

CANABIDIOL PREVINE HIPERATIVIDADE INDUZIDA PELA PRIVAÇÃO DO SONO PARADOXAL: UM ESTUDO PILOTO

CANNABIDIOL PREVENTS HYPERACTIVITY INDUCED BY PARADOXICAL SLEEP DEPRIVATION: A PILOT STUDY

Guilherme C.N. Piñeyrúa^{1*}, Pedro H.F. Espíndola^{1*}, Samira S. Valvassori Ph.D ^{1,2*}

*Todos os autores declaram que o segundo autor desenvolveu o presente estudo da mesma forma que o primeiro autor, tanto na escrita quanto na coleta de dados.

¹ Curso de Medicina da Universidade do Extremo Sul Catarinense, Av. Universitária, nº 1105 – Bairro Universitário CEP: 88806-000 – Criciúma-SC.

² Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense, Av. Universitária, 1105 – Bairro Universitário CEP: 88806-000 – Criciúma-SC.

*Autor correspondente: Samira S. Valvassori Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense, Av. Universitária, 1105 – Bairro Universitário CEP: 88806-000 – Criciúma-SC. samiravalvassori@unesc.net

RESUMO

O presente artigo tem como objetivo avaliar os efeitos do canabidiol (CBD) sobre as alterações comportamentais induzidas pela privação do sono paradoxal (PSP) em um modelo animal de mania bipolar. Foram utilizados 86 camundongos (49 machos e 37 fêmeas), os quais foram privados do sono por 36h. Esses camundongos foram tratados com CBD (30mg/kg) ou veículo duas vezes por dia durante 7 dias. No quarto dia de tratamento, os animais foram privados do sono por 36h. Imediatamente após a PSP, os animais foram submetidos ao campo aberto eletrônico para avaliação dos movimentos livres nos tempos: 5min, 10min, 15min e tempo total. Neste teste, foi avaliado atividade locomotora e exploratória, comportamento de risco, movimentos ambulatorios e estereotipia. A atividade locomotora dos animais foi aumentada nos camundongos somente 5 minutos após a PSP, mas, o tratamento com CBD preveniu essa alteração comportamental. Nenhum dos outros parâmetros foram alterados nos animais submetidos a PSP. Em suma, o CBD parece ser uma possível substância para o tratamento da mania aguda, já que reverteu hiperatividade em um modelo animal de mania induzida por PSP. Entretanto, mais estudos são necessários para verificar outros parâmetros comportamentais e mecanismos bioquímicos envolvidos nos efeitos terapêuticos do CBD no transtorno bipolar.

Palavras-chaves: Canabidiol; Transtorno Bipolar; Lítio

ABSTRACT

This article aims to evaluate the effects of cannabidiol (CBD) on behavioral changes induced by paradoxical sleep deprivation (PSD) in an animal model of bipolar mania. Eighty-six mice (49 males and 37 females) were used, which were deprived of sleep for 36h. These mice were treated with CBD (30mg/kg) or vehicle twice a day for 7 days. On the fourth day of treatment, the animals were deprived of sleep for 36h. Immediately after PSD, the animals were submitted to an electronic open field for evaluation of free movement in the times: 5min, 10min, 15min, and total time. In this test, locomotor and exploratory activity, risk behavior, ambulatory movements, and stereotypy were evaluated. The locomotor activity of the animals was increased in mice only 5 minutes after PSD, but treatment with CBD prevented this behavioral change. None of the other parameters were changed in the animals submitted to PSD. In summary, CBD appears to be a possible substance for the treatment of acute mania because it reversed hyperactivity in an animal model of PSD-induced mania. However, more studies are needed to verify other behavioral parameters and biochemical mechanisms involved in the therapeutic effects of CBD in bipolar disorder.

Keywords: Cannabidiol; Bipolar disorder; Lithium

INTRODUÇÃO

O transtorno bipolar (TB) é um transtorno de humor crônico, caracterizado pela alternância dos episódios de mania/hipomania e de depressão. De acordo com o Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais (DSM V), o marco clínico do TB é a presença de episódio maníaco¹. Apesar da importância dessa condição psiquiátrica, o único fármaco considerado como estabilizador de humor é o lítio. No entanto, o lítio pode causar efeitos adversos em muitos pacientes, prejudicando na aderência ao tratamento. Alguns desses efeitos são: emergência urinária, hipotireoidismo, ganho de peso, hiperparatireoidismo, hipercalcemia, tremor, náusea, anorexia, diarreia, desconforto epigástrico e problemas sexuais^{2,3}.

O tratamento farmacológico é fundamental para o gerenciamento bem-sucedido de pacientes com TB. Para os episódios agudos, o alvo é a redução dos sintomas, com o objetivo de remissão total dos sintomas. Para o tratamento de manutenção, o desígnio é evitar as recorrências dos episódios de humor. Os medicamentos utilizados no tratamento do TB incluem, além do lítio, anticonvulsivantes, como o valproato, a lamotrigina e a carbamazepina, antipsicóticos atípicos e antidepressivos convencionais. Uma série de questões de segurança estão

associadas a esses fármacos, como nos antidepressivos, que podem levar a sedação/sonolência e efeitos metabólicos (ganho de peso, hiperglicemia e dislipidemia). Além dos efeitos extrapiramidais, causados pelos antipsicóticos⁴.

De uma forma geral, os efeitos colaterais resultam na falta de adesão dos pacientes às terapêuticas; portanto, cada vez mais tem-se buscado tratamentos alternativos. Dentre os tratamentos que vem sendo estudados para o TB, o canabidiol (CBD) tem ganhado destaque⁵. Além do Δ 9-tetra-hidrocanabinol, que é o principal constituinte psicoativo da cannabis, o CBD é o fitocanabinóide não-psycoativo mais abundante nesta planta e pode representar um protótipo para o desenvolvimento de medicamentos. O CBD, que interage com o sistema endocanabinoide (eCB), também possui mecanismos independentes de receptores canabinóides, como mecanismos antioxidantes, anti-inflamatórios e neurotróficos⁶. Um estudo prévio demonstrou que o CBD reverteu comportamentos do tipo depressivos em ratos, sendo que essa melhora foi acompanhada por aumento de neurotrofinas no cérebro dos animais, proteínas que são importantes para o funcionamento e plasticidade neuronal⁷.

Outro fator importante, que parece estar envolvido na fisiopatologia do TB são as alterações do sono. Em pacientes TB, a insônia, ou a diminuição da necessidade de sono, e/ou a hipersonia têm sido observados⁸. A privação de sono pode induzir em indivíduos saudáveis quadros de mania e potencializar episódios maníacos em pacientes TB⁹. De fato, a privação do sono paradoxal (PSP) em roedores é considerada adequada para induzir o modelo animal de mania em roedores. Este fato se deve porque animais submetidos a PSP apresentam alguns comportamentos considerados do tipo maníaco, como: hiperatividade, comportamento agressivo e atividade sexual aumentada¹⁰. Além disso, tem sido descrito que o tratamento com lítio pode reverter comportamentos maníacos induzido pela PSP^{11,12,13,14}.

A justificativa do presente artigo se dá pelo fato de que o padrão ouro para o tratamento do TB, o lítio, e as outras medicações utilizadas possuem uma gama de efeitos colaterais que, muitas vezes, não são tolerados pelos pacientes, diminuindo a adesão medicamentosa. Diante disso, este artigo teve como objetivo avaliar os efeitos do CBD sobre as alterações comportamentais induzidas pela PSP.

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais experimentais

Foram utilizados 86 camundongos (49 machos e 37 fêmeas) C57BL/6, adultos com aproximadamente 60 dias, pesando entre 20 a 30g, provenientes do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense. Os animais foram acondicionados em caixas de polipropileno (41x34x16 cm), 5 animais por caixa, sob um ciclo claro/escuro de 12 horas (06:00h às 18:00h), recebendo comida e água *ad libitum*. No ambiente foi mantida a temperatura de 23 + 1° C.

Tratamento

O CBD (THC-Pharm, Frankfurt, Germany) foi suspenso em Tween 80 a 2% e permaneceu sob agitação durante a aplicação nos animais. O lítio (Li) também foi diluído em Tween 80 a 2% para não haver diferença de veículo. As soluções foram preparadas sempre antes da aplicação e foram protegidas da luz. O grupo controle recebeu somente veículo, ou seja, Tween 80 a 2%. É importante ressaltar que o Li foi utilizado como controle positivo por ser o padrão ouro para o tratamento do TB.

Antes de iniciar o protocolo de PSP, os animais receberam administrações via intraperitoneal de CBD (30mg/kg – 1mL/Kg), Li (48 mg/kg – 1mL/kg) ou veículo (1 mL/kg) duas vezes ao dia, durante 7 dias. No entanto, no 5º dia de tratamento, os animais foram divididos em dois subgrupos de acordo com o protocolo de PSP, sendo que um grupo foi submetido à PSP e um grupo não foi privado do sono (controle). Portanto, os grupos experimentais do presente estudo foram: 1) veículo + controle; 2) lítio + controle; 3) CBD + controle; 4) veículo + PSP; 5) lítio + PSP; 6) CBD + PSP.

Modelo animal de mania induzido por PSP

Para o modelo animal de mania induzido por PSP, os animais ficaram alocados 5 em cada caixa (38 x 31 x 17cm). As caixas continham 9 plataformas com 3,5cm de diâmetro cada. O fundo da caixa foi preenchido com uma lâmina d'água de 1cm de profundidade fazendo com que os animais se obrigassem a permanecer nas plataformas, podendo se locomover à vontade entre elas. A privação foi somente do sono REM, os animais dormem, mas antes de entrarem em sono REM, devido á atonia

muscular, caem da plataforma na água obrigando-os a permanecerem acordados. Comida e água foram disponibilizadas à vontade na grade que fica no topo da caixa. Foi adotado o tempo de 36h de PSP, pois estudos indicam que esse tempo é eficiente em mimetizar comportamento do tipo maníaco observados no teste de campo aberto¹⁵.

Os animais do grupo controle foram expostos às mesmas condições, exceto a água na superfície da caixa, que foi substituída por maravalha. Durante o experimento a sala em que os animais estavam, foi mantida em um ciclo claro-escuro de 12h (luzes acesas às 6:00) com temperatura de 22 ± 2 C°. Os animais em privação foram mantidos com aquecedores próximos à caixa para que devido a água a temperatura não baixe muito e eles sofram com o frio.

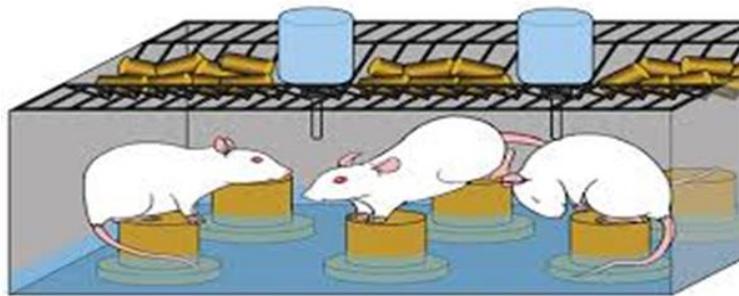


Figura 1: Representação do protocolo de privação do sono paradoxal²⁵.

Teste do campo aberto

A avaliação dos movimentos livres dos animais foi realizada em um monitor de atividades de 40 x 60 cm de tamanho cercado por paredes de acrílico de aproximadamente 50 centímetros de altura. Este monitor é rodeado por seis barras paralelas, cada barra possui 16 sensores infravermelhos que detectam a posição exata e o movimento do animal, monitorando a locomoção do mesmo na arena. Os animais foram avaliados durante 15 min. A informação detectada pelos sensores foi transmitida a um computador utilizando o software Open Source Interbase versão 6.01 (Activity Monitor – Equipamentos de Laboratório Insight, Ribeirão Preto – SP, Brasil), para posterior análise estatística. Os parâmetros avaliados foram: atividade locomotora (distância percorrida no campo aberto), atividade exploratória (quantidade de vezes que o animal levanta para explorar o ambiente), visitas ao centro do campo aberto (considerado comportamento de risco), tempo que o animal fica fazendo

movimentos ambulatorios e comportamentos estereotípicos (limpeza das vibrissas e autolimpeza).

Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Nos casos em que os dados tiveram distribuições normais, os dados foram apresentados como média e desvio padrão e as diferenças entre os grupos experimentais foram determinados pela análise de variância de duas vias (ANOVA) seguida pelo teste post hoc de Tukey. Por outro lado, os dados que não tiveram distribuição normal foram apresentados como mediana e intervalo interquartil e a diferença entre as médias foram avaliadas de acordo com o teste de H de Kruskal-Wallis. Embaixo de cada gráfico está especificado o teste estatístico ao qual o dado foi submetido. Em todas as comparações, a significância estatística foi estabelecida em $p < 0,05$.

Considerações éticas

O presente estudo só foi iniciado após a aprovação do mesmo na Comissão de Ética em Pesquisa para o Uso de Animais Experimentais. Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as recomendações internacionais para o cuidado e o uso de animais de laboratório, além das recomendações para o uso de animais da Sociedade Brasileira de Neurociências e comportamento (SBNeC). Parecer de aprovação: 59/2020-1.

RESULTADOS

Os gráficos da figura 2 representam a distância percorrida dos animais em cm teste do campo aberto, avaliado no monitor de atividades nos tempos de 5min, 10min, 15 min e tempo total. Como pode ser observado os animais submetidos à PSP apresentaram um aumento da atividade locomotora no tempo de 5min, quando comparado ao grupo controle. O aumento da atividade locomotora induzida pela PSP em camundongos é considerado comportamento do tipo maníaco. Entretanto, a administração de CBD, mas não de Li, preveniu essa alteração comportamental nos animais. A administração de Li ou de CBD nos animais do grupo controle não

apresentaram alteração motora, o que confirma que os efeitos terapêuticos do CBD aqui observados não foram associados a sedação.

A distância percorrida dos animais não foi alterada em nenhum dos grupos nos tempos de 10, 15 ou no tempo total de distância percorrida dos animais.

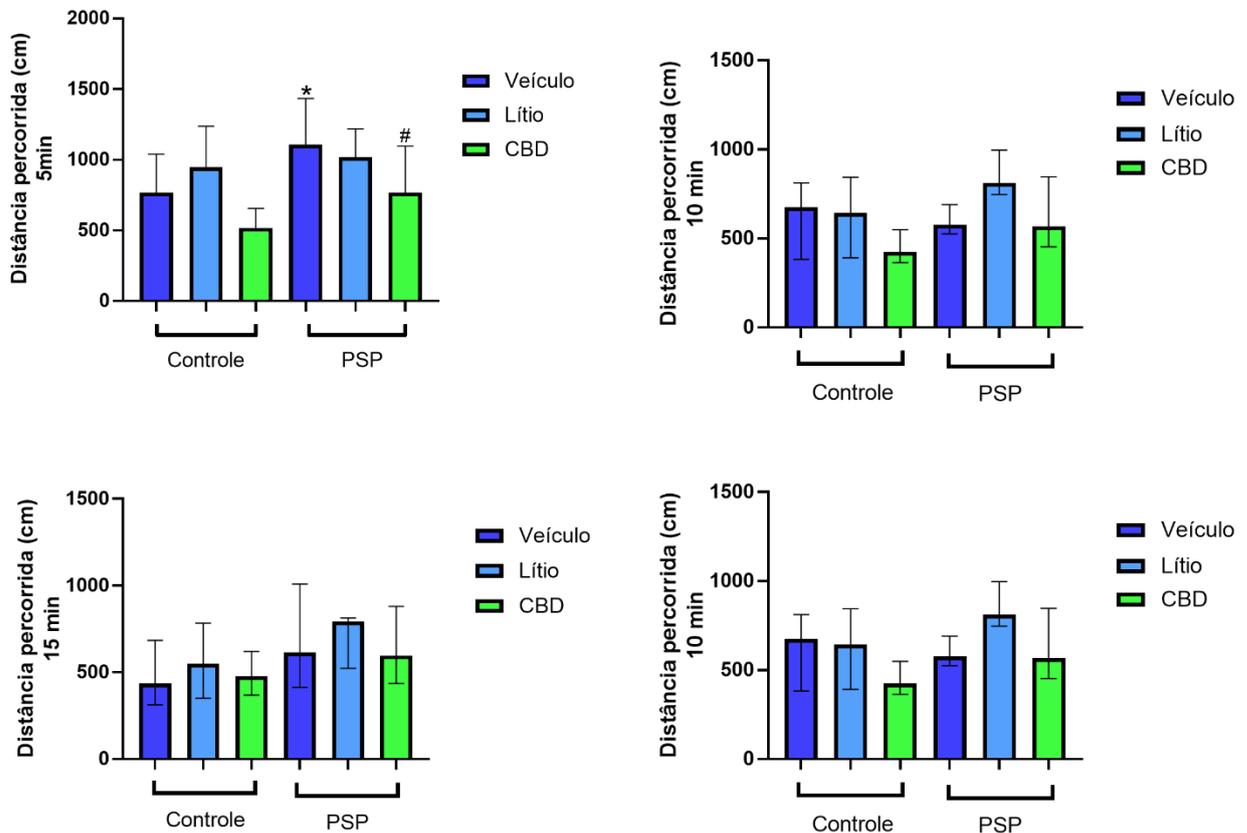


Figura 2: Distância percorrida nos tempos 5min, 10min, 15min e tempo total no teste do campo aberto, avaliado no monitor de atividades. Os dados do tempo de 5min estão apresentados como média e desvio padrão. A diferença entre os grupos foi avaliada através do ANOVA de duas vias seguido pelo teste de Post Hoc de Tukey. *diferente do grupo controle $p < 0,05$. # diferente do grupo privação. Os dados dos tempos de 10, 15 e tempo total estão apresentados como mediana e intervalo interquartil. A diferença entre os grupos foi avaliada através do Teste de Kruskal-Wallis.

Os gráficos da figura 3 representam a atividade exploratório dos animais, representada pela quantidade de vezes que o animal levanta para observar o ambiente, avaliada no monitor de atividades nos tempos de 5min, 10min, 15 min e tempo total. Não houve alteração da atividade locomotora dos animais em nenhum dos grupos experimentais e em nenhum dos tempos avaliados, quando comparado com o grupo controle.

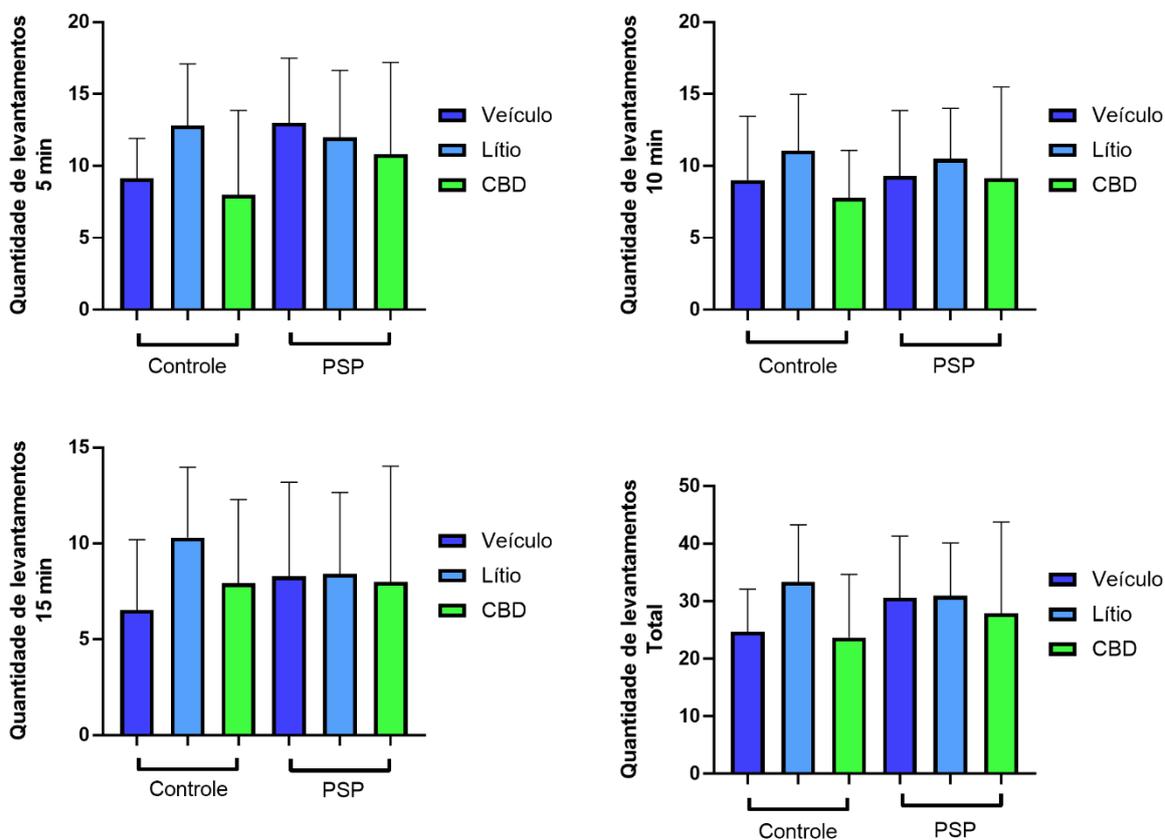


Figura 3: Atividade exploratória dos animais, representada pela quantidade de levantamentos para explorar o ambiente, nos tempos 5min, 10min, 15min e tempo total no teste do campo aberto, avaliado no monitor de atividades. Os dados estão apresentados como média e desvio padrão. A diferença entre os grupos foi avaliada através do ANOVA de duas vias seguido pelo teste de Post Hoc de Tukey.

Os gráficos da figura 4 representam o parâmetro de comportamento de risco dos animais, representado pela quantidade de vezes que o animal vai até o centro do campo aberto se expondo ao risco nos tempos de 5min, 10min, 15 min e tempo total. Não houve alteração do comportamento de risco dos animais em nenhum dos grupos experimentais e em nenhum dos tempos avaliados, quando comparado com o grupo controle.

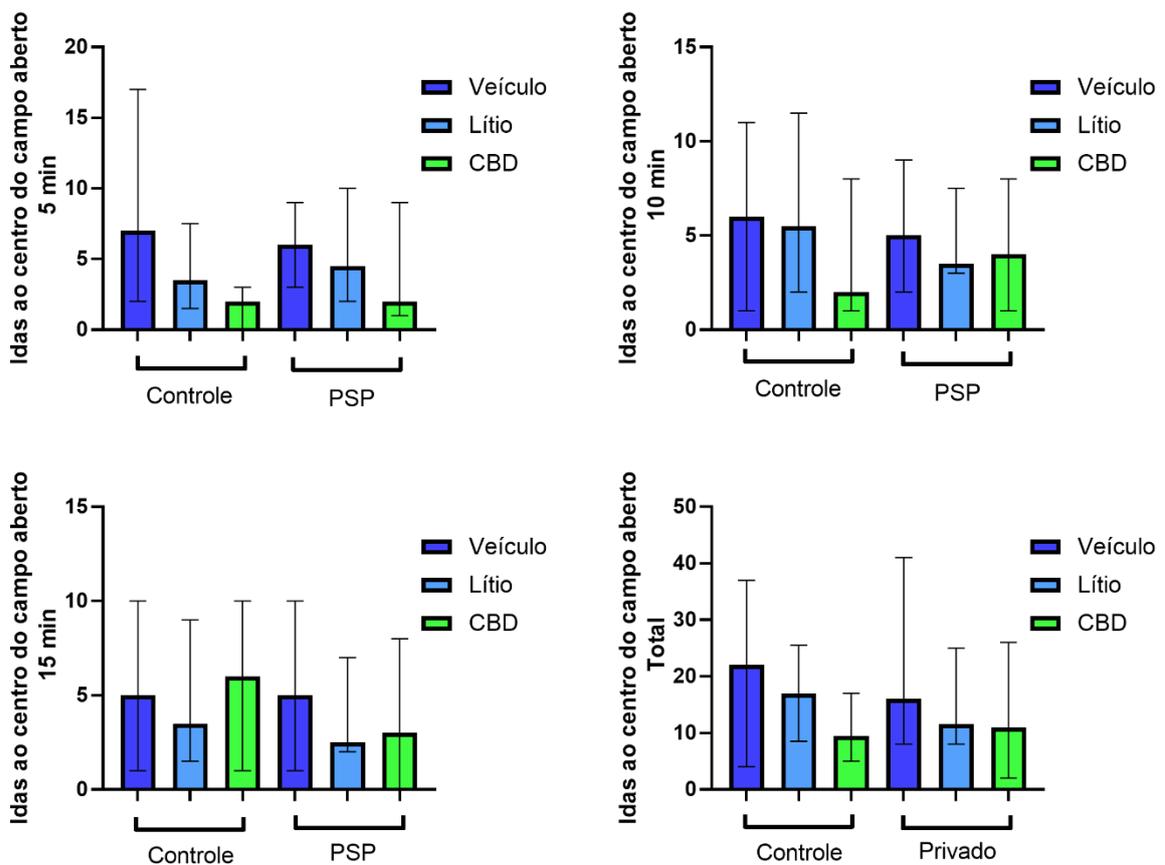


Figura 4: Parâmetro de comportamento de risco dos animais, representado pela quantidade de idas ao centro do campo aberto se expondo ao risco nos tempos 5min, 10min, 15min e tempo total no teste do campo aberto, avaliado no monitor de atividades. Os dados estão apresentados como média e desvio padrão. A diferença entre os grupos foi avaliada através do ANOVA de duas vias seguido pelo teste de Post Hoc de Tukey.

Os gráficos da figura 5 representam o tempo de movimentos ambulatório dos animais, avaliados no monitor de atividades nos tempos de 5min, 10min, 15 min e tempo total. Não houve alteração do tempo de movimentos ambulatórios dos animais em nenhum dos grupos experimentais e em nenhum dos tempos avaliados, quando comparado com o grupo controle.

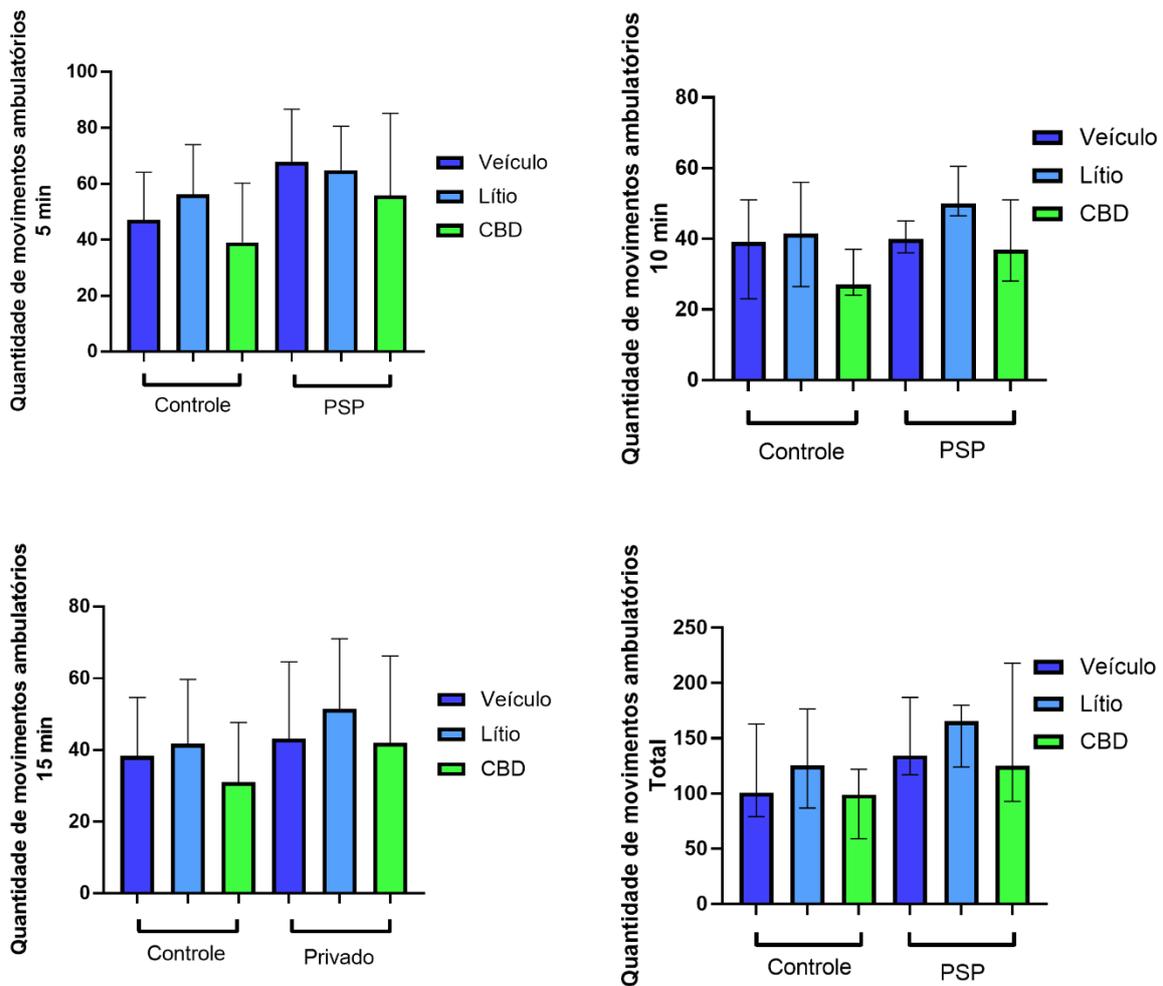


Figura 5: Movimentos ambulatórios dos animais nos tempos 5min, 10min, 15min e tempo total no teste do campo aberto, avaliado no monitor de atividades. Os dados estão apresentados como mediana e intervalo interquartil. A diferença entre os grupos foi avaliada através do Teste de Kruskal-Wallis.

Os gráficos da figura 6 representam comportamentos estereotípicos dos animais, avaliado através do tempo de limpeza das vibrissas e o tempo de autolimpeza dos animais nos tempos de 5min, 10min, 15 min e tempo total. Não houve alteração no tempo de comportamentos estereotípicos dos animais em nenhum dos grupos experimentais e em nenhum dos tempos avaliados, quando comparado com o grupo controle.

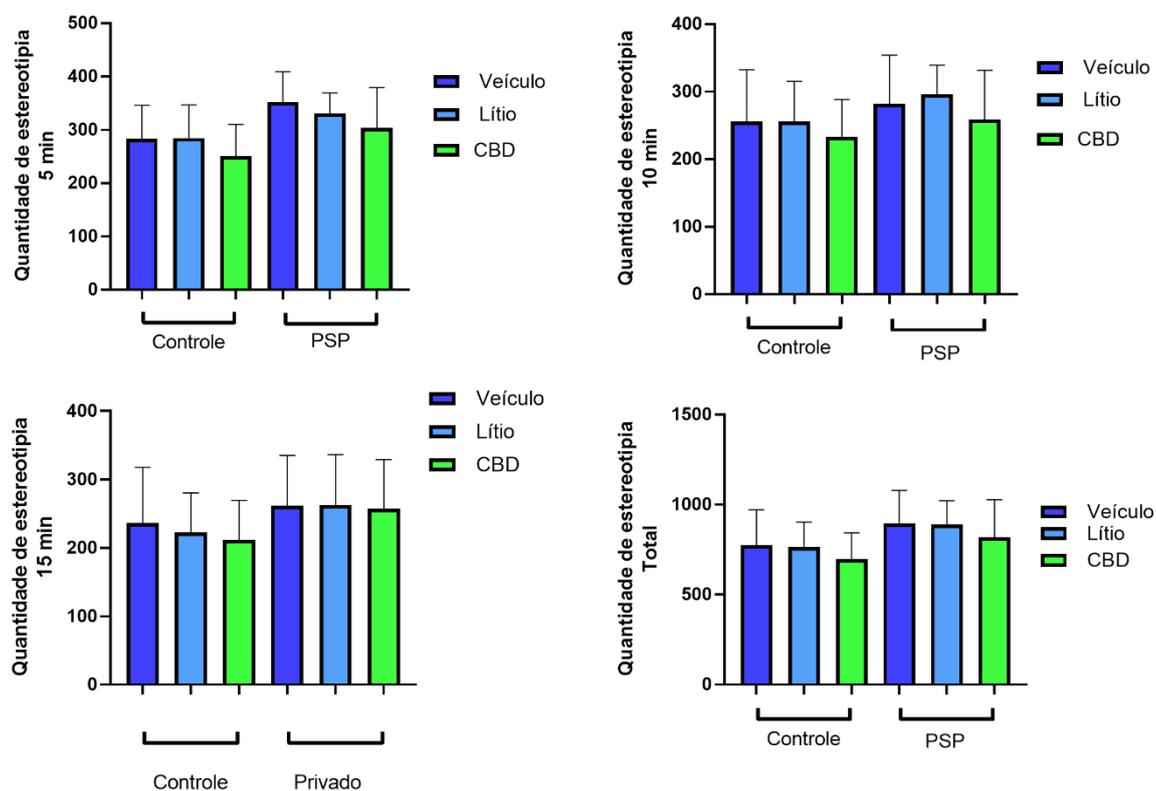


Figura 5: Comportamento estereotípico dos animais nos tempos 5min, 10min, 15min e tempo total no teste do campo aberto, avaliado no monitor de atividades. Os dados estão apresentados como média e desvio padrão. A diferença entre os grupos foi avaliada através do ANOVA de duas vias seguido pelo teste de Post Hoc de Tukey.

DISCUSSÃO

No presente estudo, a PSP induziu hiperatividade nos cinco primeiros minutos após a privação do sono nos animais, um dos comportamentos considerado do tipo maníaco em roedores. Neste estudo a hiperatividade foi avaliada levando em conta a distância que o animal percorreu em centímetros durante cinco minutos¹⁶. As perturbações do relógio circadiano resultam em alterações de humor e indução de mania em pacientes com TB. Essa disfunção do ciclo circadiano é considerada uma das hipóteses para a fisiopatologia do TB. Além disso, é o principal mecanismo pelo qual o protocolo de PSP induz um comportamento do tipo maníaco em roedores¹⁷. A PSP tem sido considerada um estressor ambiental que leva à ativação do eixo hipotalâmico-hipófise-adrenal (HHA)^{18,19,20}. A literatura mostra que a desregulação do eixo HHA pode levar a alterações do sono, gerando episódios de mania e diminuição

nos níveis de fatores neurotróficos. É importante ressaltar que a diminuição de neurotrofinas está diretamente ligada a fisiopatologia do TB¹⁸. Os efeitos terapêuticos dos estabilizadores de humor incluem a modulação dos níveis destas neurotrofinas^{20,21,22}. Portanto, alterações do sono, com alterações do eixo HHA e diminuição dos níveis de neurotrofinas são possíveis explicações para o comportamento do tipo maníaco induzidos pela PSP no presente estudo.

A administração de CBD protegeu os animais contra os comportamentos do tipo maníaco decorrente da PSP. Por outro lado, um estudo prévio demonstrou que o CBD não preveniu e nem reverteu comportamento do tipo maníaco em um modelo animal de mania induzido por anfetamina. Ainda neste estudo, os autores demonstraram que, o CBD preveniu contra o dano oxidativo induzido pela anfetamina e aumentou os níveis de neurotrofinas, ambos observados na fisiopatologia do TB⁵. Já é bem descrito na literatura que a PSP induz dano oxidativo e diminui níveis de neurotrofinas em camundongos^{11,23}. Portanto, pode ser sugerido que, o CBD pode estar protegendo contra dano oxidativo e aumentando o nível de neurotrofina no cérebro dos camundongos, protegendo também as alterações comportamentais induzidas pela PSP.

Estudos anteriores também mostraram que estabilizadores de humor reverteram comportamentos do tipo maníacos induzidas pela PSP^{20,24,25}. Portanto, uma possível nova substância estabilizadora do humor deve ser tanto ou mais eficaz do que as substâncias já utilizadas na clínica médica. É importante ressaltar que aqui o Li não apresentou efeitos antimaniacos, os quais já são bem descritos na literatura. Outro ponto importante é que este estudo não reproduziu estudos prévios, em que a PSP induziu comportamento de risco, aumento de comportamento estereotípico e de comportamento ambulatório, os quais são comportamentos do tipo maníaco^{24,11,23}. Pode ser sugerido algumas possíveis explicações para essas discrepâncias: 1) no presente estudo foram utilizados machos e fêmeas, o que pode gerar viés comportamental pelas alterações de humor naturalmente observada em fêmeas em função do ciclo hormonal²⁷; 2) aqui foi utilizado monitor de atividade eletrônico ao invés do manual usado nos estudos prévios^{24,11,23}. Entretanto, o presente estudo é um estudo piloto e ainda será finalizado, com aumento de n experimental tanto para machos quanto para fêmeas para que se possa calcular separadamente os resultados para cada sexo.

Dos mecanismos precisos subjacentes à terapêutica, os efeitos do CBD ainda não estão totalmente esclarecidos²⁶. Neste estudo piloto foi avaliado apenas os efeitos do CBD sobre o comportamento; entretanto, mais estudos são necessários para confirmar seus efeitos sobre o comportamento e sobre os mecanismos biológicos subjacentes a sua terapêutica no TB. O que já está bem descrito na literatura é que o CBD tem baixa afinidade para os receptores canabinóides, CB1 e CB2²⁶, com efeitos antiepilépticos, ansiolíticos, anti-inflamatórios e até antipsicóticos^{27,28}.

Em suma, o CBD parece ser uma possível substância para o tratamento da mania aguda no TB, já que reverteu hiperatividade em um modelo animal de mania induzida por PSP. Entretanto, mais estudos são necessários para verificar outros parâmetros comportamentais e mecanismos bioquímicos envolvidos nos efeitos terapêuticos do CBD no TB.

REFERÊNCIAS

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM5). 5 ed. Washington: American Psychiatric Press, 2013. 992p.
2. Coryell, W. Maintenance treatment in bipolar disorder: a reassessment of lithium as the first choice. *Bipolar Disord Journal*. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1399-5618.2009.00712.x>
3. Curran G, Ravindran A. Lithium for bipolar disorder: a review of the recente literature. *Expert Rev. Neurother*. DOI <https://doi.org/10.1586/14737175.2014.947965>
4. McCormick U, Murray B, Mcnew B. Diagnosis and treatment of patients with bipolar disorder: A review for advanced practice nurses. *Journal Of The American Association Of Nurse Practitioner*. DOI <https://doi.org/10.1002/2327-6924.12275>
5. Valvassori SS et al. Effects of cannabidiol on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *Journal of Psychopharmacology*. DOI <https://doi.org/10.1177 / 0269881109106925>
6. Cassano T et al. From Cannabis Sativa to Cannabidiol: Promising Therapeutic Candidate for the Treatment of Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Pharmacology*. DOI <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00124>
7. Xu C et al. Pharmacokinetics of oral and intravenous cannabidiol and its antidepressant-like effects in chronic mild stress mouse model. *Environ Toxicol Pharmacol*. DOI <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.103202>

8. Harvey AG et al. Sleep-Related Functioning in Euthymic Patients With Bipolar Disorder, Patients With Insomnia, and Subjects Without Sleep Problems. *American Journal Psychiatry*. DOI <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.162.1.50>
9. Benedetti F et al. Behavioural sensitization to repeated sleep deprivation in a mice model of mania. *Behavioural Brain Research*. DOI <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.09.012>
10. Dal-Pont GC et al. Tamoxifen has na anti-manic effect but not protect the brain against oixative stress in na animal model of mania induced by oubain. *Journal of Psychiatric Research*. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.03.020>
11. VALVASSORI SS et al. Lithium ameliorates sleep deprivation-induced mania-like behavior, hypothalamic-pituitaryadrenal (HPA) axis alterations, oxidative stress and elevations of cytokine concentrations in the brain and serum of mice. *Bipolar Disorders*. DOI <https://doi.org/10.1111/bdi.12503>
12. Radhakrishnan A et al. Sleep deprivation during late pregnancy produces hyperactivity and increased risk-taking behavior in offspring. *Brain Research*. DOI <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.11.021>
13. Arent CO et al. The effects of n-acetylcysteine and/or deferoxamine on manic-like behavior and brain oxidative damage in mice submitted to the paradoxal sleep deprivation model of mania. *Journal of Psychiatric Research*. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2015.04.011>
14. STRECK EL et al. Effects of Mood Stabilizers on Brain Energy Metabolism in Mice Submitted to an Animal Model of Mania Induced by Paradoxical Sleep Deprivation. *Neurochemical Research*. DOI <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1575-4>
15. Gessa GL, Pani L, Fadda P, Fratta W. Sleep deprivation in the rat: an animal model of mania, *European Neuropsychopharmacology*. DOI [https://doi.org/10.1016/0924-977X\(95\)00023-I](https://doi.org/10.1016/0924-977X(95)00023-I)
16. Logan RW, McClung CA. Animal models of bipolar mania: The past, present and future. *Neuroscience*. DOI <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.08.041>
17. Beyer DKE, Freund N. Animal models for bipolar disorder: From bedside to the cage. *Int J Bipolar Disord*. DOI <https://doi.org/10.1186/s40345-017-0104-6>
18. Schmitt K, Holsboer-Trachsler E, Eckert A. BDNF in sleep, insomnia, and sleep deprivation. Informa UK Limited. DOI <http://dx.doi.org/10.3109/07853890.2015.1131327>
19. Han KS, Kim L, Shim I. Stress and Sleep Disorder. *Experimental Neurobiology*. DOI <http://dx.doi.org/10.5607/en.2012.21.4.141>.

20. Valvassori SS et al. Lithium and valproate act on the GSK-3 β signaling pathway to reverse manic-like behavior in an animal model of mania induced by ouabain. *Neuropharmacology*. DOI <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.10.015>
21. Frey BN et al. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *J Psychiatry Neurosci*. DOI <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16951735/>
22. Jornada LK et al. Effects of mood stabilizers on hippocampus and amygdala BDNF levels in an animal model of mania induced by ouabain. *Journal of Psychiatric Research*. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2009.11.002>.
23. Dal-Pont GC et al. Tamoxifen has no anti-manic effect but not protect the brain against oxidative stress in an animal model of mania induced by ouabain. *Journal of Psychiatric Research*. DOI <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.03.020>
24. Valvassori SS et al. Sodium butyrate has an antimanic effect and protects the brain against oxidative stress in an animal model of mania induced by ouabain. *Psychiatry Res*. DOI <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2015.11.017>
25. Valvassori SS et al. The different effects of lithium and tamoxifen on memory formation and the levels of neurotrophic factors in the brain of male and female rats. *Brain Research Bulletin*. DOI <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.08.006>
26. Pertwee RG. Pharmacological and therapeutic targets for D9 tetrahydrocannabinol and cannabidiol. *Euphytica*. DOI <https://doi.org/10.1007/s10681-004-4756-9>
27. Cunha JM et al. Chronic administration of cannabidiol to healthy volunteers and epileptic patients. *Pharmacology*. DOI <https://doi.org/10.1159/000137430>
28. Zuardi AW et al. Cannabidiol, a Cannabis sativa constituent, as an antipsychotic drug. *Braz J Med Biol Res*. DOI <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2006000400001>



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto abaixo especificado, que envolve a produção, manutenção ou utilização de 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 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 da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, em reunião de 08/09/2020.

Título do projeto	AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO CANNABIDIOL SOBRE AS ALTERAÇÕES COMPORTAMENTAIS E NEUROQUÍMICAS INDUZIDAS PELA PRIVAÇÃO DO SONO PARADOXAL
Project title	EVALUATION OF CANNABIDIOL EFFECTS ON THE BEHAVIORAL AND NEUROCHEMICAL ALTERATIONS INDUCED BY PARADOXICAL SLEEP DEPRIVATION
Número do protocolo Protocol number	59/2020
Pesquisador principal Principal Investigator	Samira da Silva Valvassori
Pesquisadores Researchers	Alice Ferreira Inácio, Amanda Hilsendeger Pereira de Oliveira, Beatriz Galatto Nesi, Bruna de Souza Vargas, Fernanda Frederico Gava, Guilherme Cesar do Nascimento Piñeyrua, Gustavo Colombo Dal Pont, Helena Cristina Zuehl Dal Toé, Jethé Peper do Nascimento, Jorge Machado de Aguiar Geraldo, José Henrique Cararo da Silva, Leticia Hobold Kammer, Luiz Felipe Andrade Quadros, Pedro Henrique Figueiredo Espíndola, Samira Menegaz Pereira, Taise de Souza Possamai Della.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	19/10/2020 a 19/10/2021
Espécie/linhagem/raça	Camundongo heterogênico / C37BL/6
Idade/Peso	60 dias / 25g
Número de animais	Masculino = 48 + Feminino = 48 = 96
Procedência	Biotério UNESC

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 03/2017/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the Project that was Approved in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us by e-mail ceua@unesc.net.

Criciúma-SC, 08 de setembro de 2020.

Fernando Carvalho

Coordenador da CEUA