

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

LUANA DOS SANTOS NEVES

Papel do sistema endocanabinoide na regulação das respostas induzidas por psicoestimulantes em camundongos machos e fêmeas

Ribeirão Preto

2022

LUANA DOS SANTOS NEVES

Papel do sistema endocanabinoide na regulação das respostas induzidas por psicoestimulantes em camundongos machos e fêmeas

Versão original

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do grau de bacharel em Farmácia- Bioquímica.

Área de concentração: Farmacologia/ Neuropsicofarmacologia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Sabrina F. de Souza Lisbôa.

Ribeirão Preto

2022

Dedico aos meus pais e ao meu irmão, que sempre acreditaram em mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo fôlego de vida, por seu amor e sua imensa misericórdia.

À professora Sabrina Lisbôa pela orientação, paciência, respeito e amizade.

À professora Sâmia Joca pelos conselhos e apoio, e por ter me acolhido em sua equipe de laboratório.

Ao Dr. Pedro Gobira, co-orientador e pai acadêmico, pela ética, paciência, amizade, perseverança, ensinamentos e boas risadas.

Aos meus colegas e servidores do Laboratório de Neuropsicofarmacologia pelo companheirismo e todos os cafés juntos. Vocês são incríveis!

À minha psicóloga Laura, por ter me dado a mão nesse processo.

Aos meus amigos queridos, Séfora e Felipe, pelo carinho, acolhimento e amizade na tristeza e na alegria.

As minhas amigas Milene e Fernanda, por alegrarem os meus dias durante o percurso acadêmico.

Aos meus pais, Neide e Flávio, e ao meu irmão Gabriel, pelo amor incondicional e apoio emocional. Serei eternamente grata!

Aos meus avós e demais familiares, por sempre torcerem por mim.

Aos participantes da banca avaliadora, pelo tempo, atenção e consideração.

Aos funcionários do apoio acadêmico da FCFRP, pela dedicação e atenção.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro concedido (Processo 2017/19731-6).

RESUMO

NEVES, L dos S. **Papel do sistema endocanabinoide na regulação das respostas induzidas por psicoestimulantes em camundongos machos e fêmeas.** Trabalho aprovado pela Comissão de Graduação da FCFRP/USP, Ribeirão Preto, 2022.

O sistema endocanabinoide (SEC) desempenha um papel importante em diversos processos biológicos, e alterações na sua função tem sido relacionada à diversos transtornos psiquiátricos. Esse sistema é composto principalmente por receptores, seus ligantes endógenos e pelas enzimas envolvidas na síntese e degradação dos endocanabinoides. Evidências demonstram que a modulação do SEC regula as respostas comportamentais e moleculares induzidas pela cocaína, através dos papéis opostos de seus principais receptores CB1 e CB2. O metilfenidato é um psicoestimulante largamente utilizado no tratamento de Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDHA). O mecanismo de ação desse composto é similar ao de outros psicoestimulantes, e baseia-se na inibição da recaptação dos neurotransmissores dopamina e noradrenalina do meio extracelular. No entanto, pouco se sabe acerca da participação do SEC sobre as respostas induzidas pelo metilfenidato e das respostas decorrentes dessa modulação em ambos os sexos, de forma aguda. Nesse sentido, o presente trabalho foi delineado para testar a hipótese de que o SEC regula as respostas comportamentais induzidas pelos psicoestimulantes metilfenidato e cocaína, em machos e fêmeas. Foi observado que o bloqueio dos receptores CB1 e a ativação dos receptores CB2 foram capazes de reverter a hiperlocomoção induzida pela cocaína em machos, mas não a induzida pelo metilfenidato, ou a hiperlocomoção induzida pelos dois psicoestimulantes em fêmeas. Assim, os achados indicam que a modulação do SEC é capaz de atuar sobre a resposta hiperlocomotora induzida pela cocaína somente em camundongos machos. Ainda, a modulação desse sistema parece não estar envolvida nas respostas locomotoras induzidas por administração aguda de metilfenidato em machos e fêmeas. Dessa forma, os resultados propiciam um melhor entendimento acerca do papel do sistema endocanabinoide nas respostas induzidas por psicoestimulantes.

Palavras- chave: endocanabinoides, CB1, CB2, cocaína, metilfenidato, machos, fêmeas

ABSTRACT

NEVES, L dos S. **Role of the endocannabinoid system in the regulation of psychostimulant-induced responses in male and female mice.** Monograph (Undergraduate Thesis). School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, 2022.

The endocannabinoid system (ESA) plays an essential role in several biological processes, and changes in its function have been linked to several psychiatric disorders. This system is mainly composed of receptors, their endogenous ligands, and the enzymes involved in the synthesis and degradation of endocannabinoids. Evidence demonstrates that SEC modulation regulates cocaine-induced behavioral and molecular responses through the opposing roles of its main receptors, CB1 and CB2. Methylphenidate is a psychostimulant widely used to treat Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD). The mechanism of action of this compound is similar to that of other psychostimulants. It is based on inhibiting the reuptake of the neurotransmitters dopamine and noradrenaline from the extracellular environment. However, little is known about the role of ESA on the effects induced by methylphenidate and the resulting responses from this modulation in different sexes in an acute way. In this sense, the present work was designed to test the hypothesis that the SEC regulates the behavioral responses induced by the psychostimulants methylphenidate and cocaine in males and females. It was observed that blocking CB1 receptors and activating CB2 receptors were able to reverse cocaine-induced hyperlocomotion in males but not methylphenidate-induced hyperlocomotion or hyperlocomotion induced by the two psychostimulants in females. Thus, the findings indicate that SEC modulation can only act on the cocaine-induced hyperlocomotion response in male mice. Furthermore, the modulation of this system seems not to be involved in locomotor responses induced by acute administration of methylphenidate in males and females. Thus, the results provide a better understanding of the endocannabinoid system's role in responses induced by psychostimulants.

Keywords: endocannabinoids, CB1, CB2, cocaine, methylphenidate, males, females

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1-FUNIONAMENTO DO SISTEMA ENDOCANABINOIDE	3
FIGURA 2-PROTOCOLO EXPERIMENTAL	11
FIGURA 3-EFEITO DO ANTAGONISTA CANABINOIDE, AM 251, SOB A LOCOMOÇÃO INDUZIDA PELA COCAÍNA EM MACHOS (A) E FÊMEAS (B).	13
FIGURA 4 -EFEITO DO AGONISTA CANABINOIDE, JWH-133, SOB A LOCOMOÇÃO INDUZIDA PELA COCAÍNA EM MACHOS (A) E FÊMEAS (B).....	15
FIGURA 5-EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE DOSES CRESCENTES DO MPH EM CAMUNDONGOS MACHOS.....	16
FIGURA 6 -EFEITO DO ANTAGONISTA CANABINOIDE,AM 251, SOB A LOCOMOÇÃO INDUZIDA PELO MPH EM MACHOS (A) E FÊMEAS (B).....	17
FIGURA 7- EFEITO DO AGONISTA CANABINOIDE, JWH-133, SOB A LOCOMOÇÃO INDUZIDA PELO MPH EM MACHOS (A) E FÊMEAS (B).	19

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Δ 9-THC	Delta- 9- tetrahydrocanabinol
2-AG	2-aracdonoilglicerol
AEA	Anandamida
cAMP	Adenosina-3,5- monofosfato cíclico
CB1	Receptor canabinoide tipo 1
CB2	Receptor canabinoide tipo 2
CES1	Enzima carboxilesterase 1
DAT	Transportador de dopamina
eCB	Endocanabinoide
ERK	Proteína quinase regulada por estímulo extracelular
FAAH	Hidrolase de amida de ácidos graxos
MGL	Monoacilglicerol Lipase
MPH	Metilfenidato
SEC	Sistema endocanabinoide
SNC	Sistema Nervoso Central
TCA	Teste do Campo Aberto
TDAH	Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade
VMAT-2	Transportador vesicular de monoaminas 2
VTA	Área tegumentar ventral

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Cannabis e o sistema endocanabinoide	1
1.2 A cocaína e sua modulação do sistema endocanabinoide	4
1.3 O metilfenidato e seu mecanismo de ação	6
2 JUSTIFICATIVA	7
3 OBJETIVO	8
3.1 Objetivos específicos	9
4.1 Animais	9
4.2 Drogas	9
4.3 Teste do Campo Aberto	10
4.3.1 Aparato.....	10
4.3.2 Teste comportamental.....	10
4.4 Análise estatística	11
5 RESULTADOS	12
5.1 Efeito do antagonista CB1, AM251, sob a hiperlocomção induzida pela cocaína	12
5.2 Efeito do agonista CB2, JWH-133, sob a hiperlocomção induzida pela cocaína	14
5.3 Efeito da administração de doses crescentes do MPH em camundongos machos	15
5.4 Efeito do antagonista CB1, AM251, sob a hiperlocomção induzida pelo MPH	16
5.5 Efeito do agonista CB2, JWH-133, sob a hiperlocomção induzida pelo MPH	18
6 DISCUSSÃO	19
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
8 REFERÊNCIAS	25
9 ANEXO	35

1 INTRODUÇÃO

1.1 Cannabis e o sistema endocanabinoide

A *Cannabis sativa* é uma planta cultivada desde a Idade Antiga, principalmente no continente asiático, onde chineses e indianos já faziam uso de preparações a base da planta em rituais religiosos e em práticas medicinais (CROCQ, 2020). Com função medicinal, a planta era utilizada como analgésico, anticonvulsivante, hipnótico, tranquilizador, anestésico, anti-inflamatório, antibiótico, antiparasitário, antiespasmódico, pro-digestivo, estimulante de apetite, diurético, afrodisíaco, antitussígeno e expectorante (ZUARDI, 2006). A planta foi introduzida na África em meados do século XV e na América no século XVI, sendo consumida no Brasil principalmente pela população negra nas áreas rurais, sendo conhecida popularmente por diamba, liamba ou maconha (ZUARDI, 2006).

Na Europa, a introdução da Cannabis na medicina se deu através dos médicos William B. O'Shaughnessey e Jaccés Joseph Moreau, no século XIX (CROCQ, 2020). O primeiro realizou ampla revisão de literatura sobre as formas de preparo da planta; já o segundo realizou experimentos consigo próprio e com outros, administrando diferentes formas de preparações da planta e relatando seus efeitos, de forma que os estudos de ambos foram fundamentais para o tratamento de doenças infecciosas da época, como a cólera e a raiva (ZUARDI, 2006). No início do século XX, a aplicação da Cannabis como erva medicinal diminuiu consideravelmente, visto que novas drogas foram descobertas, vacinas foram desenvolvidas e restrições legais passaram a limitar o seu uso (CROCQ, 2020). No mesmo século, a planta passou a ser consumida por populações mais jovens no ocidente, para fins recreativos (CROCQ, 2020).

Apesar de seu uso terapêutico milenar e do uso recreativo durante o século XX, as substâncias ativas da planta só passaram a ser extraídas e caracterizadas a partir da década de 1960, sendo Δ^9 – tetra-hidrocanabinol, (Δ^9 -THC), o primeiro fitocanabinoide a ser isolado e caracterizado molecularmente por Raphael Mechoulam e colaboradores (PAMPLONA; TAKAHASHI, 2012).

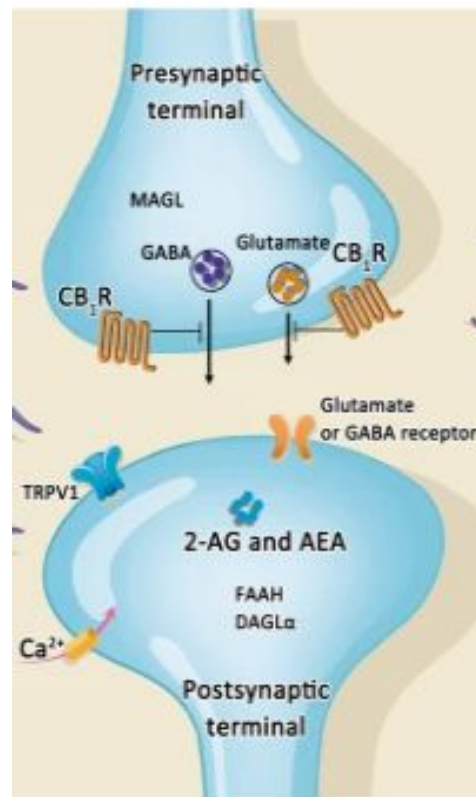
Diante disso, deu-se início ao estudo de como esses compostos atuariam no organismo, através do sistema endocanabinoide (SEC) (DI MARZO, 2006). O SEC consiste majoritariamente receptores inibitórios acoplados à proteína G, sendo os mais bem elucidados na literatura os receptores canabinoides tipo 1 (CB1) e tipo 2 (CB2) (PIOMELLI, 2003). Os

receptores do tipo CB1 são extremamente expressos em áreas relacionadas ao controle do movimento, como gânglio basal e cerebelo, e áreas cortico límbicas relacionadas a regulação emocional e ao processo cognitivo, incluindo córtex cingular, córtex frontal, amígdala e hipocampo (PAMPLONA; TAKAHASHI, 2012). Já os receptores do tipo CB2 são expressos maiormente na periferia cerebral, podendo ser encontrados também em células neuronais e células da glia em diferentes regiões em seres humanos e roedores, importantes na modulação das emoções (ONAIVI *et al.*, 2012).

Além dos receptores, o SEC ainda é composto por seus principais ligantes endógenos, Anandamida (AEA) e 2- aracdonoilglicerol (2-AG), bem como por suas enzimas de síntese e degradação (FONSECA *et al.*, 2013). A síntese desses dois endocanabinoides se dá maiormente através das enzimas N- aracdonoil- fosfatidietanolamina para anandamida e pela ação da fosfolipase C e diacilglicerol lipase para o 2-AG (DI MARZO, 2009; OHNO-SHOSAKU *et al.*, 2012). No processo de degradação, a AEA é degradada pela enzima hidrolase de amida de ácidos graxos (FAAH) e o 2-AG é degradado pela ação da enzima monoacilglicerol lipase (MGL) (DI MARZO, 2009).

Diferentemente de outros neurotransmissores, os endocanabinoides não são armazenados em vesículas, mas sintetizados sob demanda, atuando como mensageiros retrógrados (OHNO-SHOSAKU *et al.*, 2012). São liberados mediante despolarização dos neurônios pós- sinápticos, ativando os receptores canabinoides em neurônios pré- sinápticos, através da inibição do influxo da Ca^{2+} e ativação dos canais pré- sinápticos de K^{+} (ARAQUE *et al.*, 2017).

Figura 1-Funcionamento do sistema endocanabinoide



Adaptado de (YIN; WANG; ZHANG, 2018).

É conhecido que o SEC tem como principal função a homeostasia, regulando diversos processos fisiológicos e patológicos, como humor e resposta ao estresse, modulação da dor, cognição, adicção, esquizofrenia, depressão e epilepsia (MOREIRA; LUTZ, 2008). Se tratando do papel desse sistema na adicção, estudos apontam que o mesmo se encontra envolvido nas respostas a psicoestimulantes tais como cocaína e anfetamina (ADAMCZYK *et al.*, 2012; SU; ZHAO, 2017). A regulação da resposta a psicoestimulantes pelo SEC se dá principalmente por meio da neurotransmissão dopaminérgica (MOREIRA *et al.*, 2015).

A dopamina é o principal neurotransmissor envolvido nos processos psicológicos e comportamentais, tais como motivação, humor, locomoção e recompensa (WISE, 2008). Nas respostas a psicoestimulantes, a dopamina atua majoritariamente por meio das projeções mesolímbicas do sistema recompensa (KOOB; VOLKOW, 2010). Através das projeções originárias da área tegumentar ventral (VTA), os psicoestimulantes induzem o aumento da liberação da dopamina em áreas como o hipocampo, núcleo accumbens e córtex-pré frontal

(CAMÍ; FARRÉ, 2003). Na presença de reforçadores naturais como comida e sexo, a dopamina é liberada nesse sistema de forma gradual, a cada exposição a esses reforçadores (WILLUHN *et al.*, 2010). Diferentemente dos reforçadores naturais, psicoestimulantes induzem ao aumento da liberação de dopamina de forma não-habituada, de modo que a cada administração da droga, há a liberação exacerbada do neurotransmissor (ADINOFF, 2004).

1.2 A cocaína e sua modulação do sistema endocanabinoide

A cocaína é um estimulante do sistema nervoso central (SNC), considerada a droga de abuso utilizada em maior quantidade, depois da *Cannabis* (UNDOC, 2022). De acordo com o World Drug Report, 2022, relatório anual disponibilizado pelo Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crime (UNDOC), estima-se que 21 milhões de pessoas são usuários de cocaína. O início do consumo da planta de onde é derivada a droga, *Erythroxylum coca*, data da idade antiga, por povos indígenas que habitavam a América Central e América do Sul (STOLBERG, 2011). Esses povos consumiam o chá ou as folhas de coca seca mastigadas, liberando a cocaína por ação da saliva, sendo esta prática utilizada até os dias atuais para aliviar o mal-estar relacionado a altitudes elevadas (DRAKE; SCOTT, 2018).

Pertencente a classe dos alcaloides, a cocaína foi isolada somente no ano de 1800, sendo que também no século XIX foram demonstradas suas propriedades anestésicas (KARCH, 1999; KOHNEN-JOHANNSEN; KAYSER, 2019; TOBE; SUTO; SAITO, 2018). Neste mesmo século, a droga obteve popularidade no continente europeu, devido a sua comercialização na forma de vinhos e tônicos, e através da influência de acadêmicos da época, como Sigmund Freud, que publicou um estudo enaltecendo as propriedades da droga (KARCH, 1999). Na América, a cocaína esteve presente na formulação da bebida Coca-Cola até o ano de 1904, quando a bebida passou a ser produzida das sobras de folhas utilizadas na extração da coca, de modo que restassem apenas traços de cocaína na matéria prima (FERREIRA; MARTINI, 2001; GOLDSTEIN; DESLAURIERS; BURDA, 2009).

O consumo da droga decaiu consideravelmente no início do século XX, devido ao conhecimento dos riscos associados ao seu uso e o surgimento das anfetaminas, que passaram a ser mais utilizadas pelos usuários de psicoestimulantes, devido ao seu custo inferior (FERREIRA; MARTINI, 2001). O retorno do uso da droga se deu em meados dos anos 1970 e se intensificou com o surgimento do Crack nas Bahamas, na década de 1980 (FERREIRA; MARTINI, 2001).

A cocaína é comercializada principalmente na forma do sal cloridrato de cocaína, pasta base e na forma de produtos derivados de pasta livre (WDR, 2022). Com relação a via de administração, a cocaína pode ser administrada na forma intranasal, intravenosa e inalatória (ROQUE BRAVO *et al.*, 2022). Das vias de administração citadas, a via de preferência dos usuários da droga e a via pulmonar, onde a droga é fumada na forma de Crack, devido ao pouco tempo que a droga leva para exercer seus efeitos e atingir o sistema nervoso central (ROQUE BRAVO *et al.*, 2022). Dentre os principais efeitos ocasionados do uso da droga, pode-se citar os sentimentos de euforia, aumento do estado de alerta, da concentração e da atividade motora (CAMÍ; FARRÉ, 2003).

Com relação ao mecanismo de ação, a cocaína atua através inibição dos transportadores de monoaminas, impedindo que esses neurotransmissores sejam recaptados da fenda sináptica, principalmente a dopamina (NESTLER, 2005). Uma vez presente na fenda sináptica, a dopamina é capaz de se ligar aos seus receptores acoplados a proteína G pós sinápticos e modular diversas vias de sinalização, tais como a via de sinalização da quinase regulada por sinal extracelular (ERK) e a via da adenosina monofosfato cíclica (cAMP) (GUREVICH; GAINETDINOV; GUREVICH, 2016).

O envolvimento do SEC nas respostas induzidas pela cocaína tem sido amplamente estudado (ARNOLD, 2005; TANDA, 2007). Já foi demonstrado na literatura que a modulação dos receptores endocanabinoídes pode regular as ações da cocaína, de forma oposta (GOBIRA *et al.*, 2019). O bloqueio de receptores CB1 por seu antagonista, AM 251, foi capaz de inibir o aumento da atividade locomotora induzida pela cocaína (LOPES *et al.*, 2020). Ainda, a administração do antagonista AM 251 foi capaz de prevenir o condicionamento ao lugar induzido pela cocaína, bem como atenuar a autoadministração da droga em roedores (HIGGINBOTHAM *et al.*, 2021; LOPES *et al.*, 2020).

Ao contrário do que é observado com os receptores CB1, a ativação dos receptores CB2 está envolvida na modulação das respostas induzidas pela cocaína (GOBIRA *et al.*, 2019). Já foi demonstrado que a ativação dos receptores CB2 por seu agonista, JWH-133, foi capaz de diminuir a hiperlocomoção induzida pela cocaína em camundongos, bem como prejudicar a expressão e aquisição do condicionamento ao lugar induzido pela droga (DELIS *et al.*, 2017; LOPES *et al.*, 2020). Ainda, a ativação seletiva de receptores CB2 foi capaz de inibir de modo dose dependente, a autoadministração de cocaína em camundongos (XI *et al.*, 2011).

1.3 O metilfenidato e seu mecanismo de ação

O metilfenidato (MPH) é um medicamento largamente utilizado para o tratamento do Transtorno de Déficit de Atenção e Hiperatividade (TDAH), derivado de anfetaminas (PATRICK *et al.*, 2019). Apesar de ter o nome “Transtorno de Deficit de Atenção e Hiperatividade” reconhecido apenas em 1987, o início do tratamento do estado de hiperatividade observado nesse transtorno neuropsiquiátrico data de 1930, com o uso de benzedrina para tratar crianças consideradas hiperativas (WENTHUR, 2016). Somente em 1944, a substância que hoje é conhecida como metilfenidato foi sintetizada pelo químico Leandro Panizzon (WENTHUR, 2016). O nome comercial “Ritalina” foi dado em homenagem a esposa de Panizzon, Rita, que fazia uso da droga para aumento da pressão arterial, na prática do esporte tênis (WENTHUR, 2016).

O MPH é quimicamente um composto piperidínico, com quatro isômeros existentes, sendo que apenas o par *trans*-metilfenidato e a mistura desses isômeros são farmacologicamente ativos no SNC (ARVIDSSON *et al.*, 2020). Com relação a sua farmacocinética, esta é dependente da via de administração, de modo que a droga é administrada mais comumente pela via oral, sofrendo metabolismo de primeira passagem (JAESCHKE; SUJKOWSKA; SOWA-KUĆMA, 2021). Por via oral, leva em média de 1 a 3 horas para atingir a concentração plasmática máxima e em torno de 20 minutos para iniciar sua ação (JAESCHKE; SUJKOWSKA; SOWA-KUĆMA, 2021).

A distribuição do MPH entre os tecidos é rápida, pois a droga é lipossolúvel e apresenta baixa afinidade pelas proteínas plasmáticas (JAESCHKE; SUJKOWSKA; SOWA-KUĆMA, 2021). Com relação a metabolização da droga, esta ocorre no fígado por ação da enzima da enzima carboxilesterase 1 (CES1), que esterifica o MPH, convertendo a droga em ácido ritalínico, seu metabólito inativo, que será excretado pela urina em até 48h (CHILDRESS; KOMOLOVA; SALLEE, 2019; WOLRAICH; DOFFING, 2004).

No SNC, o MPH atua de forma semelhante a cocaína, através do bloqueio dos transportadores de dopamina e norepinefrina, permitindo que estas monoaminas permaneçam na fenda sináptica (URBAN; LI; GAO, 2013). O metilfenidato, ainda de forma semelhante a anfetamina, também pode atuar redistribuindo o transportador vesicular de monoaminas-2 (VMAT-2), ocasionando depleção do estoque vesicular de dopamina (FARAONE, 2018; SANDOVAL *et al.*, 2002; VOLZ *et al.*, 2007). O VMAT-2 é uma proteína localizada no citosol de neurônios pré- sinápticos, cuja principal função é captar a dopamina intracelular

(NICKELL *et al.*, 2014). As anfetaminas atuam de modo que não só bloqueiam o transportador de dopamina (DAT), como também promovem a liberação de dopamina dos estoques vesiculares, e impedem que a dopamina seja captada pela VMAT-2(MERINEY; FANSELOW, 2019). Dessa forma, com o aumento da dopamina intracelular, o transportador de dopamina passa a funcionar de modo reverso, movendo a dopamina citoplasmática, para a fenda sináptica (MERINEY; FANSELOW, 2019).

Por exercer sua função tendo como alvo a neurotransmissão dopaminérgica, o MPH tem se mostrado muito eficiente no tratamento do TDAH (CORTESE *et al.*, 2017). No entanto, nos últimos anos houve aumento exponencial da prescrição desse composto, e uso da droga para fins não terapêuticos (PATRICK *et al.*, 2019). De acordo com dados epidemiológicos, cerca de 5 a 17% dos jovens fazem uso indevido da droga, devido a sua capacidade de aumentar desempenho e foco em atividades que envolvem cognição e por suas propriedades recreacionais (CLEMOW, 2017).

Usuários recreacionais do MPH usualmente administram esse psicoestimulante com a planta *Cannabis sativa* e seus derivados (BARRETT; DARREDEAU; PIHL, 2006). Um estudo realizado por Kollins e seus colaboradores demonstrou que a co-administração de MPH Δ^9 -THC ocasionou no aumento da frequência cardíaca e da pressão dos indivíduos testados, bem como no efeitos subjetivos causados por ambas as drogas (KOLLINS *et al.*, 2015). Semelhantemente, outro estudo demonstrou que usuários crônicos da *Cannabis* também obtiveram aumento dos efeitos positivos da droga, quando tratados previamente com MPH (LILE; KELLY; HAYS, 2010). Apesar destas evidências um possível papel do SEC na mediação das repostas induzidas pelo MPH ainda foi pouco investigado.

2 JUSTIFICATIVA

O MPH é um psicoestimulante amplamente utilizado na clínica para tratamento do TDAH, cujo uso para fins não terapêuticos tem apresentado aumento (SHARIF *et al.*, 2021). Somando-se ao seu uso recreativo, esse composto apresenta como mecanismo de atuação o aumento da liberação de neurotransmissores, de forma semelhante a cocaína, a qual é um psicoestimulante capaz de induzir ao desenvolvimento do transtorno de abuso de substâncias (SHELLENBERG *et al.*, 2020). Esse transtorno pode ser definido como doença crônica, caracterizada principalmente pela compulsão e consumo da droga, perda de controle para

limitar a ingestão da substância, e aparecimento de um estado emocional negativo, decorrente da retirada ou ausência do uso da droga (KOOB; LE MOAL, 2001).

O SEC tem se mostrado um importante objeto de estudo nos mecanismos de desenvolvimento de transtorno de abuso de substâncias e nas respostas induzidas por psicoestimulantes (MANZANARES *et al.*, 2018). No entanto, com relação ao envolvimento do SEC nas respostas induzidas pelo MPH, a literatura ainda se apresenta pobre, sendo necessários maiores esclarecimentos sobre o mecanismo pelo qual o SEC pode modular as respostas produzidas por essa droga.

De forma semelhante, pouco se sabe sobre a neurobiologia do transtorno de abuso de substâncias em mulheres e fêmeas, visto que grande parte dos estudos comportamentais pré clínicos realizados até o momento visam avaliar os efeitos das drogas de abuso sob os diferentes neurotransmissores em machos. É importante ressaltar que a prevalência do uso de psicoestimulantes, tais como anfetamina e cocaína é maior no sexo masculino (UNDOC, 2022). No entanto, de acordo com dados do Escritório das Nações Unidas sobre Drogas e Crimes (UNDOC), houve aumento do uso de psicoestimulantes para fins não terapêuticos em mulheres (UNDOC, 2022). Assim, é de extrema importância que se compreenda os mecanismos pelos quais essas drogas atuam no sistema nervoso central feminino.

Sabe-se que o SEC sofre variações fisiológicas de acordo com os sexos e que mulheres e homens podem apresentar diferenças na expressão dos receptores CB1 no SNC, com a idade (VAN LAERE *et al.*, 2008). Apesar destas evidências um possível papel do SEC na mediação das respostas induzidas pelo metilfenidato ainda não foi investigado, bem como as diferenças nas respostas obtidas da modulação desse sistema por essa droga entre machos e fêmeas. Isso se soma ao fato de que esse sistema tem sido amplamente estudado como alternativa terapêutica para o tratamento de diversas doenças de cunho neuropsiquiátrico, justificando assim o interesse do presente trabalho em avaliar o envolvimento do SEC nas respostas a psicoestimulantes em machos e fêmeas (FONSECA *et al.*, 2013).

3 OBJETIVO

O presente trabalho teve o objetivo principal de avaliar a participação do sistema endocanabinoide na regulação das respostas comportamentais induzidas pelo MPH e pela cocaína em camundongos machos e fêmeas.

3.1 Objetivos específicos

- Investigar se o tratamento com doses crescentes do antagonista do receptor CB1, AM 251, inibe a hiperlocomoção induzida pela cocaína;
- Testar se o tratamento com doses crescentes do agonista CB2, JWH-133, inibe a hiperlocomoção induzida pela cocaína;
- Avaliar se o tratamento com doses crescentes do AM251 inibe o efeito hiperlocomotor induzido pela MPH;
- Investigar se o tratamento com doses crescentes do JWH-113 inibe a hiperlocomoção induzida pelo MPH;

4 METODOLOGIA

4.1 Animais

Foram utilizados camundongos machos e fêmeas C57BL/6J (7-9 semanas de idade; 25-30g), provenientes do Biotério Central da Universidade de São Paulo, Campus de Ribeirão Preto, Brasil. Os animais foram levados ao biotério associado ao laboratório de Neuropsicofarmacologia duas semanas antes do início do experimento e mantidos nas seguintes condições: 8-10 animais por gaiola de polipropileno (450 x 230 x 200 mm, Alesco) contendo maravalha suficiente para cama, em uma temperatura controlada de (24°C +/- 1), em ciclo claro/escuro de 12 h. Ração (Nuvilab - Quimtia – Paraná, Brasil) e água estavam disponíveis *ad libitum*. A maravalha e a água eram trocadas duas vezes por semana. Todos os experimentos comportamentais foram realizados durante a fase do ciclo claro. Os animais foram habituados à sala de experimentos 30 minutos antes do início do experimento. Os experimentos foram realizados sob os princípios éticos adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e todos os esforços foram feitos para evitar o sofrimento dos animais. Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (processo 19.1.1156.60.8).

4.2 Drogas

As seguintes drogas foram administradas nos experimentos: MPH (5 e 10 mg/Kg (Medanef, Mylan AB, Estocolmo. Sverige, DK) e cocaína (20 mg/Kg, Merck) foram

dissolvidos em soro fisiológico iônico estéril (NaCl 0,9%); aripiprazol (1 mg/Kg Bristol-Meyers) foi dissolvido em 5% de tween 80 e NaCl 0,9% (GOBIRA *et al.*, 2019; KANAZAWA *et al.*, 2017); o antagonista de CB1, AM251 (3 e 10 mg/Kg, Tocris Bioscience, Bristol, Reino Unido) (GOBIRA *et al.*, 2019) e o agonista de CB2, JWH-133 (10 e 20 mg/Kg; Cayman) (LOPES *et al.*, 2020) foram diluídos em 5% de Cremophor, 5% de etanol e NaCl 0,9%. O antipsicótico aripiprazol, agonista parcial de receptores dopaminérgicos, foi selecionado para ser utilizado como controle positivo na reversão da hiperlocomoção causada pelos psicoestimulantes (ALMEIDA-SANTOS *et al.*, 2014).

Todas as drogas foram preparadas na hora e protegidas da luz, e foram administradas por via intraperitoneal em um volume de 10 mL/Kg.

4.3 Teste do Campo Aberto

4.3.1 Aparato

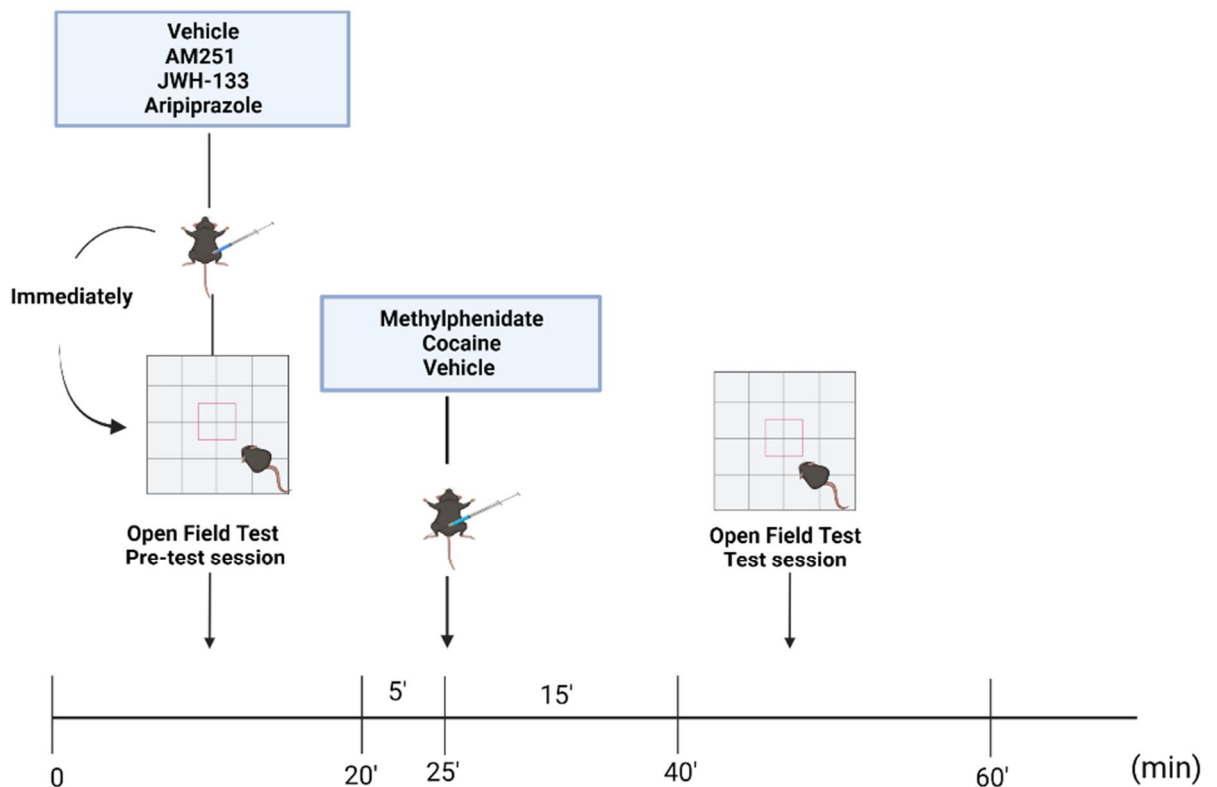
Para investigar a atividade hiperlocomotora causada pelos psicoestimulantes, foi realizado o teste de campo aberto (TCA), conforme descrito anteriormente (KANAZAWA *et al.*, 2017). Os animais foram colocados no aparato de campo aberto redondo (40 cm X 35 cm) com fundo branco para contrastar com a cor do animal. O fundo foi limpo com etanol 70% entre os animais, para evitar a presença de substâncias de alarme.

4.3.2 Teste comportamental

O protocolo comportamental foi desenvolvido com base no trabalho de (KANAZAWA *et al.*, 2017). Conforme representado na figura 2, antes de serem submetidos ao campo aberto, os animais foram tratados com aripiprazol, AM 251, JWH-133 ou o veículo da droga e foram imediatamente expostos ao TCA por 20 minutos, em sessão intitulada pré-teste. Terminada esta sessão, os animais foram devolvidos às suas gaiolas, e 5 minutos após serem devolvidos, os animais receberam uma injeção de MPH, cocaína ou o veículo das drogas. 15 minutos após o segundo tratamento com os psicoestimulantes, os animais foram novamente expostos ao TCA, na sessão intitulada teste, por mais 20 minutos. A distância total percorrida no pré-teste e na sessão teste em metros foi analisada com o software ANYMAZE (AnyMaze, versão 7.0).

Foram realizados ao todo 3 experimentos, sendo o primeiro deles para avaliar o efeito da modulação do SEC sobre o efeito locomotor induzido pela cocaína; o segundo para determinar a dose efetiva de MPH que seria utilizada no trabalho; o terceiro para avaliar o efeito da modulação do SEC na resposta locomotora induzida pelo MPH.

Figura 2- Protocolo experimental



Fonte: autoria própria, 2022. Criado com Biorender.

4.4 Análise estatística

Todos os dados passaram por análise de homogeneidade de variância. Para detecção de possíveis outliers foi utilizado o teste de Grubbs, sendo considerado para exclusão apenas 1 outlier por conjunto de dados. Para as análises comportamentais do teste do campo aberto (TCA) relacionadas a administração do antagonista CB1, AM 251, e do agonista CB2, JWH-133, foi utilizada ANOVA de uma via seguida pelo pós- teste de Tukey. Com o intuito de avaliar os resultados obtidos na determinação da dose do MPH a ser administrada, foi utilizada

ANOVA de uma via seguida pelo pós teste de Dunnett. O nível de significância a ser considerado foi $p < 0,05$ em todos os testes aplicados. Os resultados obtidos foram analisados com o software GraphPad Prism (versão 8.0.1).

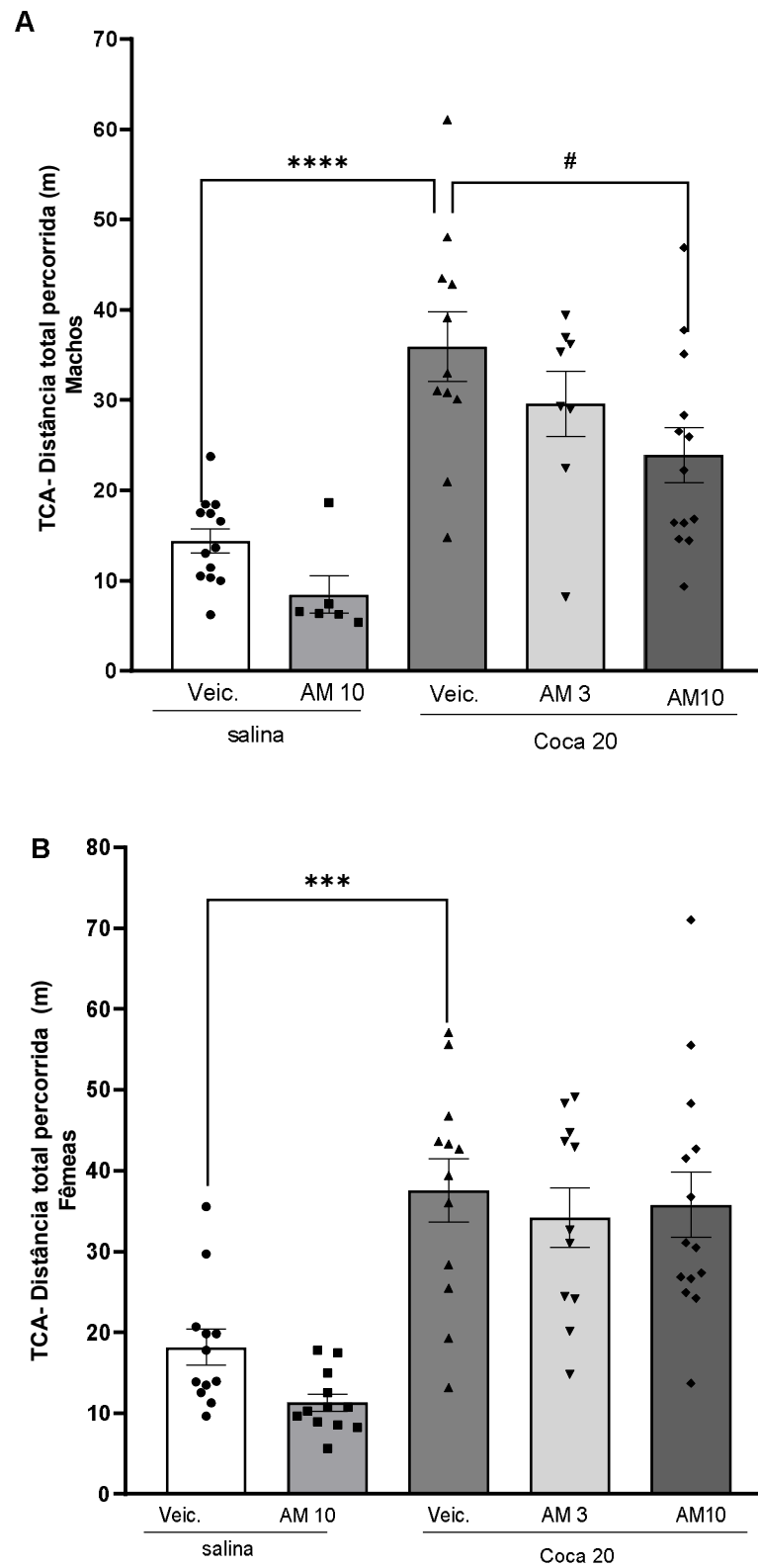
5 RESULTADOS

5.1 Efeito do antagonista CB1, AM251, sob a hiperlocomoção induzida pela cocaína.

Na figura 3A estão representados os resultados referentes a distância total percorrida pelos camundongos machos submetidos ao tratamento com cocaína e antagonista CB1. A ANOVA de uma via indicou que houve diferença entre os grupos ($F_{4,46} = 12,08$; $p < 0,0001$). O pós- teste de Tukey indicou que houve diferença entre os animais tratados com veículo e cocaína ($p < 0,0001$, Fig.3A). O antagonista AM251 na dose de 10 mg/Kg inibiu o efeito hiperlocomotor ocasionado pela cocaína ($p = 0,0284$, Fig.3A). Para a figura 3A, um outlier foi identificado e removido.

Os resultados pertinentes ao efeito do antagonista CB1 sob a alteração da locomoção induzida pela cocaína em fêmeas estão representados na figura 3B. A ANOVA de uma via indicou que houve diferença significativa entre os tratamentos ($F_{4,56} = 13,26$; $p < 0,0001$). Foi observada diferença significativa entre os animais que receberam veículo e os que receberam cocaína ($p = 0,0010$, Fig.3B). No entanto, o antagonista AM251 não influenciou o efeito locomotor da cocaína em nenhuma das doses administradas.

Figura 3- Efeito do antagonista canabinoide, AM 251, sob a locomoção induzida pela cocaína em machos (A) e fêmeas (B).



Dados representam média e EPM. Para a Fig.3A, n: 6- 13 animais/ grupo. Para a Fig.3B, não foram detectados outliers, n:11-14 animais/ grupo. ANOVA de uma via seguida por Tukey. ***p<0,001 (fêmeas); ****p<0,0001

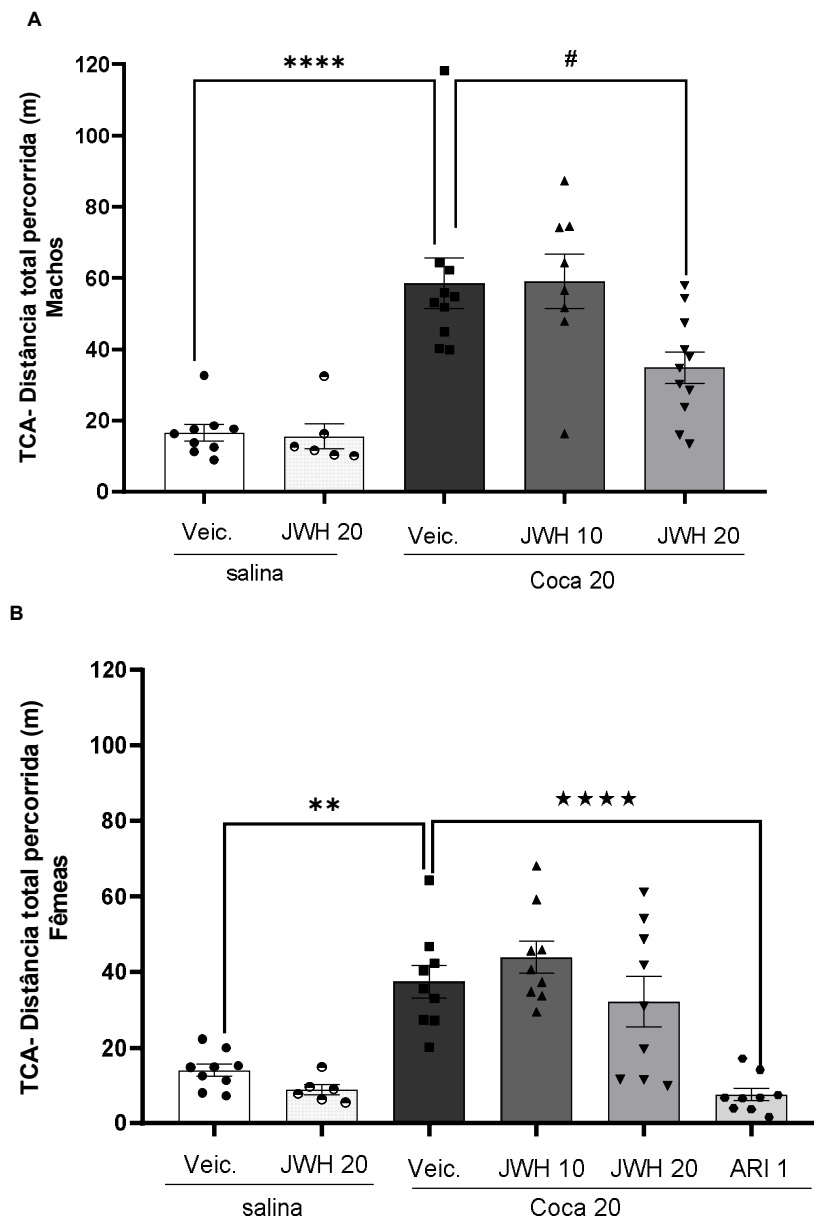
veículo- cocaína 20 mg/Kg (machos);# $p < 0,05$ cocaína x AM 251 10 mg/Kg + cocaína 20 mg/Kg (machos).
Fonte: autoria própria, 2022.

5.2 Efeito do agonista CB2, JWH-133, sob a hiperlocomoção induzida pela cocaína.

Encontram-se na figura 4A os resultados referentes a administração do agonista CB2, JWH-133, sob a alteração locomotora induzida pela cocaína em camundongos machos. A ANOVA de uma via indicou que houve diferença entre os tratamentos ($F_{4,39} = 13,65$; $p < 0,0001$). O pós- teste de Tukey indicou que houve diferença entre o grupo tratado com cocaína quando comparado ao grupo veículo ($p < 0,0001$, Fig.4A). O agonista CB2 foi capaz de inibir o efeito hiperlocomotor induzido pela cocaína na dose de 20 mg/Kg ($p = 0,0186$, Fig.4A). O JWH-133 não foi capaz de induzir a alterações locomotoras *per si*. Na figura 4A, um outlier foi identificado e removido.

Os resultados obtidos para fêmeas com relação ao efeito do agonista CB2 sob a hiperlocomoção induzida pela cocaína encontram-se na figura 4B. A ANOVA de uma via indicou diferença significativa entre os tratamentos ($F_{5,45} = 14,92$; $p < 0,0001$). A cocaína foi capaz de induzir efeito hiperlocomotor ($p = 0,0017$, Fig.4B), no entanto, o JWH-133 não foi capaz de inibir este efeito em nenhuma das doses administradas. A inibição do efeito hiperlocomotor da cocaína, no entanto, foi observado pela administração prévia de aripiprazol 1 mg/Kg previamente a cocaína ($p < 0,0001$, Fig.4B).

Figura 4 - Efeito do agonista canabinoide, JWH-133, sob a locomoção induzida pela cocaína em machos (A) e fêmeas (B).



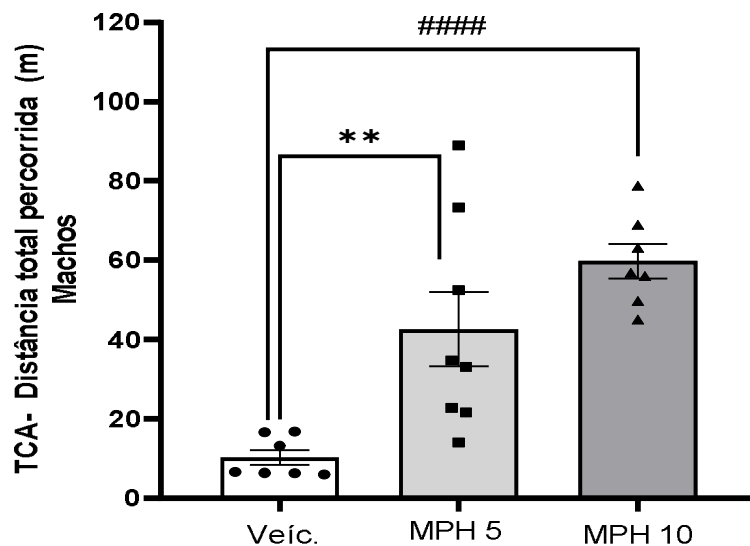
Dados representam média e EPM. Para a Fig.4A, n: 6-11 animais/ grupo. Para a Fig.4B n: 6-10 animais/grupo. ANOVA de uma via seguida por Tukey. **** $p < 0,0001$ veículo- cocaína (machos); ** $p < 0,0017$ veículo-cocaína 20 mg/Kg (fêmeas) . # $p < 0,05$ cocaína 20 mg/Kg x JWH-133 20 mg/Kg+ cocaína 20 mg/Kg (machos); (estrela) $p < 0,0001$ cocaína 20 mg/Kg x Ari 1 mg/Kg + cocaína 20 mg/Kg (fêmeas). Fonte: autoria própria, 2022.

5.3 Efeito da administração de doses crescentes do MPH em camundongos machos.

Para determinar qual seria a dose do metilfenidato utilizada nos experimentos futuros, foi avaliado o efeito das doses de 5 e 10 mg/kg do MPH, em camundongos machos. A resposta

ocasionada pela droga encontra-se demonstrada no gráfico da figura 5. A ANOVA de uma via indicou diferença entre os grupos ($F_{2, 19} = 14,16$, $p=0,0002$). O pós- teste de Dunnett indicou diferença entre os animais tratados com MPH nas dose de 5 mg/Kg ($p=0,0042$, Fig.5) e 10 mg/Kg ($p<0,0001$, Fig.5), quando comparados ao grupo veículo. A dose selecionada para continuidade dos experimentos foi a dose de 10 mg/Kg, pois conforme mostrado na figura 5, os animais apresentaram respostas locomotoras mais homogêneas. Para a figura 5 um outlier foi identificado e excluído.

Figura 5 - Efeito da administração de doses crescentes do MPH em camundongos machos.



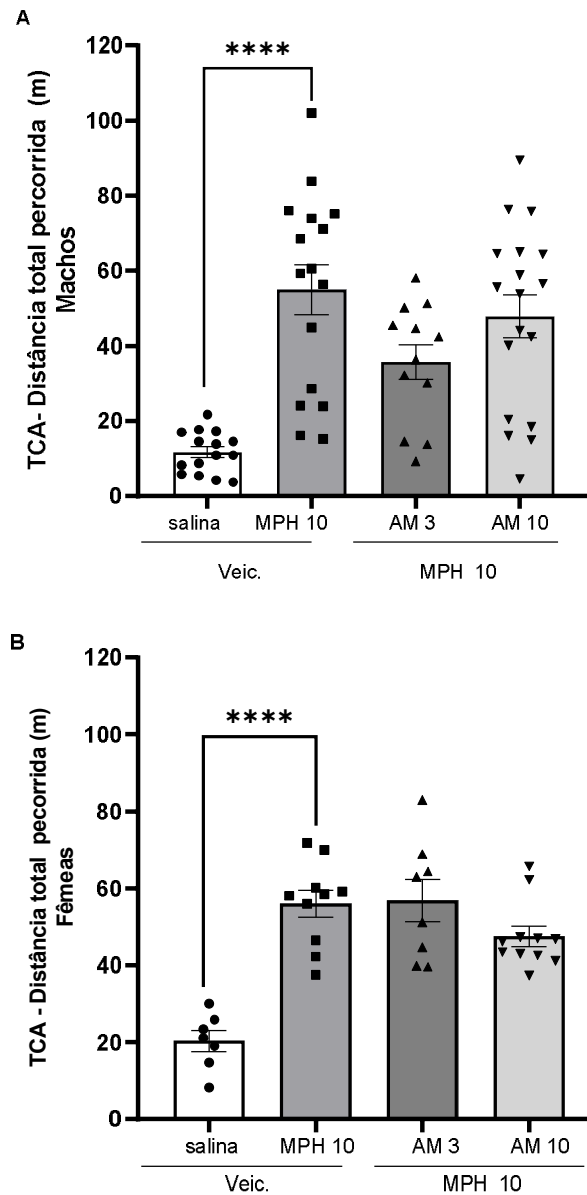
Dados representam média e EPM. n: 7-8 animais/ grupo. Foi encontrado um outlier e excluído. ANOVA de uma via, seguida por Dunnett. ** $p<0,001$ veículo- MPH 5 mg/Kg; #### $p<0,0001$ veículo-MPH 10 mg/Kg. Fonte: autoria própria, 2022.

5.4 Efeito do antagonista CB1, AM251, sob a hiperlocomoção induzida pelo MPH.

Na figura 6A estão representados os dados referentes a administração do AM 251 sob o efeito hiperlocomotor induzido pelo MPH em camundongos machos. A ANOVA de uma via indicou que houve diferença entre os tratamentos ($F_{3, 57} = 13,34$; $p<0,0001$). O pós- teste de Tukey indicou diferença entre o grupo tratado com veículo e o grupo tratado com MPH ($p<0,0001$, Fig.6A). O antagonista CB1, AM521, não foi capaz de inibir o efeito hiperlocomotor induzido pelo MPH em nenhuma das doses administradas.

Os dados referentes a administração do antagonista CB1 sob a hiperlocomoção induzida pelo MPH em camundongos fêmeas encontram-se representados na figura 6B. A ANOVA de uma via indicou diferença entre os tratamentos ($F_{3,32} = 18,10$; $p < 0,0001$). O pós-teste de Tukey indicou diferença entre os animais tratados com veículo e o grupo tratado com metilfenidato ($p < 0,0001$, Fig. 6B). Para as fêmeas tratadas com AM 251 previamente a administração de MPH, o antagonista CB1 também não foi capaz de inibir o efeito hiperlocomotor induzido pelo psicoestimulante.

Figura 6 -Efeito do antagonista canabinoide, AM 251, sob a locomoção induzida pelo MPH em machos (A) e fêmeas (B).



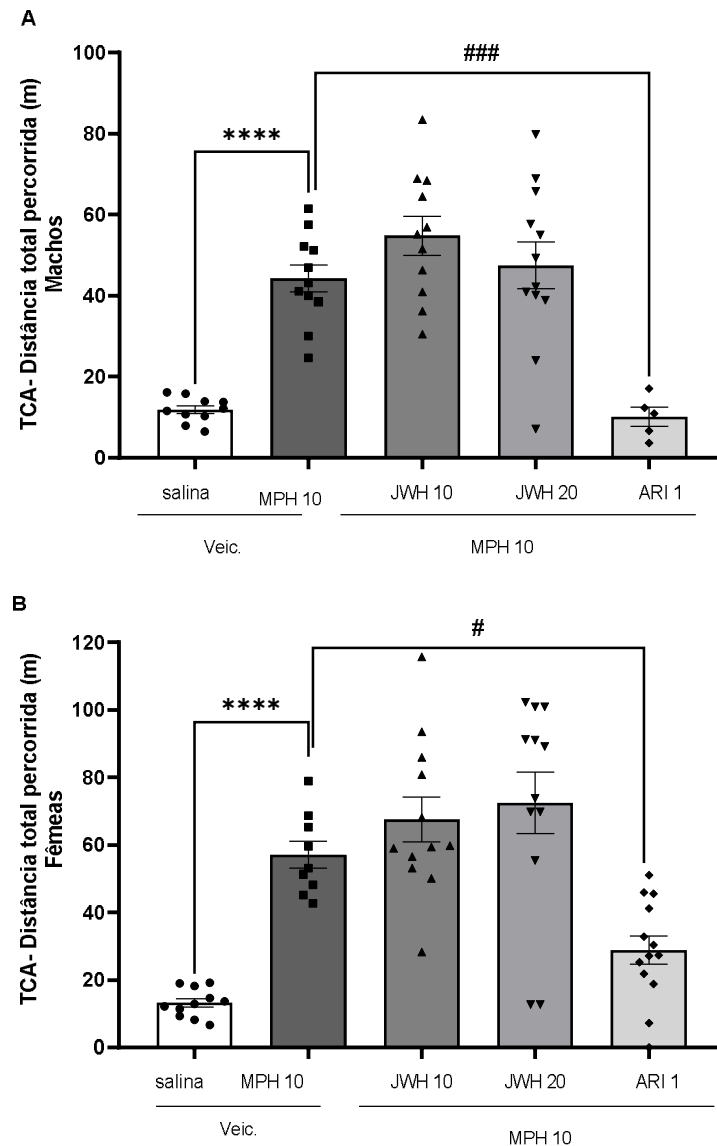
Dados representam média e EPM. Para a Fig.6A, n:12-18 animais/grupo. Para Fig. 6B, n:7-11 animais/ grupo. ANOVA de uma via seguida por Tukey. **** $p < 0,0001$ veículo- MPH 10 mg/Kg (machos e fêmeas). Fonte: autoria própria, 2022.

5.5 Efeito do agonista CB2, JWH-133, sob a hiperlocomoção induzida pelo MPH.

Na figura 7A encontram-se representados os resultados referentes a administração do agonista CB2, JWH-133, sob o efeito hiperlocomotor induzido pelo MPH em camundongos machos. A ANOVA de uma via indicou diferença entre os tratamentos ($F_{4,44} = 20,17$; $p < 0,0001$). O pós-teste de Tukey indicou diferença significativa entre o grupo tratado com MPH e o grupo tratado somente com veículo ($p < 0,0001$, Fig.7A). O agonista CB2 não foi capaz de inibir o efeito hiperlocomotor induzido pelo MPH em nenhuma das doses administradas. No entanto, foi observado que o aripiprazol quando administrado na dose de 1 mg/Kg, foi capaz de inibir o efeito hiperlocomotor induzido pelo psicoestimulante ($p = 0,0003$, Fig.7A).

Na figura 7B estão os dados referentes a administração do JWH-133 em camundongos fêmeas. A ANOVA de uma via indicou diferença entre os tratamentos ($F_{5,61} = 25,75$, $p < 0,0001$). O pós- teste de Tukey indicou diferença significativa entre o grupo tratado com veículo e o grupo tratado com MPH ($p < 0,0001$, Fig.7B). Não foi observada diferença significativa entre o grupo tratado com MPH e os grupos que receberam o agonista CB2 previamente a administração do psicoestimulante .Novamente, o aripiprazol foi capaz de inibir o efeito hiperlocomotor induzido pelo MPH ($p = 0,0124$, Fig.7B), conforme observado anteriormente nos camundongos machos. Para a figura 7B, um outlier foi detectado e removido.

Figura 7 - Efeito do agonista canabinoide, JWH-133, sob a locomoção induzida pelo MPH em machos (A) e fêmeas (B).



Dados representam média e EPM. Para a Fig.7A, n:-5-12 animais/ grupo . Para a Fig.7B, n:9-14 animais/ grupo. ANOVA de uma via seguida por Tukey. ****p<0,0001 veículo-MPH 10 mg/Kg (machos e fêmeas); ### p<0,001 MPH x Ari 1 mg/Kg + MPH 10 mg/Kg (machos); # p<0,05 MPH x Ari 1 mg/Kg + MPH 10 mg/Kg (fêmeas).

6 DISCUSSÃO

Já foi demonstrado na literatura que o bloqueio dos receptores CB1 promove diminuição da resposta locomotora induzida pela cocaína em machos (GOBIRA *et al.*, 2019). Esse dado foi reproduzido no presente trabalho, com a administração da dose de 10 mg/Kg do

antagonista dos receptores CB1, AM 251, que bloqueou a hiperlocomoção induzida pela cocaína em machos. No entanto, o mesmo resultado não foi observado nas fêmeas. Isso pode ter ocorrido porque nas condições experimentais não estavam inseridas as variações do ciclo estral das fêmeas, e sabe-se que as diferentes fases do ciclo podem gerar diferentes respostas frente a psicoestimulantes (QUIÑONES-JENAB *et al.*, 1999). Ainda, é conhecido que machos e fêmeas apresentam diferenças quanto ao SEC, e que a modulação desse sistema é influenciada pelas variações hormonais (DOW-EDWARDS, 2020).

Outro fator que poderia estar envolvido nessa resposta é a expressão diferenciada dos receptores canabinoídeos em ambos os sexos. Por exemplo, um estudo *in vivo* demonstrou por meio de tomografia de emissão de pósitrons que homens e mulheres apresentam variações na expressão de receptores CB1 de acordo com a região cerebral e idade (VAN LAERE *et al.*, 2008). Mulheres apresentaram aumento da expressão de CB1 com a idade no gânglio basal, no córtex temporal lateral e no sistema límbico (VAN LAERE *et al.*, 2008). Os homens, por sua vez, apresentaram maior expressão de CB1 no sistema límbico do que mulheres (VAN LAERE *et al.*, 2008). A explicação para esse resultado pode se dar pela mudança associada a idade na capacidade homeostática do SEC e sua modulação pelos hormônios sexuais (VAN LAERE *et al.*, 2008). Na literatura, já foi relatado também que roedores apresentam diferenças quanto a expressão desses receptores em diversas áreas do sistema nervoso central, de acordo com o sexo (CASTELLI *et al.*, 2014).

Em ratos, foi demonstrado que fêmeas durante o ciclo estral e machos apresentam menor densidade de receptores CB1 no córtex-pré-frontal e na amígdala do que fêmeas que foram ovariectomizadas, sugerindo nas fêmeas um efeito do hormônio estrogênio na regulação dos receptores CB1 (CASTELLI *et al.*, 2014). Ainda, um estudo realizado com camundongos da linhagem C57BL/6J adultos de ambos os sexos, demonstrou através da técnica de hibridização *in situ* que essa linhagem também apresenta diferenças com relação a expressão de CB1 (LIU *et al.*, 2020). Foi observado que machos apresentam maior expressão de mRNA de receptores CB1 no córtex secundário visual, no córtex orbital, insular, cíngulo e piriforme, e maior expressão de mRNA de receptores CB1 no estriado e no hipocampo ventral, do que fêmeas (LIU *et al.*, 2020). Assim, sugere-se que a variabilidade da expressão de CB1 em machos e fêmeas, e a possível oscilação da expressão de CB1 de acordo com o ciclo estral, possam ter influenciado nas respostas locomotoras do antagonista CB1 a ambos os psicoestimulantes. Isso porque a diferença na expressão dos receptores CB1 pode exercer

efeito sob a regulação da neurotransmissão dopaminérgica, através dos neurotransmissores GABA e glutamato (COVEY *et al.*, 2017).

É importante salientar que os receptores CB1 não são expressos em neurônios dopaminérgicos, mas podem ser expressos nos interneurônios GABAérgicos e glutamatérgicos (COVEY *et al.*, 2017). É conhecido que o aumento da liberação de dopamina nos neurônios da VTA promove a liberação de endocanabinoides dos terminais pós-sinápticos de neurônios GABAérgicos e glutamatérgicos (FITZGERALD; SHOBIN; PICKEL, 2012). A inibição de GABA por CB1, quando ativado, e a liberação do glutamato podem resultar em aumento da liberação de dopamina nos neurônios dopaminérgicos mesocorticolímbicos (FITZGERALD; SHOBIN; PICKEL, 2012). Assim, as diferenças na expressão de receptores CB1 podem ser responsáveis pelo não bloqueio desse receptor pelo antagonista AM 251 em machos e fêmeas submetidos ao tratamento com MPH, e em fêmeas submetidas ao tratamento com cocaína.

Com base nos resultados obtidos, foi possível observar que o antagonista CB1, AM 251, não foi capaz de bloquear a atividade locomotora induzida pelo MPH, tanto em machos quanto em fêmeas. Isso pode ter sido ocasionado pelo próprio mecanismo de ação da droga. Sabe-se que tanto a cocaína quanto o MPH atuam sob a neurotransmissão dopaminérgica pela inibição dos transportadores de dopamina, fazendo com que o neurotransmissor permaneça na fenda sináptica (CHELARU *et al.*, 2012; VOLKOW *et al.*, 2007).

Entretanto, sabe-se que o MPH apresenta estrutura molecular semelhante à das anfetaminas. Essas drogas, por sua vez, atuam modulando a neurotransmissão dopaminérgica pelo bloqueio da recaptação de dopamina e pela eliminação (depleção) do estoque vesicular de dopamina, promovendo o efluxo de dopamina para o meio extracelular, pela inversão dos transportadores (CAGNIARD *et al.*, 2014). Isso significa que o MPH, ao agir de forma semelhante a anfetamina, pode aumentar a disponibilidade de dopamina, gerando um perfil diferente de resposta dopaminérgica da cocaína, o que pode ter ocasionado na resposta locomotora observada.

Ainda, com relação a fêmeas e machos, é conhecido que estes apresentam respostas distintas ao MPH, com relação a liberação de dopamina (MANZA *et al.*, 2022). Dados na literatura reportam que mulheres tratadas com MPH na forma oral, na dose de 60 mg e intravenosa, na dose de 0.5 mg/Kg apresentaram maiores níveis de liberação de dopamina no estriado ventral, onde se encontra o núcleo accumbens do que homens submetidos as mesmas

doses (MANZA *et al.*, 2022). Isso sugere que fêmeas apresentam sensibilidade aumentada para dopamina no sistema de recompensa, o que pode justificar as diferenças observadas com relação a adicção de drogas e que nos permite inferir que os perfis de liberação de dopamina para as drogas podem ser diferentes em ambos os sexos (MANZA *et al.*, 2022).

Com relação a manipulação farmacológica dos receptores CB2, foi observado que o agonista JWH-133 foi capaz de atenuar apenas a hiperlocomoção ocasionada pela cocaína em machos, sem exercer ação sobre as alterações locomotoras ocasionados pelo MPH em machos e fêmeas, e pela cocaína nas fêmeas. Os resultados obtidos em camundongos machos com a administração da cocaína corroboram com dados anteriormente já descritos (LOPES *et al.*, 2020). A administração do agonista JWH-133 previamente a administração da cocaína foi capaz de inibir o aumento da locomoção ocasionada pelo psicoestimulante em camundongos selvagens, mas não em animais geneticamente modificados que não apresentavam a expressão do receptor CB2 (XI *et al.*, 2011). Os resultados observados corroboram com a hipótese de que os receptores CB1 e CB2 teriam papéis opostos na regulação da resposta a cocaína, visto que o bloqueio dos receptores CB1 e a ativação dos receptores CB2 revertem o efeito hiperlocomotor ocasionado pela cocaína.

Estudos já demonstraram que os receptores CB2 podem estar expressos em neurônios dopaminérgicos da VTA e modular assim as respostas a psicoestimulantes (ZHANG *et al.*, 2014). De fato, a depleção desses receptores na VTA resultou em aumento da resposta locomotora ocasionada por cocaína e anfetamina em camundongos machos (CANSECO-ALBA *et al.*, 2019). Isso se deve por alguns estudos sugerirem que a ativação dos receptores CB2 atue de modo a inibir o disparo e a liberação de dopamina na VTA (MA *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2014). Ainda, justifica-se que essa inibição ocorra mediante a liberação de glutamato na VTA e pela presença de CB2 também nos neurônios glutamatérgicos de áreas neuroanatômicas próximas ao circuito mesolímbico (ZHANG *et al.*, 2021). Dessa forma, sugere-se que a modulação desses neurotransmissores possa atuar nas respostas comportamentais observadas para ambos os psicoestimulantes, com relação a ativação de CB2 e sua modulação da resposta dopaminérgica.

As diferenças nas respostas hiperlocomotoras dos dois psicoestimulantes podem ainda ser explicadas com base nos níveis de endocanabinoides liberados. Os endocanabinoides AEA e 2-AG podem atuar com propriedades distintas, sendo que a Anandamida pode atuar como agonista parcial de receptores CB1, enquanto o 2-AG pode atuar como agonista pleno em ambos os receptores (SUGIURA *et al.*, 2006; LU; MACKIE,

2016). Sabe-se que o 2-AG pode mediar a supressão de inibição induzida pela despolarização (DSI) ou pela excitação (DSE), através da modulação dos neurotransmissores GABA e glutamato (WANG *et al.*, 2015). Também é conhecido que o aumento da liberação de 2-AG, pode estar envolvida nas respostas comportamentais induzidas pela cocaína na VTA, que tem como consequência a desinibição da neurotransmissão dopaminérgica (WANG *et al.*, 2015).

Com relação a psicoestimulantes com mecanismo de ação semelhante ao do MPH, um estudo realizado com camundongos avaliou o efeitos comportamentais e moleculares decorrentes da manipulação genética e farmacológica de receptores CB1, bem como os níveis de endocanabinoides em animais sensibilizados a anfetamina (THIEMANN *et al.*, 2008). Nos cérebros dos animais selvagens, observou-se que a sensibilização a anfetamina foi capaz de induzir o aumento da liberação de AEA no estriado dorsal e o decréscimo desse endocanabinoide no estriado ventral, quando administrada de forma aguda (THIEMANN *et al.*, 2008). Foi observado também o decréscimo da liberação de 2-AG no estriado ventral dos animais sensibilizados (THIEMANN *et al.*, 2008). Esses dados sugerem que a cocaína e a anfetamina induzam a liberação de endocanabinoides em níveis diferentes, o que permite inferir que o mesmo ocorra com o MPH, visto que seu mecanismo de ação se dá não só pelo bloqueio do transportador de dopamina, semelhante a cocaína, mas também pela depleção de dopamina, assim como realizado pelas anfetaminas.

Ainda pertinente aos níveis de endocanabinoides, é conhecido que estes podem variar entre machos e fêmeas, a depender das condições ambientais as quais são submetidos. Já foi demonstrado, que fêmeas de ratos apresentam maior concentração de 2-AG em áreas cerebrais relacionadas a neurobiologia da dor do que machos, sendo também dependente do estágio do ciclo estral e da estrutura cerebral envolvida (LEVINE *et al.*, 2021). Outro estudo também demonstrou que camundongos knockout para a enzima DAGL apresentaram aumento do fenótipo de estresse, através da redução da exploração da área do aparato do teste de campo aberto, déficit de extinção do medo e negligência maternal em fêmeas, enfatizando a participação do endocanabinoide 2-AG em processos relacionados a fisiopatologia da ansiedade e do estresse (JENNICHES *et al.*, 2016). Desta forma, é possível inferir que o sexo dos animais pode ter influenciado nos níveis de endocanabinoides liberados, contribuindo para as diferenças comportamentais observadas nos resultados com ambos os psicoestimulantes.

Para que se elucide melhor o papel do sistema endocanabinide nas respostas induzidas por psicoestimulantes, se faz necessário ainda avaliar outros receptores

endocanabinoides, como o GPR55 por exemplo. É conhecido que esse receptor apresenta alta afinidade por ligantes canabinoides endógenos, sendo expressos em diversos locais no cérebro, como hipocampo, córtex, estriado e cerebelo (SHI *et al.*, 2017). Também já foi demonstrado que este receptor estaria envolvido em respostas relacionadas a ansiedade (SHI *et al.*, 2017). Pouco se sabe sobre as respostas desse receptor a psicoestimulantes. No entanto, um estudo recente demonstrou que esse receptor parece estar envolvido nas respostas comportamentais induzidas pela anfetamina, visto que o tratamento com o agonista do receptor GPR55, lisofosfatidilinositol, foi capaz de prevenir o condicionamento ao lugar induzido pela anfetamina, sendo este efeito revertido pelo antagonista CID16020046 (SÁNCHEZ-ZAVALA *et al.*, 2022). Dessa forma, pode-se sugerir que esse receptor possa ter envolvimento nas respostas induzidas por outros psicoestimulantes.

Além de considerar outros receptores, é importante considerar a avaliação das respostas moduladas por MPH em modelos de administração crônica. Um estudo recente demonstrou que ratos adolescentes tratados por via oral, apresentaram diferenças significativas na expressão dos receptores CB1, de maneira dose dependente (CONNOR *et al.*, 2021). Ratos tratados com as doses mais baixas de metilfenidato por 13 semanas, quando submetidos a 4 semanas de abstinência apresentaram baixa ligação de receptores CB1 a isótopos de hidrogênio do que animais que não passaram pelo período de abstinência, sendo esses resultados expressos nas regiões dos gânglios e na região dos membros posteriores do córtex somatossensorial (CONNOR *et al.*, 2021). Entretanto, os animais tratados com as doses mais altas do MPH, quando submetidos ao período de abstinência, apresentaram ligação mais elevada do que os animais submetidos as doses menores, na autorradiografia das regiões corticais e basais (CONNOR *et al.*, 2021). Isso demonstrou que a abstinência de doses altas de MPH parece aumentar os níveis de CB1, enquanto a abstinência de doses baixas parece diminuir os níveis desses receptores (CONNOR *et al.*, 2021). Esses dados sugerem que o MPH possa ser capaz de modular a neurotransmissão endocanabinoide através da administração crônica. Apesar dos resultados observados, é importante salientar que os estudos de administração crônica com o MPH apresentam um viés, visto que os comportamentos em fêmeas decorrentes desse modelo de tratamento ainda não foram observados.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos, o SEC tem se mostrado envolvido nas respostas locomotoras induzidas pela cocaína em machos, corroborando com dados anteriores já

descritos na literatura. De forma aguda, não foi possível observar que a modulação do SEC regula as respostas induzidas pela cocaína, em fêmeas. Nas fêmeas, a avaliação da modulação do SEC nas respostas induzidas pela cocaína pode também estar associada às fases do ciclo estral. Ainda, a modulação do SEC parece não regular as respostas induzidas pelo MPH de forma aguda em ambos os sexos. Para que seja possível a conclusão de que a modulação desse sistema não estaria envolvida nas respostas induzidas por psicoestimulantes, se faz necessário a exposição a modelos crônicos utilizados no estudo de drogas de abuso, tais como a sensibilização à droga e o condicionamento ao lugar.

Além de considerar a aplicação de outros modelos, se faz necessário também avaliar a resposta desse psicoestimulante frente à manipulação farmacológica de outros receptores canabinoides que possam estar envolvidos na modulação da neurotransmissão dopaminérgica, tal como o GRP55. Deste modo, o aprofundamento no envolvimento do SEC nas respostas induzidas pelo MPH se faz necessário, bem como sua interação com neurotransmissores que possam ser ativados ou inibidos frente à regulação desse sistema.

8 REFERÊNCIAS

ADAMCZYK, Przemysław; MISZKIEL, Joanna; MCCREARY, Andrew C.; FILIP, Małgorzata; PAPP, Mariusz; PRZEGALINŚKI, Edmund. The effects of cannabinoid CB1, CB2 and vanilloid TRPV1 receptor antagonists on cocaine addictive behavior in rats. **Brain [S. l.]**, v. 1444, p. 45–54, 2012. DOI: 10.1016/J.BRAINRES.2012.01.030. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22325096/>. Acesso em: 11 jul. 2022.

ADINOFF, Bryon. Neurobiologic Processes in Drug Reward and Addiction. **Harv Rev Psychiatry**. v.12(6), p.305-320, 2004. DOI: 10.1080/10673220490910844. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15764467/>. Acesso em: 30 set. 2022.

ALMEIDA-SANTOS, Ana F.; GOBIRA, Pedro H.; SOUZA, Diego P.; FERREIRA, Renata C. M.; ROMERO, Thiago R.; DUARTE, Igor D.; AGUIAR, Daniele C.; MOREIRA, Fabricio A. The antipsychotic aripiprazole selectively prevents the stimulant and rewarding effects of morphine in mice. **European journal of pharmacology**, [S. l.], v. 742, p. 139–144, 2014. DOI: 10.1016/J.EJPHAR.2014.09.004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25218988/>. Acesso em: 29 set. 2022.

ARAQUE, Alfonso; CASTILLO, Pablo E.; MANZONI, Olivier J.; TONINI, Raffaella. Synaptic functions of endocannabinoid signaling in health and disease. **Neuropharmacology** Elsevier Ltd, , 2017. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.06.017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.06.017> Acesso em: 2 jun. 2022.

ARNOLD, Jonathon C. The role of endocannabinoid transmission in cocaine addiction. *In: Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2005, Anais [...]. : Elsevier Inc., 2005. p. 396–406. DOI: 10.1016/j.pbb.2005.02.015. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.02.015>. Acesso em: 2 jun. 2022.

ARVIDSSON, Michel; DAHL, Marja-Liisa; BECK, Olof; ACKEHED, Gerd; NORDIN, Karin; ROSENBORG, Staffan. Pharmacokinetics of methylphenidate and ritalinic acid in plasma correlations with exhaled breath and oral fluid in healthy volunteers. **European Journal of Clinical Pharmacology** v. 76; p. 229-236; 2020.DOI: 10.1007/s00228-019-02787-x. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00228-019-02787-x>. Acesso em: 08 set. 2022.

BARRETT, Sean P.; DARREDEAU, Christine; PIHL, Robert O. Patterns of simultaneous polysubstance use in drug using university students. **Human Psychopharmacology**, [S. l.], v. 21, n. 4, p. 255–263, 2006. DOI: 10.1002/hup.766. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/hup.766>. Acesso em: 12 set. 2022.

CAGNIARD, Barbara; SOTNIKOVA, Tatyana D.; GAINETDINOV, Raul R.; ZHUANG, Xiaoxi. The dopamine transporter expression level differentially affects responses to cocaine and amphetamine. **Journal of Neurogenetics**, [S. l.], v. 28, n. 1–2, p. 112–121, 2014. DOI: 10.3109/01677063.2014.908191. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/01677063.2014.908191>. Acesso em: 18 set. 2022.

CAMÍ, Jordi; FARRÉ, Magí. Drug addiction. **The New England journal of medicine**, [S. l.], v. 349, n. 10, p. 975–986, 2003. DOI: 10.1056/NEJMRA023160. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12954747/>. Acesso em: 6 set. 2022.

CANSECO-ALBA, Ana; SCHANZ, Norman; SANABRIA, Branden; ZHAO, Juan; LIN, Zhicheng; LIU, Qing Rong; ONAIVI, Emmanuel S. Behavioral effects of psychostimulants in mutant mice with cell-type specific deletion of CB2 cannabinoid receptors in dopamine neurons. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 360, p. 286–297, 2019. DOI: 10.1016/J.BBR.2018.11.043. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30508607/>. Acesso em: 13 de set. 2022.

CASTELLI, Maria; FADDA, Paola; CASU, Angelo; SPANO, Maria; CASTI, Alberto; FRATTA, Walter; FATTORE, Liana. Male and Female Rats Differ in Brain Cannabinoid CB1 Receptor Density and Function and in Behavioural Traits Predisposing to Drug Addiction: Effect of Ovarian Hormones. **Current Pharmaceutical Design**, [S. l.], v. 20, n. 13, p. 2100–2113, 2014. DOI: 10.2174/13816128113199990430. Disponível em: <http://www.eurekaselect.com/article/53092>. Acesso em: 18 set. 2022.

CHELARU, Mircea I.; YANG, Pamela; DAFNY, Nachum. Sex differences in the behavioral response to methylphenidate in three adolescent rat strains. **Behavioural Brain Research**. [S. l.], v. 226, p.8-17, 2012. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.08.027. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.08.027>. Acesso em: 10 out. 2022.

CHILDRESS, Ann C.; KOMOLOVA, Marina; SALLEE, F. Randy An update on the pharmacokinetic considerations in the treatment of ADHD with long-acting methylphenidate and amphetamine formulations. **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology** [S. l.], 2019. DOI: 10.1080/17425255.2019.1675636. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=iemt20>. Acesso em: 10 set. 2022.

CLEMOW, David B. Misuse of Methylphenidate. **Current topics in behavioral neurosciences**, [S. l.], v. 34, p. 99–124, 2017. DOI: 10.1007/7854_2015_426. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26695166/>. Acesso em: 12 set. 2022.

CONNOR, Carly; HAMILTON, John; ROBISON, Lisa; HADJIARGYROU, Michael; KOMATSU, David; THANOS, Panayotis. Abstinence from Chronic Methylphenidate Exposure Modifies Cannabinoid Receptor 1 Levels in the Brain in a Dose-dependent Manner. **Current Pharmaceutical Design**, [S. l.], v. 28, n. 4, p. 331–338, 2021. DOI: 10.2174/1381612827666210127120411. Disponível em: <https://www.eurekaselect.com/article/113715>. Acesso em: 18 set. 2022.

CORTESE, Samuele; D'ACUNTO, Giulia; KONOVAL, Eric; MASI, Gabriele; VITIELLO, Benedetto. New Formulations of Methylphenidate for the Treatment of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Pharmacokinetics, Efficacy, and Tolerability. **CNS drugs**, [S. l.], v. 31, n. 2, p. 149–160, 2017. DOI: 10.1007/S40263-017-0409-0. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28130762/>. Acesso em: 8 set. 2022.

COVEY, Dan P.; MATEO, Yolanda; SULZER, David; CHEER, Joseph F.; LOVINGER, David M. Endocannabinoid modulation of dopamine neurotransmission. **Neuropharmacology Elsevier Ltd**, , 2017. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.04.033. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.04.033>. Acesso em: 2 jun. 2022.

CROCQ, Marc Antoine. History of cannabis and the endocannabinoid system. **Dialogues in Clinical Neuroscience**, [S. l.], v. 22, n. 3, p. 223–228, 2020. DOI: 10.31887/DCNS.2020.22.3/MCROCQ. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33162765/>. Acesso em: 1 jun. 2022.

DELIS, Foteini; POLISSIDIS, Alexia; POULIA, Nafsika; JUSTINOVA, Zuzana; NOMIKOS, George G.; GOLDBERG, Steven R.; ANTONIOU, Katerina. Attenuation of Cocaine-Induced Conditioned Place Preference and Motor Activity via Cannabinoid CB2 Receptor Agonism and CB1 Receptor Antagonism in Rats. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, [S. l.], v. 20, n. 3, p. 269, 2017. DOI: 10.1093/IJNP/PYW102. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33162765/>. Acesso em: 7 set. 2022.

DI MARZO, Vincenzo. A brief history of cannabinoid and endocannabinoid pharmacology as inspired by the work of British scientists. **Trends in Pharmacological Sciences Elsevier Ltd**, , 2006. DOI: 10.1016/j.tips.2006.01.010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2006.01.010>. Acesso em 7 de set. 2022.

DI MARZO, Vincenzo. The endocannabinoid system: Its general strategy of action, tools for its pharmacological manipulation and potential therapeutic exploitation. **Pharmacological Research**, 2009. DOI: 10.1016/j.phrs.2009.02.010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2009.02.010>. Acesso em 1 de jun. 2022.

DOW-EDWARDS, Diana. Sex differences in the interactive effects of early life stress and the endocannabinoid system. **Neurotoxicology and Teratology**, [S. l.], v. 80, n. December 2019, p. 106893, 2020. DOI: 10.1016/j.ntt.2020.106893. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2020.106893>. Acesso em 5 de abr. 2022.

DRAKE, Lindsey R.; SCOTT, Peter J. H. DARK Classics in Chemical Neuroscience: Cocaine. **ACS Chemical Neuroscience**, [S. l.], v. 9, n. 10, p. 2358–2372, 2018. DOI: 10.1021/ACSCHEMNEURO.8B00117. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29630337/>. Acesso em: 4 jun. 2022.

FARAONE, Stephen V. The pharmacology of amphetamine and methylphenidate: Relevance to the neurobiology of attention-deficit/hyperactivity disorder and other psychiatric comorbidities. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, [S. l.], v. 87, p. 255–270, 2018. DOI: 10.1016/J.NEUBIOREV.2018.02.001. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29428394/>. Acesso em: 10 set. 2022.

FERREIRA, P. E. M.; MARTINI, R. K. Cocaína: lendas, história e abuso. **Brazilian Journal of Psychiatry**, [S. l.], v. 23, n. 2, p. 96–99, 2001. DOI: 10.1590/S1516-44462001000200008. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/rbp/a/WpZNRHsqk8sMtmWNFSyCx Dz/?lang=pt>. Acesso em: 3 set. 2022.

FITZGERALD, Megan L.; SHOBIN, Eli; PICKEL, Virginia M. Cannabinoid modulation of the dopaminergic circuitry: Implications for limbic and striatal output. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [S. l.], v. 38, n. 1, p. 21–29, 2012. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2011.12.004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2011.12.004>. Acesso em: 18 set. 2022.

FONSECA, B. M.; COSTA, M. A.; ALMADA, M.; SOARES, A.; CORREIA-DA-SILVA; TEIXEIRA, N. A. The Endocannabinoid system-a therapeutic perspective. **Acta Farmacêutica Portuguesa**. v.2,n. 2, p.97-104; 2013. Disponível em: <https://actafarmacaportuguesa.com/index.php/afp/article/view/5/105>. Acesso em: 18 set. 2022.

GOBIRA, Pedro H. et al. Opposing roles of CB 1 and CB 2 cannabinoid receptors in the stimulant and rewarding effects of cocaine. **British journal of pharmacology**, [S. l.], v. 176, n. 10, p. 1541–1551, 2019. DOI: 10.1111/BPH.14473. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30101419/>. Acesso em: 1 jun. 2022.

GOLDSTEIN, Rachel A.; DESLAURIERS, Carol; BURDA, Anthony M. Cocaine: history, social implications, and toxicity--a review. **Disease-a-month : DM**, [S. l.], v. 55, n. 1, p. 6–38, 2009. DOI: 10.1016/J.DISAMONTH.2008.10.002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19081448/>. Acesso em: 31 ago. 2022.

GUREVICH, Eugenia V; GAINETDINOV, Raul R.; GUREVICH, Vsevolod V. G protein-coupled receptor kinases as regulators of dopamine receptor functions HHS Public Access. **Pharmacol Res**, [S. l.], v. 111, p. 1–16, 2016. DOI: 10.1016/j.phrs.2016.05.010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.05.010>. Acesso em: 18 set. 2022.

HIGGINBOTHAM, Jessica A.; JONES, Nicole M.; WANG, Rong; CHRISTIAN, Robert J.; RITCHIE, Jobe L.; MCLAUGHLIN, Ryan J.; FUCHS, Rita A. Basolateral amygdala CB1 receptors gate HPA axis activation and context-cocaine memory strength during reconsolidation. **Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology**, [S. l.], v. 46, n. 9, p. 1554–1564, 2021. DOI: 10.1038/S41386-020-00919-X. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33452429/>. Acesso em: 26 ago. 2022.

JAESCHKE, Rafał R.; SUJKOWSKA, Ewelina; SOWA-KUĆMA, Magdalena. Methylphenidate for attention-deficit/hyperactivity disorder in adults: a narrative review. **Psychopharmacology**, [S. l.], v. 238, n. 10, p. 2667–2691, 2021. DOI: 10.1007/S00213-021-05946-0. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34436651/>. Acesso em: 8 set. 2022.

JENNICHES, Imke et al. Anxiety, Stress, and Fear Response in Mice with Reduced Endocannabinoid Levels. **Biological Psychiatry**, [S. l.], v. 79, n. 10, p. 858–868, 2016. DOI: 10.1016/j.biopsych.2015.03.033. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.03.033>. Acesso em 18 set. 2022.

JENSON, Daniel; YANG, Kechun; ACEVEDO-RODRIGUEZ, Alexandra; LEVINE,

Amber; BROUSSARD, John I.; TANG, Jianrong; DANI, John A. Dopamine and norepinephrine receptors participate in methylphenidate enhancement of in vivo hippocampal synaptic plasticity. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 90, p. 23–32, 2015. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2014.10.029. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.10.029>. Acesso em 10 set. 2022.

KANAZAWA, Luiz K. S. et al. Effects of acute and chronic quercetin administration on methylphenidate-induced hyperlocomotion and oxidative stress. **Life sciences**, [S. l.], v. 171, p. 1–8, 2017. b. DOI: 10.1016/J.LFS.2017.01.007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28104366/>. Acesso em: 18 set. 2022.

KARCH, Steven B. Cocaine: history, use, abuse. **Journal of the Royal Society of Medicine**, [S. l.], v. 92, n. 8, p. 393, 1999. DOI: 10.1177/014107689909200803. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1297313/>. Acesso em: 26 ago. 2022.

KOHNE-JOHANNSEN, Kathrin Laura; KAYSER, Oliver. Tropane Alkaloids: **Chemistry, Pharmacology, Biosynthesis and Production. Molecules** (Basel, Switzerland), [S. l.], v. 24, n. 4, 2019. DOI: 10.3390/MOLECULES24040796. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30813289/>. Acesso em: 26 ago. 2022.

KOLLINS, Scott H.; SCHOENFELDER, Erin N.; ENGLISH, Joseph S.; HOLDAWAY, Alex; VAN VOORHEES, Elizabeth; O'BRIEN, Benjamin R.; DEW, Rachel; CHRISMAN, Allan K. An exploratory study of the combined effects of orally administered methylphenidate and delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) on cardiovascular function, subjective effects, and performance in healthy adults. **Journal of Substance Abuse Treatment**, [S. l.], v. 48, n. 1, p. 96–103, 2015. DOI: 10.1016/j.jsat.2014.07.014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jsat.2014.07.014>. Acesso em: 2 jun. 2022.

KOOB, George F.; LE MOAL, Michael. Durg Addiction , Dysregulation of Reward, and Allostasis. **Neuropsychopharmacology**, Nature Publishing Group v. 24, p. 97-129, 2001. DOI:10.1016/S0893-133X(00)00195-0. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/1395603>. Acesso em: 2 jun. 2022.

KOOB, George F.; VOLKOW, Nora D. Neurocircuitry of addiction. **Neuropsychopharmacology** Nature Publishing Group, , 2010. DOI: 10.1038/npp.2009.110. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)00104-8](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)00104-8). Acesso em: 2 jun 2022.

LEVINE, Aidan; LIKTOR-BUSA, Erika; KARLAGE, Kelly L.; GIANCOTTI, Luigi; SALVEMINI, Daniela; VANDERAH, Todd W.; LARGENT-MILNES, Tally M. DAGL α Inhibition as a Non-invasive and Translational Model of Episodic Headache. **Frontiers in Pharmacology**, [S. l.], v. 11, n. January, p. 1–15, 2021. DOI: 10.3389/fphar.2020.615028. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2020.615028/full>. Aceso em: 18 set. 2022.

LILE, Joshua A.; KELLY, Thomas H.; HAYS, Lon R. Substitution profile of the cannabinoid agonist nabilone in human subjects discriminating δ 9-tetrahydrocannabinol. **Clinical neuropharmacology**, [S. l.], v. 33, n. 5, p. 235–242, 2010. DOI: 10.1097/WNF.0B013E3181E77428. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20838217/>. Acesso em: 11 jul. 2022.

LIU, Xue; LI, Xulin; ZHAO, Gaoyang; WANG, Feng; WANG, Liping. Sexual dimorphic distribution of cannabinoid 1 receptor mRNA in adult C57BL/6J mice. **The Journal of comparative neurology**, [S. l.], v. 528, n. 12, p. 1986–1999, 2020. DOI: 10.1002/CNE.24868. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31997354/>. Acesso

em: 1 jun. 2022.

LOPES, Jadna B.; BASTOS, Juliana R.; COSTA, Rayssa B.; AGUIAR, Daniele C.; MOREIRA, Fabrício A. The roles of cannabinoid CB1 and CB2 receptors in cocaine-induced behavioral sensitization and conditioned place preference in mice. **Psychopharmacology**, [S. l.], v. 237, n. 2, p. 385–394, 2020. DOI: 10.1007/s00213-019-05370-5. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00213-019-05370-5>. Acesso em: 2 jun 2022.

LÓPEZ, Gabriell.; SÁNCHEZ- ZAVALETTA, Rodolfo; ÁVALOS- FLUENTES, Arturo; SIERRA, Juan. J.; PAZ- BERMÚDES, F; LEYVA-GOMES, Geraldo; VILA, Jose S.; CORTÉS, Hernan, FLORÁN, B. D2 autoreceptor switches CB 2 receptor effects on [3 H]-dopamine release in the striatum. **Synapse** [S. l.], n. October 2019, p. 1–20, 2020. DOI: 10.1002/syn.22139. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/syn.22139>. Acesso em: 15 set 2022.

LU, Hui Chen; MACKIE, Ken. An introduction to the endogenous cannabinoid system. **Biological Psychiatry Elsevier USA**, , 2016. DOI: 10.1016/j.biopsych.2015.07.028. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.07.028>. Acesso em: 2 de jun. 2022.

MA, Zegang; GAO Fenfei; LARSEN, Brett; GAO Ming; ZHIHUA, Luo; CHEN, Dejei; MA, Xiaokuang; QIU, Shefeng; YU, Zhou; XI, Zheng- Xiong, WU, Jie. Mechanisms of cannabinoid CB 2 receptor-mediated reduction of dopamine neuronal excitability in mouse ventral tegmental area. **EBioMedicine**, [S. l.], v. 42, p. 225–237, 2019. DOI: 10.1016/j.ebiom.2019.03.040. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.03.040>. Acesso em: 13 de set. 2022.

MANZA, Peter et al. Sex differences in methylphenidate-induced dopamine increases in ventral striatum. **Molecular psychiatry**, [S. l.], v. 27, n. 2, p. 939–946, 2022. DOI: 10.1038/S41380-021-01294-9. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34707237/>. Acesso em: 7 set. 2022.

MANZANARES, Jorge; CABAÑERO, David; PUENTE, Nagore; GARCÍA-GUTIÉRREZ, María S.; GRANDES, Pedro; MALDONADO, Rafael. Role of the endocannabinoid system in drug addiction. **Biochemical Pharmacology Elsevier Inc.**, , 2018. DOI: 10.1016/j.bcp.2018.09.013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2018.09.013>. Acesso em: 2 jun. 2022.

MERINEY, Stephen D.; FANSELOW, Erika E. Monoamine transmitters. *In: Synaptic Transmission*. Chapter 17: Elsevier, 2019. p. 369–398. DOI: 10.1016/B978-0-12-815320-8.00017-X. Acesso em: 11 set. 2022.

MOREIRA, Fabrício A.; LUTZ, Beat. . **Addiction Biology**, 2008. DOI: 10.1111/j.1369-1600.2008.00104.x. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2008.00104.x>. Acesso em: 11 set. 2022.

MOREIRA, Fabricio A.; JUPP, Bianca; BELIN, David; DALLEY, Jeffrey W. Endocannabinoids and striatal function: Implications for addiction-related behaviours. **Behavioural Pharmacology**, [S. l.], v. 26, p. 59–72, 2015. DOI: 10.1097/FBP.000000000000109. Disponível em: https://journals.lww.com/behaviouralpharm/Fulltext/2015/02000/Endocannabinoids_and_str

iatal_function_.8.aspx. Acesso em: 2 de jun 2022.

NESTLER, Eric J. The neurobiology of cocaine addiction. *Science & practice perspectives*, [S. l.], v. 3, n. 1, p. 4–10, 2005. DOI: 10.1151/SPP05314. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18552739/>. Acesso em: 6 set. 2022.

NICKELL, Justin R.; SIRIPURAPU, Kiran B.; VARTAK, Ashish; CROOKS, Peter A.; DWOSKIN, Linda P. The vesicular monoamine transporter-2: An important pharmacological target for the discovery of novel therapeutics to treat methamphetamine abuse. *In: Advances in Pharmacology*. [s.l.] : Academic Press Inc., 2014. v. 69p. 71–106. DOI: 10.1016/B978-0-12-420118-7.00002-0. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420118-7.00002-0>. Acesso em: 11 set. 2022.

OHNO-SHOSAKU, Takako; TANIMURA, Asami; HASHIMOTODANI, Yuki; KANO, Masanobu.. *Neuroscientist*, 2012. DOI: 10.1177/1073858410397377. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1073858410397377>. Acesso em: 2 jun. 2022.

ONAIWI, Emmanuel S.; ISHIGURO, Hiroki; GU, Shanzhi; LIU, Qing Rong. CNS effects of CB2 cannabinoid receptors: beyond neuro-immuno-cannabinoid activity. *Journal of psychopharmacology* (Oxford, England), [S. l.], v. 26, n. 1, p. 92–103, 2012. DOI: 10.1177/0269881111400652. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21447538/>. Acesso em: 12 set. 2022.

PAMPLONA, F. A.; TAKAHASHI, R. N. Psychopharmacology of the endocannabinoids: Far beyond anandamide. *Journal of Psychopharmacology*, 2012. DOI: 10.1177/0269881111405357. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0269881111405357>. Acesso em 2 de jun 2022.

PATRICK, Kennerly Sexton; RADKE, Jennifer L.; RAYMOND, John R.; KOLLER, Lauren; NGUYEN, Linda V.; RODRIGUEZ, Wendy; STRAUGHN, Arthur B. Drug Regimen Individualization for Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder: Guidance for Methylphenidate and Dexamethylphenidate Formulations. *Pharmacotherapy*, [S. l.], v. 39, n. 6, p. 677–688, 2019. DOI: 10.1002/PHAR.2190. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30351459/>. Acesso em: 12 set. 2022.

PIOMELLI, Daniele. The molecular logic of endocannabinoid signalling. *Nature Reviews Neuroscience*, [S. l.], v. 4, n. 11, p. 873–884, 2003. DOI: 10.1038/nrn1247. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrn1247>. Acesso em: 2 jun 2022.

QUIÑONES-JENAB, Vanya; HO, Ann; SCHLUSSMAN, Stefan D.; FRANCK, Johan; KREEK, Mary Jeanne. Estrous cycle differences in cocaine-induced stereotypic and locomotor behaviors in Fischer rats. *Behavioural Brain Research*, [S. l.], v. 101, n. 1, p. 15–20, 1999. DOI: 10.1016/S0166-4328(98)00073-4. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(98\)00073-4](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(98)00073-4). Acesso em: 9 out. 2022.

ROQUE BRAVO, Rita; FARIA, Ana Carolina; BRITO-DA-COSTA, Andreia Machado; CARMO, Helena; MLADĚNKA, Přemysl; DIAS DA SILVA, Diana; REMIÃO, Fernando. Cocaine: An Updated Overview on Chemistry, Detection, Biokinetics, and Pharmacotoxicological Aspects including Abuse Pattern. *Toxins*, [S. l.], v. 14, n. 4, 2022. DOI: 10.3390/TOXINS14040278. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35448887/>. Acesso em: 26 ago. 2022.

SÁNCHEZ-ZAVALA, Rodolfo; SEGOVIA, José; RUIZ-CONTRERAS, Alejandra E.; HERRERA-SOLÍS, Andrea; MÉNDEZ-DÍAZ, Mónica; DE LA MORA, Miguel Pérez;

PROSPÉRO-GARCÍA, Oscar E. GPR55 activation prevents amphetamine-induced conditioned place preference and decrease the amphetamine-stimulated inflammatory response in the ventral hippocampus in male rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [S. l.], v. 120, p. 110636, 2022. DOI: 10.1016/J.PNPBP.2022.110636. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278584622001282>. Acesso em: 30 set. 2022.

SANDOVAL, Verónica; RIDDLE, Evan L.; HANSON, Glen R.; FLECKENSTEIN, Annette E. Methylphenidate redistributes vesicular monoamine transporter-2: role of dopamine receptors. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, [S. l.], v. 22, n. 19, p. 8705–8710, 2002. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.22-19-08705.2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12351745/>. Acesso em: 10 set. 2022.

SHARIF, Safia; GUIRGUIS, Amira; FERGUS, Suzanne; SCHIFANO, Fabrizio. The Use and Impact of Cognitive Enhancers among University Students: A Systematic Review. **Brain Sciences** 2021, Vol. 11, Page 355, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 355, 2021. DOI: 10.3390/BRAINS11030355. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2076-3425/11/3/355/htm>. Acesso em: 29 set. 2022.

SHELLENBERG, Thomas P.; STOOPS, William W.; LILE, Joshua A.; RUSH, Craig R. An update on the clinical pharmacology of methylphenidate: therapeutic efficacy, abuse potential and future considerations. **Expert review of clinical pharmacology**, [S. l.], v. 13, n. 8, p. 825–833, 2020. DOI: 10.1080/17512433.2020.1796636. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32715789/>. Acesso em: 29 set. 2022.

SHI, Qi Xin; YANG, Liu Kun; SHI, Wen Long; WANG, Lu; ZHOU, Shi Meng; GUAN, Shao Yu; ZHAO, Ming Gao; YANG, Qi. The novel cannabinoid receptor GPR55 mediates anxiolytic-like effects in the medial orbital cortex of mice with acute stress. **Molecular brain**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 38, 2017. DOI: 10.1186/s13041-017-0318-7. Disponível em: <https://molecularbrain.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13041-017-0318-7>. Acesso em: 9 out 2022.

STOLBERG, Victor B. The use of coca: prehistory, history, and ethnography. **Journal of ethnicity in substance abuse**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 126–146, 2011. DOI: 10.1080/15332640.2011.573310. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21678146/>. Acesso em: 25 ago. 2022.

SU, Hang; ZHAO, Min. Endocannabinoid mechanism in amphetamine-type stimulant use disorders: A short review. **Journal of clinical neuroscience: official journal of the Neurosurgical Society of Australasia**, [S. l.], v. 46, p. 9–12, 2017. DOI: 10.1016/J.JOCN.2017.08.042. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28912087/>. Acesso em: 12 set. 2022.

SUGIURA, Takayuiki; KISHIMOTO, Seishi; OKA, Saori; GOKOH, Maiko. Biochemistry, pharmacology and physiology of 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand. **Progress in Lipid Research**, [S. l.], v.45 p.405-446, 2006. DOI: 10.1016/j.plipres.2006.03.003. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2006.03.003>. Acesso em: 10 out. 2022.

TANDA, Gianluigi. Modulation of the endocannabinoid system: Therapeutic potential against

cocaine dependence. **Pharmacological Research**, 2007. DOI: 10.1016/j.phrs.2007.09.001. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2007.09.001>. Acesso em: 1 set. 2022.

THIEMANN, Gunnar; VAN DER STELT, Mario; PETROSINO, Stefania; MOLLEMAN, Areles; DI MARZO, Vincenzo; HASENÖHRL, Rüdiger U. The role of the CB1 cannabinoid receptor and its endogenous ligands, anandamide and 2-arachidonoylglycerol, in amphetamine-induced behavioural sensitization. **Behavioural Brain Research**, [S. l.], v. 187, n. 2, p. 289–296, 2008. DOI: 10.1016/J.BBR.2007.09.022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.09.022>. Acesso em: 29 set. 2022.

TOBE, Masaru; SUTO, Takashi; SAITO, Shigeru. The history and progress of local anesthesia: multiple approaches to elongate the action. **Journal of Anesthesia**, [S. l.], v. 32, n. 4, p. 632–636, 2018. DOI: 10.1007/s00540-018-2514-8. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00540-018-2514-8>. Acesso em: 11 set. 2022.

URBAN, Kimberly R.; LI, Yan Chun; GAO, Wen Jun. Treatment with a clinically-relevant dose of methylphenidate alters NMDA receptor composition and synaptic plasticity in the juvenile rat prefrontal cortex. **Neurobiology of learning and memory**, [S. l.], v. 101, p. 65–74, 2013. DOI: 10.1016/J.NLM.2013.01.004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23333502/>. Acesso em: 10 set. 2022.

UNDOC- **World Drug Report 2022**. Cadernos 2 -Global Overvie- Drug demand and Drug Supply e 4 - Drug Market Trends: Cocaine, Amphetamine -Type Stimulants, New Psicoative Substances.. Disponível em: <https://www.unodc.org/unodc/en/data-and-analysis/world-drug-report-2022.html>. Acesso em 26 ago. 2022

VAN LAERE, Koen; GOFFIN, Karolien; CASTEELS, Cindy; DUPONT, Patrick; MORTELMANS, Luc; DE HOON, Jan; BORMANS, Guy. Gender-dependent increases with healthy aging of the human cerebral cannabinoid-type 1 receptor binding using [18F]MK-9470 PET. **NeuroImage**, [S. l.], v. 39, n. 4, p. 1533–1541, 2008. DOI: 10.1016/J.NEUROIMAGE.2007.10.053. Disponível em <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.10.053>: Acesso em: 18 set. 2022.

VOLKOW, Nora D.; FOWLER, Joanna S.; WANG, Gene-Jack; SWANSON, James M.; TELANG, Frank. Dopamine in Drug Abuse and Addiction: results from imaging studies and treatment implication.. **Archives of Neurology**, [S. l.], v. 64, n. 11, p. 1575, 2004. DOI: 10.1001/archneur.64.11.1575. Disponível em <https://www.nature.com/articles/4001507>: Acesso em: 18 set. 2022.

VOLZ, Trent J.; FARNSWORTH, Sarah J.; KING, Jill L.; RIDDLE, Evan L.; HANSON, Glen R.; FLECKENSTEIN, Annette E. Methylphenidate administration alters vesicular monoamine transporter-2 function in cytoplasmic and membrane-associated vesicles. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, [S. l.], v. 323, n. 2, p. 738–745, 2007. DOI: 10.1124/JPET.107.126888. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17693585/>. Acesso em: 10 set. 2022.

WANG, Huikun; TREADWAY, Tyler; COVEY, Daniel P.; CHEER, Joseph F.; LUPICA, Carl R. Cocaine-Induced Endocannabinoid Mobilization in the Ventral Tegmental Area. **Cell Reports**, [S. l.], v. 12, n. 12, p. 1997–2008, 2015. DOI: 10.1016/j.celrep.2015.08.041. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2015.08.041>. Acesso em: 18 set. 2022.

WENTHUR, Cody J. Classics in Chemical Neuroscience: Methylphenidate. **ACS chemical neuroscience**, [S. l.], v. 7, n. 8, p. 1030–1040, 2016. DOI: 10.1021/ACSCHEMNEURO.6B00199. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27409720/>. Acesso em: 5 set. 2022.

WILLUHN, Ingo; WANAT, Matthew J.; CLARK, Jeremy J.; PHILLIPS, Paul E. M. Dopamine Signaling in the Nucleus Accumbens of Animals Self-Administering Drugs of Abuse. **Behavioral Neuroscience of Drug Addiction** [S. l.], 2010. DOI: 10.1007/7854_2009_27. Disponível em: https://link.springer.com/chapter/10.1007/7854_2009_27. Acesso em: 9 set. 2022.

WISE, Roy A. Dopamine and reward: the anhedonia hypothesis 30 years on. **Neurotoxicity Research**, [S. l.], v. 14, n. 2–3, p. 169–183, 2008. DOI: 10.1007/BF03033808. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19073424/>. Acesso em: 12 set. 2022.

WOLRAICH, Mark L.; DOFFING, Melissa A. Pharmacokinetic Considerations in the Treatment of Attention-Deficit Hyperactivity Disorder with Methylphenidate **CNS Drugs**. [S.l.]; v.18; p. 243-250; 2004. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.2165/00023210-200418040-00004>. Acesso em: 12 set. 2022.

XI, Zheng Xiong et al. Brain cannabinoid CB₂ receptors modulate cocaine's actions in mice. **Nature neuroscience**, [S. l.], v. 14, n. 9, p. 1160–1168, 2011. DOI: 10.1038/NN.2874. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21785434/>. Acesso em: 12 set. 2022.

YIN, An qi; WANG, Feng; ZHANG, Xia. Integrating endocannabinoid signaling in the regulation of anxiety and depression. **Acta Pharmacologica Sinica** 2018 40:3, [S. l.], v. 40, n. 3, p. 336–341, 2018. DOI: 10.1038/s41401-018-0051-5. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41401-018-0051-5>. Acesso em: 30 set. 2022.

ZHANG, Hai Ying; GAO, Ming; LIU, Qing Rong; BI, Guo Hua; LI, Xia; YANG, Hong Ju; GARDNER, Eliot L.; WU, Jie; XI, Zheng Xiong. Cannabinoid CB₂ receptors modulate midbrain dopamine neuronal activity and dopamine-related behavior in mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 111, n. 46, p. E5007–E5015, 2014. DOI: 10.1073/pnas.1413210111. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.1413210111>. Acesso em: 2 jun. 2022.

ZHANG, Hai Ying; SHEN, Hui; GAO, Ming; MA, Zegang; HEMPEL, Briana J.; BI, Guo Hua; GARDNER, Eliot L.; WU, Jie; XI, Zheng Xiong. Cannabinoid CB₂ receptors are expressed in glutamate neurons in the red nucleus and functionally modulate motor behavior in mice. **Neuropharmacology**, [S. l.], v. 189, 2021. DOI: 10.1016/J.NEUROPHARM.2021.108538. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33789118/>. Acesso em: 13 set. 2022.

ZUARDI, Antonio Waldo. History of cannabis as a medicine: a review. **Revista brasileira de psiquiatria** (Sao Paulo, Brazil: 1999), [S. l.], v. 28, n. 2, p. 153–157, 2006. DOI: 10.1590/S1516-44462006000200015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16810401/>. Acesso em: 1 jun. 2022.

9 ANEXO



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

A U T O R I Z A Ç Ã O

Certificamos que o adendo da proposta intitulada "Papel do sistema endocanabinoide na regulação das respostas induzidas por psicoestimulantes em camundongos machos e fêmeas.", registrada sob nº 19. 1. 1156.60.8, sob a responsabilidade de Luana dos Santos Neves e Sabrina Francesca de Souza Lisboa, que envolve a manutenção e utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica 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 e Controle da Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovado em 08/08/2022 pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (CEUA FCFRP).

Lembramos da obrigatoriedade de apresentação do relatório de atividades, em modelo da CEUA, para emissão do certificado, como disposto nas Resoluções Normativas do CONCEA.

Colaboradores: Pedro Henrique Gobira Nunes e Sâmia Regiane Lourenço Joca Wegener .

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica	
Vigência da Autorização	01/08/2020 a 31/12/2023	
Espécie/Linhagem/Raça	Camundongo isogênico C57BL	
Nº de animais	416	364
Peso/Idade	30g/ 6 semanas	30g/ 6 semanas
Sexo	Macho	Fêmea
Origem	Biotério Central da PUSP-RP	

Ribeirão Preto, 8 de agosto de 2022.

Ana Patrícia Yatsuda Natsui

Vice-Coordenadora da CEUA-FCFRP

Avenida do Café S/N^o - Monte Alegre – CEP 14040-903 – Ribeirão Preto – SP
 Comissão de Ética no Uso de Animais – ceua@fcrp.usp.br

Fone: (16) 3315-8559 – Fax: (16) 33152-4892



INFORMAÇÃO GRAD 0016/2025

Nome do Interessado(a): Luana dos Santos Neves

Assunto: TCC - Autorização para Biblioteca Digital e Aprovação CG

A Comissão de Graduação da FCFRP, órgão que atua como coordenação do curso Farmácia desta, declara para os devidos fins que:

- Este trabalho foi apresentado e aprovado no dia 10/11/2022;
- O(a) estudante autorizou a reprodução e divulgação total deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte pelo formulário entregue a esta comissão após aprovação.

Ribeirão Preto, 23 de julho de 2025

Comissão de Graduação FCFRP/USP