, WAY100635, an antagonist of 5-HT_{1A} receptors or AM630, a CB_2 receptor antagonist, given 10 min before CBD per day for 7 days. Twenty-four h after the last injection, the animals were submitted to habituation and, one day later, to the short-term object recognition test (NOS). Twenty-four h later they were submitted to the long-term object recognition (NOL). Afterwards, the animals' brains were processed for further evaluation of molecular changes. For the evaluation of long-term molecular effects, an independent group of animals was subjected to the same treatment and the brains were removed 21 days after the last CBD injection. Changes in the expression of the parvalbumin and WFA proteins, expressed in a subclass of GABAergic interneurons and in perineuronal networks, respectively, were evaluated. In addition, microglial cells were labeled with the Iba-1 marker. CBD attenuated the impairments in the NOS and NOL tests induced by MK-801. This effect was blocked by WAY100635 but not by AM630. In addition to behavioral changes, repeated treatment with MK-801 decreased the number of cells labeled with PV+. Although the total amount of WFA labeling did not decrease, the intensity of WFA labeling co-located with PV+ (WFA/PV+) decreased in the pre-limbic (PreL) area of the prefrontal cortex (PFC), CA1 ventral area (vCA1) and ventral subiculum of hippocampus (vSub), but not in the infra-limbic prefrontal cortex (InfraL). CBD attenuated the effect of MK-801 on the decrease of PV+ cells and WFA/PV+ in the PreL, vCA1 and vSub. The effect of CBD on MK-801-induced decrease in PV+ cells in the PreL was observed up to 21 days after the end of treatment. CBD effects on the decrease in PV+ and WFA/PV+ was blocked by WAY100635 or AM630 in vCA1 and vSub, but not in the PreL. Regarding microglial activation, repeated treatment with MK-801 increased in the quantity of Iba-1-positive cells showing a reactive phenotype in all observed regions (PreL, InfraL, vCA1 and vSub). CBD attenuated microglial activation in all regions analyzed in a manner dependent on 5-HT_{1A} or CB2

receptors. Furthermore, considering that the dopaminergic imbalance observed in schizophrenia involves a decrease in the mesocortical tone, in the present study we used the microdialysis technique to investigate whether the CBD would, through a 5-HT_{1A} mechanism, increase extracellular concentrations of DA in the PFC. Male Wistar rats had microdialysis cannulas implanted into the medial PFC. After an initial period of stabilization of 100 min, four baseline samples were collected (20 min each). Then, the animals were pretreated i.p.com WAY100635 and, 10 min later, received CBD or vehicle injection. Successive samples of dialysate were collected. DA concentrations were measured by HPLC. The increase in the release of DA was potentiated by the coperfusion with nomifensin. To assess the possible local effect of CBD, the animals were infused via reverse dialysis with CBD or vehicle. CBD significantly increased extracellular DA concentrations at the PFC 20 to 60 min after injection. This effect was blocked by previous treatment with WAY100635. Local CBD infusion also caused a significant, albeit minor, increase in DA concentrations. Together, these results indicate that CBD attenuated the schizophrenia-like behavioral and the molecular changes observed after repeated administration of an NMDA receptor antagonist. These data reinforce the proposal that CBD has antipsychotic properties. Similarly to other atypical antipsychotic drugs, CBD increases the concentrations of dopamine in the prefrontal cortex through a mechanism mediated by 5-HT_{1A}.

Keywords: cannabidiol, perineuronal nets, parvalbumin, microglia, dopamine

Lista de Abreviaturas

LISTA DE ABREVIATURAS

2-AG – 2-araquidonoilglicerol

5-HT – Serotonina

aCSF – Fluído encefalorraquidiano artificial (do inglês: *artificial cerebrospinal fluid*)

AEA – Anandamida

ANOVA – Análise de variância

BSA – Soro albumina bovina (do inglês: *bovine serum albumin*)

CBD – Canabidiol

COX-2 – Cicloxigenase 2

CPF – Córtex pré-frontal

DMSO – Dimetilsulfóxido

ECM – Matriz extracelular

ECS – Sistema endocanabinoide

EPM – Erro padrão da média

EPS – Efeitos extrapiramidais (do inglês: *extrapyramidal symptoms*)

FAAH – Amida hidrolase de ácidos graxos

FMRP – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

GAD-67 – Descarboxilase 67 do ácido glutâmico

IL-6 – Interleucina-6

InfraL – Infra Límbico

IS – Interação social

KO – *knock-out*

LDT – Tegmento laterodorsal

LTP – Potenciação a longo prazo (do inglês: *Long-term potentiation*)

MAM – Acetato de metilazoximetanol

MGL – Lipase monoacilglicerol

MMP – Metaloproteinase

NAc – Núcleo accumbens

NMDA – N-metil-D-aspartato

NMDAR - Receptores NMDA

PCP – Fenciclidina

PNNs – Redes perineuronais

PNU – Polimorfismos de nucleotídeo único

Poli I:C – Ácido poliriboinosílico-poliribocitidílico

PPARs – Receptores ativados por proliferadores de peroxissoma

PPTg – Tegmento pedunculopontino

PreL – Pré Límbico

PV+ – Parvalbumina positivo

RO – Reconhecimento de Objeto

ROC – Reconhecimento de Objeto a Curto Prazo

ROL – Reconhecimento de Objeto a Longo Prazo

ROS – Espécies reativas de oxigênio

SNC – Sistema Nervoso Central

THC – Δ^9-tetraidrocanabinol

TNF-α – Fator de necrose tumoral-α

TRP – Canais de potencial receptor transitório

vCA1 – Area CA1 ventral do hipocampo

VP – Pálido ventral

vSub – Subículo Ventral

VTA – Área Tegmental Ventral

Lista de Figuras e Tabela

LISTA DE FIGURAS E TABELA

Figura 1 – Representação esquemática do procedimento experimental com tratamento agudo com AM630 ou WAY100635 e CBD sobre a hiperlocomoção induzida por anfetamina.

Figura 2 – Representação esquemática do procedimento experimental com tratamento repetido com AM630 ou WAY100635 e CBD seguido pelo pré-tratamento com MK-801 mostrando os dias de tratamento e os testes que foram realizados.

Figura 3 – Representação esquemática do procedimento experimental com tratamento repetido com CBD e clozapina seguido pelo pré-tratamento com MK-801 mostrando os dias de tratamento e os testes que foram realizados.

Figura 4 – Cronograma experimental para o teste de RO.

Figura 5 – Células microgliais imunorreativas para Iba-1 e classificadas de acordo com seus aspectos morfológicos.

Figura 6 – Protocolo esquemático dos experimentos de microdiálise indicando o modelo experimental e coleta de amostras ao longo do tempo.

Figura 7 – WAY100635 ou AM630 bloquearam o efeito do CBD em atenuar a hiperlocomoção induzida por anfetamina.

Figura 8 – Não há preferência pelos objetos idênticos na sessão de aquisição do teste de RO em nenhum dos tratamentos.

Figura 9 – Tratamento repetido com WAY100635, mas não AM630, bloqueou o efeito do CBD em reverter o prejuízo induzido por MK-801 no teste de ROC.

Figura 10 – Tratamento repetido com WAY100635, mas não AM630, bloqueou o efeito do CBD em reverter o prejuízo induzido por MK-801 no teste de ROL.

Figura 11 – Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 não bloqueou o

efeito do CBD em atenuar a diminuição da expressão de PV+ no mCPF PreL.

Figura 12 – Não houve alteração no número de células circundadas pela marcação com WFA assim como na intensidade de fluorescência de WFA de acordo com os tratamentos experimentais.

Figura 13 – Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 não bloqueou o efeito do CBD em atenuar a diminuição da quantidade de células PV+/WFA e na intensidade de fluorescência de WFA/PV+ no mCPF PreL.

Figura 14 – Não houve alteração no número de células PV+ no CPF InfraL.

Figura 15 – Não houve alteração no número de células circundadas pela marcação com WFA assim como na intensidade de fluorescência de WFA de acordo com os tratamentos experimentais.

Figura 16 – Não houve alteração no número de células PV+/WFA assim como na intensidade de fluorescência WFA/PV+ no mCPF InfraL.

Figura 17 – Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD em atenuar a diminuição do número de células PV+ no vCA1.

Figura 18 – Não houve alteração no número de células circundadas pela marcação com WFA assim como na intensidade de fluorescência de WFA de acordo com os tratamentos experimentais.

Figura 19 – Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD em atenuar a diminuição da quantidade de células PV+/WFA e na intensidade de fluorescência de WFA/PV+ no vCA1.

Figura 20 – Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD em atenuar a diminuição do número de células PV+ no vSub.

Figura 21 – O tratamento com MK-801 diminuiu o número de células circundadas pela marcação com WFA, mas não a intensidade de fluorescência de WFA no vSub.

Figura 22 – Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD em atenuar a diminuição da quantidade de células PV+/WFA e na intensidade de fluorescência de WFA/PV+ no vSub.

Figura 23 – Tratamento repetido com CBD atenuou a diminuição do número de células PV+ induzida por MK-801 no CPF PreL 14 dias após o final do tratamento.

Figura 24 – Clozapina diminuiu o número de células PV+ no CPF InfraL 14 dias após o final do tratamento.

Figura 25 – Não houve variação no número total de células Iba-1 no CPF.

Figura 26 – Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD em atenuar a ativação microglial no mCPF PreL.

Figura 27 – Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD em atenuar a ativação microglial no mCPF InfraL.

Figura 28 – Não houve variação no número total de células Iba-1 no hipocampo.

Figura 29 – Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD em atenuar a ativação microglial no vCA1.

Figura 30 – Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD em atenuar a ativação microglial no vSub.

Figura 31 – Administração sistêmica de CBD (60mg/kg) aumentou os níveis de DA no mCPF.

Figura 32 – Administração local de CBD 0,2, µM, mas não 1 ou 5 µM, aumentou os níveis de DA no mCPF.

Figura 33 – Administração sistêmica de WAY100635 bloqueou o efeito do CBD

em aumentar os níveis de DA no mCPF.

Figura 34 – Não houve alteração dos níveis de DOPAC nos tratamentos avaliados.

Figura 35 – Localização representativa da sonda de diálise no mCPF.

Tabela 1 - Comparação entre os efeitos observados de acordo com as estruturas analisadas e os grupos de tratamento.

Sumário

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 1
1.1. Esquizofrenia 2
1.1.1. Origem do termo, sintomas e epidemiologia 2
1.1.2. Hipóteses neuroquímicas da esquizofrenia e antagonismo dos receptores NMDA.….....3
1.1.3. Modelo baseado no antagonismo dos receptores NMDA.....6
1.1.4. Interneurônios GABAérgicos parvalbumina-positivos e esquizofrenia.7
1.1.5. Redes perineuronais e marcadores inflamatórios.....10
1.2. Tratamento farmacológico ..... .16
1.2.1. Antipsicóticos e Canabidiol.....16
1.2.2. Possíveis mecanismos de ação envolvidos nos efeitos antipsicóticos do CBD.....22
1.2.2.1 Sistema endocanabinoide.....22
1.2.2.2 Sistema serotoninérgico.....25
1.2.2.3 Sistema neuroquímico.....28
2 HIPÓTESE 32
3 OBJETIVOS 34
3.1. Objetivo Geral 35
3.2. Objetivos Específicos 35
4 MATERIAIS E MÉTODOS 37
4.1. Animais 38
4.2. Drogas..... 39
4.3. Hiperlocomoção induzida por anfetamina.....39
4.4. Desenho Experimental para o tratamento repetido..... 40
4.5. Testes de RO a curto e longo prazo 41
4.6. Imunofluorescência 43
4.7. Avaliação quantitativa das células PV+ e PNNs e morfológica das células Iba-1 positivas.....45
4.8. Microdiálise 46
4.9. Análise Estatística..... 48
5 RESULTADOS 50

5.1. Experimento 1: Envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e/ou CB_2 sobre o efeito do CBD em atenuar a hiperlocomoção induzida por anfetamina..... ... 51

5.2. Experimento 2: Efeito do CBD sobre o prejuízo cognitivo induzido por MK-801, possível envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e/ou CB_2.....52

5.3. Experimento 3: Efeito do CBD sobre as alterações na expressão de PV+ e WFA após o pré-tratamento com MK-801 e possível envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e CB_2 no mCPF PreL e InfraL. 54

5.4. Experimento 4: Efeito do CBD sobre as alterações na expressão de PV+ e WFA após o pré-tratamento com MK-801 e possível envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e CB_2 no hipocampo..... 60

5.5. Experimento 5: Efeito a longo prazo do CBD e clozapina sobre a diminuição de interneurônios PV+ no CPF.....65

5.6. Experimento 6: Efeito do CBD sobre a ativação microglial após o pré-tratamento com MK-801 e possível envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e CB_2 no CPF..... 67

5.7. Experimento 7: Efeito do CBD sobre a ativação microglial após o pré-tratamento com MK-801 e possível envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e CB_2 no hipocampo.....71

5.8. Experimento 8: Efeito do CBD sobre a liberação de DA no mCPF e possível envolvimento dos receptores 5-HT_{1A}.....74

6 DISCUSSÃO.....81

7 CONCLUSÃO.....114

8 ANEXOS..... 115

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 118

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1. Esquizofrenia

1.1.1 ***Origem do termo, sintomas e epidemiologia***

O termo esquizofrenia é derivado do grego e significa: *schizo* = divisão, cisão e *phrenos* = mente, o que remete um transtorno que levaria a cisão das faculdades mentais. Este transtorno, a princípio, foi chamado de demência precoce (*dementia praecox*) pelo psiquiatra alemão Emil Kraepelin (1856-1926). Este nome decorre da progressiva deterioração das funções cognitivas manifestadas numa idade juvenil, diferente das demências desenvolvidas durante a terceira idade. Posteriormente, o psiquiatra suíço Eugen Bleuer criou o termo “esquizofrenia”, utilizando o termo alemão "schizophreniegruppe", referindo se ao "grupo das esquizofrenias", pois para Bleuer esta não seria uma doença em sentido estrito, mas um grupo de doenças, prenunciando assim a noção de transtornos do espectro da esquizofrenia (Hoenig, 1983; Jablensky, 2010).

Atualmente, a esquizofrenia é classificada como um transtorno psiquiátrico crônico de efeitos significativos e duradouros na saúde e de natureza complexa, que afeta cerca de 1% da população mundial (Mcgrath *et al.*, 2008). Por ser um transtorno altamente incapacitante e ser tipicamente diagnosticada no final da adolescência ou início da idade adulta, gera um alto custo econômico e impacto para os pacientes e suas famílias. Estima-se que nos Estados Unidos o gasto do governo com pacientes com esquizofrenia é de mais de 60 bilhões de dólares por ano e estes pacientes constituem cerca de 10% da população permanentemente incapacitada, compreendendo mais de 14% da população de rua em algumas grandes áreas urbanas (Rupp and Keith, 1993; Marcus and Olfson, 2008).

As causas da esquizofrenia ainda são desconhecidas. Entretanto, ela parece ser um transtorno poligênico e associada a fatores socio-ambientais adversos e de desenvolvimento (Lewis and Lieberman, 2000). A incidência deste transtorno é ligeiramente maior em homens e parece haver uma maior tendência a experimentar formas mais graves da doença, sobretudo uma maior robustez dos sintomas negativos (Riecher-Rössler *et al.*, 2018). Frequentemente, a esquizofrenia tem início coincidente com o desenvolvimento emergente da idade adulta. O pico de início ocorre ao final da adolescência, durante as idades de 15 a 24 anos, sendo usualmente um pouco mais tardio em mulheres. Um novo pico neste gênero ocorre entre os 55 e 64 anos, sugerindo um efeito protetor de hormônios sexuais femininos (Chan, 2017). Este período da adolescência é marcado por dramática neuroplasticidade estrutural e funcional em respostas a estímulos ou atividades sócio-ambientais, sugerindo que fatores neuroplásticos possam estar envolvidos com o desenvolvimento da esquizofrenia (Pizzorusso *et al.*, 2002; Morishita and Vinogradov, 2019)

Os sintomas da esquizofrenia são divididos em três categorias: positivos, negativos e cognitivos (Wong and Van Tol, 2003). Os sintomas positivos são caracterizados por fenômenos mentais que estão ausentes em indivíduos sadios, principalmente ideias delirantes, alucinações, desfragmentação do pensamento e agitação psicomotora. Os sintomas negativos correspondem ao prejuízo significativo de funções psicológicas consideradas normais, como a perda da motivação, capacidade de sentir prazer e embotamento afetivo (Andreasen, 1995). Em relação aos sintomas cognitivos, os processos de atenção e memória, a função executiva e o funcionamento intelectual geral são afetados (Wong and Van Tol, 2003).

1.1.2 ***Hipóteses neuroquímicas da esquizofrenia e o antagonismo dos receptores NMDA***

Apesar do avanço nas pesquisas científicas, a neurobiologia da esquizofrenia ainda não foi completamente elucidada. As principais hipóteses para explicar a sua fisiopatologia são resultantes da ação de drogas na clínica ou na observação do efeito de drogas conhecidas como psicotomiméticas, com suas similaridades com os sintomas da doença. Uma das hipóteses mais influentes para explicar a neurobiologia da esquizofrenia é a dopaminérgica, que baseia em duas principais observações: drogas que antagonizam o receptor dopaminérgico do subtipo D_2 são eficazes no tratamento dos sintomas positivos da esquizofrenia e drogas que aumentam ou facilitam a transmissão dopaminérgica, como a anfetamina, podem desencadear surtos psicóticos (Seeman and Kapur, 2000). Além disso, haveria um desbalanço na neurotransmissão dopaminérgica em pacientes com esquizofrenia, com um aumento do tônus dopaminérgico na via mesolímbica, relacionado com os sintomas positivos, e uma diminuição do tônus dopaminérgico na via mesocortical, relacionada aos sintomas negativos e cognitivos (Davis *et al.*, 1991).

Apesar da hipótese dopaminérgica apresentar um papel central na compreensão da neurobiologia da esquizofrenia, foi proposta a hipótese glutamatérgica, a qual sugeriu que o desequilíbrio na sinalização de glutamato também poderia estar relacionado com alguns aspectos da doença (Jentsch and Roth, 1999). O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do sistema nervoso central (SNC) e exerce seus efeitos interagindo com receptores do tipo ionotrópicos, que podem ser do tipo NMDA, AMPA e cainato, e de receptores metabotrópicos, divididos de acordo com sua homologia, farmacologia e sistema de segundo mensageiros em três grupos: tipo I (mGluR 1 e 5), tipo II (mGluR 2 e 3) e tipo III (mGluR 4, 6, 7 e 8) (Dingledine *et al.*, 1999; Pin and Acher, 2002;

Kew and Kemp, 2005).

Drogas antagonistas dos receptores NMDA (NMDAR), como a quetamina e a fenciclidina (PCP), induzem alterações comportamentais que se assemelham aos sintomas positivos da esquizofrenia em humanos e animais. Além disso, estes antagonistas dos NMDAR induzem alterações relacionadas a sintomas negativos e cognitivos, diferente das drogas que aumentam a neurotransmissão dopaminérgica (Tsai and Coyle, 2002; Krystal *et al.*, 2005).

Os NMDAR são compostos por quatro a cinco subunidades, sendo elas uma subunidade GluN1 obrigatória e uma combinação de subunidades GluN2 (A, B, C e D) e GluN3 (A e B). A composição destas subunidades é determinante para a abertura do canal e também para suas propriedades farmacológicas (Hollmann *et al.*, 1994). Alterações específicas na subunidade GluN1 como, por exemplo, no trabalho de Mohn e colaboradores, indicam que animais *knock-out* (KO) para esta subunidade apresentaram comportamentos relacionados à esquizofrenia que foram atenuados pelo tratamento com antipsicóticos (Mohn *et al.*, 1999). Além disso, estudos com estruturas *post-mortem* de pacientes com esquizofrenia revelaram que há um aumento na expressão das subunidades NR1 e NR2 do NMDAR no córtex pré-frontal (CPF) (Dracheva *et al.*, 2001).

Recentemente, outras evidências de hipofunção de NMDAR na esquizofrenia surgiram da neurologia clínica. A expressão clínica da encefalite anti-NMDAR, na qual os autoanticorpos reagem de forma cruzada com NMDARs levando a internalização destes da membrana plasmática, assemelha-se aos sintomas observados no primeiro episódio de psicose na esquizofrenia (Dalmau *et al.*, 2011). A presença de sintomas psiquiátricos pronunciados, bem como distúrbios cognitivos graves com altos escores de sintomas negativos, pode muitas vezes resultar em um diagnóstico incorreto como esquizofrenia idiopática (Al-Diwani *et al.*, 2019).

Estes dados apontam para um importante papel do sistema glutamatérgico na esquizofrenia. Entretanto, apesar da hipótese glutamatérgica abordar aspectos mais amplos do transtorno, parece haver uma interação complexa e recíproca com a neurotransmissão dopaminérgica em algumas regiões cerebrais (Duncan *et al.*, 1999; Javitt, 2007; Stone *et al.*, 2007; Grace, 2016).

1.1.3 ***Modelo baseado no antagonismo dos receptores NMDA***

A administração aguda e crônica de antagonistas de NMDAR parece ser adequada como ferramenta para geração de modelos animais de esquizofrenia e tem sido extensamente utilizada para a busca de novas substâncias com propriedades antipsicóticas e no estudo da neurobiologia da doença (Bubeníková-Valesová *et al.*, 2008; Cadinu *et al.*, 2018). Após a administração destas drogas, prejuízos em funções cognitivas têm sido observados em testes como reconhecimento de objeto (RO) e labirinto aquático de Morris para memória de reconhecimento visual e espacial, teste de mudança de conjunto de atenção e flexibilidade comportamental (do inglês: *attentional set shifting*) para funções executivas, e testes operantes que avaliam, além da memória de trabalho, resolução de problemas e atenção. Todas estas funções estão prejudicadas na esquizofrenia (Jentsch *et al.*, 1997; Mandillo *et al.*, 2003; Stefani and Moghaddam, 2005; Vales *et al.*, 2006; Cadinu *et al.*, 2018).

Prejuízo no filtro sensório motor também tem sido detectado após a administração de antagonistas de NMDAR por meio de testes como o da inibição pelo pré-pulso (PPI). Adicionalmente, essas drogas produzem prejuízos no teste de interação social (IS) em roedores, o que guarda certa relação com os sintomas negativos da esquizofrenia (Ellenbroek and Cools, 2000; Fejgin *et al.*, 2009). Em contraste às alterações supracitadas, drogas que aumentam a transmissão dopaminérgica, tais como a anfetamina, não induzem alterações

relacionadas aos sintomas negativos e cognitivos (Krystal *et al.*, 2005).

Dessa maneira, tem sido proposto que a administração crônica de antagonistas de NMDAR, mas não a aguda, leva a alterações comportamentais, neuroquímicas e neuroanatômicas similares às observadas em pacientes com esquizofrenia. Estas alterações parecem ser duradouras. Estudos indicam que os prejuízos induzidos pelo tratamento com antagonistas dos NMDAR nos testes de RO e IS foram observados até 6 semanas após o fim do tratamento com essas drogas (Jentsch and Roth, 1999; Hashimoto *et al.*, 2005; Grayson *et al.*, 2007). Além disso, nosso grupo observou alterações induzidas pelo tratamento repetido com MK-801, um antagonista de NMDAR, 10 dias após o final do tratamento (Rodrigues Da Silva *et al.*, 2020).

Curiosamente, as alterações produzidas pelo tratamento repetido com antagonistas de NMDAR foram revertidas pelo tratamento com antipsicóticos atípicos como clozapina e aripiprazol, mas não pelo haloperidol, um antipsicótico típico (Bruins Slot *et al.*, 2005; Hashimoto *et al.*, 2005; Fejgin *et al.*, 2007; Nagai *et al.*, 2009). Portanto, este modelo, por apresentar boa validade de face e preditiva, tem sido extensamente utilizado no estudo da neurobiologia da esquizofrenia e na pesquisa de novas substâncias com possíveis propriedades antipsicóticas (Cadinu *et al.*, 2018).

*1.1.4 **Interneurônios GABAérgicos parvalbumina-positivos e esquizofrenia***

Os interneurônios GABAérgicos produzem efeitos inibitórios por aumento do influxo de Cl^- ou o efluxo de K^+ via ativação do receptor GABA hiperpolarizando transitoriamente ou desviando a membrana celular do limiar do potencial de ação (Pelkey *et al.*, 2017). Existem diversos tipos de interneurônios inibitórios que são classificados principalmente com base em três conjuntos de critérios: (i) propriedades morfológicas, particularmente a seletividade alvo do axônio; (ii) expressão de marcadores moleculares, como neuropeptídeos

(somatostatina, colecistocinina, peptídeo intestinal vasoativo e neuropeptídeo-Y) e proteínas de ligação ao Ca^{2+} (parvalbumina, calretinina e calbindina); e (iii) características funcionais – mais importante, o fenótipo do potencial de ação (Hu *et al.*, 2014).

Os interneurônios parvalbumina-positivos (PV+) são assim denominados pela expressão da proteína citosólica ligante de Ca^{2+} chamada parvalbumina. São classificados em dois subgrupos: (i) células do tipo *basket,* que fazem sinapses no soma e dendrito proximal dos neurônios-alvo e normalmente têm morfologia multipolar, e células *chandelier*, que têm como alvo o segmento inicial do axônio das células piramidais (Rudy *et al.*, 2011). Por controlarem o *input* e *output* dos neurônios alvo, os interneurônios PV+ desempenham papéis importantes não apenas na regulação da excitabilidade de uma única célula, mas fornecem entrada inibitória em tempo oportuno que dita a janela temporal para a excitação sináptica e a iniciação do potencial de ação subsequente, moldando assim o tempo do fluxo de informação aferente e eferente (Bartos *et al.*, 2007; Hu *et al.*, 2014).

Através deste complexo controle na ritmicidade de disparos de neurônios piramidais, estes interneurônios PV+ estão envolvidos na geração e controle de determinadas frequências de oscilações de disparos como, por exemplo, as oscilações gamma (γ), que ganharam atenção significativa devido ao acúmulo de evidências que implicam seu envolvimento em processos sensoriais e cognitivos que estão prejudicados na esquizofrenia (Lee *et al.*, 2003; Uhlhaas and Singer, 2010; Antonoudiou *et al.*, 2020).

Uma expressiva redução no número de interneurônios PV+ foi encontrada em encéfalos *post-mortem* de pacientes com esquizofrenia (Beasley and Reynolds, 1997; Zhang and Reynolds, 2002; Lewis *et al.*, 2005). A disfunção dos neurônios PV+ na esquizofrenia foi sugerida como uma consequência de uma

hipofunção da sinalização mediada pelos NMDAR (Gonzalez-Burgos and Lewis, 2012). Estudos da atividade neuronal no CPF de ratos acordados demonstraram que os NMDAR podem ser cruciais para a atividade inibitória do interneurônio GABAérgico PV+ (Homayoun and Moghaddam, 2007). Neste estudo, a administração sistêmica de MK-801 aumentou o disparo neurônios piramidais e diminuiu a atividade de neurônios inibitórios, sugerindo que o bloqueio dos NMDAR seria preferencial em interneurônios GABAérgicos e levaria a uma desinibição na célula piramidal (Homayoun and Moghaddam, 2007).

Abordagens genéticas em camundongos foram utilizadas para testar o efeito da deleção de NMDAR em neurônios GABAérgicos. Belforte e colaboradores fizeram a deleção da subunidade GluN1 de NMDAR seletivamente em 40-50% das áreas corticais e hipocampais em interneurônios no desenvolvimento pós-natal inicial (Belforte *et al.*, 2010). Sintomas distintos relacionados à esquizofrenia surgiram após a adolescência, incluindo hiperlocomoção, déficits de acasalamento e construção de ninhos, bem como comportamentos relacionados à anedonia e ansiedade. Muitos desses comportamentos, como o prejuízo na memória social, memória operacional espacial e inibição pelo pré-pulso, foram exacerbados por estresse induzido por isolamento social (Belforte *et al.*, 2010). Curiosamente, houve uma diminuição na expressão da enzima descarboxilase 67 do ácido glutâmico (GAD-67), envolvida na síntese do neurotransmissor GABA, e de parvalbumina, que foi acompanhada pela desinibição dos neurônios excitatórios corticais e pela redução da sincronia neuronal nos animais geneticamente modificados (Belforte *et al.*, 2010). Assim, a hipofunção dos NMDAR em interneurônios GABAérgicos parece levar a prejuízos relacionados aos observados na esquizofrenia, sugerindo que a hipofunção específica destas células pode constituir um dos principais fatores etiológicos de disfunção de circuitos neurais na esquizofrenia

(Nakazawa and Sapkota, 2020).

Os camundongos geneticamente modificados do trabalho supracitado de Belforte e colaboradores também tiveram um aumento robusto induzido por isolamento social em espécies reativas de oxigênio (ROS), particularmente em neurônios PV+ corticais, sugerindo um envolvimento de estresse oxidativo. A apocinina, um antioxidante que atua como sequestrador de espécies reativas de oxigênio, atenuou o aumento de ROS e a diminuição da expressão de parvalbumina nos animais mutantes (Jiang *et al.*, 2013). Além disso, o tratamento com antagonistas de NMDAR, como a quetamina, também induz a superprodução de ROS, levando à diminuição da imunoreatividade de células PV+ (Behrens *et al.*, 2007; Powell *et al.*, 2012). Assim, devido a relação entre estresse oxidativo, inflamação e mecanismos protetores dos interneurônios PV+, como as redes perineuronais, outros fatores poderiam estar subjacentes à vulnerabilidade e ao comprometimento funcional dos circuitos inibitórios essenciais na esquizofrenia.

1.1.5 ***Redes perineuronais e marcadores inflamatórios***

Redes perineuronais (PNNs) são agregações em forma de rede formadas por componentes da matriz extracelular (ECM), originalmente descritos por Golgi (1893) e Ramon y Cajal (1987) como uma estrutura reticular que cobre os corpos celulares e os dendritos proximais de certos neurônios (Golgi, 1984; Ramon Y Cajal, 1987). As PNNs são compostas principalmente de grandes proteoglicanos agregantes de sulfato de condroitina complexados com hialuronano e tenascina como componentes principais (Köppe *et al.*, 1997; Yamaguchi, 2000). O significado biológico das PNNs não é totalmente claro e várias funções foram propostas. As cadeias de glicosaminoglicanos das PNNs fornecem estruturas altamente carregadas no microambiente dos neurônios que podem estar envolvidos na homeostase iônica local (Brückner *et al.*, 1993). Eles podem,

portanto, agir como sistema de tamponamento para íons fisiologicamente relevantes, como cálcio, potássio e sódio, em torno neurônios altamente ativos (Härtig *et al.*, 1999). Esses componentes polianiônicos, no entanto, também podem interagir com íons envolvidos na geração de estresse oxidativo como o ferro. Através da eliminação e ligação do ferro redoxativo, as PNNs podem neutralizar ou reduzir o potencial oxidativo local potencialmente deletério no microambiente neuronal, protegendo assim os neurônios embainhados por PNNs contra sequelas de dano oxidativo (Morawski *et al.*, 2004).

As PNNs também estão envolvidas na regulação da plasticidade sináptica. Através do potencial inibitório de adesão celular e das propriedades repulsivas de seus componentes moleculares contra a aproximação de axônios e dendritos, as PNNs podem contribuir para a estabilização dos contatos sinápticos embainhados, reduzindo assim seu potencial neuroplástico (Pizzorusso *et al.*, 2002; Berardi *et al.*, 2003; Rhodes and Fawcett, 2004).As PNNs amadurecem gradualmente, de uma maneira dependente da experiência, durante os estágios finais do desenvolvimento pós-natal, durante a maturação dos circuitos neurais no início da idade adulta, coincidindo com a idade de início da esquizofrenia (Berretta *et al.*, 2015).

Corroborando a hipótese de envolvimento das PNNs e interneurônios PV+ na esquizofrenia, alterações nestas células também foram descritas em modelos animais de esquizofrenia baseados em interferência no neurodesenvolvimento. Por exemplo, no modelo de ativação imune materna (MIA), no qual roedores filhos de mães expostas a desafio imune durante a gestação apresentam alterações associadas à esquizofrenia na idade adulta, foram observadas reduções seletivas de PNNs no CPF, que só se manifestaram neste período do desenvolvimento (Paylor *et al.*, 2016). Esses déficits não foram associados a mudanças na densidade celular de parvalbumina, mas a uma diminuição na

percentagem de células de PV+ circundadas por PNNs (Paylor *et al.*, 2016).

Em modelos animais baseados no antagonismo de NMDAR também foram encontradas alterações em PNNs e interneurônios PV+. Por exemplo, associado a um prejuízo no teste de PPI, foi observada uma diminuição na densidade de interneurônios PV+ e Cat-315+, um marcador de glicanos do tipo HNK-1 em PNNs, na região CA1 do hipocampo em animais tratados por 7 dias com quetamina (Fujikawa *et al.*, 2020). Em um modelo de esquizofrenia conhecido como *double-hit*, por combinar uma manipulação do neurodesenvolvimento e a exposição a uma experiência aversiva durante o início da vida adulta, foi encontrada uma redução da densidade das células que expressam parvalbumina cercadas por PNNs em camundongos tratados com uma injeção perinatal de MK-801 e isolamento social pós-desmame (Garcia-Mompo *et al.*, 2020).

Entretanto, os mecanismos subjacentes ao déficit de PNNs na esquizofrenia não são claros. Algumas possibilidades foram postuladas: (i) as PNNs podem não amadurecer ou se formar corretamente durante o desenvolvimento pós-natal tardio, coincidindo com o período prodrômico e a idade de início da esquizofrenia e/ou (ii) durante a idade adulta, as PNNs podem sofrer degradação e/ou falta de estabilidade, como consequência da desregulação dos processos de remodelamento de ECM (Bitanihirwe and Woo, 2014; Berretta *et al.*, 2015).

Os principais agentes envolvidos no processo de remodelamento das ECM são três famílias de metaloproteases, conhecidas coletivamente como família de metzincina, ou seja, metaloproteases de matriz (MMPs), uma desintegrina e metaloproteases de matriz (ADAMS) e ADAMS com um domínio de trombospondina (ADAMTS), que clivam moléculas de ECM, incluindo aquelas que compõem as PNNs (Medina-Flores *et al.*, 2004; Abdolmaleky *et al.*, 2005;

Hobohm *et al.*, 2005; Rivera *et al.*, 2010). As MMPs desempenham um papel fundamental na plasticidade sináptica e na memória, criando janelas de oportunidade para aprendizagem, ao liberar temporariamente neurônios dos efeitos de fixação da ECM na plasticidade e aumentando a sinaptogênese (Frischknecht *et al.*, 2009; Rivera *et al.*, 2010; Berretta *et al.*, 2015). Por exemplo, foi encontrado um aumento na expressão de MMP9 na amígdala, CPF e hipocampo durante a aprendizagem contextual do medo, enquanto a inibição farmacológica da atividade de MMP resultou na interrupção da reconsolidação da memória do medo (Brown *et al.*, 2009; Ganguly *et al.*, 2013). Do mesmo modo, a inibição seletiva da atividade da MMP3 e MMP9 no hipocampo resultou no prejuízo da memória espacial e do aprendizado aversivo (Nagy *et al.*, 2007; Wright *et al.*, 2007).

Tem sido sugerido que a expressão alterada de membros da família de metzincina poderiam contribuir com os prejuízos observados na esquizofrenia (Berretta *et al.*, 2015; Bitanihirwe and Woo, 2020). Consistente com essa hipótese, um estudo de perfil de expressão gênica do giro temporal superior em indivíduos com esquizofrenia mostrou expressão aumentada de mRNA de MMPs e ADAMTSs (Pietersen *et al.*, 2014). Uma possibilidade para explicar as alterações na expressão destas enzimas e da integridade de PNNs na esquizofrenia estaria relacionada com a exposição ao estresse, por alteração em respostas imunes que parecem estar intimamente ligados a estes processos (Medina-Flores *et al.*, 2004; Franklin *et al.*, 2008; Gray *et al.*, 2008; Fillman, Cloonan, Miller*, et al.*, 2013; Gomes *et al.*, 2019).

Alterações inflamatórias têm sido associadas à esquizofrenia por um número crescente de estudos clínicos, epidemiológicos e dados experimentais. Em pacientes com esquizofrenia foi observada a ativação do sistema inflamatório periférico e neuroinflamação (Doorduin *et al.*, 2009; Meyer *et al.*, 2011). Além

disso, há uma correlação entre esquizofrenia e alterações em genes que controlam a expressão de componentes do sistema imune (Consortium, 2014). Um aumento na expressão de marcadores inflamatórios no CPF de pacientes com esquizofrenia também foi encontrado, assim como uma relação entre a exposição pré-natal a agentes inflamatórios e o risco aumentado para esquizofrenia (Fillman, Cloonan, Catts*, et al.*, 2013; Réthelyi *et al.*, 2013). A propósito, estudos têm sugerido que a administração concomitante de agentes anti-inflamatórios ao tratamento antipsicótico podem melhorar os sintomas da esquizofrenia (Müller *et al.*, 2013). Nesse contexto, células gliais, como microglia e astrócitos, têm sido relacionadas à patogênese da esquizofrenia (Monji *et al.*, 2013).

As microglias são as principais células imunológicas do sistema nervoso central, regulando tanto a indução quanto a limitação dos processos inflamatórios (Graeber *et al.*, 2011). A ativação da microglia nas condições fisiopatológicas é complexa e está associada a alterações morfológicas, proliferação, apresentação de antígenos, liberação de citocinas e radicais livres, migração e fagocitose. Assim, as consequências funcionais da ativação de microglia variam de um efeito neuroprotetor a neurotóxico (Ransohoff and Perry, 2009; Deczkowska *et al.*, 2018).

A capacidade funcional da microglia em remodelar a ECM é classicamente demonstrada em lesões agudas como o acidente vascular cerebral, nas quais a microglia sofre ativação e, subsequentemente, libera MMPs ou outras proteases degradantes de ECM que atuam nos componentes das PNNs (Patel *et al.*, 2013; Wen *et al.*, 2018). Além disso, também foi identificado um papel para a perda de PNNs mediada por microglia na doença de Huntington, uma vez que, quando inibida, a ativação de microglia através do tratamento com PLX3397, houve uma atenuação na perda de PNNs em camundongos R6/2 e

um aumento das PNNs nos animais naïve (Crapser, Ochaba*, et al.*, 2020). Em pacientes e em um modelo animal de doença de Alzheimer, também foi encontrado uma associação entre a ativação microglial e diminuição das PNNs, assim como uma redução em interneurônios PV+ associados às PNNs (Crapser, Spangenberg*, et al.*, 2020).

Em alguns modelos animais de esquizofrenia também foram observadas alterações nas PNNs, interneurônios PV+ e marcadores inflamatórios. Matuszko e colaboradores demostraram que no CPF medial (mCPF) de ratos tratados com quetamina exibem uma intensidade diminuída de fluorescência em interneurônios PV+ e um número reduzido de redes perineuronais marcadas com *Wisteria floribunda agglutinin* (WFA), uma lectina que se liga seletivamente a determinados resíduos de glicoproteínas contidos nas PNNs e serve como um marcador para análise de PNNs (Slaker *et al.*, 2016; Matuszko *et al.*, 2017). Além disso, foi encontrado um aumento da expressão de CS56, um marcador de matriz extracelular glial nos animais tratados com quetamina (Matuszko *et al.*, 2017).

Em animais KO para o gene GRIN2A (que codifica para GluN2A, uma subunidade do NMDAR), um insulto oxidativo aplicado durante o desenvolvimento pós-natal inicial diminuiu o número de células imunorreativas para PV+ e as PNNs em camundongos KO, mas não em camundongos selvagens (Cardis *et al.*, 2018). Esses efeitos são de longa duração, e foram prevenidos pelo tratamento com o antioxidante N-acetilcisteína. Curiosamente, essas alterações foram acompanhadas de uma ativação microglial detectada pelo aumento da imunoreatividade para a molécula adaptadora da ligação de cálcio ionizado 1 (Iba-1), um marcador microglial, e CD68, uma glicoproteína altamente expressa em microglia ativada (Cardis *et al.*, 2018). No entanto, apesar da disfunção no sistema glutamatérgico levar a alterações nas PNNs e

interneurônios PV+, ainda não está completamente elucidado o mecanismo subjacente a essas alterações, assim como o envolvimento da microglia e do estresse oxidativo nestes processos.

1.2 Tratamento Farmacológico

1.2.1 ***Antipsicóticos e Canabidiol***

A terapia de pacientes diagnosticados com esquizofrenia requer o uso de drogas antipsicóticas que são classificadas em dois grupos diferentes, os antipsicóticos de primeira geração, ou típicos, e os antipsicóticos de segunda geração, ou atípicos, que variam em eficácia e efeitos colaterais, bem como mecanismo de ação (Lieberman *et al.*, 2005). É amplamente descrito o potencial de drogas antipsicóticas típicas, como o haloperidol, em gerar efeitos colaterais conhecidos como efeitos extrapiramidais (EPS) tais como: acatisia (sentimentos de desassossego, inquietação, ansiedade e agitação), parkinsonismo farmacológico (rigidez muscular, tremores, redução da expressão facial e lentidão de movimentos), distonia aguda (espasmo muscular dos olhos, língua, pescoço e tronco), tremor perioral e discinesia tardia (movimentação repetitiva e incontrolável na região da boca e lábios) (Meltzer, 2013). Apesar das divergências entre a conceituação de drogas típicas e atípicas, a mais utilizada é a que classifica as drogas atípicas por estas não produzirem EPS nas doses que produzem o efeito antipsicótico (Meltzer, 2013). Entretanto, efeitos adversos importantes foram observados após o tratamento prolongado com antipsicóticos atípicos como ganho de peso, diabetes mellitus, hiperlipidemia, prolongamento do intervalo QT, entre outros (Uçok and Gaebel, 2008). Além disso, a clozapina, um antipsicótico atípico considerado padrão ouro para tratamento de pacientes com esquizofrenia refratária, tem como principal fator limitante do seu uso o risco de agranulocitose potencialmente fatal, estimada em 1 a 2% dos pacientes

tratados (Alvir *et al.*, 1993).

Apesar dos avanços no conhecimento da neurobiologia da esquizofrenia e de modelos que vêm sendo utilizados para a pesquisa de novos medicamentos, os antipsicóticos desenvolvidos nos últimos 20 anos parecem não apresentar eficácia ou tolerabilidade superior aos medicamentos mais antigos (Lewis and Lieberman, 2008). A baixa tolerabilidade e os efeitos adversos induzidos por essas drogas resultam em uma alta taxa de abandono ao tratamento (Lieberman *et al.*, 2005). Além da grande incidência de efeitos adversos importantes, o uso de drogas antipsicóticas típicas ou atípicas parece ser pouco eficaz no tratamento de todos os sintomas da esquizofrenia. Alguns estudos mostram que a resposta dos pacientes que fazem uso de antipsicóticos ainda é muito baixa em relação aos sintomas negativos e cognitivos indicando uma necessidade de novas opções farmacológicas para o tratamento da esquizofrenia (Lieberman *et al.*, 2005; Hanson *et al.*, 2010; Lin *et al.*, 2014; Downs *et al.*, 2018).

Preparações de *Cannabis sativa* com fins recreativos e medicinais são usadas há muitos séculos, com a introdução na medicina ocidental no século 19 (Zuardi, 2006). Entretanto, foi apenas em meados do século XX que os principais constituintes ativos da Cannabis, denominados fitocanabinoides, foram isolados e identificados. O principal componente, e responsável pela maioria dos efeitos psicotrópicos da cannabis, é o delta-9-tetraidrocanabinol (THC) que foi isolado, identificado e sintetizado por Raphael Mechoulam e colaboradores (Gaoni and Mechoulam, 1964).

O canabidiol (CBD), por sua vez, é o principal composto não-psicotomimético da *Cannabis sativa*, correspondendo até a 40% do extrato da planta que, ao contrário do THC, é desprovido dos efeitos psicotomiméticos típicos da planta (Zuardi, 2008). Em 1940, pela primeira vez, este

fitocanabinoide foi isolado em extratos de *cannabis* por Adams e colaboradores, mas sua estrutura química foi elucidada apenas em 1963 pelo grupo do Raphael Mechoulam (Adams *et al.*, 1940; Mechoulam and Shvo, 1963). Desde então, este fitocanabinoide tem atraído grande interesse devido ao seu potencial terapêutico (Mechoulam *et al.*, 2002; Zuardi, 2008). Efeitos anticonvulsivantes (Cunha *et al.*, 1980; Carlini and Cunha, 1981; Devinsky *et al.*, 2014; Mathern *et al.*, 2014) neuroprotetores (Hampson *et al.*, 1998; Iuvone *et al.*, 2004; Pazos *et al.*, 2013), ansiolíticos (Blessing *et al.*, 2015; Soares and Campos, 2017; Masataka, 2019), antipsicóticos (Zuardi *et al.*, 1991; Schoevers *et al.*, 2020), antinociceptivos (Ward *et al.*, 2014), entre outros, foram observados após a administração de CBD.

Os primeiros estudos explorando a possível atividade antipsicótica do CBD demonstram a habilidade desta substância em bloquear os efeitos psicoativos induzidos pelo THC (Karniol and Carlini, 1973; Dalton *et al.*, 1976; Zuardi *et al.*, 1982). De fato, foi observado que indivíduos na África do Sul que fizeram uso de uma variação de *Cannabis* com alta quantidade de THC e baixa quantidade de CBD, apresentaram alta taxa de episódios psicóticos em relação a dados de outros países, sugerindo que o CBD possa ter uma ação protetora em relação aos efeitos psicotomiméticos induzidos pelo THC (Rottanburg *et al.*, 1982). Considerando que existem evidências de que o antagonismo do CBD em relação aos efeitos do THC não é devido à interação farmacocinética (Hunt *et al.*, 1981), surgiu então a hipótese de que o CBD poderia ter propriedades antipsicóticas.

Em modelos preditivos para a atividade antipsicótica, o CBD atenuou a estereotipia induzida por apomorfina em ratos (Zuardi *et al.*, 1991) e a hiperlocomoção induzida por anfetamina e quetamina em camundongos (Moreira and Guimarães, 2005). Ainda no mesmo estudo, constatou-se que o

CBD, mesmo em altas doses (480mg/kg), não induz catalepsia, um efeito motor extrapiramidal comumente produzido por antipsicóticos típicos, sugerindo então que o CBD poderia enquadrar-se o perfil de drogas antipsicóticas atípicas (Zuardi *et al.*, 1991; Moreira and Guimarães, 2005). Em modelos baseados no antagonismo de NMDAR, apesar de o CBD não ter apresentado efeito agudo em reverter o prejuízo no teste de reconhecimento social, um teste relacionado com sintomas cognitivos e negativos do transtorno, induzido pelo MK-801 (Deiana *et al.*, 2015), ele reverteu o prejuízo induzido por anfetamina e antagonistas de NMDAR no teste de PPI em roedores e primatas não-humanos (Long *et al.*, 2006; Pedrazzi *et al.*, 2015; Saletti and Tomaz, 2018) assim como a redução da IS em ratos (Gururajan *et al.*, 2011).

Alguns estudos pré-clínicos empregando o tratamento repetido com CBD também foram realizados para investigação do seu efeito antipsicótico. Long *et al.* observaram que o tratamento repetido com CBD por 21 dias atenuou a hiperlocomoção induzida por dexanfetamina. Por outro lado, em um modelo de esquizofrenia baseado em suscetibilidade genética, o tratamento repetido com CBD não atenuou as alterações comportamentais, como hiperlocomoção e prejuízo no teste de PPI (Long *et al.*, 2010; Long *et al.*, 2012). Em estudos conduzidos pelo nosso grupo, o tratamento repetido com CBD preveniu alterações comportamentais induzidas pelo tratamento repetido com MK-801avaliadas nos testes de PPI, RO e IS. Também verificamos efeitos semelhantes quando o tratamento repetido com CBD foi iniciado após o final do tratamento com MK-801 (Gomes *et al.*, 2014; Gomes *et al.*, 2015; Rodrigues Da Silva *et al.*, 2020). Em ratos, de forma semelhante, o tratamento repetido com CBD atenuou o prejuízo no teste de RO induzido por quetamina (Kozela *et al.*, 2020).

As propriedades antipsicóticas do CBD também foram observadas em

pacientes com esquizofrenia (Zuardi *et al.*, 1995; Zuardi *et al.*, 2006; Hallak *et al.*, 2010; Makiol and Kluge, 2019; Berger *et al.*, 2020). Em um ensaio clínico controlado, duplo-cego, de 4 semanas e com 42 pacientes com esquizofrenia, os efeitos do CBD foram comparados aos da amilsulprida, um antipsicótico atípico. Ambos os tratamentos foram igualmente eficazes na redução dos sintomas psicóticos após 2 e 4 semanas de tratamento, sendo que o CBD apresentou menor propensão à indução de efeitos adversos (Leweke *et al.*, 2012). Em um estudo exploratório duplo-cego, no qual pacientes com esquizofrenia receberam CBD (1000 mg/dia) ou placebo junto com sua medicação antipsicótica em uso, foi observado uma melhora em sintomas positivos, performance cognitiva e funcionamento geral comparados aos pacientes que receberam placebo (Mcguire *et al.*, 2018). Entretanto, outro estudo mostrou que o tratamento com CBD em pacientes estáveis tratados com antipsicóticos não foi associado a melhora cognitiva (Boggs *et al.*, 2018). Em todos os estudos clínicos supracitados o tratamento com CBD foi seguro e bem tolerado.

Além dos efeitos comportamentais avaliados em estudos clínicos e pré-clínicos, o CBD parece ser capaz de modular a expressão de parvalbumina em algumas regiões cerebrais. Gomes e colaboradores demonstraram que, paralelemente à prevenção dos prejuízos no teste do PPI causados pela administração repetida de MK-801, o CBD, assim como a clozapina, impediu a diminuição da expressão de PV+ no CPF (Gomes *et al.*, 2014). Dados similares foram encontrados utilizando o modelo de ativação imunológica materna, no qual animais que receberam CBD tiveram uma recuperação nos níveis de PV+ comparados à prole que recebeu**,** *in utero***,** ácido poliriboinosílico-poliribocitidílico (Poli I:C) (Osborne, Solowij, Babic, Lum, Huang*, et al.*, 2019). Estes dados vão ao encontro dos efeitos observados por alguns antipsicóticos atípicos, uma vez

que, em um modelo que utiliza tratamento neonatal com MK-801, a olanzapina, mas não o do haloperidol e risperidona, foi capaz de reverter o efeito de MK-801 de diminuição de células PV+ na região CA1 do hipocampo (Li *et al.*, 2016). Além disso, em um modelo induzido por isolamento social crônico, a clozapina preveniu mudanças comportamentais e diminuição no numero de células PV+ no mCPF em ratos isolados (Todorović *et al.*, 2019).

No entanto, as evidências sobre a modulação de interneurônios PV+ pelos antipsicóticos utilizados na clínica ainda são contraditórias e inconclusivas, indicando que parece haver uma modulação de maneira dependente da região e da droga avaliada. Por exemplo, um estudo observou que o haloperidol reverteu o efeito deletério do MK-801 na região CA1 do hipocampo mas levou a um aumento da redução de PV+ no CPF (Braun *et al.*, 2007). Além disso, estudos *in vitro* mostraram que o número e a extensão das PNNs não são alteradas nos neurônios do hipocampo pela exposição a drogas antipsicóticas (Gottschling *et al.*, 2016).

Como supracitado, o estresse oxidativo e mecanismos inflamatórios parecem ser fatores importantes para a diminuição de interneurônios PV+. De fato, o tratamento com T-817MA, uma substância neuroprotetora, reverteu a diminuição de interneurônios PV+ no mCPF e hipocampo induzida por MK-801, ao contrário do observado nos animais tratados com haloperidol ou risperidona (Uehara, Sumiyoshi, Seo*, et al.*, 2012). Diversas evidências sugerem que o CBD tenha propriedades neuroprotetoras, entre as quais destacam-se as ações antioxidante e anti-inflamatória (Fernández-Ruiz *et al.*, 2008; Campos *et al.*, 2016). Além dos efeitos do CBD sobre o *status* redox em diversos modelos e a diminuição da produção de mediadores inflamatórios, este fitocanabinoide também é capaz de atenuar a ativação microglial (Iuvone *et al.*, 2004; Esposito *et al.*, 2007; García-Arencibia *et al.*, 2007; Ruiz-Valdepeñas *et al.*, 2011; Mecha

et al., 2012).

Em um modelo de esclerose múltipla, o CBD reduziu a expressão de Iba-1 e de Mac2/Galectina3, marcadores de ativação microglial, na medula de camundongos (Kozela *et al.*, 2011). Também foi demonstrado que o CBD preveniu a diminuição do número de células microgliais com morfologia ativada no CPF e no hipocampo dorsal de camundongos que receberam cronicamente o MK-801 (Gomes *et al.*, 2015). Contudo, ainda não foi descrito se o CBD poderia reverter a ativação microglial e, tampouco, a diminuição de PNNs e interneurônios PV+ induzidos por antagonistas de NMDAR.

1.2.2 ***Possíveis mecanismos de ação envolvidos nos efeitos antipsicóticos do CBD***

Apesar das evidências indicarem que o CBD produz atividade tipo-antipsicótica, o mecanismo de ação pelo qual este fitocanabinoide exerce este efeito ainda não está bem elucidado. Um estudo utilizando o ensaio de *binding* indica que o CBD pode ser um agonista parcial do receptor de dopamina (DA) do subtipo D_2, da mesma forma que o antipsicótico atípico aripiprazol (Seeman, 2016). Entretanto outras evidências indicam que a ligação aos receptores TRPV1, 5-HT_{1A}, PPARγ e a inibição da enzima amida hidrolase de ácidos graxos (FAAH) podem estar envolvidas no efeito antipsicótico observado em modelos animais e humanos com esquizofrenia (Campos *et al.*, 2012). Neste trabalho exploraremos o mecanismo de ação do CBD com foco no sistema endocanabinoide e sistema serotoninérgico.

1.2.2.1 Sistema endocanabinoide

O sistema endocanabinoide (ECS) é uma importante rede neuromodulatória envolvida no desenvolvimento do SNC. Ele desempenha um papel importante na sintonia de muitos processos cognitivos e fisiológicos. O ECS é composto pelos receptores CB_1 e CB_2, os agonistas endógenos

(endocanabinoides) como a anandamida (AEA) e o 2-araquidonilglicerol (2-AG), e as proteínas responsáveis pela síntese e degradação destas substâncias como a FAAH e a lipase monoacilglicerol (MGL). responsáveis pela hidrólise e inativação da AEA e da 2-AG, respetivamente (Lu and Mackie, 2020). Embora os efeitos dos endocanabinoides sejam mediados principalmente por receptores canabinoides CB_1 e CB_2, outros receptores, como os receptores ativados por proliferadores de peroxissoma (PPARs) e canais de potencial receptor transitório (TRP), também podem ser ativados por esses compostos (Howlett *et al.*, 2002; Lu and Mackie, 2016).

O receptor do tipo CB_1 encontra-se em neurônios pré-sinápticos em diversas áreas do cérebro, incluindo aquelas envolvidas na neurobiologia da esquizofrenia e no mecanismo de ação dos antipsicóticos, como o estriado, córtex, substância nigra e hipocampo (Tsou *et al.*, 1998; Howlett *et al.*, 2002). Os receptores CB_2, que inicialmente foram considerados expressos apenas em células do sistema imune periférico e hematopoiético, também são expressos no SNC em células gliais, como microglia e astrócitos, e subpopulações específicas de neurônios (Luongo *et al.*, 2014). Os receptores CB_1 e CB_2 são acoplados principalmente à proteínas G inibitórias (Gi/o) que, quando ativadas, inibem a enzima adenilato ciclase, aumentando a abertura de canais de potássio e inibindo canais de cálcio, modulando assim a liberação de outros neurotransmissores (Lu and Mackie, 2020). No entanto, sob algumas condições, os receptores canabinoides também podem estimular a formação de cAMP (monofosfato de adenosina cíclico) e envolver as vias subjacentes a proteína Gq/11 (Glass and Felder, 1997; Lauckner *et al.*, 2005).

Há um acumulo de evidencias apontando para o envolvimento do receptor CB_2 na esquizofrenia (Cortez *et al.*, 2020). Um aumento na frequência de dois polimorfismos de nucleotídeo único (PNU) no gene que codifica o receptor CB2

(rs12744386 e rs2501432), que diminuem a função destes receptores, foi descrito em pacientes com esquizofrenia (Ishiguro *et al.*, 2010). Recentemente, um estudo de associação de todo o genoma de mais de 120.000 participantes identificaram um PNU para o receptor CB_2 em um gene altamente associado a experiências psicóticas (Legge *et al.*, 2019). Além disso, pacientes com esquizofrenia no primeiro episódio de psicose não tratados e pacientes tratados com antipsicóticos mostraram uma diminuição da expressão periférica de receptores CB_2 comparado a indivíduos saudáveis (De Marchi *et al.*, 2003; Bioque *et al.*, 2013).

Em modelos animais baseados no antagonismo de NMDAR, agonistas do receptor CB_2 como o JWH133 e JWH105 foram capazes de atenuar prejuízos nos testes de hiperlocomoção e PPI, respectivamente (Khella *et al.*, 2014; Kruk-Slomka *et al.*, 2017). Apoiando o envolvimento do receptor CB_2, os efeitos de JWH105 foram bloqueados pelo AM630, um antagonista deste receptor, mas não pelo antagonista do receptor CB_1, AM251. Como esperado, ao contrário dos efeitos dos agonistas, o bloqueio dos receptores CB_2 exacerbou tanto as deficiências do PPI quanto aumentou a atividade locomotora induzida pelo MK-801 (Khella *et al.*, 2014; Kruk-Slomka *et al.*, 2017).

O CBD parece ter pouca afinidade pelos receptores CB_1 e CB_2 (Petitet *et al.*, 1998). No entanto, há evidências de que sua ação pode ser mediada pelo sistema endocanabinoide por um mecanismo indireto de aumento da AEA através da inibição da enzima FAAH (Bisogno *et al.*, 2001). Assim, devido à ativação de CB_1 e/ou CB_2 através do aumento dos níveis de AEA, o CBD poderia modular sistemas neurotransmissores relacionados a estes receptores (Zuardi *et al.*, 2012). Na clínica foi observado que os níveis de AEA em pacientes não medicados é negativamente correlacionado com os sintomas psicóticos. O tratamento com CBD aumentou os níveis de AEA, efeito correlacionado com a

melhora clínica, indicando um possível mecanismo envolvendo o aumento de AEA com o potencial terapêutico do CBD (Giuffrida *et al.*, 2004; Leweke *et al.*, 2012). Em modelos pré-clínicos induzidos por antagonistas dos NMDAR, o bloqueio da degradação de AEA atenua alterações em comportamentos relacionados à esquizofrenia em roedores (Seillier *et al.*, 2010). Entretanto, em um estudo conduzido pelo nosso grupo, o efeito do CBD de atenuar prejuízos na IS e RO induzidos por MK-801 não foi bloqueado por AM251 ou AM630, indicando que outros receptores também podem estar envolvidos (Rodrigues Da Silva *et al.*, 2020).

A expressão dos receptores CB_2 em células da microglia é modificada dependendo de sua ativação, sendo baixa em condições saudáveis e alta em estados patológicos (Carlisle *et al.*, 2002; Maresz *et al.*, 2005). Há diversas evidências de que a ativação do receptor CB_2 diminui a neurotoxicidade mediada por microglia e reduz níveis de citocinas pró-inflamatórias (Fernández-Ruiz *et al.*, 2007; Komorowska-Müller and Schmöle, 2020). Por exemplo, em um modelo animal da doença de Parkinson, a ativação do receptor CB_2 reduziu o processo neuroinflamatórios e os danos à barreira hematoencefálica, e aumentou a sobrevivência dos neurônios dopaminérgicos da via nigroestriatal (Chung *et al.*, 2016). Apesar do CBD ter sido eficaz em diminuir a ativação microglial induzida por MK-801 (Gomes *et al.*, 2015), ainda não foi elucidado se este efeito estaria relacionado a ativação de receptores CB_2 e, tampouco, se a ativação deste receptor estaria envolvida na modulação da homeostase das PNNs e interneurônios PV+ induzido por CBD.

1.2.2.2 Sistema Serotoninérgico

O sistema serotoninérgico é composto pelo neurotransmissor serotonina (5-HT) e seus receptores, que são encontrados no SNC e periférico. Sete tipos e diversos subtipos de receptores de 5-HT foram identificados. Eles podem estar

presentes em membranas pré-sinápticas, como receptores autossômicos, ou pós-sinápticas em diversas regiões cerebrais. A classe de receptores 5-HT_1 é acoplada a uma proteína Gi/o e inclui 5 subtipos: 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1D}, 5-HT_{1E} e 5-HT_{1F} (Cooper and Bloom, 2003). Evidências genéticas indicam que polimorfismos nos receptores de serotonina do subtipo 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} e 5-HT_{2C} estão relacionados com sintomas psicóticos, distúrbios cognitivos e resposta a drogas em esquizofrenia (Masellis *et al.*, 1998; Drago *et al.*, 2008). Além disso, dados pré-clínicos sugerem um papel da 5-HT em cognição através de sua influência em outros sistemas neurotransmissores, como o dopaminérgico, colinérgico, glutamatérgico e GABAérgico (Meltzer *et al.*, 2003).

O envolvimento da 5-HT na esquizofrenia também é revelado por meio do perfil farmacológico exibido por drogas antipsicóticas atípicas, como clozapina, olanzapina, risperidona, ziprasidona, quetiapina, etc., que são potentes antagonistas do receptor 5-HT_{2A} (Meltzer, 1999). Além disso, a ação agonista parcial de receptores 5-HT_{1A} também é compartilhada por antipsicóticos atípicos como aripiprazol, clozapina, ziprazidona, entre outros, e a estimulação destes receptores parece estar relacionada com a melhora nos sintomas negativos e cognitivos da esquizofrenia (Meltzer *et al.*, 2003). Por exemplo, na clínica a adição de buspirona, um agonista parcial 5-HT_{1A}, melhorou o desempenho em um teste que avalia a memória, atenção e coordenação motora em pacientes tratados com antipsicóticos atípicos (Sumiyoshi *et al.*, 2007).

Em estudos pré-clínicos, baixas doses de 8-OH-DPAT, um agonista de receptores 5-HT_{1A}, reduziu a hiperlocomoção e o prejuízo na IS induzidos por MK-801 (Bubeníková-Valesová *et al.*, 2007). Além disso, lurasidona, um potente agonista parcial dos receptores 5-HT_{1A}, tandospirona, antagonista dos receptores 5-HT_{2A} e D_2, e F15599, agonista seletivo de receptores 5-HT_{1A} pós-sinápticos, reverteram o prejuízo no teste de RO induzido por PCP, assim como

a combinação de doses subefetivas de tandospirona e lurasidona. Estes efeitos da tandospirona e lurasidona foram bloqueados por WAY100635, um antagonista de receptores 5-HT_{1A} (Horiguchi *et al.*, 2012). Efeitos a longo prazo também foram observados. Sete e 14 dias após o fim do tratamento com lurasidona e tandospirona, respectivamente, os prejuízos no teste de RO induzidos por PCP foram atenuados. Além disso, o efeito da lurasidona foi bloqueado pelo tratamento com WAY100635 (Horiguchi *et al.*, 2016).

Em regiões cerebrais envolvidas com a fisiopatologia da esquizofrenia, como no córtex e hipocampo, o receptor 5-HT_{1A} está localizado em neurônios principais e nos neurônios contendo calbindina e parvalbumina (Aznar *et al.*, 2003). Diversas evidências apontam para o papel dos receptores 5-HT_{1A} no controle do disparo neuronial no CPF (Araneda and Andrade, 1991; Ashby *et al.*, 1994; Zhou and Hablitz, 1999; Amargós-Bosch *et al.*, 2004). Alguns resultados sugerem que a regulação cortical dependente dos receptores 5-HT_{1A} envolva os interneurônios PV+. Por exemplo, a administração local de 8-OH-DPAT no mCPF levou a uma diminuição na frequência de disparo dos interneurônios PV+. Esses efeitos inibitórios foram revertidos pelo WAY100635, indicando o envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e interneurônios PV+ no balanço excitatório-inibitório cortical (Gui *et al.*, 2011). Gui e colaboradores também observaram que a degeneração da via nigroestriatal resulta na diminuição da resposta dos interneurônios PV+ no mCPF à estimulação do receptor 5-HT_{1A} pelo 8-OH-DPAT, efeito esse que se atribui à regulação negativa da expressão desse receptor nestes interneurônios. Este resultado sugere que alterações em vias dopaminérgica poderiam interferir na expressão de receptores 5-HT_{1A} no mCPF, levando a uma desregulação nos circuitos neuroquímicos corticais que serão abordados posteriormente (Gui *et al.*, 2011).

O CBD parece facilitar a neurotransmissão via 5-HT_{1A} agindo como

agonista ou modulador alostérico positivo deste receptor *in vitro* (Russo *et al.*, 2005). Magen e colaboradores mostraram que o CBD melhorou a cognição e a atividade locomotora em um modelo de encefalopatia hepática induzida pela ligação do ducto biliar. Este efeito foi bloqueado pelo tratamento com WAY100635 (Magen *et al.*, 2010). Também foi observado efeito do CBD em prejuízos emocionais e cognitivos induzidos por isquemia, que foi bloqueado por antagonistas dos receptores CB_1, CB_2, 5-HT_{1A} e PPARγ (Mori *et al.*, 2021). Em um modelo de catalepsia, um teste relacionado aos efeitos extrapiramidais causados pelos antipsicóticos típicos, o CBD foi capaz de prevenir e reverter o aumento no tempo de catalepsia induzida pelo tratamento com haloperidol. Este efeito também foi dependente da ativação 5-HT_{1A} (Gomes *et al.*, 2013; Sonego *et al.*, 2016). Além disso, o efeito do CBD de atenuar prejuízos no SI e RO induzidos por MK-801 foi bloqueado por WAY100635, mostrando que o perfil de antipsicótico atípico do CBD poderia envolver a neurotransmissão serotoninérgica via 5-HT_{1A} (Sonego *et al.*, 2016; Rodrigues Da Silva *et al.*, 2020).

Apesar de estudos prévios terem observado o efeito do CBD sobre a atenuação da ativação microglial e diminuição dos interneurônios PV+ em diversos modelos de esquizofrenia, ainda não foi elucidado se este efeito poderia envolver o receptor 5-HT_{1A} (Gomes *et al.*, 2014; Gomes *et al.*, 2015; Osborne, Solowij, Babic, Lum, Huang*, et al.*, 2019).

1.2.2.3 Mecanismos Neuroquímicos

A área tegmental ventral (VTA) dá origem às vias dopaminérgicas mesolímbica e mesocortical que estão envolvidas em funções cerebrais superiores, como cognição, memória e recompensa (Robbins, 2000; Tzschentke and Schmidt, 2000; Lee *et al.*, 2003; Schultz, 2004). Como já exposto, a disfunção dopaminérgica é um dos principais marcadores fisiopatológicos da esquizofrenia. Pacientes acometidos com este transtorno possuem um aumento

no tônus dopaminérgico na via mesolímbica, que está relacionado com os sintomas positivos do transtorno. Paralelamente, é sugerido que ocorra uma diminuição do tônus dopaminérgico na via mesocortical, que estaria relacionado aos sintomas negativos e cognitivos (Crow, 1980; Andreasen, 1994).

A atividade dos neurônios da VTA são modulados, entre outras áreas, pelo mCPF (Thierry *et al.*, 1979; Tong *et al.*, 1998; Carr and Sesack, 2000). Esse controle é exercido por meio de aferentes excitatórios diretos e também indiretamente, por meio do tegmento laterodorsal (LDT), tegmento pedunculopontino (PPTg) ou da via do núcleo accumbens (NAc)/pálido ventral (VP) (Tzschentke and Schmidt, 2000; Adell and Artigas, 2004; Omelchenko and Sesack, 2005). A estimulação do mCPF parece induzir um aumento de disparos em neurônios do VTA. Por exemplo, alguns trabalhos mostram que a estimulação química e elétrica do mCPF aumenta a atividade de neurônios DA e a liberação de DA no VTA (Murase *et al.*, 1993; Bortolozzi *et al.*, 2005).

Parece haver uma complexa influência de 5-HT nas vias dopaminérgicas do mesencéfalo, envolvendo principalmente os receptores 5-HT_{1A} (Arborelius, Chergui*, et al.*, 1993; Arborelius, Nomikos*, et al.*, 1993; Prisco *et al.*, 1994; Ichikawa *et al.*, 1995; Rollema *et al.*, 2000; Sakaue *et al.*, 2000). A região do mCPF é altamente enriquecida em neurônios piramidais e interneurônios GABAérgicos que expressam receptores 5-HT_{1A} (Santana *et al.*, 2004). Algumas evidências indicam que a ativação dos receptores 5-HT_{1A} no mCPF poderia levar ao aumento do tônus dopaminérgico na via mesocortical através da estimulação da VTA. Por exemplo, Diaz-Mataix e colaboradores observaram um aumento na taxa de disparo de neurônios dopaminérgicos no VTA e liberação de DA neste local e no mCPF após a administração sistêmica de BAYx3702 (BAY), um agonista 5-HT_{1A} (Díaz-Mataix *et al.*, 2005). O tratamento com WAY100635 reverteu os efeitos do BAY em ambas as áreas. As alterações no VTA foram

prevenidas por transecção frontocortical, indicando que a estimulação de receptores 5-HT_{1A} no mCPF parece estar envolvida com o aumento do tônus dopaminérgico na VTA (Díaz-Mataix *et al.*, 2005).

Através do envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} no tônus dopaminérgico mesocortical, a ativação destes receptores parece contribuir para a capacidade dos antipsicóticos atípicos (mas não os típicos) de aumentar a liberação cortical de DA, um efeito potencialmente envolvido na melhora dos sintomas negativos e da disfunção cognitiva na esquizofrenia (Rollema *et al.*, 1997; Kuroki *et al.*, 1999; Rollema *et al.*, 2000; Ichikawa *et al.*, 2001). Em macacos Rhesus foi observado um aumento preferencial da clozapina (mas não haloperidol) na liberação de DA no CPF dorsolateral comparado ao núcleo caudado, apoiando a ideia de que o aumento da neurotransmissão dopaminérgica cortical poderia estar relacionado ao efeitos terapêuticos de antipsicóticos atípicos (Youngren *et al.*, 1999). Em roedores, clozapina, olanzapina e risperidona, quando administrados por diálise reversa, induziram um aumento de DA no mCPF em camundongos selvagens e KO para o receptor 5-HT_{2A}, efeito este não observado em camundongos KO para o receptor 5-HT_{1A} (Bortolozzi *et al.*, 2010). Da mesma maneira, Diaz-Mataix e colaboradores mostraram que a administração sistêmica de clozapina, olanzapina e ziprasidona (mas não haloperidol) e local de clozapina e olanzapina aumentaram a liberação de DA no mCPF de camundongos selvagem, mas não de KO para o receptor 5-HT_{1A}. Curiosamente, o efeito local da clozapina, olanzapina e BAY foi bloqueado pela co-perfusão de bicuculina, um antagonista de receptores $GABA_A$, sugerindo que o aumento de DA no mCPF dependeria de interneurônios GABAérgicos (Díaz-Mataix *et al.*, 2005).

Poucos estudos na literatura investigaram os efeitos neuroquímicos do CBD em modelos animais utilizados no estudo de transtornos psiquiátricos.

Recentemente, Galaj e colaboradores mostraram que o pré-tratamento com CBD (10-20 mg/kg) atenuou o aumento nos níveis de DA induzido pela cocaína no NAc (Galaj *et al.*, 2020). Por outro lado, estudos investigando o efeito do CBD na modulação do sono mostraram que a injeção local de CBD (30, 60, ou 90 nM) no hipotálamo lateral, assim como injeção intracerebroventricular (10 µg/5µl), levou ao aumento de DA no NAc (Murillo-Rodríguez *et al.*, 2006; Murillo-Rodríguez *et al.*, 2011). Assim, o CBD parece ser capaz de modular o tônus dopaminérgico de maneira dependente da dose e modelo. Entretanto, ainda não há estudos investigando o possível efeito do CBD de alterar os níveis de DA no mCPF e se este efeito poderia, assim como para alguns dos antipsicóticos atípicos, depender da ativação de receptores 5-HT_{1A}.

Hipótese

2 **HIPÓTESE**

Considerando que o CBD possui um potencial efeito terapêutico como antipsicótico e parece modular componentes celulares e inflamatórios no SNC, assim como, possui um mecanismo de ação possivelmente envolvendo os receptores CB_2 e 5-HT_{1A}, o presente estudo investigou a **hipótese** de que os efeitos do CBD em reverter os prejuízos cognitivos e alterações celulares e inflamatórias induzidas por um modelo de esquizofrenia baseado no antagonismo de NMDAR ocorrem de maneira dependente da ativação de receptores CB_2 e/ou 5-HT_{1A}. Além disso, considerando o efeito dos antipsicóticos atípicos em aumentar o tônus dopaminérgico no mCPF, este trabalho investigou se, semelhante estas substâncias, o CBD aumenta os níveis de DA no mCPF de maneira dependente da ativação de receptores 5-HT_{1A}.

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do CBD sob a hiperlocomoção induzida por anfetamina, prejuízos cognitivos, expressão de PV+, PNNs e ativação microglial induzidos por MK-801 de maneira dependente de receptores CB_2 e/ou 5-HT_{1A} e avaliar o efeito do CBD sobre a liberação de DA no mCPF de maneira dependente de receptores 5-HT_{1A}.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e/ou CB_2 sobre o possível efeito do CBD em atenuar a hiperlocomoção induzida por anfetamina.
- Avaliar os efeitos do CBD sobre o prejuízo cognitivo induzido por MK-801 no teste de RO a curto (ROC) e longo prazo (ROL) e o possível bloqueio deste efeito por AM630 e/ou WAY100635.
- Investigar alterações sobre a expressão de marcadores de interneurônios PV+ e PNNs (identificadas pelo marcador WFA) em estruturas cerebrais relacionadas com a esquizofrenia como CPF pré límbico (PreL), CPF infra límbico (InfraL), área CA1 ventral do hipocampo (vCA1) e subículo ventral (vSub), induzidas pelo tratamento repetido com MK-801 na presença e na ausência do tratamento com CBD e AM630 e/ou WAY100635.
- Avaliar o efeito do CBD sobre neuroinflamação induzida pelo tratamento com MK-801 através da análise da ativação microglial no CPF PreL, InfraL, vCA1 e vSub marcadas por Iba-1 e o possível bloqueio por AM630 e/ou WAY100635.
- Avaliar o efeito agudo da administração sistêmica e local de CBD sobre a liberação de DA e seu metabólito ácido 3,4-di-hidroxifenilacético (DOPAC)

no mCPF e o possível bloqueio pela administração sistêmica de WAY100635.

Materiais e Métodos

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Para a realização dos procedimentos experimentais em camundongos foram utilizados animais da linhagem C57BL/6J machos, com 6 semanas de idade no início do tratamento, provenientes do Biotério Central da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP). Os animais permaneceram no biotério do Departamento de Farmacologia da FMRP, em grupos de até 5 animais/gaiola microisolada (41 x 33 x 17 cm), com água e ração *ad libitum*, sala com temperatura controlada (23±1°C) e sob ciclo de luz controlado (12h claro/12h escuro; período claro começando as 6:00 am). Protocolo de aprovação pelo comitê de ética em pesquisa animal: 145/2015 - anexo).

Para a realização dos procedimentos experimentais em ratos foram utilizados animais da linhagem Wistar machos, adultos, pesando entre 290–320 gramas, provenientes do biotério central *do Instituto de Investigaciones Biologicas Clemente Estable*, Montevidéu, Uruguai. Todos os animais foram alojados em grupos de até 5 animais/gaiola (50 cm × 37,5 cm × 21 cm) e mantidos em condições controladas (temperatura 22 ± 2 ° C, ciclo dia-noite de 12h claro/ 12h escuro; período claro iniciando as 7:00 am) com ração e água disponível *ad libitum*. Protocolo de aprovação pelo comitê de bioética do *Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable* Nº 010/11/2016 e 001/08/2018 cumprindo a lei nacional de experimentação animal vigente no Uruguai (lei 18.611).

Medidas adequadas foram levadas em consideração para minimizar a dor, desconforto ou estresse dos animais, e todos os esforços foram feitos para utilizar o número mínimo de animais necessário para a obtenção de dados científicos confiáveis.

4.2 **Drogas**

- Canabidiol (BSPG, UK) - Doses: 30mg/kg (camundongo) e 60mg/kg (rato) para administração intraperitoneal (i.p.) e para diálise reversa foram utilizadas as concentrações (0,2, 1 e 5 µM). As doses empregadas foram baseadas em estudos prévios do grupo ou da literatura (Zuardi *et al.*, 1991; Gomes *et al.*, 2015; Rodrigues Da Silva *et al.*, 2020; Echeverry *et al.*, 2021). Veículo: DMSO 1%, tween 80 2% e salina q.s.p. para injeção i.p e 0,5% DMSO e fluído cefalorraquidiano artificial (aCSF) q.s.p para diálise reversa.
- MK-801 (Sigma, EUA) - Dose: 0,5 mg/kg, baseada em (Rodrigues Da Silva *et al.*, 2020). Veículo: salina.
- AM630 (Sigma, EUA) - Dose: 0,1 mg/kg, baseada em (Rodrigues Da Silva *et al.*, 2020). Veículo: DMSO 1%, tween 80 2% e salina q.s.p.
- WAY100635 (Tocris, EUA) - Dose: 0,1 mg/kg, baseada em (Rodrigues Da Silva *et al.*, 2020). Veículo: salina.
- Nomifensina (Sigma, EUA) - Concentração: 10 µM, baseada em (Díaz-Mataix *et al.*, 2005). Veículo: aCSF

4.3 **Hiperlocomoção induzida por anfetamina**

Para avaliar o possível envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e CB_2 no efeito do CBD em atenuar a hiperlocomoção induzida por anfetamina, camundongos C57BL/6J machos com 6 semanas de idade receberam uma injeção i.p. de WAY100635 (0,1mg/kg), AM630 (0,1mg/kg) ou veículo e, 10 minutos após, receberam uma injeção i.p. de CBD (60mg/kg) ou veículo. Após 50 minutos, os animais receberam anfetamina (2,5mg/kg) ou veículo por via i.p. e, após 10 minutos, foram posicionados em uma arena circular (40 cm de diâmetro com 40 cm de altura). Eles puderam explorar livremente a arena por 20 min enquanto eram filmados. O comportamento foi analisado com o software

Anymaze®, que detecta a posição do animal na arena e calcula a distância percorrida (Fig. 1).

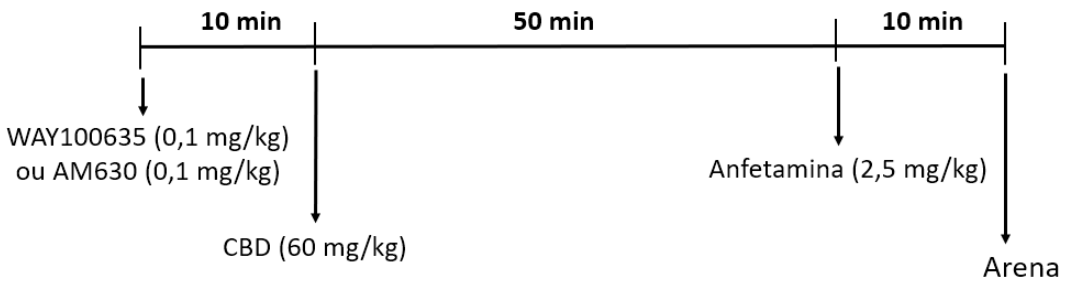


Figura 1. Representação esquemática do procedimento experimental com tratamento agudo com AM630 ou WAY100635 e CBD sobre a hiperlocomoção induzida por anfetamina. CBD, canabidiol.

4.4 **Desenho Experimental para o tratamento repetido**

Para avaliar os efeitos do CBD sobre o prejuízo induzido por MK-801 nos testes de NOC e NOL, assim como o possível envolvimento dos receptores CB_2 e/ou 5-HT_{1A}, camundongos C57BL/6J receberam 2 injeções de MK-801 (0,5mg/kg) ou salina i.p. às 11:00 e 17:00 horas durante 14 dias. Um dia após o final do tratamento com o MK-801 (15° dia de tratamento), os animais receberam uma injeção i.p. diária de WAY100635 (0,1 mg/kg), AM630 (0,1 mg/kg) ou veículo e, 10 minutos após, receberam uma injeção i.p. de CBD (30 mg/kg) ou veículo pelos 7 dias subsequentes. Após 24 horas da última injeção com os antagonistas e CBD, os animais foram submetidos à habituação na arena para o teste de RO. No dia seguinte, o teste de ROC foi realizado e, no dia subsequente, foi feito o teste de ROL. Após a finalização dos testes comportamentais os encéfalos foram perfundidos (Fig. 2).

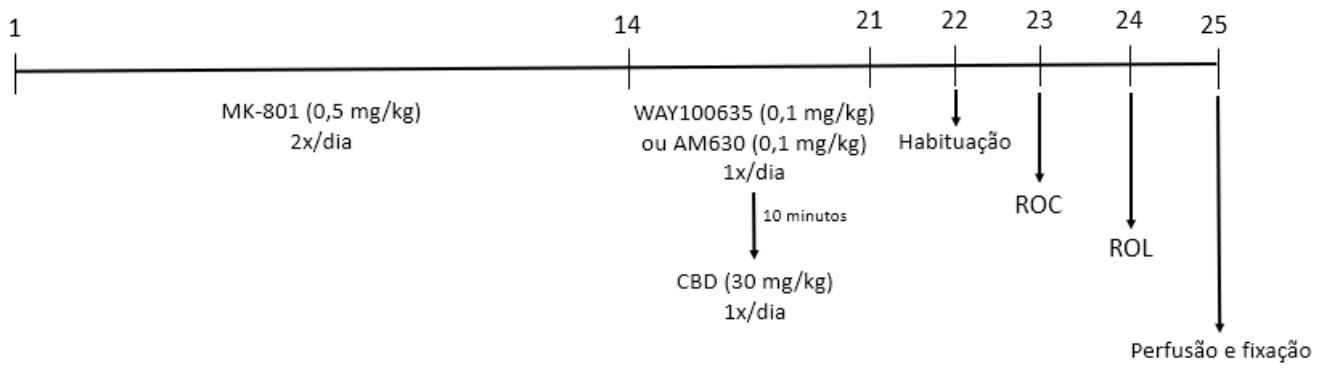


Figura 2. Representação esquemática do procedimento experimental com tratamento repetido com AM630 ou WAY100635 e CBD seguido pelo pré-tratamento com MK-801 mostrando os dias de tratamento e os testes que foram realizados. CBD, canabidiol; ROC, Reconhecimento de objeto a curto prazo; ROL, Reconhecimento de objeto a longo prazo.

Para a avaliação do possível efeito a longo prazo do CBD sobre as células PV+ no CPF, camundongos C57BL/6J receberam 2 injeções de MK-801 (0,5mg/kg) ou salina i.p. durante 14 dias. Nos 7 dias subsequentes os animais receberam CBD (30mg/kg) ou clozapina (1mg/kg) uma vez ao dia. Após o último dia de tratamento, os animais foram mantidos no biotério por 14 dias. Após este período eles foram perfundidos e os encéfalos processados para o teste de imunofluorescência (Fig. 3).

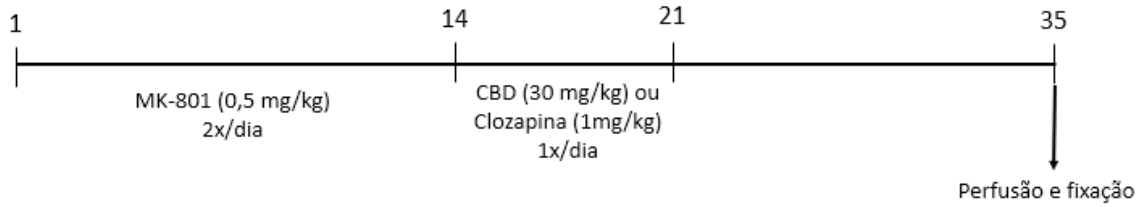


Figura 3. Representação esquemática do procedimento experimental com tratamento repetido com CBD e clozapina seguido pelo pré-tratamento com MK-801 mostrando os dias de tratamento e os testes que foram realizados. CBD, canabidiol.

4.5 **Testes de Reconhecimento de objeto a curto e longo prazo**

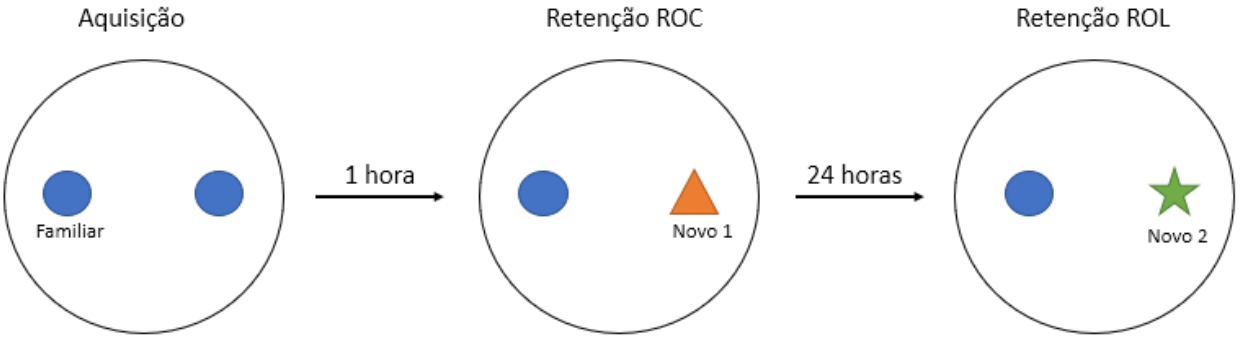
O teste de RO avalia a capacidade dos roedores de reconhecer um novo objeto comparado a um objeto familiar sem nenhum reforço positivo ou negativo,

ou seja, é baseado na tendência natural de roedores em explorar objetos novos (Ennaceur, 2010). Esta tendência tem sido usada para o estudo de funções cognitivas, como memória e aprendizagem, que estão diminuídas em animais tratados com antagonistas de NMDAR e em pacientes com esquizofrenia (Wong and Van Tol, 2003; Hashimoto *et al.*, 2005). O teste de RO foi realizado para avaliar estes prejuízos e foi dividido em duas etapas: ROC e ROL, para avaliar a memória de curto e longo prazo, respectivamente (Fig.2).

O teste de RO foi realizado em uma arena circular de acrílico (40 cm de diâmetro e altura de 40 cm). Um dia antes do experimento, cada animal foi submetido a uma sessão de habituação à arena com duração de 15 minutos. No dia do experimento, os animais foram colocados na arena que continha dois objetos idênticos por um período de 10 min (sessão de aquisição). Para o teste de ROC, após 60 minutos, um dos objetos presentes na sessão de aquisição foi substituído por um objeto novo (novo1) com tamanho, textura e cor diferentes dos objetos da primeira sessão. Os animais foram colocados na arena que continha os objetos novo1 e familiar por 5 minutos e o tempo de interação com cada objeto foi registrado (sessão de retenção ROC). No dia seguinte, para a realização do ROL, os animais foram reexpostos à arena que continha o objeto familiar utilizado na sessão de aquisição e um objeto novo2 (distinto do objeto novo1 da sessão de retenção ROC) por 5 minutos, e o tempo de exploração com ambos os objetos foi contabilizado (Fig. 4). Os objetos possuem em média 16 cm de altura e tem peso suficiente para não serem deslocados pelos animais durante o experimento. A exploração dos objetos foi definida como a situação na qual o animal direcionava sua face ao objeto até uma distância aproximada de 2 cm enquanto observa, cheirava ou o tocava.

O índice de discriminação foi utilizado para avaliar o tempo de exploração entre o objeto novo e o familiar. Este índice é calculado pela diferença entre a exploração do objeto familiar (TF) e o novo (TN) dividido pelo tempo de

exploração total do objeto novo e familiar [DI= (TN – TF) / (TN + TF)]. Esse resultado pode variar entre valores negativos e positivos. Valores positivos indicam mais tempo de exploração no objeto novo enquanto valores negativos indicam mais tempo de exploração no objeto familiar enquanto o valor zero indica a ausência de preferência.



$$\textbf{Índice de Discriminação} = \frac{\textit{Tempo de exploração do objeto novo} - \textit{Tempo de exploração do objeto familiar}}{\textit{Tempo de exploração do objeto novo} + \textit{Tempo de exploração do objeto familiar}}$$

Figura 4 . Desenho experimental para o teste de RO. O teste é composto por 3 etapas: a sessão de aquisição (familiarização) e duas exposições a objetos novos: 1 hora depois (ROC) e 24 horas depois (ROL) da sessão de aquisição. ROC, Reconhecimento de objeto a curto prazo; ROL, Reconhecimento de objeto a longo prazo.

4.6 **Imunofluorescência**

Um dia após o final teste de RO os animais foram anestesiados com dose letal de uretana (25%, 5 mL/kg) e submetidos à perfusão transcardíaca. O objetivo desta técnica é preservar de forma rápida e uniforme o tecido em um estado natural. Embora a colocação de tecido diretamente no fixador funcione bem para pequenos pedaços de tecido, espécimes maiores, como o cérebro intacto, representam um problema para a fixação por imersão porque o fixador não atinge todas as regiões do tecido na mesma taxa, assim, a perfusão transcardíaca tem a finalidade de remover o sangue dos tecidos e fixá-los, evitando que ocorram autólise e comprometimento das estruturas a serem analisadas (Tao-Cheng *et al.*, 2007).

Uma vez anestesiados, os animais foram imobilizados e, com o coração exposto, o átrio direito foi rompido e o ventrículo esquerdo foi canulado para a infusão transcardíaca lenta de um volume total de 30 mL/animal de uma solução fosfato-salina (PBS) a 0,01M com pH 7,4 seguida de 25mL/animal do fixador paraformaldeído (PFA 4%) em tampão fosfato (PB 0,1 M; pH 7,4). Após a perfusão, os encéfalos foram extraídos e mantidos embebidos no fixador (PFA 4%) por 24 horas e após, foram crioprotegidos com sacarose 30% em PBS 0,01M, pH 7,4 durante 72 horas à 4°C, sendo em seguida congelados com isopentano (Vetec – Brasil) à – 40°C em gelo seco e mantidos armazenados até o processamento em freezer à -80°C.

Posteriormente, cortes coronais adjacentes foram obtidos das regiões de interesse com 30 µm de espessura em criostato (CM-1900, Leica, Alemanha) à -24 ºC. Os cortes foram armazenados à -20°C em solução anticongelante e, no dia do processamento para imunofluorescência, as fatias contendo as seguintes regiões: mCPF (PreL e InfraL) e hipocampo ventral (vCA1 e vSub) foram selecionadas.

Para a imunofluorescência os cortes foram lavados em PBS 0,01M e triton-X100 0,1% (tampão A) 3 vezes por 5 minutos cada e então incubadas com tampão citrato (pH 6), por 30 minutos, à 60°C, para recuperação antigênica. Após 3 lavagens de 5 minutos com o tampão A, as secções foram bloqueadas, por 2 horas, em tampão A e albumina bovina (BSA) 5% e incubadas com anticorpo primário anti-parvalbumina produzido em coelho (1: 1000 em tampão A, Cell Signaling, EUA; Ref. 55598) e a lecitina WFA biotinilada (1:1000 em tampão A, Vector, EUA; Ref. B-1355-2) para a marcação com PV + WFA (PNNs). Nos experimentos objetivando a análise de ativação microglial, os cortes foram incubados com anticorpo anti-Iba1 produzido em coelho (1: 1000 em tampão A, Wako, Japão; Ref. 019-19741), *overnight*, à 4°C em agitação lenta. Em seguida, os cortes foram lavados por 3 vezes de 5 minutos com tampão A antes de serem

incubados por 2 horas com o anticorpo secundário anti-coelho Alexa594 (1:500 em tampão A, Invitrogen, EUA) e estreptavidina conjugada com fluoróforo excitável no comprimento de onda 488nm (1:500 em tampão A, Vector, EUA) para a marcação com PV + WFA e anti-coelho Alexa 649 (1:500 em tampão A, Invitrogen, EUA) para a marcação com Iba-1. Após, os cortes foram lavados por 3 vezes de 5 minutos cada com tampão A e foram estendidos em lâminas gelatinizadas onde ficaram protegidos da luz secando por 8 horas. As lâminas foram protegidas com lamínulas montadas com meio de montagem contendo DAPI (abcam, EUA; Ref. ab104139) e mantidas a -4°C até a análise.

4.7 Avaliação quantitativa das células PV+ e PNNs e análise morfológica das células Iba-1-positivas.

As lâminas contendo dupla marcação para PV+/WFA foram analisadas obtendo-se imagens em sequência *z-stacks* em microscópio confocal (Leica SP5, campo de emissão de onda 488 e 594nm) no aumento de 20x e 40x para marcação simples com Iba-1 (campo de emissão de onda 647nm). As áreas cerebrais de interesse foram identificadas com o auxílio do Atlas *The Mouse Brain* (Paxinos and Franklin, 2008). Seis secções de tecido foram analisadas por área de interesse e animal. Como todas as estruturas são bilaterais, o valor médio foi calculado e utilizado nas análises.

Para as análises de PV+, foram considerados neurônios PV+ aqueles que apresentaram marcação fluorescente nos corpos celulares quando submetidas ao comprimento de onda 488nm. Para análise de PNNs, foram contabilizadas todas as marcações fluorescentes com WFA quando submetidas ao comprimento de onda de 594nm e que circundam um núcleo celular marcado por DAPI. Além disso, o número de neurônios PV+ co-localizados com PNNs foi contabilizado. Para análise da intensidade de fluorescência da marcação de PNNs com WFA, todas as imagens foram convertidas à projeção máxima (junção

de todos os *z stack*), exportadas no formato tif. e posteriormente analisadas com auxílio do *software* ImageJ® (NIH, EUA). Nesta análise foi considerada a marcação total com WFA contabilizada no campo todo da área de interesse. Em uma segunda análise foi contabilizada a intensidade de fluorescência da marcação de WFA somente das PNNs co-localizadas com a marcação de PV+.

Para análise de ativação microglial, todas as imagens em tif. da projeção máxima do escaneamento no microscópio confocal foram analisadas com auxílio do *plugin cell counter* do *software* ImageJ. As células marcadas com Iba-1 foram classificadas em 5 morfotipos conforme demonstrados na Fig. 5: tipo 1, caracterizado por células com poucos processos celulares (2 ou menos); tipo II, células com 3 a 5 ramos curtos; tipo III, células com numerosos (mais de 5) e longos processos celulares e corpo celular pequeno; tipo IV, caracterizado por células com grande corpo celular e processos mais finos e retraídos; e tipo V, células com corpo celular ameboide, numerosos e pequenos processos celulares e intensa marcação para Iba-1 (Fig. 5), de modo que os 3 últimos tipos são caracterizados como micróglia reativa (Diz-Chaves *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2015; Lopez-Rodriguez *et al.*, 2015). Para estas análises, o experimentar ficou cego em relação ao grupo experimental.

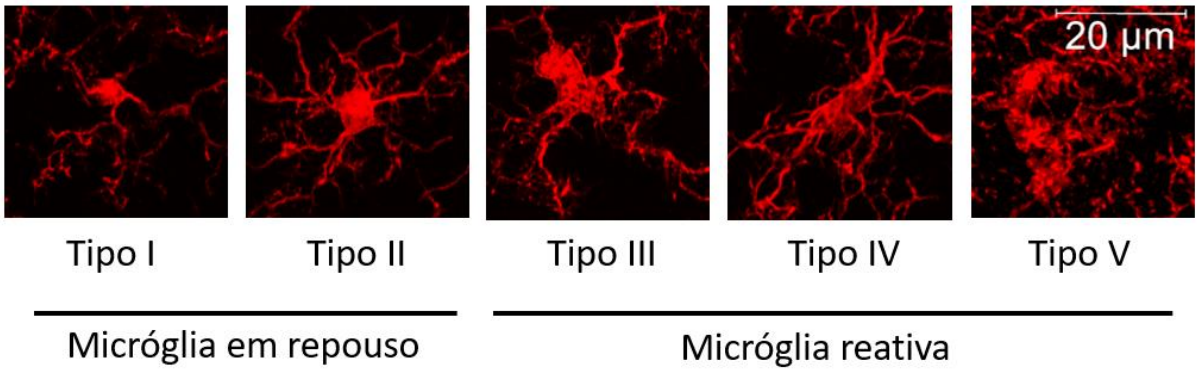


Figura.5. Células microgliais imunorreativas para Iba-1 e classificadas de acordo com seus aspectos morfológicos. Os Tipos I e II são classificados como microglia em repouso e os tipos III, IV e V como microglia reativa. Imagens obtidas com objetiva de 100X e zoom 1,5 em microscópio confocal.

4.8 **Microdiálise**

Para coleta e análise dos níveis extracelulares de DA no mCPF foi utilizada a técnica de microdiálise em ratos acordados, conforme descrito em (Urbanavicius *et al.*, 2019). Brevemente, os ratos foram anestesiados com injeção i.p. de uma mistura de quetamina (90mg/kg) e xilazina (5mg/kg) e colocados no aparato para cirurgia estereotáxica (*David Kopf Instruments,* EUA). Uma vez exposto o crânio, foi perfurada uma incisão na posição das coordenadas AP: −3,2 mm rostral a Bregma, L: -0,8 mm lateral à linha média e DV: −5,4 mm a partir da dura-máter. Uma sonda de microdiálise concêntrica (BASi, EUA) com comprimento de membrana de 4 mm, corte molecular de 18 kDa e diâmetro externo de 210µm foi implantada.

A sonda de microdiálise foi ancorada ao crânio com auxílio de três parafusos de aço inoxidável e revestimento com cimento acrílico. Após a recuperação da anestesia, os ratos foram alojados individualmente com livre acesso à comida e água. No dia seguinte, cada animal foi perfundido através da sonda de microdiálise com aCSF (aCSF; 125 mM NaCl, 2,5 mMKCl, 1,26 mM CaCl2 e 1,18 mM MgCl2) contendo 10µM de nomifensina a uma taxa de fluxo de 1,5µL/min (Bomba de microinjeção CMA, Suécia). Após um período de estabilização de 120 minutos, 4 frações foram coletadas para obter valores de linha de base antes da injeção de CBD (60mg/kg; i.p.) ou do início da perfusão de CBD (0,2, 1 e 5µM) intra-mCPF através da sonda. Para os experimentos com o antagonista de receptores 5-HT_{1A}, a administração do WAY100635 (0,3mg/kg; i.p.) ocorreu 10 minutos após a coleta da 3° amostra basal. O CBD (60 mg/kg; i.p.) foi administrado 10 min após (Fig.6). Amostras de dialisado sucessivo foram coletadas a cada 20 minutos em um volume de 30µL e a concentração de DA e DOPAC nas amostras foram imediatamente determinados por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC; Waters 2465) equipada com um detector

eletroquímico Epsilon e5P a + 0,65 V (eletrodo de carbono vítreo contra Eletrodo de referência Ag/AgCl). A coluna (C18, tamanho de partícula de 3µm) foi mantida a 30°C e a fase móvel consistia em ácido cítrico (0,15 M), sulfato de octil de sódio (0,9 mM), tetrahidrofurano (1,5%) e acetonitrilo (3%) em pH 3 e taxa de fluxo de 0,3 mL/min. No final das diálises, os cérebros foram processados para procedimentos histológicos a fim de determinar a localização das sondas de diálise.

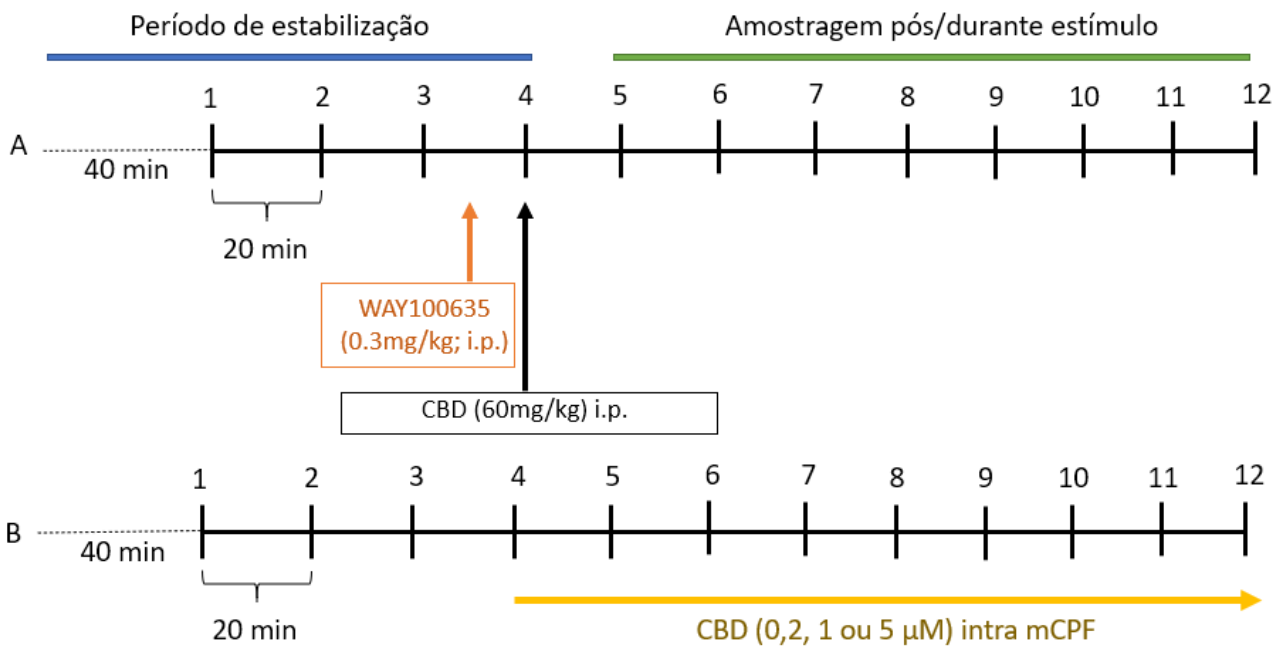


Figura 6. Protocolo esquemático dos experimentos de microdiálise indicando o modelo experimental e coleta de amostras ao longo do tempo. Para administração sistêmica (i.p.) (A) ou local de CBD por diálise reversa (B). Em todos os experimentos houve um período de estabilização de 120 minutos no qual, após os 40 minutos iniciais, amostras basais foram coletadas obedecendo um intervalo de 20 minutos. Para administração sistêmica, o CBD foi administrado após a coleta da 4° amostra basal. Nos experimentos que avaliaram o possível envolvimento do receptor 5-HT_{1A}, o WAY100635 foi administrado (i.p.) 10 minutos antes da injeção sistêmica de CBD (A). Para a avaliação do efeito local de CBD, após a coleta da 4° amostra basal os animais foram perfundidos via diálise reversa com CBD até o final do experimento. CBD, canabidiol; mCPF, córtex pré-frontal medial; i.p., intraperitoneal.

4.9 **Análise Estatística**

Todos os dados estão apresentados como média ± erro padrão da média (EPM). Para os experimentos comportamentais e de imunofluorescência os dados foram analisados por teste *t de student* ou análise de variância (ANOVA) de uma via. Comparações *post-hoc* foram realizadas pelo teste de *Dunnett* ou *Student-Newman-Keuls* (S-N-K). Os dados dos experimentos de microdiálise foram analisados por ANOVA de duas vias para medidas repetidas considerando os fatores tratamento e tempo, seguido do teste *post-hoc* de Bonferroni. Foi considerado um nível de significância de 95% ($p<0,05$) e a análise foi realizada com auxílio do *software* IBM SPSS (versão 21.0).

Resultados

5 RESULTADOS

5.1 Experimento 1: Envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e CB_2 sobre a atenuação, pelo CBD, da hiperlocomoção induzida por anfetamina

Como esperado, a administração aguda de anfetamina (2,5mg/kg) aumentou a locomoção em comparação aos animais que receberam veículo. O pré-tratamento com CBD (60mg/kg) atenuou o aumento da locomoção induzida por anfetamina. WAY100635 (0,1mg/kg) e AM630 (0,1mg/kg) bloquearam o efeito do CBD ($F_{4,31}$=9.83 p<0,05; ANOVA de uma via seguida de teste *post-hoc* de *Dunnett*; Fig. 7).

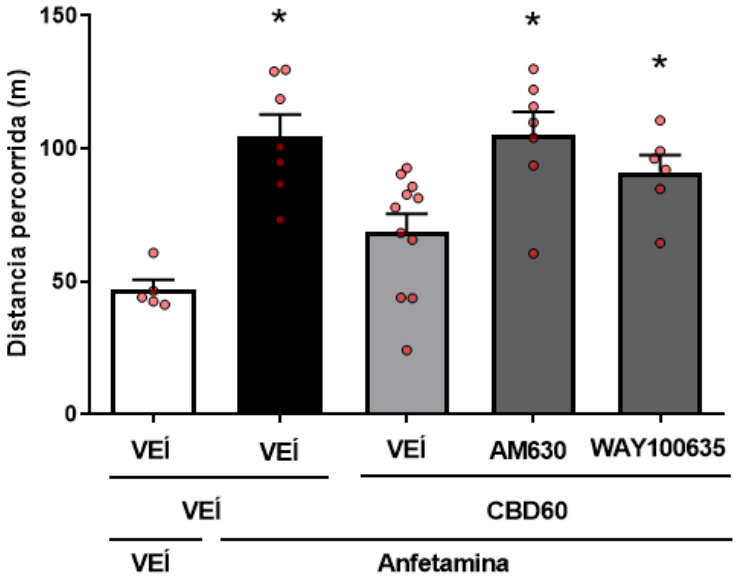


Figura 7. WAY100635 e AM630 bloquearam o efeito do CBD em atenuar a hiperlocomoção induzida por anfetamina. Efeito do WAY100635 e AM630 no efeito do CBD na hiperlocomoção induzida por anfetamina (n=5-11/grupo). Os dados são apresentados como a média e EPM. *p<0,05 vs. grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ; ANOVA de uma via seguida pelo teste *post-hoc* de *Dunnett*. VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

5.2 Experimento 2: Efeito do CBD sobre o prejuízo cognitivo induzido por MK-801. Possível envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e/ou CB_2

No teste de RO não houve preferência entre os objetos idênticos na sessão de aquisição em todos os grupos de tratamento analisados (p>0,05, teste *t* de *student*; Fig. 8), indicando que não houve preferência por um dos objetos ou pelo lado esquerdo ou direito na arena. Entretanto, na sessão de retenção do ROC, o tempo registrado de exploração do objeto novo1 em relação ao objeto familiar foi significativamente maior nos grupos VEÍ+VEÍ+CBD, MK-801+VEÍ+CBD e MK-801+AM630+CBD (p<0,05, teste *t de student*, Fig. 9A). Em relação ao índice de discriminação, o CBD (30 mg/kg) reverteu o prejuízo induzido por MK-801. Este efeito foi bloqueado pela administração de WAY100635, mas não por AM630 ($F_{5,51}$=7,19, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 9B).

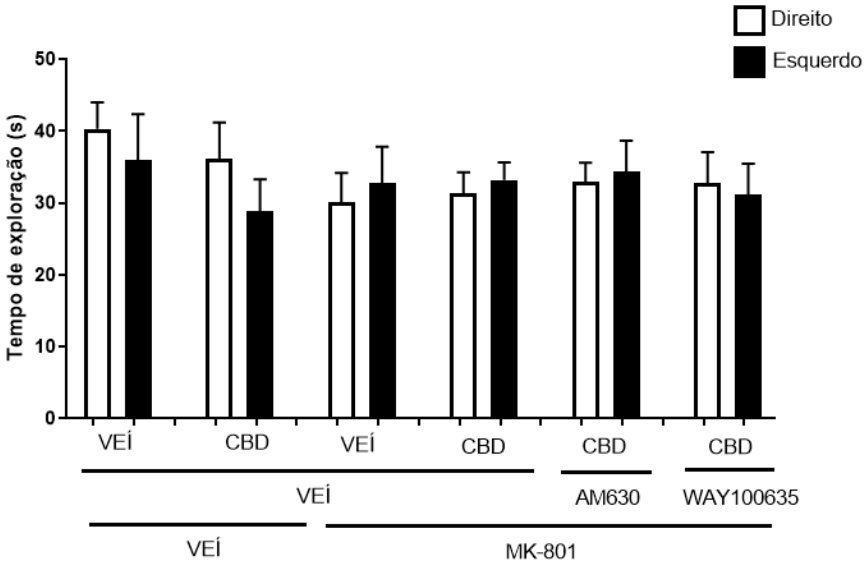


Figura 8. Não há preferência pelos objetos idênticos na sessão de aquisição do teste de RO em nenhum dos tratamentos. Efeito dos tratamentos sobre a exploração dos objetos idênticos na sessão de aquisição (n=8-10/grupo). Os dados estão expressos como média e EPM. p>0,05, Teste *t de student*. VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

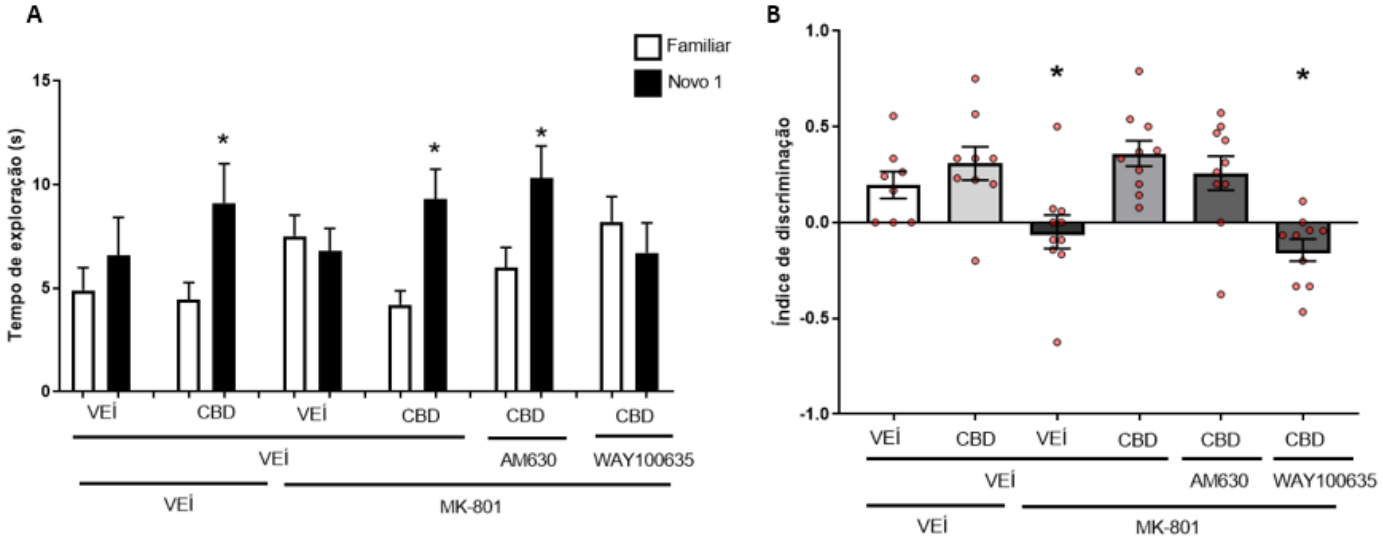


Figura 9. Tratamento repetido com WAY100635, mas não AM630, bloqueou o efeito do CBD de reverter o prejuízo induzido por MK-801 no teste de ROC. (A) Efeito dos tratamentos sobre a exploração do objeto novo1 e familiar na sessão de retenção do ROC. Os dados estão apresentados como média e o EPM. *p<0,05 indica a diferença na exploração do objeto novo1 comparado ao familiar para cada grupo, teste *t de student*. (B) Efeito dos tratamentos sobre o índice de discriminação no teste de ROC (n=8-10/grupo). Os dados estão apresentados como média e EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett*. VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

No teste de ROL, houve uma preferência pelo objeto novo2, evidenciada pelo teste *t de student,* nos grupos: VEÍ+VEÍ+VEÍ, VEÍ+VEÍ+CBD, MK-801+VEÍ+CBD e MK-801+AM630+CBD (p<0,05, teste *t de student*, Fig. 10A). O índice de discriminação mostrou que o CBD reverteu o prejuízo induzido pelo MK-801 e, assim como no ROC, este efeito também foi bloqueado por WAY100635, mas não por AM630 ($F_{5,51}$=6,52, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 10B).

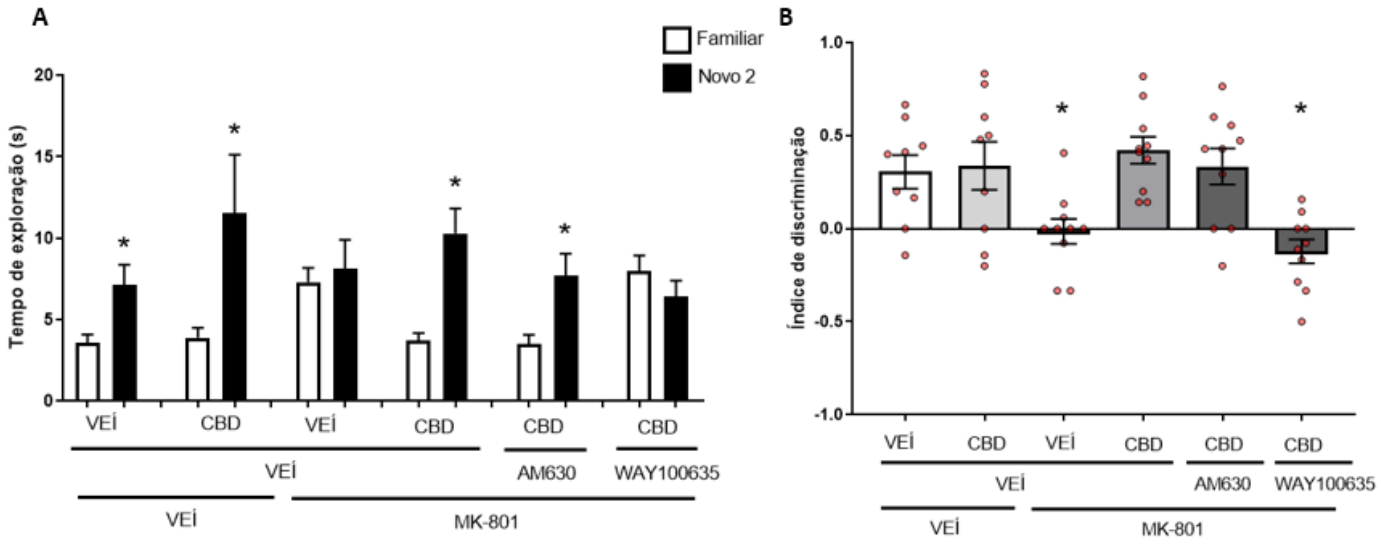


Figura 10. Tratamento repetido com WAY100635, mas não AM630, bloqueou o efeito do CBD em reverter o prejuízo induzido por MK-801 no teste de ROL. (A) Efeito dos tratamentos sobre a exploração do objeto novo2 e familiar na sessão de retenção do ROL. Os dados estão apresentados como média e o EPM. *p<0,05 indica a diferença na exploração do objeto novo2 comparado ao familiar para cada grupo, teste *t* de student. (B) Efeito dos tratamentos sobre o índice de discriminação no teste de ROL (n=8-10/grupo). Os dados estão apresentados como média e EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett*. VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

5.3 Experimento 3: Efeito do CBD sobre as alterações na expressão de PV+ e PNNs após o pré-tratamento com MK-801. Possível envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e CB_2 no mCPF PreL e InfraL.

PreL: Na região do mCPF PreL houve uma diminuição no número de células PV+ nos grupos de tratamento: VEÍ+VEÍ+CBD e MK-801+VEÍ+VEÍ. Além disso, não houve diferença nos grupos que receberam MK-801+VEÍ+CBD, MK-801+AM630+CBD e MK-801+WAY100635+CBD comparado ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, indicando que apesar de ter tido efeito *per se*, o CBD foi capaz de atenuar a diminuição no número de células PV+ no PreL induzida por MK-801 e este efeito não foi bloqueado por AM630 e WAY100635 ($F_{5,36}$=5,13, p<0,05,

ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 11).

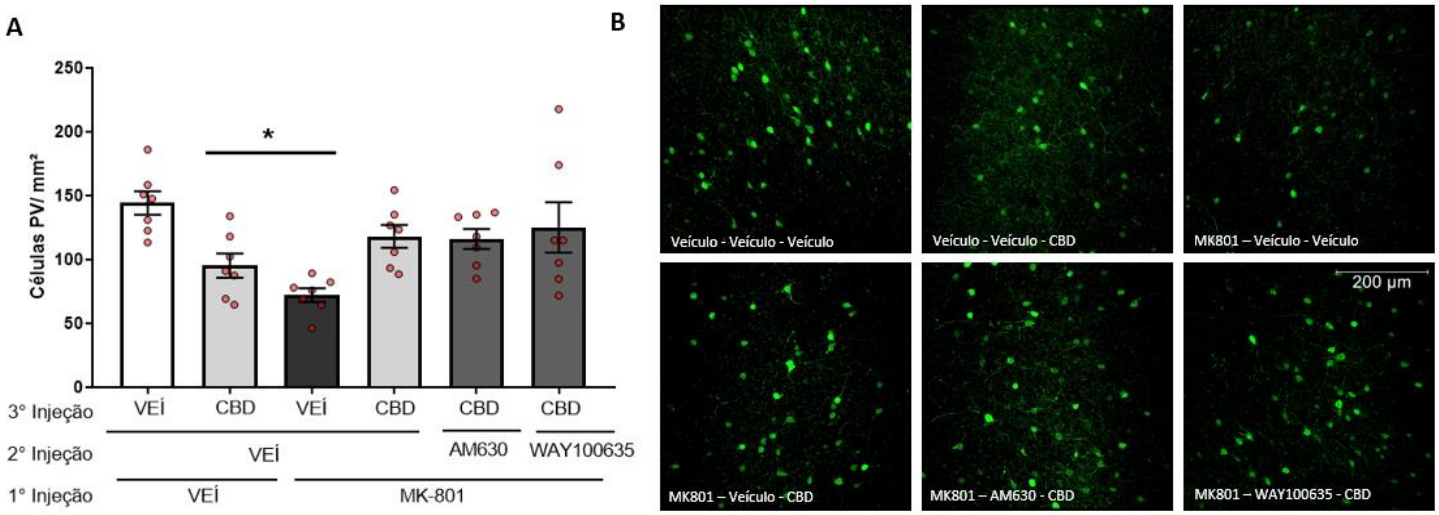


Figura 11. Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 não bloqueou o efeito do CBD em atenuar a diminuição da expressão de PV+ no mCPF PreL. (A) Efeito dos tratamentos sobre a expressão da proteína PV+ no mCPF PreL (n=7/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett*. (B) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para a parvalbumina no mCPF PreL de acordo com os grupos experimentais (20X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

Quando avaliados as PNNs, através da contagem do número de células circundadas pela marcação com WFA, não houve diferença estatística entre os grupos de tratamento ($F_{5,35}$= 0,51, p>0,05, ANOVA de uma via, Fig. 12A), assim como na intensidade total de fluorescência da marcação de WFA ($F_{5,36}$=0,72, p>0,05, ANOVA de uma via, Fig. 11B). Entretanto, houve diferença significativa no número de células PV+ co-localizadas com PNNs (PV+/WFA) ($F_{5,36}$=2,38, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 13A), assim como, na intensidade de fluorescência de WFA nas células PV+ ($F_{5,863}$=4,55, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 13B). O CBD atenuou a diminuição do número de células PV+/WFA e na intensidade de fluorescência de WFA nas células PV+ induzidas por MK-801. Este efeito não foi bloqueado por AM630 e

WAY100635.

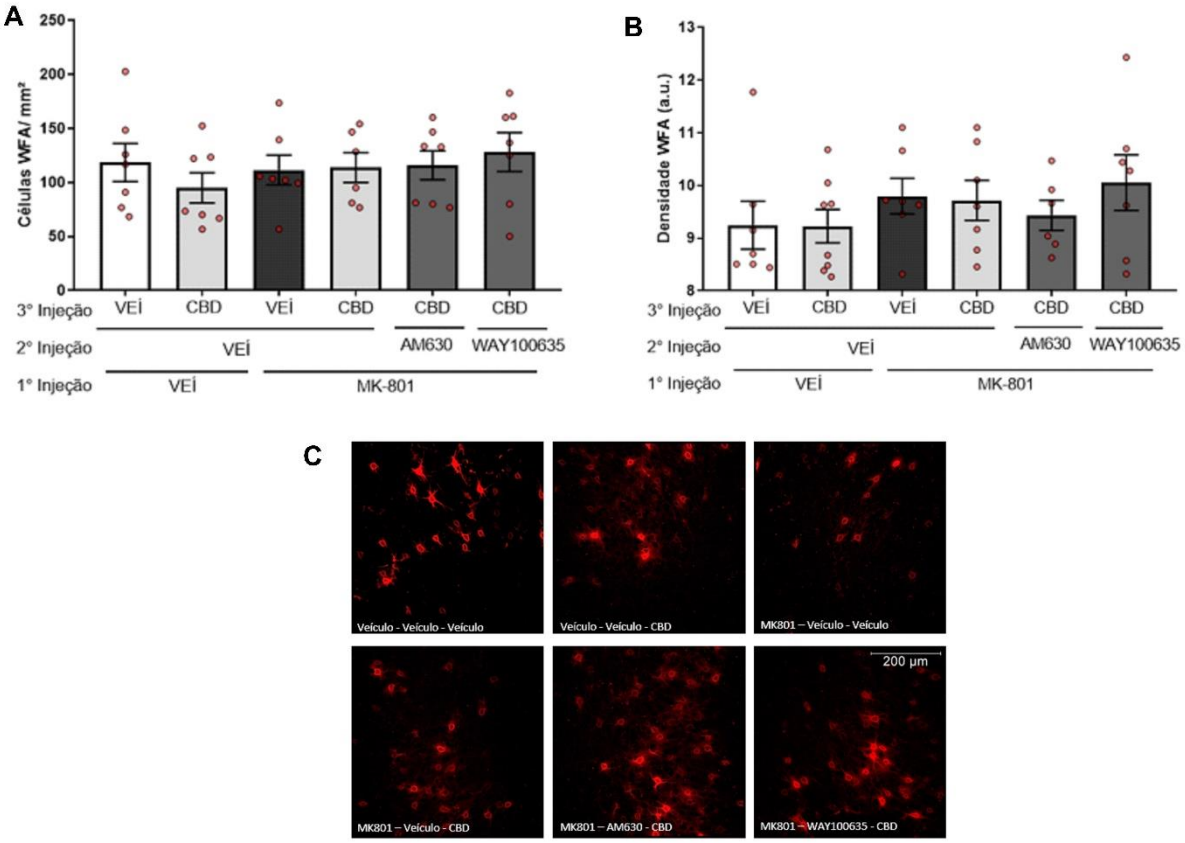


Figura 12. Não houve alteração no número de células circundadas pela marcação com WFA assim como na intensidade de fluorescência de WFA nos diferentes tratamentos experimentais. (A) Efeito dos tratamentos sobre o número de células circundadas por WFA no mCPF PreL (n=6-7/grupo). (B) Efeito dos tratamentos sobre a intensidade de fluorescência de WFA no mCPF PreL (n=6-7/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. p>0,05, ANOVA de uma via. (C) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para a WFA no mCPF PreL de acordo com os grupos experimentais (20X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

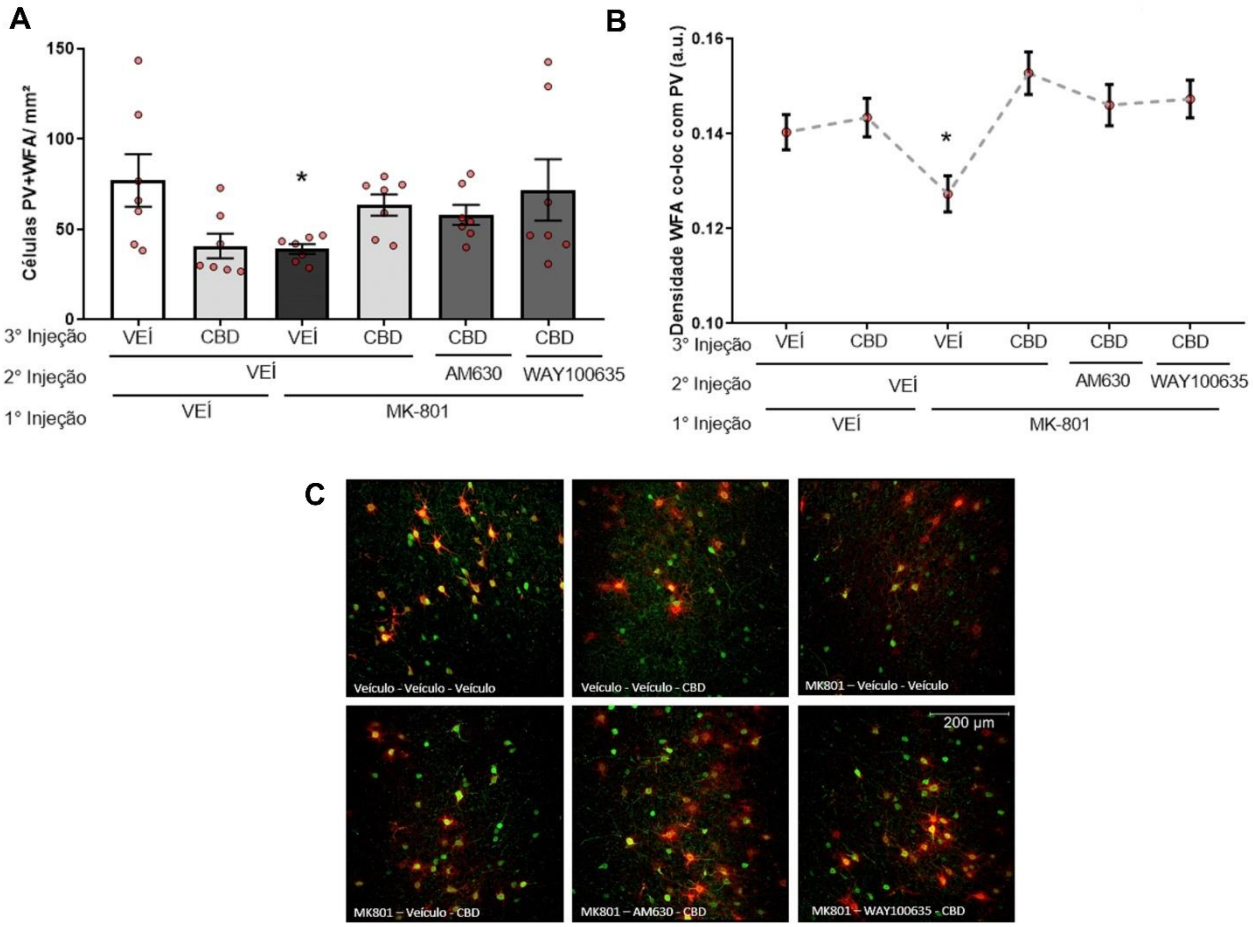


Figura 13. Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 não bloqueou o efeito do CBD de atenuar a diminuição da quantidade de células PV+/WFA e na intensidade de fluorescência de WFA nas células PV+ no mCPF PreL. (A) Efeito dos tratamentos sobre o número de células PV+ co-localizadas com WFA no mCPF PreL (n=7/grupo). (B) Efeito dos tratamentos sobre a intensidade de fluorescência de WFA co-localizado com células PV+ no mCPF PreL (n = 133-180/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett*. (C) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para células PV+ (em verde) e WFA (em vermelho) no mCPF PreL de acordo com os grupos experimentais (20X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

InfraL: Na região do mCPF InfraL não foi observada nenhuma alteração no número de células PV+ ($F_{5,36}$=0,23, p>0,05, ANOVA de uma via; Fig. 14), no número de células circundadas pela marcação com WFA ($F_{5,27}$=1,13, p>0,05, ANOVA de uma via, Fig. 15A) e na intensidade total de fluorescência da

marcação de WFA ($F_{5,36}$=1,40, p>0,05, ANOVA de uma via, Fig. 15B).

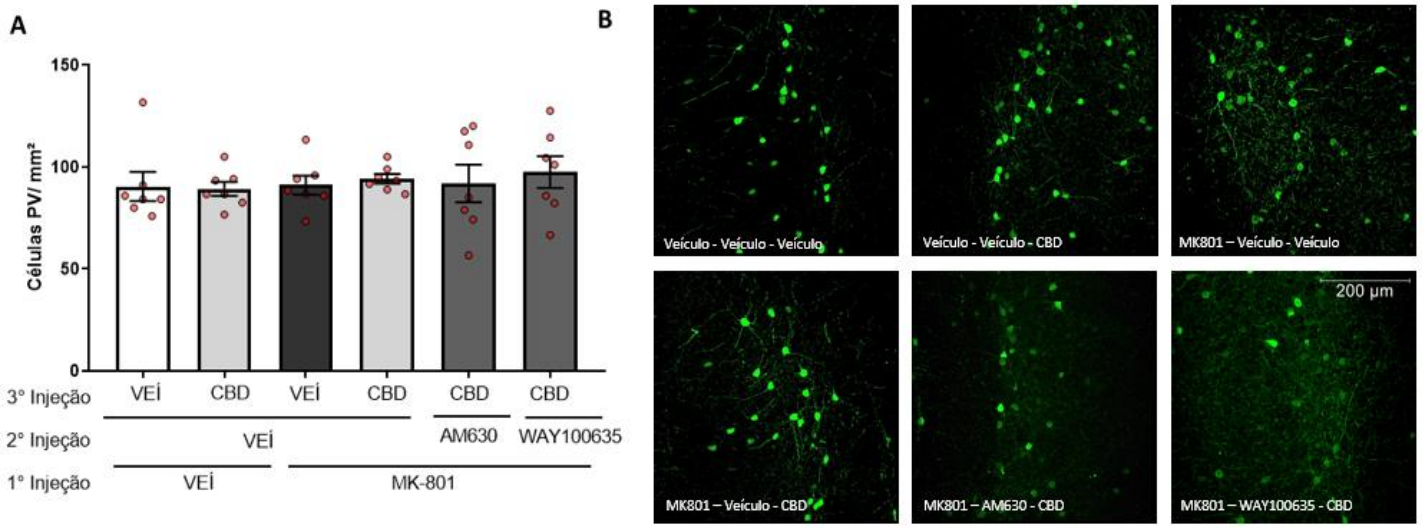


Figura 14. Não houve alteração no número de células PV+ no CPF InfraL. (A) Efeito dos tratamentos sobre o número de células PV+ no mCPF InfraL (n=7/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. p>0,05, ANOVA de uma via. (B) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para PV+ no mCPF InfraL de acordo com os grupos experimentais (20X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

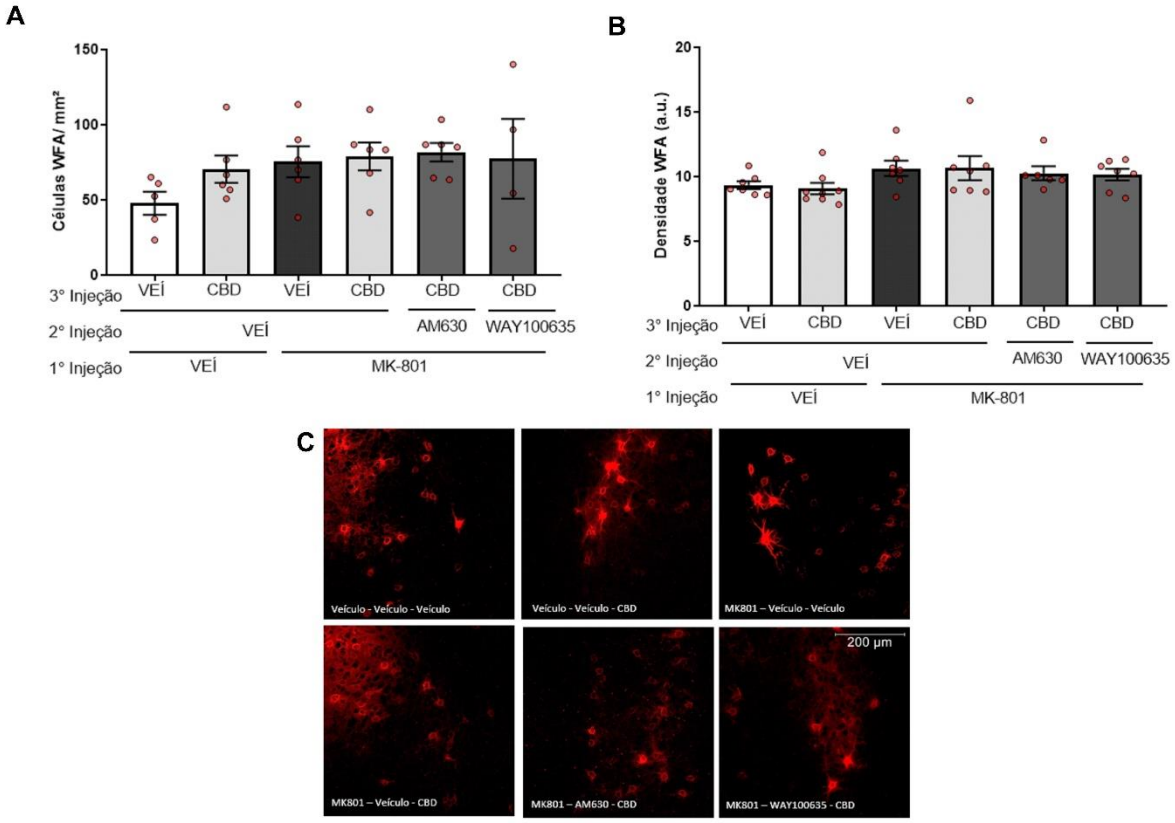


Figura 15. Não houve alteração no número de células circundadas pela marcação com WFA assim como na intensidade de fluorescência de WFA de acordo com os tratamentos experimentais. (A) Efeito dos tratamentos sobre o número de células circundadas por WFA no mCPF InfraL (n=4-6/grupo).

(B) Efeito dos tratamentos sobre a intensidade de fluorescência de WFA no mCPF InfraL (n=6-7/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. p>0,05, ANOVA de uma via. (C) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para a WFA no mCPF InfraL de acordo com os grupos experimentais (20X; barra de escala = 200 µm). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

Em relação ao número de células PV+/WFA, também não houve diferença estatística entre os grupos experimentais ($F_{5,36}$=0,61, p>0,05, ANOVA de uma via, Fig. 16A), assim como na intensidade de fluorescência de WFA em células co-localizadas com PV+ ($F_{5,575}$=0,46, p>0,05, ANOVA de uma via, Fig. 16B).

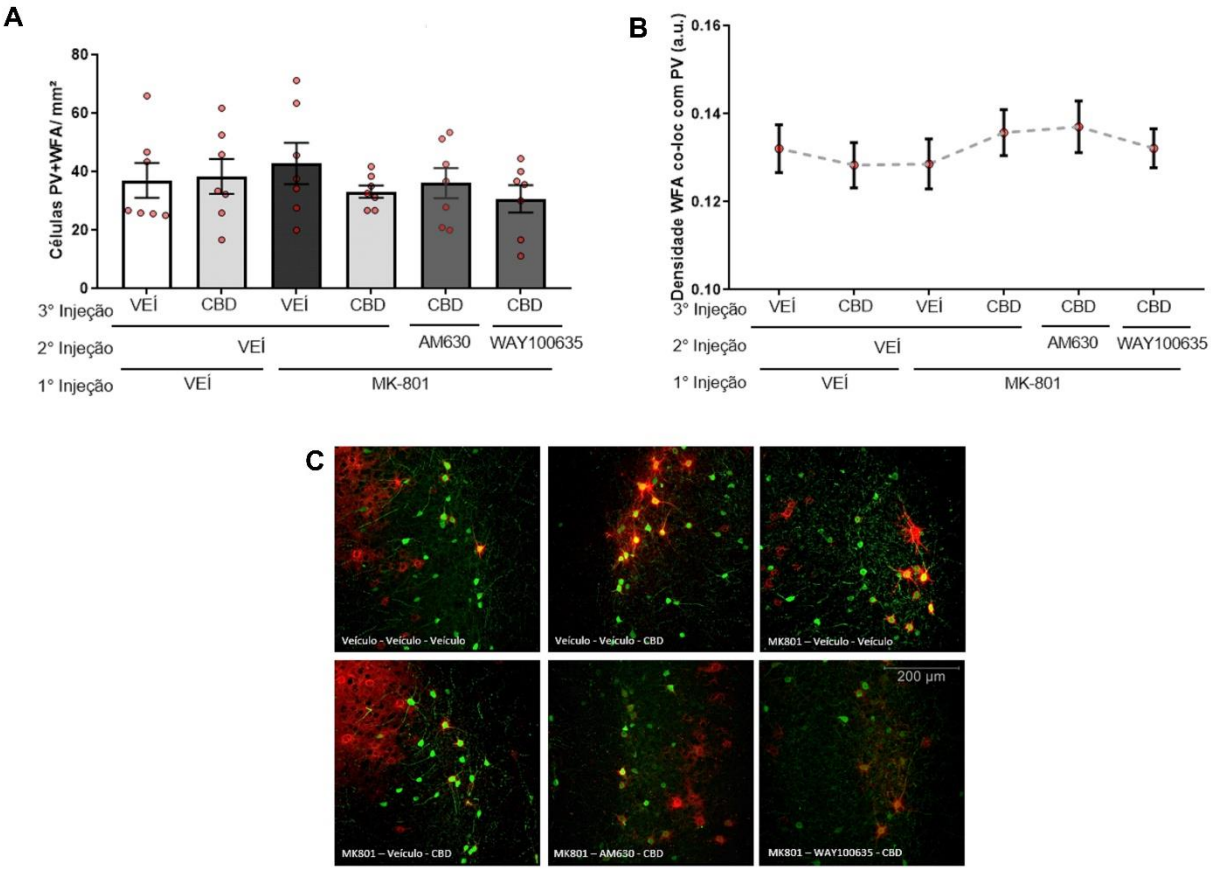


Figura 16. Não houve alteração no número de células PV+/WFA e na intensidade de fluorescência de WFA nas células PV+ no mCPF InfraL. (A) Efeito dos tratamentos sobre o número de células PV+ co-localizadas com WFA no mCPF InfraL (n=7/grupo). (B) Efeito dos tratamentos sobre a intensidade de fluorescência de WFA co-localizado com células PV+ no mCPF InfraL (n=74-111/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. p>0,05, ANOVA de uma via. (C) Fotos representativas indicando a imunofluorescência

reativa para células PV+ (em verde) e WFA (em vermelho) no mCPF InfraL de acordo com os grupos experimentais (20X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

5.4 Experimento 3: Efeito do CBD sobre as alterações na expressão de PV+ e WFA após o pré-tratamento com MK-801. Possível envolvimento dos receptores 5-HT_{1A} e CB_2 no hipocampo.

vCA1: Na região do vCA1 do hipocampo foi observado o efeito do CBD em atenuar a diminuição do número de células PV+ induzida por MK-801. Curiosamente, este efeito foi bloqueado pelos antagonistas AM630 e WAY100635 ($F_{5,38}$=6,06, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 17).

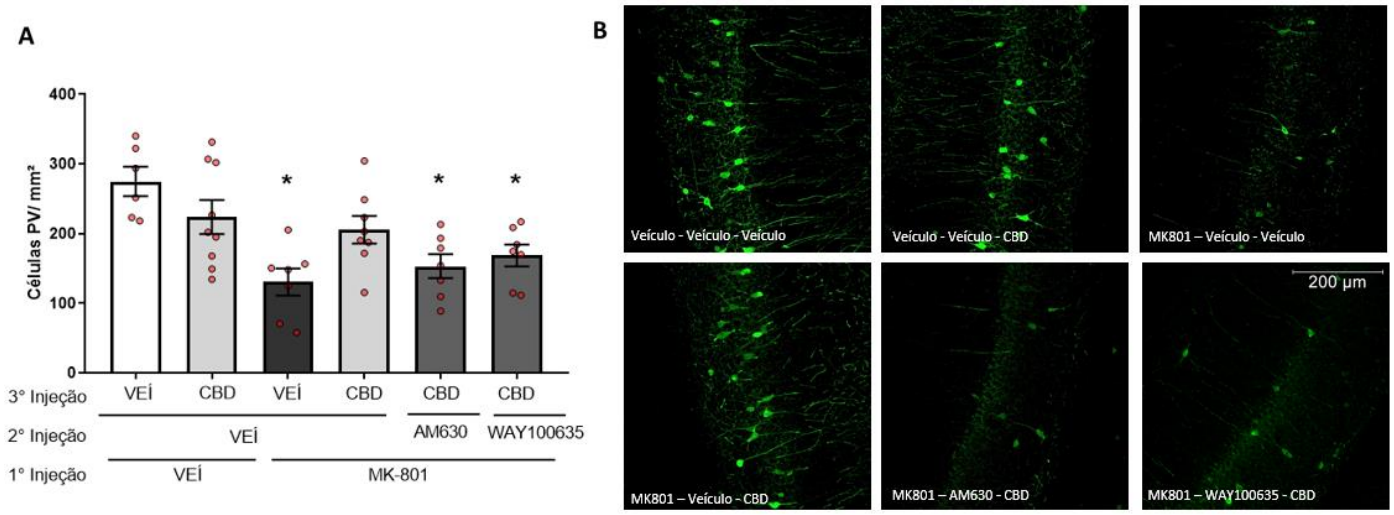


Figura 17. Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD de atenuar a diminuição do número de células PV+ no vCA1. (A) Efeito dos tratamentos sobre o número de células PV+ no vCA1 (n=6-9/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett*. (B) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para a PV+ no vCA1 de acordo com os grupos experimentais (20X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

Quando contabilizadas o número de células circundadas pela marcação com WFA, não houve diferença estatística entre os tratamentos ($F_{5,38}$= 1,22, p>0,05, ANOVA de uma via, Fig. 18A), assim como na intensidade total de

fluorescência da marcação de WFA ($F_{5,39}$=0,72, p>0,05, ANOVA de uma via, Fig. 18B). Entretanto, houve diferença significativa no número de células PV+/WFA ($F_{5,37}$=4,72, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 19A), assim como na intensidade de fluorescência de WFA nas células PV+ ($F_{5,835}$= 3,11, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 19B). O CBD atenuou a diminuição do número de células PV+/WFA e a intensidade de WFA nas células PV+ induzidas pelo MK-801. Este efeito foi bloqueado pelo AM630 e o WAY100635.

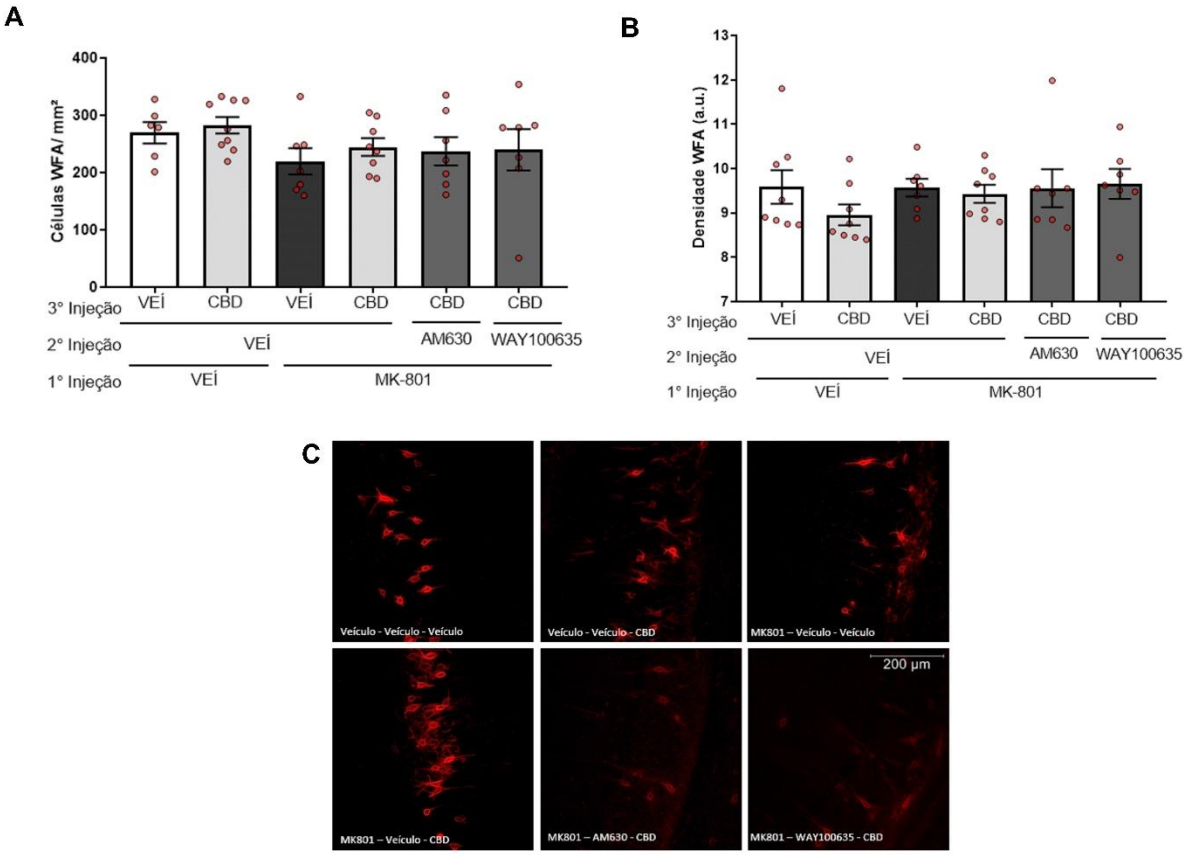


Figura 18. Não houve alteração no número de células circundadas pela marcação com WFA e na intensidade de fluorescência de WFA entre os tratamentos experimentais. (A) Efeito dos tratamentos sobre o número de células circundadas por WFA no vCA1 (n=6-9/grupo). (B) Efeito dos tratamentos sobre a intensidade de fluorescência de WFA no vCA1 (n=7-8/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. p>0,05, ANOVA de uma via. (C) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para a WFA no vCA1 de acordo com os grupos experimentais (20X). VEÍ, veículo; CBD,

canabidiol.

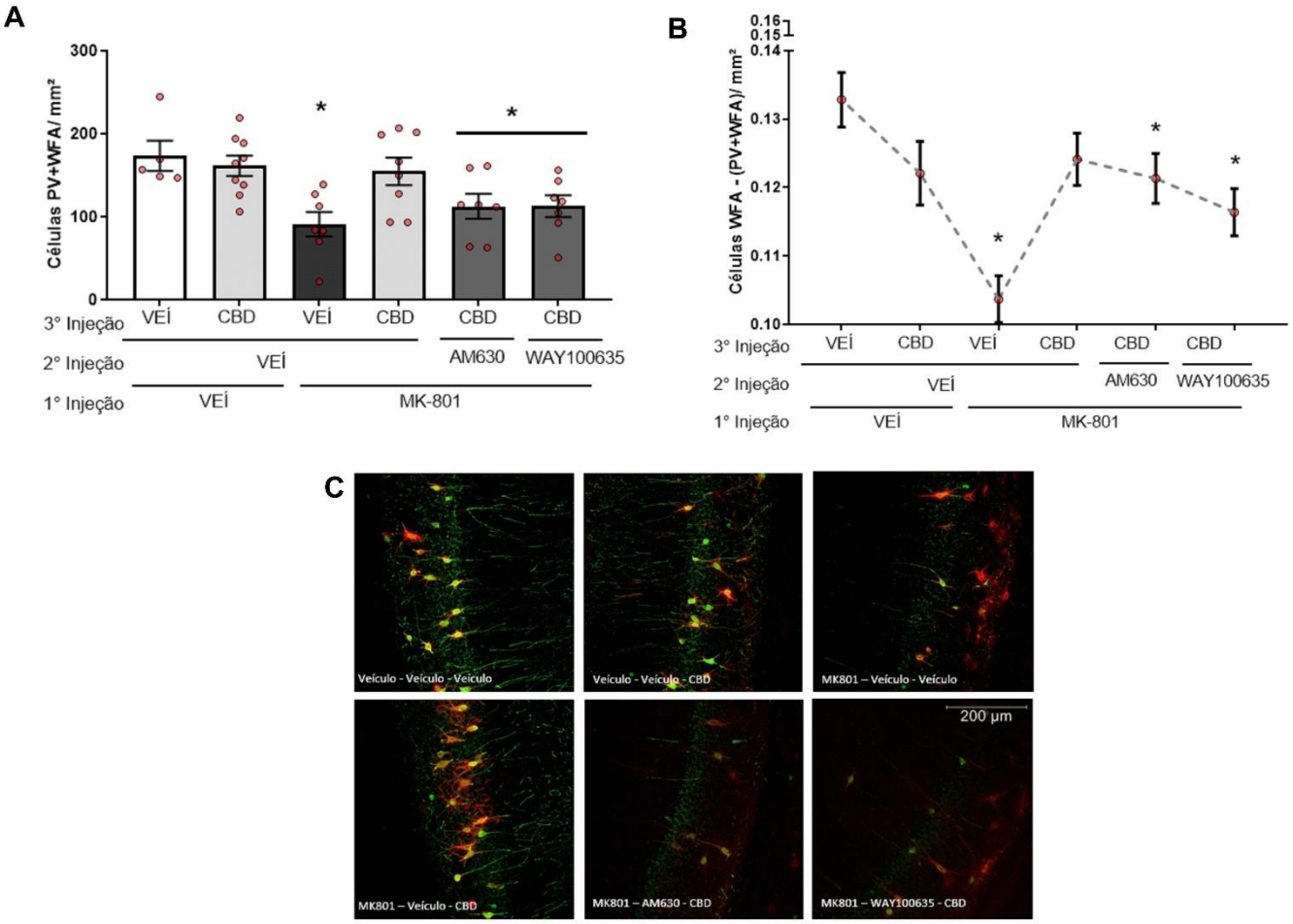


Figura 19. Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD de atenuar a diminuição da quantidade de células PV+/WFA e a intensidade de fluorescência de WFA nas células PV+ no vCA1. (A) Efeito dos tratamentos sobre o número de células PV+ co-localizadas com WFA no vCA1 (n=5-9/grupo). (B) Efeito dos tratamentos sobre a intensidade de fluorescência de WFA co-localizado com células PV+ no vCA1 (n=90-166/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett*. (C) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para células PV+ (em verde) e WFA (em vermelho) no vCA1 de acordo com os grupos experimentais (20X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

vSub: Na região do vSub do hipocampo, assim como na região vCA1, o efeito do CBD de atenuar a diminuição do número de células PV+ induzida por MK-801 foi bloqueado pelos antagonistas AM630 e WAY100635 ($F_{5,38}$=5,77,

p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 20).

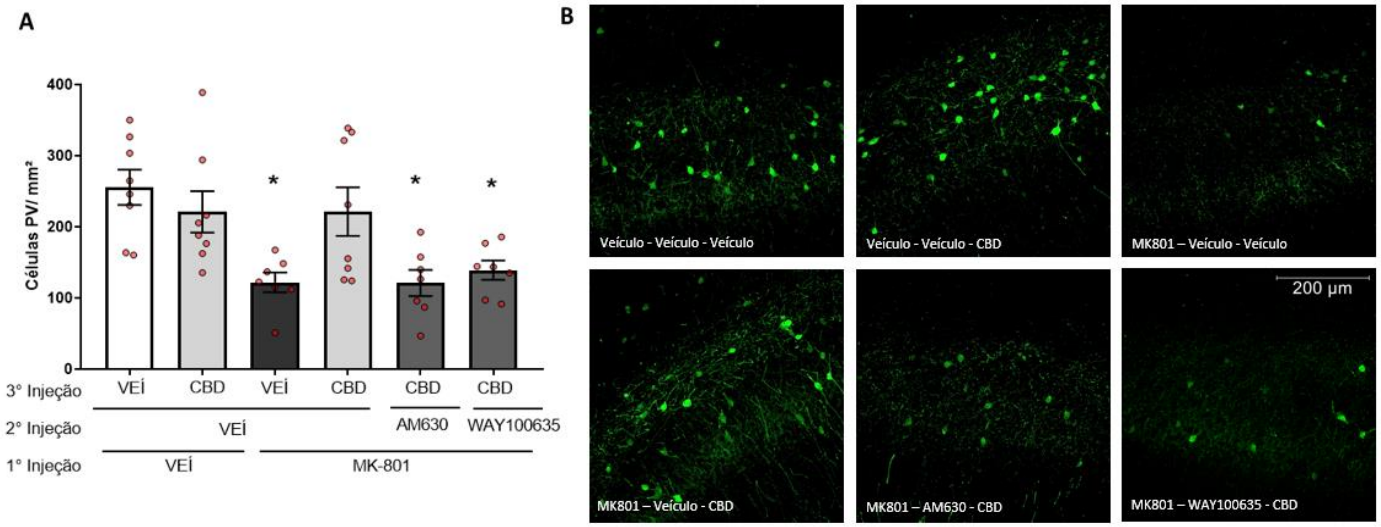


Figura 20. Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD de atenuar a diminuição do número de células PV+ no vSub. (A) Efeito dos tratamentos sobre o número de células PV+ no vSub (n=7-8/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett*. (B) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para PV+ no vSub de acordo com os grupos experimentais (20X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

Foi observado uma diminuição no número de células circundadas pela marcação com WFA no grupo MK-801-VEÍ-VEÍ comparado ao grupo VEÍ-VEÍ-VEÍ ($F_{5,39}$=2,95, p>0,05, ANOVA de uma via, Fig. 21A). Entretanto, não houve diferença na intensidade total de fluorescência da marcação de WFA entre os tratamentos ($F_{5,39}$=0,33,p>0,05, ANOVA de uma via, Fig. 21B). Além disso, houve diferença significante no número de células PV+/WFA ($F_{5,39}$=6,47, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 22A), assim como na intensidade de fluorescência de WFA nas células PV+ ($F_{5,986}$=16,61, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 22B). O CBD atenuou a diminuição do número de células PV+/WFA e da intensidade de WFA/PV+ induzida por MK-801. Este efeito foi bloqueado pelo AM630 ou WAY100635.

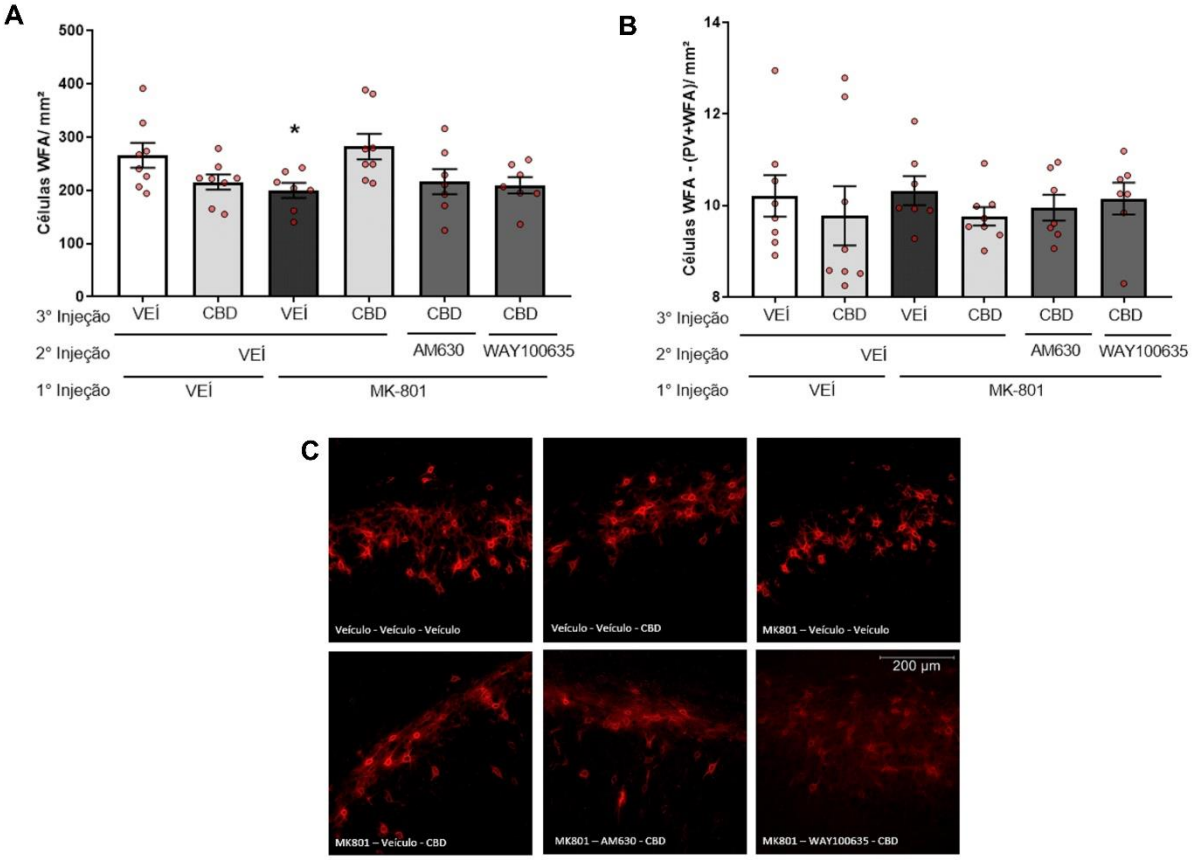


Figura 21. O tratamento com MK-801 diminuiu o número de células circundadas pela marcação com WFA, mas não a intensidade de fluorescência de WFA no vSub. (A) Efeito dos tratamentos sobre o número de células circundadas por WFA no vSub (n=7-8/grupo). (B) Efeito dos tratamentos sobre a intensidade de fluorescência de WFA no vSub (n=7-8/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett.* (C) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para a WFA no vSub de acordo com os grupos experimentais (20X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

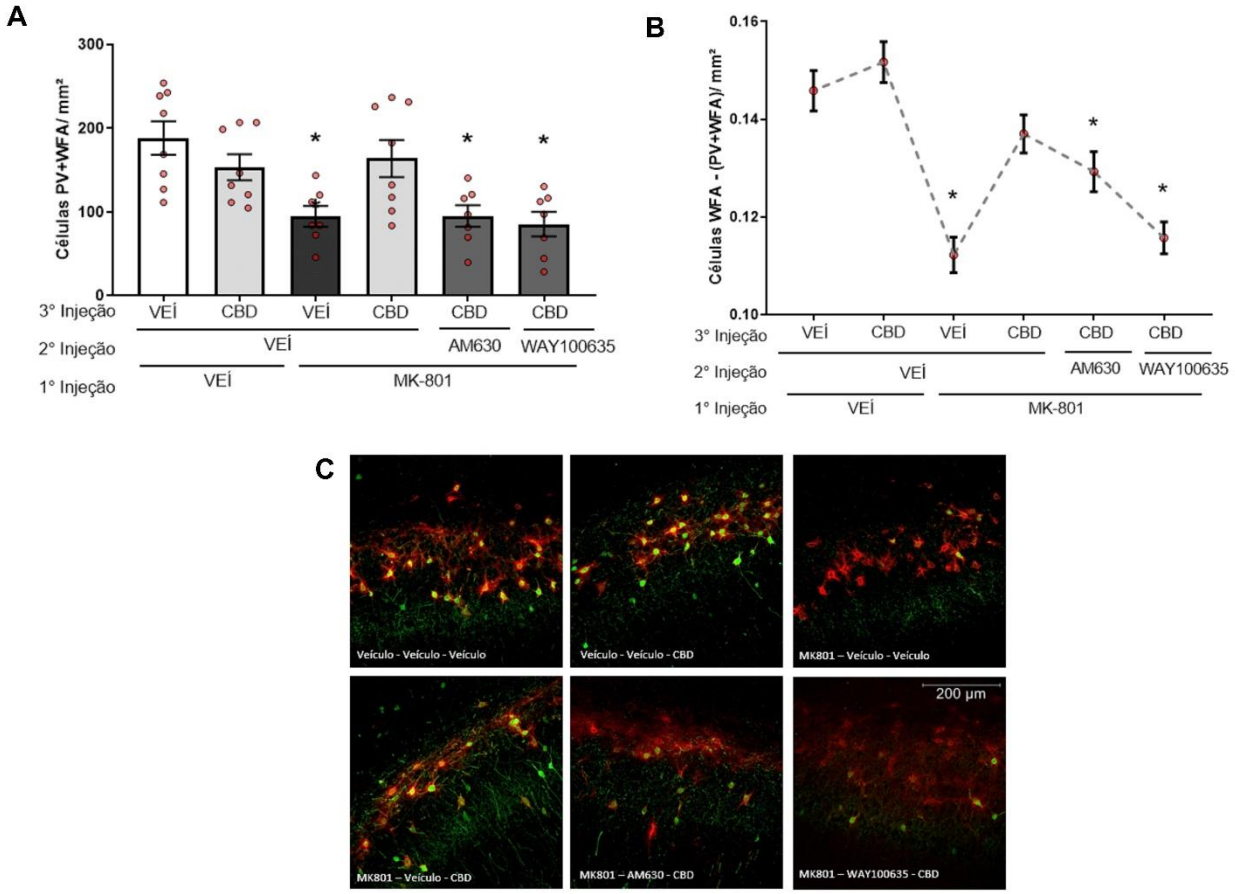


Figura 22. Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD de atenuar a diminuição da quantidade de células PV+/WFA e a intensidade de fluorescência de WFA nas células PV+ no vSub. (A) Efeito dos tratamentos sobre o número de células PV+ co-localizadas com WFA no vSub (n=7-8/grupo). (B) Efeito dos tratamentos sobre a intensidade de fluorescência de WFA co-localizadas com células PV+ no vSub (n=145-199/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett*. (C) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para células PV+ (em verde) e WFA (em vermelho) no vSub de acordo com os grupos experimentais (20X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

5.5 Experimento 5: Efeito a longo prazo do CBD e clozapina sobre a diminuição de interneurônios PV+ induzido pelo MK-801 no mCPF

O efeito do CBD de atenuar a diminuição do número de células PV+ no mCPF PreL foi duradoura, visto que após 14 dias do final do tratamento com

CBD ou clozapina, o CBD, mas não a clozapina, foi capaz de atenuar o efeito do MK-801 sobre a diminuição no número de células PV+ no mCPF PreL ($F_{3,15}$=14,22, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 23). Além disso, foi observado uma diminuição no número de células PV+ no mCPF InfraL 14 dias após o final do tratamento em animais tratados com MK-801+clozapina, mas não em animais tratados com MK-801+VEÍ ou MK-801+ ($F_{3,15}$=7,85, p<0,05, ANOVA de uma via, Fig. 24).

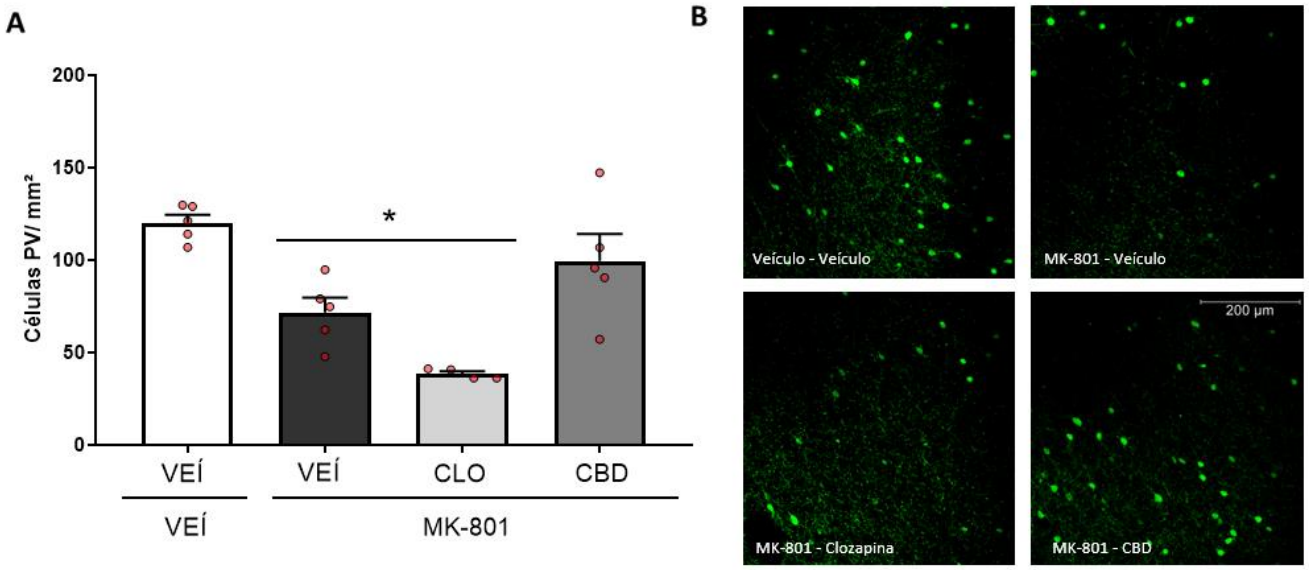


Figura 23. Tratamento repetido com CBD, mas não com clozapina, atenuou a diminuição do número de células PV+ induzida por MK-801 no CPF PreL 14 dias após o final do tratamento. (A) Efeito dos tratamentos sobre o número de células PV+ no CPF PreL (n=4-5/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett*. (B) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para PV+ no PreL de acordo com os grupos experimentais (20X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

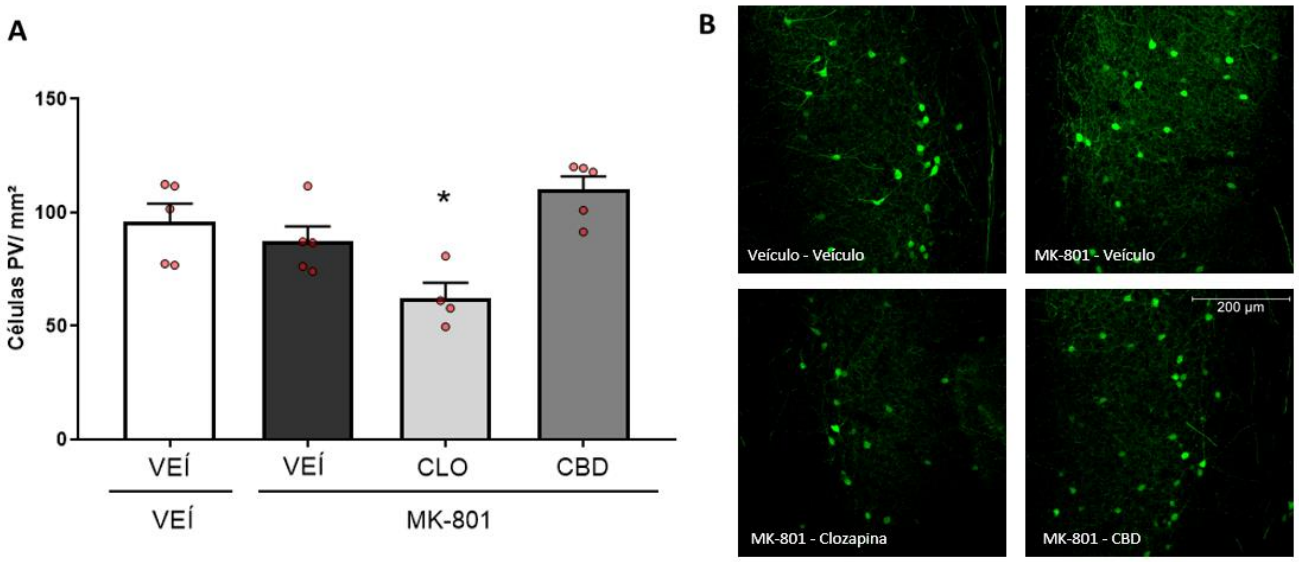


Figura 24. Em animais tratados com MK-801, a clozapina induziu uma diminuição no número de células PV+ no CPF InfraL 14 dias após o final do tratamento. (A) Efeito dos tratamentos sobre o número de células PV+ no mCPF InfraL (n=4-5/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. $p<0,05$, ANOVA de uma via seguida por Dunnett. (B) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para PV+ no mCPF InfraL de acordo com os grupos experimentais (20X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

5.6 **Experimento 6: Efeito do CBD sobre a ativação microglial após o pré-tratamento com MK-801. Possível envolvimento dos receptores 5-HT$_{1A}$ e CB$_2$ no CPF.**

Em todas as áreas analisadas no CPF não houve variação no número total de células marcadas por Iba-1 de acordo com o tratamento (PreL: $F_{5,39}=0,69$, $p>0,05$, ANOVA de uma via, Fig. 25A; InfraL: $F_{5,39}=0,33$, $p>0,05$, ANOVA de uma via, Fig. 25B).

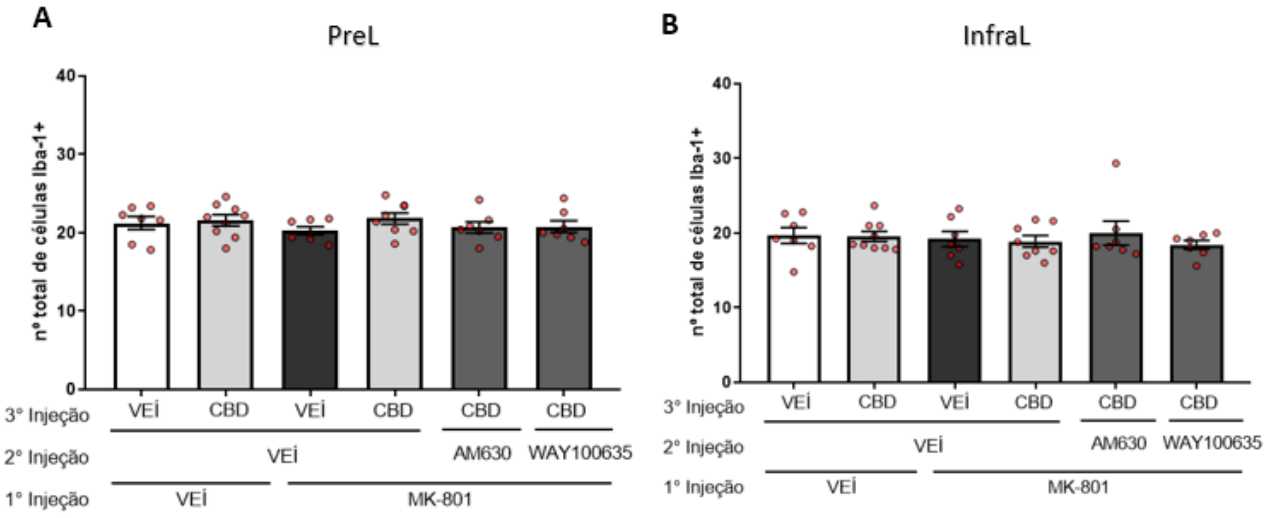


Figura 25. Não houve variação no número total de células Iba-1 no CPF. (A) Quantificação do número total de células Iba-1 no CPF PreL (n=6-9/grupo). (B) Quantificação do número total de células Iba-1 no CPF InfraL (n=7-9/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. p>0,05, ANOVA de uma via. (B) VEÍ, veículo; CBD, canabidiol; PreL, Pré Límbico; InfraL, Infra Límbico.

PreL: A avaliação dos diferentes tipos morfológicos das células Iba-1 positivas indicou que o tratamento dos grupos MK-801+VEÍ+VEÍ, MK-801+AM630+CBD e MK-801+WAY100635+CBD diminuiu a percentagem de células microgliais do tipo morfológico II (em repouso) e aumentou a microglia classificada como tipos III e IV (estado reativo) comparado ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ (Tipo I - $F_{5,39}$=1,91, p>0,05; Tipo II - $F_{5,39}$=4,71, p<0,05; Tipo III - $F_{5,39}$=5,40, p<0,05; Tipo IV - $F_{5,39}$=4,23, p<0,05; Tipo V - $F_{5,39}$=1,16, p>0,05; ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 26A).

Quando compilados os dados dos tipos celulares classificando a % de micróglia reativa de acordo com os tratamentos, foi observado que houve um aumento na % de micróglia reativa nos grupos MK-801+VEÍ+VEÍ, MK-801+AM630+CBD e MK-801+WAY100635+CBD comparado ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ no mCPF PreL, indicando que o tratamento com AM630 e WAY100635 bloqueou o efeito do CBD de atenuar a ativação microglial induzida por MK-801 ($F_{5,39}$=7,25, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig.

26B).

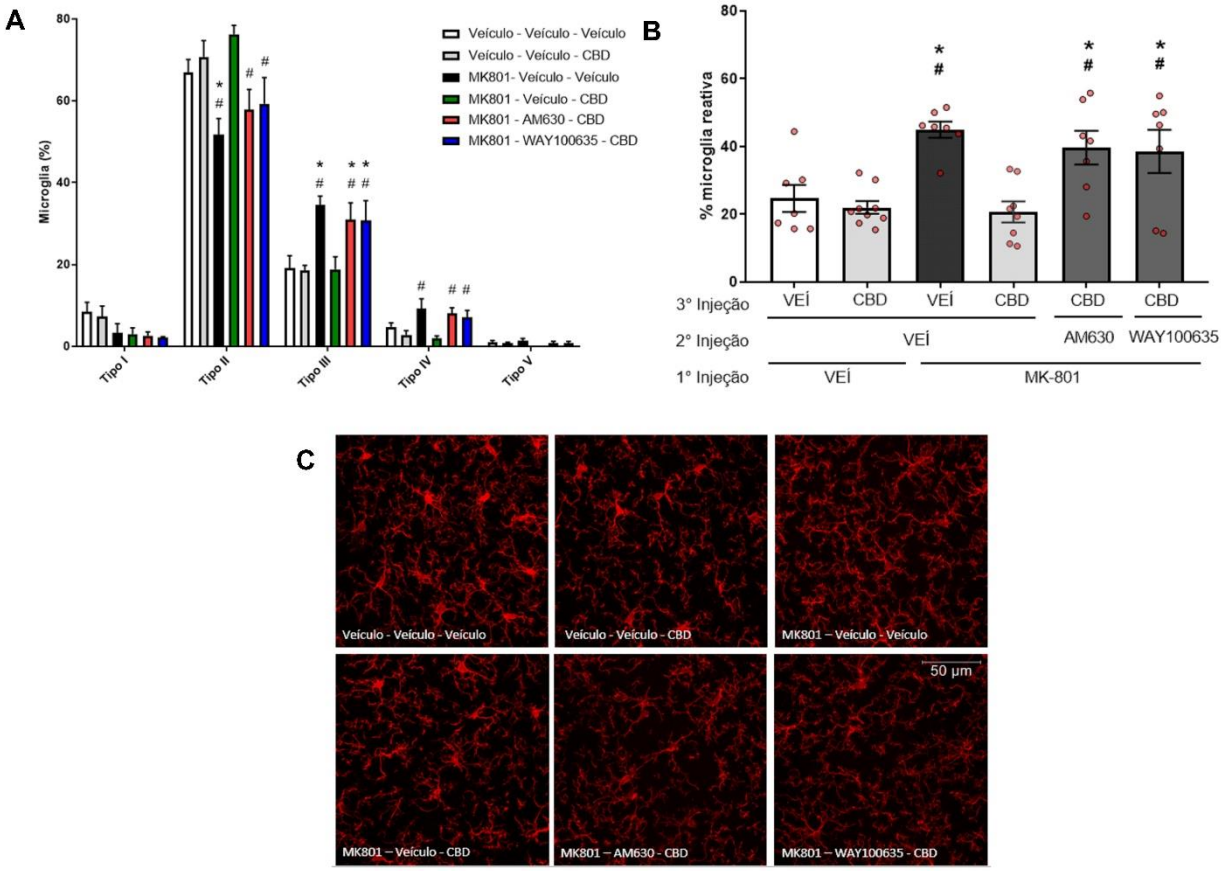


Figura 26. Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD de atenuar a ativação microglial no mCPF PreL. (A) Quantificação dos morfotipos de micróglia para cada grupo experimental no mCPF PreL (n=7-9/grupo). (B) Percentagem de micróglia reativa de acordo com os grupos experimentais (n=7-9/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett*. (C) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para Iba-1 mCPF PreL de acordo com os grupos experimentais (40X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

InfraL: A avaliação dos diferentes tipos morfológicos das células Iba-1 positivas indicou que o tratamento dos grupos MK-801+VEÍ+VEÍ, MK-801+AM630+CBD e MK-801+WAY100635+CBD diminuiu a percentagem de células microgliais do tipo morfológico II (em repouso) e aumentou a microglia classificada como tipo III. Houve uma tendência para o aumento no grupo MK-801+VEÍ+VEÍ do tipo IV comparado ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ (Tipo I - $F_{5,39}$=1,83,

p>0,05; Tipo II - $F_{5,39}$=10,26, p<0,05; Tipo III - $F_{5,39}$=14,36, p<0,05; Tipo IV - $F_{5,39}$=2,33, p<0,05; Tipo V - $F_{5,39}$=1,42, p>0,05; ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 27A).

Em relação à percentagem de micróglia reativa de acordo com os tratamentos, houve um aumento na percentagem de micróglia reativa nos grupos MK-801+VEÍ+VEÍ, MK-801+AM630+CBD e MK-801+WAY100635+CBD comparado ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ no CPF InfraL, indicando que, assim como observado no PreL, o tratamento com AM630 ou WAY100635 bloqueou o efeito do CBD de atenuar a ativação microglial induzida pelo MK-801 ($F_{5,39}$=12,51, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 27B).

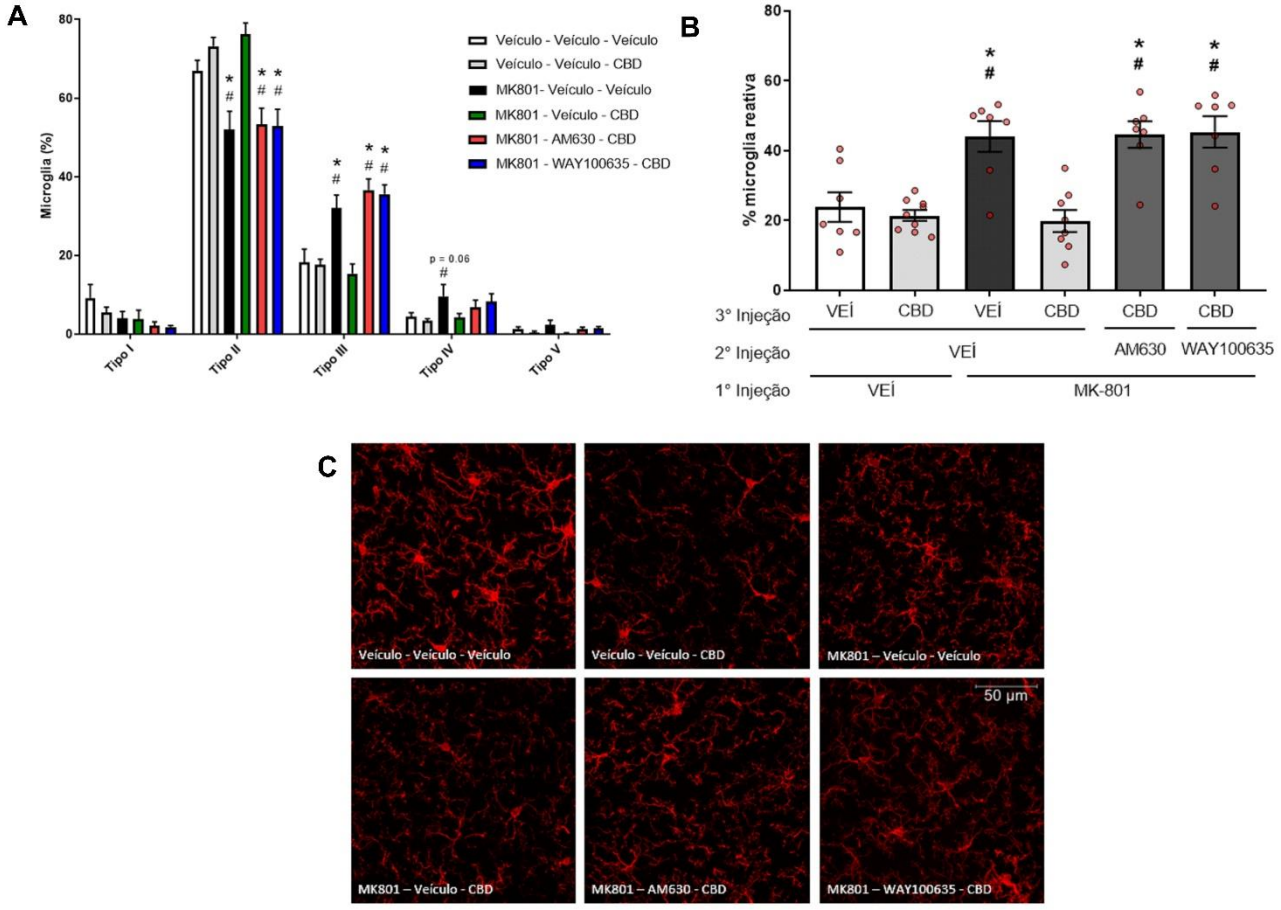


Figura 27. Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD de atenuar a ativação microglial no mCPF InfraL. (A) Quantificação dos morfotipos de micróglia para cada grupo experimental no mCPF InfraL (n=7-9/grupo). (B) Percentagem de micróglia reativa de acordo com os grupos experimentais (n=7-9/grupo). Os dados foram apresentados como a

média e o EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett*. (C) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para Iba-1 mCPF InfraL de acordo com os grupos experimentais (40X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

5.7 **Experimento 7: Efeito do CBD sobre a ativação microglial após o pré-tratamento com MK-801. Possível envolvimento dos receptores 5-HT$_{1A}$ e CB$_2$ no hipocampo.**

Em todas as áreas analisadas no hipocampo não houve variação no número total de células marcadas por Iba-1 entre os tratamentos (vCA1: $F_{5,39}$=0,37, p>0,05, ANOVA de uma via, Fig. 28A; vSub: $F_{5,39}$=0,31, p>0,05, ANOVA de uma via, Fig. 28B).

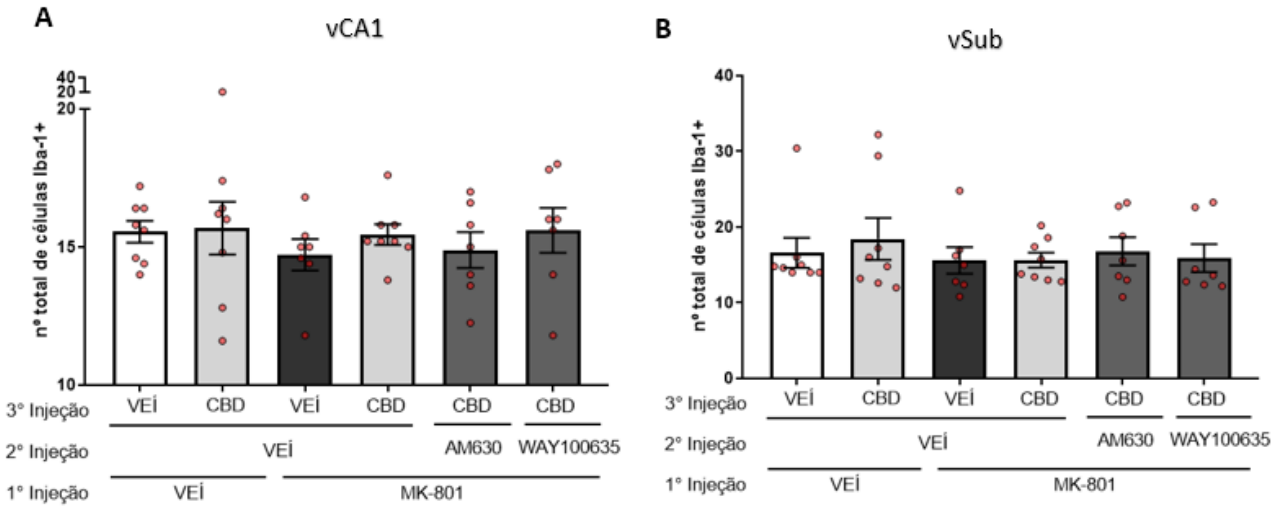


Figura 28. Não houve variação no número total de células Iba-1 no hipocampo. (A) Quantificação do número total de células Iba-1 no vCA1 (n=7-8/grupo). (B) Quantificação do número total de células Iba-1 no CPF vSub (n=7-8/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. p>0,05, ANOVA de uma via. (B) VEÍ, veículo; CBD, canabidiol; vCA1, Área CA1 ventral; vSub, Subículo ventral.

vCA1: A avaliação dos diferentes tipos morfológicos das células Iba-1 positivas indicou que o tratamento dos grupos MK-801+VEÍ+VEÍ, MK-801+AM630+CBD e MK-801+WAY100635+CBD diminuiu a percentagem de

células microgliais do tipo morfológico II e aumentou a microglia classificada como tipo III comparado ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ. Somente o grupo MK-801+VEÍ+VEÍ apresentou um aumento significativo em células do tipo IV comparado ao VEÍ+VEÍ+VEÍ (Tipo I - $F_{5,39}$=1,56, p>0,05; Tipo II - $F_{5,39}$=17,90, p<0,05; Tipo III - $F_{5,39}$=18,80, p<0,05; Tipo IV - $F_{5,39}$=2,43, p<0,05; Tipo V - $F_{5,39}$=1,10, p>0,05; ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 29A).

Em relação à percentagem de micróglia reativa de acordo com os tratamentos, houve um aumento na percentagem de micróglia reativa nos grupos MK-801+VEÍ+VEÍ, MK-801+AM630+CBD e MK-801+WAY100635+CBD comparado ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ no vCA1, indicando que, assim como em ambas regiões analisadas no CPF, o tratamento com AM630 ou WAY100635 bloqueou o efeito do CBD de atenuar a ativação microglial induzida pelo MK-801 ($F_{5,39}$=16,60, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 29B).

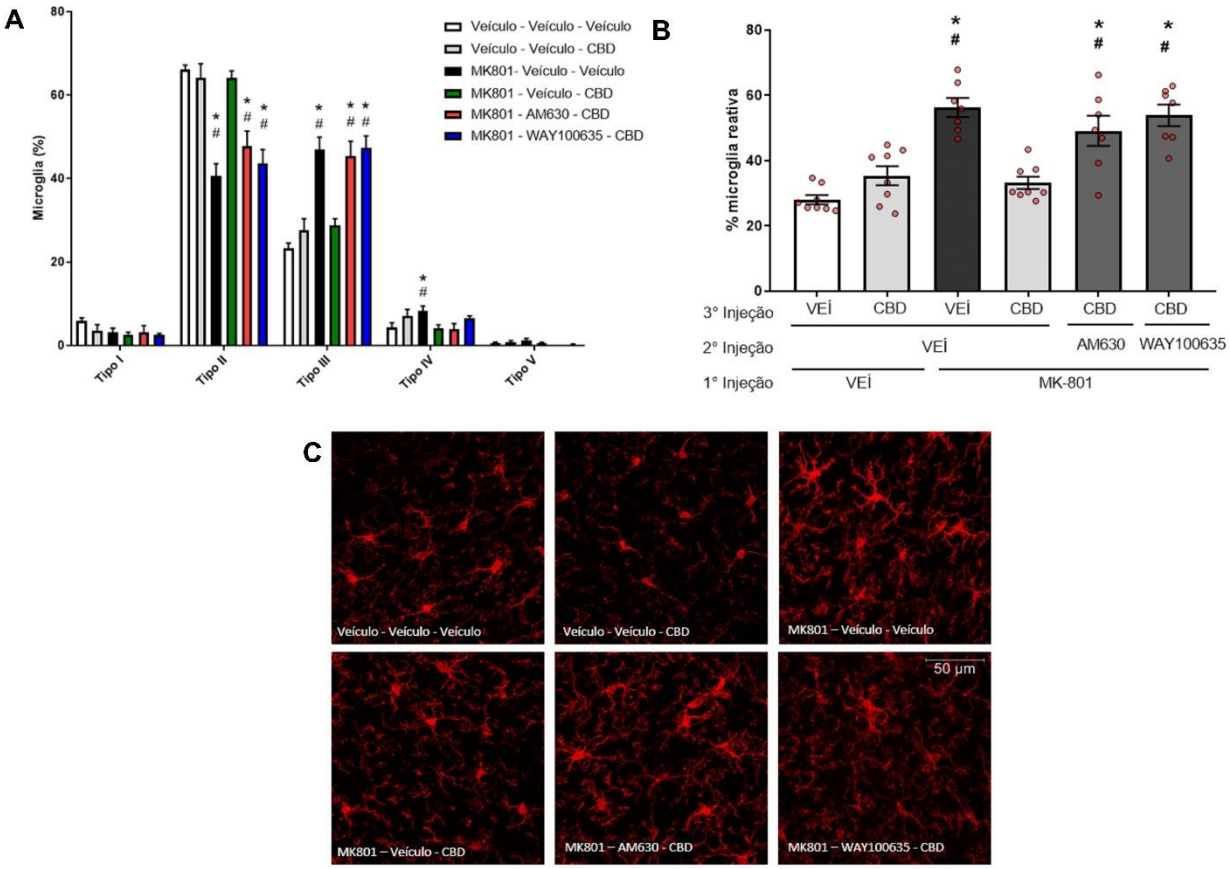


Figura 29. Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD de atenuar a ativação microglial no vCA1. (A) Quantificação

dos morfotipos de micróglia para cada grupo experimental no vCA1 (n=7-8/grupo). (B) Percentagem de micróglia reativa de acordo com os grupos experimentais (n=7-8/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett*. (B) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para Iba-1 vCA1 de acordo com os grupos experimentais (40X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

vSub: A avaliação dos diferentes tipos morfológicos das células Iba-1 positivas indicou que o tratamento dos grupos MK-801+VEÍ+VEÍ, MK-801+AM630+CBD e MK-801+WAY100635+CBD diminuiu a percentagem de células microgliais do tipo morfológico II e aumentou a microglia classificada como tipo III comparado ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, sem alteração no tipo I, IV e V (Tipo I - $F_{5,39}$=1,79, p>0,05; Tipo II - $F_{5,39}$=7,01, p<0,05; Tipo III - $F_{5,39}$=14,80, p<0,05; Tipo IV - $F_{5,39}$=0,23, p<0,05; Tipo V - $F_{5,39}$=1,97, p>0,05; ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 30A).

Em relação a classificação de percentagem de micróglia reativa de acordo com os tratamentos, houve um aumento na percentagem de micróglia reativa nos grupos MK-801+VEÍ+VEÍ, MK-801+AM630+CBD e MK-801+WAY100635+CBD comparado ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ no vSub, indicando que, assim como em ambas regiões analisadas no vCA1 e no CPF, o tratamento com AM630 ou WAY100635 bloqueou o efeito do CBD de atenuar a ativação microglial induzida pelo MK-801 ($F_{5,39}$=10,34, p<0,05, ANOVA de uma via seguida por *Dunnett*, Fig. 30B).

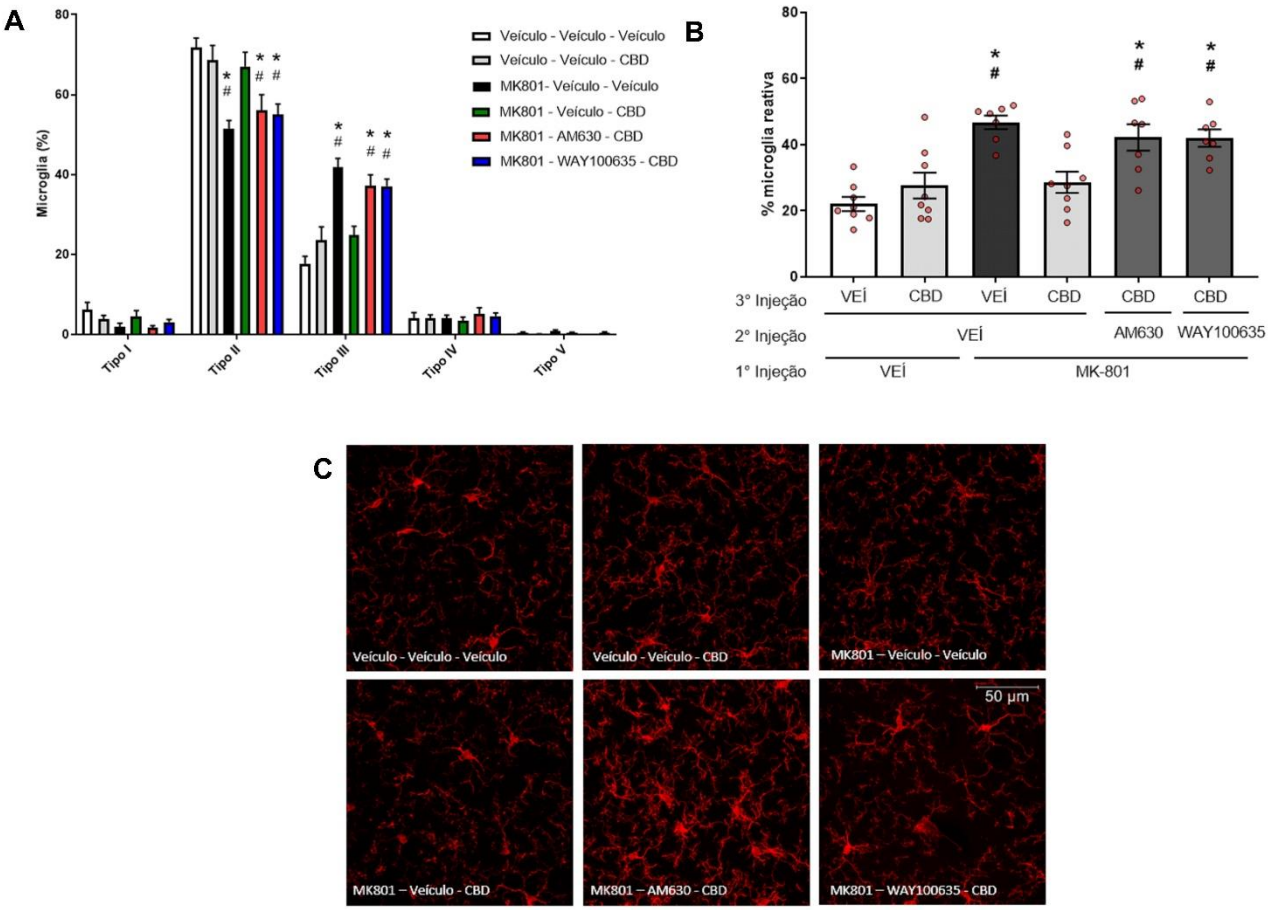


Figura 30. Tratamento repetido com WAY100635 ou AM630 bloqueou o efeito do CBD de atenuar a ativação microglial no vSub. (A) Quantificação dos morfotipos de micróglia para cada grupo experimental no vSub (n=7-8/grupo). (B) Percentagem de micróglia reativa de acordo com os grupos experimentais (n=7-8/grupo). Os dados foram apresentados como a média e o EPM. *p<0,05 em relação ao grupo VEÍ+VEÍ+VEÍ, ANOVA de uma via seguida pelo *post-hoc* de *Dunnett*. (B) Fotos representativas indicando a imunofluorescência reativa para Iba-1 vSub de acordo com os grupos experimentais (40X). VEÍ, veículo; CBD, canabidiol.

5.8 Experimento 8: Efeito do CBD sobre a liberação de DA no mCPF e possível envolvimento dos receptores 5-HT_{1A}

A média dos níveis de DA nas amostras basais antes da administração de veículo ou CBD sistêmico (60mg/kg) permaneceu estável durante o período de estabilização. Entretanto, após a injeção i.p. de CBD, a ANOVA de duas vias

revelou uma tendência para o efeito do tratamento ($F_{1,9}$=4,78, p=0,056), um efeito significativo do fator tempo ($F_{11,99}$=4,19, p<0,0001), e interação tempo x tratamento ($F_{11,99}$=5,71, p<0,0001). A análise *post-hoc* mostrou que a administração de CBD induziu um aumento significativo dos níveis de DA no mCPF (cerca de 60% acima dos valores basais) durante 20-60 minutos após a injeção em comparação com animais tratados com solução veículo. Posteriormente, os níveis de DA retornaram ao basal (p<0,05; Fig. 31).

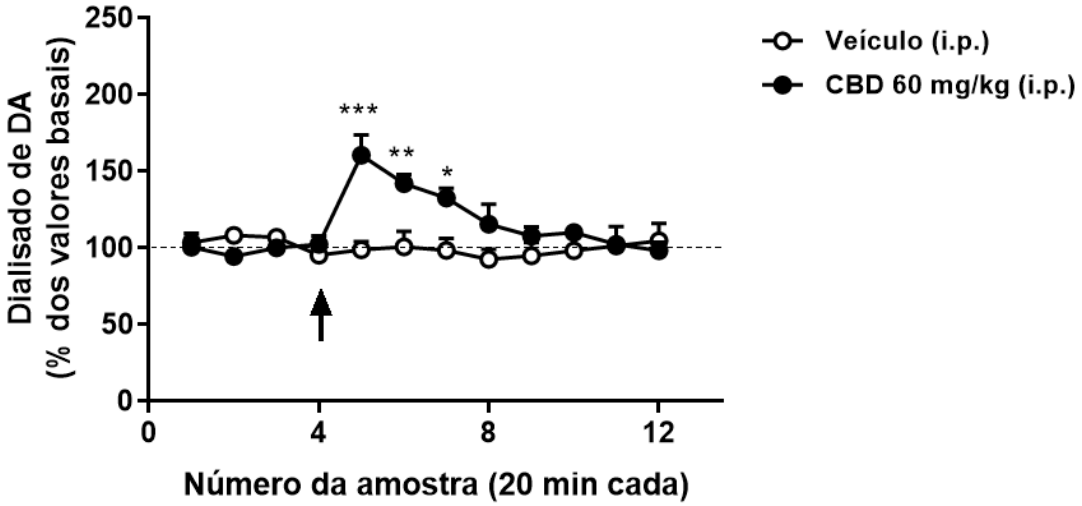


Figura 31. Administração sistêmica de CBD (60mg/kg) aumentou os níveis de DA no mCPF. Efeito da injeção i.p. de CBD nos níveis extracelulares de DA no mCPF (n=5-6/grupo). As barras representam a média e o EPM. ANOVA de duas vias seguida do teste de Bonferroni. ***p<0,0001, **p<0,005, *p<0,05 vs. grupo veículo. DA, dopamina; min, minutos; i.p., intraperitoneal; CBD, canabidiol.

Quando avaliado o efeito da administração local de CBD por diálise reversa, foi observado pela ANOVA de duas vias um efeito significativo do fator tempo ($F_{11,154}$=3,40, p<0,0005) e interação tempo x tratamento ($F_{33,154}$=1,55, p<0,05), mas não do tratamento ($F_{3,14}$=1,90, p>0,05). A análise *post-hoc* mostrou que a administração local do CBD na concentração de 1µM, mas não na concentração de 0,2 ou 5µM, induziu um aumento significativo dos níveis de DA (cerca de 30% acima dos valores basais) durante 20-40 minutos após o início da diálise reversa no mCPF (p<0,05; Fig. 32).

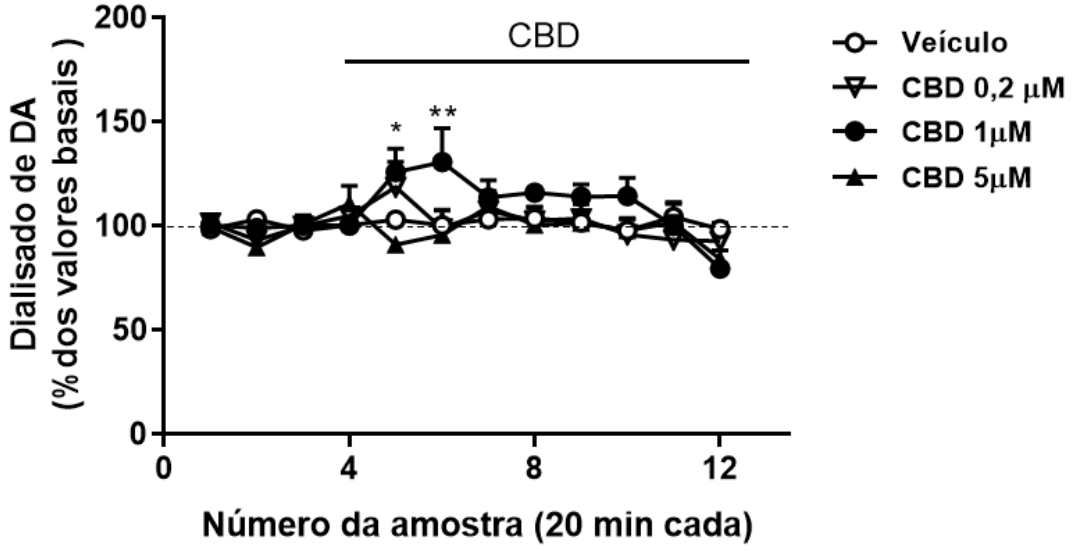


Figura 32. Administração local de CBD 0,2μM, mas não 1 ou 5μM, aumentou os níveis de DA no mCPF. Efeito da administração local de CBD nos níveis extracelulares de DA no mCPF (n=4-5/grupo). As barras representam a média e o EPM. ANOVA de duas vias seguida do teste de Bonferroni. **p<0,005, *p<0,05 vs. grupo veículo. DA, dopamina; min, minutos; CBD, canabidiol.

Quando avaliado o efeito da administração sistêmica de WAY100635 (0,3mg/kg), foi observado que não houve diferença no fator tempo ($F_{11,106}$=1,11, p>0,05), no fator tratamento ($F_{1,106}$=1,17, p>0,05) e interação tempo x tratamento ($F_{11,106}$=0,26, p>0,05), indicando que o WAY100635, por si só, não alterou os níveis basais de DA no mCPF (p>0,05; Fig. 33A). Além disso, quando administrado WAY100635+CBD (60mg/kg) sistemicamente a ANOVA de duas vias revelou uma tendência para o efeito do tratamento ($F_{1,9}$=4,05, p=0,06), um efeito significativo do fator tempo ($F_{11,99}$=4,16, p<0,0001), e interação tempo x tratamento ($F_{11,99}$=3,64, p<0,0005). A análise *post-hoc* mostrou que a administração de WAY100635 bloqueou o efeito do CBD de aumentar significativamente os níveis de DA no mCPF (p<0,05; Fig. 33B).

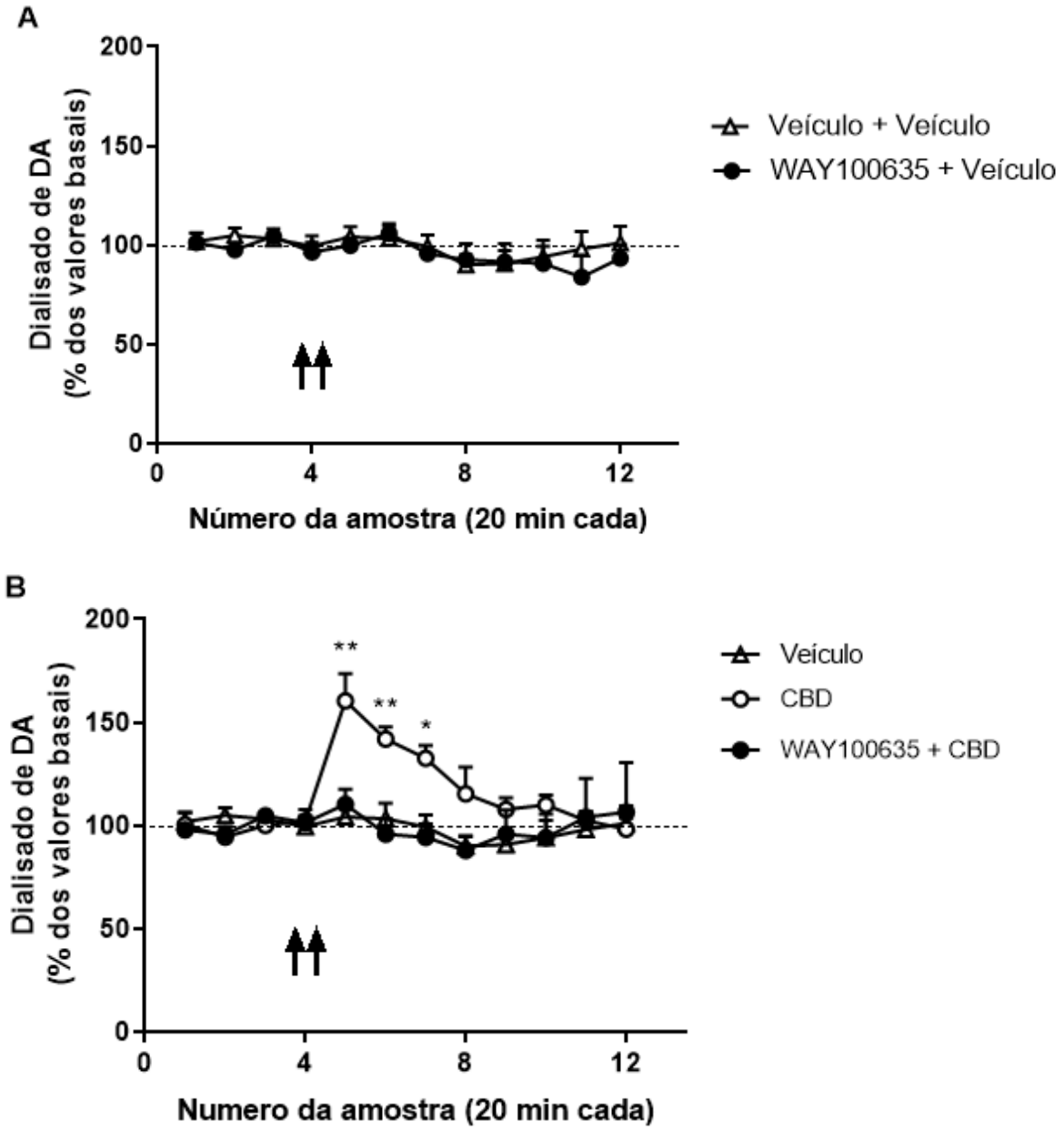
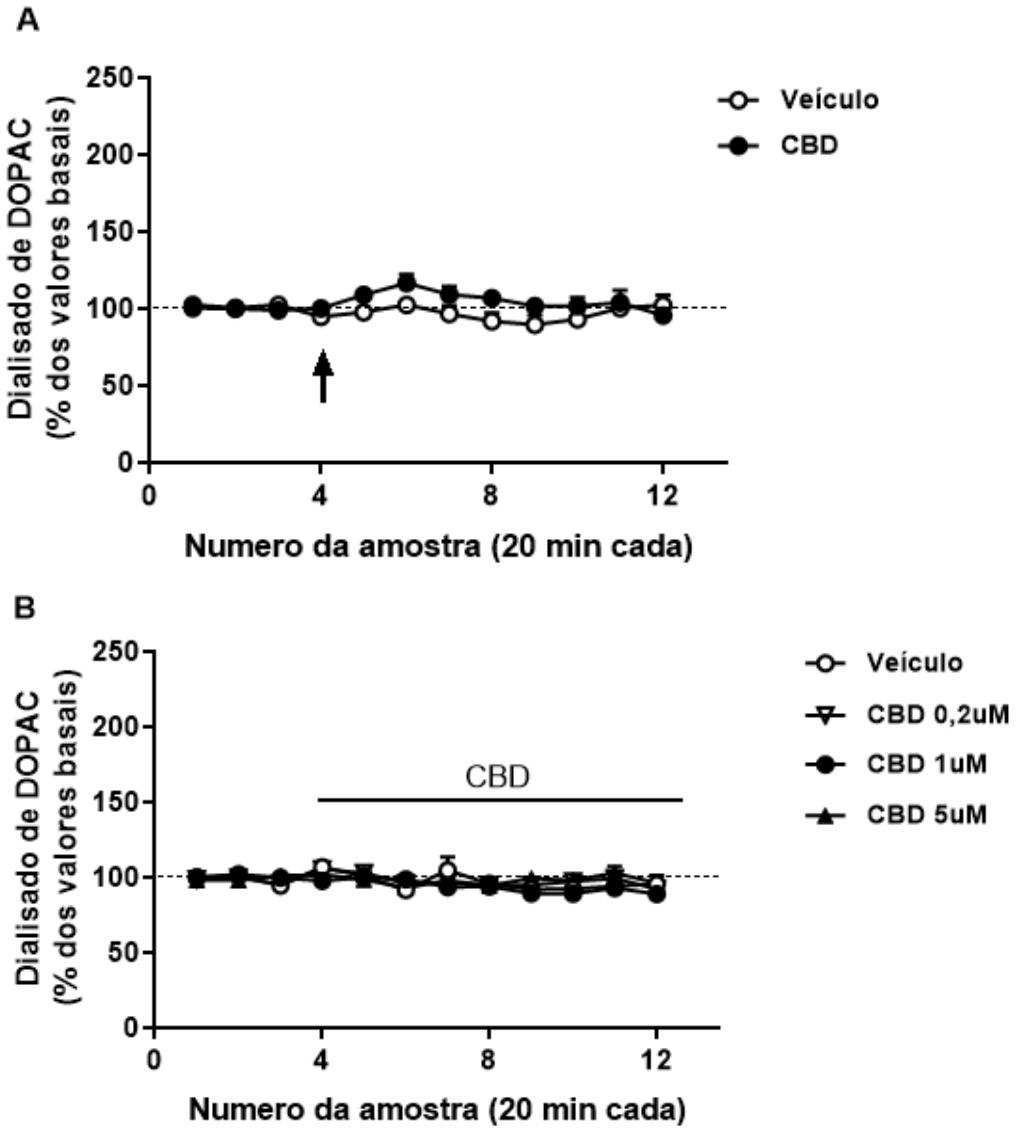


Figura 33. Administração sistêmica de WAY100635 bloqueou o efeito do CBD de aumentar os níveis de DA no mCPF. (A) Efeito da administração sistêmica de WAY100635 nos níveis extracelulares de DA no mCPF (n=4-7/grupo). (B) Efeito da administração sistêmica de WAY100635+CBD nos níveis extracelulares de DA no mCPF (n=5-7/grupo). As barras representam a média e o EPM. ANOVA de duas vias seguida do teste de Bonferroni. **p<0,005, *p<0,05 vs. grupo WAY100635+CBD. DA, dopamina; min, minutos; CBD, canabidiol.

Também foi avaliado os níveis de DOPAC. Em todos os tratamentos realizados, não houve alteração significativa deste metabólito (Fig. 34). Com o tratamento sistêmico com CBD a ANOVA de 2 vias revelou que não houve diferença no fator tratamento ($F_{1,9}$=2,51, p>0,05), no fator tempo ($F_{11,99}$=1,53,

p>0,05) e interação tempo x tratamento ($F_{11,99}$=1,67, p>0,05). No caso do tratamento local com CBD por diálise reversa, também não houve diferença no fator tratamento ($F_{3,14}$=0,53, p>0,05) e na interação tempo x tratamento ($F_{33,154}$=1,16, p>0,05), porém houve diferença significativa no fator tempo ($F_{11,154}$=4,15, p>0,05). Entretanto, o teste *post-hoc* não indicou nenhuma diferença entre os grupos em qualquer tempo de tratamento. No tratamento com WAY100635+CBD sistêmico a ANOVA de 2 vias também não indicou diferença no fator tratamento ($F_{3,18}$=0,86, p>0,05), no fator tempo ($F_{11,198}$=1,60, p>0,05) e interação tempo x tratamento ($F_{33,198}$=0,90, p>0,05).



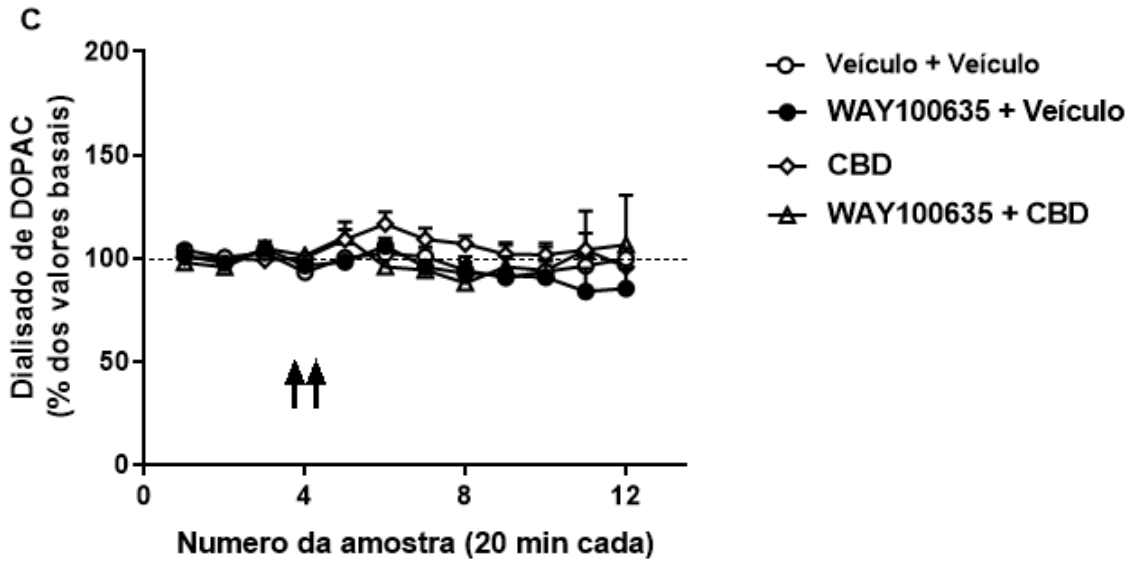


Figura 34. Não houve alteração dos níveis de DOPAC nos tratamentos avaliados. (A) Efeito da administração sistêmica de CBD nos níveis extracelulares de DOPAC no mCPF (n=5-6/grupo). (B) Efeito da administração local de CBD nos níveis extracelulares de DOPAC no mCPF (n=4-5/grupo). (C) Efeito da administração sistêmica de WAY100635+CBD nos níveis extracelulares de DOPAC no mCPF (n=4-7/grupo). As barras representam a média ± EPM. ANOVA de duas vias. DA, dopamina; min, minutos; CBD, canabidiol.

Apenas os animais com localização anatômica correta das sondas de microdiálise foram incluídos na análise dos dados. A figura 35 mostra imagem representativa da localização das sondas de microdiálise no mCPF (Fig. 35).

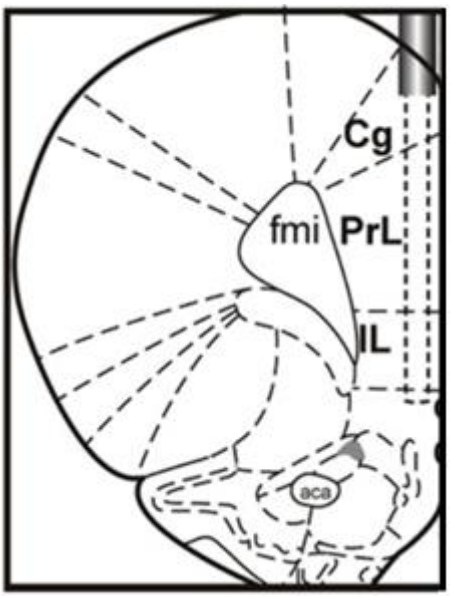


Figura 35. Localização representativa da sonda de diálise no mCPF. Diagrama representativo do atlas Paxinos e Watson (Paxinos and Franklin, 2008) no nível do mCPF e representação esquemática da colocação da sonda de diálise (linhas pontilhadas). Cg, córtex cingulado; PrL, córtex pré-límbico e IL, córtex infralímbico.

Discussão

6 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que a administração repetida de MK-801 induziu prejuízos comportamentais e alterações celulares sobre interneurônios PV+, PNNs e ativação microglial, que foram atenuadas pelo tratamento com CBD de maneira dependente de receptores 5-HT_{1A} ou CB_2 e da região avaliada (Tabela 1). Estes receptores também parecem estar envolvidos no efeito do CBD de atenuar a hiperlocomoção induzida por anfetamina. Também verificamos que a administração aguda, sistêmica ou local, de CBD aumentou as concentrações basais de DA extracelular no CPF. Este efeito dependeu de receptores 5-HT_{1A}, uma vez que foi bloqueado pela administração de WAY100635.

Como discutido na introdução deste trabalho, apesar do avanço no desenvolvimento de novos antipsicóticos com menor propensão para indução de EPS, ainda há uma importante necessidade de novas opções terapêuticas para o tratamento da esquizofrenia, visto que os medicamentos disponíveis não são eficazes no tratamento dos sintomas negativos e cognitivos, além de apresentarem baixa tolerabilidade (Lieberman *et al.*, 2005; Lewis and Lieberman, 2008; Solmi *et al.*, 2017). Nesse contexto, o CBD surge como uma alternativa possível devido ao seu potencial efeito tipo antipsicótico (Davies and Bhattacharyya, 2019).

O teste de hiperlocomoção induzida por anfetamina ou antagonistas de NMDAR é considerado um modelo preditivo relacionado aos sintomas positivos da esquizofrenia e responde a antipsicóticos típicos e atípicos utilizados na clínica (Jones *et al.*, 2011). Foi demonstrado no presente trabalho, que o CBD atenuou a hiperlocomoção induzida pela anfetamina e este efeito foi bloqueado por WAY100635 ou AM630. Nessa direção, dados anteriores do nosso grupo já

haviam demonstrado o efeito do CBD em atenuar a hiperlocomoção induzida por anfetamina e quetamina. Estendendo este resultado, no presente trabalho, podemos sugerir que este efeito parece ser dependente de receptores 5-HT_{1A} ou CB_2 (Moreira and Guimarães, 2005).

Existem diversas evidências que apontam para o envolvimento do receptor 5-HT_{1A} nos efeitos de diversos antipsicóticos atípicos utilizados na clínica, embora o efeito da clozapina de atenuar a hiperlocomoção induzida por MK-801 parece não depender destes receptores (Scorza *et al.*, 2010).

O 8-OH-DPAT, um agonista do receptor 5-HT_{1A}, além de causar hipolocomoção por si só, inibiu o aumento na liberação de DA induzida por anfetamina no NAc. Este efeito foi bloqueado por WAY100635, indicando que receptores 5-HT_{1A}, parecem estar envolvidos na modulação da liberação de DA na via mesolímbica (Ichikawa *et al.*, 1995). Por outro lado, alguns estudos mostraram que a ativação dos receptores 5-HT_{1A} inibiu aumentos na atividade locomotora induzido por anfetamina, bem como a sensibilização comportamental (Przegaliñski and Filip, 1997; Przegaliński *et al.*, 2000; Tsuchida *et al.*, 2009; Haleem, 2013). Considerando que doses mais elevadas de 8-OH-DPAT aumentam a hiperlocomoção induzida por MK-801, é possível que os efeitos dos agonistas 5-HT_{1A} dependam da predominância da ação sobre autoreceptores (diminuindo a liberação pós-sináptica de serotonina) ou receptores pós-sinápticos. Neste caso, é possível predizer que os agonistas 5-HT_{1A} poderiam produzir efeitos complexos dependentes da dose, podendo até piorar os sintomas psicóticos (Bubeníková-Valesová *et al.*, 2007). Nesse sentido, o CBD, ao desempenhar um possível papel não de agonista pleno mas sim de modulador alostérico positivo deste receptor, como tem sido sugerido por alguns estudos (Rock *et al.*, 2012), poderia produzir efeitos antipsicóticos mais seletivos.

Além do possível papel da 5-HT sobre a modulação da atividade dos

neurônios dopaminérgicos, a atividade dos antipsicóticos atípicos nestes receptores de serotonina também está envolvida na capacidade desses agentes de produzirem menos EPS (Haleem, 2006). Nesse sentido, o CBD não induz catalepsia em doses necessárias para diminuir a hiperlocomoção induzida por quetamina ou anfetamina (Moreira e Guimarães, 2005) e, via facilitação da neurotransmissão mediada por receptores 5-HT_{1A}, parece inibir a catalepsia induzida por diferentes mecanismos (Moreira and Guimarães, 2005; Gomes *et al.*, 2013; Sonego *et al.*, 2016).

Além do sistema serotoninérgico, vários estudos indicam que o ECS modula o sistema dopaminérgico e os comportamentos relacionados a alterações neste sistema (Manzanares *et al.*, 2018; Canseco-Alba *et al.*, 2019; Cortez *et al.*, 2020). Os receptores CB_2 estão presentes no corpo celular de neurônios dopaminérgicos no VTA e no terminal desses neurônios no NAc (Aracil-Fernández *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2017). Estudos eletrofisiológicos indicaram que estes receptores expressos nos neurônios dopaminérgicos podem modular a excitabilidade destes neurônios. Por exemplo, a ativação dos receptores CB_2 por JWH133 inibiu o disparo dos neurônios dopaminérgicos da VTA (Zhang *et al.*, 2014; Ma *et al.*, 2019). Camundongos com superexpressão de receptores CB_2 exibem um perfil comportamental com menor resposta locomotora, e diminuição de autoadministração e preferência de lugar induzida pela cocaína (Aracil-Fernández *et al.*, 2012).

Estudos utilizando animais KO para os receptores CB_2 verificaram que estes animais apresentam diminuição da atividade motora basal, prejuízos no teste de PPI, comprometimento cognitivo e aumento da resposta à cocaína aguda (Ortega-Alvaro *et al.*, 2011). Diferente dos animais com ausência total de receptores CB_2, camundongos com deleção seletiva de receptores CB_2 em neurônios dopaminérgicos da VTA apresentam maior resposta locomotora à

administração aguda de anfetamina e cocaína comparados a animais selvagens, mas também apresentam mudanças comportamentais associadas aos sintomas negativos da esquizofrenia (Liu *et al.*, 2017; Canseco-Alba *et al.*, 2019). O bloqueio farmacológico dos receptores CB_2 pela infusão local de AM630 no NAc aumentou a atividade locomotora e os níveis extracelulares de DA em animais selvagens e KO para o receptor CB_1 mas não para o receptor CB_2 (Xi *et al.*, 2011). Por outro lado, drogas que ativam os receptores CB_2, como o agonista do receptor CB_2 JWH133, inibem a autoadministração de cocaína, os níveis de DA e a hiperlocomoção induzida por cocaína em camundongos selvagens e KO para o receptor CB_1, mas não em KO para o receptor CB_2 (Xi *et al.*, 2011; Delis *et al.*, 2017). No entanto, diferente da anfetamina, no modelo de hiperlocomoção induzida por MK-801, o envolvimento dos receptores CB_2 na locomoção é controverso, uma vez que tanto o agonista CB_2 JWH133, quanto o antagonista CB_2 AM630, bloquearam agudamente a hiperlocomoção induzida por MK-801 e as doses ineficazes do agonista e antagonista, quando administrados concomitantemente, aumentaram a hiperlocomoção em comparação com animais que receberam apenas MK-801 (Kruk-Slomka *et al.*, 2017).

Apesar do efeito do CBD ter sido bloqueado pelo antagonista CB2, ele tem baixa afinidade para esse receptor. Assim, é possível que o efeito do CBD neste caso seja indireto, dependente do bloqueio da enzima FAAH, o que levaria a um aumento da disponibilidade de AEA. Este endocanabinoide poderia, então, ativar os receptores CB_2 para diminuir a hiperlocomoção induzida por anfetamina (Bisogno *et al.*, 2001). Em contraste com essa hipótese, Kruk-Slomka e colaboradores mostraram recentemente que um inibidor seletivo da enzima FAAH, URB597, não bloqueou a hiperlocomoção induzida por MK-801 (Kruk-Slomka *et al.*, 2019) . Assim, o CBD poderia exercer o efeito de bloqueio da hiperlocomoção induzida por anfetamina pelo efeito sinérgico sobre os

receptores 5-HT_{1A} e CB_2, uma vez que os resultados obtidos no presente trabalho indicaram que tanto o WAY100635, como o AM630, bloquearam o efeito do CBD sobre a hiperlocomoção induzida por anfetamina. Entretanto, outros experimentos serão necessários para testar esta hipótese.

O tratamento repetido com MK-801 induziu prejuízos nos testes relacionados a sintomas cognitivos da esquizofrenia (NOR a curto e a longo prazo), corroborando com a proposta de que o bloqueio crônico de NMDAR pode ser um modelo animal útil para o estudo da neurobiologia da esquizofrenia. Alguns estudos já haviam demonstraram o potencial do MK-801 em gerar prejuízos no teste de NOR (Gomes *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2015; Rodrigues Da Silva *et al.*, 2020). Entretanto, o deficit observado neste trabalho no NOR a longo prazo após 8 dias do final do tratamento ainda não havia sido demonstrado em estudos anteriores.

As memórias podem ser classificadas de acordo com seu conteúdo (declarativo ou explícito, e procedimental ou implícito) ou de acordo com sua duração: memória de curto prazo, que se forma rapidamente e pode durar minutos ou horas, e memória de longo prazo, que dura de horas a dias, semanas ou até anos (Squire, 1992; Izquierdo and Medina, 1997). Está bem estabelecido que o hipocampo atua como uma região central para a memória de curto e longo prazo (Squire, 1992). Um dos papéis do hipocampo seria o de atuar como um "*buffer"* temporário de memória, necessário para a consolidação da memória de longo prazo. Os neurônios do hipocampo ventral que projetam diretamente seus axônios para o CPF estariam implicados na formação da memória de trabalho e memória espacial de curto prazo (Floresco *et al.*, 2003).

O processo de consolidação da memória estaria intimamente relacionado com um fenômeno conhecido como *long-term potentiation* (LTP) ou potenciação a longo prazo. A indução de tarefas exploratórias inicia o LTP no hipocampo de

roedores e seu bloqueio leva ao prejuízo na consolidação do aprendizado (Rose and Dunwiddie, 1986; Lynch, 2004). De modo geral, a indução da LTP envolve principalmente o sistema glutamatérgico, sendo amplamente demonstrado o aumento de glutamato na fenda sináptica durante esta indução (Errington *et al.*, 2003). Além disso, parece haver um *loop* envolvendo o hipocampo e VTA, de maneira que quando o hipocampo detecta informações recém-chegadas, o sinal de novidade resultante é transmitido, através do vSub, NAc e PV, para o VTA, aonde contribui para o disparo dessa região dependendo da novidade apresentada. Com isso ocorreria liberação de DA no vSub, o que estaria relacionado a um aprimoramento da LTP e, consequentemente, da formação de memória de longo prazo (Lisman and Grace, 2005; Titulaer *et al.*, 2021).

Foi observado em animais tratados com antagonistas de NMDAR um prejuízo no LTP na via hipocampo – CPF, assim como no vSub, associado a prejuízos cognitivos (Stringer and Guyenet, 1983; Murueta-Goyena *et al.*, 2018; Manzella *et al.*, 2020; Moghadam *et al.*, 2021). A administração crônica de quetamina por 28 dias induziu prejuízos no LTP que perduraram por até 28 dias após o final do tratamento (Luo *et al.*, 2020). Considerando que o prejuízo no LTP também foi encontrado em pacientes com esquizofrenia e poderia estar relacionado a prejuízos cognitivos associados à memória de longo prazo, podemos especular que os resultados observados com o tratamento repetido com MK-801 no teste de ROL poderia estar associado a uma diminuição do LTP induzida por este antagonista de NMDAR (Valstad *et al.*, 2021).

Nesse contexto, no presente trabalho mostramos que o CBD atenuou os efeitos do MK-801 no ROC e ROL de maneira dependente de receptores 5-HT_{1A}, uma vez que este efeito foi bloqueado por WAY100635. Este efeito não parece ser dependente do receptor receptores CB_2, dado que o AM630 não o bloqueou. Este resultado reforça a proposta de que o CBD possui efeito sobre prejuízos

relacionados aos sintomas cognitivos da esquizofrenia e vai ao encontro de resultados anteriores observados pelo nosso grupo, nos quais o CBD foi capaz de prevenir e atenuar prejuízos no RO, interação social e PPI induzidos pelo tratamento repetido com MK-801 (Gomes *et al.*, 2014; Gomes *et al.*, 2015; Rodrigues Da Silva *et al.*, 2020).

Os efeitos do CBD sobre a memória de curto prazo observada em testes de NOR já estão bem descritos em diversos modelos de esquizofrenia (Gomes *et al.*, 2015; Osborne *et al.*, 2017; Rodrigues Da Silva *et al.*, 2020). Entretanto, nenhum estudo mostrou o efeito do CBD sobre a memória de longo prazo evidenciada pelo teste de ROL em um modelo animal baseado no antagonismo de NMDAR. Schleicher e colaboradores, mostraram que o tratamento com CBD, por si só, não altera a memória espacial e a de longo prazo no teste de labirinto aquático de Morris (Schleicher *et al.*, 2019). Entretanto, o CBD foi capaz de atenuar os efeitos deletérios da administração de THC sobre a memória de longo prazo (Murphy *et al.*, 2017). Curiosamente, o tratamento com CBD reverteu os prejuízos no LTP em modelos animais de Alzheimer e epilepsia (Maggio *et al.*, 2018; Hughes and Herron, 2019). Assim, considerando que os estudos clínicos utilizando o CBD indicam que esta substância é bem tolerada pelos pacientes (Leweke *et al.*, 2012), ele poderia ser um possível antipsicótico com um potencial efeito sobre sintomas cognitivos.

O envolvimento de vias serotoninérgicas parece ser um achado comum na investigação do mecanismo de ação de antipsicóticos atípicos usados na clínica para o tratamento da esquizofrenia. Drogas como o aripiprazol, clozapina, lurasidona, tandospirona e ziprazidona têm ação como agonista parcial dos receptores 5-HT_{1A} e esta característica é geralmente associada com seus efeitos sobre os sintomas negativos e cognitivos em humanos e modelos animais (Meltzer *et al.*, 2003; Horiguchi and Meltzer, 2012; Horiguchi *et al.*, 2016). Nesse

sentido, os resultados obtidos no presente trabalho mostraram que o antagonismo de receptores 5-HT_{1A} através do pré-tratamento com WAY100635 bloqueou o efeito do CBD em reverter os prejuízos induzidos por MK-801 nos testes de ROC e ROL, sugerindo que o mecanismo de ação pelo qual o CBD poderia exercer seu efeito tipo-antipsicótico parece depender da ativação de receptores 5-HT_{1A}, característica compartilhada com antipsicóticos atípicos.

A neurotransmissão serotoninérgica via receptores 5-HT_{1A} parece ser importante em processos neuroplásticos, como a neurogênese e formação de espinhos dendríticos, que estão alterados em transtornos psiquiátricos (Roberts *et al.*, 1996; Reif *et al.*, 2006). A 5-HT pode estimular a neurogênese via receptores 5-HT_{1A} e agonistas destes receptores parecem prevenir os efeitos inibitórios do estresse sobre os processos de neurogênese (Gould, 1999). A redução da neurogênese hipocampal adulta pode estar relacionada com a neurobiologia da esquizofrenia, visto que esta parece estar diminuída em vários modelos animais de esquizofrenia assim como em pacientes diagnosticados com este transtorno (Teuchert-Noodt *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2006; Reif *et al.*, 2006; Cardon *et al.*, 2010). Apesar do haloperidol parecer não alterar a neurogênese, antipsicóticos atípicos como a clozapina e olanzapina aumentam o número de células BrdU positivas no hipocampo, que são um indicativo de neurogênese, e atenuam a redução da neurogênese induzida por estresse de restrição, injeção pré-natal de Poli I:C e PCP (Halim *et al.*, 2004; Kodama *et al.*, 2004). Além disso, o efeito da ziprazidona, mas não do haloperidol, de aumentar a proliferação de células-tronco neurais adultas derivadas do hipocampo foi bloqueado por um antagonista de receptores 5-HT_{1A}. Entretanto, ainda faltam estudos investigando o papel dos receptores 5-HT_{1A} sobre os efeitos dos antipsicóticos na neurogênese hipocampal (Benninghoff *et al.*, 2013).

A ativação de receptores 5-HT_{1A} parece também ser importante para a

formação de espinhos dendríticos em células do giro denteado do hipocampo e essa sinaptogênese também parece estar alterada em pacientes com esquizofrenia (Roberts *et al.*, 1996; Garey *et al.*, 1998; Faber and Haring, 1999). Em animais tratados com PCP foi observado uma diminuição bastante acentuada no número de espinhos sinápticos no CPF (Elsworth *et al.*, 2011). Além disso, o tratamento com clozapina aumenta a densidade de espinhos dendríticos no hipocampo, enquanto o haloperidol diminui. (Critchlow *et al.*, 2006). O CBD aumentou a neurogênese e a densidade de espinhos dendríticos em animais submetidos a um protocolo de estresse crônico imprevisível (Campos *et al.*, 2013; Fogaça *et al.*, 2018), bem como em um modelo animal de Alzheimer (Esposito *et al.*, 2011; Campos *et al.*, 2013; Fogaça *et al.*, 2018). Entretanto, ainda não há estudos relacionando o aumento de neurogênese induzida por CBD e a melhora de alterações relacionadas à esquizofrenia, e tampouco se este efeito dependeria da ativação dos receptores 5-HT_{1A}.

Além da modulação dos processos de plasticidade, a neurotransmissão serotoninérgica via receptores 5-HT_{1A} parece ser importante na modulação do balanço excitatório-inibitório. Nos interneurônios GABAérgicos do CPF e hipocampo há uma alta densidade de receptores 5-HT_{1A}, os quais apresentam um efeito inibitório via hiperpolarização neuronal (Schmitz *et al.*, 1995). A estimulação destes receptores diminui a influência inibitória sobre os neurônios piramidais do hipocampo, que têm um papel essencial na regulação de oscilações gama que, por sua vez, estão envolvidas com funções cognitivas (Klausberger, 2009). Alterações no balanço excitatório-inibitório resultam em uma desregulação das ondas gama. Estas oscilações estão reduzidas em pacientes com esquizofrenia de maneira relacionada à severidade dos sintomas negativos e cognitivos do transtorno (Lee *et al.*, 2003; Lisman and Grace, 2005). Como já descrito, o CBD foi capaz de prevenir e atenuar a diminuição do número

de interneurônios PV+ induzida pelo MK-801. Portanto, o CBD poderia, por reestabelecer a modulação GABAérgica nos neurônios piramidais, retomar o equilíbrio no balanço excitatório-inibitório por um mecanismo dependente de 5-HT_{1A}.

A diminuição dos interneurônios PV+ induzida por antagonistas de NMDAR é amplamente descrita na literatura (Rujescu *et al.*, 2006; Braun *et al.*, 2007; Gomes *et al.*, 2014; Honeycutt and Chrobak, 2018), o que vai ao encontro dos resultados obtidos neste trabalho onde foi observado o efeito do MK-801 sobre a diminuição de interneurônios PV+ no CPF e hipocampo. A diminuição da neurotransmissão GABAérgica é uma das alterações patológicas frequentemente observadas em estudos *post-mortem* na esquizofrenia (Lewis *et al.*, 2005). Nesse contexto, os antagonistas de NMDAR parecem ter um efeito preferencial sobre estes interneurônios GABAérgicos, o que seria explicado por seu perfil eletrofisiológico de alto disparo. Considerando que os NMDAR são canais iônicos ativados por ligantes e sensíveis a voltagem, quando a célula está em repouso, este canal é bloqueado pelo íon de Mg^{+2}. Assim, se faz necessário uma despolarização para remover o bloqueio pelo Mg^{+2} (Dingledine *et al.*, 1999). Os interneurônios, por terem o perfil de alta taxa de disparos, são continuamente despolarizados e, portanto, suscetíveis ao escape do bloqueio pelo Mg2+. Assim, sugere-se que o impacto dos antagonistas de NMDAR se faz maior em células frequentemente ativadas, como os interneurônios GABAérgicos PV+ (Tseng and O'donnell, 2007; O'donnell, 2011). De fato, os interneurônios GABAérgicos são 10x mais sensíveis aos antagonistas de NMDAR comparado aos piramidais, e essa diminuição nestes interneurônios leva não somente a um prejuízo na inibição de células piramidais como um desbalanço na sincronização excitatória-inibitória que está envolvida em diversas funções cerebrais (Grunze *et al.*, 1996; Schwartz *et al.*, 2012).

Além disso, algumas particularidades encontradas nos presentes resultados merecem destaque. No CPF dos animais tratados com MK-801 foi observado uma diminuição no número de células PV+ na região PreL mas não na região InfraL. Estas alterações são similares às encontradas após o tratamento repetido com PCP, uma vez que esse antagonista de NMDAR também induziu a diminuição na expressão de PV+ no CPF PreL mas não no InfraL ou cingulado (Mckibben *et al.*, 2010). Além disso, em um modelo baseado na suscetibilidade de resposta à apomorfina, foi observada uma diminuição do número de células que expressam a proteína envolvida com a síntese de GABA, GAD-67, no mCPF PreL mas não no InfraL. Entretanto, neste modelo, o número de interneurônios PV+ em ambas as regiões permaneceu inalterado (Selten *et al.*, 2016). Curiosamente, em um trabalho utilizando um modelo conhecido como *"double-hit"*, as diferenças regionais na expressão de PV+ foram contraditórias com as observadas neste trabalho. Em animais tratados no sétimo dia pós-natal com MK-801 e expostos a isolamento social foi observado uma diminuição no número de células PV+ no InfraL, mas não no PreL, nos animais tratados independente de serem, ou não, submetidos ao do isolamento social (Gilabert-Juan *et al.*, 2013). Assim, parece haver uma diferença na diminuição da expressão de PV+ no PreL e InfraL de acordo com o modelo animal avaliado.

Curiosamente, no PreL foi observado um efeito do CBD por si só em diminuir o número de células PV+. Este resultado parece intrigante visto que o CBD atenuou a diminuição do número de células PV+ induzida pelo tratamento com MK-801 nesta mesma região. Além disso, o tratamento com haloperidol parece diminuir o número de células PV+ no PFC quando combinado a MK-801 mas não por si só (Braun *et al.*, 2007). No entanto, a fluoxetina, um antidepressivo inibidor da recaptação de serotonina, parece diminuir o número de células PV+ no mCPF quando administrada repetidamente em animais

saudáveis (Guirado *et al.*, 2014). Ainda, em animais que passaram por um protocolo de estresse crônico, a fluoxetina parece atenuar a diminuição de células PV+ no mCPF (Todorović *et al.*, 2019), resultados que poderiam ser associados com os que foram encontrados neste trabalho com o CBD.

A diminuição de interneurônios PV+ induzida pelo tratamento com fluoxetina foi associada a um aumento da formação de espinhos dendríticos no mCPF, o que poderia explicar um efeito *per se* desta substância induzindo uma janela de plasticidade semelhante aos períodos críticos que ocorrem na maturação cortical (Guirado *et al.*, 2014). Assim, apesar de não ter sido avaliado neste trabalho a neuroplasticidade no mCPF, o CBD poderia ter um efeito relacionado ao observado com a fluoxetina, sendo a diminuição de células PV+ uma consequência temporária deste efeito modulador sobre a neuroplasticidade. Mais estudos são necessários para avaliar esta hipótese.

Ademais, foi observado que as alterações induzidas por MK-801 na expressão de PV+ no PreL, mas não no InfraL, duraram por até 21 dias após a última injeção deste antagonista de NMDAR. O efeito duradouro destas drogas não é um achado incomum, uma vez que diversos estudos observaram a diminuição da expressão de PV+ no CPF e hipocampo na idade adulta após o pré-tratamento com antagonistas de NMDAR no período neonatal (Abekawa *et al.*, 2007; Uehara, Sumiyoshi, Hattori*, et al.*, 2012; Li *et al.*, 2015; Murueta-Goyena *et al.*, 2018). Também já foi verificado o efeito da administração repetida de MK-801 em ratos adultos de diminuir a expressão de mRNA para PVALB e o número de células que expressam PV+ no hipocampo 18 dias após o final do tratamento com MK-801, sugerindo que as alterações celulares induzidas por MK-801 em animais adultos também podem ser longevas (Unal *et al.*, 2021). Honeycutt e colaboradores mostraram o efeito a curto e longo prazo da administração repetida de quetamina sobre a diminuição de PV+ no hipocampo,

entretanto, neste trabalho os autores demonstraram que este prejuízo foi observado somente em animais que tiveram o início do tratamento na adolescência e não na idade adulta, sugerindo que este efeito poderia variar de acordo com a idade no início do tratamento (Honeycutt and Chrobak, 2018).

Vários estudos mostraram que a redução da transmissão inibitória pré-frontal induz várias anormalidades cognitivas, emocionais e dopaminérgicas que se assemelham a aspectos da esquizofrenia (Tse *et al.*, 2015). Mais especificamente, foi demonstrado que a redução da atividade GABAérgica no CPF de ratos resultou em déficits na velocidade de processamento de informações, flexibilidade cognitiva, recuperação de informações relevantes e aumento do tônus dopaminérgico na VTA (Enomoto *et al.*, 2011; Piantadosi and Floresco, 2014).

Apesar de poucos estudos explorarem as diferenças sobre as alterações GABAérgicas individualizando o PreL e InfraL no mCPF, é conhecido que estas regiões parecem ter efeitos opostos sobre a ativação do VTA, uma vez que a ativação do PreL e do InfraL leva ao aumento e diminuição, respectivamente, de disparos dopaminérgicos no VTA (Patton *et al.*, 2013). Além disso, tem sido descrito efeitos contraditórios do PreL e InfraL sobre comportamentos envolvendo memória como, reconsolidação de memórias de medo condicionado, reconhecimento espacial de objetos, memória de inibição pelo medo, memória contextual, entre outros (Nelson *et al.*, 2011; Sharpe and Killcross, 2014; Soler-Cedeño *et al.*, 2016; Levin *et al.*, 2017; Torres-García *et al.*, 2017; Sun *et al.*, 2018; Kreutzmann *et al.*, 2020). Claramente, aqui também são necessárias mais evidências para a melhor compreensão do papel dos interneurônios PV+ no CPF PreL e InfraL na esquizofrenia.

Além da diminuição no número de células PV+ no CPF PreL, também foi observado neste trabalho uma diminuição significativa destes interneurônios no

vCA1 e vSub do hipocampo (Tabela 1). Apesar de muitos trabalhos supracitados também terem encontrado uma diminuição em interneurônios PV+ no hipocampo induzida por antagonistas de NMDAR, poucos trabalhos exploraram as regiões ventrais do hipocampo, como no presente estudo (Uehara, Sumiyoshi, Seo*, et al.*, 2012; Murueta-Goyena *et al.*, 2018). Romón e colaboradores investigaram o efeito de uma única injeção de MK-801 sobre o mRNA para PV+ e observaram uma diminuição nas regiões PreL e InfraL do CPF e CA1 e giro denteado do hipocampo, mas não no subículo (Romón *et al.*, 2011), sugerindo que as alterações observadas nas regiões ventrais do hipocampo no presente trabalho podem ter sido induzidas pelo tratamento repetido com MK-801. Em um modelo de esquizofrenia baseado na ativação imune materna, foi observado uma diminuição na expressão de PV+ no hipocampo dorsal, mas não no ventral (Luoni *et al.*, 2017). Entretanto, em um modelo utilizando a administração gestacional do antimitótico acetato de metilazoximetanol (MAM), foi encontrado, similar aos resultados deste trabalho. Houve uma diminuição da expressão de PV+ no vSub dos animais da prole em que as mães receberam MAM (animais MAM) comparado aos controles (Du and Grace, 2016).

As evidências de anormalidades na estrutura e função do hipocampo na esquizofrenia têm origem, em grande parte, de estudos *post-mortem* e de neuroimagem (Harrison, 1999; Shenton *et al.*, 2001; Heckers and Konradi, 2002; Heckers, 2004). A neurobiologia destas alterações ainda não está totalmente elucidada. No entanto, estudos de imagem funcional sugeriram aumento da atividade hipocampal em repouso, incluindo aumento do fluxo sanguíneo nas regiões CA1 e subículo, e um processamento anormal de informações durante o desempenho de tarefas de recuperação de memória em pacientes com esquizofrenia (Heckers *et al.*, 1998; Medoff *et al.*, 2001; Meyer-Lindenberg *et al.*, 2001; Heckers, 2004; Lahti *et al.*, 2006; Weiss *et al.*, 2006; Talati *et al.*, 2014).

Múltiplas evidências sugeriram que a atividade aumentada do hipocampo poderia ser devido à redução da regulação do interneurônios PV+ sobre a atividade dos neurônios piramidais (Du and Grace, 2016; Sonnenschein *et al.*, 2020). Além disso, foi demonstrado que a disfunção hipocampal contribui não apenas para o comprometimento do processamento da informação, mas também para os sintomas positivos do transtorno (Lodge and Grace, 2008). Sendo assim, a função do hipocampo na esquizofrenia sugere uma interação com o sistema dopaminérgico do mesencéfalo (Lodge and Grace, 2008).

De fato, o vSub é uma região que modula a atividade de neurônios dopaminérgicos de maneira polisináptica, ou seja, que depende de outras regiões encefálicas (Sonnenschein *et al.*, 2020). Nos animais MAM, que tiveram uma diminuição de interneurônios PV+ no vSub ou em animais em que a expressão de PV+ foi silenciada no hipocampo ventral, foi observado um estado hiperativo e uma aumentada resposta à anfetamina, respectivamente, resultante da perda do controle inibitório da atividade celular piramidal (Lodge and Grace, 2007; 2008; Lodge *et al.*, 2009; Boley *et al.*, 2014). O aumento da atividade do vSub resulta em um aumento na atividade de neurônios DA através de um circuito envolvendo o hipocampo ventral, NAc e VP. Além disso, a inativação do hipocampo ventral de animais MAM normaliza a atividade dopaminérgica aberrante (Floresco *et al.*, 2003; Lodge and Grace, 2007). Somado a isso, recentemente foi demonstrado que a ativação por mecanismos de modificação genética especificamente das células PV+ do vSub leva à inibição do efeito da quetamina de aumentar a capacidade de síntese de DA estriatal (Kokkinou *et al.*, 2020). Portanto, esses dados sugerem que uma perda de interneurônios PV+ no hipocampo poderia levar a um aumento da atividade ou responsividade dopaminérgica, consoante com a hiperativação dopaminérgica observada na clínica em pacientes com esquizofrenia.

Ademais, o hipocampo ventral parece ter um importante papel sobre a modulação do mCPF (Jay *et al.*, 1992). Em um modelo de lesão excitotóxica do hipocampo ventral foi observado, além de alterações relacionadas à esquizofrenia, como prejuízo no PPI e memória, alterações anatômicas e neuroquímicas em circuitos cortico-estriatais, como a redução de mRNA para GAD67 e uma maturação anormal dos interneurônios no CPF (Lipska *et al.*, 1995; Lipska *et al.*, 2002; Tseng *et al.*, 2008; O'donnell, 2011; 2012). Além disso, Jodo e colaboradores mostraram que a administração de MK-801 ou PCP diretamente no hipocampo ventral levou à desinibição de projeções para o mCPF, sugerindo que os neurônios do hipocampo ventral com projeções diretas para o mCPF são suscetíveis à ativação por antagonistas do NMDAR (Jodo *et al.*, 2005). Dessa forma, a hiperatividade e desbalanço excitatório-inibitório do hipocampo ventral induzida pela diminuição de interneurônios PV+ poderia afetar a função de outros circuitos, resultando em alterações no sistema dopaminérgico relacionadas à esquizofrenia (Grace, 2016).

Neste trabalho também foi demonstrado o efeito do CBD em reverter a diminuição de interneurônios PV+ induzida por MK-801 no CPF e hipocampo é dependente de receptores 5-HT_{1A} ou CB_2 no hipocampo, mas não no CPF. Este dado vai ao encontro de resultados anteriores publicados pelo nosso grupo nos quais o CBD e da clozapina preveniram a diminuição de interneurônios PV+ no mCPF induzido por MK-801 (Gomes *et al.*, 2014). Além disso, outros modelos também indicam o potencial efeito do CBD sobre interneurônios PV+. Por exemplo, foi observado o efeito do CBD de atenuar os níveis diminuídos de PV+ no hipocampo, mas não no CPF, de animais que receberam poli I:C no período gestacional, um efeito associado a uma melhora cognitiva (Osborne, Solowij, Babic, Lum, Huang*, et al.*, 2019; Osborne, Solowij, Babic, Lum, Newell*, et al.*, 2019). Além disso, em registros eletrofisiológicos intracelulares, foi observado o

efeito local do CBD de aumentar potenciais sinápticos inibitórios e restaurar a excitabilidade prejudicada de membranas de células PV+ em um modelo de epilepsia induzido por ácido caínico. Ademais, nos tecidos que receberam CBD, foi observado uma redução significativa na atrofia e morte de interneurônios PV+ (Khan *et al.*, 2018).

O efeito do CBD observado neste trabalho e nos dados supracitados também foi verificado com a administração de alguns antipsicóticos atípicos. Por exemplo, a lurasidona, um antipsicótico atípico, atenuou a diminuição de PV+ no hipocampo dorsal induzida por um modelo de estresse crônico imprevisível e por um modelo de ativação imune materna (Luoni *et al.*, 2017; Rossetti *et al.*, 2018). Curiosamente, em um modelo utilizando o isolamento social, a clozapina atenuou a diminuição de interneurônios PV+ no CPF PreL e InfraL e na região CA2, CA3 e giro denteado do hipocampo, mas não na região CA1 (Filipović *et al.*, 2018; Todorović *et al.*, 2019). Assim, o efeito do CBD sobre a diminuição de PV+ em diversos modelos experimentais sugere uma ação compartilhada com alguns antipsicóticos atípicos, mas não com antipsicóticos típicos como o haloperidol. Este fármaco, que parece também atenuar a diminuição de PV+ no hipocampo de animais tratados com MK-801, curiosamente levou a uma marcada redução na expressão de PV+ no CPF (Braun *et al.*, 2007).

Além das alterações mencionadas, o efeito do CBD, mas não o da clozapina, sobre a diminuição de PV+ induzida por MK-801 foi observado por até 14 dias após a última injeção de CBD no CPF PreL. Apesar de alguns dados indicarem o possível efeito a longo prazo da risperidona sobre a diminuição de PV+ no hipocampo em um modelo de ativação imune materna, o tratamento com este fármaco não atenuou a diminuição de longo prazo de PV+ no CPF em um modelo baseado na administração de PCP (Mckibben *et al.*, 2010; Piontkewitz *et al.*, 2012). Assim, é possível especular que o CBD poderia induzir modificações

duradouras sobre os interneurônios PV+, diferente dos antipsicóticos atípicos utilizados na clínica, o que poderia ser um diferencial para um possível efeito a longo prazo sobre os sintomas cognitivos da esquizofrenia.

Antipsicóticos atípicos como a clozapina e aripiprazol, entre outros, exibem diferentes potências como agonistas parciais do receptor 5-HT_{1A}, o que poderia estar relacionado com as características diferenciais dessas drogas sobre os sintomas negativos e cognitivos (Schreiber and Newman-Tancredi, 2014; López Hill *et al.*, 2017). Além disso, os resultados de uma meta-análise apoiaram os benefícios da facilitação da neurotransmissão mediada por receptores 5-HT_{1A} como drogas coadjuvantes para melhorar os sintomas da esquizofrenia (Kishi *et al.*, 2013).

Há evidências de que a insuficiência de 5-HT desempenha um papel importante na patogênese dos sintomas negativos e cognitivos da esquizofrenia (Joyce *et al.*, 1993; Abi-Dargham *et al.*, 1997). Consistente com isso, diminuições nos níveis hipocampais de 5-HT foram encontradas em modelos animais de esquizofrenia baseados em ativação imune materna por poli I:C ou LPS (Wang *et al.*, 2009; Winter *et al.*, 2009). Também foi recentemente verificado uma correlação entre mudanças estruturais no hipocampo e no sistema glutamatérgico com a expressão de 5-HT_{1A} em pacientes no primeiro episódio de psicose (Park *et al.*, 2021). Além disso, Dalton e colaboradores mostraram que o tratamento pré-natal com poli I:C causou um aumento de 15-17% no *binding* para receptor 5-HT_{1A} no hipocampo 55, 65 e 90 dias após o nascimento, efeito esse também já demonstrado em cérebros *post-mortem* de pacientes com esquizofrenia (Joyce *et al.*, 1993; Dalton *et al.*, 2012). Assim, podemos levantar a hipótese de que a ativação e aumento do *binding* dos receptores 5-HT_{1A} poderia refletir um mecanismo adaptativo para compensar a diminuição dos níveis de 5-HT em modelos animais de esquizofrenia e possivelmente em

pacientes com este transtorno. Além disso, já foi demonstrado que o agonismo do receptor 5-HT_{1A} associado ao antagonismo de receptores 5-HT_{2A} parece ser fundamental na regulação de oscilações beta e gama do hipocampo (Gener *et al.*, 2019). Considerando que o receptor 5-HT_{1A} é expresso em interneurônios PV+ no hipocampo, substâncias que facilitam os efeitos mediados por receptores 5-HT_{1A}, como o CBD, poderiam estar compensando o desbalanço neuroquímico de 5-HT no hipocampo e modulando a expressão de PV+ ao nível de regulação de disparos inibitórios-excitatórios (Aznar *et al.*, 2003; Russo *et al.*, 2005). Entretanto, ainda não está elucidado o efeito do CBD via receptor 5-HT_{1A} sobre os interneurônios PV+ e sua influência na regulação do controle das oscilações moduladas pelo hipocampo.

Além do sistema serotoninérgico, outros sistemas também poderiam estar envolvidos no mecanismo de ação pelo qual o CBD exerce o seu efeito tipo-antipsicótico, como o sistema endocanabinoide. Apesar do efeito comportamental do CBD avaliado neste trabalho ter sido bloqueado pelo AM630 apenas no teste de hiperlocomoção induzida por anfetamina, mas não sobre os prejuízos induzidos por MK-801, o efeito do CBD de atenuar a diminuição do número de interneurônios PV+ induzido por MK-801 foi bloqueada pelo AM630, assim como pelo WAY100635. Entretanto, assim como com o WAY100635, este efeito foi observado somente nas regiões vCA1 e vSub, mas não no CPF PreL. Como já mencionado, apesar do CBD ter pouca afinidade pelos receptores CB_1 e CB_2, sua ação poderia ser mediada via aumento de AEA pelo bloqueio da enzima FAAH (Bisogno *et al.*, 2001). Apesar de existirem evidências indicando que o receptor CB_2 é expresso em determinados tipos de neurônios, além de células da glia (Svízenská *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2017), não existem ainda estudos indicando sua expressão em interneurônios PV+. Assim, possivelmente, o bloqueio do efeito do CBD de atenuar a diminuição de interneurônios PV+ pelo

AM630 seja por um mecanismo indireto, possivelmente por alterações gliais que serão discutidas posteriormente.

O presente trabalho também avaliou a expressão de células PV+ co-localizadas com PNNs e a densidade destas que estão co-localizadas com células PV+. Foi observada uma diminuição causada pelo MK-801, que foi atenuada pelo tratamento com CBD no mCPF PreL e no vCA1 e vSub do hipocampo. Curiosamente, este efeito do CBD sobre as células PV+ co-localizadas com PNNs e a densidade destas em células co-localizadas com PV+ foi bloqueado pelos antagonistas AM630 ou WAY100635 no vCA1 e vSub, mas não no CPF PreL. Além disso, o número total de células co-localizadas com PNNs e a quantidade total de fluorescência para a marcação de PNNs não foi alterada em nenhuma região pelos tratamentos.

Alterações em PNNs co-localizadas com PV+ também foram encontradas nos modelos de ativação imune materna (MIA) e *double-hit,* além de modelos baseados no antagonismo de NMDAR (Paylor *et al.*, 2016; Fujikawa *et al.*, 2020; Garcia-Mompo *et al.*, 2020). Entretanto, nestes trabalhos foi contabilizado a quantidade de células PV+ co-localizadas com marcadores de PNNs. Considerando que na maioria dos modelos animais de esquizofrenia há uma diminuição do número de células PV+ nas regiões envolvidas com a fisiopatologia deste transtorno, a diminuição do número de células PV+ co-localizadas com PNNs poderia ser uma consequência lógica da diminuição do número de células PV+ totais. Por esse motivo, neste trabalho, foi analisado a quantidade de fluorescência de WFA (marcador utilizado para quantificar PNNs) especificamente em células PV+, demonstrando assim que a diminuição de PNNs em células PV+ estava associada a este tipo celular em específico, uma vez que a quantidade total de fluorescência de WFA não foi alterada pelos tratamentos.

Como já mencionado na parte introdutória, as alterações em PNNs co-localizadas com interneurônios GABAérgicos é um achado comum em pacientes com esquizofrenia (Pantazopoulos *et al.*, 2010; Mauney *et al.*, 2013; Enwright *et al.*, 2016). Os interneurônios PV+, por serem expostos a uma alta demanda metabólica pelo seu perfil eletrofisiológico de rápido disparo (do inglês: *fast-spiking*), são mais vulneráveis a desregulação redox. Assim, os interneurônios PV+ imaturos que não possuem PNNs poderiam estar mais expostos ao estresse oxidativo do que os neurônios PV+ maduros recobertos por PNNs (Brückner *et al.*, 1993; Härtig *et al.*, 1999). Shah e colaboradores observaram que a degradação das PNNs no hipocampo ventral aumentou a atividade do hipocampo e de neurônios dopaminérgicos. Além disso, os animais que sofreram a degradação das PNNs exibiram uma resposta locomotora intensificada à anfetamina (Shah and Lodge, 2013), consistente com a resposta aumentada a estimulantes psicomotores observada em pacientes com esquizofrenia. Além disso, animais que foram submetidos ao modelo de *double-hit* e receberam THC, além de terem uma diminuição no número de células PV+ co-localizadas com PNNs, apresentam um prejuízo na relação entre marcadores inibitórios e excitatórios, sugerindo um desbalanço excitatório-inibitório cortical (Garcia-Mompo *et al.*, 2020).

Não há evidências de um possível efeito de antipsicóticos sobre as PNNs co-localizadas em interneurônios PV+. Entretanto, o CBD, atenuou o prejuízo induzido por MK-801 na densidade de PNNs em interneurônios PV+ no vCA1 e vSub do hipocampo e CPF PreL, indicando que este poderia ser um mecanismo protetor que levaria ao reequilíbrio do balanço excitatório-inibitório pela proteção iônica conferida pelas PNNs aos interneurônios PV+.

Faltam evidências na literatura relacionando a diminuição de PNNs em interneurônios PV+ com mecanismos envolvendo os receptores 5-HT_{1A} e CB_2.

Entretanto é conhecida a relação da ativação microglial sobre a degradação de PNNs, que poderia levar a uma diminuição dos interneurônios PV+. A ativação microglial, por sua vez, poderia envolver mecanismos via 5-HT_{1A} ou CB_2.

Nesse sentido, os resultados obtidos neste trabalho mostraram que o aumento da ativação microglial induzida pelo tratamento com MK-801 foi atenuada pelo tratamento com CBD. O pré-tratamento com AM630 ou WAY100635 bloqueou este efeito do CBD em todas as regiões avaliadas (PreL, InfraL,vCA1 e vSub).

As alterações em células da micróglia têm sido observadas em pacientes com esquizofrenia. Estas alterações parecem estar envolvidas com processos neuroinflamatórios relacionadas à fisiopatologia da esquizofrenia (Radewicz *et al.*, 2000; Schnieder and Dwork, 2011; Monji *et al.*, 2013; Comer *et al.*, 2020). Por exemplo, estudos de neuroimagem empregando a tomografia por emissão de pósitrons mostraram um aumento da ativação da microglia no cérebro de pacientes com esquizofrenia (Van Berckel *et al.*, 2008; Doorduin *et al.*, 2009). Além disso, evidências indicam uma associação entre a ativação da microglia e os sintomas negativos e os déficits cognitivos neste transtorno (Levkovitz *et al.*, 2010; Ribeiro-Santos *et al.*, 2014).

A microglia é extremamente dinâmica e muda sua morfologia de maneira dependente da sua função. Em um ambiente normal, a microglia apresenta morfologia distinta com corpo celular pequeno, arredondado e com numerosas ramificações. Após sua ativação em resposta a vários estímulos, a microglia pode adotar diferentes fenótipos morfológicos, caracterizados por alterações da estrutura celular e redução do comprimento das ramificações, ficando com uma estrutura ameboide (Wake *et al.*, 2011). Apesar da ativação da microglia ser uma resposta imune necessária e protetora contra diversos danos, a sua ativação excessiva tem sido associada ao desenvolvimento de inúmeras doenças

(Graeber *et al.*, 2011; Aguzzi *et al.*, 2013).

Diversos modelos animais de esquizofrenia apresentaram ativação microglial em áreas relacionadas com a fisiopatologia deste transtorno, inclusive, os modelos baseados em antagonismo de NMDAR, como também demonstrado nos resultados do presente trabalho (Nakki *et al.*, 1996; Arif *et al.*, 2007; Chamera *et al.*, 2021; Mousaviyan *et al.*, 2021; Shelton *et al.*, 2021). Curiosamente, antipsicóticos atípicos parecem reverter a ativação microglial. Por exemplo, Ribeiro e colaboradores mostraram que a administração repetida de clozapina reverteu os déficits cognitivos e a ativação da microglia no hipocampo e CPF observados em um modelo animal de esquizofrenia baseado em alterações no neurodesenvolvimento (Ribeiro *et al.*, 2013). Além disso, recentemente, foi demonstrado o efeito da amilsulprida de reduzir ativação microglial associada a uma melhora cognitiva em animais submetidos a um protocolo de estresse crônico imprevisível (Mohamed *et al.*, 2020). De acordo com essa proposta, a adição de minociclina, uma tetraciclina que que é um potente inibidor da ativação da microglia, ao tratamento antipsicótico melhorou os sintomas negativos e cognitivos de pacientes com esquizofrenia (Levkovitz *et al.*, 2010; Chaudhry *et al.*, 2012). Ademais, a adição de drogas anti-inflamatórias não esteroidais ao tratamento antipsicótico parece resultar em melhor resposta terapêutica (Müller *et al.*, 2013; Müller, 2019).

Considerando que o processo inflamatório leva a um aumento de produção de mediadores e processos metabólicos mitocondriais que levam à geração de radicais livres, o efeito antioxidante das drogas antipsicóticas parece ser importante para a proteção dos neurônios contra o estresse oxidativo induzido pela ativação microglial (Caruso *et al.*, 2020). Nessa perspetiva, os antipsicóticos atípicos como a risperidona, clozapina e olanzapina, exercem uma forte atividade antioxidante em modelos experimentais de esquizofrenia

reduzindo o estresse oxidativo, diminuindo a produção de radicais livres, e protegendo os neurônios contra o estresse oxidativo induzidos pela microglia (Caruso *et al.*, 2020). Ademais, os antipsicóticos de segunda geração também melhoram o *status* antioxidante e reduzem a peroxidação lipídica em pacientes com esquizofrenia (Zhang *et al.*, 2003; Caruso *et al.*, 2020).

Dados anteriores do nosso grupo demonstraram que o tratamento repetido com MK-801 aumentou a ativação microglial no mCPF, giro denteado e CA1 dorsal, que foi prevenido pelo tratamento concomitante com CBD ou clozapina (Gomes *et al.*, 2015). Nos resultados do presente trabalho, demonstramos que o CBD atenuou os efeitos do MK-801, após o final do tratamento com este antagonista de NMDAR, sobre a ativação microglial no PreL, InfraL, vCA1 e vSub. Estes resultados indicam que o CBD, além de prevenir, possivelmente é capaz de reverter, uma vez estabelecido, a ativação microglial produzido pelo bloqueio crônico de NMDAR. Neste contexto, evidências indicam que o CBD também induz efeitos anti-inflamatórios e neuroprotetores (Scarante *et al.*, 2020). Por exemplo, em um modelo animal de doença de Alzheimer, o CBD atenuou o aumento da expressão de fatores que contribuem em processos neuroinflamatórios. Além disso, os efeitos do CBD sobre prejuízos cognitivos foram associados a uma atenuação na ativação microglial (Esposito *et al.*, 2007; Martín-Moreno *et al.*, 2011). Um trabalho recente do nosso grupo demonstrou que o CBD diminuiu a ativação microglial induzida pelo uso crônico do haloperidol. Em cultura primária da microglia, foi demonstrado que o CBD impede o aumento da expressão de Iba-1 e na produção microglial de espécies reativas de oxigênio induzido por LPS (Sonego *et al.*, 2018).

A ativação microglial por citocinas, fatores de crescimento ou espécies reativas de oxigênio, leva à liberação de MMPs para o meio extracelular as quais,

por sua vez, podem levar a alterações na formação e desenvolvimento da estruturas de matriz extracelular das PNNs, alterações na poda sináptica e na mielinização (Bitanihirwe and Woo, 2020). Wegrzyn e colaboradores demonstraram que o tratamento com poli I:C em cultura de células microgliais induziu a expressão e secreção de diferentes citocinas pertencentes à família de quimiocinas bem como interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral-α (TNF-α) e MMPs. Neurônios embrionários que foram tratados por 24 horas com meio condicionado microglial tiveram uma diminuição de PNNs acompanhada por um aumento significativo de sinapses glutamatérgicas e uma diminuição dos números de sinapses GABAérgicas em interneurônios co-localizados com PNNs. Este resultados revelam um forte impacto dos fatores secretados pela microglia na integridade das PNNs, na plasticidade sináptica e nas propriedades eletrofisiológicas dos neurônios em cultura (Wegrzyn *et al.*, 2021). Em camundongos, foi recém demonstrado que o tratamento com minociclina atenua a diminuição de células PV+, o prejuízo na neurotransmissão GABAérgica e os deficits cognitivos em um modelo de esquizofrenia induzido por poli I:C, indicando que a atenuação da ativação microglial poderia exercer um efeito direto sobre os interneurônios PV+ (Xia *et al.*, 2020). Nesse sentido, podemos especular, de acordo com os resultados do presente trabalho, que a ativação microglial observada nos animais tratados com MK-801 poderia estar envolvida com a diminuição da quantidade de fluorescência de PNNs co-localizadas com interneurônios PV+. Outrossim, o CBD, por reverter a ativação microglial, poderia ter levado a uma consequente diminuição da degradação de PNNs em interneurônios PV+, resultando não somente na regeneração de PNNs co-localizadas com PV+ como também a uma reversão da diminuição da expressão de PV+ induzida por MK-801. Entretanto, ainda não está claro a relação causal da ativação microglial com a atenuação dos efeitos do MK-801 sobre as PNNs e

PV+.

A 5-HT parece exercer um papel modulador em células da micróglia visto que ativação de receptores de 5-HT promove a motilidade microglial induzida por lesão, mas atenua a atividade fagocítica e promove a modulação da secreção de exossomos das células da microglia (Krabbe *et al.*, 2012; Glebov *et al.*, 2015). Apesar de haver evidências da expressão de receptores serotoninérgicos em células da micróglia (5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{3B} 5-HT_{5A} e 5-HT_{7}), não parece ocorrer uma considerável expressão do receptor 5-HT_{1A} nestas células (Krabbe *et al.*, 2012; Herr *et al.*, 2017). Além disso, as células gliais são capazes de modular os níveis extracelulares de serotonina pela expressão do transportador de serotonina (Inazu *et al.*, 2001). Nesse sentido, foi demonstrado nos resultados deste trabalho que os antagonistas dos receptores 5-HT_{1A} ou CB_2 bloquearam o efeito do CBD sobre a ativação microglial induzida por MK-801. Considerando o papel da modulação de receptores 5-HT_{1A} sobre a liberação de 5-HT no CPF e hipocampo (Lladó-Pelfort *et al.*, 2012), o efeito modulador do CBD sobre a ativação microglial poderia ser indireto, por regular a liberação de 5-HT a qual, por sua vez, modularia a reatividade microglial.

Corroborando esta hipótese, um dos mecanismos emergentes que procura associar a atividade pró-inflamatória aumentada com a indução de comprometimento afetivo emocional e social é o metabolismo central do triptofano (Müller and Schwarz, 2007). O triptofano é um aminoácido essencial necessário para a biossíntese de 5-HT. Fatores pró-inflamatórios aumentados no sistema nervoso central levam ao incremento na degradação do triptofano, reduzindo assim a biodisponibilidade do triptofano para a síntese de 5-HT (Müller and Schwarz, 2007). Consistente com isso, diminuições nos níveis hipocampais de 5-HT foram relatadas em camundongos após poli I:C pré-natal e exposição à influenza humana (Fatemi *et al.*, 2008; Winter *et al.*, 2009) e em roedores após

ativação do sistema imunológico induzida por tratamento com LPS (Wang *et al.*, 2009). Ainda, o tratamento com poli I:C, por si só, teve efeitos expressivos sobre o *binding* do receptor 5-HT_{1A} no hipocampo (Dalton *et al.*, 2012). O CBD, via 5-HT_{1A}, poderia regular a modulação microglial da disponibilidade de triptofano para a renovação de 5-HT.

A microglia, em sua forma não reativa, sintetiza os endocanabinoides 2-AG e AEA e expressa os receptores de canabinoides CB_1 e CB_2 em níveis constitutivamente baixos. Após a ativação, a microglia aumenta significativamente a síntese de endocanabinoides e regula positivamente a expressão dos receptores CB_2, que promovem um fenótipo microglial protetor ao aumentar a produção de fatores neuroprotetores e reduzir a produção de fatores pró-inflamatórios (Bie *et al.*, 2018; Duffy *et al.*, 2021).

Como já mencionado, o CBD, ainda que não seja um agonista dos receptores CB_1 e CB_2, inibe a enzima FAAH levando ao aumento de AEA (Bisogno *et al.*, 2001). Nesse contexto, considerando que a microglia produz aproximadamente 20 vezes mais endocanabinoides do que neurônios e outras células gliais *in vitro*, e pode ser a principal fonte celular de endocanabinoides em condições neuroinflamatórias, o bloqueio da enzima FAAH pelo CBD poderia levar a um aumento da AEA disponível para se ligar nos receptores CB_2 induzindo os efeitos anti-inflamatórios supramencionados (Walter *et al.*, 2003; Duffy *et al.*, 2021). Dessa forma, o bloqueio do efeito do CBD por antagonistas de receptores 5-HT_{1A} e CB_2 poderia envolver distintos alvos que poderiam interagir, eventualmente levando a efeito sinérgico. Além disso, o CBD tem afinidade por outros receptores como TRPV1, PPARγ, entre outros, que também poderiam contribuir para seu efeito antipsicótico.

Região	Alteração	Tratamento					
		Veí-Veí-Veí	Veí-Veí-CBD	MK801-Veí-Veí	MK801-Veí-CBD	MK801-AM630-CBD	MK801-WAY100635-CBD
CPF PreL	PV+	-	↓	↓	-	-	-
	PNN co-loc com PV	-	-	↓	-	-	-
	PV+PNN	-	-	↓	-	-	-
	Microglia reativa	-	-	↑	-	↑	↑
		Veí-Veí-Veí	Veí-Veí-CBD	MK801-Veí-Veí	MK801-Veí-CBD	MK801-AM630-CBD	MK801-WAY100635-CBD
CPF InfraL	PV+	-	-	-	-	-	-
	PNN co-loc com PV	-	-	-	-	-	-
	PV+PNN	-	-	-	-	-	-
	Microglia reativa	-	-	↑	-	↑	↑
		Veí-Veí-Veí	Veí-Veí-CBD	MK801-Veí-Veí	MK801-Veí-CBD	MK801-AM630-CBD	MK801-WAY100635-CBD
Hipocampo vCA1	PV+	-	-	↓	-	↓	↓
	PNN co-loc com PV	-	-	↓	-	↓	↓
	PV+PNN	-	-	↓	-	↓	↓
	Microglia reativa	-	-	↑	-	↑	↑
		Veí-Veí-Veí	Veí-Veí-CBD	MK801-Veí-Veí	MK801-Veí-CBD	MK801-AM630-CBD	MK801-WAY100635-CBD
Hipocampo vSub	PV+	-	-	↓	-	↓	↓
	PNN co-loc com PV	-	-	↓	-	↓	↓
	PV+PNN	-	-	↓	-	↓	↓
	Microglia reativa	-	-	↑	-	↑	↑

Tabela 1. Comparação entre os efeitos observados de acordo com as estruturas analisadas e os grupos de tratamento. CPF, córtex pré-frontal; PreL, pré límbico; InfraL, infra límbico; vCA1, área ventral do CA1 do hipocampo; vSub, subículo ventral do hipocampo; PV+, células parvalbumina positivas; PNN, redes perineuronais; co-loc, co-localizadas; Veí, veículo; CBD, canabidiol; ↑, aumentou; ↓, diminuiu.

Além dos processos celulares acima discutidos, mecanismos neuroquímicos também estão envolvidos no efeito dos antipsicóticos. Os antipsicóticos atípicos, mas não os típicos, aumentam a liberação de DA no mCPF, um efeito relacionado ao potencial destes antipsicóticos de melhorar os

sintomas cognitivos e negativos da esquizofrenia (Díaz-Mataix *et al.*, 2005). Essa relação entre DA e cognição também pode ser observada em pacientes com esquizofrenia que, entre outras anormalidades anatômicas e neuroquímicas no CPF, apresentam uma inervação dopaminérgica reduzida e possuem um baixo turnover de DA, o que foi associado a um prejuízo na recordação verbal (Lewis and Lieberman, 2000; Oades *et al.*, 2005).

Foi demonstrado neste trabalho que o CBD injetado por via sistêmica ou local aumentou a concentração de DA no mCPF. Este efeito foi bloqueado pelo pré-tratamento com WAY100635. Neste sentido, já foi verificado que antipsicóticos atípicos como clozapina e olanzapina, mas não o haloperidol, administrados sistemicamente aumentam a concentração de DA no mCPF em roedores e macacos Rhesus (Rollema *et al.*, 1997; Kuroki *et al.*, 1999; Youngren *et al.*, 1999). Além disso, quando estes antipsicóticos atípicos foram administrados por diálise reversa no mCPF, observou-se um aumento expressivo na concentração de DA extracelular comparado ao nível basal (Bortolozzi *et al.*, 2010).

Antipsicóticos atípicos compartilham uma maior afinidade *in vitro* e ocupação *in vivo* de receptores 5-HT_{2A} em relação aos D_2 de DA (Meltzer *et al.*, 1989; Stockmeier *et al.*, 1993; Nyberg *et al.*, 1998). Além disso, possuem afinidade por outros receptores serotoninérgicos como 5-HT_{1A}, 5-HT_{2c}, 5-HT_6 e 5-HT_7 (Meltzer and Massey, 2011). Apesar da estimulação de receptores 5-HT_{2A} no CPF aumentar a atividade de neurônios piramidais que se projetam para neurônios dopaminérgicos do VTA, levando a um aumento na liberação de DA na via mesocortical, a atividade agonista em receptores 5-HT_{1A} pelos antipsicóticos atípicos parece contribuir para sua aparente eficácia superior no tratamento de sintomas não-psicóticos (Bantick *et al.*, 2001; Sumiyoshi *et al.*, 2001; Puig *et al.*, 2003; Bortolozzi *et al.*, 2005; Puig *et al.*, 2005; Meltzer and

Sumiyoshi, 2008). Assim, como visto anteriormente, um estudo de diálise inversa com antipsicóticos atípicos no CPF mostrou que o aumento de DA nesta região foi produzido igualmente em animais selvagens ou KO para o receptor 5-HT_{2A} enquanto esteve ausente em animais KO para o receptor 5-HT_{1A}. Neste mesmo estudo, em um protocolo de silenciamento de receptores acoplados a proteína G, quando os receptores 5-HT_{1A} estão protegidos do silenciamento ocorreu aumento de DA induzido por antipsicóticos. No grupo de animais onde somente o 5-HT_{2A} foi protegido, não houve aumento de DA, indicando que a liberação de DA induzida por antipsicóticos atípicos no CPF parece depender de receptores 5-HT_{1A}, mas não de 5-HT_{2A} (Bortolozzi *et al.*, 2010). Além disso, já foi demonstrado que o 8-OH-DPAT, mas não o haloperidol ou MDL 100, um agonista de receptores 5-HT_{2A}, aumenta a liberação de DA no CPF, efeito este, bloqueado pela administração prévia de WAY100635 (Rollema *et al.*, 2000).

Estes resultados vão ao encontro dos achados do presente trabalho aonde o efeito sistêmico do CBD de aumentar a concentração de DA no CPF foi bloqueado pelo antagonismo de receptores 5-HT_{1A}, indicando que o CBD pode ter o perfil neuroquímico compatível com o que é observado com antipsicóticos atípicos utilizados na clínica. Entretanto, algumas particularidades dos resultados encontrados devem ser destacadas. Um ponto interessante é o fato da administração sistêmica do CBD aumentar cerca de 60% dos níveis de DA comparado a concentração basal, um efeito que perdurou por aproximadamente 60 minutos após a injeção, enquanto o aumento observado por antipsicóticos atípicos administrados sistemicamente foi de cerca de 300% em relação aos valores basais e perduraram por até 240 minutos após a injeção (Díaz-Mataix *et al.*, 2005). Essa diferença fica ainda mais expressiva quando comparamos a administração local intra-CPF de CBD por diálise reversa, que aumentou em cerca de 30% a concentração de DA nos primeiros 40 minutos de infusão com

retorno ao normal após. No trabalho de Bortolozzi e colaboradores, a administração local de antipsicóticos atípicos causou um aumento de cerca de 400% em relação aos valores basais e perdurou durante todo o tempo em que as drogas foram infundidas (240 minutos) (Bortolozzi *et al.*, 2010).

De acordo com essas diferenças podemos especular que o CBD, apesar de aumentar a DA no mCPF, possui um perfil distinto comparado com o observado com os antipsicóticos atípicos. Considerando que as comparações realizadas utilizaram com animais saudáveis, o CBD poderia ter tido um efeito modulador, ou seja, aumentou os níveis de DA e logo após, possibilitou o retorno aos níveis basais, uma vez que estes não estavam alterados. Entretanto, para testar a hipótese de que o CBD poderia modular a via mesocortical de acordo com a atividade desta circuitaria mais estudos necessitam ser realizados. Contudo, essa diferença do perfil do CBD na modulação de vias dopaminérgicas corticais poderia estar refletindo características especiais do efeito antipsicótico do CBD comparado com as drogas já utilizadas na clínica.

Outro ponto relevante que podemos destacar é o de que os antipsicóticos atípicos, quando administrados por diálise reversa, produziram um aumento ainda maior na liberação de DA comparado com a administração sistêmica. Por exemplo, a clozapina por diálise reversa aumentou cerca de 450% os níveis de DA enquanto a administração sistêmica levou a um aumento de cerca de 300% comparado aos níveis basais (Díaz-Mataix *et al.*, 2005; Bortolozzi *et al.*, 2010). No caso dos resultados obtidos com CBD, o efeito local do CBD foi cerca de 50% menor quando administrado por diálise reversa comparado à administração sistêmica. Podemos sugerir que este caso não dependeu da dose administrada uma vez que uma dose maior ou menor não gerou alterações nos níveis basais de DA. Assim, considerando que este efeito foi bloqueado pela administração prévia de WAY100635, podemos especular que aumento dos níveis de DA no

mCPF causado pelo CBD poderia depender, ao menos parcialmente, da ativação de receptores 5-HT_{1A} em outras estruturas.

O CPF recebe inervações de diversas estruturas, incluindo projeções serotoninérgicas dos núcleos da rafe (Azmitia and Segal, 1978). Assim, modulação do disparo serotoninérgico via receptores 5-HT_{1A} nos corpos celulares da rafe poderiam modular a liberação de 5-HT no CPF, o qual, por sua vez, poderia influenciar, por meio da modulação direta e indireta, a atividade dos neurônios piramidais no CPF. Como já discutido, esta estrutura expressa distintos receptores serotoninérgicos em neurônios piramidais e interneurônios GABAérgicos (Masana *et al.*, 2012).

Assim, visto que os resultados obtidos no presente trabalho indicam um efeito do CBD sobre prejuízos comportamentais, diminuição de interneurônios PV+ e ativação microglial, este composto, poderia estar modulando processos celulares por distintos mecanismos, como discutido anteriormente. Ainda, as modulações neuroquímicas observadas agudamente poderiam envolver a modulação pelo CBD de interneurônios PV+, micróglia e outros tipos celulares, levando a alterações na circuitaria de diversas estruturas. De fato, este composto parece ter um efeito promissor como antipsicótico com mecanismos tão complexos quanto o próprio transtorno, no entanto, outros estudos são necessários para desvendar mais peças deste enigmático quebra-cabeça.

Conclusão

7 CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que a administração repetida de CBD (30mg/kg) atenuou os efeitos induzidos pelo tratamento crônico com MK-801 no prejuízo cognitivo avaliado pelos testes de ROC e ROL, assim como na diminuição do número de células PV+, PNNs em interneurônios PV+ e na ativação microglial. Estes efeitos foram bloqueados por antagonistas dos receptores CB_2 e/ou 5-HT_{1A}, dependendo do teste e da região encefálica observada. Estes dados confirmam e estendem resultados prévios, indicando que o efeito tipo-antipsicótico do CBD depende do engajamento de diferentes mecanismos moleculares e celulares

Além disso, o CBD administrado por via sistêmica ou local foi capaz de aumentar os níveis de DA no mCPF de maneira dependente de receptores 5-HT_{1A}, indicando que este fitocanabinóide apresenta características neuroquímicas semelhantes às observadas por antipsicóticos atípicos. Os resultados sugerem que parte da atividade antipsicótica deste composto poderia envolver a restauração do tônus dopaminérgico cortical em pacientes com esquizofrenia.

Anexos

Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA-FMRP / CEUA-PUSP
Avenida Bandeirantes, 3900 - Ribeirão Preto-SP
CEP 14049-900
Telefones: (16)3602-3301 e 3602-4469

PUSP- RP

CERTIFICADO DE CAPACITAÇÃO TEÓRICA PARA USO ÉTICO DE ANIMAIS

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (CEUA-FMRP) e da Prefeitura do Campus de Ribeirão de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (CEUA-PSUP) em parceria com a Comissão Interna de Prevenção de Acidentes (CIPA-FMRP) certifica que o aluno Naielly Rodrigues da Silva, apresentou rendimento considerado suficiente em prova teórica básica referente ao curso Ética no Uso de Animais e Segurança no Ambiente de Trabalho. Ele está autorizado a progredir para o próximo módulo de capacitação prática que deverá ser realizado no próprio biotério e/ou laboratório de experimentação/ensino, sob responsabilidade do orientador e/ou do(s) responsável(is) pelo(s) biotério(s). Ao final desta nova etapa, ele deverá apresentar a esta CEUA um checklist preenchido certificando a aquisição de habilidades necessárias para execução do seu projeto, devidamente assinada pelo orientador e pelos responsáveis pelo biotério.

Ribeirão Preto, 1 março 2016.

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais da FMRP/PUSP

605f2cd0-dfdf-11e5-b694-a590f842abf3

CS Digitalizado com CamScanner

Nós, coordenadores do projeto e responsáveis pelo biotério, certificamos à esta CEUA que o aluno Naielly Rodrigues da Silva adquiriu e comprovou as habilidades práticas básicas para o uso de animais, proteção e prevenção de acidentes abaixo assinaladas.

☐ Noções gerais de transporte, manejo e contenção de espécies convencionais;

☐ Noções gerais de reprodução, sexagem e pesagem de espécies convencionais;

☐ Noções gerais de vias de inoculação em espécies convencionais (vasos da cauda, plexo retrorbital, intraperitoneal, intramuscular, oral por gavagem, subcutânea, veia peniana, dentre outros);

☐ Noções gerais de vias de coleta de sangue em espécies convencionais (plexo submandibular, intracardíaca, vasos da cauda, aorta abdominal, veia cava, dentre outros);

☐ Noções gerais de anestesia injetável e inalatória em espécies convencionais;

☐ Noções gerais de indução de morte (eutanásia) em espécies convencionais;

☐ Noções gerais de utilização de gaioleiro metabólico, rack ventilado e fluxo laminar para espécies convencionais;

☐ Boas práticas de higiene e segurança nas salas experimentais e biotério.

Ribeirão Preto, 1 março 2016

Responsável pelo biotério (carimbo e assinatura) _____ Prof. Dr Francisco Silveira Guimarães Chefe do Depto de Farmacologia FMRP/USP

Responsável pelo projeto (carimbo e assinatura) _____

CS Digitalizado com CamScanner

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo para Uso de Animais em Experimentação **nº 145/2015**, sobre o projeto intitulado *"Avaliação dos efeitos induzidos pelo tratamento agudo e repetido com canabidiol sobre as alterações comportamentais em um modelo de esquizofrenia baseado no antagonismo dos receptores NMDA"*, sob a responsabilidade do **Professor Doutor Francisco Silveira Guimarães** está de acordo com os Princípios Éticos em Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi **APROVADO** em reunião de 02 de dezembro de 2015.

We certify that the protocol ***nº* 145/2015**, entitled ***"Evaluation of the effects induced by acute and repeated cannabidiol treatment on behavioral changes in a model of schizophrenia based on antagonism of NMDA receptors"***, is in accordance with the Ethical Principles in Animal Research adopted by the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA) and was approved by the Local Animal Ethical Committee from the Ribeirão Preto Medical School of the University of São Paulo in *12/02/2015*.

Ribeirão Preto, 02 de dezembro de 2015.

Prof. Dr. Fernando Silva Ramalho
Presidente da CEUA – FMRP – USP

Digitalizado com CamScanner

Referências Bibliográficas

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOLMALEKY, H. M. et al. Hypermethylation of the reelin (RELN) promoter in the brain of schizophrenic patients: a preliminary report. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet,** v. 134B, n. 1, p. 60-6, Apr 2005. ISSN 1552-4841. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15717292 >.

ABEKAWA, T. et al. Prenatal exposure to an NMDA receptor antagonist, MK-801 reduces density of parvalbumin-immunoreactive GABAergic neurons in the medial prefrontal cortex and enhances phencyclidine-induced hyperlocomotion but not behavioral sensitization to methamphetamine in postpubertal rats. **Psychopharmacology (Berl),** v. 192, n. 3, p. 303-16, Jun 2007. ISSN 0033-3158. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17340116 >.

ABI-DARGHAM, A. et al. The role of serotonin in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci,** v. 9, n. 1, p. 1-17, 1997. ISSN 0895-0172. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9017523 >.

ADAMS , R.; HUNT , M.; CLARK, J. H. **Structure of Cannabidiol, a Product Isolated from the Marihuana Extract of Minnesota Wild Hemp. I**. J*. Am. Chem. Soc.*, p.196-200. 1940

ADELL, A.; ARTIGAS, F. The somatodendritic release of dopamine in the ventral tegmental area and its regulation by afferent transmitter systems. **Neurosci Biobehav Rev,** v. 28, n. 4, p. 415-31, Jul 2004. ISSN 0149-7634. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15289006 >.

AGUZZI, A.; BARRES, B. A.; BENNETT, M. L. Microglia: scapegoat, saboteur, or something else? **Science,** v. 339, n. 6116, p. 156-61, Jan 2013. ISSN 1095-9203. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23307732 >.

AL-DIWANI, A. et al. The psychopathology of NMDAR-antibody encephalitis in adults: a systematic review and phenotypic analysis of individual patient data. **Lancet Psychiatry,** v. 6, n. 3, p. 235-246, 03 2019. ISSN 2215-0374. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30765329 >.

ALVIR, J. M. et al. Clozapine-induced agranulocytosis. Incidence and risk factors in the United States. **N Engl J Med,** v. 329, n. 3, p. 162-7, Jul 1993. ISSN 0028-4793. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8515788 >.

AMARGÓS-BOSCH, M. et al. Co-expression and in vivo interaction of serotonin1A and serotonin2A receptors in pyramidal neurons of prefrontal cortex. **Cereb Cortex,** v. 14, n. 3, p. 281-99, Mar 2004. ISSN 1047-3211. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14754868 >.

ANDREASEN, N. C. The mechanisms of schizophrenia. **Curr Opin Neurobiol,** v. 4, n. 2, p. 245-51, Apr 1994. ISSN 0959-4388. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8038584 >.

_____. Symptoms, signs, and diagnosis of schizophrenia. **Lancet,** v. 346, n. 8973, p. 477-81, Aug 1995. ISSN 0140-6736. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7637483 >.

ANTONOUDIOU, P. et al. Parvalbumin and Somatostatin Interneurons Contribute to the Generation of Hippocampal Gamma Oscillations. **J Neurosci,** v. 40, n. 40, p. 7668-7687, 09 2020. ISSN 1529-2401. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32859716 >.

ARACIL-FERNÁNDEZ, A. et al. Decreased cocaine motor sensitization and self-administration in mice overexpressing cannabinoid CB_2 receptors. **Neuropsychopharmacology,** v. 37, n. 7, p. 1749-63, Jun 2012. ISSN 1740-634X. Available at: <

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22414816 >.

ARANEDA, R.; ANDRADE, R. 5-Hydroxytryptamine2 and 5-hydroxytryptamine 1A receptors mediate opposing responses on membrane excitability in rat association cortex. **Neuroscience,** v. 40, n. 2, p. 399-412, 1991. ISSN 0306-4522. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1851255 >.

ARBORELIUS, L. et al. The 5-HT1A receptor selective ligands, (R)-8-OH-DPAT and (S)-UH-301, differentially affect the activity of midbrain dopamine neurons. **Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol,** v. 347, n. 4, p. 353-62, Apr 1993. ISSN 0028-1298. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8510763 >.

_____. (R)-8-OH-DPAT preferentially increases dopamine release in rat medial prefrontal cortex. **Acta Physiol Scand,** v. 148, n. 4, p. 465-6, Aug 1993. ISSN 0001-6772. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8213201 >.

ARIF, M. et al. Suppressive effect of clozapine but not haloperidol on the increases of neuropeptide-degrading enzymes and glial cells in MK-801-treated rat brain regions. **Neurosci Res,** v. 57, n. 2, p. 248-58, Feb 2007. ISSN 0168-0102. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17141345 >.

ASHBY, C. R.; EDWARDS, E.; WANG, R. Y. Electrophysiological evidence for a functional interaction between 5-HT1A and 5-HT2A receptors in the rat medial prefrontal cortex: an iontophoretic study. **Synapse,** v. 17, n. 3, p. 173-81, Jul 1994. ISSN 0887-4476. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7974200 >.

AZMITIA, E. C.; SEGAL, M. An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. **J Comp Neurol,** v. 179, n. 3, p. 641-67, Jun 1978. ISSN 0021-9967. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/565370 >.

AZNAR, S. et al. The 5-HT1A serotonin receptor is located on calbindin- and parvalbumin-containing neurons in the rat brain. **Brain Res,** v. 959, n. 1, p. 58-67, Jan 2003. ISSN 0006-8993. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12480158 >.

BANTICK, R. A.; DEAKIN, J. F.; GRASBY, P. M. The 5-HT1A receptor in schizophrenia: a promising target for novel atypical neuroleptics? **J Psychopharmacol,** v. 15, n. 1, p. 37-46, Mar 2001. ISSN 0269-8811. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11277607 >.

BARTOS, M.; VIDA, I.; JONAS, P. Synaptic mechanisms of synchronized gamma oscillations in inhibitory interneuron networks. **Nat Rev Neurosci,** v. 8, n. 1, p. 45-56, Jan 2007. ISSN 1471-003X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17180162 >.

BEASLEY, C. L.; REYNOLDS, G. P. Parvalbumin-immunoreactive neurons are reduced in the prefrontal cortex of schizophrenics. **Schizophr Res,** v. 24, n. 3, p. 349-55, Apr 1997. ISSN 0920-9964. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9134596 >.

BEHRENS, M. M. et al. Ketamine-induced loss of phenotype of fast-spiking interneurons is mediated by NADPH-oxidase. **Science,** v. 318, n. 5856, p. 1645-7, Dec 2007. ISSN 1095-9203. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18063801 >.

BELFORTE, J. E. et al. Postnatal NMDA receptor ablation in corticolimbic interneurons confers schizophrenia-like phenotypes. **Nat Neurosci,** v. 13, n. 1, p. 76-83, Jan 2010. ISSN 1546-1726. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19915563 >.

BENNINGHOFF, J. et al. Ziprasidone--not haloperidol--induces more de-novo neurogenesis of

adult neural stem cells derived from murine hippocampus. **Pharmacopsychiatry,** v. 46, n. 1, p. 10-5, Jan 2013. ISSN 1439-0795. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22592505 >.

BERARDI, N. et al. Molecular basis of plasticity in the visual cortex. **Trends Neurosci,** v. 26, n. 7, p. 369-78, Jul 2003. ISSN 0166-2236. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12850433 >.

BERGER, M.; LI, E.; AMMINGER, G. P. Treatment of social anxiety disorder and attenuated psychotic symptoms with cannabidiol. **BMJ Case Rep,** v. 13, n. 10, Oct 2020. ISSN 1757-790X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33028567 >.

BERRETTA, S. et al. Losing the sugar coating: potential impact of perineuronal net abnormalities on interneurons in schizophrenia. **Schizophr Res,** v. 167, n. 1-3, p. 18-27, Sep 2015. ISSN 1573-2509. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25601362 >.

BIE, B. et al. An overview of the cannabinoid type 2 receptor system and its therapeutic potential. **Curr Opin Anaesthesiol,** v. 31, n. 4, p. 407-414, Aug 2018. ISSN 1473-6500. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29794855 >.

BIOQUE, M. et al. Peripheral endocannabinoid system dysregulation in first-episode psychosis. **Neuropsychopharmacology,** v. 38, n. 13, p. 2568-77, Dec 2013. ISSN 1740-634X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23822951 >.

BISOGNO, T. et al. Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. **Br J Pharmacol,** v. 134, n. 4, p. 845-52, Oct 2001. ISSN 0007-1188. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11606325 >.

BITANIHIRWE, B. K.; WOO, T. U. Perineuronal nets and schizophrenia: the importance of neuronal coatings. **Neurosci Biobehav Rev,** v. 45, p. 85-99, Sep 2014. ISSN 1873-7528. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24709070 >.

BITANIHIRWE, B. K. Y.; WOO, T. W. A conceptualized model linking matrix metalloproteinase-9 to schizophrenia pathogenesis. **Schizophr Res,** v. 218, p. 28-35, 04 2020. ISSN 1573-2509. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32001079 >.

BLESSING, E. M. et al. Cannabidiol as a Potential Treatment for Anxiety Disorders. **Neurotherapeutics,** v. 12, n. 4, p. 825-36, Oct 2015. ISSN 1878-7479. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26341731 >.

BOGGS, D. L. et al. The effects of cannabidiol (CBD) on cognition and symptoms in outpatients with chronic schizophrenia a randomized placebo controlled trial. **Psychopharmacology (Berl),** v. 235, n. 7, p. 1923-1932, Jul 2018. ISSN 1432-2072. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29619533 >.

BOLEY, A. M.; PEREZ, S. M.; LODGE, D. J. A fundamental role for hippocampal parvalbumin in the dopamine hyperfunction associated with schizophrenia. **Schizophr Res,** v. 157, n. 1-3, p. 238-43, Aug 2014. ISSN 1573-2509. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24888524 >.

BORTOLOZZI, A. et al. The activation of 5-HT receptors in prefrontal cortex enhances dopaminergic activity. **J Neurochem,** v. 95, n. 6, p. 1597-607, Dec 2005. ISSN 0022-3042. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16277612 >.

_____. Dopamine release induced by atypical antipsychotics in prefrontal cortex requires 5-HT(1A) receptors but not 5-HT(2A) receptors. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 13, n. 10, p. 1299-314,

Nov 2010. ISSN 1469-5111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20158933 >.

BRAUN, I. et al. Alterations of hippocampal and prefrontal GABAergic interneurons in an animal model of psychosis induced by NMDA receptor antagonism. **Schizophr Res,** v. 97, n. 1-3, p. 254-63, Dec 2007. ISSN 0920-9964. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17601703 >.

BROWN, T. E. et al. Inhibition of matrix metalloproteinase activity disrupts reconsolidation but not consolidation of a fear memory. **Neurobiol Learn Mem,** v. 91, n. 1, p. 66-72, Jan 2009. ISSN 1095-9564. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18824238 >.

BRUINS SLOT, L. A.; KLEVEN, M. S.; NEWMAN-TANCREDI, A. Effects of novel antipsychotics with mixed D(2) antagonist/5-HT(1A) agonist properties on PCP-induced social interaction deficits in the rat. **Neuropharmacology,** v. 49, n. 7, p. 996-1006, Dec 2005. ISSN 0028-3908. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16009387 >.

BRÜCKNER, G. et al. Perineuronal nets provide a polyanionic, glia-associated form of microenvironment around certain neurons in many parts of the rat brain. **Glia,** v. 8, n. 3, p. 183-200, Jul 1993. ISSN 0894-1491. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7693589 >.

BUBENÍKOVÁ-VALESOVÁ, V. et al. Models of schizophrenia in humans and animals based on inhibition of NMDA receptors. **Neurosci Biobehav Rev,** v. 32, n. 5, p. 1014-23, Jul 2008. ISSN 0149-7634. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18471877 >.

_____. The opposite effect of a low and a high dose of serotonin-1A agonist on behavior induced by MK-801. **Neuropharmacology,** v. 52, n. 4, p. 1071-8, Mar 2007. ISSN 0028-3908. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17196227 >.

CADINU, D. et al. NMDA receptor antagonist rodent models for cognition in schizophrenia and identification of novel drug treatments, an update. **Neuropharmacology,** v. 142, p. 41-62, 11 2018. ISSN 1873-7064. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29196183 >.

CAMPOS, A. C. et al. Cannabidiol, neuroprotection and neuropsychiatric disorders. **Pharmacol Res,** v. 112, p. 119-127, Oct 2016. ISSN 1096-1186. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26845349 >.

_____. Multiple mechanisms involved in the large-spectrum therapeutic potential of cannabidiol in psychiatric disorders. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci,** v. 367, n. 1607, p. 3364-78, Dec 2012. ISSN 1471-2970. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23108553 >.

_____. The anxiolytic effect of cannabidiol on chronically stressed mice depends on hippocampal neurogenesis: involvement of the endocannabinoid system. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 16, n. 6, p. 1407-19, Jul 2013. ISSN 1469-5111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23298518 >.

CANSECO-ALBA, A. et al. Behavioral effects of psychostimulants in mutant mice with cell-type specific deletion of CB2 cannabinoid receptors in dopamine neurons. **Behav Brain Res,** v. 360, p. 286-297, 03 2019. ISSN 1872-7549. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30508607 >.

CARDIS, R. et al. A lack of GluN2A-containing NMDA receptors confers a vulnerability to redox dysregulation: Consequences on parvalbumin interneurons, and their perineuronal nets. **Neurobiol Dis,** v. 109, n. Pt A, p. 64-75, Jan 2018. ISSN 1095-953X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29024713 >.

CARDON, M. et al. Dysregulation of kisspeptin and neurogenesis at adolescence link inborn

immune deficits to the late onset of abnormal sensorimotor gating in congenital psychological disorders. **Mol Psychiatry,** v. 15, n. 4, p. 415-25, Apr 2010. ISSN 1476-5578. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19636313 >.

CARLINI, E. A.; CUNHA, J. M. Hypnotic and antiepileptic effects of cannabidiol. **J Clin Pharmacol,** v. 21, n. S1, p. 417S-427S, 1981 Aug-Sep 1981. ISSN 0091-2700. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7028792 >.

CARLISLE, S. J. et al. Differential expression of the CB2 cannabinoid receptor by rodent macrophages and macrophage-like cells in relation to cell activation. **Int Immunopharmacol,** v. 2, n. 1, p. 69-82, Jan 2002. ISSN 1567-5769. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11789671 >.

CARR, D. B.; SESACK, S. R. Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. **J Neurosci,** v. 20, n. 10, p. 3864-73, May 2000. ISSN 1529-2401. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10804226 >.

CARUSO, G. et al. Antioxidant Properties of Second-Generation Antipsychotics: Focus on Microglia. **Pharmaceuticals (Basel),** v. 13, n. 12, Dec 2020. ISSN 1424-8247. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33322693 >.

CHAMERA, K. et al. Role of Polyinosinic:Polycytidylic Acid-Induced Maternal Immune Activation and Subsequent Immune Challenge in the Behaviour and Microglial Cell Trajectory in Adult Offspring: A Study of the Neurodevelopmental Model of Schizophrenia. **Int J Mol Sci,** v. 22, n. 4, Feb 2021. ISSN 1422-0067. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33557113 >.

CHAN, V. Schizophrenia and Psychosis: Diagnosis, Current Research Trends, and Model Treatment Approaches with Implications for Transitional Age Youth. **Child Adolesc Psychiatr Clin N Am,** v. 26, n. 2, p. 341-366, 04 2017. ISSN 1558-0490. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28314460 >.

CHAUDHRY, I. B. et al. Minocycline benefits negative symptoms in early schizophrenia: a randomised double-blind placebo-controlled clinical trial in patients on standard treatment. **J Psychopharmacol,** v. 26, n. 9, p. 1185-93, Sep 2012. ISSN 1461-7285. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22526685 >.

CHEN, D. J. et al. Brain cannabinoid receptor 2: expression, function and modulation. **Acta Pharmacol Sin,** v. 38, n. 3, p. 312-316, Mar 2017. ISSN 1745-7254. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28065934 >.

CHUNG, Y. C. et al. CB2 receptor activation prevents glial-derived neurotoxic mediator production, BBB leakage and peripheral immune cell infiltration and rescues dopamine neurons in the MPTP model of Parkinson's disease. **Exp Mol Med,** v. 48, n. 1, p. e205, 01 2016. ISSN 2092-6413. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27534533 >.

COMER, A. L. et al. The Inflamed Brain in Schizophrenia: The Convergence of Genetic and Environmental Risk Factors That Lead to Uncontrolled Neuroinflammation. **Front Cell Neurosci,** v. 14, p. 274, 2020. ISSN 1662-5102. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33061891 >.

CONSORTIUM, S. W. G. O. T. P. G. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. **Nature,** v. 511, n. 7510, p. 421-7, Jul 2014. ISSN 1476-4687. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25056061 >.

COOPER, J. R.; BLOOM, F. E. R., R.H. **The Biochemical Basis of Neuropharmacology**. 8th Edition. Oxford: Oxford University Press, 2003.

CORTEZ, I. L. et al. Are CB2 Receptors a New Target for Schizophrenia Treatment? **Front Psychiatry,** v. 11, p. 587154, 2020. ISSN 1664-0640. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33329132 >.

CRAPSER, J. D. et al. Microglial depletion prevents extracellular matrix changes and striatal volume reduction in a model of Huntington's disease. **Brain,** v. 143, n. 1, p. 266-288, 01 2020. ISSN 1460-2156. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31848580 >.

_____. Microglia facilitate loss of perineuronal nets in the Alzheimer's disease brain. **EBioMedicine,** v. 58, p. 102919, Aug 2020. ISSN 2352-3964. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32745992 >.

CRITCHLOW, H. M. et al. Clozapine and haloperidol differentially regulate dendritic spine formation and synaptogenesis in rat hippocampal neurons. **Mol Cell Neurosci,** v. 32, n. 4, p. 356-65, Aug 2006. ISSN 1044-7431. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16844384 >.

CROW, T. J. Positive and negative schizophrenic symptoms and the role of dopamine. **Br J Psychiatry,** v. 137, p. 383-6, Oct 1980. ISSN 0007-1250. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7448479 >.

CUNHA, J. M. et al. Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients. **Pharmacology,** v. 21, n. 3, p. 175-85, 1980. ISSN 0031-7012. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7413719 >.

DALMAU, J. et al. Clinical experience and laboratory investigations in patients with anti-NMDAR encephalitis. **Lancet Neurol,** v. 10, n. 1, p. 63-74, Jan 2011. ISSN 1474-4465. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21163445 >.

DALTON, V. S. et al. Synergistic Effect between Maternal Infection and Adolescent Cannabinoid Exposure on Serotonin 5HT1A Receptor Binding in the Hippocampus: Testing the "Two Hit" Hypothesis for the Development of Schizophrenia. **ISRN Psychiatry,** v. 2012, p. 451865, 2012. ISSN 2090-7966. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23738203 >.

DALTON, W. S. et al. Influence of cannabidiol on delta-9-tetrahydrocannabinol effects. **Clin Pharmacol Ther,** v. 19, n. 3, p. 300-9, Mar 1976. ISSN 0009-9236. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/770048 >.

DAVIES, C.; BHATTACHARYYA, S. Cannabidiol as a potential treatment for psychosis. **Ther Adv Psychopharmacol,** v. 9, p. 2045125319881916, 2019. ISSN 2045-1253. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31741731 >.

DAVIS, K. L. et al. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. **Am J Psychiatry,** v. 148, n. 11, p. 1474-86, Nov 1991. ISSN 0002-953X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1681750 >.

DE MARCHI, N. et al. Endocannabinoid signalling in the blood of patients with schizophrenia. **Lipids Health Dis,** v. 2, p. 5, Aug 2003. ISSN 1476-511X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12969514 >.

DECZKOWSKA, A.; AMIT, I.; SCHWARTZ, M. Microglial immune checkpoint mechanisms. **Nat Neurosci,** v. 21, n. 6, p. 779-786, 06 2018. ISSN 1546-1726. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29735982 >.

DEIANA, S. et al. MK-801-induced deficits in social recognition in rats: reversal by aripiprazole, but not olanzapine, risperidone, or cannabidiol. **Behav Pharmacol,** v. 26, n. 8 Spec No, p. 748-65, Dec 2015. ISSN 1473-5849. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26287433 >.

DELIS, F. et al. Attenuation of Cocaine-Induced Conditioned Place Preference and Motor Activity via Cannabinoid CB2 Receptor Agonism and CB1 Receptor Antagonism in Rats. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 20, n. 3, p. 269-278, 03 2017. ISSN 1469-5111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27994006 >.

DEVINSKY, O. et al. Cannabidiol: pharmacology and potential therapeutic role in epilepsy and other neuropsychiatric disorders. **Epilepsia,** v. 55, n. 6, p. 791-802, Jun 2014. ISSN 1528-1167. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24854329 >.

DINGLEDINE, R. et al. The glutamate receptor ion channels. **Pharmacol Rev,** v. 51, n. 1, p. 7-61, Mar 1999. ISSN 0031-6997 (Print)
0031-6997.

DIZ-CHAVES, Y. et al. Prenatal stress causes alterations in the morphology of microglia and the inflammatory response of the hippocampus of adult female mice. **J Neuroinflammation,** v. 9, p. 71, Apr 2012. ISSN 1742-2094. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22520439 >.

DOORDUIN, J. et al. Neuroinflammation in schizophrenia-related psychosis: a PET study. **J Nucl Med,** v. 50, n. 11, p. 1801-7, Nov 2009. ISSN 1535-5667. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19837763 >.

DOWNS, J. et al. Negative Symptoms in Early-Onset Psychosis and Their Association With Antipsychotic Treatment Failure. **Schizophr Bull**, Jan 2018. ISSN 1745-1701. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29370404 >.

DRACHEVA, S. et al. N-methyl-D-aspartic acid receptor expression in the dorsolateral prefrontal cortex of elderly patients with schizophrenia. **Am J Psychiatry,** v. 158, n. 9, p. 1400-10, Sep 2001. ISSN 0002-953X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11532724 >.

DRAGO, A.; RONCHI, D. D.; SERRETTI, A. 5-HT1A gene variants and psychiatric disorders: a review of current literature and selection of SNPs for future studies. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 11, n. 5, p. 701-21, Aug 2008. ISSN 1461-1457. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18047755 >.

DU, Y.; GRACE, A. A. Loss of Parvalbumin in the Hippocampus of MAM Schizophrenia Model Rats Is Attenuated by Peripubertal Diazepam. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 19, n. 11, 11 2016. ISSN 1469-5111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27432008 >.

DUFFY, S. S. et al. The cannabinoid system and microglia in health and disease. **Neuropharmacology,** v. 190, p. 108555, Apr 2021. ISSN 1873-7064. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33845074 >.

DUNCAN, G. E.; SHEITMAN, B. B.; LIEBERMAN, J. A. An integrated view of pathophysiological models of schizophrenia. **Brain Res Brain Res Rev,** v. 29, n. 2-3, p. 250-64, Apr 1999. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10209235 >.

DÍAZ-MATAIX, L. et al. Involvement of 5-HT1A receptors in prefrontal cortex in the modulation of dopaminergic activity: role in atypical antipsychotic action. **J Neurosci,** v. 25, n. 47, p. 10831-43, Nov 2005. ISSN 1529-2401. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16306396 >.

ECHEVERRY, C. et al. A Comparative In Vitro Study of the Neuroprotective Effect Induced by Cannabidiol, Cannabigerol, and Their Respective Acid Forms: Relevance of the 5-HT. **Neurotox Res,** v. 39, n. 2, p. 335-348, Apr 2021. ISSN 1476-3524. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32886342 >.

ELLENBROEK, B. A.; COOLS, A. R. Animal models for the negative symptoms of schizophrenia. **Behav Pharmacol,** v. 11, n. 3-4, p. 223-33, Jun 2000. ISSN 0955-8810. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11103877 >.

ELSWORTH, J. D. et al. Loss of asymmetric spine synapses in dorsolateral prefrontal cortex of cognitively impaired phencyclidine-treated monkeys. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 14, n. 10, p. 1411-5, Nov 2011. ISSN 1469-5111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21733230 >.

ENNACEUR, A. One-trial object recognition in rats and mice: methodological and theoretical issues. **Behav Brain Res,** v. 215, n. 2, p. 244-54, Dec 2010. ISSN 1872-7549. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20060020 >.

ENOMOTO, T.; TSE, M. T.; FLORESCO, S. B. Reducing prefrontal gamma-aminobutyric acid activity induces cognitive, behavioral, and dopaminergic abnormalities that resemble schizophrenia. **Biol Psychiatry,** v. 69, n. 5, p. 432-41, Mar 2011. ISSN 1873-2402. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21146155 >.

ENWRIGHT, J. F. et al. Reduced Labeling of Parvalbumin Neurons and Perineuronal Nets in the Dorsolateral Prefrontal Cortex of Subjects with Schizophrenia. **Neuropsychopharmacology,** v. 41, n. 9, p. 2206-14, 08 2016. ISSN 1740-634X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26868058 >.

ERRINGTON, M. L.; GALLEY, P. T.; BLISS, T. V. Long-term potentiation in the dentate gyrus of the anaesthetized rat is accompanied by an increase in extracellular glutamate: real-time measurements using a novel dialysis electrode. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci,** v. 358, n. 1432, p. 675-87, Apr 2003. ISSN 0962-8436. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12740113 >.

ESPOSITO, G. et al. Cannabidiol in vivo blunts beta-amyloid induced neuroinflammation by suppressing IL-1beta and iNOS expression. **Br J Pharmacol,** v. 151, n. 8, p. 1272-9, Aug 2007. ISSN 0007-1188. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17592514 >.

_____. Cannabidiol reduces Aβ-induced neuroinflammation and promotes hippocampal neurogenesis through PPARγ involvement. **PLoS One,** v. 6, n. 12, p. e28668, 2011. ISSN 1932-6203. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22163051 >.

FABER, K. M.; HARING, J. H. Synaptogenesis in the postnatal rat fascia dentata is influenced by 5-HT1a receptor activation. **Brain Res Dev Brain Res,** v. 114, n. 2, p. 245-52, May 1999. ISSN 0165-3806. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10320763 >.

FATEMI, S. H. et al. Maternal infection leads to abnormal gene regulation and brain atrophy in mouse offspring: implications for genesis of neurodevelopmental disorders. **Schizophr Res,** v. 99, n. 1-3, p. 56-70, Feb 2008. ISSN 0920-9964. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18248790 >.

FEJGIN, K. et al. Prefrontal GABA(B) receptor activation attenuates phencyclidine-induced impairments of prepulse inhibition: involvement of nitric oxide. **Neuropsychopharmacology,** v. 34, n. 7, p. 1673-84, Jun 2009. ISSN 1740-634X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19145229 >.

_____. The atypical antipsychotic, aripiprazole, blocks phencyclidine-induced disruption of prepulse inhibition in mice. **Psychopharmacology (Berl),** v. 191, n. 2, p. 377-85, Apr 2007. ISSN 0033-3158. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17235612 >.

FERNÁNDEZ-RUIZ, J. et al. Role of CB2 receptors in neuroprotective effects of cannabinoids. **Mol Cell Endocrinol,** v. 286, n. 1-2 Suppl 1, p. S91-6, Apr 2008. ISSN 0303-7207. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18291574 >.

_____. Cannabinoid CB2 receptor: a new target for controlling neural cell survival? **Trends Pharmacol Sci,** v. 28, n. 1, p. 39-45, Jan 2007. ISSN 0165-6147. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17141334 >.

FILIPOVIĆ, D. et al. Chronic Treatment with Fluoxetine or Clozapine of Socially Isolated Rats Prevents Subsector-Specific Reduction of Parvalbumin Immunoreactive Cells in the Hippocampus. **Neuroscience,** v. 371, p. 384-394, 02 2018. ISSN 1873-7544. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29275206 >.

FILLMAN, S. G. et al. Increased inflammatory markers identified in the dorsolateral prefrontal cortex of individuals with schizophrenia. **Mol Psychiatry,** v. 18, n. 2, p. 206-14, Feb 2013. ISSN 1476-5578. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22869038 >.

_____. Markers of inflammation in the prefrontal cortex of individuals with schizophrenia. **Mol Psychiatry,** v. 18, n. 2, p. 133, Feb 2013. ISSN 1476-5578. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23344565 >.

FLORESCO, S. B. et al. Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. **Nat Neurosci,** v. 6, n. 9, p. 968-73, Sep 2003. ISSN 1097-6256. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12897785 >.

FOGAÇA, M. V. et al. The anxiolytic effects of cannabidiol in chronically stressed mice are mediated by the endocannabinoid system: Role of neurogenesis and dendritic remodeling. **Neuropharmacology,** v. 135, p. 22-33, 06 2018. ISSN 1873-7064. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29510186 >.

FRANKLIN, S. L. et al. Loss of Perineuronal Net in ME7 Prion Disease. **J Neuropathol Exp Neurol,** v. 67, n. 3, p. 189-99, Mar 2008. ISSN 0022-3069. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18344910 >.

FRISCHKNECHT, R. et al. Brain extracellular matrix affects AMPA receptor lateral mobility and short-term synaptic plasticity. **Nat Neurosci,** v. 12, n. 7, p. 897-904, Jul 2009. ISSN 1546-1726. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19483686 >.

FUJIKAWA, R.; YAMADA, J.; JINNO, S. Subclass imbalance of parvalbumin-expressing GABAergic neurons in the hippocampus of a mouse ketamine model for schizophrenia, with reference to perineuronal nets. **Schizophr Res**, Nov 2020. ISSN 1573-2509. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33229224 >.

GALAJ, E. et al. Cannabidiol attenuates the rewarding effects of cocaine in rats by CB2, 5-HT. **Neuropharmacology,** v. 167, p. 107740, May 2020. ISSN 1873-7064. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31437433 >.

GANGULY, K. et al. Matrix metalloproteinase (MMP) 9 transcription in mouse brain induced by fear learning. **J Biol Chem,** v. 288, n. 29, p. 20978-20991, Jul 2013. ISSN 1083-351X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23720741 >.

GAONI, Y.; MECHOULAM, R. **Isolation, structure, and partial synthesis of an active constituent of hashish**. J Am Chem Soc, p.1646–1647. 1964

GARCIA-MOMPO, C. et al. Δ-9-Tetrahydrocannabinol treatment during adolescence and alterations in the inhibitory networks of the adult prefrontal cortex in mice subjected to perinatal NMDA receptor antagonist injection and to postweaning social isolation. **Transl Psychiatry,** v. 10, n. 1, p. 177, 06 2020. ISSN 2158-3188. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32488050 >.

GARCÍA-ARENCIBIA, M. et al. Evaluation of the neuroprotective effect of cannabinoids in a rat model of Parkinson's disease: importance of antioxidant and cannabinoid receptor-independent properties. **Brain Res,** v. 1134, n. 1, p. 162-70, Feb 2007. ISSN 0006-8993. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17196181 >.

GAREY, L. J. et al. Reduced dendritic spine density on cerebral cortical pyramidal neurons in schizophrenia. **J Neurol Neurosurg Psychiatry,** v. 65, n. 4, p. 446-53, Oct 1998. ISSN 0022-3050. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9771764 >.

GENER, T. et al. Serotonin 5-HT. **Neuropharmacology,** v. 158, p. 107743, 11 2019. ISSN 1873-7064. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31430459 >.

GILABERT-JUAN, J. et al. A "double hit" murine model for schizophrenia shows alterations in the structure and neurochemistry of the medial prefrontal cortex and the hippocampus. **Neurobiol Dis,** v. 59, p. 126-40, Nov 2013. ISSN 1095-953X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23891727 >.

GIUFFRIDA, A. et al. Cerebrospinal anandamide levels are elevated in acute schizophrenia and are inversely correlated with psychotic symptoms. **Neuropsychopharmacology,** v. 29, n. 11, p. 2108-14, Nov 2004. ISSN 0893-133X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15354183 >.

GLASS, M.; FELDER, C. C. Concurrent stimulation of cannabinoid CB1 and dopamine D2 receptors augments cAMP accumulation in striatal neurons: evidence for a Gs linkage to the CB1 receptor. **J Neurosci,** v. 17, n. 14, p. 5327-33, Jul 1997. ISSN 0270-6474. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9204917 >.

GLEBOV, K. et al. Serotonin stimulates secretion of exosomes from microglia cells. **Glia,** v. 63, n. 4, p. 626-34, Apr 2015. ISSN 1098-1136. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25451814 >.

GOLGI, C. **Intorno all' origine del quarto nervo cerebrale e una questione isto-fisiologica che a questo argomento si collega.** Rend. R. Accad. Lincei, p.379 – 389. 1984

GOMES, F. V.; DEL BEL, E. A.; GUIMARÃES, F. S. Cannabidiol attenuates catalepsy induced by distinct pharmacological mechanisms via 5-HT1A receptor activation in mice. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry,** v. 46, p. 43-7, Oct 2013. ISSN 1878-4216. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23791616 >.

GOMES, F. V. et al. Cannabidiol attenuates sensorimotor gating disruption and molecular changes induced by chronic antagonism of NMDA receptors in mice. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 18, n. 5, Oct 2014. ISSN 1469-5111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25618402 >.

_____. Decreased glial reactivity could be involved in the antipsychotic-like effect of cannabidiol.

Schizophr Res, v. 164, n. 1-3, p. 155-63, May 2015. ISSN 1573-2509. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25680767 >.

GOMES, F. V.; ZHU, X.; GRACE, A. A. Stress during critical periods of development and risk for schizophrenia. **Schizophr Res,** v. 213, p. 107-113, 11 2019. ISSN 1573-2509. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30711313 >.

GONZALEZ-BURGOS, G.; LEWIS, D. A. NMDA receptor hypofunction, parvalbumin-positive neurons, and cortical gamma oscillations in schizophrenia. **Schizophr Bull,** v. 38, n. 5, p. 950-7, Sep 2012. ISSN 1745-1701. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22355184 >.

GOTTSCHLING, C. et al. First and second generation antipsychotics differentially affect structural and functional properties of rat hippocampal neuron synapses. **Neuroscience,** v. 337, p. 117-130, Nov 2016. ISSN 1873-7544. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27615033 >.

GOULD, E. Serotonin and hippocampal neurogenesis. **Neuropsychopharmacology,** v. 21, n. 2 Suppl, p. 46S-51S, Aug 1999. ISSN 0893-133X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10432488 >.

GRACE, A. A. Dysregulation of the dopamine system in the pathophysiology of schizophrenia and depression. **Nat Rev Neurosci,** v. 17, n. 8, p. 524-32, 08 2016. ISSN 1471-0048. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27256556 >.

GRAEBER, M. B.; LI, W.; RODRIGUEZ, M. L. Role of microglia in CNS inflammation. **FEBS Lett,** v. 585, n. 23, p. 3798-805, Dec 2011. ISSN 1873-3468. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21889505 >.

GRAY, E. et al. Elevated matrix metalloproteinase-9 and degradation of perineuronal nets in cerebrocortical multiple sclerosis plaques. **J Neuropathol Exp Neurol,** v. 67, n. 9, p. 888-99, Sep 2008. ISSN 0022-3069. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18716555 >.

GRAYSON, B.; IDRIS, N. F.; NEILL, J. C. Atypical antipsychotics attenuate a sub-chronic PCP-induced cognitive deficit in the novel object recognition task in the rat. **Behav Brain Res,** v. 184, n. 1, p. 31-8, Nov 2007. ISSN 0166-4328. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17675172 >.

GRUNZE, H. C. et al. NMDA-dependent modulation of CA1 local circuit inhibition. **J Neurosci,** v. 16, n. 6, p. 2034-43, Mar 1996. ISSN 0270-6474. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8604048 >.

GUI, Z. H. et al. Unilateral lesion of the nigrostriatal pathway decreases the response of fast-spiking interneurons in the medial prefrontal cortex to 5-HT1A receptor agonist and expression of the receptor in parvalbumin-positive neurons in the rat. **Neurochem Int,** v. 59, n. 5, p. 618-27, Oct 2011. ISSN 1872-9754. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21693147 >.

GUIRADO, R. et al. Chronic fluoxetine treatment alters the structure, connectivity and plasticity of cortical interneurons. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 17, n. 10, p. 1635-46, Oct 2014. ISSN 1469-5111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24786752 >.

GURURAJAN, A.; TAYLOR, D. A.; MALONE, D. T. Effect of cannabidiol in a MK-801-rodent model of aspects of schizophrenia. **Behav Brain Res,** v. 222, n. 2, p. 299-308, Sep 2011. ISSN 1872-7549. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21458498 >.

HALEEM, D. J. Serotonergic modulation of dopamine neurotransmission: a mechanism for enhancing therapeutics in schizophrenia. **J Coll Physicians Surg Pak,** v. 16, n. 8, p. 556-62, Aug

2006. ISSN 1022-386X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16899192 >.

_____. Extending therapeutic use of psychostimulants: focus on serotonin-1A receptor. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry,** v. 46, p. 170-80, Oct 2013. ISSN 1878-4216. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23906987 >.

HALIM, N. D. et al. Effects of chronic haloperidol and clozapine treatment on neurogenesis in the adult rat hippocampus. **Neuropsychopharmacology,** v. 29, n. 6, p. 1063-9, Jun 2004. ISSN 0893-133X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15010699 >.

HALLAK, J. E. et al. Performance of schizophrenic patients in the Stroop Color Word Test and electrodermal responsiveness after acute administration of cannabidiol (CBD). **Braz J Psychiatry,** v. 32, n. 1, p. 56-61, Mar 2010. ISSN 1516-4446. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20339735 >.

HAMPSON, A. J. et al. Cannabidiol and (-)Delta9-tetrahydrocannabinol are neuroprotective antioxidants. **Proc Natl Acad Sci U S A,** v. 95, n. 14, p. 8268-73, Jul 1998. ISSN 0027-8424. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9653176 >.

HANSON, E. et al. Assessment of pharmacotherapy for negative symptoms of schizophrenia. **Curr Psychiatry Rep,** v. 12, n. 6, p. 563-71, Dec 2010. ISSN 1535-1645. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20821286 >.

HARRISON, P. J. The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. **Brain,** v. 122 (Pt 4), p. 593-624, Apr 1999. ISSN 0006-8950. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10219775 >.

HASHIMOTO, K. et al. Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are improved by subsequent subchronic administration of clozapine, but not haloperidol. **Eur J Pharmacol,** v. 519, n. 1-2, p. 114-7, Sep 2005. ISSN 0014-2999. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16099452 >.

HECKERS, S. The hippocampus in schizophrenia. **Am J Psychiatry,** v. 161, n. 11, p. 2138-9, Nov 2004. ISSN 0002-953X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15514431 >.

HECKERS, S.; KONRADI, C. Hippocampal neurons in schizophrenia. **J Neural Transm (Vienna),** v. 109, n. 5-6, p. 891-905, May 2002. ISSN 0300-9564. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12111476 >.

HECKERS, S. et al. Impaired recruitment of the hippocampus during conscious recollection in schizophrenia. **Nat Neurosci,** v. 1, n. 4, p. 318-23, Aug 1998. ISSN 1097-6256. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10195166 >.

HERR, N.; BODE, C.; DUERSCHMIED, D. The Effects of Serotonin in Immune Cells. **Front Cardiovasc Med,** v. 4, p. 48, 2017. ISSN 2297-055X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28775986 >.

HOBOHM, C. et al. Decomposition and long-lasting downregulation of extracellular matrix in perineuronal nets induced by focal cerebral ischemia in rats. **J Neurosci Res,** v. 80, n. 4, p. 539-48, May 2005. ISSN 0360-4012. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15806566 >.

HOENIG, J. The concept of Schizophrenia. Kraepelin-Bleuler-Schneider. **Br J Psychiatry,** v. 142, p. 547-56, Jun 1983. ISSN 0007-1250. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6349735 >.

HOLLMANN, M. et al. Molecular biology of glutamate receptors. Potentiation of N-methyl-D-aspartate receptor splice variants by zinc. **Ren Physiol Biochem,** v. 17, n. 3-4, p. 182-3, 1994 May-Aug 1994. ISSN 1011-6524. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7518953 >.

HOMAYOUN, H.; MOGHADDAM, B. NMDA receptor hypofunction produces opposite effects on prefrontal cortex interneurons and pyramidal neurons. **J Neurosci,** v. 27, n. 43, p. 11496-500, Oct 2007. ISSN 1529-2401. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17959792 >.

HONEYCUTT, J. A.; CHROBAK, J. J. Parvalbumin Loss Following Chronic Sub-Anesthetic NMDA Antagonist Treatment is Age-Dependent in the Hippocampus: Implications for Modeling NMDA Hypofunction. **Neuroscience,** v. 393, p. 73-82, 11 2018. ISSN 1873-7544. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30296474 >.

HORIGUCHI, M. et al. Prevention of the phencyclidine-induced impairment in novel object recognition in female rats by co-administration of lurasidone or tandospirone, a 5-HT(1A) partial agonist. **Neuropsychopharmacology,** v. 37, n. 10, p. 2175-83, Sep 2012. ISSN 1740-634X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22739469 >.

HORIGUCHI, M.; MELTZER, H. Y. The role of 5-HT1A receptors in phencyclidine (PCP)-induced novel object recognition (NOR) deficit in rats. **Psychopharmacology (Berl),** v. 221, n. 2, p. 205-15, May 2012. ISSN 1432-2072. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22227609 >.

HORIGUCHI, M. et al. Prolonged reversal of the phencyclidine-induced impairment in novel object recognition by a serotonin (5-HT)1A-dependent mechanism. **Behav Brain Res,** v. 301, p. 132-41, Mar 2016. ISSN 1872-7549. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26342283 >.

HOWLETT, A. C. et al. International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. **Pharmacol Rev,** v. 54, n. 2, p. 161-202, Jun 2002. ISSN 0031-6997. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12037135 >.

HU, H.; GAN, J.; JONAS, P. Interneurons. Fast-spiking, parvalbumin^{+} GABAergic interneurons: from cellular design to microcircuit function. **Science,** v. 345, n. 6196, p. 1255263, Aug 2014. ISSN 1095-9203. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25082707 >.

HUGHES, B.; HERRON, C. E. Cannabidiol Reverses Deficits in Hippocampal LTP in a Model of Alzheimer's Disease. **Neurochem Res,** v. 44, n. 3, p. 703-713, Mar 2019. ISSN 1573-6903. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29574668 >.

HUNT, C. A. et al. Evidence that cannabidiol does not significantly alter the pharmacokinetics of tetrahydrocannabinol in man. **J Pharmacokinet Biopharm,** v. 9, n. 3, p. 245-60, Jun 1981. ISSN 0090-466X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6270295 >.

HÄRTIG, W. et al. Cortical neurons immunoreactive for the potassium channel Kv3.1b subunit are predominantly surrounded by perineuronal nets presumed as a buffering system for cations. **Brain Res,** v. 842, n. 1, p. 15-29, Sep 1999. ISSN 0006-8993. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10526091 >.

ICHIKAWA, J. et al. 5-HT(2A) and D(2) receptor blockade increases cortical DA release via 5-HT(1A) receptor activation: a possible mechanism of atypical antipsychotic-induced cortical dopamine release. **J Neurochem,** v. 76, n. 5, p. 1521-31, Mar 2001. ISSN 0022-3042. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11238736 >.

_____. R(+)-8-OH-DPAT, a 5-HT1A receptor agonist, inhibits amphetamine-induced dopamine release in rat striatum and nucleus accumbens. **Eur J Pharmacol,** v. 287, n. 2, p. 179-84, Dec 1995. ISSN 0014-2999. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8749033 >.

INAZU, M. et al. Pharmacological characterization and visualization of the glial serotonin transporter. **Neurochem Int,** v. 39, n. 1, p. 39-49, Jul 2001. ISSN 0197-0186. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11311448 >.

ISHIGURO, H. et al. Brain cannabinoid CB2 receptor in schizophrenia. **Biol Psychiatry,** v. 67, n. 10, p. 974-82, May 2010. ISSN 1873-2402. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19931854 >.

IUVONE, T. et al. Neuroprotective effect of cannabidiol, a non-psychoactive component from Cannabis sativa, on beta-amyloid-induced toxicity in PC12 cells. **J Neurochem,** v. 89, n. 1, p. 134-41, Apr 2004. ISSN 0022-3042. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15030397 >.

IZQUIERDO, I.; MEDINA, J. H. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. **Neurobiol Learn Mem,** v. 68, n. 3, p. 285-316, Nov 1997. ISSN 1074-7427. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9398590 >.

JABLENSKY, A. The diagnostic concept of schizophrenia: its history, evolution, and future prospects. **Dialogues Clin Neurosci,** v. 12, n. 3, p. 271-87, 2010. ISSN 1294-8322. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20954425 >.

JAVITT, D. C. Glutamate and schizophrenia: phencyclidine, N-methyl-D-aspartate receptors, and dopamine-glutamate interactions. **Int Rev Neurobiol,** v. 78, p. 69-108, 2007. ISSN 2162-5514. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17349858 >.

JAY, T. M. et al. Excitatory Amino Acid Pathway from the Hippocampus to the Prefrontal Cortex. Contribution of AMPA Receptors in Hippocampo-prefrontal Cortex Transmission. **Eur J Neurosci,** v. 4, n. 12, p. 1285-1295, 1992. ISSN 1460-9568. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12106392 >.

JENTSCH, J. D. et al. Enduring cognitive deficits and cortical dopamine dysfunction in monkeys after long-term administration of phencyclidine. **Science,** v. 277, n. 5328, p. 953-5, Aug 1997. ISSN 0036-8075. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9252326 >.

JENTSCH, J. D.; ROTH, R. H. The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. **Neuropsychopharmacology,** v. 20, n. 3, p. 201-25, Mar 1999. ISSN 0893-133X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10063482 >.

JIANG, Z. et al. Social isolation exacerbates schizophrenia-like phenotypes via oxidative stress in cortical interneurons. **Biol Psychiatry,** v. 73, n. 10, p. 1024-34, May 2013. ISSN 1873-2402. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23348010 >.

JODO, E. et al. Activation of medial prefrontal cortex by phencyclidine is mediated via a hippocampo-prefrontal pathway. **Cereb Cortex,** v. 15, n. 5, p. 663-9, May 2005. ISSN 1047-3211. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15342431 >.

JONES, C. A.; WATSON, D. J.; FONE, K. C. Animal models of schizophrenia. **Br J Pharmacol,** v. 164, n. 4, p. 1162-94, Oct 2011. ISSN 1476-5381. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21449915 >.

JOYCE, J. N. et al. Serotonin uptake sites and serotonin receptors are altered in the limbic system of schizophrenics. **Neuropsychopharmacology,** v. 8, n. 4, p. 315-36, Jun 1993. ISSN 0893-133X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8512620 >.

KARNIOL, I. G.; CARLINI, E. A. Pharmacological interaction between cannabidiol and delta 9-tetrahydrocannabinol. **Psychopharmacologia,** v. 33, n. 1, p. 53-70, Oct 1973. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4358666 >.

KEW, J. N.; KEMP, J. A. Ionotropic and metabotropic glutamate receptor structure and pharmacology. **Psychopharmacology (Berl),** v. 179, n. 1, p. 4-29, Apr 2005. ISSN 0033-3158 (Print)
0033-3158.

KHAN, A. A. et al. Cannabidiol exerts antiepileptic effects by restoring hippocampal interneuron functions in a temporal lobe epilepsy model. **Br J Pharmacol,** v. 175, n. 11, p. 2097-2115, 06 2018. ISSN 1476-5381. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29574880 >.

KHELLA, R.; SHORT, J. L.; MALONE, D. T. CB2 receptor agonism reverses MK-801-induced disruptions of prepulse inhibition in mice. **Psychopharmacology (Berl),** v. 231, n. 16, p. 3071-87, Aug 2014. ISSN 1432-2072. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24705902 >.

KISHI, T.; MELTZER, H. Y.; IWATA, N. Augmentation of antipsychotic drug action by azapirone 5-HT1A receptor partial agonists: a meta-analysis. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 16, n. 6, p. 1259-66, Jul 2013. ISSN 1469-5111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23551924 >.

KLAUSBERGER, T. GABAergic interneurons targeting dendrites of pyramidal cells in the CA1 area of the hippocampus. **Eur J Neurosci,** v. 30, n. 6, p. 947-57, Sep 2009. ISSN 1460-9568. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19735288 >.

KODAMA, M.; FUJIOKA, T.; DUMAN, R. S. Chronic olanzapine or fluoxetine administration increases cell proliferation in hippocampus and prefrontal cortex of adult rat. **Biol Psychiatry,** v. 56, n. 8, p. 570-80, Oct 2004. ISSN 0006-3223. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15476686 >.

KOKKINOU, M. et al. Reproducing the dopamine pathophysiology of schizophrenia and approaches to ameliorate it: a translational imaging study with ketamine. **Mol Psychiatry**, May 2020. ISSN 1476-5578. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32382134 >.

KOMOROWSKA-MÜLLER, J. A.; SCHMÖLE, A. C. CB2 Receptor in Microglia: The Guardian of Self-Control. **Int J Mol Sci,** v. 22, n. 1, Dec 2020. ISSN 1422-0067. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33375006 >.

KOZELA, E. et al. Cannabidiol Improves Cognitive Impairment and Reverses Cortical Transcriptional Changes Induced by Ketamine, in Schizophrenia-Like Model in Rats. **Mol Neurobiol,** v. 57, n. 3, p. 1733-1747, Mar 2020. ISSN 1559-1182. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31823199 >.

_____. Cannabidiol inhibits pathogenic T cells, decreases spinal microglial activation and ameliorates multiple sclerosis-like disease in C57BL/6 mice. **Br J Pharmacol,** v. 163, n. 7, p. 1507-19, Aug 2011. ISSN 1476-5381. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21449980 >.

KRABBE, G. et al. Activation of serotonin receptors promotes microglial injury-induced motility but attenuates phagocytic activity. **Brain Behav Immun,** v. 26, n. 3, p. 419-28, Mar 2012. ISSN 1090-2139. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22198120 >.

KREUTZMANN, J. C.; JOVANOVIC, T.; FENDT, M. Infralimbic cortex activity is required for the expression but not the acquisition of conditioned safety. **Psychopharmacology (Berl),** v. 237, n. 7,

p. 2161-2172, Jul 2020. ISSN 1432-2072. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32363439 >.

KRUK-SLOMKA, M.; BANASZKIEWICZ, I.; BIALA, G. The Impact of CB2 Receptor Ligands on the MK-801-Induced Hyperactivity in Mice. **Neurotox Res,** v. 31, n. 3, p. 410-420, 04 2017. ISSN 1476-3524. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28138895 >.

KRUK-SLOMKA, M. et al. Effects of Fatty Acid Amide Hydrolase Inhibitors Acute Administration on the Positive and Cognitive Symptoms of Schizophrenia in Mice. **Mol Neurobiol,** v. 56, n. 11, p. 7251-7266, Nov 2019. ISSN 1559-1182. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31004320 >.

KRYSTAL, J. H. et al. Comparative and interactive human psychopharmacologic effects of ketamine and amphetamine: implications for glutamatergic and dopaminergic model psychoses and cognitive function. **Arch Gen Psychiatry,** v. 62, n. 9, p. 985-94, Sep 2005. ISSN 0003-990X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16143730 >.

KUROKI, T.; MELTZER, H. Y.; ICHIKAWA, J. Effects of antipsychotic drugs on extracellular dopamine levels in rat medial prefrontal cortex and nucleus accumbens. **J Pharmacol Exp Ther,** v. 288, n. 2, p. 774-81, Feb 1999. ISSN 0022-3565. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9918588 >.

KÖPPE, G. et al. Characterization of proteoglycan-containing perineuronal nets by enzymatic treatments of rat brain sections. **Histochem J,** v. 29, n. 1, p. 11-20, Jan 1997. ISSN 0018-2214. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9088941 >.

LAHTI, A. C. et al. Correlations between rCBF and symptoms in two independent cohorts of drug-free patients with schizophrenia. **Neuropsychopharmacology,** v. 31, n. 1, p. 221-30, Jan 2006. ISSN 0893-133X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16123774 >.

LAUCKNER, J. E.; HILLE, B.; MACKIE, K. The cannabinoid agonist WIN55,212-2 increases intracellular calcium via CB1 receptor coupling to Gq/11 G proteins. **Proc Natl Acad Sci U S A,** v. 102, n. 52, p. 19144-9, Dec 2005. ISSN 0027-8424. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16365309 >.

LEE, K. H. et al. Synchronous gamma activity: a review and contribution to an integrative neuroscience model of schizophrenia. **Brain Res Brain Res Rev,** v. 41, n. 1, p. 57-78, Jan 2003. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12505648 >.

LEGGE, S. E. et al. Association of Genetic Liability to Psychotic Experiences With Neuropsychotic Disorders and Traits. **JAMA Psychiatry,** v. 76, n. 12, p. 1256-1265, 12 2019. ISSN 2168-6238. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31553412 >.

LEVIN, N. et al. Differential roles of the infralimbic and prelimbic areas of the prefrontal cortex in reconsolidation of a traumatic memory. **Eur Neuropsychopharmacol,** v. 27, n. 9, p. 900-912, 09 2017. ISSN 1873-7862. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28647452 >.

LEVKOVITZ, Y. et al. A double-blind, randomized study of minocycline for the treatment of negative and cognitive symptoms in early-phase schizophrenia. **J Clin Psychiatry,** v. 71, n. 2, p. 138-49, Feb 2010. ISSN 1555-2101. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19895780 >.

LEWEKE, F. M. et al. Cannabidiol enhances anandamide signaling and alleviates psychotic symptoms of schizophrenia. **Transl Psychiatry,** v. 2, p. e94, Mar 2012. ISSN 2158-3188. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22832859 >.

LEWIS, D. A.; HASHIMOTO, T.; VOLK, D. W. Cortical inhibitory neurons and schizophrenia. **Nat Rev Neurosci,** v. 6, n. 4, p. 312-24, Apr 2005. ISSN 1471-003X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15803162 >.

LEWIS, D. A.; LIEBERMAN, J. A. Catching up on schizophrenia: natural history and neurobiology. **Neuron,** v. 28, n. 2, p. 325-34, Nov 2000. ISSN 0896-6273. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11144342 >.

LEWIS, S.; LIEBERMAN, J. CATIE and CUtLASS: can we handle the truth? **Br J Psychiatry,** v. 192, n. 3, p. 161-3, Mar 2008. ISSN 0007-1250. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18310570 >.

LI, C. et al. Sub-chronic Antipsychotic Drug Administration Reverses the Expression of Neuregulin 1 and ErbB4 in a Cultured MK801-Induced Mouse Primary Hippocampal Neuron or a Neurodevelopmental Schizophrenia Model. **Neurochem Res,** v. 41, n. 8, p. 2049-64, Aug 2016. ISSN 1573-6903. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27097547 >.

LI, J. T. et al. Long-term effects of neonatal exposure to MK-801 on recognition memory and excitatory-inhibitory balance in rat hippocampus. **Neuroscience,** v. 308, p. 134-43, Nov 2015. ISSN 1873-7544. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26349007 >.

LIEBERMAN, J. A. et al. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. **N Engl J Med,** v. 353, n. 12, p. 1209-23, Sep 2005. ISSN 1533-4406. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16172203 >.

LIN, C. Y.; TSAI, G. E.; LANE, H. Y. Assessing and treating cognitive impairment in schizophrenia: current and future. **Curr Pharm Des,** v. 20, n. 32, p. 5127-38, 2014. ISSN 1873-4286. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24410565 >.

LIPSKA, B. K. et al. Neonatal damage of the ventral hippocampus impairs working memory in the rat. **Neuropsychopharmacology,** v. 27, n. 1, p. 47-54, Jul 2002. ISSN 0893-133X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12062906 >.

_____. Neonatal excitotoxic hippocampal damage in rats causes post-pubertal changes in prepulse inhibition of startle and its disruption by apomorphine. **Psychopharmacology (Berl),** v. 122, n. 1, p. 35-43, Nov 1995. ISSN 0033-3158. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8711062 >.

LISMAN, J. E.; GRACE, A. A. The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. **Neuron,** v. 46, n. 5, p. 703-13, Jun 2005. ISSN 0896-6273. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15924857 >.

LIU, J. et al. Effects of repeated phencyclidine administration on adult hippocampal neurogenesis in the rat. **Synapse,** v. 60, n. 1, p. 56-68, Jul 2006. ISSN 0887-4476. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16596623 >.

LIU, Q. R. et al. Cannabinoid type 2 receptors in dopamine neurons inhibits psychomotor behaviors, alters anxiety, depression and alcohol preference. **Sci Rep,** v. 7, n. 1, p. 17410, Dec 2017. ISSN 2045-2322. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29234141 >.

LLADÓ-PELFORT, L. et al. 5-HT1A receptor agonists enhance pyramidal cell firing in prefrontal cortex through a preferential action on GABA interneurons. **Cereb Cortex,** v. 22, n. 7, p. 1487-97, Jul 2012. ISSN 1460-2199. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21893679 >.

LODGE, D. J.; BEHRENS, M. M.; GRACE, A. A. A loss of parvalbumin-containing interneurons is

associated with diminished oscillatory activity in an animal model of schizophrenia. **J Neurosci,** v. 29, n. 8, p. 2344-54, Feb 2009. ISSN 1529-2401. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19244511 >.

LODGE, D. J.; GRACE, A. A. Aberrant hippocampal activity underlies the dopamine dysregulation in an animal model of schizophrenia. **J Neurosci,** v. 27, n. 42, p. 11424-30, Oct 2007. ISSN 1529-2401. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17942737 >.

_____. Hippocampal dysfunction and disruption of dopamine system regulation in an animal model of schizophrenia. **Neurotox Res,** v. 14, n. 2-3, p. 97-104, Oct 2008. ISSN 1029-8428. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19073417 >.

LONG, L. E. et al. A behavioural comparison of acute and chronic Delta9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol in C57BL/6JArc mice. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 13, n. 7, p. 861-76, Aug 2010. ISSN 1469-5111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19785914 >.

_____. Distinct neurobehavioural effects of cannabidiol in transmembrane domain neuregulin 1 mutant mice. **PLoS One,** v. 7, n. 4, p. e34129, 2012. ISSN 1932-6203. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22509273 >.

LONG, L. E.; MALONE, D. T.; TAYLOR, D. A. Cannabidiol reverses MK-801-induced disruption of prepulse inhibition in mice. **Neuropsychopharmacology,** v. 31, n. 4, p. 795-803, Apr 2006. ISSN 0893-133X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16052245 >.

LOPEZ-RODRIGUEZ, A. B. et al. CB1 and CB2 cannabinoid receptor antagonists prevent minocycline-induced neuroprotection following traumatic brain injury in mice. **Cereb Cortex,** v. 25, n. 1, p. 35-45, Jan 2015. ISSN 1460-2199. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23960212 >.

LU, H. C.; MACKIE, K. An Introduction to the Endogenous Cannabinoid System. **Biol Psychiatry,** v. 79, n. 7, p. 516-25, Apr 2016. ISSN 1873-2402. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26698193 >.

_____. Review of the Endocannabinoid System. **Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging**, Aug 2020. ISSN 2451-9030. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32980261 >.

LUO, Y. et al. Chronic administration of ketamine induces cognitive deterioration by restraining synaptic signaling. **Mol Psychiatry**, Jun 2020. ISSN 1476-5578. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32488127 >.

LUONGO, L.; MAIONE, S.; DI MARZO, V. Endocannabinoids and neuropathic pain: focus on neuron-glia and endocannabinoid-neurotrophin interactions. **Eur J Neurosci,** v. 39, n. 3, p. 401-8, Feb 2014. ISSN 1460-9568. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24494680 >.

LUONI, A. et al. Chronic lurasidone treatment normalizes GABAergic marker alterations in the dorsal hippocampus of mice exposed to prenatal immune activation. **Eur Neuropsychopharmacol,** v. 27, n. 2, p. 170-179, 02 2017. ISSN 1873-7862. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27939135 >.

LYNCH, M. A. Long-term potentiation and memory. **Physiol Rev,** v. 84, n. 1, p. 87-136, Jan 2004. ISSN 0031-9333. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14715912 >.

LÓPEZ HILL, X.; RICHERI, A.; SCORZA, M. C. Clozapine blockade of MK-801-induced learning/memory impairment in the mEPM: Role of 5-HT. **Physiol Behav,** v. 179, p. 346-352, Oct 2017. ISSN 1873-507X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28705535 >.

MA, Z. et al. Mechanisms of cannabinoid CB. **EBioMedicine,** v. 42, p. 225-237, Apr 2019. ISSN 2352-3964. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30952618 >.

MAGEN, I. et al. Cannabidiol ameliorates cognitive and motor impairments in bile-duct ligated mice via 5-HT1A receptor activation. **Br J Pharmacol,** v. 159, n. 4, p. 950-7, Feb 2010. ISSN 1476-5381. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20128798 >.

MAGGIO, N.; SHAVIT STEIN, E.; SEGAL, M. Cannabidiol Regulates Long Term Potentiation Following Status Epilepticus: Mediation by Calcium Stores and Serotonin. **Front Mol Neurosci,** v. 11, p. 32, 2018. ISSN 1662-5099. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29467619 >.

MAKIOL, C.; KLUGE, M. Remission of severe, treatment-resistant schizophrenia following adjunctive cannabidiol. **Aust N Z J Psychiatry,** v. 53, n. 3, p. 262, 03 2019. ISSN 1440-1614. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30543310 >.

MANDILLO, S. et al. Repeated administration of phencyclidine, amphetamine and MK-801 selectively impairs spatial learning in mice: a possible model of psychotomimetic drug-induced cognitive deficits. **Behav Pharmacol,** v. 14, n. 7, p. 533-44, Nov 2003. ISSN 0955-8810. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14557721 >.

MANZANARES, J. et al. Role of the endocannabinoid system in drug addiction. **Biochem Pharmacol,** v. 157, p. 108-121, 11 2018. ISSN 1873-2968. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30217570 >.

MANZELLA, F. M. et al. Neonatal Ketamine Alters High-Frequency Oscillations and Synaptic Plasticity in the Subiculum But Does not Affect Sleep Macrostructure in Adolescent Rats. **Front Syst Neurosci,** v. 14, p. 26, 2020. ISSN 1662-5137. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32528257 >.

MARCUS, S. C.; OLFSON, M. Outpatient antipsychotic treatment and inpatient costs of schizophrenia. **Schizophr Bull,** v. 34, n. 1, p. 173-80, Jan 2008. ISSN 0586-7614. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17578893 >.

MARESZ, K. et al. Modulation of the cannabinoid CB2 receptor in microglial cells in response to inflammatory stimuli. **J Neurochem,** v. 95, n. 2, p. 437-45, Oct 2005. ISSN 0022-3042. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16086683 >.

MARTÍN-MORENO, A. M. et al. Cannabidiol and other cannabinoids reduce microglial activation in vitro and in vivo: relevance to Alzheimer's disease. **Mol Pharmacol,** v. 79, n. 6, p. 964-73, Jun 2011. ISSN 1521-0111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21350020 >.

MASANA, M. et al. Dopamine neurotransmission and atypical antipsychotics in prefrontal cortex: a critical review. **Curr Top Med Chem,** v. 12, n. 21, p. 2357-74, 2012. ISSN 1873-4294. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23279176 >.

MASATAKA, N. Anxiolytic Effects of Repeated Cannabidiol Treatment in Teenagers With Social Anxiety Disorders. **Front Psychol,** v. 10, p. 2466, 2019. ISSN 1664-1078. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31787910 >.

MASELLIS, M. et al. Serotonin subtype 2 receptor genes and clinical response to clozapine in schizophrenia patients. **Neuropsychopharmacology,** v. 19, n. 2, p. 123-32, Aug 1998. ISSN 0893-133X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9629566 >.

MATHERN, G.; NEHLIG, A.; SPERLING, M. Cannabidiol and medical marijuana for the treatment of epilepsy. **Epilepsia,** v. 55, n. 6, p. 781-2, Jun 2014. ISSN 1528-1167. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24854631 >.

MATUSZKO, G. et al. Extracellular matrix alterations in the ketamine model of schizophrenia. **Neuroscience,** v. 350, p. 13-22, 05 2017. ISSN 1873-7544. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28323012 >.

MAUNEY, S. A. et al. Developmental pattern of perineuronal nets in the human prefrontal cortex and their deficit in schizophrenia. **Biol Psychiatry,** v. 74, n. 6, p. 427-35, Sep 2013. ISSN 1873-2402. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23790226 >.

MCGRATH, J. et al. Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. **Epidemiol Rev,** v. 30, p. 67-76, 2008. ISSN 0193-936X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18480098 >.

MCGUIRE, P. et al. Cannabidiol (CBD) as an Adjunctive Therapy in Schizophrenia: A Multicenter Randomized Controlled Trial. **Am J Psychiatry,** v. 175, n. 3, p. 225-231, 03 2018. ISSN 1535-7228. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29241357 >.

MCKIBBEN, C. E. et al. Effect of pretreatment with risperidone on phencyclidine-induced disruptions in object recognition memory and prefrontal cortex parvalbumin immunoreactivity in the rat. **Behav Brain Res,** v. 208, n. 1, p. 132-6, Mar 2010. ISSN 1872-7549. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19914297 >.

MECHA, M. et al. Cannabidiol protects oligodendrocyte progenitor cells from inflammation-induced apoptosis by attenuating endoplasmic reticulum stress. **Cell Death Dis,** v. 3, p. e331, Jun 2012. ISSN 2041-4889. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22739983 >.

MECHOULAM, R.; PARKER, L. A.; GALLILY, R. Cannabidiol: an overview of some pharmacological aspects. **J Clin Pharmacol,** v. 42, n. S1, p. 11S-19S, 11 2002. ISSN 0091-2700. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12412831 >.

MECHOULAM, R.; SHVO, Y. Hashish. I. The structure of cannabidiol. **Tetrahedron,** v. 19, n. 12, p. 2073-8, 12 1963. ISSN 0040-4020. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5879214 >.

MEDINA-FLORES, R. et al. Destruction of extracellular matrix proteoglycans is pervasive in simian retroviral neuroinfection. **Neurobiol Dis,** v. 16, n. 3, p. 604-16, Aug 2004. ISSN 0969-9961. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15262273 >.

MEDOFF, D. R. et al. Probing the human hippocampus using rCBF: contrasts in schizophrenia. **Hippocampus,** v. 11, n. 5, p. 543-50, 2001. ISSN 1050-9631. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11732707 >.

MELTZER, H. Y. The role of serotonin in antipsychotic drug action. **Neuropsychopharmacology,** v. 21, n. 2 Suppl, p. 106S-115S, Aug 1999. ISSN 0893-133X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10432496 >.

_____. Update on typical and atypical antipsychotic drugs. **Annu Rev Med,** v. 64, p. 393-406, 2013. ISSN 1545-326X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23020880 >.

MELTZER, H. Y. et al. Serotonin receptors: their key role in drugs to treat schizophrenia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry,** v. 27, n. 7, p. 1159-72, Oct 2003. ISSN 0278-5846. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14642974 >.

MELTZER, H. Y.; MASSEY, B. W. The role of serotonin receptors in the action of atypical antipsychotic drugs. **Curr Opin Pharmacol,** v. 11, n. 1, p. 59-67, Feb 2011. ISSN 1471-4973. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21420906 >.

MELTZER, H. Y.; MATSUBARA, S.; LEE, J. C. Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin2 pKi values. **J Pharmacol Exp Ther,** v. 251, n. 1, p. 238-46, Oct 1989. ISSN 0022-3565. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2571717 >.

MELTZER, H. Y.; SUMIYOSHI, T. Does stimulation of 5-HT(1A) receptors improve cognition in schizophrenia? **Behav Brain Res,** v. 195, n. 1, p. 98-102, Dec 2008. ISSN 1872-7549. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18707769 >.

MEYER, U.; SCHWARZ, M. J.; MÜLLER, N. Inflammatory processes in schizophrenia: a promising neuroimmunological target for the treatment of negative/cognitive symptoms and beyond. **Pharmacol Ther,** v. 132, n. 1, p. 96-110, Oct 2011. ISSN 1879-016X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21704074 >.

MEYER-LINDENBERG, A. et al. Evidence for abnormal cortical functional connectivity during working memory in schizophrenia. **Am J Psychiatry,** v. 158, n. 11, p. 1809-17, Nov 2001. ISSN 0002-953X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11691686 >.

MOGHADAM, A. A. et al. Pairing of neonatal phencyclidine exposure and acute adolescent stress in male rats as a novel developmental model of schizophrenia. **Behav Brain Res,** v. 409, p. 113308, Apr 2021. ISSN 1872-7549. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33872663 >.

MOHAMED, A. M. et al. Amisulpride alleviates chronic mild stress-induced cognitive deficits: Role of prefrontal cortex microglia and Wnt/β-catenin pathway. **Eur J Pharmacol,** v. 885, p. 173411, Oct 2020. ISSN 1879-0712. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32800810 >.

MOHN, A. R. et al. Mice with reduced NMDA receptor expression display behaviors related to schizophrenia. **Cell,** v. 98, n. 4, p. 427-36, Aug 1999. ISSN 0092-8674. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10481908 >.

MONJI, A. et al. Neuroinflammation in schizophrenia especially focused on the role of microglia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry,** v. 42, p. 115-21, Apr 2013. ISSN 1878-4216. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22192886 >.

MORAWSKI, M. et al. Perineuronal nets potentially protect against oxidative stress. **Exp Neurol,** v. 188, n. 2, p. 309-15, Aug 2004. ISSN 0014-4886. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15246831 >.

MOREIRA, F. A.; GUIMARÃES, F. S. Cannabidiol inhibits the hyperlocomotion induced by psychotomimetic drugs in mice. **Eur J Pharmacol,** v. 512, n. 2-3, p. 199-205, Apr 2005. ISSN 0014-2999. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15840405 >.

MORI, M. A. et al. Differential contribution of CB1, CB2, 5-HT1A, and PPAR-γ receptors to cannabidiol effects on ischemia-induced emotional and cognitive impairments. **Eur J Neurosci,** v. 53, n. 6, p. 1738-1751, Mar 2021. ISSN 1460-9568. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33522084 >.

MORISHITA, H.; VINOGRADOV, S. Neuroplasticity and dysplasticity processes in schizophrenia. **Schizophr Res,** v. 207, p. 1-2, 05 2019. ISSN 1573-2509. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30930035 >.

MOUSAVIYAN, R. et al. Zinc Supplementation During Pregnancy Alleviates Lipopolysaccharide-Induced Glial Activation and Inflammatory Markers Expression in a Rat Model of Maternal Immune Activation. **Biol Trace Elem Res**, Jan 2021. ISSN 1559-0720. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33400154 >.

MURASE, S. et al. Prefrontal cortex regulates burst firing and transmitter release in rat mesolimbic dopamine neurons studied in vivo. **Neurosci Lett,** v. 157, n. 1, p. 53-6, Jul 1993. ISSN 0304-3940. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7901810 >.

MURILLO-RODRÍGUEZ, E. et al. Cannabidiol, a constituent of Cannabis sativa, modulates sleep in rats. **FEBS Lett,** v. 580, n. 18, p. 4337-45, Aug 2006. ISSN 0014-5793. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16844117 >.

_____. Effects on sleep and dopamine levels of microdialysis perfusion of cannabidiol into the lateral hypothalamus of rats. **Life Sci,** v. 88, n. 11-12, p. 504-11, Mar 2011. ISSN 1879-0631. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21262236 >.

MURPHY, M. et al. Chronic Adolescent Δ. **Cannabis Cannabinoid Res,** v. 2, n. 1, p. 235-246, 2017. ISSN 2378-8763. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29098186 >.

MURUETA-GOYENA, A. et al. Short-Term Exposure to Enriched Environment in Adult Rats Restores MK-801-Induced Cognitive Deficits and GABAergic Interneuron Immunoreactivity Loss. **Mol Neurobiol,** v. 55, n. 1, p. 26-41, 01 2018. ISSN 1559-1182. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28822057 >.

MÜLLER, N. COX-2 Inhibitors, Aspirin, and Other Potential Anti-Inflammatory Treatments for Psychiatric Disorders. **Front Psychiatry,** v. 10, p. 375, 2019. ISSN 1664-0640. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31214060 >.

MÜLLER, N. et al. Anti-inflammatory treatment in schizophrenia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry,** v. 42, p. 146-53, Apr 2013. ISSN 1878-4216. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23178230 >.

MÜLLER, N.; SCHWARZ, M. J. The immune-mediated alteration of serotonin and glutamate: towards an integrated view of depression. **Mol Psychiatry,** v. 12, n. 11, p. 988-1000, Nov 2007. ISSN 1359-4184. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17457312 >.

NAGAI, T. et al. Aripiprazole ameliorates phencyclidine-induced impairment of recognition memory through dopamine D1 and serotonin 5-HT1A receptors. **Psychopharmacology (Berl),** v. 202, n. 1-3, p. 315-28, Jan 2009. ISSN 1432-2072. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18679658 >.

NAGY, V.; BOZDAGI, O.; HUNTLEY, G. W. The extracellular protease matrix metalloproteinase-9 is activated by inhibitory avoidance learning and required for long-term memory. **Learn Mem,** v. 14, n. 10, p. 655-64, Oct 2007. ISSN 1549-5485. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17909100 >.

NAKAZAWA, K.; SAPKOTA, K. The origin of NMDA receptor hypofunction in schizophrenia. **Pharmacol Ther,** v. 205, p. 107426, 01 2020. ISSN 1879-016X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31629007 >.

NAKKI, R. et al. Haloperidol prevents ketamine- and phencyclidine-induced HSP70 protein expression but not microglial activation. **Exp Neurol,** v. 137, n. 2, p. 234-41, Feb 1996. ISSN 0014-4886. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8635538 >.

NELSON, A. J. et al. The effect of catecholaminergic depletion within the prelimbic and infralimbic medial prefrontal cortex on recognition memory for recency, location, and objects. **Behav Neurosci,** v. 125, n. 3, p. 396-403, Jun 2011. ISSN 1939-0084. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21480692 >.

NYBERG, S. et al. D(2)- and 5-HT(2) receptor occupancy in high-dose neuroleptic-treated patients. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 1, n. 2, p. 95-101, Dec 1998. ISSN 1469-5111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11281952 >.

O'DONNELL, P. Adolescent onset of cortical disinhibition in schizophrenia: insights from animal models. **Schizophr Bull,** v. 37, n. 3, p. 484-92, May 2011. ISSN 1745-1701. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21505115 >.

_____. Cortical disinhibition in the neonatal ventral hippocampal lesion model of schizophrenia: new vistas on possible therapeutic approaches. **Pharmacol Ther,** v. 133, n. 1, p. 19-25, Jan 2012. ISSN 1879-016X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21839776 >.

OADES, R. D. et al. Neuropsychological measures of attention and memory function in schizophrenia: relationships with symptom dimensions and serum monoamine activity. **Behav Brain Funct,** v. 1, p. 14, Aug 2005. ISSN 1744-9081. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16091141 >.

OMELCHENKO, N.; SESACK, S. R. Laterodorsal tegmental projections to identified cell populations in the rat ventral tegmental area. **J Comp Neurol,** v. 483, n. 2, p. 217-35, Mar 2005. ISSN 0021-9967. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15678476 >.

ORTEGA-ALVARO, A. et al. Deletion of CB2 cannabinoid receptor induces schizophrenia-related behaviors in mice. **Neuropsychopharmacology,** v. 36, n. 7, p. 1489-504, Jun 2011. ISSN 1740-634X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21430651 >.

OSBORNE, A. L. et al. Improved Social Interaction, Recognition and Working Memory with Cannabidiol Treatment in a Prenatal Infection (poly I:C) Rat Model. **Neuropsychopharmacology,** v. 42, n. 7, p. 1447-1457, Jun 2017. ISSN 1740-634X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28230072 >.

_____. Cannabidiol improves behavioural and neurochemical deficits in adult female offspring of the maternal immune activation (poly I:C) model of neurodevelopmental disorders. **Brain Behav Immun,** v. 81, p. 574-587, Oct 2019. ISSN 1090-2139. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31326506 >.

_____. Effect of cannabidiol on endocannabinoid, glutamatergic and GABAergic signalling markers in male offspring of a maternal immune activation (poly I:C) model relevant to schizophrenia. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry,** v. 95, p. 109666, 12 2019. ISSN 1878-4216. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31202911 >.

PANTAZOPOULOS, H. et al. Extracellular matrix-glial abnormalities in the amygdala and entorhinal cortex of subjects diagnosed with schizophrenia. **Arch Gen Psychiatry,** v. 67, n. 2, p. 155-66, Feb 2010. ISSN 1538-3636. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20124115 >.

PARK, M. T. M. et al. Hippocampal neuroanatomy in first episode psychosis: A putative role for glutamate and serotonin receptors. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry,** v. 110, p. 110297, Mar 2021. ISSN 1878-4216. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33691200 >.

PATEL, A. R. et al. Microglia and ischemic stroke: a double-edged sword. **Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol,** v. 5, n. 2, p. 73-90, 2013. ISSN 1944-8171. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23750306 >.

PATTON, M. H.; BIZUP, B. T.; GRACE, A. A. The infralimbic cortex bidirectionally modulates mesolimbic dopamine neuron activity via distinct neural pathways. **J Neurosci,** v. 33, n. 43, p. 16865-73, Oct 2013. ISSN 1529-2401. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24155293 >.

PAXINOS, G.; FRANKLIN, K. B. J. **The mouse brain in stereotaxic coordinates**. 3th. New York: Academic Press, 2008. 360p.

PAYLOR, J. W. et al. Developmental disruption of perineuronal nets in the medial prefrontal cortex after maternal immune activation. **Sci Rep,** v. 6, p. 37580, 11 2016. ISSN 2045-2322. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27876866 >.

PAZOS, M. R. et al. Mechanisms of cannabidiol neuroprotection in hypoxic-ischemic newborn pigs: role of 5HT(1A) and CB2 receptors. **Neuropharmacology,** v. 71, p. 282-91, Aug 2013. ISSN 1873-7064. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23587650 >.

PEDRAZZI, J. F. et al. Cannabidiol effects in the prepulse inhibition disruption induced by amphetamine. **Psychopharmacology (Berl),** v. 232, n. 16, p. 3057-65, Aug 2015. ISSN 1432-2072. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25943166 >.

PELKEY, K. A. et al. Hippocampal GABAergic Inhibitory Interneurons. **Physiol Rev,** v. 97, n. 4, p. 1619-1747, 10 2017. ISSN 1522-1210. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28954853 >.

PETITET, F. et al. Complex pharmacology of natural cannabinoids: evidence for partial agonist activity of delta9-tetrahydrocannabinol and antagonist activity of cannabidiol on rat brain cannabinoid receptors. **Life Sci,** v. 63, n. 1, p. PL1-6, 1998. ISSN 0024-3205. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9667767 >.

PIANTADOSI, P. T.; FLORESCO, S. B. Prefrontal cortical GABA transmission modulates discrimination and latent inhibition of conditioned fear: relevance for schizophrenia. **Neuropsychopharmacology,** v. 39, n. 10, p. 2473-84, Sep 2014. ISSN 1740-634X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24784549 >.

PIETERSEN, C. Y. et al. Molecular profiles of pyramidal neurons in the superior temporal cortex in schizophrenia. **J Neurogenet,** v. 28, n. 1-2, p. 53-69, 2014 Mar-Jun 2014. ISSN 1563-5260. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24702465 >.

PIN, J. P.; ACHER, F. The metabotropic glutamate receptors: structure, activation mechanism and pharmacology. **Curr Drug Targets CNS Neurol Disord,** v. 1, n. 3, p. 297-317, Jun 2002. ISSN 1568-007X (Print)
1568-007x.

PIONTKEWITZ, Y. et al. Effects of risperidone treatment in adolescence on hippocampal neurogenesis, parvalbumin expression, and vascularization following prenatal immune activation in rats. **Brain Behav Immun,** v. 26, n. 2, p. 353-63, Feb 2012. ISSN 1090-2139. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22154704 >.

PIZZORUSSO, T. et al. Reactivation of ocular dominance plasticity in the adult visual cortex. **Science,** v. 298, n. 5596, p. 1248-51, Nov 2002. ISSN 1095-9203. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12424383 >.

POWELL, S. B.; SEJNOWSKI, T. J.; BEHRENS, M. M. Behavioral and neurochemical consequences of cortical oxidative stress on parvalbumin-interneuron maturation in rodent models of schizophrenia. **Neuropharmacology,** v. 62, n. 3, p. 1322-31, Mar 2012. ISSN 1873-7064. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21315745 >.

PRISCO, S.; PAGANNONE, S.; ESPOSITO, E. Serotonin-dopamine interaction in the rat ventral tegmental area: an electrophysiological study in vivo. **J Pharmacol Exp Ther,** v. 271, n. 1, p. 83-90, Oct 1994. ISSN 0022-3565. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7965760 >.

PRZEGALIÑSKI, E.; FILIP, M. Stimulation of serotonin (5-HT)1A receptors attenuates the locomotor, but not the discriminative, effects of amphetamine and cocaine in rats. **Behav Pharmacol,** v. 8, n. 8, p. 699-706, Dec 1997. ISSN 0955-8810. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9832955 >.

PRZEGALIŃSKI, E. et al. Activation of serotonin (5-HT)1A receptors inhibits amphetamine sensitization in mice. **Life Sci,** v. 66, n. 11, p. 1011-9, 2000. ISSN 0024-3205. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10724448 >.

PUIG, M. V.; ARTIGAS, F.; CELADA, P. Modulation of the activity of pyramidal neurons in rat prefrontal cortex by raphe stimulation in vivo: involvement of serotonin and GABA. **Cereb Cortex,** v. 15, n. 1, p. 1-14, Jan 2005. ISSN 1047-3211. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15238448 >.

PUIG, M. V. et al. In vivo modulation of the activity of pyramidal neurons in the rat medial prefrontal cortex by 5-HT2A receptors: relationship to thalamocortical afferents. **Cereb Cortex,** v. 13, n. 8, p. 870-82, Aug 2003. ISSN 1047-3211. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12853374 >.

RADEWICZ, K. et al. Increase in HLA-DR immunoreactive microglia in frontal and temporal cortex of chronic schizophrenics. **J Neuropathol Exp Neurol,** v. 59, n. 2, p. 137-50, Feb 2000. ISSN 0022-3069. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10749103 >.

RAMON Y CAJAL, S. **Las celulas de cilindro-eje corto de la capa molecular del cerebro.** Rev. Trimest. Microgr. 1987

RANSOHOFF, R. M.; PERRY, V. H. Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses. **Annu Rev Immunol,** v. 27, p. 119-45, 2009. ISSN 0732-0582. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19302036 >.

REIF, A. et al. Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression. **Mol Psychiatry,** v. 11, n. 5, p. 514-22, May 2006. ISSN 1359-4184. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16415915 >.

RHODES, K. E.; FAWCETT, J. W. Chondroitin sulphate proteoglycans: preventing plasticity or protecting the CNS? **J Anat,** v. 204, n. 1, p. 33-48, Jan 2004. ISSN 0021-8782. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14690476 >.

RIBEIRO, B. M. et al. Evidences for a progressive microglial activation and increase in iNOS expression in rats submitted to a neurodevelopmental model of schizophrenia: reversal by clozapine. **Schizophr Res,** v. 151, n. 1-3, p. 12-9, Dec 2013. ISSN 1573-2509. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24257517 >.

RIBEIRO-SANTOS, A.; LUCIO TEIXEIRA, A.; SALGADO, J. V. Evidence for an immune role on cognition in schizophrenia: a systematic review. **Curr Neuropharmacol,** v. 12, n. 3, p. 273-80, May

2014. ISSN 1570-159X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24851091 >.

RIECHER-RÖSSLER, A.; BUTLER, S.; KULKARNI, J. Sex and gender differences in schizophrenic psychoses-a critical review. **Arch Womens Ment Health,** v. 21, n. 6, p. 627-648, 12 2018. ISSN 1435-1102. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29766281 >.

RIVERA, S. et al. Metzincin proteases and their inhibitors: foes or friends in nervous system physiology? **J Neurosci,** v. 30, n. 46, p. 15337-57, Nov 2010. ISSN 1529-2401. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21084591 >.

ROBBINS, T. W. Chemical neuromodulation of frontal-executive functions in humans and other animals. **Exp Brain Res,** v. 133, n. 1, p. 130-8, Jul 2000. ISSN 0014-4819. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10933217 >.

ROBERTS, R. C. et al. Reduced striatal spine size in schizophrenia: a postmortem ultrastructural study. **Neuroreport,** v. 7, n. 6, p. 1214-8, Apr 1996. ISSN 0959-4965. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8817535 >.

ROCK, E. M. et al. Cannabidiol, a non-psychotropic component of cannabis, attenuates vomiting and nausea-like behaviour via indirect agonism of 5-HT(1A) somatodendritic autoreceptors in the dorsal raphe nucleus. **Br J Pharmacol,** v. 165, n. 8, p. 2620-34, Apr 2012. ISSN 1476-5381. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21827451 >.

RODRIGUES DA SILVA, N. et al. Cannabidiol attenuates behavioral changes in a rodent model of schizophrenia through 5-HT1A, but not CB1 and CB2 receptors. **Pharmacol Res,** v. 156, p. 104749, Jun 2020. ISSN 1096-1186. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32151683 >.

ROLLEMA, H. et al. 5-HT(1A) receptor activation contributes to ziprasidone-induced dopamine release in the rat prefrontal cortex. **Biol Psychiatry,** v. 48, n. 3, p. 229-37, Aug 2000. ISSN 0006-3223. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10924666 >.

_____. Clozapine increases dopamine release in prefrontal cortex by 5-HT1A receptor activation. **Eur J Pharmacol,** v. 338, n. 2, p. R3-5, Nov 1997. ISSN 0014-2999. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9456005 >.

ROMÓN, T.; MENGOD, G.; ADELL, A. Expression of parvalbumin and glutamic acid decarboxylase-67 after acute administration of MK-801. Implications for the NMDA hypofunction model of schizophrenia. **Psychopharmacology (Berl),** v. 217, n. 2, p. 231-8, Sep 2011. ISSN 1432-2072. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21465242 >.

ROSE, G. M.; DUNWIDDIE, T. V. Induction of hippocampal long-term potentiation using physiologically patterned stimulation. **Neurosci Lett,** v. 69, n. 3, p. 244-8, Sep 1986. ISSN 0304-3940. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3763054 >.

ROSSETTI, A. C. et al. Chronic Stress Exposure Reduces Parvalbumin Expression in the Rat Hippocampus through an Imbalance of Redox Mechanisms: Restorative Effect of the Antipsychotic Lurasidone. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 21, n. 9, p. 883-893, 09 2018. ISSN 1469-5111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29788232 >.

ROTTANBURG, D. et al. Cannabis-associated psychosis with hypomanic features. **Lancet,** v. 2, n. 8312, p. 1364-6, Dec 1982. ISSN 0140-6736. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6129463 >.

RUDY, B. et al. Three groups of interneurons account for nearly 100% of neocortical GABAergic neurons. **Dev Neurobiol,** v. 71, n. 1, p. 45-61, Jan 2011. ISSN 1932-846X. Available at: <

https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21154909 >.

RUIZ-VALDEPEÑAS, L. et al. Cannabidiol reduces lipopolysaccharide-induced vascular changes and inflammation in the mouse brain: an intravital microscopy study. **J Neuroinflammation,** v. 8, n. 1, p. 5, Jan 2011. ISSN 1742-2094. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21244691 >.

RUJESCU, D. et al. A pharmacological model for psychosis based on N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction: molecular, cellular, functional and behavioral abnormalities. **Biol Psychiatry,** v. 59, n. 8, p. 721-9, Apr 2006. ISSN 0006-3223. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16427029 >.

RUPP, A.; KEITH, S. J. The costs of schizophrenia. Assessing the burden. **Psychiatr Clin North Am,** v. 16, n. 2, p. 413-23, Jun 1993. ISSN 0193-953X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8332569 >.

RUSSO, E. B. et al. Agonistic properties of cannabidiol at 5-HT1a receptors. **Neurochem Res,** v. 30, n. 8, p. 1037-43, Aug 2005. ISSN 0364-3190. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16258853 >.

RÉTHELYI, J. M.; BENKOVITS, J.; BITTER, I. Genes and environments in schizophrenia: The different pieces of a manifold puzzle. **Neurosci Biobehav Rev,** v. 37, n. 10 Pt 1, p. 2424-37, Dec 2013. ISSN 1873-7528. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23628741 >.

SAKAUE, M. et al. Postsynaptic 5-hydroxytryptamine(1A) receptor activation increases in vivo dopamine release in rat prefrontal cortex. **Br J Pharmacol,** v. 129, n. 5, p. 1028-34, Mar 2000. ISSN 0007-1188. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10696105 >.

SALETTI, P. G.; TOMAZ, C. Cannabidiol effects on prepulse inhibition in nonhuman primates. **Rev Neurosci**, May 2018. ISSN 0334-1763. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29794254 >.

SANTANA, N. et al. Expression of serotonin1A and serotonin2A receptors in pyramidal and GABAergic neurons of the rat prefrontal cortex. **Cereb Cortex,** v. 14, n. 10, p. 1100-9, Oct 2004. ISSN 1047-3211. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15115744 >.

SCARANTE, F. F. et al. Glial Cells and Their Contribution to the Mechanisms of Action of Cannabidiol in Neuropsychiatric Disorders. **Front Pharmacol,** v. 11, p. 618065, 2020. ISSN 1663-9812. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33613284 >.

SCHLEICHER, E. M. et al. Prolonged Cannabidiol Treatment Lacks on Detrimental Effects on Memory, Motor Performance and Anxiety in C57BL/6J Mice. **Front Behav Neurosci,** v. 13, p. 94, 2019. ISSN 1662-5153. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31133833 >.

SCHMITZ, D.; EMPSON, R. M.; HEINEMANN, U. Serotonin reduces inhibition via 5-HT1A receptors in area CA1 of rat hippocampal slices in vitro. **J Neurosci,** v. 15, n. 11, p. 7217-25, Nov 1995. ISSN 0270-6474. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7472476 >.

SCHNIEDER, T. P.; DWORK, A. J. Searching for neuropathology: gliosis in schizophrenia. **Biol Psychiatry,** v. 69, n. 2, p. 134-9, Jan 2011. ISSN 1873-2402. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21035789 >.

SCHOEVERS, J.; LEWEKE, J. E.; LEWEKE, F. M. Cannabidiol as a treatment option for schizophrenia: recent evidence and current studies. **Curr Opin Psychiatry,** v. 33, n. 3, p. 185-191, 05 2020. ISSN 1473-6578. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32073423 >.

SCHREIBER, R.; NEWMAN-TANCREDI, A. Improving cognition in schizophrenia with antipsychotics that elicit neurogenesis through 5-HT(1A) receptor activation. **Neurobiol Learn Mem,** v. 110, p. 72-80, Apr 2014. ISSN 1095-9564. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24423786 >.

SCHULTZ, W. Neural coding of basic reward terms of animal learning theory, game theory, microeconomics and behavioural ecology. **Curr Opin Neurobiol,** v. 14, n. 2, p. 139-47, Apr 2004. ISSN 0959-4388. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15082317 >.

SCHWARTZ, T. L.; SACHDEVA, S.; STAHL, S. M. Glutamate neurocircuitry: theoretical underpinnings in schizophrenia. **Front Pharmacol,** v. 3, p. 195, 2012. ISSN 1663-9812. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23189055 >.

SCORZA, M. C. et al. Clozapine does not require 5-HT1A receptors to block the locomotor hyperactivity induced by MK-801 Clz and MK-801 in KO1A mice. **Neuropharmacology,** v. 59, n. 1-2, p. 112-20, 2010 Jul-Aug 2010. ISSN 1873-7064. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20412811 >.

SEEMAN, P. Cannabidiol is a partial agonist at dopamine D2High receptors, predicting its antipsychotic clinical dose. **Transl Psychiatry,** v. 6, n. 10, p. e920, 10 2016. ISSN 2158-3188. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27754480 >.

SEEMAN, P.; KAPUR, S. Schizophrenia: more dopamine, more D2 receptors. **Proc Natl Acad Sci U S A,** v. 97, n. 14, p. 7673-5, Jul 2000. ISSN 0027-8424. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10884398 >.

SEILLIER, A. et al. Inhibition of fatty-acid amide hydrolase and CB1 receptor antagonism differentially affect behavioural responses in normal and PCP-treated rats. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 13, n. 3, p. 373-86, Apr 2010. ISSN 1469-5111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19607756 >.

SELTEN, M. M. et al. Increased GABA. **Sci Rep,** v. 6, p. 34240, Sep 2016. ISSN 2045-2322. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27687783 >.

SHAH, A.; LODGE, D. J. A loss of hippocampal perineuronal nets produces deficits in dopamine system function: relevance to the positive symptoms of schizophrenia. **Transl Psychiatry,** v. 3, p. e215, Jan 2013. ISSN 2158-3188. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23321812 >.

SHARPE, M. J.; KILLCROSS, S. The prelimbic cortex uses higher-order cues to modulate both the acquisition and expression of conditioned fear. **Front Syst Neurosci,** v. 8, p. 235, 2014. ISSN 1662-5137. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25628542 >.

SHELTON, H. W. et al. The effects of a novel inhibitor of tumor necrosis factor (TNF) alpha on prepulse inhibition and microglial activation in two distinct rodent models of schizophrenia. **Behav Brain Res,** v. 406, p. 113229, May 2021. ISSN 1872-7549. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33684425 >.

SHENTON, M. E. et al. A review of MRI findings in schizophrenia. **Schizophr Res,** v. 49, n. 1-2, p. 1-52, Apr 2001. ISSN 0920-9964. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11343862 >.

SLAKER, M. L.; HARKNESS, J. H.; SORG, B. A. A standardized and automated method of perineuronal net analysis using. **IBRO Rep,** v. 1, p. 54-60, Dec 2016. ISSN 2451-8301. Available

at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28713865 >.

SOARES, V. P.; CAMPOS, A. C. Evidences for the Anti-panic Actions of Cannabidiol. **Curr Neuropharmacol,** v. 15, n. 2, p. 291-299, 2017. ISSN 1875-6190. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27157263 >.

SOLER-CEDEÑO, O. et al. Contextual fear conditioning depresses infralimbic excitability. **Neurobiol Learn Mem,** v. 130, p. 77-82, Apr 2016. ISSN 1095-9564. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26860438 >.

SOLMI, M. et al. Safety, tolerability, and risks associated with first- and second-generation antipsychotics: a state-of-the-art clinical review. **Ther Clin Risk Manag,** v. 13, p. 757-777, 2017. ISSN 1176-6336. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28721057 >.

SONEGO, A. B. et al. Cannabidiol attenuates haloperidol-induced catalepsy and c-Fos protein expression in the dorsolateral striatum via 5-HT1A receptors in mice. **Behav Brain Res,** v. 309, p. 22-8, 08 2016. ISSN 1872-7549. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27131780 >.

_____. Cannabidiol prevents haloperidol-induced vacuos chewing movements and inflammatory changes in mice via PPARγ receptors. **Brain Behav Immun,** v. 74, p. 241-251, 11 2018. ISSN 1090-2139. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30217539 >.

SONNENSCHEIN, S. F.; GOMES, F. V.; GRACE, A. A. Dysregulation of Midbrain Dopamine System and the Pathophysiology of Schizophrenia. **Front Psychiatry,** v. 11, p. 613, 2020. ISSN 1664-0640. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32719622 >.

SQUIRE, L. R. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. **Psychol Rev,** v. 99, n. 2, p. 195-231, Apr 1992. ISSN 0033-295X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1594723 >.

STEFANI, M. R.; MOGHADDAM, B. Transient N-methyl-D-aspartate receptor blockade in early development causes lasting cognitive deficits relevant to schizophrenia. **Biol Psychiatry,** v. 57, n. 4, p. 433-6, Feb 2005. ISSN 0006-3223. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15705361 >.

STOCKMEIER, C. A. et al. Characterization of typical and atypical antipsychotic drugs based on in vivo occupancy of serotonin2 and dopamine2 receptors. **J Pharmacol Exp Ther,** v. 266, n. 3, p. 1374-84, Sep 1993. ISSN 0022-3565. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8103793 >.

STONE, J. M.; MORRISON, P. D.; PILOWSKY, L. S. Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia--a synthesis and selective review. **J Psychopharmacol,** v. 21, n. 4, p. 440-52, Jun 2007. ISSN 0269-8811. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17259207 >.

STRINGER, J. L.; GUYENET, P. G. Elimination of long-term potentiation in the hippocampus by phencyclidine and ketamine. **Brain Res,** v. 258, n. 1, p. 159-64, Jan 1983. ISSN 0006-8993. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24010182 >.

SUMIYOSHI, T. et al. The effect of tandospirone, a serotonin(1A) agonist, on memory function in schizophrenia. **Biol Psychiatry,** v. 49, n. 10, p. 861-8, May 2001. ISSN 0006-3223. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11343682 >.

_____. Effect of buspirone, a serotonin1A partial agonist, on cognitive function in schizophrenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Schizophr Res,** v. 95, n. 1-3, p. 158-68, Sep 2007. ISSN 0920-9964. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17628435 >.

SUN, W.; LI, X.; AN, L. Distinct roles of prelimbic and infralimbic proBDNF in extinction of conditioned fear. **Neuropharmacology,** v. 131, p. 11-19, 03 2018. ISSN 1873-7064. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29241651 >.

SVÍZENSKÁ, I.; DUBOVÝ, P.; SULCOVÁ, A. Cannabinoid receptors 1 and 2 (CB1 and CB2), their distribution, ligands and functional involvement in nervous system structures--a short review. **Pharmacol Biochem Behav,** v. 90, n. 4, p. 501-11, Oct 2008. ISSN 0091-3057. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18584858 >.

TALATI, P. et al. Increased hippocampal CA1 cerebral blood volume in schizophrenia. **Neuroimage Clin,** v. 5, p. 359-64, 2014. ISSN 2213-1582. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25161901 >.

TAO-CHENG, J. H. et al. Structural changes at synapses after delayed perfusion fixation in different regions of the mouse brain. **J Comp Neurol,** v. 501, n. 5, p. 731-40, Apr 2007. ISSN 0021-9967. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17299754 >.

TEUCHERT-NOODT, G.; DAWIRS, R. R.; HILDEBRANDT, K. Adult treatment with methamphetamine transiently decreases dentate granule cell proliferation in the gerbil hippocampus. **J Neural Transm (Vienna),** v. 107, n. 2, p. 133-43, 2000. ISSN 0300-9564. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10847555 >.

THIERRY, A. M.; DENIAU, J. M.; FEGER, J. Effects of stimulation of the frontal cortex on identified output VMT cells in the rat. **Neurosci Lett,** v. 15, n. 2-3, p. 102-7, Dec 1979. ISSN 0304-3940. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/530520 >.

TITULAER, J. et al. The Importance of Ventral Hippocampal Dopamine and Norepinephrine in Recognition Memory. **Front Behav Neurosci,** v. 15, p. 667244, 2021. ISSN 1662-5153. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33927604 >.

TODOROVIĆ, N. et al. Subregion-specific Protective Effects of Fluoxetine and Clozapine on Parvalbumin Expression in Medial Prefrontal Cortex of Chronically Isolated Rats. **Neuroscience,** v. 396, p. 24-35, 01 2019. ISSN 1873-7544. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30448452 >.

TONG, Z. Y. et al. Do non-dopaminergic neurons in the ventral tegmental area play a role in the responses elicited in A10 dopaminergic neurons by electrical stimulation of the prefrontal cortex? **Exp Brain Res,** v. 118, n. 4, p. 466-76, Feb 1998. ISSN 0014-4819. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9504842 >.

TORRES-GARCÍA, M. E. et al. Differential Effects of Inactivation of Discrete Regions of Medial Prefrontal Cortex on Memory Consolidation of Moderate and Intense Inhibitory Avoidance Training. **Front Pharmacol,** v. 8, p. 842, 2017. ISSN 1663-9812. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29204119 >.

TSAI, G.; COYLE, J. T. Glutamatergic mechanisms in schizophrenia. **Annu Rev Pharmacol Toxicol,** v. 42, p. 165-79, 2002. ISSN 0362-1642. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11807169 >.

TSE, M. T.; PIANTADOSI, P. T.; FLORESCO, S. B. Prefrontal cortical gamma-aminobutyric acid transmission and cognitive function: drawing links to schizophrenia from preclinical research. **Biol Psychiatry,** v. 77, n. 11, p. 929-39, Jun 2015. ISSN 1873-2402. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25442792 >.

TSENG, K. Y. et al. A neonatal ventral hippocampal lesion causes functional deficits in adult prefrontal cortical interneurons. **J Neurosci,** v. 28, n. 48, p. 12691-9, Nov 2008. ISSN 1529-2401. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19036962 >.

TSENG, K. Y.; O'DONNELL, P. Dopamine modulation of prefrontal cortical interneurons changes during adolescence. **Cereb Cortex,** v. 17, n. 5, p. 1235-40, May 2007. ISSN 1047-3211. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16818475 >.

TSOU, K. et al. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. **Neuroscience,** v. 83, n. 2, p. 393-411, Mar 1998. ISSN 0306-4522. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9460749 >.

TSUCHIDA, R. et al. Inhibitory effects of osemozotan, a serotonin 1A-receptor agonist, on methamphetamine-induced c-Fos expression in prefrontal cortical neurons. **Biol Pharm Bull,** v. 32, n. 4, p. 728-31, Apr 2009. ISSN 0918-6158. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19336914 >.

TZSCHENTKE, T. M.; SCHMIDT, W. J. Functional relationship among medial prefrontal cortex, nucleus accumbens, and ventral tegmental area in locomotion and reward. **Crit Rev Neurobiol,** v. 14, n. 2, p. 131-42, 2000. ISSN 0892-0915. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11513242 >.

UEHARA, T. et al. T-817MA, a novel neurotrophic agent, ameliorates loss of GABAergic parvalbumin-positive neurons and sensorimotor gating deficits in rats transiently exposed to MK-801 in the neonatal period. **J Psychiatr Res,** v. 46, n. 5, p. 622-9, May 2012. ISSN 1879-1379. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22342346 >.

_____. T-817MA, but Not Haloperidol and Risperidone, Restores Parvalbumin-Positive γ -Aminobutyric Acid Neurons in the Prefrontal Cortex and Hippocampus of Rats Transiently Exposed to MK-801 at the Neonatal Period. **ISRN Psychiatry,** v. 2012, p. 947149, 2012. ISSN 2090-7966. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23738215 >.

UHLHAAS, P. J.; SINGER, W. Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. **Nat Rev Neurosci,** v. 11, n. 2, p. 100-13, Feb 2010. ISSN 1471-0048. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20087360 >.

UNAL, G.; SIRVANCI, S.; ARICIOGLU, F. α7 nicotinic receptor agonist and positive allosteric modulators differently improved schizophrenia-like cognitive deficits in male rats. **Behav Brain Res,** v. 397, p. 112946, 01 2021. ISSN 1872-7549. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33011186 >.

URBANAVICIUS, J. et al. Melanin-concentrating hormone in the Locus Coeruleus aggravates helpless behavior in stressed rats. **Behav Brain Res,** v. 374, p. 112120, 11 2019. ISSN 1872-7549. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31376444 >.

UÇOK, A.; GAEBEL, W. Side effects of atypical antipsychotics: a brief overview. **World Psychiatry,** v. 7, n. 1, p. 58-62, Feb 2008. ISSN 1723-8617. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18458771 >.

VALES, K. et al. Analysis of sensitivity to MK-801 treatment in a novel active allothetic place avoidance task and in the working memory version of the Morris water maze reveals differences between Long-Evans and Wistar rats. **Neurosci Res,** v. 55, n. 4, p. 383-8, Aug 2006. ISSN 0168-0102. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16712995 >.

VALSTAD, M. et al. Evidence for Reduced Long-Term Potentiation-Like Visual Cortical Plasticity in

Schizophrenia and Bipolar Disorder. **Schizophr Bull**, May 2021. ISSN 1745-1701. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33963856 >.

VAN BERCKEL, B. N. et al. Microglia activation in recent-onset schizophrenia: a quantitative (R)-[11C]PK11195 positron emission tomography study. **Biol Psychiatry,** v. 64, n. 9, p. 820-2, Nov 2008. ISSN 1873-2402. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18534557 >.

WAKE, H.; MOORHOUSE, A. J.; NABEKURA, J. Functions of microglia in the central nervous system--beyond the immune response. **Neuron Glia Biol,** v. 7, n. 1, p. 47-53, Feb 2011. ISSN 1741-0533. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22613055 >.

WALTER, L. et al. Nonpsychotropic cannabinoid receptors regulate microglial cell migration. **J Neurosci,** v. 23, n. 4, p. 1398-405, Feb 2003. ISSN 1529-2401. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12598628 >.

WANG, S. et al. Dopaminergic and serotoninergic deficiencies in young adult rats prenatally exposed to the bacterial lipopolysaccharide. **Brain Res,** v. 1265, p. 196-204, Apr 2009. ISSN 1872-6240. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19236855 >.

WARD, S. J. et al. Cannabidiol inhibits paclitaxel-induced neuropathic pain through 5-HT(1A) receptors without diminishing nervous system function or chemotherapy efficacy. **Br J Pharmacol,** v. 171, n. 3, p. 636-45, Feb 2014. ISSN 1476-5381. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24117398 >.

WEGRZYN, D. et al. Poly I:C Activated Microglia Disrupt Perineuronal Nets and Modulate Synaptic Balance in Primary Hippocampal Neurons. **Front Synaptic Neurosci,** v. 13, p. 637549, 2021. ISSN 1663-3563. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33708102 >.

WEISS, A. P. et al. Fronto-hippocampal function during temporal context monitoring in schizophrenia. **Biol Psychiatry,** v. 60, n. 11, p. 1268-77, Dec 2006. ISSN 0006-3223. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17020747 >.

WEN, T. H. et al. The Perineuronal 'Safety' Net? Perineuronal Net Abnormalities in Neurological Disorders. **Front Mol Neurosci,** v. 11, p. 270, 2018. ISSN 1662-5099. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30123106 >.

WINTER, C. et al. Prenatal immune activation leads to multiple changes in basal neurotransmitter levels in the adult brain: implications for brain disorders of neurodevelopmental origin such as schizophrenia. **Int J Neuropsychopharmacol,** v. 12, n. 4, p. 513-24, May 2009. ISSN 1469-5111. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18752727 >.

WONG, A. H.; VAN TOL, H. H. Schizophrenia: from phenomenology to neurobiology. **Neurosci Biobehav Rev,** v. 27, n. 3, p. 269-306, May 2003. ISSN 0149-7634. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12788337 >.

WRIGHT, J. W.; BROWN, T. E.; HARDING, J. W. Inhibition of hippocampal matrix metalloproteinase-3 and -9 disrupts spatial memory. **Neural Plast,** v. 2007, p. 73813, 2007. ISSN 1687-5443. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17502908 >.

XI, Z. X. et al. Brain cannabinoid CB_2 receptors modulate cocaine's actions in mice. **Nat Neurosci,** v. 14, n. 9, p. 1160-6, Jul 2011. ISSN 1546-1726. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21785434 >.

XIA, Y. et al. Modulating microglia activation prevents maternal immune activation induced schizophrenia-relevant behavior phenotypes via arginase 1 in the dentate gyrus.

Neuropsychopharmacology, v. 45, n. 11, p. 1896-1908, 10 2020. ISSN 1740-634X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32599605 >.

YAMAGUCHI, Y. Lecticans: organizers of the brain extracellular matrix. **Cell Mol Life Sci,** v. 57, n. 2, p. 276-89, Feb 2000. ISSN 1420-682X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10766023 >.

YOUNGREN, K. D. et al. Clozapine preferentially increases dopamine release in the rhesus monkey prefrontal cortex compared with the caudate nucleus. **Neuropsychopharmacology,** v. 20, n. 5, p. 403-12, May 1999. ISSN 0893-133X. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10192821 >.

ZHANG, H. Y. et al. Cannabinoid CB2 receptors modulate midbrain dopamine neuronal activity and dopamine-related behavior in mice. **Proc Natl Acad Sci U S A,** v. 111, n. 46, p. E5007-15, Nov 2014. ISSN 1091-6490. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25368177 >.

_____. Expression of functional cannabinoid CB. **Addict Biol,** v. 22, n. 3, p. 752-765, May 2017. ISSN 1369-1600. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26833913 >.

ZHANG, X. Y. et al. The effect of risperidone treatment on superoxide dismutase in schizophrenia. **J Clin Psychopharmacol,** v. 23, n. 2, p. 128-31, Apr 2003. ISSN 0271-0749. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12640213 >.

ZHANG, Z. J.; REYNOLDS, G. P. A selective decrease in the relative density of parvalbumin-immunoreactive neurons in the hippocampus in schizophrenia. **Schizophr Res,** v. 55, n. 1-2, p. 1-10, May 2002. ISSN 0920-9964. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11955958 >.

ZHOU, F. M.; HABLITZ, J. J. Activation of serotonin receptors modulates synaptic transmission in rat cerebral cortex. **J Neurophysiol,** v. 82, n. 6, p. 2989-99, Dec 1999. ISSN 0022-3077. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10601434 >.

ZUARDI, A. W. History of cannabis as a medicine: a review. **Braz J Psychiatry,** v. 28, n. 2, p. 153-7, Jun 2006. ISSN 1516-4446. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16810401 >.

_____. Cannabidiol: from an inactive cannabinoid to a drug with wide spectrum of action. **Braz J Psychiatry,** v. 30, n. 3, p. 271-80, Sep 2008. ISSN 1516-4446. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18833429 >.

ZUARDI, A. W. et al. A critical review of the antipsychotic effects of cannabidiol: 30 years of a translational investigation. **Curr Pharm Des,** v. 18, n. 32, p. 5131-40, 2012. ISSN 1873-4286. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22716160 >.

_____. Cannabidiol monotherapy for treatment-resistant schizophrenia. **J Psychopharmacol,** v. 20, n. 5, p. 683-6, Sep 2006. ISSN 0269-8811. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16401651 >.

_____. Antipsychotic effect of cannabidiol. **J Clin Psychiatry,** v. 56, n. 10, p. 485-6, Oct 1995. ISSN 0160-6689. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7559378 >.

ZUARDI, A. W.; RODRIGUES, J. A.; CUNHA, J. M. Effects of cannabidiol in animal models predictive of antipsychotic activity. **Psychopharmacology (Berl),** v. 104, n. 2, p. 260-4, 1991. ISSN 0033-3158. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1678894 >.

ZUARDI, A. W. et al. Action of cannabidiol on the anxiety and other effects produced by delta 9-THC in normal subjects. **Psychopharmacology (Berl),** v. 76, n. 3, p. 245-50, 1982. ISSN 0033-

3158. Available at: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6285406 >.