



UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
ANA BEATRIZ COSTA

**EFEITOS DO EXTRATO DE *Cannabis sativa* RICO EM THC SOBRE
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS NA OBESIDADE**

Tubarão
2023

ANA BEATRIZ COSTA

**EFEITOS DO EXTRATO DE *Cannabis sativa* RICO EM THC SOBRE
PARÂMETROS BIOQUÍMICOS NA OBESIDADE**

LINHA DE PESQUISA: NEUROCIÊNCIAS

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde para obtenção do título de
Mestra em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Gislaine Tezza Rezin, Dra.

Coorientador: Prof. Rafael Mariano de Bitencourt, Dr.

Tubarão

2023

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - MESTRADO

Título da Dissertação

Efeitos Do Extrato De Cannabis Sativa Rico Em THC Sobre Parâmetros Bioquímicos na Obesidade

ANA BEATRIZ COSTA
AUTORA

Aprovada pela Banca Avaliadora de Defesa da Dissertação em 31 de março de 2023.

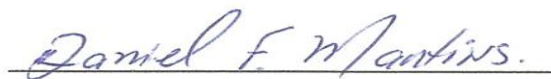
Doutora Gislaine Tezza Rezin (Orientadora)



Doutor Rafael Mariano de Bitencourt (Coorientador)

Doutora Anna Paula Piovezan (Avaliadora interna) - *presente por videoconferência*

Doutora Jaqueline Maisa Franzen (Avaliadora externa -UNIARP) - *presente por videoconferência*



Prof. Dr. Daniel Fernandes Martins
Coordenador Adjunto do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

C87 Costa, Ana Beatriz, 1998-

Efeitos do extrato de cannabis sativa rico em THC sobre
parâmetros bioquímicos na obesidade / Ana Beatriz Costa. – 2023.
45 f. : il. color.; 30 cm

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Sul de Santa Catarina,
Pós-graduação em Ciências da Saúde.

Orientação: Prof^a. Dr^a. Gislaine Tezza Rezin

Coorientador: Prof. Dr. Rafael Mariano de Bitencourt

1. Obesidade. 2. Cannabis sativa. 3. Cadeia respiratória. 4. THC. I.
Rezin, Gislaine Tezza. II. Bitencourt, Rafael Mariano de. III.
Universidade do Sul de Santa Catarina. IV. Título.

CDD (21. ed.) 616.398

AGRADECIMENTOS

Os primeiros agradecimentos são direcionados a Deus, pois sem ele nada disso seria possível, ele é inteiramente responsável por todas as oportunidades colocadas no meu caminho.

Um agradecimento especial a minha família e ao meu noivo, pelo apoio, paciência, companheirismo e parceria. Eles são uma peça chave para determinar a minha chegada até aqui.

Grata também aos meus amigos que acompanharam todo o meu esforço e colaboram de formas diferentes e importantes para o meu sucesso.

A todos os professores do programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), por todos os ensinamentos repassados e por toda contribuição nessa formação.

Aos professores e alunos da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), pela parceria na realização das análises bioquímicas.

Ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo benefício PROSUC /CAPES – modalidade II, que permitiu a realização desse projeto.

A todo o grupo de pesquisa do Laboratório de Neurobiologia de Processos Inflamatórios e Metabólicos (NeuroIMet), especialmente a Thalya e Cristini, que trabalharam duro para que esse experimento fosse possível.

Grata ao meu coorientador Rafael Mariano, que esteve presente em todo o processo. Obrigada por seus conselhos e orientações.

E, finalmente, agradecer a minha orientadora Gislaine Tezza Rezin, que me orienta há pouco mais de 6 anos, minha amiga, minha parceira e minha inspiração. Obrigada por tudo.

RESUMO

Introdução: A prevalência da obesidade vem crescendo de forma alarmante em todo o mundo. Sabe-se que o acúmulo excessivo de gordura leva à inflamação sistêmica, comprometendo inclusive o funcionamento do sistema nervoso central. Assim, dificuldades no tratamento da obesidade mostram a necessidade da investigação de outras abordagens terapêuticas. Devido a suas propriedades anti-inflamatórias, o uso de *Cannabis sativa* pode ser uma estratégia promissora.

Objetivo: Avaliar os efeitos do extrato de *Cannabis sativa* rico em THC (ECS) sobre os parâmetros bioquímicos no cérebro de camundongos submetidos à obesidade.

Metodologia: Os animais foram pareados em 4 grupos: controle + veículo, controle + ECS, obesidade + veículo, obesidade + ECS. Foram administrados 1mL/kg/dia de ECS ou óleo de oliva até o fim do estudo. O peso corporal foi mensurado semanalmente. Os animais foram mortos, a gordura mesentérica removida e pesada e as estruturas cerebrais coletados para análise dos complexos I e II da cadeia respiratória mitocondrial e o córtex para análise de dano ao DNA.

Resultados: Os animais do grupo obesidade apresentaram ganho de peso, maior peso da gordura mesentérica, redução da atividade dos complexos I e II em todas as estruturas estudadas e dano ao DNA. O ECS não foi capaz de reverter o ganho de peso corporal e da gordura mesentérica causados pela obesidade. Entretanto, normalizou a atividade dos complexos I e II em todas as estruturas, e aumentou de fato a atividade do complexo I no hipotálamo e complexo II no córtex pré-frontal. O ECS também foi capaz de reverter o dano ao DNA causado pela obesidade no córtex dos camundongos.

Conclusão: Conclui-se que apesar da necessidade de mais estudos que explorem tempo, via de administração e posologias diferentes, o ECS pode ser uma alternativa promissora para o tratamento da obesidade e suas alterações.

Descritores: *Cannabis sativa*; Obesidade; Cadeia respiratória; THC

ABSTRACT

Introduction: The prevalence of obesity has been growing at an alarming rate worldwide. It is known that the excessive accumulation of fat leads to systemic inflammation, even compromising the functioning of the central nervous system. Thus, difficulties in the treatment of obesity show the need to investigate other therapeutic approaches. Due to its anti-inflammatory properties, the use of *Cannabis sativa* can be a promising strategy.

Objective: To evaluate the effects of THC-rich *Cannabis sativa* extract (ECS) on biochemical parameters in the brain of mice subjected to obesity.

Methods: The animals were paired into 4 groups: control + vehicle, control + ECS, obesity + vehicle, obesity + ECS. 1mL/kg/day of ECS or olive oil were administered until the end of the study. Body weight was measured weekly. The animals were killed, the mesenteric fat removed and weighed and the brain structures collected for analysis of complexes I and II of the mitochondrial respiratory chain and the cortex for analysis of DNA damage.

Results: The animals in the obesity group showed weight gain, greater weight of mesenteric fat, reduced activity of complexes I and II in all structures studied and DNA damage. ECS was not able to reverse body weight and mesenteric fat gain caused by obesity. However, it normalized complex I and II activity in all structures, and indeed increased complex I activity in the hypothalamus and complex II activity in the prefrontal cortex. ECS was also able to reverse the DNA damage caused by obesity in the cortex of mice.

Conclusion: It is concluded that despite the need for more studies that explore time, route of administration and different dosages, ECS can be a promising alternative for the treatment of obesity and its alterations.

Keywords: *Cannabis sativa*; Obesity; Respiratory chain; THC

LISTAS

Lista de abreviaturas

2-AG - 2-araquidonoilglicerol

ABESO - Associação Brasileira de sobre Síndrome Metabólica e Obesidade

ADP - Adenosina Difosfato

AEA - N -araquidonoil-etanolamina

AGRP - Cepa Agouti (do inglês, *Agout Related Neuropeptide*)

ATP - Adenosina Trifosfato (do inglês, *Adenosine Triphosphate*)

BHE - Barreira Hematoencefálica (do inglês, *Blood Brain Barrier*)

CART - Cocaína-anfetamina dependente (do inglês, *Cocaine and Amphetamine Regulated Transcript*)

CAT - Catalase

CB1 - Receptor Canabinoide 1

CB2 - Receptor Canabinoide 2

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

CO₂ - Gás Carbônico

CBD - Canabidiol

CONCEA - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

DAGL α/β - Diacilglicerol Lipases alfa e beta

DBCA - Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica

DNA - Ácido Desoxirribonucleico (do inglês, *Deoxyribonucleic Acid*)

DP - Doença de Parkinson

ECS - Extrato de *Cannabis sativa* rico em THC

EROs - Espécies Reativas de Oxigênio

FAAH - Amida Hidrolase de Ácido Graxos

FADH₂ - Dinucleotídeo de Flavina e Adeninas

FD - Frequência de Danos

GLP-1 - Glucagon

GPx - Glutathione peroxidase

HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês, *High Performance Liquid Chromatography*)

ID - Índice de Danos

IL-6 - Interleucina 6
 IL-1 β - Interleucina 1 beta
 IL-12 - Interleucina 12
 NADH - Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
 MAGL - Monoacilglicerol Lipase
 NAPE-PLD - Nacil-fosfatidiletanolaminas
 NAT - *N*-aciltransferase
 NF-kB - Fator Nuclear kappa-B
 NPY - Neuropeptídeo Y
 OMS - Organização Mundial de Saúde
 ON - Óxido nítrico
 PPAR γ - Proliferador de Peroxissomo
 POMC - Pró-opiomelanocorticotropina
 SNC - Sistema nervoso central
 SOD - Superóxido Dismutase
 SR - Sistema Recompensa
 TAB - Tecido adiposo branco
 TAM - Tecido adiposo marrom
 THC - Δ -9-tetra-hidrocanabinol
 THCV - Tetrahydrocanabivarin
 TLR - Toll-like
 TRP - Receptores De Potencial Transitório
 TRPV1 - Receptores De Potencial Transitório tipo I
 TNF α - Fator de necrose tumoral alfa
 UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina
 UNISUL - Universidade do Sul de Santa Catarina

Lista de quadros

Quadro 1 – Variáveis do estudo..... 15

Lista de figuras

Figura 1 – Representação da organização dos macrófagos no tecido adiposo na obesidade..... 15

Figura 2 – Cadeia respiratória	19
Figura 3 – Sistema endocanabionide.....	24
Figura 4 – Desenho experimental	28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
1.1 REFERENCIAL TEÓRICO	10
1.1.1Obesidade: Definição e epidemiologia	10
1.1.2Fisiopatologia da obesidade	11
1.1.2.1Sistema nervoso central e obesidade	15
1.1.2.2Obesidade, disfunção mitocondrial e dano ao DNA	17
1.1.3Tratamento da obesidade	20
1.1.4Sistema endocanabinoide	22
1.1.5 <i>Cannabis sativa</i>	25
2. OBJETIVOS	26
2.1 OBJETIVO GERAL	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
3. MÉTODOS	27
3.1 TIPO DE ESTUDO	27
3.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	27
3.3 ANIMAIS	27
3.4 DELINEAMENTO DO ESTUDO	28
3.6 VARIÁVEIS DE ESTUDO	31
3.7 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS	32
3.8 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA	32
4. ARTIGO	33
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
REFERÊNCIAS	36

1. INTRODUÇÃO

A Obesidade é considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como um acúmulo anormal de gordura que pode ser prejudicial ao indivíduo¹. Esta doença tem aumentado cada vez mais nos últimos anos, demonstrando estado de alerta aos profissionais e órgãos públicos responsáveis^{1,2}.

Classificada como uma doença inflamatória crônica de baixo grau, a obesidade tem como principal causa, o desequilíbrio entre o alto consumo energético e o gasto do mesmo^{1,3-6}. A energia em excesso é armazenada em forma de triglicerídeos no tecido adiposo, desenvolvendo um acúmulo dessas substâncias nos adipócitos, ocasionando a hipertrofia das células e hiperplasia do tecido^{5,7,8}.

O aumento da massa adipocitária desencadeia um processo inflamatório local pelo recrutamento de células imunológicas e secreção de citocinas pró-inflamatórias, ativadas principalmente pela hipóxia localizada. Esse processo torna-se generalizado e crônico durante o desenvolvimento da doença^{5,6,9,10}. A inflamação decorrente da obesidade proporciona o desequilíbrio no funcionamento e sinalização de hormônios moduladores do metabolismo energético, tais como insulina, leptina e grelina¹¹⁻¹⁵.

Com isso, ocorre o desencadeamento da desregulação no consumo alimentar, controle da saciedade e armazenamento energético, além de associar-se com uma neuroinflamação, principalmente a nível hipotalâmico^{5,6,13,15-17}. Toda essa disfunção na obesidade está relacionada a diversos déficits metabólicos como o desequilíbrio no sistema de recompensa (SR)¹⁸⁻²⁰, estresse oxidativo²¹, disfunção mitocondrial²², dano ao ácido desoxirribonucleico (DNA), entre outras disfunções metabólicas²³.

Essas e outras alterações presentes na obesidade necessitam de tratamentos específicos, pois muitas vezes são refratárias à primeira linha de tratamento (redução do consumo calórico e atividade física) sugerida pela Associação Brasileira de Estudos sobre Síndrome Metabólica e Obesidade (ABESO) e OMS. Assim, fármacos são associados à mudança de hábito de vida e tem como principal objetivo a perda de peso. Entretanto, os medicamentos disponíveis para tratamento da obesidade, além de poucos, são conhecidos por causar importantes efeitos adversos e não ter recomendação de uso prolongado por mais de dois anos^{3,24-26}. Portanto, faz-se necessária a implementação de novas opções farmacológicas que não só sejam

capazes de ocasionar a perda de peso, mas também reestabeleça, de forma eficiente, as alterações metabólicas.

Nesse cenário, a *Cannabis sativa* e seus canabinoides podem se apresentar como uma opção de tratamento para a obesidade. Os canabinoides mais amplamente estudados são o Tetrahydrocannabinol (THC) e o Canabidiol (CBD), que interagem com os receptores canabinoides CB1 e CB2, demonstrando efeito anti-inflamatório e antioxidante²⁷.

Diante disso, esse trabalho tem por justificativa, a sua contribuição para o entendimento e esclarecimento dos efeitos do extrato de *Cannabis sativa* rico em THC em parâmetros bioquímicos alterados no cérebro de indivíduos com obesidade.

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1.1 Obesidade: Definição e epidemiologia

A OMS define a obesidade como uma doença provocada por um acúmulo anormal ou excessivo de gordura que apresenta risco à saúde do indivíduo. Esta condição tem sido vista como um alarmante problema a nível mundial, que vem crescendo e alertando as entidades de saúde pelo mundo^{1,2}. Com o aumento importante da sua incidência nos últimos anos, esta patologia é considerada uma epidemia, que tem como causa principal o consumo de calorias maior que o gasto energético, provocando um alto armazenamento de energia na forma de gordura, principalmente na região abdominal, associada a disfunções metabólicas importantes que levam a comorbidades^{1,28}. Dentre os principais distúrbios presentes na obesidade estão a resistência à insulina²⁹, hipertensão³⁰, problemas respiratórios³¹, dislipidemias³², doenças cardiovasculares³³, fatores psicológicos³⁴ e esta condição ainda pode estar associada ao desenvolvimento de alguns cânceres³⁵.

A obesidade é uma condição que apresenta alta incidência e prevalência mundial nos últimos anos. Diante disso, a OMS divulgou, em 2016, que mais de 1,9 bilhões de adultos apresentavam sobrepeso (39% dos adultos), e destes, mais de 650 milhões tinham algum grau de obesidade (13% dos adultos), já demonstrando um número consideravelmente alto em todo planeta. Nesse mesmo ano, verificou-se que mais de 340 milhões de crianças e adolescentes no mundo, entre 5 e 19 anos, mostravam-se acima do peso ou apresentavam algum grau de obesidade, assim

como em 2020, que 39 milhões de crianças menores de 5 anos, mostravam-se na mesma condição¹.

Já no Brasil, a média de frequência da obesidade nas 26 capitais nacionais mais o Distrito Federal foi de 20,3% da população adulta (≥ 18 anos), em 2019, variando de 17,2% em São Luiz a 23,4% em Manaus, sendo que Florianópolis apresentou 16,8% dos adultos com algum grau de obesidade. A faixa etária mais acometida pela doença foi de 45 a 54 anos, não apresentando interferência do sexo³⁶. Em relação à obesidade infantil, 12,9% das crianças e adolescentes do Brasil entre 5 e 19 anos e cerca de 7% dos adolescentes entres 12 e 17 anos apresentam obesidade³⁷.

Diante desses números, a OMS afirma que a obesidade e o sobrepeso, apesar de evitáveis e reversíveis, são condições que causam mais mortes do que o baixo peso. Além disso, a prevalência de obesidade quase triplicou de 1975 até 2016, em todo o mundo. No Brasil a porcentagem de adultos (≥ 18 anos) com obesidade aumentou de 19,8% em 2017 para 20,3% em 2019. Se os casos seguirem com a mesma frequência, a ABESO estima que em 2025, cerca de 2,3 bilhões de adultos tenham sobrepeso, 700 milhões tenham obesidade e 75 milhões de crianças mostrem-se acima do peso ou com alguma classificação de obesidade³⁷.

Os dados expostos comprovam ainda mais a gravidade e importância alarmante da obesidade. Nesse sentido, o diagnóstico e acompanhamento dos pacientes é de extrema importância e decisivo. A primeira técnica escolhida para a detecção da obesidade é o índice de massa corporal (IMC). Entretanto, os critérios definidos para a detecção da doença variam entre as regiões do mundo . Na América do Sul, um indivíduo é diagnosticado com obesidade, quando apresenta índice de massa corporal ≥ 30 (divisão do peso em kg pelo quadrado da altura do paciente em metros) e a circunferência abdominal ≥ 90 para homens e ≥ 80 para mulheres. Além dos métodos tradicionais, existem outras alternativas pra tornar o diagnóstico mais completo e preciso, como a bioimpedância, que mede a adiposidade através da resistência da passagem de uma corrente elétrica, além de ressonância, pregas cutâneas e calorimetria³.

1.1.2 Fisiopatologia da obesidade

A taxa de obesidade atual é um reflexo de um hábito pré-histórico de alimentação hipercalórica na intenção de armazenamento energético para sobreviver a longos jejuns diante de um período de caçada ou em um momento de comida escassa. A soma desse histórico com o processo evolutivo resultou em um fenômeno chamado “gene parcimonioso”, que não está relacionado a um genótipo específico mas sim à seleção natural de indivíduos com o poder de armazenar maior quantidade de energia³⁸. Portanto, o fenótipo da obesidade pode sofrer influência de mais de 100 fatores genéticos relacionados à codificação da distribuição de gordura pelo corpo, à transcrição e funcionamento de diversos receptores relacionados ao metabolismo energético ou até mesmo ao sistema de recompensa³⁹⁻⁴¹.

Essa pré-disposição genética pode contribuir em até 70% para o desenvolvimento da obesidade. Entretanto, os fatores comportamentais e ambientais também exercem grande influência no fenótipo desta doença³⁸⁻⁴². O hábito do consumo de alimentos processados, acessíveis, extremamente palatáveis e ricos em calorias e o sedentarismo, foram implementados principalmente pela revolução industrial, e se tornaram cultura, especialmente nos países desenvolvidos^{4,38,42}. Esses fatos expõem a obesidade como uma doença multifatorial que é resultado do alto consumo de calorias em contraste com o baixo gasto energético, potencializada por pré-disposição genética e influência ambiental^{1,4,38-41}.

As calorias ingeridas não gastas são depositadas em sua maior parte na forma de triglicérides, ocupando as células do tecido adiposo, denominadas adipócitos. O tecido adiposo participa de 20 a 28% da composição corporal em um indivíduo saudável, podendo aumentar em até 80% em um indivíduo com obesidade. Além disso, o tecido adiposo pode ser distribuído por todo corpo, exercer funções diferentes, organizar-se e armazenar gordura de formas distintas. Essas características contribuem para a classificação deste tecido em dois tipos: Tecido adiposo marrom (TAM) e Tecido adiposo branco (TAB)^{11,43}.

O TAM é composto de adipócitos que comportam gordura na forma de pequenas gotículas, são encontrados na sua maior parte em bebês, estão em menor quantidade em adultos e uma das suas principais funções é a regulação termogênica. A fração marrom adipocitária é rica em mitocôndrias, por isso apresentam uma grande concentração da enzima citocromo oxidase proveniente da cadeia respiratória, o que dá o aspecto escurecido ao tecido^{11,43}.

Já o TAB armazena gordura em uma só gota que ocupa a maior parte do seu citoplasma, esse tem maior funcionalidade em relação ao armazenamento energético e é conhecido pela sua capacidade de secretar substâncias denominadas adipocinas. As adipocinas são peptídeos com função hormonal, normalmente relacionadas à modulação do metabolismo alimentar, energético e imunológico^{11,43,44}. Uma das principais adipocinas secretadas é a leptina. A leptina tem como função fundamental a sinalização relacionada ao aumento do estoque de gordura no tecido adiposo. Essa substância é capaz de suprimir neurônios que produzem neuropeptídio Y (NPY) e peptídeo relacionado à cepa agouti (AGRP) que possuem efeito orexígeno (estimulam o apetite). E ainda, aumenta a atividade de neurônios produtores de pró-opiomelanocorticotropina (POMC) e cocaína-anfetamina dependente (CART), que são anorexígenos (inibem o apetite), regulando a alimentação quando os níveis energéticos estocados são suficientes^{11,12}. Sua produção é proporcional ao aumento da massa adiposa, portanto, na obesidade seus níveis séricos estão elevados, sendo observado também, uma resistência dos receptores hipotalâmicos, ocasionando um importante desequilíbrio na interpretação deste em relação à saciedade e estoques energéticos^{45,46}.

Uma outra adipocina associada ao metabolismo energético é a adiponectina. Uma das principais funções desta substância é a atividade de regular o metabolismo da insulina. Diante disso, a adiponectina interage com seus receptores AdipoR1 e R2 e assim promove uma ação moduladora relacionada à β -oxidação, reabsorção de glicose e aumento da sensibilidade à insulina, principalmente no fígado. Portanto, a adiponectina otimiza e potencializa os efeitos metabólicos proporcionados pela insulina⁴⁷.

Assim como a leptina, a insulina exerce um importante papel diante do metabolismo energético. Este é um hormônio produzido por células β -pancreáticas e liga-se em receptores específicos que proporcionam a entrada da glicose sérica nas células, que servem de substrato para a respiração celular e formação de adenosina trifosfato (ATP). Na obesidade ocorre uma resistência dos receptores de insulina, diminuindo seu efeito e aumentando a glicose na corrente sanguínea, ocasionando uma dificuldade na utilização desta pelas células, favorecendo o desenvolvimento de diabetes tipo II nos obesos¹³.

E ainda, a grelina também é um hormônio que apresenta níveis elevados na obesidade. A mesma é naturalmente secretada por células do estômago e age no

núcleo arqueado do hipotálamo, com o intuito de sinalizar a necessidade de nutrientes, principalmente em estados pré-prandiais e de jejum prolongado. Atua ativando neurônios orexígenos, principalmente os produtores de NPY, induzindo à fome, com efeito oposto à leptina. Quando aumentada, a grelina pode ser um importante fator no desequilíbrio do sistema de recompensa^{14,15}.

Neste sentido, o aumento gradativo dos adipócitos decorrente da alta demanda energética enviada pela alimentação leva a um processo chamado hipertrofia. Por outro lado, quando a capacidade de armazenamento é saturada, os adipócitos se replicam a fim de gerar maior área para estoque, gerando um aumento de células locais, chamado de hiperplasia. Esse fenômeno pode comprometer o metabolismo, como um todo, prejudicando a ação e funcionamento de hormônios e outras substâncias relacionadas à obesidade^{5,7,8}.

A hiperplasia e hipertrofia do tecido adiposo desenvolvidas na obesidade, comprometem a irrigação sanguínea local, originando uma consequente hipóxia. A falta de oxigenação decorrente do baixo fornecimento sanguíneo ao tecido, desencadeia uma necrose das células e o decorrente rompimento celular. O rompimento e a falta de oxigenação no tecido adiposo, o estimula a liberar substâncias sinalizadoras capazes de ativar respostas imunes inatas, inicialmente, recrutando células imunológicas, principalmente macrófagos, para o local^{5,6}.

O recrutamento e ativação dos macrófagos, influenciado principalmente pelo fator nuclear kappa-B (NF- κ B), dá início a uma resposta inflamatória local que é caracterizada pela organização diferenciada dos macrófagos no tecido (Figura 1). Os macrófagos organizam-se em forma de coroa em torno do adipócito, e essa formação, por sua vez, permite a secreção de mediadores pró-inflamatórios pelos adipócitos e macrófagos, como fator de necrose tumoral alfa (TNF α), interleucina 6 (IL-6), interleucina 1 beta (IL-1 β) e adipocinas, em tal proporção que alcançam a grande circulação^{5,6,9,10}.

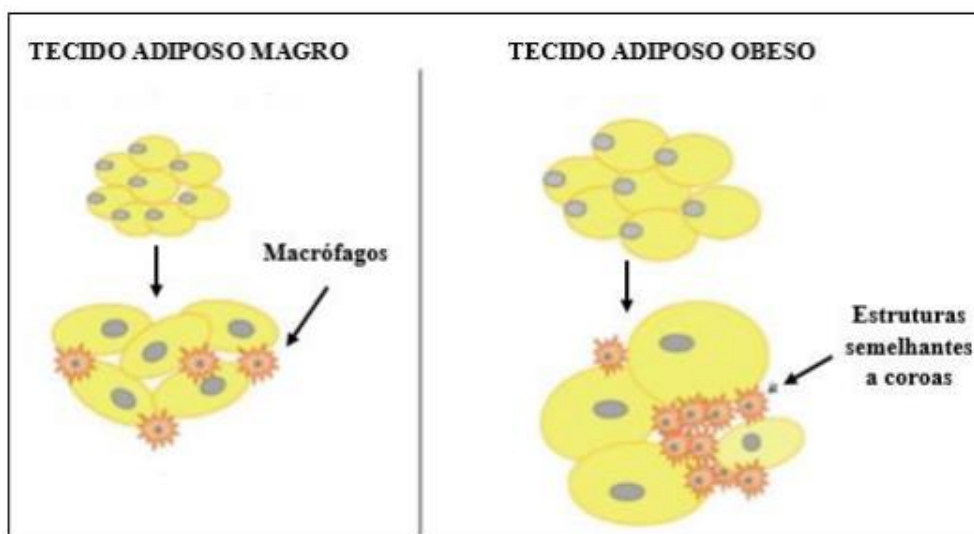


Figura 1: Representação da organização dos macrófagos no tecido adiposo na obesidade.

Fonte: Adaptado de Patel et al.¹⁰

Portanto, a obesidade é caracterizada como uma inflamação crônica de baixo grau, de caráter persistente, com proporções sistêmicas que desencadeiam diversas doenças metabólicas associadas^{5,6,9,10,17}. Nesse contexto, os ácidos graxos são as principais substâncias originadas da alimentação e da lipólise capazes de ativar respostas inflamatórias importantes através da interação com receptores de reconhecimento padrão do tipo Toll-like (TLR), desenvolvendo um importante dano no Sistema nervoso central (SNC) proveniente da inflamação ativada pela interação com este receptor⁴⁸.

1.1.2.1 Sistema nervoso central e obesidade

A alimentação rica em calorias e gordura saturada é habitual na vida dos indivíduos com obesidade e uma das principais causas de neuroinflamação. Uma vez que será armazenada no tecido adiposo, a gordura, desencadeia todo o mecanismo inflamatório da obesidade, causando danos importantes nas estruturas cerebrais como o aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE). Este evento, abre espaço para maior penetração de células imunológicas na porção central do sistema nervoso, provocando importantes alterações^{5,6,48,49}.

A BHE é uma membrada composta por células endoteliais intimamente justapostas que envolvem todo o SNC. Esta, por sua vez, controla a penetração e a seleção da entrada e interação de qualquer substância com os tecidos. Quando

exposta a substâncias nocivas, como a alta concentração de substâncias inflamatórias, no caso da obesidade, a barreira sofre rupturas importantes que facilitam a entrada de ácidos graxos, citocinas pró-inflamatórias e células imunológicas ativadas, principalmente na região do hipotálamo^{48,50}.

Os ácidos graxos provenientes da dieta e da lipólise comunicam-se naturalmente com o hipotálamo, trazendo informações do metabolismo energético. Esses, acessam o SNC através de regiões onde a BHE não está presente (exemplo: órgãos circunventriculares). Na obesidade é descrito um acúmulo dos ácidos graxos no hipotálamo, devido à lesão na BHE, o que ocasiona uma inflamação local através da estimulação da produção de substâncias pró-inflamatórias pela sua interação com o receptor de reconhecimento padrão TLR. Substâncias como TNF- α , IL-1 β , Interleucina 6 (IL-6), e fator nuclear NF- κ B, além do recrutamento e ativação de células imunológicas inatas, principalmente microgliais e astrocitárias, estão presentes na neuroinflamação descrita no hipotálamo^{16,17,23,48,51}.

O aumento na expressão de fatores pró-inflamatórios refletem em alterações celulares, especialmente nos receptores hipotalâmicos de leptina e insulina, o que influencia diretamente no prejuízo do metabolismo energético natural causado pela desprogramação no controle do armazenamento energético, síntese de ATP e controle da saciedade¹⁶. Portanto, pode-se perceber que o hipotálamo é uma estrutura encefálica extremamente prejudicada pela neuroinflamação, sendo uma das principais estruturas onde consegue-se observar os sinais de atividades comprometidas em animais expostos a modelos de obesidade^{17,53}. Nessa linha, Schraiber e colaboradores¹⁷ mostraram a relação entre a obesidade, disfunção mitocondrial, aumento de marcadores inflamatórios, lesão celular no hipotálamo e ganho de peso em camundongos Swiss induzidos à obesidade.

Além do hipotálamo, outras estruturas podem ser lesionadas devido ao aumento de citocinas inflamatória e respostas intercelulares, e a maioria dessas estruturas tem importante papel na fisiopatologia da obesidade⁵²⁻⁵⁴. Entre as principais estruturas acometidas estão o hipocampo, relacionado com cognição, memória, aprendizagem e emoções⁵⁵⁻⁵⁷; e córtex pré-frontal e estriado, que estão relacionados ao sistema de recompensa (SR)^{19,58}. Um estudo de revisão de Mazon e colaboradores⁵⁹ relaciona a disfunção hormonal na obesidade e o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, como a doença de Parkinson (DP) e Alzheimer. Já um trabalho mais recente de Mazon e colaboradores⁶⁰ sugere que a obesidade está associada a

danos cognitivos, podendo resultar em doenças neurodegenerativas e transtornos neuropsiquiátricos como ansiedade e depressão.

Ademais, o quadro de neuroinflamação também está associado a uma disfunção mitocondrial, comprometimento da respiração celular e dano à estrutura do DNA.

1.1.2.2 Obesidade, disfunção mitocondrial e dano ao DNA

A respiração celular ocorre na mitocôndria localizada no interior das células. Esse processo acontece com o objetivo de converter a energia liberada pela quebra de ligações químicas em ATP. O ATP é a molécula responsável por transportar e fornecer energia para os mecanismos biológicos homeostáticos. O início do mecanismo de geração desta molécula se dá pela digestão através da quebra de macromoléculas em moléculas menores, como os carboidratos que são hidrolisados e quebrados em glicose, lipídeos em ácido graxos e proteínas em aminoácidos. Essas moléculas resultantes da digestão são transportadas pela corrente sanguínea, distribuída e direcionadas para o interior das células, onde sofrem, ainda no citoplasma, reações que desencadeiam o processo ativo de respiração celular^{22,61}.

A molécula, preferencialmente e naturalmente, utilizada como substrato para a respiração celular é a glicose, que alcança o citoplasma das células, na maioria das vezes, com auxílio da sinalização da insulina. Já no interior das células, a glicose sofre a quebra de alguns carbonos e deste processo ocorre a liberação de elétrons, redução de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADH) e formação de ATP. Essas quebras iniciais da glicose resultam em 2 moléculas de piruvato que, por sua vez, adentram a mitocôndria e sofrem novas reações que os convertem em 2 moléculas de acetil-Coenzima A (Acetil CoA). Em seguida, a Acetil-CoA é submetida ao ciclo de Krebs, onde passa por uma sequência de adições e quebras de ligações química, promovidas por uma série de substâncias que tem por objetivo oxidar completamente a molécula. Ao final da cascata de reações proporcionadas pelo ciclo de Krebs, a molécula de glicose está completamente oxidada e quebrada e substâncias como gás carbônico (CO₂), NADH, ATP e Dinucleotídeo de flavina e adeninas (FADH₂) são liberadas na matriz mitocondrial. Enquanto o CO₂ é liberado na expiração pulmonar e o ATP é direcionado para as próximas partes do organismo que o utilizarão, os NADH

e FADH₂ são encaminhados para a cadeia respiratória, onde participarão de um processo de fosforilação oxidativa^{22,62,63}.

A cadeia respiratória, também conhecida como cadeia transportadora de elétrons, é a última parte da respiração celular, e é ela quem efetivamente transforma os elétrons carregados pela NADH e FADH₂, em ATP (Figura 2). Esta estrutura é composta por 5 proteínas, sendo 4 delas denominadas como complexos, e a última ATP-sintase ou complexo 5. Essas enzimas encontram-se enfileiradas na crista mitocondrial e tem por objetivo principal transportar os elétrons trazidos do ciclo de Krebs até as moléculas de oxigênio, gerar um gradiente de prótons H⁺ e assim formar ATP. Esse processo inicia-se com a entrada de elétrons pelos complexos I e II da cadeia, sendo que os elétrons trazidos pelo NADH entram através do complexo I e os trazidos pelo FADH₂ adentram a estrutura pelo complexo II. Conforme inseridos na cadeia respiratória, os elétrons são atraídos pelo oxigênio e migram em direção a ele através dos complexos I, II, III e IV, fornecendo energia para que as proteínas possam bombear prótons H⁺ da matriz mitocondrial para o espaço intermembrana, formando um gradiente. Esses elétrons transportados são librados pelo complexo IV onde reagem com o oxigênio e formam água. Já os prótons H⁺ bombeados no espaço intermembrana retornam à matriz mitocondrial através da enzima ATP-sintase, que se utiliza desse processo para produzir uma fosforilação em moléculas de Adenosina difosfato (ADP), convertendo-as em ATP^{22,63,64}. Diante do mecanismo de respiração celular, principalmente na etapa da cadeia respiratória, ocorre escapamento de alguns elétrons que favorecem formações de EROs, que são imediatamente neutralizadas por mecanismos de defesa antioxidante biológicos, como a atuação das enzimas Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione peroxidase (GPx)^{65,66}.

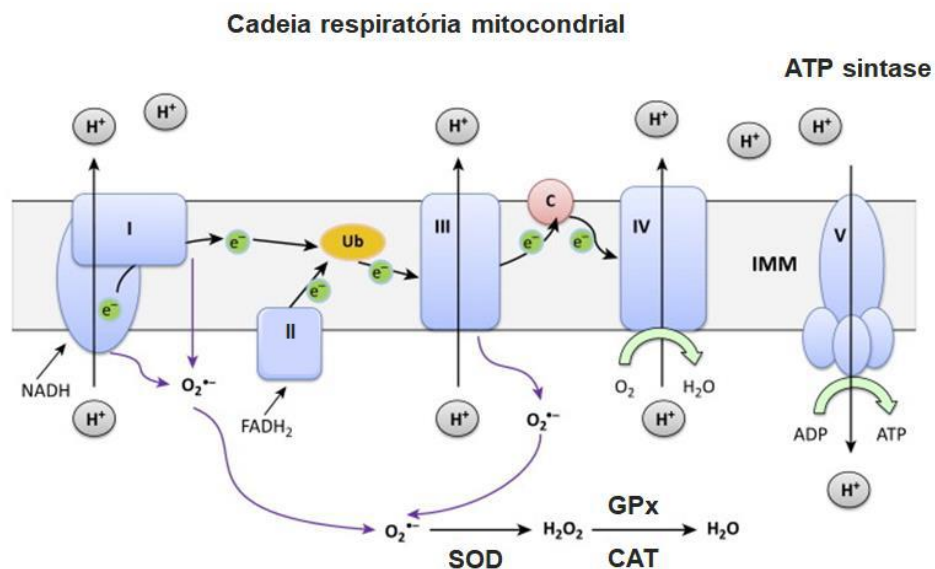


Figura 2: Cadeia respiratória. ADP: adenosina difosfato; ATP: adenosina trifosfato; C: citocromo c; CAT: catalase; e⁻: elétrons; FADH₂: flavina adenina dinucleotídeo reduzida; GPx: glutationa peroxidase; H⁺: íon hidrogênio; H₂O: água; H₂O₂: peróxido de hidrogênio; IMM:membrana mitocondrial interna; NADH: nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida; O₂: oxigênio; O₂^{•-}:ânion superóxido; SOD: superóxido dismutase; Ub: ubiquinona

Fonte: Adaptado de Yu e Benedet⁶⁷.

Entretanto, na obesidade, o mecanismo de respiração celular encontra-se comprometido. O aumento do fornecimento de substrato através do aumento do consumo alimentar, a presença de citocinas pró-inflamatórias, a produção de EROs provenientes dos mecanismos pró-inflamatórios, a sensibilidade à insulina, o comprometimento do fornecimento de oxigênio e de transcrição e biogênese de mitocôndrias, resultam na disfunção mitocondrial, na obesidade. Essa disfunção é decorrente da queda da atividade dos complexos da cadeia respiratória, causando produção insuficiente de ATPs e maior produção de EROs, que comprometem ainda mais o mecanismo respiratório. Com isso, a disfunção mitocondrial tem como consequência o fornecimento insuficiente de energia, comprometendo outros mecanismos homeostáticos, e ainda induz as células à apoptose por mecanismos intrínsecos, desencadeando desregulação geral dos tecidos^{22,61,68,69}.

Portanto, a disfunção mitocondrial resulta em um aumento da produção de EROS, que combinada com a atividade insuficiente do sistema de defesa antioxidante para neutralizá-las, contribui ainda mais para o estresse oxidativo presente na

obesidade. Este estresse oxidativo tem como consequência o dano estrutural a lipídeos, proteínas e ao DNA das células^{21,22,69}.

As EROs provenientes dos processos inflamatórios e disfunção mitocondrial interagem com a cadeia de DNA, causando lesões através de oxidação, alquilação, metilação, nitração, desaminação e até quebra das cadeias podendo resultar em desconfiguração da sequência genética. Este comprometimento está associado a um distúrbio dos processos de transcrição e tradução gênica para regulação metabólica, e até mesmo contribuir para o desenvolvimento de células tumorais^{23,69}.

Nesse sentido, um estudo de Soares e colaboradores de 2016⁷⁰, feito em mulheres com sobrepeso/obesidade e síndrome do ovário policístico, demonstrou que essas mulheres apresentaram dano no DNA em uma análise por eletroforese. Ainda nessa linha, Ibero-Baraibar e colaboradores⁷¹, em 2015, demonstraram que uma dieta hipercalórica foi capaz de aumentar o dano no DNA de voluntários com sobrepeso ou obesidade.

Portanto, a obesidade como uma doença inflamatória associada a diversas condições patológicas necessita não só de um diagnóstico preciso, como também de um tratamento efetivo. Nesse sentido, o manejo da obesidade deve focar em reversão de toda a fisiopatologia da doença e suas consequências.

1.1.3 Tratamento da obesidade

A obesidade como uma doença inflamatória aguça a curiosidade e o interesse para seu manejo terapêutico^{9,72,73}. O tratamento de primeira escolha consiste em planos dietoterápicos que visam a redução calórica associada à atividade física. Porém, o tratamento não deve focar somente na perda de peso, mas também na recuperação da homeostase metabólica. Por isso, na maioria das vezes, o tratamento convencional de primeira escolha é associado com medidas farmacológicas coadjuvantes^{24,25}. Entretanto, as opções farmacológicas disponíveis têm demonstrado desvantagens importantes, como efeitos adversos graves e relação risco-benefício desfavoráveis²⁴⁻²⁶.

De acordo com as diretrizes de obesidade publicadas pela ABESO em 2016, no Brasil, existem três principais opções farmacológicas recomendadas a pacientes com obesidade que não respondem à primeira linha de tratamento: Sibutramina, Orlistate e liraglutida³. A Sibutramina é um medicamento controlado por retenção de

receita. Bloqueador da recaptação de serotonina e noradrenalina, atua diminuindo o apetite e, conseqüentemente, reduzindo a ingestão de alimentos e causando perda de peso, sendo então, uma droga psicotrópica anorexígena que tem como principal efeito colateral o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e aumento da pressão arterial. O Orlistate é um análogo da lipistatina, seu efeito se dá pelo impedimento da digestão de um terço dos triglicerídeos provenientes da dieta, eliminando-os intactos nas fezes. Este medicamento está associado a eventos gastrointestinais importantes, além de frequente deficiência de vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K.). Já a liraglutida é um agonista do peptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1) que tem ação no hipotálamo, modulando neurônios e sinalizações envolvidas no consumo alimentar e balanço energético. Seu uso está relacionado com eventos gastrointestinais (vômito, diarreia, náuseas), desenvolvimento de pancreatites e colelitíase³.

Além dos medicamentos farmacológicos citados, ainda podem ocorrer substituições ou associações com medicamentos *off label* (medicamentos prescritos para fins diferentes dos preconizados em bula), como fluoxetina e sertralina (receptores de serotonina), topiramato (efeitos inibitórios de receptores GABA), associação de bupropiona (ansiolítico) e naltrexona (antagonista opioide) e lisdexanfetamina (receptor de noradrenalina e dopamina). No entanto, todos esses medicamentos causam perda de peso considerável, porém não têm maiores estudos em utilizações a longo prazo. Muitas vezes a sua administração está associada a efeitos colaterais como doenças vasculares, vômitos, cefaleias, perda de memória e confusão, por exemplo^{3,74}.

Nessa mesma perspectiva, podem ser indicados medicamentos fitoterápicos (que apresentam um ou mais componentes provenientes de plantas). A ABESO apresenta diversas possibilidades de substâncias de uso comum, porém a maioria não apresenta dados científicos suficientes para serem recomendadas. A única planta que se destaca é a *Ephedra sinica*, também conhecida como 'Ma Huang'. Essa planta contém efedrina na sua composição e é associada com cafeína e outros compostos para perda de peso. Entretanto, estudos científicos demonstram baixa perda de peso, além de causar eventos psiquiátricos, cardiovasculares e gastrointestinais³.

Devido às dificuldades no tratamento da obesidade, principalmente quando se diz respeito ao reestabelecimento metabólico, faz-se necessário o estudo e implementação de novas opções de tratamento. Nesse contexto, a *Cannabis sativa*

pode ser uma nova opção, uma vez que tem sido investigado pelo seu potencial anti-inflamatório e antioxidante.

1.1.4 Sistema endocanabinoide

O Sistema endocanabinoide (SEC) foi descoberto pela identificação de seus receptores entre as décadas de 1980 e 1990, enquanto se estudava os componentes da planta *Cannabis sativa* (fitocanabinoides) e seus efeitos no organismo⁷⁵. Baseado na localização e efeito pós-ativação, classificou-se os receptores endocanabinoides descobertos em CB1 e CB2^{76,77}. Ambos os receptores têm o mecanismo de ação associados ao acoplamento à proteína G, apresentam um N-terminal extracelular e um C-terminal intracelular, entretanto, mostram distribuição e efeitos distintos^{75,78}.

O receptor CB1 está localizado em maior quantidade no SNC e posicionado em porções pré-sinápticas e, por isso, sua ativação está envolvida com efeitos psicoativos e na modulação de processos neurocomportamentais como controle da dor crônica⁷⁹, epilepsia⁸⁰, ansiedade⁸¹, depressão⁸² e comportamento alimentar⁸³. No entanto, a atividade deste receptor não está limitada ao cérebro e este receptor pode ser encontrado em outros tecidos do corpo em menor quantidade. Nesse sentido, evidências demonstram a relação da ativação dos receptores CB1 em processos inflamatórios tanto no SNC quanto periférico⁸³⁻⁸⁵.

Já o receptor CB2 se encontra, em maior parte, nos tecidos periféricos, especialmente nas células do sistema imunológico, como macrófagos, mastócitos, monócitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, células natural-killer e células T. Diante disso, a ativação do CB2 participa da redução da migração e adesão dessas células imunológicas, bem como da modulação da liberação de citocinas pró e anti-inflamatórias⁸⁶. No que diz respeito ao SNC, os receptores CB2 aparecem em menor quantidade neste sistema quando comparado aos receptores CB1. Contudo, na presença de neuroinflamação, observa-se maior expressão desses receptores CB2 na micróglia reativa e nos astrócitos ativados⁸⁷⁻⁸⁹.

Após a descoberta e clonagem dos receptores endocanabinoides, principalmente o CB1, passou-se a estudar este sistema profundamente, e então, no início da década de 1990, identificou-se a participação de substâncias endógenas capazes de interagirem direta e indiretamente com os receptores canabinoides, assim como os fitocanabinoides. E, por esse motivo, essas substâncias foram denominadas

endocanabinoides⁷⁵. Os principais endocanabinoides estudados ainda hoje são os lipídeos ligantes: N -araquidonoil-etanolamina (AEA; anandamida), agonista parcial de CB1 e CB2; e o 2-araquidonoilglicerol (2-AG), agonista CB1 e CB2 mais potente^{75,90,91}.

A síntese dos endocanabinoides é ativada intracelularmente, conforme demanda, pelo influxo de cálcio (Ca^{+}) na porção pré-sináptica, e tem como substrato principal fosfolipídios de membrana. Este processo de síntese, quando relacionado à AEA, é efetuado pelas enzimas *N*-aciltransferase (NAT) e fosfolipase D específica de Nacil-fosfatidiletanolaminas (NAPE-PLD). Já o 2-AG é sintetizado pela fosfolipase C e diacilglicerol lipases alfa e beta ($\text{DAGL}\alpha/\beta$). Quando produzidos, os endocanabinoides são liberados através de enzimas transportadoras de membrana e podem atuar diretamente nos receptores na própria fenda sináptica, mas também podem ser transportados, através de mecanismos e agentes pouco elucidados, pela corrente sanguínea para atuar em outros tecidos. Após interação com os receptores e efetivação de seus efeitos, os endocanabinoides são degradados através da reação de hidrólise pelas enzimas amida hidrolase de ácido graxos (FAAH), responsável pela metabolização da AEA, e monoacilglicerol lipase (MAGL), degradante de 2-AG^{75,78,91}.

No que diz respeito à atividade do ECS no processo inflamatório, sabe-se que substâncias capazes de ativar os receptores canabinoides, especialmente os receptores CB2, podem demonstrar atividade anti-inflamatória. Este efeito ocorre devido à atenuação das interações endoteliais com os leucócitos, controle da migração e proliferação das células imunológicas, redução da produção de mediadores pró-inflamatórios como $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 e IL-12, diminuição da produção de EROs e óxido nítrico (ON), além da contenção dos estímulos indutores de apoptose^{86,92-95}. Embora os efeitos descritos anteriormente estejam comprovadamente associados à ativação dos receptores CB2, o mecanismo pelo qual ocorrem estes processos ainda é pouco elucidado⁹⁵ (Figura 3).

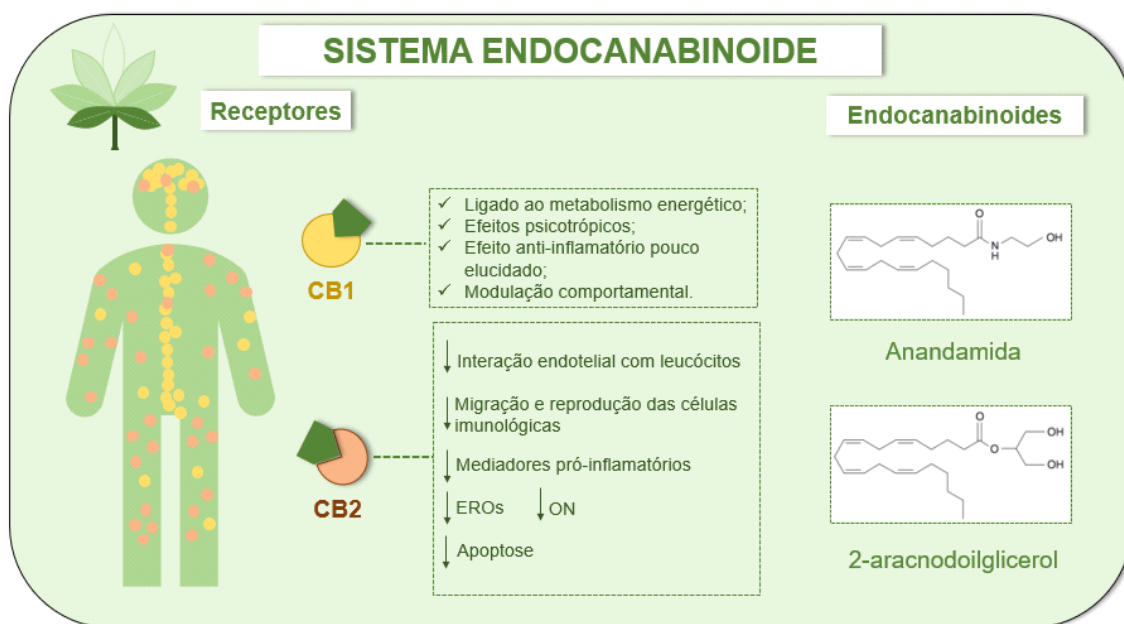


Figura 3: Sistema endocanabinoide. CB1: Receptor canabinoide 1; CB2: Receptor canabinoide 2; EROs: Espécies reativas de oxigênio. ON: Óxido nítrico.

Complementando as informações expostas anteriormente, um estudo de Chang, Lee e Lin⁹⁶ de 2001, demonstrou que a AEA minimizou o processo inflamatório através da redução da produção de IL-6 e ON por macrófagos ativados por lipopolissacarídeos *in vitro*. Esse efeito pode ser explicado pelo agonismo do receptor CB2 por este endocanabinoide. Assim como em um estudo de 2014, de Sardinha e colaboradores⁹⁴, percebeu-se a redução da produção de prostaglandinas e leucotrienos, e ainda a redução da aderência de leucócitos nas vênulas submucosas. Esse efeito foi observado com o agonismo CB2 indireto através do bloqueio das enzimas MAGL e FAAH, inibindo assim a degradação de 2-AG e AEA, respectivamente. Além disso, também se observou os efeitos do antagonismo direto, através da substância AM630, que manteve o número de leucócitos aderentes. Embora a interação dos endocanabinoides com seus receptores venha sendo amplamente explorada e esclarecida, os efeitos não são explicados somente pela interação com receptores canabinoides. O 2-AG e a AEA mostram-se importantes moduladores de outros receptores, muitos deles sem agonistas endógenos específicos^{75,78,91}. Os membros da família de receptores de potencial transitório (TRP) são algumas das estruturas moduladas pelos endocanabinoides e estão intimamente envolvidos com a modulação da dor e analgesia, especialmente quando se trata da ativação da subclasse vaniloide do tipo I (TRPV1)^{97,98}. Além disso, os

endocanabinoides também interagem com o receptor nuclear ativado por proliferador de peroxissomo (PPAR γ), que são receptores responsáveis pela regulação de transcrições genicas associadas à modulação do metabolismo energético^{75,99,100}.

1.1.5 *Cannabis sativa*

A planta *Cannabis sativa*, popularmente conhecida no Brasil como maconha, é uma planta amplamente testada para várias situações como: ansiedade, epilepsia, crise epilética, dor e outras finalidade medicinais. Além disso, devido a suas substâncias, é uma planta capaz de causar diversos efeitos como euforia, disforia e sedação. Por isso, no século XX houve uma diminuição no uso da *Cannabis* para fins medicinais, devido ao conhecimento limitado de ativos não isolados^{101,102}.

Na década de 1960, iniciaram-se estudos relacionados ao isolamento das substâncias presentes na maconha, que permitiram a descoberta de receptores específicos para canabinoides, encontrados no SNC (CB1) e no sistema nervoso periférico (CB2), além da descoberta de canabinoides completamente endógenos. Com isso, houve uma abertura para iniciar novos estudos¹⁰³.

A maconha conhecidamente apresenta mais 400 substâncias em sua composição, sendo 140 delas do tipo canabinoides, dentre eles, dois tem maior relevância diante dos estudos: THC e o CBD. O THC é uma substância que apresenta alto tropismo pelo SNC, sendo um composto cristalino altamente lipofílico, o que facilita sua entrada no organismo e sua passagem pela BHE tornando seu efeito psicoativo mais rápido¹⁰⁴. Além de ter um acesso livre ao SNC, o THC apresenta alto potencial antioxidante, devido a poder de se ligar e neutralizar radicais livres¹⁰⁵:

Além de seu potencial antioxidante, a literatura mostra o THC com alguns efeitos anti-inflamatórios. Como em um estudo de Kaddour e colaboradores (2022) que mostrou que o THC foi capaz de reduzir a expressão de RNAs associados à inflamação e ativação microglial¹⁰⁶.

Entretanto, o THC isolado não apresenta muitos efeitos satisfatórios, por isso, a utilização do extrato é mais indicada. Existe esta indicação devido o “Efeito em comitiva”¹⁰⁷, que se trata da ação dos endocanabinoides em conjunto, uma vez que o THC associado ao CBD pode potencializar seus efeitos desejados e reduzir seus efeitos adversos^{107,108}.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar os efeitos do extrato de *Cannabis sativa* rico em THC (ECS) sobre parâmetros bioquímicos em camundongos submetidos à obesidade.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito do ECS sobre o peso corporal e o peso da gordura mesentérica de camundongos submetidos à obesidade induzida por dieta hiperlipídica;

Avaliar o efeito do ECS sobre a atividade dos complexos I e II da cadeia respiratória mitocondrial no cérebro de camundongos submetidos à obesidade induzida por dieta hiperlipídica;

Avaliar o efeito do ECS sobre o dano ao DNA no cérebro de camundongos submetidos à obesidade induzida por dieta hiperlipídica.

3. MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Esse trabalho é um estudo experimental pré-clínico com modelo animal de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e tratamento com ECS.

3.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

As rações foram obtidas da empresa PragSoluções Biociências–PragSoluções Comércio e Serviços Ltda, SP, Brasil.

Para as análises inflamatórias e bioquímicas foram utilizados os seguintes reagentes: Fosfato de potássio, fosfato de sódio, albumina bovina, hidróxido de sódio, carbonato de sódio, sulfato de cobre, tartarato de sódio e potássio, folin, sacarose, ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), trizma base, heparina, ácido clorídrico, ferrocianeto, β -nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido, rotenona, etanol, succinato de sódio, azida sódica e 2,6-dicloroindofenol (DCIP) e agarose.

O ECS foi doado por uma associação parceira de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Para a administração, o ECS foi diluído em azeite de oliva extravirgem (veículo) em proporção de 1% de ECS para 99% de azeite em banho-maria na temperatura de 30 a 35°C. O teor de CBD e THC foi quantificado através do método de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). As quantidades obtidas foram de 3,6 mg/mL de CBD e 50,2 mg/mL de THC (dados não publicados).

Em relação aos equipamentos, foi utilizado homogeneizador, freezer, geladeira, balança analítica, pHmetro, centrífuga, banho-maria, espectrofotômetro e microscópio de fluorescência.

3.3 ANIMAIS

Foram utilizados um total de 48 camundongos machos da raça Swiss (espécie *Mus musculus*) com 40 dias de vida, pesando em torno de 30 a 40g. Os animais tiveram livre acesso à água e ração e foram mantidos em ciclos de claro-escuro de 12 horas e temperatura de $23\pm1^{\circ}\text{C}$. Os camundongos foram acomodados em gaiolas com

3 a 5 animais, sendo todos provenientes da mesma linhagem a fim de evitar lesões por agressividade, que possam comprometer o estudo.

3.4 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Inicialmente os animais foram pesados e pareados em grupo controle (dieta normolipídica, n=24) e grupo obeso (dieta hiperlipídica, n=24), e assim permaneceram por dez semanas de experimento, sendo induzidos à obesidade mediante protocolo baseado Kalupahana e colaboradores (2010)¹⁰⁹ e Cintra e colaboradores (2012)¹¹⁰. Para acompanhamento do processo, o peso corporal foi verificado semanalmente. No início da oitava semana os animais foram divididos novamente em 4 grupos (n=12 por grupo): Grupo controle + veículo, Grupo controle + ECS, Grupo obeso + veículo, Grupo obeso + ECS. Os animais receberam ECS ou azeite de oliva com a dosagem de 1 mL/kg/dia, via oral, por gavagem. Ao final do experimento os animais foram submetidos à morte indolor assistida, a gordura mesentérica foi removida e pesada, bem como as estruturas cerebrais (hipotálamo, hipocampo, córtex pré-frontal e estriado) retiradas para as análises bioquímicas e o córtex cerebral foi isolado para a análise de dano ao DNA (Figura 1).

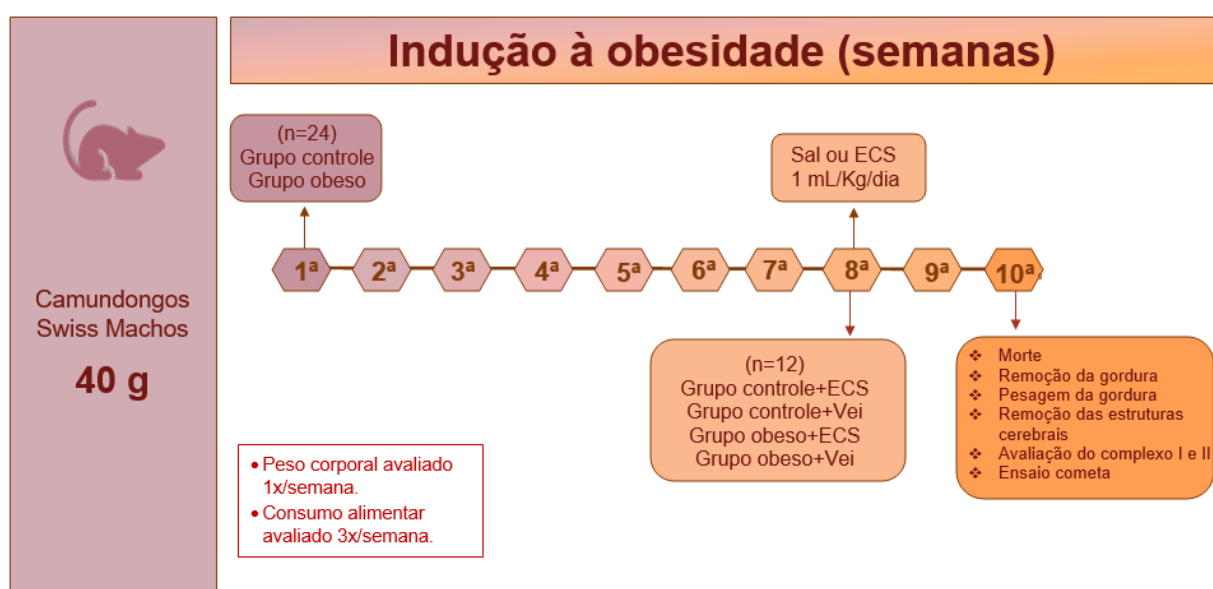


Figura 4: Desenho experimental. ECS: Extrato de *Cannabis sativa*.

3.5 ENSAIOS/TESTES/TÉCNICAS

Peso corporal

O peso corporal dos animais foi verificado semanalmente através da pesagem individual dos animais e o peso foi expresso em gramas.

Remoção e armazenamento dos tecidos

Após a morte dos animais, a cavidade abdominal foi aberta e o tecido adiposo da região mesentérica, localizado ao longo do trato intestinal, foi retirado e pesado. O cérebro dos animais também foi rapidamente removido e, na sequência, as estruturas cerebrais hipotálamo, hipocampo, córtex pré-frontal e estriado foram isoladas. Após, as amostras foram armazenadas a -80°C até serem utilizados na análise bioquímica.

Peso da gordura mesentérica

A gordura mesentérica foi mensurada através da pesagem do tecido em balança de alta precisão. Os resultados da massa de tecido adiposo extraído foram expressos em gramas.

Atividade do Complexo I e II da cadeia respiratória mitocondrial

A atividade dos complexos da cadeia respiratória foi medida no hipotálamo, hipocampo, córtex pré-frontal e estriado. A atividade do complexo I foi avaliada pelo método descrito por Cassina e Radi¹¹¹ pela taxa de NADH-dependente da redução do ferricianeto. Em meio de reação foi adicionado tampão fosfato de potássio 100 mM, ferricianeto 10 mM, NADH 14 mM, rotenona 2 mM e amostra. Após a adição de todos os reagentes e da amostra, a leitura foi realizada em espectrofotômetro de 1 em 1 min, durante 3 min, em 420 nm.

A atividade do complexo II foi mensurada pelo método descrito por Fischer e colaboradores¹¹² pela diminuição da absorbância do 2,6-DCIP. A amostra foi adicionada a um meio de incubação contendo tampão fosfato de potássio 62,5 mM, succinato de sódio 250 mM e 2,6-DCIP 0,5 mM. Foi realizada incubação por 20 minutos a 30°C em banho-maria. Após a incubação foi adicionada azida sódica 100

60 mM, rotenona 2 mM e novamente 2,6-DCIP 0,5 mM, para então ser realizada leitura em espectrofotômetro de 1 em 1 min, por 5 min, em 600 nm.

Todas as análises de atividade dos complexos da cadeia respiratória mitocondrial foram normalizadas pelo conteúdo de proteínas, determinadas conforme descrito por Lowry e colaboradores¹¹³. Os resultados da atividade dos complexos da cadeia respiratória mitocondrial foram expressos em nmol/min x mg proteína.

Ensaio cometa

O ensaio cometa foi realizado em parceria com a Universidade do extremo sul catarinense (UNESC). Para realização do ensaio cometa foi utilizado o córtex cerebral. Sendo assim, seguindo descrito em estudo prévio¹¹⁴. As amostras de córtex cerebral foram dissecadas e imersas em tampão PBS refrigerado. Em seguida, o córtex cerebral foi individualmente homogeneizado com o auxílio de uma seringa, através do movimento de vai e vem, a fim de obter uma suspensão celular. As suspensões celulares (alíquotas de 70 µL) foram embebidas em agarose de baixo ponto de fusão (lowmelting) e em seguida distribuídas em dois poços (alíquotas de 70 µL) em lâminas pré-revestidas com agarose de ponto de fusão normal (1,5%, w/v) e cobertas com duas lamínulas. Após solidificadas, as lamínulas foram removidas e colocadas em solução de lise (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, pH 10,0-10,5, com adição na hora de Triton X – 100 e 10% de DMSO) por no mínimo 1 hora, protegidas da luz e incubadas em tampão alcalino novo (pH 12,6) durante 30 minutos para o desnovelamento do DNA. As células foram submetidas a uma corrida de eletroforese, com o mesmo tampão, durante 20 minutos a 30 volts e uma corrente de 300 miliamperes e posteriormente foram neutralizadas com solução neutralizadora. Para avaliação dos danos, as lâminas foram coradas com Syber Gold por 30 minutos e visualizadas em microscópio de fluorescência com ampliação de 200x.

Foram avaliadas 100 células por animal (50 células em cada lâmina duplicada), essas células foram avaliadas individualmente, sendo categorizadas em cinco classes, de acordo com o tamanho da cauda, sendo a classificação 0 para ausência de cauda, até 4 para o comprimento máximo de cauda¹¹⁵. Através disso tem-se um Índice de Danos (ID) e uma Frequência de Danos (FD em %) para cada animal, sendo que o ID varia de zero ($100 \times 0 = 0$; 100 células observadas completamente sem danos)

a 400 ($100 \times 4 = 400$; 100 células observadas com dano máximo) e o FD foi calculado com base no número de células com cauda versus o número de células sem cauda. As diretrizes internacionais e recomendações para o Ensaio Cometa consideraram que o visual de 100 cometas é um método de avaliação bem validado que tem alta correlação com a análise de imagem por computador⁸⁶. foram utilizados controles negativos e positivos para cada teste de eletroforese com a finalidade de assegurar a confiabilidade do procedimento. Todas as lâminas foram codificadas para análise às cegas.

3.6 VARIÁVEIS DE ESTUDO

Quadro 1 – Variáveis de estudo.

Variáveis	Tipo	Proposta de utilização	Natureza
Obesidade	Independente	(g) Média e desvio padrão	Quantitativa continua
Peso corporal	Dependente	(g) Média e desvio padrão	Quantitativa continua
Peso da gordura mesentérica	Dependente	(g/100g de peso corporal) Média e desvio padrão	Quantitativa continua
Atividade do complexo I	Dependente	(nmol/min x mg) Média desvio padrão	Quantitativa continua
Atividade do complexo II	Dependente	(nmol/min x mg) Média desvio padrão	Quantitativa continua
Dano ao DNA	Dependente	(%) Média desvio padrão	Quantitativa continua

3.7 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

As análises de dados foram realizadas utilizando InStat Statistical Software (GraphPad, La Jolla, CA, EUA). As comparações entre os grupos experimentais foram realizadas utilizando análise de variância (ANOVA) seguido pelo post hoc de Tukey. Os resultados foram apresentados em média $\pm$ desvio padrão e a significância estatística foi considerada para valores de $p < 0,05$.

3.8 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

A utilização de animais foi submetida e aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Sul de Santa Catarina sob o número do protocolo 13.007.4.01. IV. Foram seguidos os Princípios de Cuidados de Animais de Laboratório (*Principles of Laboratory Animal Care*, Instituto Nacional de Saúde dos EUA, NIH), assim como a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica – DBCA (2016), do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA).

4. ARTIGO

O artigo contendo os resultados será submetido à revista Cannabis and cannabinoid research, ISSN: 2578-5125, ISSN online: 2378-8763 avaliado pela CAPES (2017-2020) com qualis A1, na área de avaliação medicina II.

Efeitos do extrato de *Cannabis sativa* rico em THC sobre parâmetros bioquímicos na obesidade

Ana Beatriz Costa^{*1}, Rafael Mariano de Bitencourt², Gislaine Tezza Rezin¹

¹Laboratório de Neurobiologia de processos inflamatório e metabólico, programa de pós-graduação em ciências da saúde, Universidade do Sul de Santa Catarina. Brasil

²Laboratório de Neurociência comportamental, programa de pós-graduação em ciências da saúde, Universidade do Sul de Santa Catarina. Brasil

* Corresponding author: Anab.farma@gmail.com

RESUMO

Introdução: Segundo a Organização Mundial da Saúde, a prevalência da obesidade vem crescendo de forma alarmante em todo o mundo. Sabe-se que o acúmulo excessivo de gordura leva a inflamação sistêmica, comprometendo inclusive o funcionamento do sistema nervoso central. Assim, dificuldades no tratamento da obesidade mostram a necessidade da investigação de outras abordagens terapêuticas. Devido a suas propriedades anti-inflamatórias, o uso de *Cannabis sativa* pode ser uma estratégia promissora. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos do extrato de *Cannabis sativa* rico em THC (ECS) sobre os parâmetros bioquímicos no cérebro de camundongos submetidos a obesidade. **Metodologia:** O experimento apresentou duração de 10 semanas, e no início da oitava semana de estudo foram pareados em 4 grupos: controle + veículo, controle + ECS, obesidade + veículo, obesidade + ECS. Foram administrados 1mL/kg/dia de ECS ou óleo de oliva até o fim do estudo. O peso corporal foi mensurado semanalmente. Ao final do experimento os animais foram mortos, a gordura mesentérica removida e pesada e o hipotálamo, córtex pré-frontal, hipocampo e estriado foram coletados para análise dos complexos I e II da cadeia respiratória mitocondrial e o córtex para análise de dano ao DNA por ensaio cometa. **Resultados:** Os animais do grupo obesidade apresentaram ganho de peso, maior peso da gordura mesentérica, redução da atividade dos complexos I e II em todas as estruturas estudadas e dano ao DNA. Com isso, O ECS não foi capaz de reverter o ganho de peso corporal e da gordura mesentérica causados pela obesidade. Entretanto, levou à normalidade a atividade dos complexos I e II em todas as estruturas, e aumentou de fato a atividade do complexo I no hipotálamo e complexo II no córtex pré-frontal. O ECS também foi capaz de reverter o dano ao DNA causado pela obesidade no córtex dos camundongos. **Conclusão:** Conclui-se que apesar da necessidade de mais estudos que explorem tempo, via de administração e posologias diferentes, o ECS pode ser uma alternativa promissora para o tratamento da obesidade e suas alterações.

Palavras-chave: *Cannabis sativa*; Obesidade; Cadeia respiratória

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente estudo demonstraram que o ECS não foi capaz de reverter o ganho de peso corporal e gordura mesentérica causados pela obesidade. No entanto, teve resultados positivos nos complexos da cadeia respiratória mitocondrial e dano ao DNA dos animais.

Entendemos como limitação deste estudo o fato de não termos dosado outros fitocanabinoides e substâncias que podem ter influenciado nesses resultados, e assim, explorar ainda mais o efeito comitativa.

Apesar dos achados nesse estudo serem extremamente importantes para comunidade científica, eles servem apenas para impulsionar e embasar novos estudos que correlacionem o THC e outros componentes da *Cannabis sativa* ao tratamento da obesidade.

Com esses resultados, também foi possível levantar novos dados que possam relacionar o sistema endocanabinoide e a *Cannabis sativa* com o tratamento efetivo da obesidade, não só refletindo na perda de peso, como auxiliando no controle metabólico, principalmente, relacionado à neuroinflamação. E assim, contribuir para a comunidade científica de forma inicial, com o intuito de embasar novos estudos associados à temática e avançar no conhecimento sobre um possível novo tratamento que auxilie na redução dos danos causados pela obesidade no sistema nervoso central.

REFERÊNCIAS

1. World Health Obesity. Obesity and overweight [Internet]. 2021. Acesso em 25/10/2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
2. Word obesity. About obesity [Internet]. 2019. Acesso em 25/10/2021. Disponível em: <https://www.worldobesity.org/about/about-obesity>
3. Associação brasileira para o estudo da obesidade e síndrome metabólica. Diretrizes Brasileiras de Obesidade. 4th ed. São Paulo; 2016. 186 p.
4. González-Muniesa P, Martínez-González M-A, Hu FB, Després J-P, Matsuzawa Y, Loos RJF, et al. Obesity. *Nat Rev Dis Prim*. 2017;3(1):17034.
5. Karczewski J, Śledzińska E, Baturó A, Jończyk I, Maleszko A, Samborski P, et al. Obesity and inflammation. *Eur Cytokine Netw*. 2018;29(3):83–94.
6. Unamuno X, Gómez-Ambrosi J, Rodríguez A, Becerril S, Frühbeck G, Catalán V. Adipokine dysregulation and adipose tissue inflammation in human obesity. *Eur J Clin Invest*. 2018;48(9):e12997.
7. Badimon L, Cubedo J. Adipose tissue depots and inflammation: effects on plasticity and resident mesenchymal stem cell function. *Cardiovasc Res*. 2017;113(9):1064–1073.
8. Nagajyothi F, Desruisseaux MS, Machado FS, Upadhya R, Zhao D, Schwartz GJ, et al. Response of adipose tissue to early infection with *Trypanosoma cruzi* (Brazil strain). *J Infect Dis*. 2012;205(5):830–840.
9. Johnson AR, Milner JJ, Makowski L. The inflammation highway: metabolism accelerates inflammatory traffic in obesity. *Immunol Rev*. 2012;249(1):218–238.
10. Patel PS, Buras ED, Balasubramanyam A. The role of the immune system in obesity and insulin resistance. *J Obes*. 2013;2013:616193.
11. Frigolet ME, Gutiérrez-Aguilar R. Los colores del tejido adiposo. *Gac Med Mex*. 2020;156:143–150.
12. Zhang Y, Chua SJ. Leptin Function and Regulation. *Compr Physiol*. 2017;8(1):351–369.
13. Ota T. Obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2014;5(DEC):2013–2014.
14. Kowalski LH et al. Leptina e grelina na produção de ruminantes. *Rev Ciências Agrárias*. 2014;37(4):375–383.
15. Parvaresh Rizi E, Loh TP, Baig S, Chhay V, Huang S, Caleb Quek J, et al. A high carbohydrate, but not fat or protein meal attenuates postprandial ghrelin, PYY and GLP-1 responses in Chinese men. *PLoS One*. 2018;13(1):e0191609.

16. Rahman SO, Panda BP, Parvez S, Kaundal M, Hussain S, Akhtar M, et al. Neuroprotective role of astaxanthin in hippocampal insulin resistance induced by A β peptides in animal model of Alzheimer's disease. *Biomed Pharmacother*. 2019;110:47–58.
17. de Bona Schraiber R, de Mello AH, Garcez ML, de Bem Silveira G, Zacaron RP, de Souza Goldim MP, et al. Diet-induced obesity causes hypothalamic neurochemistry alterations in Swiss mice. *Metab Brain Dis*. 2019;34(2):565–573.
18. Geiger BM. Evidence for defective mesolimbic dopamine exocytosis in obesity-prone rats. *Faseb J*. 2008;22(8):2740–2746.
19. Nummenmaa L, Hirvonen J, Hannukainen JC, Immonen H, Lindroos MM, Salminen P, et al. Dorsal striatum and its limbic connectivity mediate abnormal anticipatory reward processing in obesity. *PLoS One*. 2012;7(2):e31089.
20. Sawaya A, Filgueiras A. “Abra a felicidade”? Implicações para o vício alimentar. *Estud Avançados*. 2012;27:53–70.
21. Lahera V, de las Heras N, López-Farré A, Manucha W, Ferder L. Role of Mitochondrial Dysfunction in Hypertension and Obesity. *Curr Hypertens Rep*. 2017;19(2):11.
22. de Mello AH, Costa AB, Engel JDG, Rezin GT. Mitochondrial dysfunction in obesity. *Life Sci*. 2018;192:26–32.
23. Usman M, Volpi E V. DNA damage in obesity: Initiator, promoter and predictor of cancer. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2018;778:23–37.
24. Paumgarten FJR. Pharmacological treatment of obesity: a public health perspective. *Cad Saude Publica*. 2011;27(3).
25. Pucci A, Finer N. New Medications for Treatment of Obesity: Metabolic and Cardiovascular Effects. *Can J Cardiol*. 2015;31(2):142–152.
26. Williams EP, Mesidor M, Winters K, Dubbert PM, Wyatt SB. Overweight and Obesity: Prevalence, Consequences, and Causes of a Growing Public Health Problem. *Curr Obes Rep*. 2015;4(3):363–370.
27. Cargnin-Carvalho A, de Mello AH, Bressan JB, Backes KM, Uberti MF, Fogaça JB, et al. Can fructose influence the development of obesity mediated through hypothalamic alterations? *J Neurosci Res*. 2020;98(8):1662–1668.
28. Tchernof A, Després J-P. Pathophysiology of human visceral obesity: an update. *Physiol Rev*. 2013;93(1):359–404.
29. Barazzoni R, Gortan Cappellari G, Ragni M, Nisoli E. Insulin resistance in obesity: an overview of fundamental alterations. *Eat Weight Disord*. 2018;23(2):149–157.
30. Seravalle G, Grassi G. Obesity and hypertension. *Pharmacol Res* 2017;122:1–7.
31. Dixon AE, Peters U. The effect of obesity on lung function. *Expert Rev Respir Med* 2018;12(9):755–767.

32. Vekic J, Zeljkovic A, Stefanovic A, Jelic-Ivanovic Z, Spasojevic-Kalimanovska V. Obesity and dyslipidemia. *Metabolism*. 2019;92:71–81.
33. Kachur S, Lavie CJ, de Schutter A, Milani R V, Ventura HO. Obesity and cardiovascular diseases. *Minerva Med*. 2017;108(3):212–228.
34. Sagar R, Gupta T. Psychological Aspects of Obesity in Children and Adolescents. *Indian J Pediatr*. 2018;85(7):554–559.
35. Avgerinos KI, Spyrou N, Mantzoros CS, Dalamaga M. Obesity and cancer risk: Emerging biological mechanisms and perspectives. *Metabolism*. 2019;92:121–135.
36. Ministério da saúde do Brasil. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico - VIGITEL. 1st ed. Brasília, DF; 2019. 139 p.
37. Associação brasileira para o estudo da obesidade e síndrome metabólica. Mapa da obesidade [Internet]. 2021. Acesso em: 25/10/2022. Disponível em: <https://abeso.org.br/obesidade-e-sindrome-metabolica/mapa-da-obesidade/>
38. Haslam D. Obesity: a medical history. *Obes Rev an Off J Int Assoc Study Obes*. 2007;8 Suppl 1:31–36.
39. Albuquerque D, Nóbrega C, Manco L, Padez C. The contribution of genetics and environment to obesity. *Br Med Bull*. 2017;123(1):159–173.
40. Singh RK, Kumar P, Mahalingam K. Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. *C R Biol*. 2017;340(2):87–108.
41. Golden A, Kessler C. Obesity and genetics. *J Am Assoc Nurse Pract*. 2020;32(7):493–496.
42. Nicolaidis S. Environment and obesity. *Metabolism*. 2019;100S:153942.
43. Zwick RK, Guerrero-Juarez CF, Horsley V, Plikus M V. Anatomical, Physiological, and Functional Diversity of Adipose Tissue. *Cell Metab*. 2018;27(1):68–83.
44. Ohashi K, Shibata R, Murohara T, Ouchi N. Role of anti-inflammatory adipokines in obesity-related diseases. *Trends Endocrinol Metab*. 2014;25(7):348–355.
45. Izquierdo AG, Crujeiras AB, Casanueva FF, Carreira MC. Leptin, Obesity, and Leptin Resistance: Where Are We 25 Years Later? *Nutrients*. 2019;11(11).
46. Wasim M, Awan FR, Najam SS, Khan AR, Khan HN. Role of Leptin Deficiency, Inefficiency, and Leptin Receptors in Obesity. *Biochem Genet*. 2016;54(5):565–572.
47. Fang H, Judd R. Adiponectin Regulation and Function. *Compr Physiol*. 2018;8(3):1031–1063.
48. Rogero MM, Calder PC. Obesity, Inflammation, Toll-Like Receptor 4 and Fatty Acids. *Nutrients*. 2018;10(4).
49. MAURO C et al. Metabolic Syndrome and the Immunological Affair with the Blood-Brain Barrier. *Front Immunol*. 2015;5.

50. Vieira G, Sousa C. Aspectos celulares e fisiológicos da Barreira Hematoencefálica. *J Heal Biol Sci.* 2013;1.
51. Nogueira C. Neuroindocrinologia. *Soc Bras Endocrinol e Metabol*, 2021 [Internet]. Acesso em: 25/10/2022. Disponível em: http://www.sbneurociencia.com.br/draclaudia/artigo_claudia.htm
52. Farr OM, Li C-SR, Mantzoros CS. Central nervous system regulation of eating: Insights from human brain imaging. *Metabolism.* 2016;65(5):699–713.
53. Guillemot-Legris O, Muccioli GG. Obesity-Induced Neuroinflammation: Beyond the Hypothalamus. *Trends Neurosci.* 2017;40(4):237–253.
54. RUI L. Brain regulation of energy balance and body weight. *Rev Endocr Metab Disord.* 2013;14(4):387–407.
55. Miller AA, Spencer SJ. Obesity and neuroinflammation: A pathway to cognitive impairment. *Brain Behav Immun.* 2014;42:10–21.
56. Shefer G, Marcus Y, Stern N. Is obesity a brain disease? *Neurosci Biobehav Rev.* 2013;37(10 Pt 2):2489–2503.
57. Ulrich-lai MY. Stress Exposure, Food Intake, and Emotional State. *Int J Biol Stress.* 2015;18(4):31–399.
58. Tomasi D, Volkow N. Striatocortical pathway dysfunction in addiction and obesity: Differences and similarities. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2012;48.
59. Mazon JN, de Mello AH, Ferreira GK, Rezin GT. The impact of obesity on neurodegenerative diseases. *Life Sci.* 2017;182:22–28.
60. Mazon JN, Trevisol FS, Niero AC, Oliveira MP De, Dias WS, Turatti CR, et al. *Revista Brasileira de Obesidade , Nutrição e Emagrecimento.* Rbone. 2019;13(78):211–218.
61. Kusminski CM, Scherer PE. Mitochondrial dysfunction in white adipose tissue. *Trends Endocrinol Metab.* 2012;23(9):435–443.
62. Agrawal A, Mabalirajan U. Rejuvenating cellular respiration for optimizing respiratory function: targeting mitochondria. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2016;310(2):L103-13.
63. Dashty M. A quick look at biochemistry: carbohydrate metabolism. *Clin Biochem.* 2013;46(15):1339–1352.
64. Hüttemann M, Lee I, Pecinova A, Pecina P, Przyklenk K, Doan JW. Regulation of oxidative phosphorylation, the mitochondrial membrane potential, and their role in human disease. *J Bioenerg Biomembr.* 2008;40(5):445–456.
65. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organ. J* 2012;5(1):9–19.
66. Brieger K, Schiavone S, Miller FJJ, Krause K-H. Reactive oxygen species: from health to disease. *Swiss Med Wkly.* 2012;142:w13659.

67. Yu EPK, Bennett MR. Mitochondrial DNA damage and atherosclerosis. *Trends Endocrinol Metab.* 2014;25(9):481–487.
68. Luo Y, Ma J, Lu W. The Significance of Mitochondrial Dysfunction in Cancer. *Int J Mol Sci.* 2020;21(16).
69. Włodarczyk M, Nowicka G. Obesity, DNA Damage, and Development of Obesity-Related Diseases. *Int J Mol Sci.* 2019;20(5).
70. Soares NP, Santos ACS, Costa EC, Azevedo GD, Damasceno DC, Fayh APT, et al. Diet-Induced Weight Loss Reduces DNA Damage and Cardiometabolic Risk Factors in Overweight/Obese Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Ann Nutr Metab.* 2016;68(3):220–227.
71. Ibero-Baraibar I, Azqueta A, Lopez de Cerain A, Martinez JA, Zulet MA. Assessment of DNA damage using comet assay in middle-aged overweight/obese subjects after following a hypocaloric diet supplemented with cocoa extract. *Mutagenesis.* 2015;30(1):139–146.
72. Kleinridders A, Könnner AC, Brüning JC. CNS-targets in control of energy and glucose homeostasis. *Curr Opin Pharmacol.* 2009;9(6):794–804.
73. Leite L, Rocha É, Brandão-Neto J. Obesidade: uma doença inflamatória. 2010;2.
74. Veiga V, Pinto A, Maciel MA. Medicinal plants: Safe cure? *Quim Nova.* 2005;28:519–528.
75. Mechoulam R, Hanuš LO, Pertwee R, Howlett AC. Early phytocannabinoid chemistry to endocannabinoids and beyond. *Nat Rev Neurosci.* 2014;15(11):757–764.
76. Zou S, Kumar U. Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: Signaling and function in the central nervous system. *Int J Mol Sci.* 2018;19(3).
77. Silvestri C, Di Marzo V. The endocannabinoid system in energy homeostasis and the etiopathology of metabolic disorders. *Cell Metab.* 2013;17(4):475–490.
78. Lu H-C, Mackie K. Review of the Endocannabinoid System. *Biol psychiatry Cogn Neurosci neuroimaging.* 2021;6(6):607–615.
79. Avello L M, Pastene N E, Fernández R P, Córdova M P. [Therapeutic potential of Cannabis sativa]. *Rev Med Chil.* 2017;145(3):360–367.
80. Rosenberg EC, Patra PH, Whalley BJ. Therapeutic effects of cannabinoids in animal models of seizures, epilepsy, epileptogenesis, and epilepsy-related neuroprotection. *Epilepsy Behav.* 2017;70(Pt B):319–327.
81. Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, et al. Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990;87(5):1932–1936.
82. Romano B, Pagano E, Orlando P, Capasso R, Cascio MG, Pertwee R, et al. Pure $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabivarin and a Cannabis sativa extract with high content in $\Delta(9)$ -tetrahydrocannabivarin inhibit nitrite production in murine peritoneal macrophages.

Pharmacol Res. 2016;113(Pt A):199–208.

83. Cota D. Role of the endocannabinoid system in energy balance regulation and obesity. *Front Horm Res.* 2008;36:135–145.

84. Witkamp R, Meijerink J. The endocannabinoid system: an emerging key player in inflammation. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2014;17(2):130–138.

85. Fonseca BM, Correia-da-Silva G, Almada M, Costa MA, Teixeira NA. The Endocannabinoid System in the Postimplantation Period: A Role during Decidualization and Placentation. *Int J Endocrinol.* 2013;2013:510540.

86. Turcotte C, Blanchet M-R, Laviolette M, Flamand N. The CB(2) receptor and its role as a regulator of inflammation. *Cell Mol Life Sci.* 2016;73(23):4449–4470.

87. Stella N. Cannabinoid and cannabinoid-like receptors in microglia, astrocytes, and astrocytomas. *Glia.* 2010;58(9):1017–1030.

88. Di Marzo V, Stella N, Zimmer A. Endocannabinoid signalling and the deteriorating brain. *Nat Rev Neurosci.* 2015;16(1):30–42.

89. Fernández-Ruiz J, Moro MA, Martínez-Orgado J. Cannabinoids in Neurodegenerative Disorders and Stroke/Brain Trauma: From Preclinical Models to Clinical Applications. *Neurother J Am Soc Exp Neurother.* 2015;12(4):793–806.

90. Pacher P, Bátkai S, Kunos G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol Rev.* 2006;58(3):389–462.

91. Almogi-Hazan O, Or R. Cannabis, the Endocannabinoid System and Immunity-the Journey from the Bedside to the Bench and Back. *Int J Mol Sci.* 2020;21(12):4448.

92. Mecha M, Carrillo-Salinas FJ, Feliú A, Mestre L, Guaza C. Microglia activation states and cannabinoid system: Therapeutic implications. *Pharmacol Ther.* 2016;166:40–55.

93. Rajesh M, Pan H, Mukhopadhyay P, Bátkai S, Osei-Hyiaman D, Haskó G, et al. Cannabinoid-2 receptor agonist HU-308 protects against hepatic ischemia/reperfusion injury by attenuating oxidative stress, inflammatory response, and apoptosis. *J Leukoc Biol.* 2007;82(6):1382–1389.

94. Sardinha J, Kelly MEM, Zhou J, Lehmann C. Experimental cannabinoid 2 receptor-mediated immune modulation in sepsis. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:978678.

95. Donvito G, Nass SR, Wilkerson JL, Curry ZA, Schurman LD, Kinsey SG, et al. The Endogenous Cannabinoid System: A Budding Source of Targets for Treating Inflammatory and Neuropathic Pain. *Neuropsychopharmacol Off Publ Am Coll Neuropsychopharmacol.* 2018;43(1):52–79.

96. Chang YH, Lee ST, Lin WW. Effects of cannabinoids on LPS-stimulated inflammatory mediator release from macrophages: involvement of eicosanoids. *J Cell Biochem.* 2001;81(4):715–723.

97. Alger BE. Endocannabinoids at the synapse a decade after the dies mirabilis (29 March 2001): what we still do not know. *J Physiol*. 2012;590(10):2203–2212.
98. Gavva NR, Tamir R, Qu Y, Klionsky L, Zhang TJ, Immke D, et al. AMG 9810 [(E)-3-(4-t-butylphenyl)-N-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4] dioxin-6-yl)acrylamide], a novel vanilloid receptor 1 (TRPV1) antagonist with antihyperalgesic properties. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005;313(1):474–484.
99. Fajas L, Auboeuf D, Raspé E, Schoonjans K, Lefebvre AM, Saladin R, et al. The organization, promoter analysis, and expression of the human PPARgamma gene. *J Biol Chem*. 1997;272(30):18779–18789.
100. Fajas L, Fruchart JC, Auwerx J. PPARgamma3 mRNA: a distinct PPARgamma mRNA subtype transcribed from an independent promoter. *FEBS Lett*. 1998;438(1–2):55–60.
101. CRIPPA JA et al. Efeitos cerebrais da maconha: resultados dos estudos de neuroimagem. *Rev Bras Psiquiatr*. 2005;27(1):70–78.
102. Zuardi AW. History of cannabis as a medicine: A review. *Rev Bras Psiquiatr*. 2006;28(2):153–157.
103. Robert, M; Julien M. A primer of drug action. 9th ed. Book O, editor. New York; 2001. 498 p.
104. Schilling S, Melzer R, McCabe PF. Cannabis sativa. *Curr Biol* 2020;30(1):R8–R9.
105. Dawidowicz A.L., Olszowy-Tomczyk M. Typek, RCBG, CBD, Δ9-THC, CBN, CBGA, CBDA and Δ9-THCA as antioxidant agents and their intervention abilities in antioxidant action. *Fitoterapia* .2021. 152, 104915.
106. Kaddour H., McDew-White M., Madeira M.M, Tranquille M.A, Tsirka S.E, Mohan, M, et al. Chronic delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) treatment counteracts SIV-induced modulation of proinflammatory microRNA cargo in basal ganglia-derived extracellular vesicles. *Journal of neuroinflammation*, 2022. 19(1):225
107. Shelef A., Barak Y., Berger U., Paleacu D., Tadger S., Plopsky I., Baruch Y., 2016. Safety and Efficacy of Medical Cannabis Oil for Behavioral and Psychological Symptoms of Dementia: An-Open Label, Add-On, Pilot Study. *Journal of Alzheimer's disease*, 2014. 51(1): 15-19
108. Aso E. Sanchez-Pla A., Vegas-Lozano E. Maldonado R., Ferrer. I., Cannabis-Based Medicine Reduces Multiple Pathological Processes in AβPP/PS1 Mice. *Journal of Alzheimer's disease*, 2014. 43(3):977-991.
109. Kalupahna N., Claycombe K., Newman S., Stewart T., Siriwardhana N., Matthan N., Lichtensein A., Moustaid-Moussa N. Eicosapentaenoic Acid Prevents and Reverses Insulin Resistance in High-Fat Diet-Induced Obese Mice via Modulation of Adipose Tissue Inflammation1–3. *The Journal of nutrition*, 2010, 140(11): 1915-22.

110. Cintra DE, Ropelle ER, Moraes JC, Pauli JR, Morari J, Souza CT de, Grimaldi R, Stahl M, Carvalheira JB, Saad MJ, et al. Unsaturated fatty acids revert diet-induced hypothalamic inflammation in obesity. *PLoS One* 2012;7(1):e30571.
111. Cassina A, Radi R. Differential inhibitory action of nitric oxide and peroxynitrite on mitochondrial electron transport. *Arch Biochem Biophys* 1996;328(2):309–316.
112. Fischer JC, Ruitenbeek W, Berden JA, Trijbels JM, Veerkamp JH, Stadhouders AM, Sengers RC, Janssen AJ. Differential investigation of the capacity of succinate oxidation in human skeletal muscle. *Clin Chim Acta* 1985;153(1):23–36.
113. Lowry O, Rosebrough N, Farr AL, Randall R. Protein Measurement With The Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem* 1951;193(1):265–275.
114. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 1988;175(1):184–191.
115. Collins AR, Dobson VL, Dusinská M, Kennedy G, Stětina R. The comet assay: what can it really tell us? *Mutat Res* 1997;375(2):183–193.

ANEXO A- Parecer Aprovação do Comitê de Ética



Pró Reitoria de Ensino, Pesquisa, Pós-Graduação, Extensão e Inovação Comissão de Ética no Uso de Animais (Res. CONSUN 46/2009)

Palhoça, 4 de abril de 2019
Registro na CEUA (código): 19.007.4.01.IV

Ao Pesquisador/Professor(a): Gislaine Tezza Rezin

Prezado(a),

Vimos por meio deste, certificar que a proposta de estudo e/ou projeto de pesquisa intitulada "Canabidiol: um aliado no combate aos danos cerebrais causados pela obesidade?", registrada com o 19.007.4.01.IV, sob a responsabilidade de Gislaine Tezza Rezin - que envolve a manutenção ou utilização de modelos animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei Federal nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) desta Instituição, em reunião de 9 de abril de 2019.

A CEUA/UNISUL tem por finalidade cumprir e fazer cumprir, no âmbito da UNISUL e nos limites de suas atribuições, os dispostos na legislação Federal aplicável à criação, manutenção e a utilização de animais em atividades de ensino e de pesquisa, realizadas pelos corpos docente, discente e técnico-administrativo da UNISUL e pesquisadores de outras instituições, caracterizando-se a sua atuação como educativa, consultiva, de assessoria e fiscalização nas questões relativas à matéria, sob os aspectos: I - Ético; II - Legal: enquadramento na legislação vigente.

Gostaríamos de salientar que, embora aprovado, qualquer alteração dos procedimentos e metodologias que houver durante a realização do projeto em questão, deverá ser informada imediatamente à Comissão.

Atenciosamente,


Prof. Sandro Meim Sgrott
Coordenador da Comissão